

· 特邀论文 ·

全息光镊在生物学研究中的应用

梁言生¹, 姚保利^{2*}, 雷铭^{1**}

¹西安交通大学理学院, 陕西省量子信息与光电子器件重点实验室, 陕西 西安 710049;

²中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 陕西 西安 710119

摘要 作为一种非侵入式的高精度微操控和力传感工具, 光镊已被广泛应用于生命科学领域的研究。全息光镊利用空间光调制器调控光场, 可以灵活地产生任意排布的光阱阵列, 具有比传统单光镊更高的灵活性, 目前已在生物医学领域展现出巨大的应用价值。本文综述了全息光镊的基本原理、全息图算法, 以及全息光镊在生物学领域的研究进展, 希望可以为全息光镊在生物学中的应用研究提供一定的参考。

关键词 生物光学; 光镊; 空间光调制器

中图分类号 O436

文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.0207020

Applications of Holographic Optical Tweezers in Biological Research

Liang Yansheng¹, Yao Baoli^{2*}, Lei Ming^{1**}

¹Shaanxi Key Laboratory of Quantum Information and Quantum Optoelectronic Devices, School of Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710049, China;

²State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an, Shaanxi 710119, China

Abstract As noninvasive tools of high-resolution micromanipulation and force measurement, optical tweezers have been widely applied to researches in life science. Holographic optical tweezers show higher flexibility than the conventional single-trap optical tweezers in producing arbitrarily patterned trap arrays with the help of the spatial light modulator, which has significant potential in application to the biomedical research. In this paper, we review the basic principle of holographic optical tweezers, hologram algorithm, and the progress in the applications of holographic optical tweezers in biological research. We expect that this review will provide a helpful reference to the community that will apply holographic optical tweezers to the biological research.

Key words Bio-optics; optical tweezer; spatial light modulator

OCIS codes 170.1530; 170.4090

1 引言

1986年, Ashkin等^[1]使用单束强聚焦激光实现了对微粒的三维囚禁, 这标志着光镊技术的诞生。光镊技术自发明以来已从简单的光捕获(Optical Trapping)^[1]、光推动(Optical Pushing)^[2]与光悬浮(Optical Levitation)^[3-4]发展到光学旋转(Optical Rotation)^[5-9]与光学拉伸(Optical Stretching)^[10-12]等更为丰富的粒子操控功能。单光阱光镊操纵功能

非常有限, 而多光阱光镊则提供了更多的可能性^[13-14]。多光阱的产生方法包括多光束耦合、多光束干涉^[14]和光束扫描^[13], 以及基于衍射光学元件的光场调控技术^[15-16]等。多光束干涉可以产生高质量的三维光学栅格势阱, 可以同时捕获上千个胶体粒子并应用于晶体研究^[17]。但是, 这种方法只能产生对称的光场结构, 其轴向散射力需要利用重力或者玻片的反作用力加以克服, 因此只能实现二维捕获。光束扫描利用声光调制器或扫描振镜在很短的

收稿日期: 2019-11-11; **修回日期:** 2019-12-24; **录用日期:** 2019-12-31

基金项目: 国家自然科学基金(61905189, 11974417, 81427802)、中央高校建设世界一流大学(学科)和特色发展引导专项资金(PY3A079)、国家重点研发计划(2017YFC0110100)、中国科学院前沿科学计划(QYZDB-SSW-JSC005)

* **E-mail:** yaobl@opt.ac.cn; ** **E-mail:** ming.lei@mail.xjtu.edu.cn

时间内改变激光的位置,使不同位置的粒子在弛豫时间内再次被激光照射,从而被稳定捕获在特定位置^[13]。受器件扫描频率和偏转角限制,这种技术无法产生大阵列光阱,也不能产生三维光阱阵列。相对于声光调制器或扫描振镜,空间光调制器(SLM)通过调制光场的振幅和相位而具有更高的灵活性。基于 SLM 调控光场的全息光镊不仅可以产生大阵列光阱,同时捕获和排列多个微粒,而且可以实时动态地在三维空间中独立地操控每一个微粒^[15-16,18-19]。除了普通的点光阱外,全息光镊可以产生强度连续的光阱对粒子进行更加复杂的操纵,例如沿特定轨迹的运输、轨道旋转等^[20-25]。

光镊具有非机械接触、低损伤、可操纵对象丰富、可高精度测量微小位移量和作用力等特点,已被广泛应用于生命科学、物理化学以及气溶胶科学等交叉学科的基础研究上,并在微纳加工、传感测量等应用中展现出了巨大的潜力。特别地,光镊已成为表征生物物理/生物力学特性的必备工具,其发明人 Ashkin 因光镊在生物学研究中的巨大成功而获得了 2018 年的诺贝尔物理学奖。光镊被广泛应用于生物学研究主要是因为以下几个特点:使用近红外激光波长(常用 1064 nm)的光镊被证明对生物样品基本是无损的;光镊可实施的作用力在飞牛(10^{-15} N)至数百皮牛(10^{-10} N)之间,与生物的微观作用力范围基本一致;与磁镊、光电镊等微操纵技

术相比较,光镊的位置控制精度可达 10 nm 量级甚至更高。相较于单光镊技术,具有多粒子并行独立动态操控和多点测力等特点的全息光镊已成为了研究胶体粒子相互作用^[26]、微粒分选^[27]、晶体结构制作^[28]、微量化学反应^[29]等的重要工具。近年来,全息光镊在生物学研究中的应用也被广泛关注。本文将综述全息光镊的基本原理、光镊全息图算法,以及全息光镊在生物学领域的应用研究进展,期望能为全息光镊在生物学研究中的应用提供一定的参考价值。

2 全息光镊的基本原理

2.1 基本装置

图 1 所示为全息光镊的基本原理图^[30]。通过控制 SLM 调制入射光的相位,可以在物镜的焦平面上产生大阵列点光阱。激光束经透镜 1、2 扩束准直后入射到 SLM 上进行调制。调制后的光束经由透镜 3、4 组成的望远镜系统后,被高数值孔径物镜聚焦至样品处。物镜前的四分之一波片用于将线偏振光束转换成圆偏振光束,从而使得强聚焦高斯光斑在焦平面上的强度分布是中心对称的。被操纵的样品被聚光镜聚焦的 LED 光照射后,经物镜 (Objective) 和筒镜 (Tube Lens) 成像至相机上。在这里,双色镜 (Dichroic) 用于将激光束引导至物镜入瞳处,同时允许 LED 照明光束透射,以对样品成像。

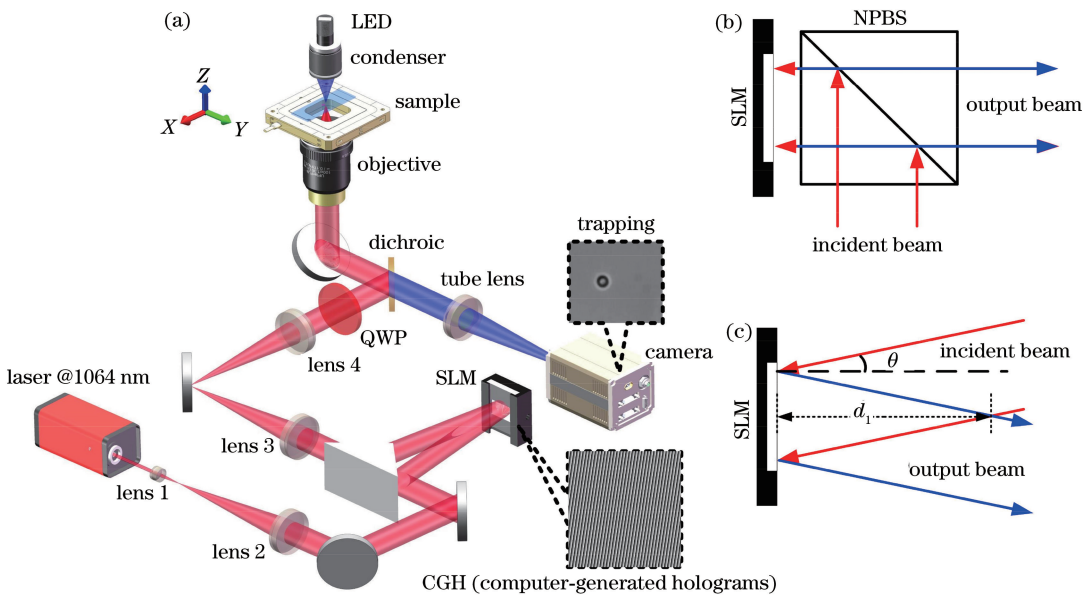


图 1 全息光镊的基本装置原理图^[30]。(a)全息光镊系统的光路示意图

(QWP:四分之一波片;NPBS:消偏振分光棱镜);(b)(c) SLM 的两种工作方式:(b)正入射和(c)斜入射

Fig. 1 Principle of holographic optical tweezers. (a) Sketch of the holographic optical tweezers setup (QWP: quarter-wave plate; NPBS: non-polarizing beam splitter); (b) and (c) the working mode of an SLM: (b) normal incidence and (c) small-angle incidence

在全息光镊技术中,系统各个器件的选择对光镊的捕获性能起着重要影响。SLM 是全息光镊的核心器件之一。由于相位调制具有较高的光能利用率,因此全息光镊常用相位型液晶 SLM。另外,还需要综合考虑器件的适用波长、相位调制深度、调制精度和损伤阈值等因素。在确定了 SLM 的型号后,还需要考虑 SLM 的工作方式,常用正入射与斜入射两种工作方式。正入射工作方式的实现需要使用非偏振分光棱镜(NPBS),激光束两次经过分光棱镜,因此最终的光能利用率要小于 25%,而小角度($\theta \leq 6^\circ$)入射的工作方式则可以最大程度地利用激光功率(接近 100%),因此是全息光镊最常用的工作方式。此外,由于制造工艺水平的限制,SLM 的液晶面板不可避免地会给系统引入像差,降低光束的质量和光阱的捕获性能。通过像差校正可大大提高全息光镊的性能^[30-33]。SLM 工作时会导致光束相位抖动,在一些测力应用中需要特别注意这个问题^[34]。

激光器的性能直接关系到全息光镊系统的捕获能力。用于光学捕获的激光器输出应为 TEM₀₀ 模。在光镊中,光学力和光功率是成正比的^[35]。一般而言,功率在 10~100 mW 的激光器足以产生一个可以捕获和操纵微粒的单光阱。在样品可承受的光功率范围内,全息光镊系统需要使用功率尽可能高的激光器,以实现高的捕获稳定性。要产生大光阱阵列,激光功率需在 1 W 以上。光波长也是光学捕获需要考虑的一个重要指标。在光学捕获与操纵过程中需要注意激光对样品,特别是对生物样品的光损伤^[36]。Svoboda 等^[37]发现近红外波段(750~1200 nm)的激光对生物样品的光损伤最小,对生物材料来说是一个“相对透明的窗口”。特别需要注意的是,在选择激光波长时还需与显微物镜相匹配,保证显微物镜在该波段有高透过率。

显微物镜是全息光镊的另一个重要器件。光镊需要使用数值孔径较高(通常大于 1)的物镜,一般为浸油或者浸水物镜。当浸没介质是折射率约

为 1.515 的特殊油时,物镜的数值孔径可以达到 1.49。物镜的数值孔径越大,聚焦的光斑越小,光镊的捕获效率越高。但是浸油物镜会引入比较严重的球差,原因是浸油物镜在将激光束聚焦到水中时会经过一个玻璃-水的界面,不同角度的光线会聚到不同的轴向位置,从而产生了球差。一般浸油物镜都会针对聚焦点位于临界面附近的情况进行优化,因此适合在距离盖玻片表面几微米的范围内进行光学捕获。如果要深入溶液内部对样品进行操纵,聚焦光斑的质量就会随着聚焦深度的增大而急剧降低,捕获效率也会随之急剧下降^[38]。浸水物镜的数值孔径虽然相对于浸油物镜而言比较小(一般小于 1.2),但浸水物镜几乎不会引入球差^[38]。使用浸水物镜的光镊系统可以在样品池深处对样品进行捕获与操纵。关于全息光镊系统的设计与搭建可参考文献^[39]。

2.2 全息图算法

全息图是除了系统器件外影响全息光镊的最关键因素。不同的全息图算法所产生的光阱质量差异很大,而且不同的全息图在光阱的产生速度、系统的光能利用率上也有巨大差异。比如:直接算法可以在任意位置快速生成点光阱,但存在均匀性差和衍射效率低等缺点,而且光阱质量会随着复杂程度的增加而严重下降^[40];迭代算法虽然速度较慢,但精度和效率高,光阱间的强度均匀性好,即使在光阱分布复杂的情况下也能保持不错的性能^[40]。因此,在实际应用中应根据实际需要选择合适的全息图算法。

利用 SLM 调制入射光波前,然后通过傅里叶变换产生特定目标光场的技术被称为全息光束整形(Holographic Beam Shaping)^[16,41-42]。该技术已被广泛应用于光存储^[43-44]、光学微纳加工^[45]、光通信^[46]、光学显微^[47]和光学微操纵^[16,41]等研究领域。其基本原理如图 2 所示,焦平面附近(x, y, z)上的期望光场 E_{focus} 与 SLM 面(x', y')上的调制光场 E_{DOE} 满足傅里叶变换关系^[40]

$$E_{\text{focus}}(x, y, z) = \frac{\exp[ik_0(2f + z)]\exp[ik_0(x^2 + y^2)]}{i\lambda_0 f} \cdot 4\pi^2 \iint_S E_{\text{DOE}}(x', y') \exp\left[-i \frac{\pi z}{\lambda_0 f^2}(x'^2 + y'^2)\right] \exp[-2\pi(x'x + y'y)] dx' dy', \quad (1)$$

式中: k_0 为真空中的波数; λ_0 为真空中的波长; f 为

透镜焦距; S 为 SLM 的光场调制区域。

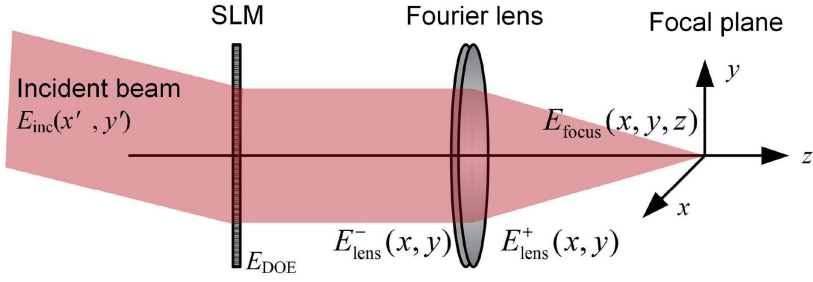


图 2 基于傅里叶变换的全息光束整形的原理示意图

Fig. 2 The principle of holographic beam shaping based on Fourier transform

根据(1)式,对焦场作傅里叶逆变换可以得到被 SLM 调制后的光场 E_{DOE} (包含振幅和相位)。这样操作的结果是需要同时调制入射光的振幅和相位来得到特定的焦场分布。然而,振幅调制的光能利用率非常低。因此,如何通过只调制入射光的相位来得到期望光场是全息光束整形的关键问题。下面本文将从点光阱和连续光阱两类光阱的产生来介绍计算全息图的算法。

2.2.1 点光阱

点光阱是光镊技术应用最为广泛的光阱形式之一,利用点光阱可以对粒子实现三维稳定捕获和沿任意轨迹移动的操纵^[41]。假设衍射光学元件(DOE)的像素面积为 d^2 ,像素数为 $M_x \cdot M_y$ 。入射光被 DOE 调制后位于像素 (m_x, m_y) 的复振幅是 $E_{m_x, m_y} = E_{\text{inc}} \cdot A \cdot \exp(i\phi_{m_x, m_y})$,其中: A 是强度衰减常数; ϕ_{m_x, m_y} 是相位调制因子; E_{inc} 是入射光振幅, $E_{\text{inc}} \equiv E_0$ (E_0 为均匀振幅)。根据(2)式,经过傅里叶透镜后的焦场可表示为

$$E_{\text{focus}}(x, y, z) = \frac{\exp\left[i\frac{2\pi}{\lambda_0}(2f+z)\right] \exp\left[i\frac{\pi}{\lambda_0 z}(x^2+y^2)\right]}{i\lambda_0 f} \cdot$$

$$d^2 \sum_{m_x=1}^{M_x} \sum_{m_y=1}^{M_y} |E_0| A \exp\{i[\phi_{m_x, m_y} - \Delta_{m_x, m_y}(x, y, z)]\}, \quad (2)$$

其中,

$$\Delta_{m_x, m_y}(x, y, z) = \frac{2\pi}{\lambda_0 f}(x_{m_x, m_y} x + y_{m_x, m_y} y) + \frac{\pi z}{\lambda_0 f^2}(x_{m_x, m_y}^2 + y_{m_x, m_y}^2), \quad (3)$$

式中: $(x_{m_x, m_y}, y_{m_x, m_y})$ 为像素坐标; (x, y, z) 为焦场坐标。在这里,引入无量纲量(Dimensionless Variable)

$$V_n(x, y, z) = \frac{1}{M_x M_y} \times$$

$$\sum_{m_x=1}^{M_x} \sum_{m_y=1}^{M_y} \exp\{i[\phi_{m_x, m_y} - \Delta_{m_x, m_y}(x, y, z)]\}. \quad (4)$$

全息光镊算法的目标是使光阱 n 或者所有光阱的强度和最大化,即:使位于 $(x_{\text{ot}, n}, y_{\text{ot}, n}, z_{\text{ot}, n})$ 的第 n 个光阱的模 $|V_n(x, y, z)|$ 或者所有光阱模的和 $\sum |V_n(x, y, z)|$ 最大化。

全息图的常用算法分为直接算法和迭代算法,其中直接算法包括随机掩模编码法(RM)^[48]、光栅透镜相位叠加法(S)^[42]和随机叠加(SR)算法^[49]等,迭代算法包括 GS(Gerchberg-Saxton)算法^[50]和 GAA(Generalized Adaptive Additive)算法^[42]和加权 GS(GSW)算法^[51]等。图 3(a)~(f)分别为 GSW、GAA、GS、SR、S 和 RM 算法的光场调控结果,它们的曝光时间一样。可以看到:迭代算法得到的光场强度要明显高于非迭代算法的结果,说明迭代算法的光场调制效率要明显高于非迭代算法;RM 算法因调制效率太低,产生的点光阱阵列几乎无法辨别;S 算法额外产生了分布在目标位置(虚线框)之外的光阱,即幽灵光阱(Ghost Traps),降低了目标光阱的强度和均匀性。

2.2.2 连续光场

对于强度分布连续的光场,如果使用前面介绍的几种算法进行计算,则计算代价会非常高。如果使用二维快速傅里叶变换来计算连续光场的全息图,则可以大大提高计算效率。下面介绍基于快速傅里叶变换的 GS 算法(FFT-GS)^[50]和 GAA 算法(FFT-GAA)^[16]。FFT-GS 算法的流程如图 4(a)所示。图中左右两个虚线框分别表示全息面和再现面, $A_{H, k}$ 和 $A_{T, k}$ (均为已知)分别表示全息面和再现面的光场振幅, ϕ 表示相位, k 表示迭代次数。一般来说,入射光是均匀的平行光,其振幅 $A_{H, 0}$ 是常量。第一次迭代开始前先假定再现面的初始相位因子 $\phi_{T, 0}$ 是一个随机分布,计算再现面的逆傅里叶变换 $A_{H, 1} \cdot \exp(i\phi_{H, 1})$, 然后开始迭代运算。在第 k 次

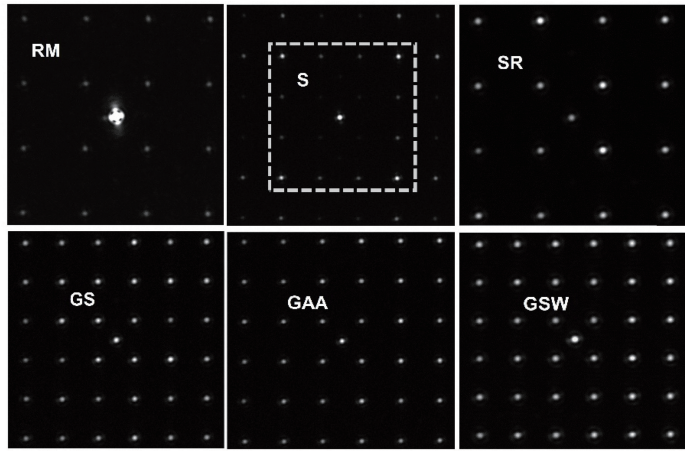


图 3 6 种算法的光场调控结果图

Fig. 3 The trap patterns obtained with the six common CGH algorithms

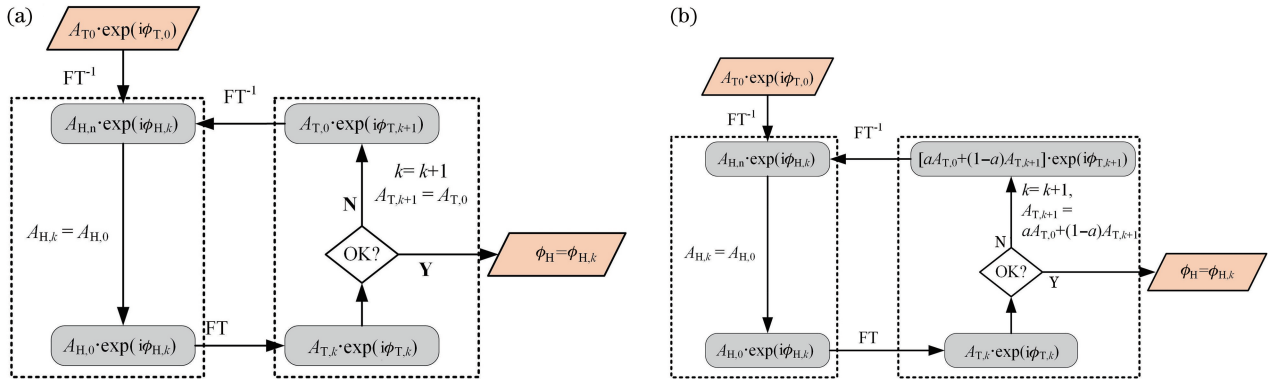


图 4 算法流程图。(a) FFT-GS 算法；(b) GAA 算法

Fig. 4 Flow charts of algorithms. (a) FFT-GS algorithm; (b) GAA algorithm

迭代中,将计算得到的振幅 $A_{H,k}$ 替换为 $A_{H,0}$,得到新的光场复振幅 $A_{H,0} \cdot \exp(i\phi_{H,k})$ 。对新光场作傅里叶变换得到再现场 $A_{T,k} \cdot \exp(i\phi_{T,k})$,然后进行收敛判断。如果收敛,则 $\phi_{H,k}$ 就是所求的相位分布,否则令 $k = k + 1$,并将再现光场的振幅替换为设定值 $A_{T,0}$,再现场变为 $A_{T,0} \cdot \exp(i\phi_{T,k+1})$,继续进行下一次迭代运算。图 4(b)所示为 GAA 算法的流程图,与 GS 算法类似,差别是在每次迭代过程中,再现光场的振幅用设计值 $A_{T,0}$ 与计算值 $A_{T,k}$ 的特定组合来替代,例如 $aA_{T,0} + (1-a)A_{T,k}$ ^[16]。在这种组合下, a 取 0.5 时迭代过程的收敛性较好。

图 5(b)所示为利用 GS 算法计算目标光场(图 5(a))得到的理论再现结果。可以看到,经过 15 次迭代后再现结果与理论结果非常接近。一般来说,GS 和 GAA 迭代算法的收敛次数为十几次。当然,计算的光场越复杂,收敛速度越慢。图 5(c)给出了使用 GS 迭代算法时再现光场与目标场的误差随迭代次数的变化曲线,可以看到开始时 GS 算法的收敛速度很快,大约经过 20 次迭代后再现光场就几乎

没有变化。

3 全息光镊在生物学研究中的应用

近年来,全息光镊在生物学研究中的应用受到了越来越多的关注。全息光镊可将多个生物细胞进行排布和组装,制作特定的生物微结构或者微环境,帮助人们更深入地了解微环境对细胞生长过程的影响,实现大通量的单细胞水平上的生物学研究^[52];全息光镊可以同时操控多个微球作为力学探针进行多点测力,分析不同位置的力学特性^[53]。此外,全息光镊与显微成像技术的结合对于未来生物学研究也具有重要意义。本文将从三方面综述全息光镊技术在生物学研究中的应用进展,包括细胞生物学、单分子生物学,以及全息光镊与显微成像技术的结合。

3.1 全息光镊在细胞生物学中的应用

光镊在人们了解复杂的细胞过程中扮演着重要角色。作为一种力工具,光镊可以直接作用在细胞上使其发生形变,研究细胞在外力刺激下的形态和行为;利用光镊可以控制细胞的微环境,调节细胞的

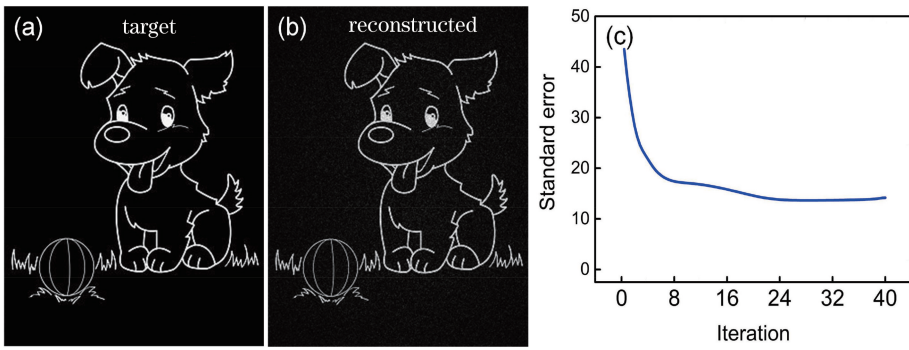


图 5 基于 GS 迭代算法计算光场。(a)目标光场;(b)理论再现光场;
(c)理论再现光场与目标光场的标准误差随迭代次数的变化曲线

Fig. 5 Optical field calculation based on the GS iterative algorithm. (a) The target optical field; (b) the theoretically reconstructed optical field; (c) the standard error between the theoretically reconstructed optical field and the target optical field against the iterations

生长速率和方向等细胞行为。光镊作为一种非侵入式的力传感器,可以探测与细胞生物学相关的作用力,研究细胞间以及细胞与环境间的力学作用。

3.1.1 细胞生长的调节

细胞微环境会影响细胞的生长。利用微流泵可以对细胞微环境进行干扰和控制,进而影响细胞膜的伸展和扭曲等力学特性,调节细胞的生长行为^[54-56]。例如,利用全息光镊通过控制一对旋转方向相反的微球来控制微流的大小和方向,进而改变两个微球间神经元细胞的生长速度及方向^[56]。利用微粒的光致旋转效应可以旋转微粒,利用由此产生的旋转微流可以制作微流泵^[57]。微粒的光致旋转包括粒子形状的不对称引起的转动^[58]、自旋角动量传递导致的粒子自旋^[59]和光学轨道角动量传递导致的粒子圆周运动^[60]等。

除了微流,分子浓度梯度(Molecular Gradient)在生物组织和细胞极化、胚胎发育期间的细胞分化等生物过程中也起着重要的调节作用。光镊提供了一种精确控制细胞周围分子浓度的技术手段,利用光镊控制微球释放生物分子的方式具有以下优点:分子的释放范围可以控制在 $1 \mu\text{m}$ 以内,释放时间可以控制在零点几秒至一小时之间。Kress 等^[61]通过光镊控制微球释放特定的生物化学物质,实现了细胞极化和迁移方向的控制。进一步,Kress 等利用全息光镊实现了多点同时释放不同的化学物质,进而实现了片状伪足(Lamellipodia)生长的促进和抑制。从图 6(a1)~(a4)可以看出,随着携带有化学引诱剂的微球在光镊的控制下移动,人原髓细胞白血病细胞(HL-60)始终跟着微球,证明实现了细胞的可控定向极化和迁移。从图 6(b1)~(b3)可以看出,利用全息光镊将装有化学引诱剂甲酰甲硫

氨酰-亮氨酸-苯丙氨酸(fMLP)的两个微球放置在靠近 HL-60 细胞的位置,该细胞会在靠近微球的方向上形成新的片状伪足。随着微球距离的增加,片状伪足的面积会逐渐增大。从图 6(c1)~(c3)可以看出,两个微球在靠近迁移的 HL-60 细胞的层状脂质体的中心附近释放细胞松弛素 D,使得片状伪足在微球周围的一小部分向内缩回,并逐渐分为两部分,最后仅剩一个片状伪足。在这里,全息光镊提供了同时控制多个分子微源的可能。实际上,利用全息光镊的多粒子操控功能可以模拟大量的分子微源来研究分析细胞对微环境的反应^[24]。此外,利用全息光镊的动态操纵功能,可以灵活控制微粒的空间位置;不同的微粒可以携带不同的化学物质,具有很高的化学灵活性。这种空间和化学物质的灵活性使得全息光镊非常适合用于细胞生物学和细胞发育生物学的研究。

3.1.2 细胞拉伸

红细胞主要负责生物组织中呼吸气体的交换,通过细胞的形变来实现这些气体的运输和输送^[62]。因此,红细胞的形态特性被认为是血液质量的直接指标。识别红细胞的形态和生物力学特性对于研究其老化问题和病理诊断等具有重要的科学和医学意义^[63]。红细胞的变形能力会随病理而改变。利用全息光镊产生多个光阱并同时作用在血红细胞的多个位置上拉伸细胞,可以使其发生形变,如图 7(a)所示。结合数字全息显微(DHM)等技术可以研究红细胞在形变过程中光学特性的变化[图 7(b)],从而进一步分析健康与患病红细胞的形态特征,例如细胞的直径和厚度[图 7(c)]。Miccio 等^[64]根据 DHM 得到的细胞相位信息发现红细胞可以看作是由某种物质填充的生物

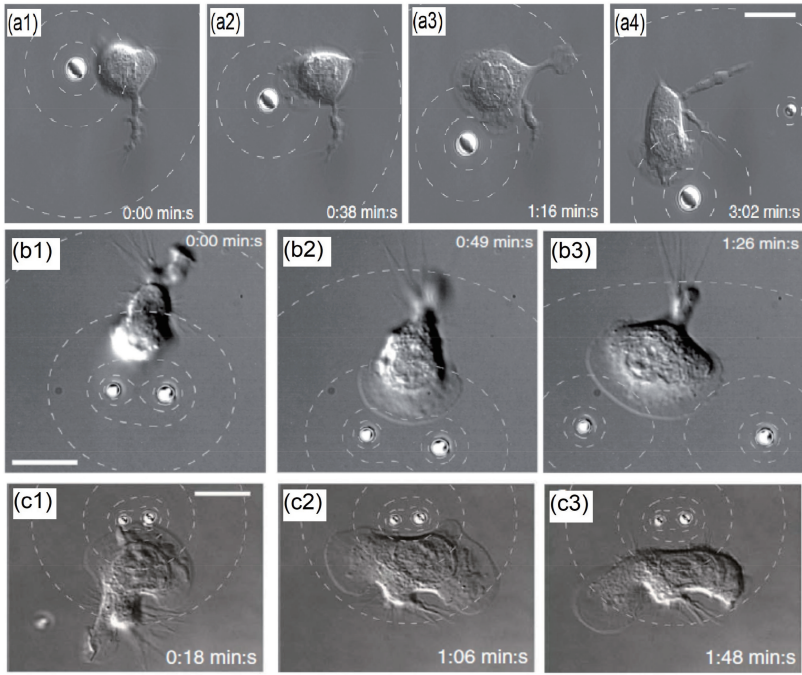


图 6 基于光镊的细胞极化和生长的调节^[61]。(a1)~(a4)利用光镊控制携带化学引诱剂的颗粒来控制细胞的定向极化和迁移:(a1)将装载了 fMLP 的颗粒移至靠近 HL-60 细胞膜;(a2)细胞沿粒子的方向极化并迁移;(a3)(a4)粒子围绕细胞逆时针移动,细胞改变了极化和迁移的方向。(b1)(b2)(b3)双光阱捕获带有化学引诱剂的双颗粒刺激诱导了片状伪足的形成和加宽。(c1)(c2)(c3)双光阱捕获带有细胞松弛素 D 的双颗粒抑制细胞的生长。轮廓虚线表示粒子周围 fMLP 的浓度等高线。比例尺为 10 μm

Fig. 6 Regulating the cell polarization and growth using optical tweezers^[61]. (a1)-(a4) Controlling the polarization of migration direction using optical tweezers carrying chemoattractants: (a1) the particle carrying fMLP moved close to HL-60 cell; (a2) the cell was polarized and migrated to the particle; (a3) and (a4) the polarization and migration directions of the cell were changed when the particle was rotated anticlockwise around the cell. (b1)-(b3) The induced formation and enlargement of the lamellipodium by two optically trapped particles carrying chemoattractants. (c1)-(c3) The cell growth was suppressed by two optically trapped particles carrying cytochalasin D. The dashed contour lines denote the concentration contour in the vicinity around the particle. Scale bar: 10 μm

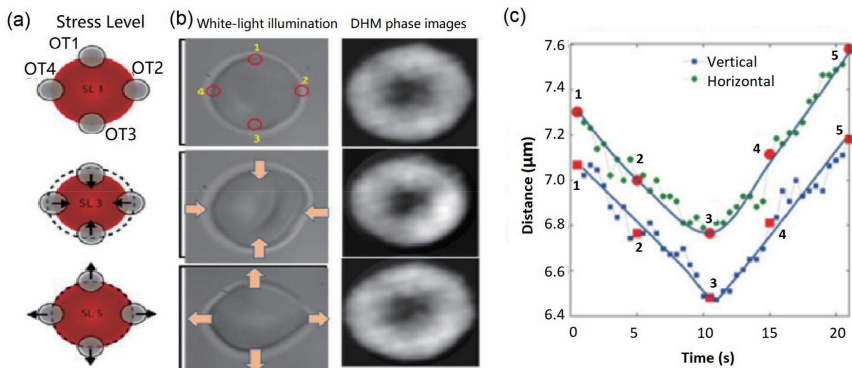


图 7 全息光镊拉伸红细胞(red blood cell,RBC)变形并测量其相位分布^[65]。

(a)对称变形过程中的光阱配置示意图;(b)宽场图像和 DHM 重构相位图;(c) RBC 直径(沿垂直和水平方向)随时间的变化 Fig. 7 Stretching the red blood cell with holographic optical tweezers and measuring its phase distribution^[65].

(a) Schematic of the optical traps configuration for symmetrical deformation; (b) the wide-field images and the reconstructed phase maps based on DHM; (c) the diameter of the RBC changes over time in the vertical and horizontal directions

透镜,具有自适应微透镜的光学特性。红细胞的 中央区域呈双凹形状,可以提供负焦距,而边缘则

表现为具有正焦点的环形透镜。这样的生物透镜很容易通过改变外环境的化学缓冲液来改变其光学特性,比如诱导细胞肿胀使细胞由凹形变成球形,即由凹透镜变成凸透镜。

3.2 全息光镊在单分子生物学中的应用

光镊技术已被广泛应用于测量 DNA 的持久长度 (Persistence Length)、固有弹性 (Intrinsic Elasticity)、弹性模量 (Elastic Modulus) 等力学参数,分析 DNA 分子的构象(如双链、单链、超螺旋等)、DNA 分子与酶的相互作用等^[10,66-67]。早期人们使用磁镊拉伸 DNA^[68]。但是,磁镊的作用力比较小,只有 0.01~10 pN,而且难以实现精准的三维控制,这些缺点限制了磁镊在单分子生物学研究中的应用。而光镊的作用距离以及可施加的光

学力的大小与生物分子的特征长度(零点几纳米至几微米)、相互作用力的大小(1 fN~100 pN)几乎重叠,因此非常适合用于研究生物单分子的生物物理特性^[69]。不过,在许多应用中,生物分子并不是直接被光镊操控的,而是以黏附在其表面的微球作为媒介。光镊主要基于图 8 所示的三种方式向微球施加光学力来拉伸 DNA 分子^[70]:将 DNA 分子的两端分别黏附在固定墙壁的表面和被捕获的微球表面,如图 8(a)所示;将 DNA 分子固定在两个胶体微球之间,其中一个微球固定在微管上,另一个被光镊捕获,如图 8(b)所示;或者利用双光阱光镊的方式,如图 8(c)所示。通过移动 DNA 分子的一端使分子发生形变就可以分析分子的受力与形变的关系。

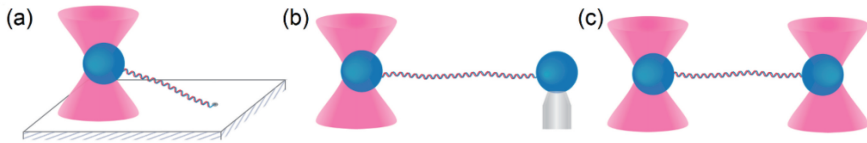


图 8 利用光镊测量 DNA 分子弹性模量的原理^[70]。(a)单光阱光镊,

DNA 分子的一端固定在一个表面上;(b)单光阱光镊,DNA 分子的一端固定在一个微管上;(c)双光阱光镊

Fig. 8 Principle of measuring the elastic modulus of the DNA molecule using optical tweezers^[70]. (a) The geometry based on single-trap optical tweezers and the DNA molecule attached to some surface; (b) the geometry based on single-trap optical tweezers and the DNA molecule attached to one microtube; (c) the geometry based on two traps optical tweezers

全息光镊可以灵活控制双光阱的位置,已被成功应用于 DNA 力学特性的研究。全息光镊已被证明能实施较大的作用力(>65 pN),光阱刚度可达几百皮牛每微米^[71]。Suei 等^[72]利用全息光镊研究了荧光染料对 DNA 定量分析的影响。图 9(a)所示微球跟踪位置(b、s)和光阱位置[图 9(a)中白色圆圈所标注]。图 9(b)清楚地显示了左边的微球 b 随着右边微球 s 移动有一个微小的位移量,表明了它们与 DNA 链的耦合作用。图 9(c)表明微球 s 在移动过程中沿 y 方向有一定的抖动,但微球 b 比较稳定。图 9(d)、(e)是利用全息光镊拉伸 DNA 分子得到的力-伸展曲线,分别是微球未标记和标记后得到的实验结果。利用力-伸展曲线可以进一步得到 DNA 分子的轮廓总长 (Contour Length)和持久长度等特征长度。Suei 等^[72]发现,给微球修饰不同的荧光染料会得到不同的 DNA 分子特征长度。全息光镊还可以被应用于蛋白质的力学特性研究^[71],例如利用双光阱研究蛋白分子的步进行为^[73],以及利用光致旋转效应测量 DNA 分子的扭曲模量^[74-75]等。

3.3 全息光镊与显微成像的结合

光学显微成像技术已将成像空间分辨率提高到了纳米水平,而全息光镊则提供了精确操纵微观粒子的手段,可独立操控多个微粒和精确控制样品的取向、姿态。将全息光镊与显微技术结合,可以量化细胞、分子的结构和动力学特性,对于生物学研究的发展具有极大的推动作用。目前,研究人员实现了全息光镊与共聚焦拉曼光谱显微成像^[76]、宽场三维显微成像^[77-78]、超分辨显微成像^[79]、定量相位成像^[80-86]等技术的结合。下面将主要介绍全息光镊结合超分辨显微、定量相位成像的研究进展。

3.3.1 超分辨显微

目前,大部分的超分辨显微成像技术,包括受激发射损耗显微(STED)、光激活定位显微(PALM)、随机光学重建显微(STORM)等都有成像速度较慢的缺点^[87-88]。而游离在水溶液中的生物单细胞往往具有很快的运动速度,因此利用目前的超分辨技术往往难以直接对这些快速运动的样品进行超分辨成像。光镊具有非接触和低损伤的特点,这使其在大多数情况下都可以直接捕获与操纵生物

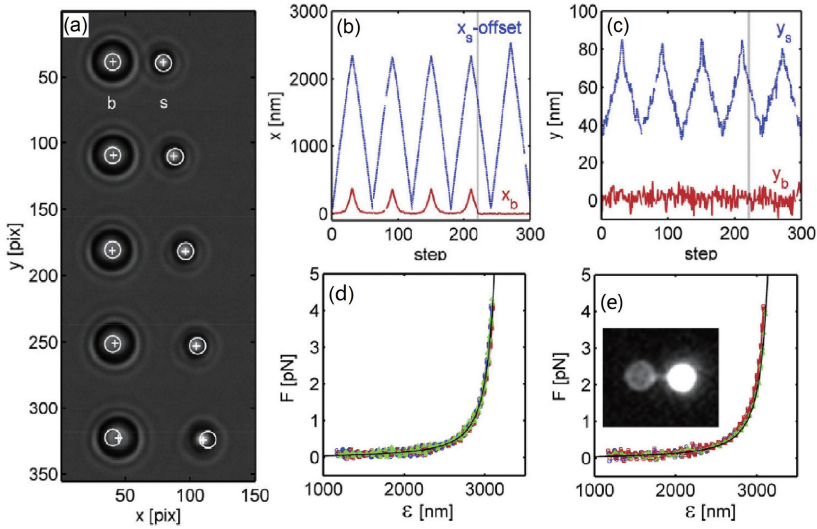


图9 全息光镊拉伸DNA分子^[72]。(a)拉伸过程;(b)两个微球在 x 方向上的位置变化;

(c)两个微球在 y 方向上的位置变化;(d)微球标记前得到的力-伸展曲线;(e)微球标记后得到的力-伸展曲线

Fig. 9 Stretching the DNA molecule with holographic optical tweezers^[72]. (a) The stretching process; (b) the change of position of the two microspheres in the x -direction; (c) the change of position of the two microspheres in the y -direction; (d) the force-extend curve before the microsphere was labeled; (e) the force-extend curve after the microsphere was labeled

样品。因此,利用光镊将溶液中的细胞、大分子等微粒固定,可以更好地对其进行成像观察。全息光镊和超分辨成像技术的结合已被用于对大肠杆菌细胞的超分辨成像研究。细菌大都是棒状的,利用全息光镊既可以束缚住细菌,还可以精确控制细菌的取向,进而研究各种姿态下的细菌行为和结构,分析细菌对微环境变化的反应以及细菌之间的作用等。2016年,Diekmann等^[79]利用全息光镊控制细菌取

向,结合STORM技术实现了对不同形态纳米级大肠杆菌细胞的超分辨成像,如图10所示。图10(a)所示是用两个光阱作用在大肠杆菌的两端,使其保持水平取向,然后进行超分辨成像,成像结果如图10(b)所示。图10(c)所示是用光镊将细胞垂直放置,图10(d)所示是细胞的超分辨图像。需要强调的是,由于STORM超分辨图像的重构需要拍摄几百幅甚至上千幅图片,耗时严重,因此需要消除样品

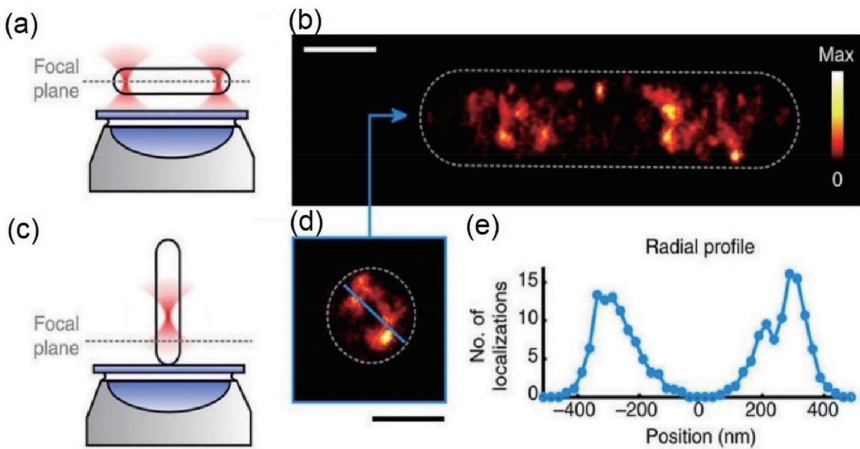


图10 全息光镊与超分辨成像技术的结合^[79]。(a)利用全息光镊将大肠杆菌细胞沿水平方向捕获;(b)水平方向的超分辨图像;(c)利用单光镊将大肠杆菌细胞沿竖直方向捕获;(d)竖直方向的超分辨图像;(e)沿(d)中蓝色直线的一维强度分布

Fig. 10 Combination of holographic optical tweezers and super-resolution microscopy^[79]. (a) Horizontal alignment of the *E-coli* cell with holographic optical tweezers; (b) the super-resolved image of the horizontally aligned cell; (c) vertical alignment of the *E-coli* cell with holographic optical tweezers; (d) the super-resolved image of the vertically aligned cell; (e) the one-dimensional intensity plot along the blue line marked in figure (d)

在光阱中作布朗运动所造成的影响。除了固定和控制生物样品取向外,全息光镊还可以同时操控多粒子并独立控制其取向,因此不仅可以大大提高同时成像的样品数量,还可以同时对不同取向的细菌进行超分辨成像,极大地提高了研究效率。此外,结合全息光镊与超分辨成像技术可以对样品进行长期跟踪研究。

3.3.2 定量相位成像

折射率是细胞的一个重要参数,细胞内部不同微器官之间的折射率存在着较为显著的差异,由细胞内部的折射率分布可以获得细胞的形态信息,解析细胞内部结构,进而获取细胞的生物化学信息(如,与分子特性相关的干质量密度),研究分析细胞的发育、病变等机制^[89-91]。光学衍射层析(ODT)是测量物体三维折射率最常用的技术,它通过测量多角度下的物体相位信息来重建三维折射率分布^[92]。与常用的机械式样品旋转技术相比,非机械式的旋转技术如微流控^[93]、声镊^[94]、电场旋转^[84]等提供了无损操控和旋转水溶液中的细胞等生物样品的手段。这些无损的样品旋转技术已在生物显微成像中

得到了应用,但是控制精度还比较低,系统装置也很复杂。利用全息光镊控制样品旋转,可以高精度地控制细胞实现 360° 旋转,并且可以对溶液中的细胞进行捕获和长时间成像分析。

近年来,全息光镊与 ODT 技术的结合开始受到研究人员的关注。2015 年,以色列特拉维夫大学的 Habaza 等^[85]首次将数字全息和全息光镊技术相结合,利用全息光镊产生两个光阱来控制酵母菌细胞实现 180° 旋转,同时利用数字全息重构了不同角度的细胞相位分布,如图 11(a)~(d)所示,并进一步利用层析算法重构得到了细胞的三维折射率分布,如图 11(e)-(f)所示。根据图中细胞的三维折射率分布可以识别细胞的内部结构,如图 11(f)中所标注的液泡(Vacuole)与细胞核(Nucleus)。Memmolò 等^[95]结合全息光镊和 ODT 证明了健康红细胞的中心区域呈凹面形状。目前,基于全息光镊旋转样品的 ODT 尚存在样品的横向移动、抖动和角度控制误差比较大等问题^[86],这些问题的存在会降低 ODT 重建像的质量,是将光镊技术应用于 ODT 研究中亟需解决的关键技术问题。

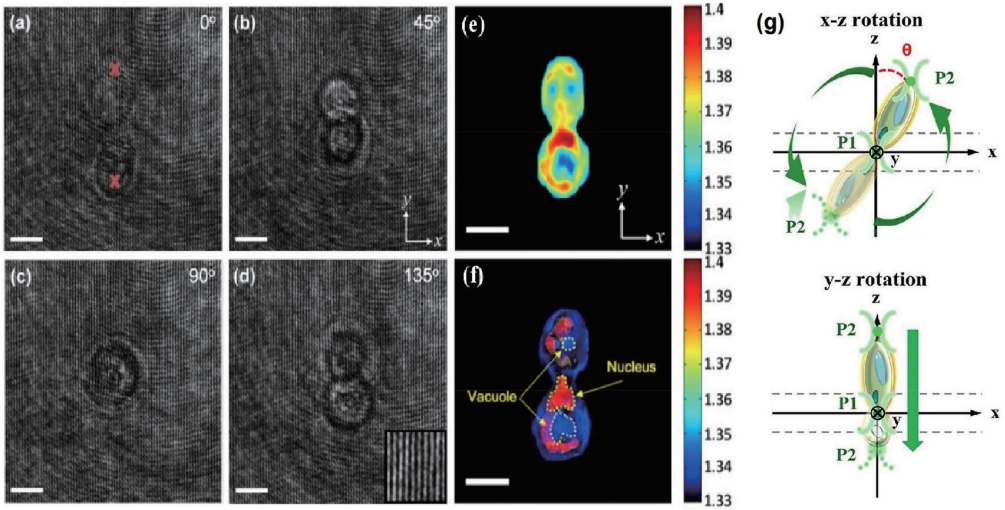


图 11 基于全息光镊旋转酵母菌细胞测量细胞的三维折射率^[85]。(a)酵母菌细胞旋转 0° 的干涉图;(b)酵母菌细胞旋转 45° 的干涉图;(c)酵母菌细胞旋转 90° 的干涉图;(d)酵母菌细胞旋转 135° 的干涉图;(e)在 z 方向中心位置处的 xy 平面切片;(f)利用层析技术重构得到的三维折射率分布;(g)利用光镊控制样品绕 x 轴或 y 轴转动

Fig. 11 Measuring the three-dimensional refractive index based on holographic optical rotation of yeast cell^[85]. (a) The interference pattern when the yeast cell is rotated to the position of 0° ; (b) the interference pattern when the yeast cell is rotated to the position of 45° ; (c) the interference pattern when the yeast cell is rotated to the position of 90° ; (d) the interference pattern when the yeast cell is rotated to the position of 135° ; (e) the xy -slice at the central position in the z -direction; (c) the reconstructed three-dimensional refractive index with the phase tomography; (g) rotating biological samples around x - or y -axis using optical tweezers

4 总结与展望

全息光镊并行独立动态操控多粒子和多点测力的功能使其在生物学研究中具有巨大的应用潜力。全息图算法是全息光镊的核心,是产生高质量光阱分布的关键。本文从点光阱和连续光阱两方面介绍了常用的全息图算法,包括非迭代和迭代算法。非迭代算法计算速度快,但光阱质量较低,而迭代算法计算代价高,但其所产生的光阱质量高。随着算法的改进和 GPU 加速技术的应用,迭代算法的应用必然更加广泛。最后本文综述了全息光镊在生物学研究中的应用进展,包括细胞生物学、单分子生物学、全息光镊与显微成像技术的结合等。全息光镊可以实现细胞生长的调节、细胞的拉伸、DNA 和蛋白质单分子力学参数的测量等,与显微成像结合则可以实现对微观物体力学特性和精细结构的同时测量。此外,全息光镊与其他交叉领域技术的结合在生物学研究中也具有一定的应用价值,比如光流控。光流控是光子学与微流的结合,目标是增强样品的光学感应^[96-98],一般具有生物学、化学和物理等多种传感功能。利用全息光镊可以对不同大小和折射率的生物样品进行无损的光学分选^[99-100],为下一步的传感或者成像分析提供合适的样品^[101]。全息光镊可以精确控制新型光力探针,如纳米棒^[102]、合成微型工具^[103]、淡水硅藻生物探针^[104]等,这种各向异性探针比各向同性球形探针更有潜力。

通过外加作用力来分析研究细胞的力学特性是常用的技术方法,比如原子力操控^[105]、介电电泳^[106]等。不过,这些技术缺乏灵活性和重复性。光镊作为一种低损伤的力学探针,具有非常高的力学稳定性和位移控制精度,已被广泛应用于研究细胞间的相互作用力。比如利用光镊测量细胞的黏附力,研究细胞的黏附作用对细胞功能(如迁移、摄粒内噬等)的影响等^[107]。由于全息光镊可以并行操控多个光学力探针,因此可以同时测量多个位置的力学参数。但是在大多数情况下,全息光镊在生物学研究中的应用只是利用了光镊的捕获、固定和移动等粒子操纵功能,没有利用光镊的测力功能。全息光镊具有传统单光镊或双光镊技术无法比拟的多点测力功能^[108]。利用全息光镊可以实现多个位置力学特性的同时测量,可以分析几秒之内不同位置的生物过程的相对差异,实现全局动态生物过程的快速准确表征^[109]。

但是,目前仍有许多因素限制了全息光镊在测

力方面的应用,如可获得的最大光学力比较小^[34]、光阱间差异较为明显^[51]和光阱的强度抖动^[110]等。激光功率的不足会导致产生大阵列光阱时每个光阱可实施的光学力过小。光阱间的强度差异主要是由全息图算法引起的^[40],不同算法得到的光阱质量差异较大,特别是由直接算法得到的光阱强度差异明显大于迭代算法得到的。SLM 液晶分子是利用脉冲信号来控制的,在 SLM 工作时会有轻微的抖动,这会导致光阱的强度发生抖动^[34]。SLM 过慢的刷新频率也是限制全息光镊应用的重要因素。商用 SLM 的刷新频率通常只有 60 Hz(分辨率为 1920 pixel×1080 pixel),因此全息光镊难以实现光阱的快速产生和控制。结合振镜、电光调制器等光束扫描器件可以在一定程度上提高全息光镊的操控能力,实现大通量的粒子捕获与并行操控^[111]。此外,全息光镊的多点测力研究也面临着一些问题。全息光镊测力通常利用数字视频显微技术,使用二维探测器(相机)来跟踪多个粒子的布朗运动。但是,受限于相机的帧率,数字视频显微技术的跟踪速度一般只能达到几百赫兹,远小于四象限探测器等位置探测器可实现的约兆赫兹的跟踪速度^[112-113]。这样慢的粒子跟踪速度使得光阱刚度的标定准确度比较低。随着 SLM 器件性能的提高和全息图算法的进一步优化,全息光镊的微粒操控和测力精度正在逐步提高^[114-120],全息光镊必然会在生物学研究中展现出巨大的应用潜力。

此外,除了相位调制外,偏振调制为全息光镊提供了更多的可能性。利用偏振控制可以提高光镊的捕获效率,实现更小纳米粒子和金属粒子等吸收性粒子的捕获和操控^[121-122]。利用光阱的偏振特性可以同时捕获多个双折射粒子并对其进行取向、旋转等控制^[123],实现微流泵等微流控制^[58],从而更好地将其应用于微流控等交叉领域的研究。结合偏振调制,未来可以实现捕获性能更突出、操控功能更丰富的全息矢量光镊技术^[124]。

参 考 文 献

- [1] Ashkin A, Dziedzic J M, Bjorkholm J E, et al. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles [J]. Optics Letters, 1986, 11(5): 288-290.
- [2] Ashkin A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure [J]. Physical Review Letters, 1970, 24(4): 156-159.
- [3] Ashkin A, Dziedzic J M. Optical levitation of liquid

- drops by radiation pressure[J]. *Science*, 1975, 187 (4181): 1073-1075.
- [4] Garcés-Chávez V, Roskey D, Summers M, et al. Optical levitation in a Bessel light beam[J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 85: 4001-4003.
- [5] He H, Friese M E J, Heckenberg N R, et al. Direct observation of transfer of angular momentum to absorptive particles from a laser beam with a phase singularity [J]. *Physical Review Letters*, 1995, 75(5): 826-829.
- [6] Simpson N B, Dholakia K, Allen L, et al. Mechanical equivalence of spin and orbital angular momentum of light: an optical spanner[J]. *Optics Letters*, 1997, 22(1): 52-54.
- [7] Friese M E J, Enger J, Rubinsztein-Dunlop H, et al. Optical angular-momentum transfer to trapped absorbing particles [J]. *Physical Review A*, 1996, 54(2): 1593-1596.
- [8] Garcés-Chávez V, McGloin D, Padgett M J, et al. Observation of the transfer of the local angular momentum density of a multiringed light beam to an optically trapped particle [J]. *Physical Review Letters*, 2003, 91(9): 093602.
- [9] Curtis J E, Grier D G. Structure of optical vortices [J]. *Physical Review Letters*, 2003, 90: 133901.
- [10] Smith S B, Cui Y, Bustamante C. Overstretching B-DNA: the elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules [J]. *Science*, 1996, 271(5250): 795-799.
- [11] Wang M D, Yin H, Landick R, et al. Stretching DNA with optical tweezers[J]. *Biophysical Journal*, 1997, 72: 1335-1346.
- [12] Guck J, Ananthkrishnan R, Mahmood H, et al. The optical stretcher: a novel laser tool to micromanipulate cells [J]. *Biophysical Journal*, 2001, 81(2): 767-784.
- [13] Visscher K, Gross S P, Block S M. Construction of multiple-beam optical traps with nanometer-resolution position sensing [J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 1996, 2 (4): 1066-1076.
- [14] MacDonald M P, Spalding G C, Dholakia K. Microfluidic sorting in an optical lattice[J]. *Nature*, 2003, 426(6965): 421-424.
- [15] Dufresne E R, Grier D G. Optical tweezer arrays and optical substrates created with diffractive optics [J]. *Review of Scientific Instruments*, 1998, 69 (5): 1974-1977.
- [16] Dufresne E R, Spalding G C, Dearing M T, et al. Computer-generated holographic optical tweezer arrays[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2001, 72(3): 1810-1816.
- [17] Mikhael J, Roth J, Helden L, et al. Archimedean-like tiling on decagonal quasicrystalline surfaces[J]. *Nature*, 2008, 454(7203): 501-504.
- [18] Liang Y S, Yao B L, Ma B H, et al. Holographic optical trapping and manipulation based on phase-only liquid-crystal spatial light modulator[J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36(3): 0309001.
梁言生, 姚保利, 马百恒, 等. 基于纯相位液晶空间光调制器的全息光学捕获与微操纵 [J]. *光学学报*, 2016, 36(3): 0309001.
- [19] Liang Y S, Yao B L, Lei M, et al. Optical micro-manipulation based on spatial modulation of optical fields [J]. *Acta Optica Sinica*, 2016, 36 (10): 1026003.
梁言生, 姚保利, 雷铭, 等. 基于空间光场调控技术的光学微操纵 [J]. *光学学报*, 2016, 36(10): 1026003.
- [20] Allen L, Beijersbergen M W, Spreeuw R J C, et al. Orbital angular momentum of light and the transformation of Laguerre-Gaussian laser modes [J]. *Physical Review A*, 1992, 45(11): 8185-8189.
- [21] Gahagan K T, Swartzlander G A. Simultaneous trapping of low-index and high-index microparticles observed with an optical-vortex trap[J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 1999, 16(4): 533-537.
- [22] Volke-Sepulveda K, Garcés-Chávez V, Chávez-Cerda S, et al. Orbital angular momentum of a high-order Bessel light beam[J]. *Journal of Optics B: Quantum and Semiclassical Optics*, 2002, 4(2): S82-S89.
- [23] Šiler M, Jákl P, Brzobohatý O, et al. Optical forces induced behavior of a particle in a non-diffracting vortex beam [J]. *Optics Express*, 2012, 20(22): 24304-24319.
- [24] Liang Y S, Lei M, Yan S H, et al. Rotating of low-refractive-index microparticles with a quasi-perfect optical vortex[J]. *Applied Optics*, 2018, 57(1): 79-84.
- [25] Liang Y S, Yan S H, He M R, et al. Generation of a double-ring perfect optical vortex by the Fourier transform of azimuthally polarized Bessel beams[J]. *Optics Letters*, 2019, 44(6): 1504-1507.
- [26] Kotar J, Leoni M, Bassetti B, et al. Hydrodynamic synchronization of colloidal oscillators [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107: 7669-7673.
- [27] Xiao K, Grier D G. Multidimensional optical fractionation of colloidal particles with holographic

- verification[J]. *Physical Review Letters*, 2010, 104(2): 028302.
- [28] Hoogenboom J P, Vossen D L J, Faivre-Moskalenko C, et al. Patterning surfaces with colloidal particles using optical tweezers[J]. *Applied Physics Letters*, 2002, 80(25): 4828-4830.
- [29] Kulin S, Kishore R, Helmerson K, et al. Optical manipulation and fusion of liposomes as microreactors[J]. *Langmuir*, 2003, 19(20): 8206-8210.
- [30] Liang Y, Cai Y, Wang Z, et al. Aberration correction in holographic optical tweezers using a high-order optical vortex[J]. *Applied Optics*, 2018, 57: 3618-3623.
- [31] Harriman J L, Linnenberger A, Serati S A. Improving spatial light modulator performance through phase compensation [J]. *Proceedings of SPIE*, 2004, 5553: 58-67.
- [32] Wulff K D, Cole D G, Clark R L, et al. Aberration correction in holographic optical tweezers[J]. *Optics Express*, 2006, 14(9): 4170-4175.
- [33] Dienerowitz M, Gibson G, Bowman R, et al. Holographic aberration correction: optimising the stiffness of an optical trap deep in the sample[J]. *Optics Express*, 2011, 19(24): 24589-24595.
- [34] Farré A, Shayegan M, López-Quesada C, et al. Positional stability of holographic optical traps[J]. *Optics Express*, 2011, 19: 21370-21384.
- [35] Ashkin A. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime [J]. *Biophysical Journal*, 1992, 61(2): 569-582.
- [36] Gross S P. Application of optical traps *in vivo* [M] // *Methods in enzymology*. [S.l.]: Elsevier, 2003: 162-174.
- [37] Svoboda K, Block S M. Biological applications of optical forces[J]. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 1994, 23(1): 247-285.
- [38] Vermeulen K C, Wuite G J L, Stienen G J M, et al. Optical trap stiffness in the presence and absence of spherical aberrations[J]. *Applied Optics*, 2006, 45(8): 1812-1819.
- [39] Pesce G, Volpe G, Maragó O M, et al. Step-by-step guide to the realization of advanced optical tweezers [J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 2015, 32(5): B84-B89.
- [40] Goodman J W. Introduction to Fourier optics[M]. [S.l.]: Roberts and Company Publishers, 2005.
- [41] Curtis J E, Koss B A, Grier D G. Dynamic holographic optical tweezers [J]. *Optics Communications*, 2002, 207: 169-175.
- [42] Liesener J, Reicherter M, Haist T, et al. Multi-functional optical tweezers using computer-generated holograms[J]. *Optics Communications*, 2000, 185(1/2/3): 77-82.
- [43] Yu X H, Yao B L, Lei M, et al. Polarization-sensitive diffractive optical elements fabricated in BR films with femtosecond laser [J]. *Applied Physics B*, 2014, 115(3): 365-369.
- [44] Ren H R, Li X P, Gu M. Polarization-multiplexed multifocal arrays by a π -phase-step-modulated azimuthally polarized beam [J]. *Optics Letters*, 2014, 39(24): 6771-6774.
- [45] Allegre O J, Jin Y, Perrie W, et al. Complete wavefront and polarization control for ultrashort-pulse laser microprocessing [J]. *Optics Express*, 2013, 21(18): 21198-21207.
- [46] Mair A, Vaziri A, Weihs G, et al. Entanglement of the orbital angular momentum states of photons[J]. *Nature*, 2001, 412(6844): 313-316.
- [47] Auyeung R C Y, Kim H, Charipar N A, et al. Laser forward transfer based on a spatial light modulator[J]. *Applied Physics A*, 2010, 102: 21-26.
- [48] Montes-Usategui M, Pleguezuelos E, Andilla J, et al. Fast generation of holographic optical tweezers by random mask encoding of Fourier components [J]. *Optics Express*, 2006, 14(6): 2101-2107.
- [49] Polin M, Ladavac K, Lee S-H, et al. Optimized holographic optical traps[J]. *Optics Express*, 2005, 13: 5831-5845.
- [50] Gerchberg R W, Saxton W O. A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures[J]. *Optik*, 1972, 35: 237-246.
- [51] di Leonardo R, Ianni F, Ruocco G. Computer generation of optimal holograms for optical trap arrays[J]. *Optics Express*, 2007, 15(4): 1913-1922.
- [52] Kirkham G R, Britchford E, Upton T, et al. Precision assembly of complex cellular microenvironments using holographic optical tweezers[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8577.
- [53] Mejean C O, Schaefer A W, Millman E A, et al. Multiplexed force measurements on live cells with holographic optical tweezers [J]. *Optics Express*, 2009, 17(8): 6209-6217.
- [54] Ehrlicher A, Betz T, Stuhmann B, et al. Guiding neuronal growth with light[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99: 16024-16028.
- [55] Buck K B, Schaefer A W, Schoonderwoert V T, et al. Local Arp2/3-dependent actin assembly

- modulates applied traction force during apCAM adhesion site maturation[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2017, 28(1): 98-110.
- [56] Wu T, Nieminen T A, Mohanty S, et al. A photon-driven micromotor can direct nerve fibre growth[J]. *Nature Photonics*, 2012, 6(1): 62.
- [57] Maruo S, Inoue H. Optically driven micropump produced by three-dimensional two-photon microfabrication [J]. *Applied Physics Letters*, 2006, 89(14): 144101.
- [58] Metzger N K, Mazilu M, Kelemen L, et al. Observation and simulation of an optically driven micromotor[J]. *Journal of Optics*, 2011, 13(4): 044018.
- [59] di Leonardo J L R, Mushfique H, Cooper J M, et al. Multipoint holographic optical velocimetry in microfluidic systems [J]. *Physical Review Letters*, 2006, 96: 134502.
- [60] Ladavac K, Grier D G. Microoptomechanical pumps assembled and driven by holographic optical vortex arrays[J]. *Optics Express*, 2004, 12(6): 1144-1149.
- [61] Kress H, Park J-G, Mejean C O, et al. Cell stimulation with optically manipulated microspheres [J]. *Nature Methods*, 2009, 6: 905.
- [62] Gauvin F, Spinella P C, Lacroix J, et al. Association between length of storage of transfused red blood cells and multiple organ dysfunction syndrome in pediatric intensive care patients [J]. *Transfusion*, 2010, 50(9): 1902-1913.
- [63] Tomaiuolo G. Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics[J]. *Biomicrofluidics*, 2014, 8(5): 051501.
- [64] Miccio L, Memmolo P, Merola F, et al. Red blood cell as an adaptive optofluidic microlens[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6502.
- [65] Merola F, Barroso Á, Miccio L, et al. Biobehavior of RBCs under optically-induced mechanical stress[J]. *Cytometry Part A*, 2017, 91(5): 527-533.
- [66] Capitanio M, Pavone F S. Interrogating biology with force: single molecule high-resolution measurements with optical tweezers[J]. *Biophysical Journal*, 2013, 105(6): 1293-1303.
- [67] Candelli A, Block J, Brouwer I, et al. Why only stretch when you can also see? Correlative optical Tweezers-Fluorescence Microscopy (CTFM) as a versatile tool for cell biology[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2014, 25: 8120.
- [68] Gosse C, Croquette V. Magnetic tweezers: micromanipulation and force measurement at the molecular level[J]. *Biophysical Journal*, 2002, 82(6): 3314-3329.
- [69] Fazal F M, Block S M. Optical tweezers study life under tension[J]. *Nature Photonics*, 2011, 5(6): 318-321.
- [70] Heller I, Hoekstra T P, King G A, et al. Optical tweezers analysis of DNA-protein complexes [J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(6): 3087-3119.
- [71] Farré A, van der Horst A, Blab G A, et al. Stretching single DNA molecules to demonstrate high-force capabilities of holographic optical tweezers[J]. *Journal of Biophotonics*, 2010, 3(4): 224-233.
- [72] Swei S, Raudsepp A, Kent L M, et al. DNA visualization in single molecule studies carried out with optical tweezers: covalent versus non-covalent attachment of fluorophores [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 466(2): 226-231.
- [73] Finer J T, Simmons R M, Spudich J A. Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometre steps [J]. *Nature*, 1994, 368(6467): 113-119.
- [74] Oroszi L, Galajda P, Kirei H, et al. Direct measurement of torque in an optical trap and its application to double-strand DNA [J]. *Physical Review Letters*, 2006, 97(5): 058301.
- [75] Forth S, Sheinin M Y, Inman J, et al. Torque measurement at the single-molecule level [J]. *Annual Review of Biophysics*, 2013, 42(1): 583-604.
- [76] Sinjab F, Awuah D, Gibson G, et al. Holographic optical trapping Raman micro-spectroscopy for non-invasive measurement and manipulation of live cells [J]. *Optics Express*, 2018, 26(19): 25211-25225.
- [77] Spesytyev R, Rendall H A, Dholakia K. Wide-field three-dimensional optical imaging using temporal focusing for holographically trapped microparticles [J]. *Optics Letters*, 2015, 40(21): 4847-4850.
- [78] Lee S H. Optimal integration of wide field illumination and holographic optical tweezers for multimodal microscopy with ultimate flexibility and versatility[J]. *Optics Express*, 2018, 26(7): 8049-8058.
- [79] Diekmann R, Wolfson D L, Spahn C, et al. Nanoscopy of bacterial cells immobilized by holographic optical tweezers [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13711.
- [80] Xie M Y, Mills J K, Wang Y, et al. Automated translational and rotational control of biological cells with a robot-aided optical tweezers manipulation

- system [J]. IEEE Transactions on Automation Science and Engineering, 2016, 13(2): 543-551.
- [81] Yang X L, Niu X H, Liu Z, et al. Accurate extraction of the self-rotational speed for cells in an electrokinetics force field by an image matching algorithm[J]. Micromachines, 2017, 8(9): 282.
- [82] Xie M Y, Shakoor A, Shen Y J, et al. Out-of-plane rotation control of biological cells with a robot-tweezers manipulation system for orientation-based cell surgery[J]. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 2019, 66(1): 199-207.
- [83] Lin Y C, Chen H C, Tu H Y, et al. Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy [J]. Optics Letters, 2017, 42(7): 1321-1324.
- [84] Kelbauskas L, Shetty R, Cao B, et al. Optical computed tomography for spatially isotropic four-dimensional imaging of live single cells[J]. Science Advances, 2017, 3(12): e1602580.
- [85] Habaza M, Gilboa B, Roichman Y, et al. Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers[J]. Optics Letters, 2015, 40(8): 1881-1884.
- [86] Cao B, Kelbauskas L, Chan S, et al. Rotation of single live mammalian cells using dynamic holographic optical tweezers[J]. Optics and Lasers in Engineering, 2017, 92: 70-75.
- [87] Sahl S J, Hell S W, Jakobs S. Fluorescence nanoscopy in cell biology [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2017, 18(11): 685-701.
- [88] Willaert R, Kasas S, Devreese B, et al. Yeast nanobiotechnology[J]. Fermentation, 2016, 2(4): 18.
- [89] Sung Y, Choi W, Fang-Yen C, et al. Optical diffraction tomography for high resolution live cell imaging[J]. Optics Express, 2009, 17(1): 266-277.
- [90] Haeberlé O, Belkebir K, Giovaninni H, et al. Tomographic diffractive microscopy: basics, techniques and perspectives[J]. Journal of Modern Optics, 2010, 57(9): 686-699.
- [91] Cooper K L, Oh S, Sung Y, et al. Multiple phases of chondrocyte enlargement underlie differences in skeletal proportions[J]. Nature, 2013, 495(7441): 375-378.
- [92] Lauer V. New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope [J]. Journal of Microscopy, 2002, 205(2): 165-176.
- [93] Mirjam S, Gheorghe C, Salvatore G, et al. Three - dimensional correlative single - cell imaging utilizing fluorescence and refractive index tomography[J]. Journal of Biophoton, 2018, 11(3): e201700145.
- [94] Ahmed D, Ozcelik A, Bojanala N, et al. Rotational manipulation of single cells and organisms using acoustic waves[J]. Nature Communications, 2016, 7: 11085.
- [95] Memmolo P, Miccio L, Merola F, et al. 3D morphometry of red blood cells by digital holography[J]. Cytometry Part A, 2014, 85(12): 1030-1036.
- [96] Mohanty S. Optically-actuated translational and rotational motion at the microscale for microfluidic manipulation and characterization [J]. Lab on a Chip, 2012, 12(19): 3624-3636.
- [97] Tarn M D, Lopez-Martinez M J, Pamme N. On-chip processing of particles and cells via multilaminar flow streams [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(1): 139-161.
- [98] Padgett M, di Leonardo R. Holographic optical tweezers and their relevance to lab on chip devices [J]. Lab on a Chip, 2011, 11(7): 1196-1205.
- [99] Buican T N, Smyth M J, Crissman H A, et al. Automated single-cell manipulation and sorting by light trapping[J]. Applied Optics, 1987, 26(24): 5311-5316.
- [100] Hart S J, Terray A, Leski T A, et al. Discovery of a significant optical chromatographic difference between spores of *Bacillus anthracis* and its close relative, *bacillus thuringiensis* [J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(9): 3221-3225.
- [101] Fan X D, White I M. Optofluidic microsystems for chemical and biological analysis [J]. Nature Photonics, 2011, 5(10): 591-597.
- [102] Trojek J, Chvátal L, Zemánek P. Optical alignment and confinement of an ellipsoidal nanorod in optical tweezers: a theoretical study [J]. Journal of the Optical Society of America A, 2012, 29(7): 1224-1236.
- [103] Carberry D M, Simpson S H, Grieve J A, et al. Calibration of optically trapped nanotools [J]. Nanotechnology, 2010, 21: 175501.
- [104] Olof S N, Grieve J A, Phillips D B, et al. Measuring nanoscale forces with living probes [J]. Nano Letters, 2012, 12: 6018-6023.
- [105] Smith D P E, Hörber J K H, Binnig G, et al. Structure, registry and imaging mechanism of alkylcyanobiphenyl molecules by tunnelling microscopy[J]. Nature, 1990, 344(6267): 641-

- 644.
- [106] Chiou P Y, Ohta A T, Wu M C. Massively parallel manipulation of single cells and microparticles using optical images[J]. *Nature*, 2005, 436(7049): 370-372.
- [107] Jiang G Y, Giannone G, Critchley D R, et al. Two-piconewton slip bond between fibronectin and the cytoskeleton depends on talin[J]. *Nature*, 2003, 424(6946): 334-337.
- [108] Tarbashevich K, Reichman-Fried M, Grimaldi C, et al. Chemokine-dependent pH elevation at the cell front sustains polarity in directionally migrating zebrafish germ cells[J]. *Current Biology*, 2015, 25(8): 1096-1103.
- [109] Hörner F, Meissner R, Polali S, et al. Holographic optical tweezers-based *in vivo* manipulations in zebrafish embryos [J]. *Journal of Biophotonics*, 2017, 10(11): 1492-1501.
- [110] Persson M, Engström D, Frank A, et al. Minimizing intensity fluctuations in dynamic holographic optical tweezers by restricted phase change[J]. *Optics Express*, 2010, 18(11): 11250-11263.
- [111] Shaw L A, Chizari S, Hopkins J B. Improving the throughput of automated holographic optical tweezers[J]. *Applied Optics*, 2018, 57(22): 6396-6402.
- [112] Zagato E, Forier K, Martens T, et al. Single-particle tracking for studying nanomaterial dynamics: applications and fundamentals in drug delivery[J]. *Nanomedicine*, 2014, 9(6): 913-927.
- [113] Huhle A, Klaue D, Brutzer H, et al. Camera-based three-dimensional real-time particle tracking at kHz rates and Ångström accuracy [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 5885.
- [114] Marsà F, Farré A, Martín-Badosa E, et al. Holographic optical tweezers combined with back-focal-plane displacement detection [J]. *Optics Express*, 2013, 21(25): 30282-30294.
- [115] van der Horst A, Forde N R. Calibration of dynamic holographic optical tweezers for force measurements on biomaterials[J]. *Optics Express*, 2008, 16(25): 20987-21003.
- [116] van der Horst A, Forde N R. Power spectral analysis for optical trap stiffness calibration from high-speed camera position detection with limited bandwidth[J]. *Optics Express*, 2010, 18(8): 7670-7677.
- [117] McLane L T, Keith M, Scrimgeour J, et al. Force measurements with a translating holographic optical trap[J]. *Proceedings of SPIE*, 2010, 7762J: 77621.
- [118] Slawomir D, Korzeniewska A, Lamperska W, et al. Double wavelength multifunctional optical tweezers[J]. *Proceedings of SPIE*, 2018, 109760C: 10976.
- [119] Kim H, Kim M, Lee W, et al. Gerchberg-Saxton algorithm for fast and efficient atom rearrangement in optical tweezer traps[J]. *Optics Express*, 2019, 27(3): 2184-2196.
- [120] Chen H, Guo Y F, Chen Z Z, et al. Holographic optical tweezers obtained by using the three-dimensional Gerchberg-Saxton algorithm [J]. *Journal of Optics*, 2013, 15(3): 035401.
- [121] Roxworthy B J, Toussaint K C Jr. Optical trapping with π -phase cylindrical vector beams [J]. *New Journal of Physics*, 2010, 12(7): 073012.
- [122] Huang L, Guo H L, Li J F, et al. Optical trapping of gold nanoparticles by cylindrical vector beam[J]. *Optics Letters*, 2012, 37(10): 1694-1696.
- [123] Preece D, Keen S, Botvinick E, et al. Independent polarisation control of multiple optical traps [J]. *Optics Express*, 2008, 16(20): 15897-15902.
- [124] Bhebhe N, Williams P A C, Rosales-Guzmán C, et al. A vector holographic optical trap[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 17387.