

基于锥形光纤光镊的细胞操控与神经调控

肖雨晴^{1,2}, 史阳¹, 李宝军¹, 辛洪宝^{1*}¹暨南大学纳米光子学研究院, 广东省纳米光学操控重点实验室, 广东 广州 511443;²仲恺农业工程学院自动化学院, 广东 广州 510225

摘要 光学操控已被广泛应用于生物医学、物理和材料科学等领域。近年来,锥形光纤光镊由于具有操作灵活、结构紧凑、易于制造等特点,在光学操控领域引起了极大关注。作为一种非侵入式光操控工具,锥形光纤光镊不会对生物组织和活体细胞产生接触式物理损伤,因而可以直接应用于细胞的多维度操控。此外,红外光波对生物组织具有良好的穿透性,这使得锥形光纤光镊在生物及医学领域有着不俗的表现。在这篇综述,笔者总结了锥形光纤光镊在单细胞、多细胞、亚细胞等层面的研究现状,并介绍了其在神经细胞调控方面的最新进展。

关键词 生物光学; 光纤光学; 光纤光镊; 光捕获; 细胞操控; 神经调控

中图分类号 O436 文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL230506

1 引言

“光学操控”——依托于“光镊”这一工具——起源于 20 世纪。早在 1970 年,“光镊之父”Ashkin^[1]就在贝尔实验室使用两束反向传播的激光束来捕获粒子。此后, Ashkin 及其同事^[2]在进行光力研究时发现,利用单束高度聚焦的激光所产生的光梯度力和散射力,可以实现对微粒的稳定捕获。因而,他们将光捕获技术命名为“光镊”,该技术也被称为传统光镊(COTs)。在随后的几年中, Ashkin 及其同事^[3-4]进行了一系列的相关研究,利用单个聚焦光束不仅实现了从几十纳米到几十微米尺寸粒子的捕获,还实现了对病毒和细菌的捕获。经过近 50 年的发展,利用传统光镊进行光学捕获和操控在方法及应用方面都取得了巨大进展,操控样品的范围从不同的介质颗粒拓展到生物细胞和生物分子^[5-8]。然而,传统光镊技术必须依靠高数值孔径(NA)的物镜对激光束进行聚焦,用于激光扩束和转向的各类光学元件是必不可少的。这种庞大的结构使得传统光镊技术缺乏可操作性和灵活性。1998 年,全息光镊(HOTs)被开发出来^[9],该技术通过空间光调制器实现计算机生成的全息图,从而利用复杂的结构光场对多个光阱进行控制。全息光镊技术极大地提高了光镊的可控程度,因而被广泛应用于多个粒子的捕获和操控^[10-13]。然而,由于衍射极限的限制,全息光镊难以在纳米尺度上对粒子进行稳定捕获。21 世纪后期,基于表面等离子激元的光镊技术(SPOTs)问世^[14-15],该技术可

以实现纳米粒子的稳定捕获,甚至可以对几纳米尺度的单分子进行操控^[16-17]。基于表面等离子激元的光镊虽然具有捕获纳米级粒子的能力,但需要精心设计和制作纳米结构,操控灵活性有限。总的来说,传统光镊、全息光镊以及基于表面等离子激元的光镊虽然在原理、结构等方面存在差异,但都需要一些灵活性较差的复杂设备和组件。因此,寻求一种简单且灵活的操控工具十分重要。

光纤光镊(OFTs)的发展使其成为光学捕获和样品操控的有力候选者^[18-19]。光纤光镊仅需要两根光纤即可实现样品操控,结构简单,因此在操作灵活性方面具有非凡的优势。光纤可以直接插入厚样品和浑浊介质中,大大增加了该技术的适用性。由于制造工艺简单,光纤光镊使光学操控成为一种低成本的技术。此外,光纤光镊还可以方便地集成到小型设备中,例如光流控通道和芯片等^[20]。光纤光镊首次出现于 1993 年,研究人员使用两根对齐的单模光纤进行了光学捕获^[21]。这种结构虽然可以利用光散射力直接捕获和操控微小的粒子和细胞,但需要使用两根光纤,操控灵活性受限^[22]。事实上,使用单根锥形光纤(TFPs)便可实现对粒子的捕获和操控。1997 年,采用单根锥形光纤进行光学操控的方法被首次报道^[23]。这种基于锥形光纤的光镊技术大大提高了光操控的灵活性。单根光纤的末端被拉成类似透镜的形状(锥形)后,出射激光就会在粒子上产生更强的梯度力,使光学捕获更容易实现^[24-28]。目前,锥形光纤已被广泛

收稿日期: 2023-02-09; 修回日期: 2023-03-03; 录用日期: 2023-03-15; 网络首发日期: 2023-03-25

基金项目: 国家自然科学基金(62135005,61975065,61827822,12204196)、广东省自然科学基金杰出青年项目(2019B151502035)、广州市科技计划项目(202102010088)

通信作者: *hongbaoxin@jnu.edu.cn

应用于单细胞、多细胞、亚细胞操控与分析以及神经调控研究中。锥形光纤光镊(TOFTs)的工作原理可以细分为两类:光热效应和光力。前者通过激光在粒子周围介质中产生热梯度和声梯度进行捕获^[29],而后者则依靠沿着光传播方向的散射力和沿着光强梯度

方向的梯度力的协同作用进行捕获^[30]。在这篇综述中,笔者将聚焦锥形光纤光镊技术,总结它在单细胞分析、多细胞组装、亚细胞水平操控方面的研究现状,并进一步关注其在神经细胞调控上的最新进展(如图 1 所示)。

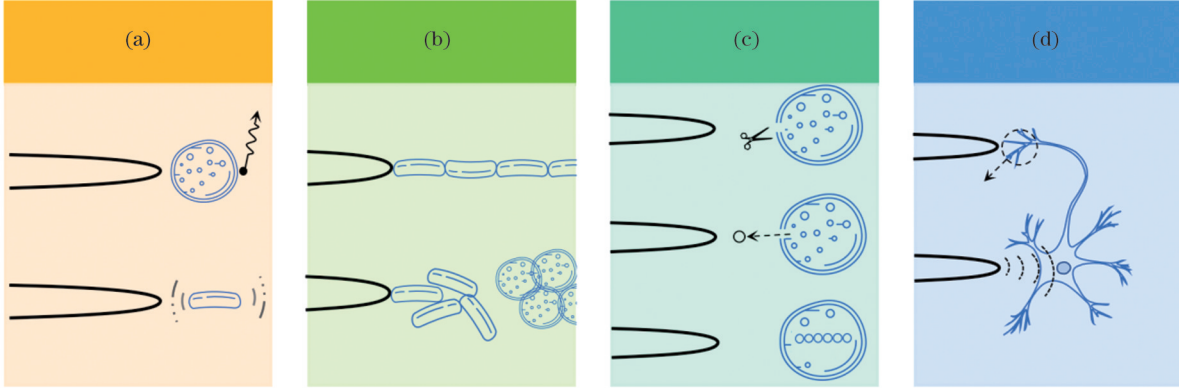


图 1 利用锥形光纤进行细胞光学操控与神经调控的概览图。(a)单细胞捕获与分析;(b)多细胞组装;(c)亚细胞水平操控;(d)神经细胞调控

Fig. 1 An overview of cell manipulation and neuromodulation using tapered optical fibers. (a) Single-cell trapping and analysis; (b) multi-cellular assembly; (c) sub-cellular manipulation; (d) neuromodulation

2 锥形光纤光镊介绍

2.1 传统光镊的基本原理

粒子位于激光束的焦点附近时,照射到介质粒子上的入射光发生散射产生动量转移,从而在粒子上产生光力作用。由此产生的光学力一般由散射力和梯度力这两个分量组成。在瑞利散射条件下,即入射激光的波长远大于捕获粒子尺寸时,可以将粒子作为电偶极子处理,从而计算光力^[30]。此时,对于半径为 a 的粒子来说,光散射力的计算公式为

$$F_{\text{scatt}} = \frac{I_0 \sigma n_m}{c}, \quad (1)$$

其中,

$$\sigma = \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2, \quad (2)$$

式中: I_0 是入射光的强度; σ 是粒子的散射截面; n_m 是环境介质的折射率; c 是真空中光速; m 是粒子与环境介质折射率的比值(n_p/n_m); λ 是入射光波长。可以看出,光散射力方向与入射光的方向相同,并且与光的强度成正比。光梯度力是由非均匀光场与其诱导的偶极子之间的相互作用产生的,其计算公式为

$$F_g = \frac{2\pi\alpha}{cnm^2} \nabla I_0, \quad (3)$$

其中,

$$\alpha = n_m^2 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right). \quad (4)$$

然而,在许多情况下,被捕获粒子的尺寸与激光的波长相当。在这种情况下,电偶极子方法是无效的。对于光力的计算,需要应用更复杂的电磁理论。

幸运的是,基于电磁理论的数值模拟和计算方法,如有限元法和有限时域差分法,可以应对各种情况下的光力计算。通过计算与时间无关的麦克斯韦应力张量沿粒子外表面的总积分,可以得到施加在粒子上的总光力(F_0)。麦克斯韦应力张量 $\langle T_M \rangle$ 可以表示为

$$\langle T_M \rangle = D \cdot E^* + HB^* - \frac{1}{2} (D \cdot E^* + HB^*) I, \quad (5)$$

式中: D 和 H 分别表示电位移矢量和磁场强度; E^* 和 B^* 分别表示电场强度 E 和磁通量 B 的复共轭; I 为各向同性张量。 F_0 可以表示为

$$F_0 = \oint_S \langle T_M \rangle \cdot n dS \quad (6)$$

式中: n 是表面法向量; S 是封闭表面。

2.2 锥形光纤光镊的原理

一般来说,光纤光镊仅需一根锥形光纤即可实现光捕获和操控,且结构简单,易于制作。图 2(a)显示了使用单个锥形光纤探针捕获粒子的工作原理^[31],其中 D_A 表示粒子到光纤端口的轴向距离(x 方向), D_T 表示粒子到光轴的横向距离(y 方向)。一旦激光束射入光纤,被锥形端口聚焦后发出的光将对粒子施加光力。光力由两部分组成,即光梯度力 F_g 和光散射力 F_s 。光梯度力 F_g 倾向于吸引粒子,而光散射力 F_s 则倾向于推开粒子,它们的合力一起支配粒子的运动。为了更清晰地描述,图 2(b)给出了锥形光纤尖端附近的光场分布^[32]。从图 2(b)可以看出,激光束在光纤尖端聚焦,使得光纤尖端的光强度最大,产生的强的光梯度力可用于粒子捕获。粒子受到的光力可以通过计算其表面的麦克斯韦应力张量的积分得到。图 2(c)显示了沿光轴方向施加在粒子上的力 F_x

随 D_A (即 $D_T=0$) 的变化规律。当粒子接近锥形光纤尖端时 ($D_A < 13 \mu\text{m}$), F_x 为负数, 这表明有一个朝向光纤尖端的捕获力。在此区域中, 光梯度力 F_g 支配粒子的运动, 粒子可以被捕获。当粒子远离锥形光纤尖端时, F_x 为正数, 这表明在光传播方向上粒子受到推力。在这个区域, 光散射力 F_s 支配着粒子的运动, 并将粒子推开。这两种不同类型的光力是由光纤尖端附近的光场分布引起的。总的来说, 聚焦光束引起

的光梯度力将粒子拉向焦点, 而光散射力则倾向于将它们沿着光轴推开。在光梯度力占主导地位的区域, 粒子可以通过光学梯度力被捕获在焦点附近的三维空间中^[33]。锥形光纤依靠自身的几何结构, 在引导激光传播的同时对其聚焦[如图 2(b)所示], 从而同传统光镊一样产生光捕获力。而常规平切的光纤没有聚焦功能, 必须借助辅助的光聚焦工具, 如透镜、微球、波带片等, 才能具备“光镊”功能。

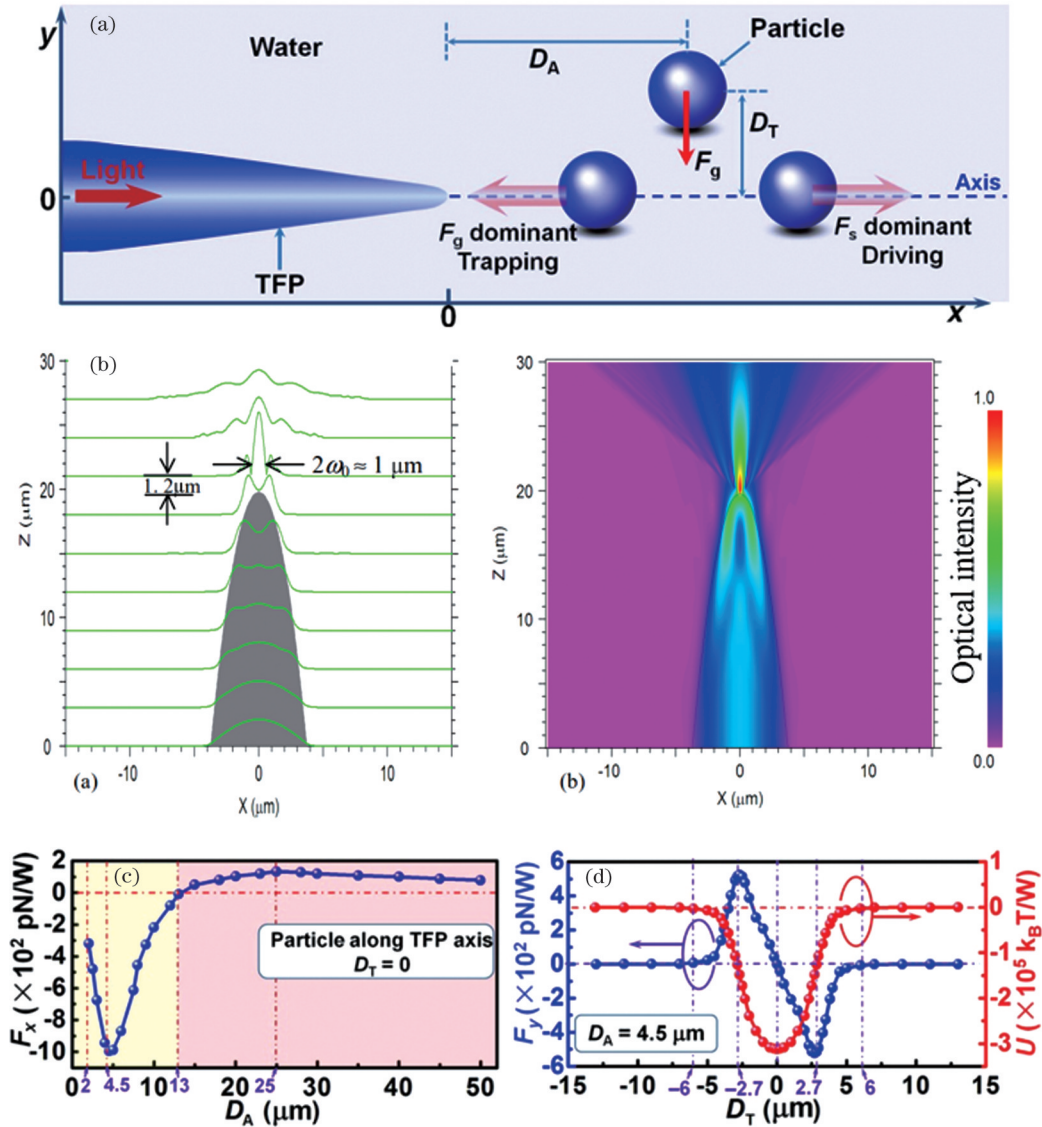


图2 锥形光纤光镊的光捕获原理^[31-32]。(a)利用锥形光纤光镊进行光捕获和操控的示意图^[31]; (b)光纤尖端附近的光强分布^[32]; (c)~(d)锥形光纤光镊施加在粒子上的光力的计算结果^[31]: (c)沿光轴方向的光力(F_x)随 D_A 的变化; (d) $D_A=4.5 \mu\text{m}$ 处的横向光力(F_y)分布

Fig. 2 Optical trapping principle of tapered optical fiber tweezers (TOFTs)^[31-32]. (a) Schematic of optical trapping and manipulation using TOFTs^[31]; (b) light intensity distribution near the fiber tip^[32]; (c)–(d) calculated optical force exerted on particles by TOFTs^[31]: (c) variation of optical force in axial direction (F_x) with D_A ; (d) transverse optical force (F_y) distribution at $D_A=4.5 \mu\text{m}$

2.3 锥形光纤光镊与传统光镊

对于锥形光纤光镊, 只有具备光聚焦的光纤末端才能产生足够的光梯度力, 进而实现对粒子的捕获, 这与传统的光镊机制相同。只不过传统的光镊依靠高数值孔径(NA)的物镜实现强聚焦, 从而产生足够

的光梯度力将粒子捕获在焦点附近。对于锥形光纤光镊, 激光被光纤的端面聚焦, 产生的光梯度力也可以捕获粒子。锥形光纤光镊的捕获能力在很大程度上取决于光纤末端的形状, 因为光纤末端的形状直接影响了光纤末端的光聚焦情况。对于具有平坦端面

的光纤,其出射光难以被聚焦,无法捕获粒子,相反,粒子还会被光散射力推开。只有具有抛物面或凸面的锥形光纤才能将激光进行高度聚焦,从而产生光梯度力,捕获粒子。光纤尖端的聚焦效果越强,产生的光梯度力就越大。这种高度聚焦的光可为粒子捕获提供强大的光梯度力。与传统的光镊相比,锥形光纤光镊的捕获效率毫不逊色。实际上,已有计算表明:对于直径为 $10\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯颗粒,锥形光纤光镊的捕获效率接近传统光镊的 2 倍^[31]。因而,锥形光纤光镊也可以用于捕获尺寸从几百纳米到几十微米的粒子和细胞。图 3(a)展示了锥形光纤光镊对尺寸逐渐增大的粒子/细胞的捕获结果^[31,34-36],单个锥形光纤即可实现传统光镊的功能。对于微/纳尺度的样品,两种光镊技术的捕获稳定性都会不可避免地受到布朗

运动的影响。此外,两种光镊技术都会受到衍射极限的限制,很难捕获直径小于衍射极限的粒子。锥形光纤光镊与传统光镊的主要区别在于:传统光镊可以实现真正意义上的非接触捕获,而样品被锥形光纤光镊捕获后可能会与光纤表面接触,从而产生物理损伤。通过改变锥形光纤末端的形状,使焦点距离光纤尖端几微米,锥形光纤光镊也可以实现非接触式光捕获^[36]。图 3(b)展示了锥形光纤光镊对随机游动的大肠杆菌进行非接触式捕获的过程,大肠杆菌被稳定捕获后($t=2.3\ \text{s}$)仍然与锥形光纤的末端保持大约 $1.5\ \mu\text{m}$ 的空间距离。这是由于这种锥形光纤的末端突然变细,使得从光纤输出的光束焦点远离光纤末端,从而避免了细菌在捕获时接触光纤尖端造成物理损伤。

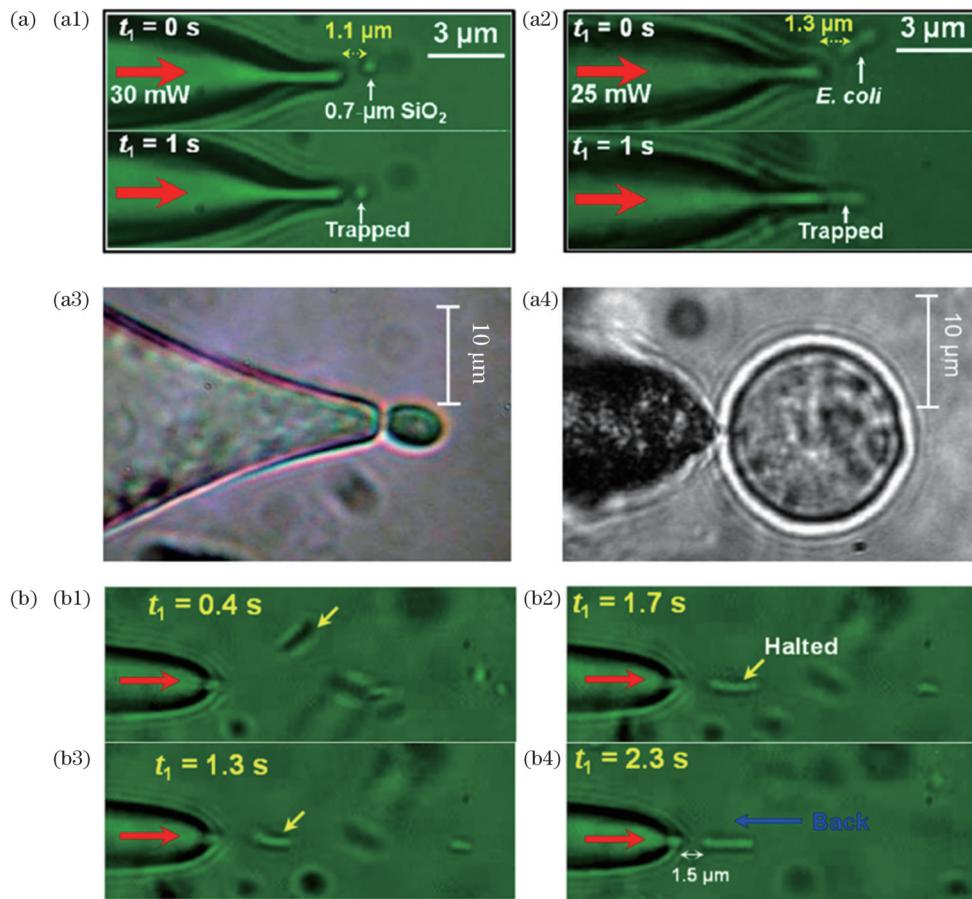


图 3 利用锥形光纤光镊实现颗粒、细胞、细菌的捕获^[31,34-36]。(a)锥形光纤光镊用于捕获不同大小的颗粒和细胞:(a1)直径为 $0.7\ \mu\text{m}$ 的二氧化硅微球^[31];(a2)大肠杆菌^[31];(a3)酵母细胞^[34];(a4)中国仓鼠卵巢细胞^[35];(b)锥形光纤光镊对大肠杆菌的非接触光捕获^[36]

Fig. 3 Trapping particles, cells, and bacterium by TOFTs. (a) TOFTs for trapping particles and cells of different sizes: (a1) silica microspheres with a diameter of $0.7\ \mu\text{m}$ ^[31]; (a2) *E. coli*^[31]; (a3) yeast cells^[34]; (a4) Chinese hamster ovary cell^[35]; (b) non-contact optical trapping of *E. coli* by TOFTs^[36]

传统光镊系统依赖于用于光聚焦的高数值孔径物镜,以及用于激光扩束和转向的光学元件。而锥形光纤光镊易于制造,结构简单,除了结构紧凑外,在操作灵活性上也更具优势,仅需简单地移动光纤,就可以灵活地操控被捕获的粒子。图 4 展示了一些使用锥形光纤

光镊精准捕获和灵活操控粒子、细菌的实例^[31,37]。将锥形光纤光镊精准地指向目标颗粒,利用锥形光纤光镊的捕获能力,通过开关激光,就可以对液体中的目标颗粒进行精准的拾起(捕获)与放置(释放)操作,这种操控方式能够进一步将粒子精确地排列成所设计的图案

[如图 4(a)所示],甚至可以对流体环境中的微生物进行精准操控[如图 4(b)所示]^[37]。此外,单根锥形光纤可以以任意角度、任意深度插入样品中,大大增加了操控的灵活性。以上优点使得锥形光纤光镊可以应用于

各种各样的环境中,而传统光镊则缺乏这种能力。此外,锥形光纤光镊还可以通过与非球面透镜的配合,在真空中实现对粒子的光捕获和光冷却^[38]。为了更直观地对比,表 1 总结了锥形光纤光镊与传统光镊的对比。

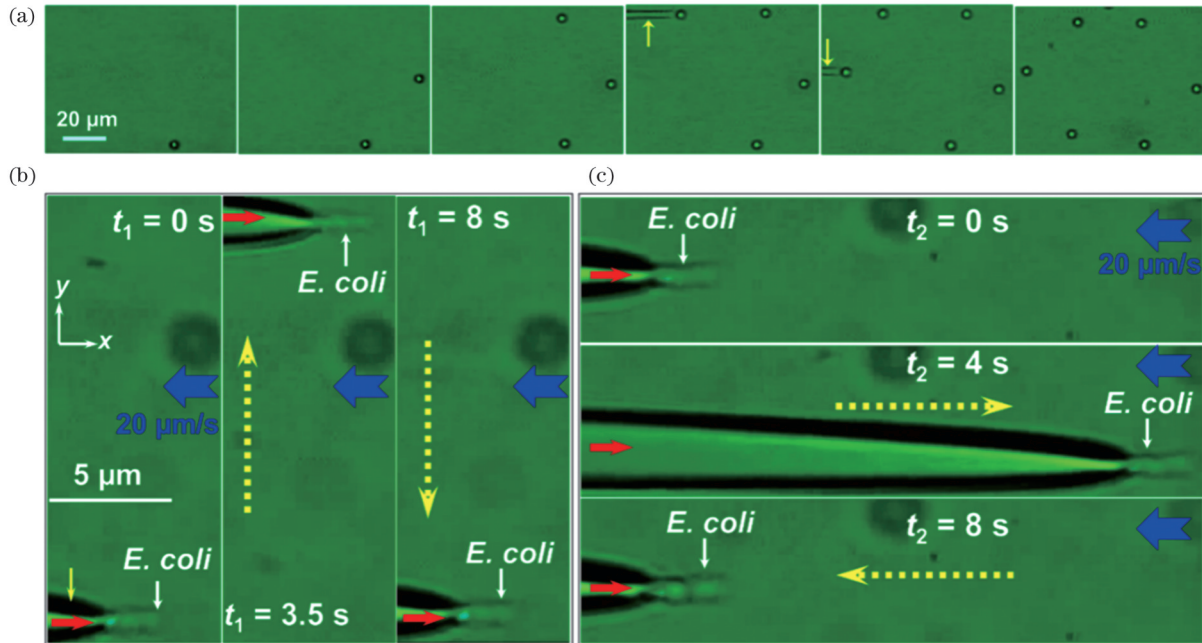


图 4 通过锥形光纤光镊灵活地操控粒子和细菌。(a)使用锥形光纤光镊将粒子排列成六边形图案^[31];锥形光纤完成捕获后,粒子被拾取并被放置到指定位置;(b)~(c)在流动环境中灵活操控大肠杆菌^[37],其中黄色箭头表示光纤移动方向,蓝色箭头表示流动方向

Fig. 4 Flexible manipulation of trapped particles and bacteria by TOFTs. (a) Arrangement of six particles into a hexagon^[31]: the particles are picked up and placed into the designated position after trapping by flexible movement of the fiber (yellow arrow indicated); (b)~(c) flexible manipulation of a trapped *E. coli* bacterium in flowing environment^[37], where the yellow solid arrows indicate the fiber movement direction and the blue arrows indicate the flowing direction

表 1 锥形光纤光镊 (TOFTs) 与传统光镊 (COTs) 的对比

Table 1 Comparison of TOFTs and COTs

Item	TOFTs	COTs
Key components	Laser source, tapered optical fiber	Laser source, high NA objective, a number of optical components for beam expanding and steering
Fabrication and construction	Fabrication method is easy. It is simple to fabricate a tapered optical fiber with different methods	Meticulous design of the beam path via adjusting beam expanding and steering components is necessary
Integration capability	Highly compact, capable of being integrated into microfluidic platform	Not compact
Manipulation flexibility	Highly flexible. Trapped particles can be delivered to any designated positions by simply moving the fiber	Less flexible. Trapped particles can be manipulated by controlling the focus through beam steering
Suspension applicability	Wide application range. The fiber can be inserted into suspensions with any different directions and depth for trapping and manipulation	Trapping depth and direction are limited due to the focus generated by the high-NA objective

3 锥形光纤光镊在单细胞分析上的应用

3.1 单细胞标记

当粒子位于激光束焦点附近时,锥形光纤光镊除了可以捕获各种各样的粒子和细胞外,还被广泛用于

细胞捕获后的单细胞标记和分析。例如,锥形光纤光镊通过同时捕获单个细菌和上转换纳米粒子(UCNP)来标记单个细菌,如图 5(a)所示^[39]。从图 5(b)可以清楚地看到锥形光纤光镊捕获单个 UCNP 并标记细菌的过程。在波长为 980 nm 的激光束的作用下,进行布朗

运动的单个 UCNP(直径约为 120 nm)被捕获在锥形光纤光镊的尖端。被捕获的 UCNP 的尺寸极小,很难在光学显微镜下观察到。但是,UCNP 一旦被尖端捕获,就会发出由 980 nm 激光所激发出的绿光,从而可以被直接观察到。锥形光纤光镊捕获 UCNP 后,可以进一

步地捕获一个细菌和另一个 UCNP,使两个 UCNP 分别黏附在细菌两端。UCNP 发出的绿光为在黑暗环境中标记和观察单个细菌提供了一种方法,而且基于光信号可以对单个细菌进行分析。图 5(c)显示了不同长度细菌的标记图像,以及被标记细菌的反射光信号。

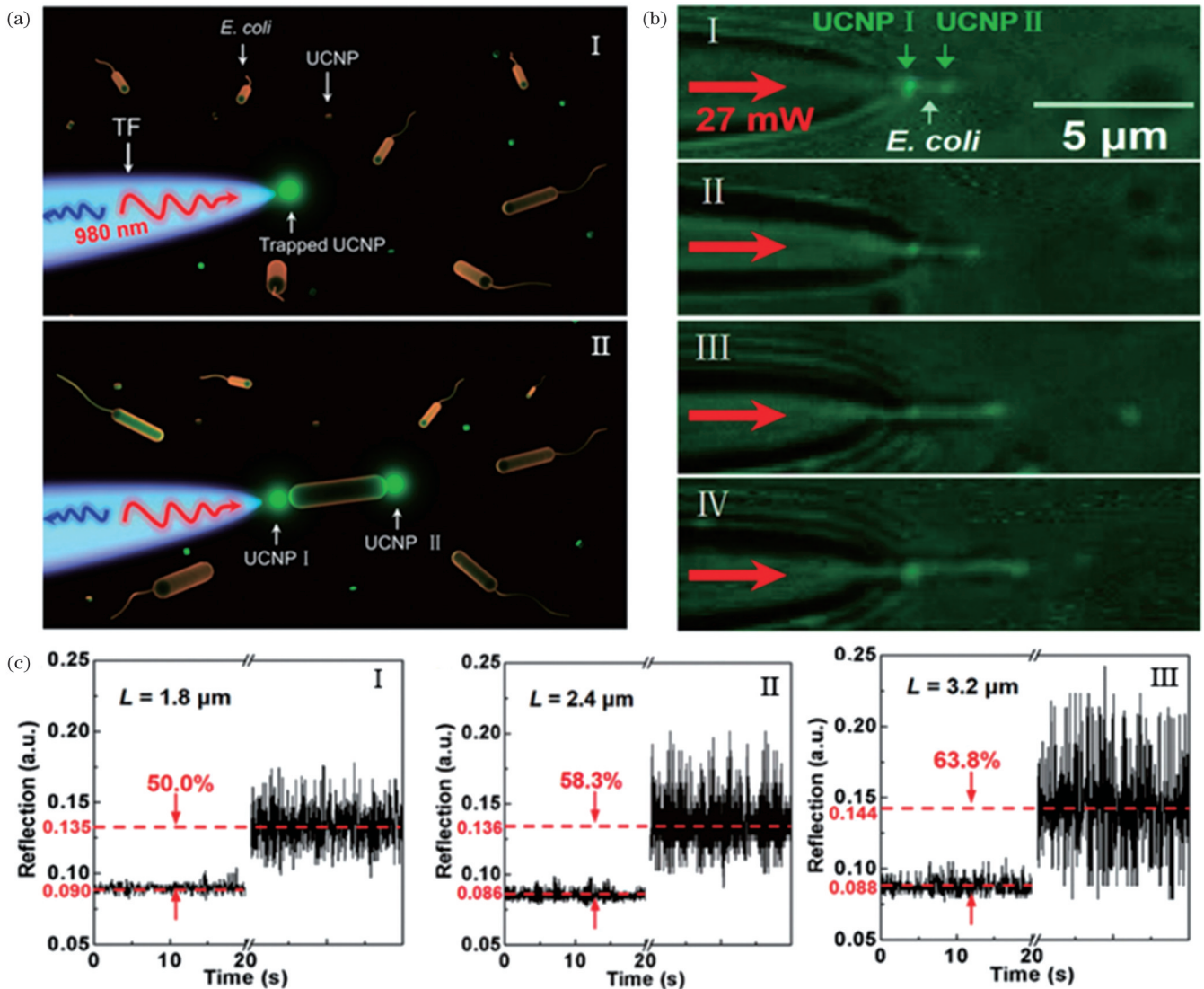


图 5 锥形光纤光镊实现单细胞标记和分析^[39]。(a)~(b)细菌被捕获和标记的示意图和实验图像;(c)不同大小被标记细菌的实时反射光信号

Fig. 5 TOFTs for single-cell labeling and analysis^[39]. (a)~(b) Schematic and experimental images of bacterial trapping and labeling; (c) real-time reflected optical signal from labeled single bacteria with different sizes

3.2 单细胞能量分析

除了可以根据光信号对单个细菌进行分析外,借助锥形光纤光镊还可以对活细菌进行能量分析。锥形光纤光镊在溶液中捕获单个细菌后,通过分析运动细菌在光势阱中的动力学特征,就可以分析其能量^[36]。图 6(a)展示了单个细菌在光势阱中的运动图像。在 $t=1.7$ s 时,自由运动的细菌被稳定地捕获在光纤末端的光轴上,距锥形光纤尖端约 $1.9 \mu\text{m}$,并保持静止约 0.2 s。在 $t=1.9$ s 时,细菌释放完储存的能量,开始在捕获势阱中挣扎。此后,细菌在

$t=2.3$ s 时再次被光镊捕获返回尖端,并与其保持 $1.5 \mu\text{m}$ 的距离。图 6(b)进一步分析和解释了细菌在锥形光纤光阱中的往复运动现象。活动细菌在溶液中游动,当它靠近光纤尖端时,首先被光力捕获并停止大约 0.1~1 s,之后,储存在细菌中的能量被释放并转化为动能。如果此时的捕获势能小于细菌能量,则细菌将逃出光势阱,反之细菌只能在捕获势阱中挣扎。此外,如果细菌存储的能量被进一步释放并转化为动能,并且动能大于捕获势能时,细菌仍然可以逃脱。否则,细菌将会一直被困在光势阱中,无

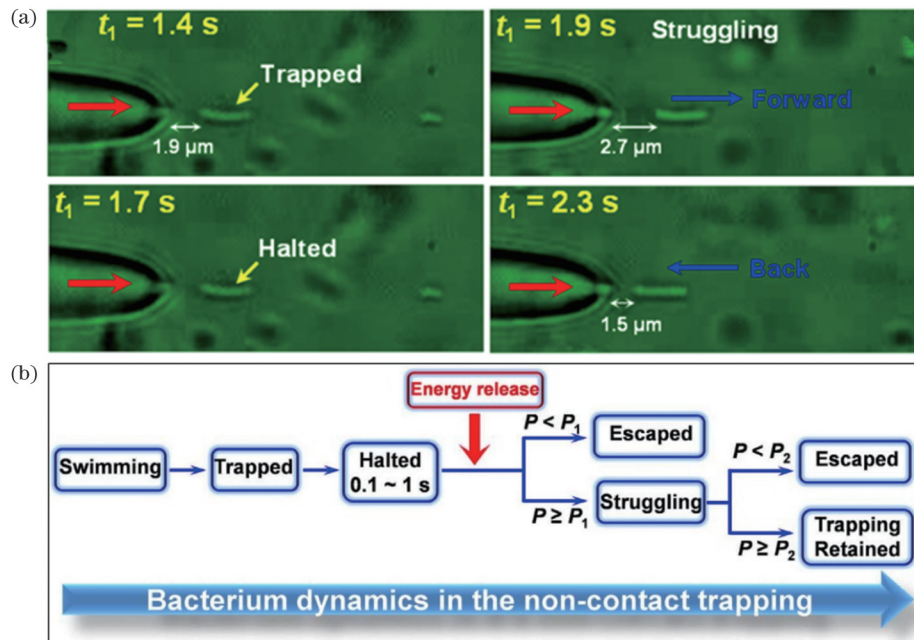


图6 通过单个细菌的非接触式光捕获对运动细菌进行能量分析^[36]。(a)大肠杆菌被光捕获并挣扎的光学显微镜图像;(b)非接触捕获过程中的细菌动力学示意图

Fig. 6 Dynamic analysis of motile bacteria via non-contact optical trapping of single bacterium^[36]. (a) Optical microscopy images showing capture and struggle of *E. coli*; (b) schematic of the bacterium dynamics in the non-contact trapping

法逃离。该方法为细菌动力学分析提供了一种简单的实现途径。

4 锥形光纤光镊在多细胞组装上的应用

4.1 多细胞组装

除了捕获和操控单个细胞外,锥形光纤光镊还可以用于多细胞组装,这对于研究细胞间的相互作用和联系是非常重要的。此外,将随机分布的细胞组装成规则形状的结构或阵列,在组织工程^[40]、药物输送和靶向治疗^[41-42]等生物医学和生物光子学领域发挥着重要作用。

Tam 等^[43]利用多根光纤形成的密集光阱来捕获和平行排列微球。但是,这种方法过于繁琐。事实上,仅用一根锥形光纤即可实现上述功能,完成对大量微球的捕获和排列。图 7(a)用示意图展示了单根锥形光纤组装粒子链的机制^[44]。980 nm 波长的激光束从锥形光纤中射出后,会在颗粒表面产生光力作用。首先,光传播方向上的散射力(F_s)会驱动首个颗粒远离尖端;随后,由于横向的光梯度力(F_g),首个颗粒附近的颗粒也被捕获到光轴上,并在尾部微粒轴向梯度力的作用下,两个颗粒紧密地结合在一起;最终,多个粒子和细胞在光散射力和光梯度力的共同作用下组装在一起。利用上述原理,粒子可以排列成一维粒子链甚至是二维图案化粒子阵列,如图 7(b)和图 7(c)所示。锥形光纤光镊的工作原理同样适用于多细胞组装,图 7(d)展示了通过光学捕获形成酵母细胞链的实验结果。

上述方法利用光散射力和光梯度力共同进行多细胞组装,事实上,通过延伸的光梯度力方法即可实现对多个细胞的组装^[45]。一般来说,当细胞被锥形光纤的光梯度力捕获后,光可以继续传播,并在细胞表面重新聚焦,如图 8(a)所示。这种重新聚焦的光可以在其他细胞上产生光梯度力,在完成细胞捕获的同时再次聚焦,依次往复。在这个过程中,光沿着多个细胞传播并反复聚焦,从而延伸了光梯度力。反过来,细胞群也可以通过拓展的光梯度力组装在一起。图 8(a2)展示了被捕获大肠杆菌的能量密度分布随着组装进程的变化。可以看到,光能高度集中在锥形光纤及大肠杆菌体内,从而更加有利于后续大肠杆菌的捕获。利用这种现象,可以进一步用大肠杆菌构建生物光波导(bio-WGs),如图 8(a3)所示。该方法为利用细胞制造生物波导提供了新方案。与基于二氧化硅和其他有机/无机材料的传统光波导相比,这种生物光波导的所有材料都是生物细胞,具有高度的生物兼容性。基于这一原理可以进一步利用生物细胞制作出生物纳米长矛^[46],其“手柄”由锥形光纤制成,而“头部”则由酵母细胞和纳米级嗜酸乳杆菌细胞链组装而成,如图 8(b1)所示。首先将 808 nm 波长的激光导入到锥形光纤中,在光纤尖端捕获酵母细胞。球形酵母细胞将激光束聚焦,从而对酵母细胞后面的嗜酸乳杆菌施加强大的光学力,并最终将其捕获。图 8(b2)展示了生物矛的显微图像。通过精确操控,该方法形成的生物纳米长矛可以将输入光引导到特定位置,检测来自生物细胞的光信号,例如人体血液中白血病细胞的光信号。此

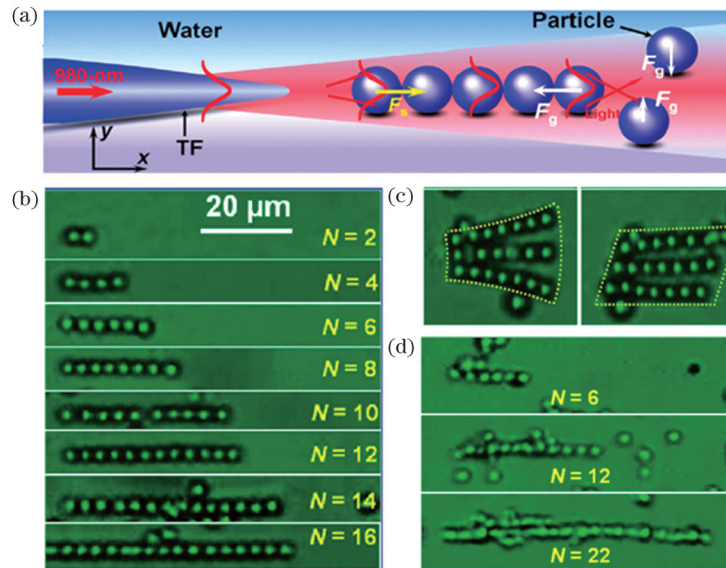


图 7 锥形光纤光镊实现多细胞组装^[44]。(a)锥形光纤光镊对粒子和细胞进行光学组装的示意图；(b)一维粒子链的显微图像；(c)二维粒子阵列的显微图像；(d)酵母细胞链的显微图像

Fig. 7 Realizing multicellular assembly by TOFTs^[44]. (a) Schematic of optical assembly of particles and cells via TOFTs; (b) microscopic images of one-dimensional (1D) patterned particle chains; (c) microscopic images of two-dimensional (2D) particle arrays; (d) microscopic images of yeast cell chains

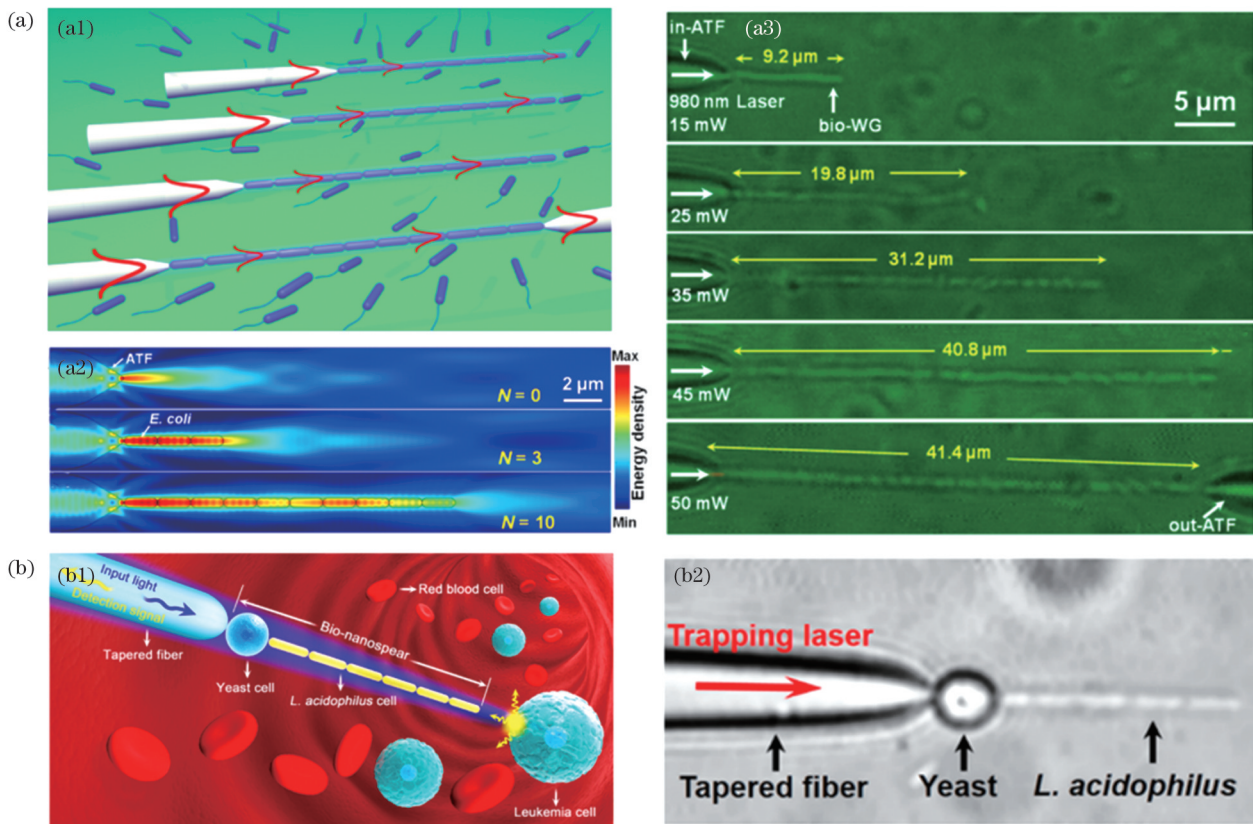


图 8 生物光波导和生物纳米长矛组装。(a)通过延伸光梯度力进行生物光波导组装^[45]；(a1)光学组装和生物光波导的形成示意图；(a2)锥形光纤光镊捕获不同数量大肠杆菌时的能量密度分布；(a3)形成的不同长度的生物光波导的图像；(b)通过拓展光梯度力组装生物纳米长矛^[46]；(b1)组装好的生物纳米长矛示意图；(b2)由酵母和嗜酸乳杆菌细胞组装而成的生物纳米长矛的光学图像

Fig. 8 Biological optical waveguides (bio-WGs) and bio-nanospear assembly. (a) Bio-WGs assembly via extended optical gradient force^[45]: (a1) schematic of optical assembly and bio-WGs formation; (a2) distribution of energy density of TOFTs capturing different numbers of *E. coli*; (a3) images of formed bio-WGs with different lengths; (b) bio-nanospear assembly via extended optical gradient force^[46]: (b1) schematic illustration of assembled bio-nanospear; (b2) optical image of bio-nanospear assembled from a yeast and *L. acidophilus* cells

外,锥形光纤光镊也可以通过光力将生物微透镜(酵母菌或人体细胞)稳定地捕获在光纤末端,以此将激发光限制在亚波长区域,增强上转换颗粒的荧光强度^[47]。

4.2 多细胞收集与分选

锥形光纤光镊不仅可以进行多细胞的组装,还可以进行多细胞的分离和筛选。例如,将锥形光纤集成到 T 型微流控通道中组成紧凑且小型化的光流控芯片,可以实现选择性捕获细胞和细菌^[48]。显然,锥形光纤光镊的光捕获能力因其自身结构、激光波长、样品尺寸、形状、折射率等不同而存在一定差异。这种差异性为锥形光纤光镊实现选择性捕获提供了可能。实验结果表明,锥形光纤光镊可以在

捕获和组装大肠杆菌细胞的同时,只对红细胞(RBCs)存在排斥作用,从而对两种细胞的捕获能力存在显著差异,如图 9(a)所示。利用这一特点,选用特殊的锥形光纤光镊为红细胞提供排斥力,而为大肠杆菌细胞提供捕获力,就可以实现对两种细胞的分选。图 9(b)展示了利用锥形光纤光镊进行选择性捕获的实验结果。当激光关闭时,大肠杆菌和红细胞在通道 1 中混合在一起,如图 9(b1)所示。一旦打开激光,大肠杆菌就会被捕获并被组装,而红细胞则立即被推开,如图 9(b2)和图 9(b3)所示。最后,捕获的大肠杆菌被移送到通道 2 中,而红细胞则留在通道 1 中,实现了对两者的 100% 完全分离,如图 9(b4)所示。

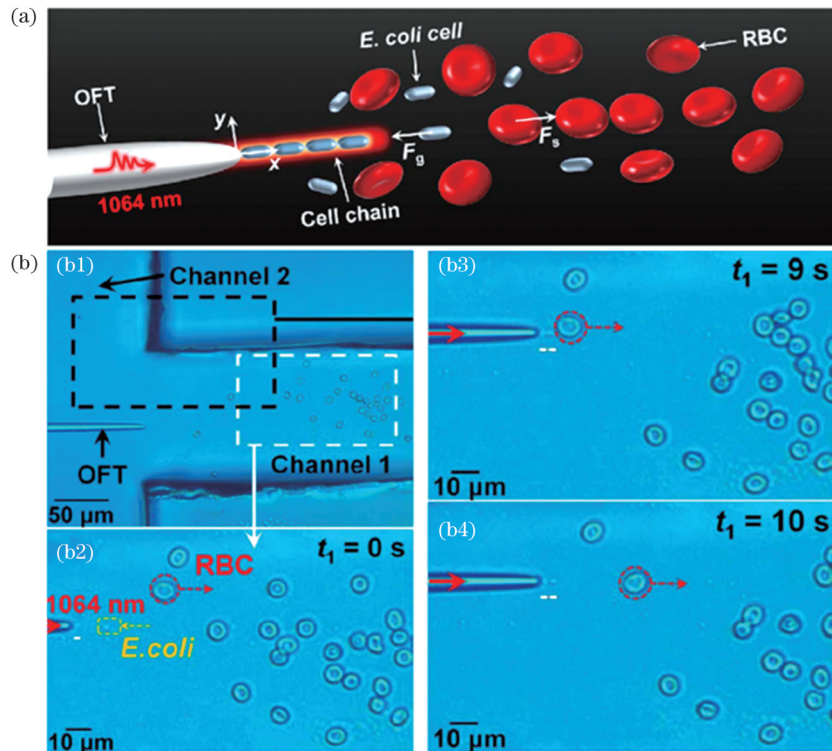


图 9 锥形光纤光镊实现多细胞的收集和分选^[48]。(a)示意图展示大肠杆菌、红细胞在锥形光纤尖端的不同光响应行为;(b)选择性捕获:(b1)激光关闭时,大肠杆菌和红细胞在通道 1 中混合在一起;(b2)~(b4)激光开启后,大肠杆菌被吸引,红细胞被释放
Fig. 9 Multi-cell collection and sorting by TOFTs^[48]. (a) Schematic showing different light response behaviors of *E. coli* and red blood cells (RBCs) in tapered fiber tip; (b) selective capture: (b1) *E. coli* and RBCs are mixed together in channel 1 when the laser is turned off; (b2)–(b4) *E. coli* is attracted and the RBCs are released when the laser is turned on

5 锥形光纤光镊在亚细胞层面生物操控上的应用

5.1 细胞微手术

锥形光纤光镊的尖端尺寸极小,仅有几百纳米,能够将激光高度局域地传送到目标微区,因而在三维操控中表现出了极高的精度和灵活性。该技术有望在高精度、高选择性、亚细胞水平的生物目标操控方面发挥巨大作用^[4,49]。而将锥形光纤技术与热等离子体结合,可以进一步实现对单细胞的原位、高精度微手术以及细胞内细胞器的操控^[50]。图 10(a)用示意

图展示了该方法进行单细胞微手术及修复的原理。金纳米棒(AuNR)首先通过与细胞共培养被内吞到细胞内部,将锥形光纤精确地放置在细胞的目标区域附近。然后,将波长为 808 nm 的激光束导入到锥形光纤中。该波长与金纳米棒的局域表面等离子共振(LSPR)峰相匹配,能够产生足够强的光热效应。同时,生物样品和组织对这个波长具有相对较低的吸收,可以最大限度地减少对细胞的光热干扰。锥形光纤将激光束传递到细胞膜的目标区域,激发细胞膜附近金纳米棒的等离激元共振,产生强烈的光热效应,从而实现精确的膜穿孔和修复。此外,锥形光纤还可以

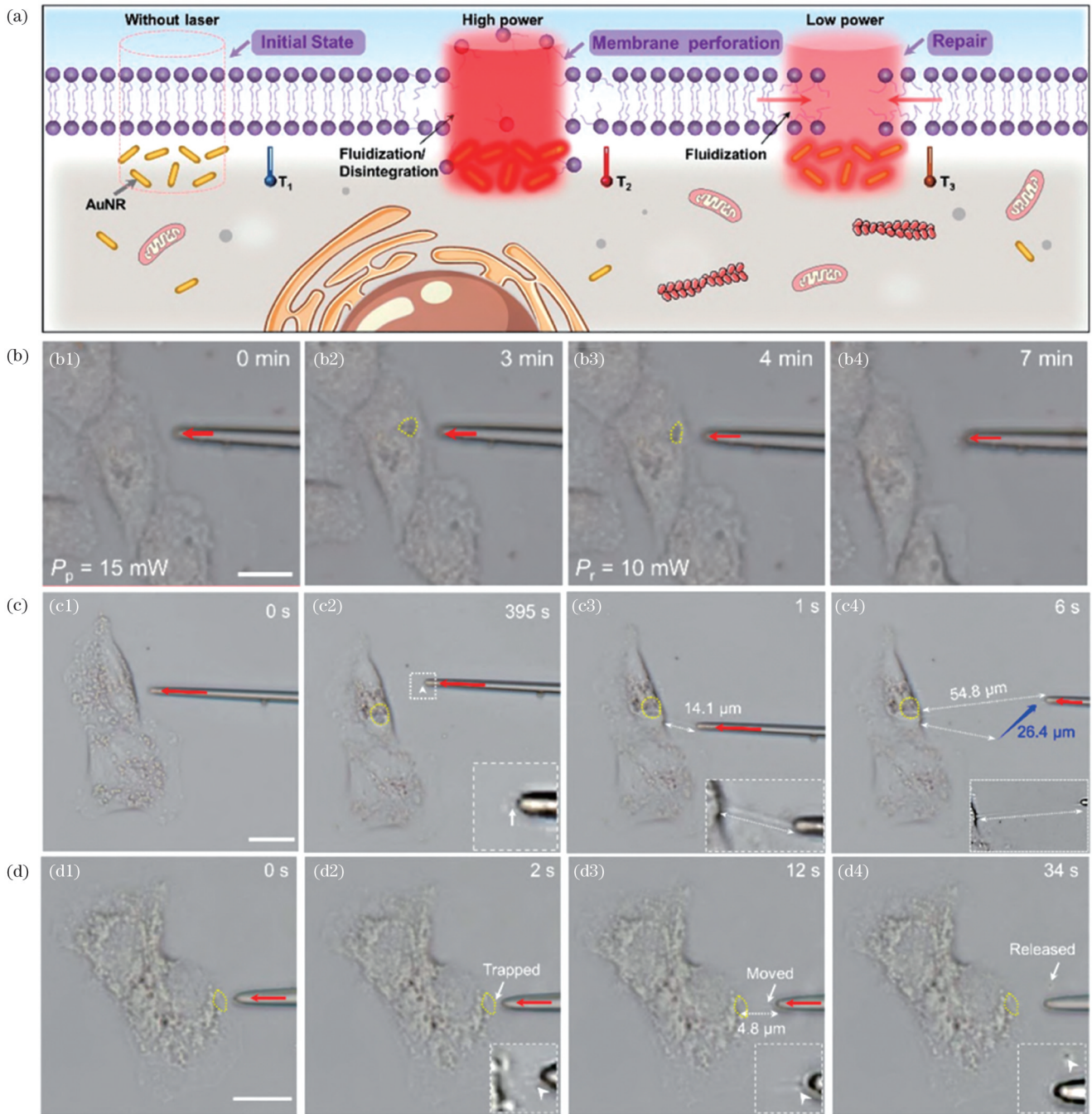


图 10 单细胞微手术及修复的原理^[50]。(a)通过局域等离子体诱导的光热效应进行膜穿孔和修复的示意图;(b)利用锥形光纤光镊在细胞膜上进行微手术(b1,b2)和修复(b3,b4);(c)从细胞膜上的微孔中对微丝进行光学提取和操控;(d)锥形光纤光镊捕获和释放线粒体样细胞器,随着激光关闭,被困的细胞器被释放

Fig. 10 Principle of single-cell microsurgery and repair^[50]. (a) Schematic of thermoplasmonics-based membrane perforation and repair; (b) single-cell microsurgery (b1, b2) and repair (b3, b4) via TOFTs; (c) optical extraction and manipulation of microfilaments from the micropore in cell membrane; (d) TOFTs trap and release a mitochondria-like organelle, and the trapped organelle is released as the laser is turned off

用作光纤光镊,用于细胞膜穿孔后细胞器的选择性提取和操控。图 10(b1)和图 10(b2)展示了采用该技术对群体中的单个细胞进行膜穿孔的实验结果。将 15 mW 功率的激光通过锥形光纤照射目标区域,大约 3 min 后细胞膜上出现了面积约为 $14 \mu\text{m}^2$ 的微孔。在整个过程中,细胞的其他区域以及附近的其他细胞并未受到影响。此外,通过降低激光功率(小于 14 mW),锥

形光纤还能对细胞微手术产生的微孔进行修复。如图 10(b3)和图 10(b4)所示,10 mW 激光持续照射细胞膜 4 min 后, $14 \mu\text{m}^2$ 的微孔被完全修复。

5.2 细胞器操控

以上研究利用锥形光纤光镊产生的光热效应来实现对细胞膜的微手术及修复,而锥形光纤光镊本身又可以依靠光力对细胞器进行捕获和灵活操

控,因而其可以在对细胞进行微手术后进一步实现对单细胞的活检^[50]。图 10(c)完整地展示了用锥形光纤光镊通过微孔操控和拉伸细胞内微丝的过程,微丝被锥形光纤光镊在 6 s 内拉伸了 54.8 μm 而未断裂。图 10(d)进一步展示了锥形光纤光镊对细胞内线粒体样成分的捕获和释放。激光功率维持在 25 mW,锥形光纤光镊在 $t=2$ s 时将来自微孔的线粒体样成分捕获,然后将被捕获的目标移动到距离微孔 4.8 μm 的位置处。在这个过程中目标物始终

稳定在锥形光纤的尖端,直到 $t=34$ s 时,激光关闭,被捕获的目标物同时被释放。这种直接的观察表明整个提取过程是受光捕获控制的。当细胞内的成分直接机械黏附在锥形光纤光镊上时,即使关闭激光,黏附的细胞成分也不会被释放。此外,这种方法可以用于在活细胞内组装细胞器,例如用锥形光纤光镊对体内的叶绿体进行非接触式组装和操控^[51]。图 11 展示了使用锥形光纤对植物细胞中的叶绿体进行操控的示意图及显微图像,叶绿体被排

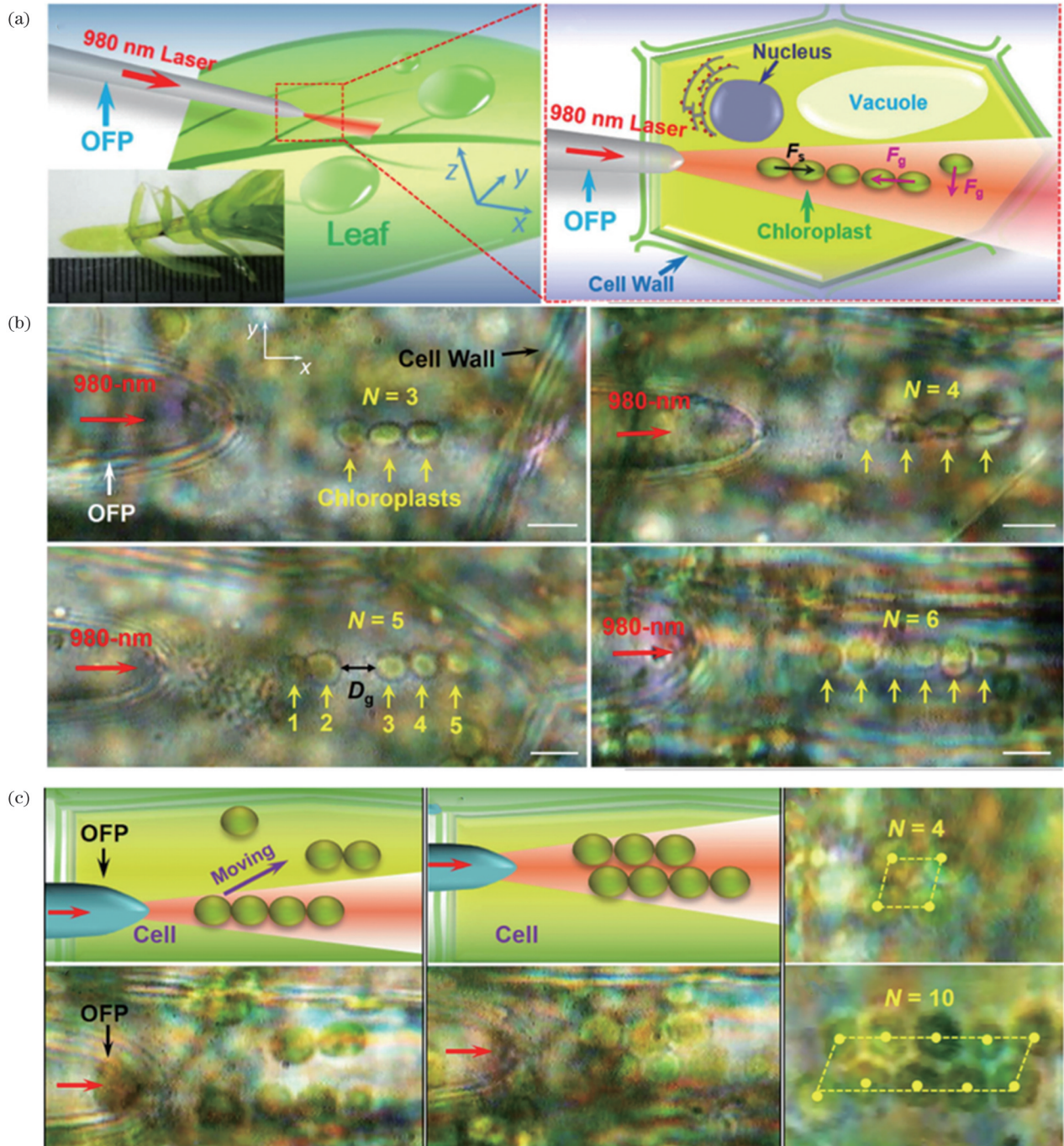


图 11 锥形光纤光镊对叶绿体的操控^[51]。(a)锥形光纤光镊进行植物细胞内叶绿体链组装的示意图;(b)叶绿体链的形成过程;

(c)锥形光纤光镊进行叶绿体的二维图案化组装

Fig. 11 TOFTs manipulating chloroplast^[51]. (a) Schematic of TOFTs for chloroplast chain assembly in plant cells; (b) formation process of chloroplast chains; (c) TOFTs for two-dimensional assembly of chloroplasts

列成一维链[如图 11(a)、(b)所示]和二维阵列[如图 11(c)所示]。其原理与粒子链组装原理一致。实验中将锥形光纤光镊置于植物叶片上方,且光纤的尖端与叶片之间的间隙约为 $3\ \mu\text{m}$,避免了直接的物理接触。

6 锥形光纤光镊在神经调控上的应用

6.1 神经元引导

神经元的轴突生长锥向其突触伙伴神经元的可控引导是形成神经元回路的基本过程。虽然在过去的几十年中研究人员已经探索了许多用于轴突引导的技术,但它们要么是侵入性的,要么是可控的,而具有高空间和时间分辨率的技术又通常受到低引导效率的限制。最近,光镊技术在神经元调控上的研究引起了越来越多的关注。目前,传统光镊技术已被证明可以增强和引导神经元的生长^[53-54],比如将光镊技术用作“神经元信标”,实现对皮质原代神经元的高效可控引导^[52]。图 12(a)展示了使用“神

元信标”进行排斥性轴突引导的示意图。光束被放置在距轴突的丝状伪足约 $5\ \mu\text{m}$ 的位置,通过不对称照射生长锥的前进路径实现对它的光学引导。图 12(b)展示了对大鼠皮质神经元(RCNs)进行激光辅助引导的实验结果。可以看到,打开激光后,轴突末端从初始生长锥方向(垂直箭头)连续向左偏转。典型的轴突转弯图像如图 12(b)右侧小图所示,其中激光光斑位置用红色圆圈标记。但是传统光镊的高数值孔径(NA)显微物镜具有工作距离短的固有缺陷,严重限制了其在神经调控上的进一步应用。相比之下,基于单根锥形光纤的光镊能够在更大的深度下进行显微操作,从而为生物物理学和纳米科学研究开辟了更多途径。锥形光纤可以直接将激光引导至神经元上,完成对神经元生长锥的引导[图 12(c)]以及对神经元的拉伸^[35]。此外,通过锁模,锥形光纤光镊被转换为光纤剪刀,能够解剖神经元突起[图 12(d)],从而可以研究神经元对局部损伤的后续反应。

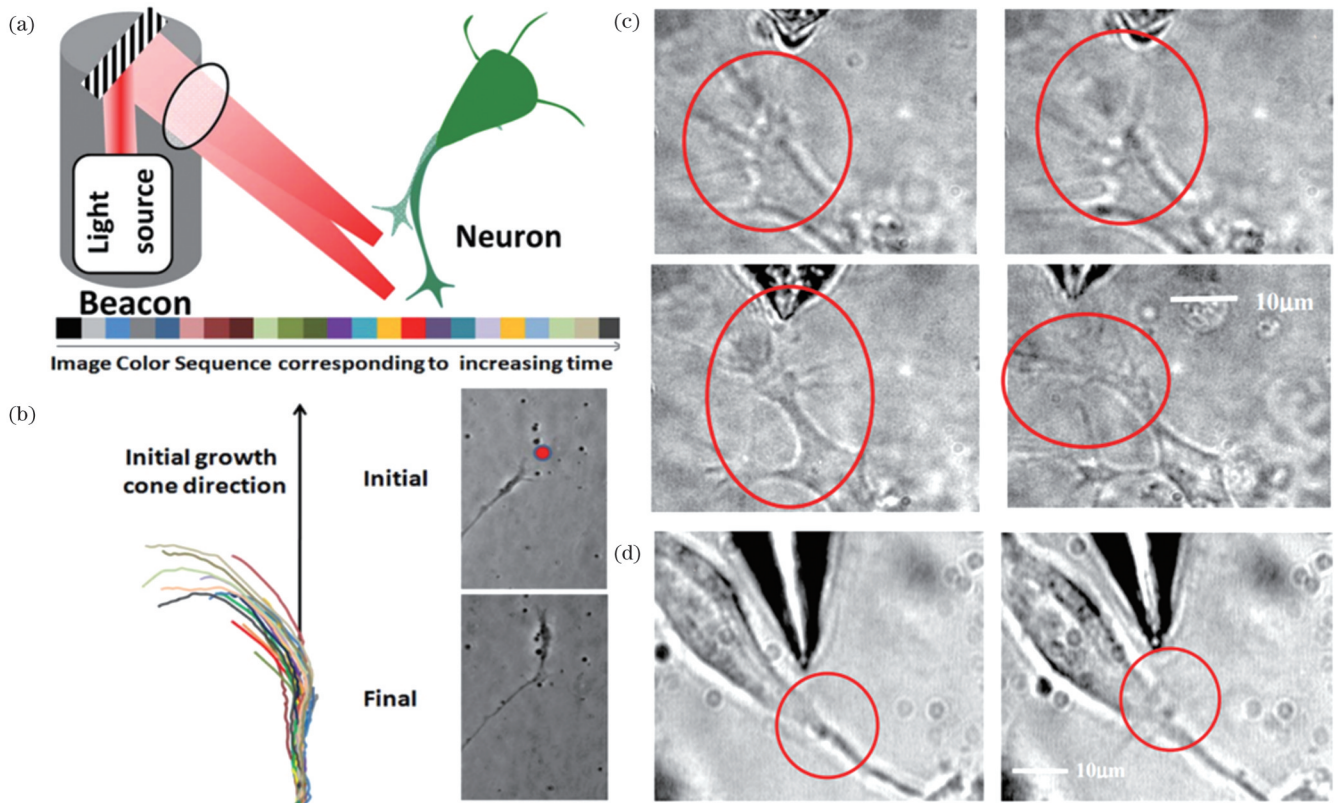


图 12 锥形光纤光镊技术对神经元的引导^[35,52]。(a)排斥性轴突引导的神经元信标示意图^[52];(b)激光辅助引导的大鼠皮质神经元^[52];(c)使用锥形光纤光镊操纵神经元生长锥^[35];(d)利用锥形光纤光镊改造成的“激光剪刀”在神经元突起上进行纳米手术^[35]。
Fig. 12 Neuron guidance of TOFTs^[35,52]. (a) Illustration of the neuronal beacon for repulsive axonal guidance^[52]; (b) laser assisted navigation of RCNs^[52]; (c) modulation of neuronal growth cones using TOFTs^[35]; (d) nanosurgery on neuronal protrusions using TOFTs-based “laser scissors”^[35]

6.2 神经元刺激

锥形光纤还可以与光声转换器进行集成,实现对神经元的高精度光声刺激。早期,研究人员将基于光纤的光声传感器与增强现实图像技术相结合,用于亚

毫米肿瘤定位及可视化手术引导,帮助外科医生准确、快速地切除肿瘤^[55]。此后,这种小型化光纤光声转换器被拓展应用到神经元的光声刺激研究中^[56-57]。研究人员在光纤尖端利用光声效应产生的全向超声波,实

现了对小鼠体外神经元的亚毫米精度调控和活体大脑刺激^[56]。这一应用,开辟了光声技术在神经调控领域研究的新途径。为了进一步提高神经刺激的空间分辨率,研究人员缩小了光声转换器的尺寸(如图 13 所示),设计和开发了一种直径为 20 μm 的锥形光纤光声发射器(TFOE)^[57]。该发射器光纤端面的碳纳米管(CNT)-聚二甲基硅氧烷(PDMS)涂覆层可在纳秒激光下以点声源的形式产生一个有效直径为 40 μm 的声场[如图 13(b)所示],突破了声波的衍射极限,极大地提高了光声刺激的空间分辨率。如图 13(c)所示,目标神经元的钙离子浓度在 TFOE 的刺激下瞬间突变,而距离尖端约 50~70 μm 的其他神经元未受影响。大

量实验表明这种 TFOE 神经刺激技术的空间分辨率约为 39.6 μm 。与传统的依靠远距离的超声控制和神经调控的方式不同,这种方法采用较小尺寸的声源并利用超声波的近场进行刺激的方式,因而具有更高的空间分辨率。此外,将 1 ms 的激光脉冲序列传送到 TFOE 时,仍能观察到单个神经元被成功激活[如图 13(c)所示],这表明 TFOE 具有很高的时间分辨率。当前,锥形光纤在神经调控领域的应用还处于初级阶段,锥形光纤更多地被用作引导声场/光场的“波导”而非“光镊”参与其中。因而,如何充分发挥锥形光纤与生物大分子、细胞器、神经元等的力相互作用,将是此后神经调控研究的重点和难点。

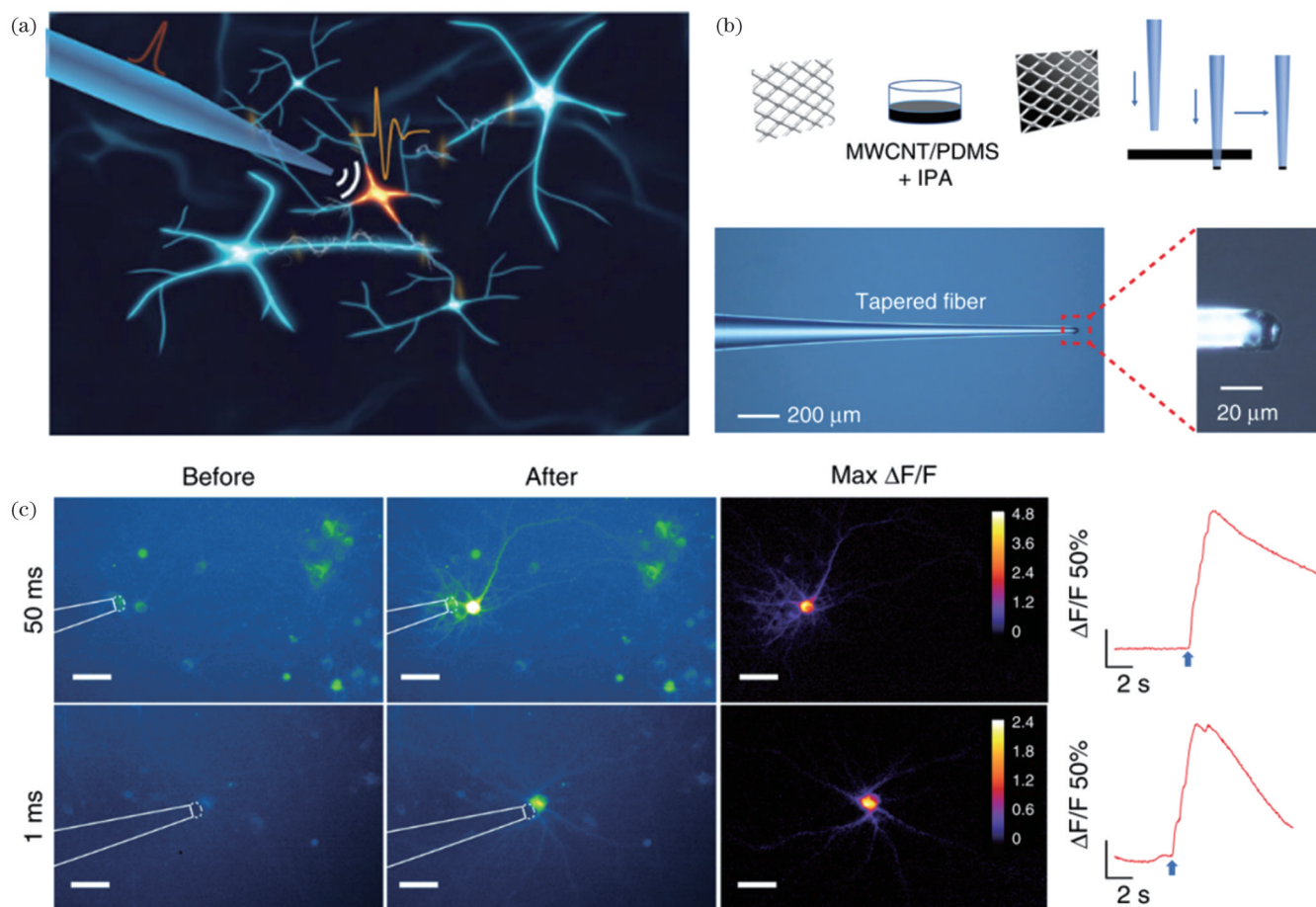


图 13 TFOE 进行高精度的神经元光声刺激^[57]。(a) TFOE 进行神经元刺激的示意图; (b) TFOE 的制作步骤: 多层 CNT/PDMS 混合物作为涂层材料浇铸在金属网上, 然后采用穿孔法将涂层材料涂覆在锥形光纤表面; (c) 激光照射时长为 50 ms 和 1 ms 时, TFOE 刺激下神经元内钙离子分布的荧光图像

Fig. 13 TFOE for high-precision optoacoustic stimulation^[57]. (a) Schematic of TFOE enabling single-neuron stimulation; (b) manufacturing steps of TFOE: multiwall CNT/PDMS mixture as coating material was casted on a metal mesh followed by a punch-through method to coat the tapered fiber; (c) fluorescence images and calcium traces stimulated by TFOE with a laser duration of 50 ms and 1 ms

7 结束语

本文从锥形光纤的结构及原理出发,介绍了锥形光纤光镊在不同细胞层次上进行光捕获和操控的最新发展,重点阐述了其在单细胞捕获与分析、多细胞组装、亚细胞层面操控及神经细胞调控领域的关键进展。

锥形光纤光镊由于具有易于制造、尺寸紧凑和操作灵活等优点,在不久的将来将为亚细胞层面精准分析、高精度神经调控等生物光子学研究及应用提供新的可能性。

尽管锥形光纤光镊取得了很大进展,但在技术上仍存在许多挑战和机遇。首先,样品和光纤端面之间

的直接接触可能会对样品造成机械损伤。因此,有必要发展基于锥形光纤的非接触、无损伤光捕获技术。其次,在使用锥形光纤稳定捕获和灵活操作纳米级尺寸生物样品时,如何克服衍射极限仍然是一个巨大挑战。特别地,单个生物分子的稳定捕获非常困难,但其对于单分子分析来说又非常重要。最后,细胞和生物结构的光捕获和操纵,以及随后的体内生物传感是未来几年的新趋势。然而,当将锥形光纤插入活体样本后,锥形光纤可能会引起组织的机械损伤。因此,构建具有生物相容性的锥形光纤光镊具有重要意义。通过活体细菌或细胞在体内组装的活体生物光子波导为生物相容性光纤的形成提供了新的可能性^[45-46]。使用这种光纤有望在体内实现对生物样品的捕获、操控、传感和诊断。

此外,锥形光纤光镊与新技术、新应用结合方面的技术也在不断地迸发出新活力。比如,将人工智能(AI)技术与锥形光纤光镊技术结合,可以实现对生物信号的快速分析和高效识别。一个典型的应用是利用锥形光纤光镊捕获微生物,借助人工智能技术对其拉曼光谱进行采集和分析,从而实现对致病性微生物感染的高效、准确诊断^[58]。在神经调控领域,随着神经研究深入到亚细胞层面,传统的声学、电学等手段由于固有限制,越来越难以胜任这一领域的前沿研究。而锥形光纤光镊本身具有高空间分辨率和高抗干扰能力,可以有效地解决当前神经调控精度不够的难题,有望在神经光子学、光遗传学等神经调控领域发挥重要作用^[59]。在精准医疗领域,利用锥形光纤光镊实现对活细胞内单个细胞器(特别是病变细胞)的精确捕获、光谱分析、形态操控和直接手术,将为单细胞器水平的治病机制研究提供无限可能^[60]。此外,锥形光纤光镊由于具有紧凑和小型化的结构特点,可以很容易地插入深处的毛细血管中,作为一种微创工具来操纵体内的微马达,从而为靶向药物输送、显微外科手术等生物医学应用提供新的技术手段^[50]。

参 考 文 献

- Ashkin A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure[J]. *Physical Review Letters*, 1970, 24(4): 156-159.
- 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.
- Ashkin A, Dziedzic J M. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria[J]. *Science*, 1987, 235(4795): 1517-1520.
- Xin H B, Li Y C, Liu Y C, et al. Optical forces: from fundamental to biological applications[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(37): 2001994.
- Xin H B, Zhao N, Wang Y N, et al. Optically controlled living micromotors for the manipulation and disruption of biological targets[J]. *Nano Letters*, 2020, 20(10): 7177-7185.
- Choudhary D, Mossa A, Jadhav M, et al. Bio-molecular applications of recent developments in optical tweezers[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(1): 23.
- 荣升, 刘洪双, 钟莹, 等. 基于光子捕获金纳米立方体的拉曼光谱增强[J]. *光学学报*, 2021, 41(17): 1730003.
- Rong S, Liu H S, Zhong Y, et al. Enhancement of Raman spectra based on optical trapping of gold nanocubes[J]. *Acta Optica Sinica*, 2021, 41(17): 1730003.
- 张聿全, 张硕硕, 闵长俊, 等. 飞秒光镊技术研究与应用进展[J]. *中国激光*, 2021, 48(19): 1918001.
- Zhang Y Q, Zhang S S, Min C J, et al. Research progress of femtosecond optical tweezers and their applications[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2021, 48(19): 1918001.
- 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.
- Strasser F, Barnett S M, Ritsch-Martel M, et al. Generally applicable holographic torque measurement for optically trapped particles[J]. *Physical Review Letters*, 2022, 128(21): 213604.
- Li C Y, Zheng B, Li J T, et al. Holographic optical tweezers and boosting upconversion luminescent resonance energy transfer combined clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas12a biosensors[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(5): 8142-8154.
- Chapin S C, Germain V, Dufresne E R. Automated trapping, assembly, and sorting with holographic optical tweezers[J]. *Optics Express*, 2006, 14(26): 13095-13100.
- Sun B, Roichman Y, Grier D G. Theory of holographic optical trapping[J]. *Optics Express*, 2008, 16(20): 15765-15776.
- Quidant R, Girard C. Surface-plasmon-based optical manipulation [J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2008, 2(1/2): 47-57.
- Righini M, Volpe G, Girard C, et al. Surface plasmon optical tweezers: tunable optical manipulation in the femtonewton range[J]. *Physical Review Letters*, 2008, 100(18): 186804.
- Ren Y T, Chen Q, He M J, et al. Plasmonic optical tweezers for particle manipulation: principles, methods, and applications[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(4): 6105-6128.
- Zhang Y Q, Min C J, Dou X J, et al. Plasmonic tweezers: for nanoscale optical trapping and beyond[J]. *Light: Science & Applications*, 2021, 10(1): 1-41.
- Fuh M R S, Burgess L W, Hirschfeld T, et al. Single fibre optic fluorescence pH probe[J]. *Analyst*, 1987, 112(8): 1159-1163.
- Hu Z H, Wang J, Liang J W. Manipulation and arrangement of biological and dielectric particles by a lensed fiber probe[J]. *Optics Express*, 2004, 12(17): 4123-4128.
- Ribeiro R S R, Soppera O, Oliva A G, et al. New trends on optical fiber tweezers[J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2015, 33(16): 3394-3405.
- Constable A, Kim J, Mervis J, et al. Demonstration of a fiber-optical light-force trap[J]. *Optics Letters*, 1993, 18(21): 1867-1869.
- Jensen-McMullin C, Lee H P, Lyons E R. Demonstration of trapping, motion control, sensing and fluorescence detection of polystyrene beads in a multi-fiber optical trap[J]. *Optics Express*, 2005, 13(7): 2634-2642.
- Taguchi K, Ueno H, Hiramatsu T, et al. Optical trapping of dielectric particle and biological cell using optical fibre[J]. *Electronics Letters*, 1997, 33(5): 413-414.
- Wu H, Jiang C L, Ren A N, et al. Single-fiber optical tweezers for particle trapping and axial reciprocating motion using dual wavelength and dual mode[J]. *Optics Communications*, 2022, 517: 128333.
- Taguchi K, Ueno H, Ikeda M. Rotational manipulation of a yeast cell using optical fibres[J]. *Electronics Letters*, 1997, 33(14): 1249-1250.
- Taguchi K, Atsuta K, Nakata T, et al. Levitation of a microscopic object using plural optical fibers[J]. *Optics Communications*, 2000, 176(1/2/3): 43-47.
- 申泽, 成煜, 邓洪昌, 等. 鸟喙形环形芯光纤光镊粒子捕获受力分析[J]. *光学学报*, 2021, 41(18): 1808001.
- Shen Z, Cheng Y, Deng H C, et al. Analysis of trapping force of beak-shaped optical tweezers with annular core fibers for particles

- [J]. *Acta Optica Sinica*, 2021, 41(18): 1808001.
- [28] 陈朋, 党雨婷, 钟慧, 等. 基于 LP₀₁ 和 LP₁₁ 模式共存的单光纤光镊实现生物细胞多路捕获和操纵[J]. *光学学报*, 2023, 43(4): 0406004.
- Chen P, Dang Y T, Zhong H, et al. Single-fiber optical tweezer based on the coexistence of LP₀₁ and LP₁₁ modes for multiplexed capture and manipulation of biological cells[J]. *Acta Optica Sinica*, 2023, 43(4): 0406004.
- [29] Zharov V P, Kurten R C, Bauman J. Photothermal tweezers[J]. *Proceedings of SPIE*, 2003, 4960: 134-141.
- [30] Yang Y J, Ren Y X, Chen M Z, et al. Optical trapping with structured light: a review[J]. *Advanced Photonics*, 2021, 3(3): 034001.
- [31] Xin H B, Xu R, Li B J. Optical trapping, driving and arrangement of particles using a tapered fibre probe[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2(1): 1-8.
- [32] Liu Z H, Guo C K, Yang J, et al. Tapered fiber optical tweezers for microscopic particle trapping: fabrication and application[J]. *Optics Express*, 2006, 14(25): 12510-12516.
- [33] Grier D G. A revolution in optical manipulation[J]. *Nature*, 2003, 424(6950): 810-816.
- [34] Yuan L B, Liu Z H, Yang J, et al. Twin-core fiber optical tweezers[J]. *Optics Express*, 2008, 16(7): 4559-4566.
- [35] Mohanty S K, Mohanty K, Berns M W. Manipulation of mammalian cells using a single-fiber optical microbeam[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, 13(5): 054049.
- [36] Xin H B, Liu Q Y, Li B J. Non-contact fiber-optical trapping of motile bacteria: dynamics observation and energy estimation[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4(1): 1-8.
- [37] Xin H B, Li Y Y, Li L S, et al. Optofluidic manipulation of *Escherichia coli* in a microfluidic channel using an abruptly tapered optical fiber[J]. *Applied Physics Letters*, 2013, 103(3): 033703.
- [38] Mestres P, Berthelot J, Spasenović M, et al. Cooling and manipulation of a levitated nanoparticle with an optical fiber trap[J]. *Applied Physics Letters*, 2015, 107(15): 151102.
- [39] Xin H B, Li Y C, Xu D K, et al. Single upconversion nanoparticle-bacterium cotrapping for single-bacterium labeling and analysis[J]. *Small*, 2017, 13(14): 1603418.
- [40] Derby B. Printing and prototyping of tissues and scaffolds[J]. *Science*, 2012, 338(6109): 921-926.
- [41] Saltzman W M, Olbricht W L. Building drug delivery into tissue engineering design[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1(3): 177-186.
- [42] Chen Z L, Li Y, Liu W W, et al. Patterning mammalian cells for modeling three types of naturally occurring cell-cell interactions[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(44): 8303-8305.
- [43] Tam J M, Biran I, Walt D R. An imaging fiber-based optical tweezer array for microparticle array assembly[J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 84(21): 4289-4291.
- [44] Xin H B, Xu R, Li B J. Optical formation and manipulation of particle and cell patterns using a tapered optical fiber[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2013, 7(5): 801-809.
- [45] Xin H B, Li Y Y, Liu X S, et al. *Escherichia coli*-based biophotonic waveguides[J]. *Nano Letters*, 2013, 13(7): 3408-3413.
- [46] Li Y C, Xin H B, Zhang Y, et al. Living nanospear for near-field optical probing[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(11): 10703-10711.
- [47] Li Y C, Liu X S, Yang X G, et al. Enhancing upconversion fluorescence with a natural bio-microlens[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 10672-10680.
- [48] Liu S J, Li Z B, Weng Z, et al. Miniaturized optical fiber tweezers for cell separation by optical force[J]. *Optics Letters*, 2019, 44(7): 1868-1871.
- [49] Liu S F, Lin L H, Sun H B. Opto-thermophoretic manipulation [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(4): 5925-5943.
- [50] Zhao X T, Shi Y, Pan T, et al. *In situ* single-cell surgery and intracellular organelle manipulation via thermoplasmonics combined optical trapping[J]. *Nano Letters*, 2022, 22(1): 402-410.
- [51] Li Y C, Xin H B, Liu X S, et al. Non-contact intracellular binding of chloroplasts *in vivo*[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 1-9.
- [52] Black B, Mondal A, Kim Y, et al. Neuronal beacon[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(13): 2174-2176.
- [53] Carnegie D J, Stevenson D J, Mazilu M, et al. Guided neuronal growth using optical line traps[J]. *Optics Express*, 2008, 16(14): 10507-10517.
- [54] Ehrlicher A, Betz T, Stuhmann B, et al. Guiding neuronal growth with light[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(25): 16024-16028.
- [55] Lan L, Xia Y, Li R, et al. A fiber optoacoustic guide with augmented reality for precision breast-conserving surgery[J]. *Light: Science & Applications*, 2018, 7(1): 1-11.
- [56] Jiang Y, Lee H J, Lan L, et al. Optoacoustic brain stimulation at submillimeter spatial precision[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1-9.
- [57] Shi L L, Jiang Y, Fernandez F R, et al. Non-genetic photoacoustic stimulation of single neurons by a tapered fiber optoacoustic emitter [J]. *Light: Science & Applications*, 2021, 10(1): 1-13.
- [58] Lin C H, Li X F, Wu T L, et al. Optofluidic identification of single microorganisms using fiber-optical-tweezer-based Raman spectroscopy with artificial neural network[J]. *BMEMat*, 2023, 1(1): e12007.
- [59] Guo J H, Wu Y, Gong Z Y, et al. Photonic nanojet-mediated optogenetics[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(12): e2104140.
- [60] Nadappuram B P, Cadinu P, Barik A, et al. Nanoscale tweezers for single-cell biopsies[J]. *Nature Nanotechnology*, 2019, 14(1): 80-88.

Cell Manipulation and Neuron Regulation Based on Tapered Optical Fiber Tweezers

Xiao Yuqing^{1,2}, Shi Yang¹, Li Baojun¹, Xin Hongbao^{1*}

¹Guangdong Provincial Key Laboratory of Nanophotonic Manipulation, Institute of Nanophotonics, Jinan University, Guangzhou 511443, Guangdong, China;

²College of Automation, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, Guangdong, China

Abstract

Significance Optical trapping is widely used in various fields ranging from biomedical applications to physics and material sciences. Recently, tapered optical fiber tweezers (TOFTs) have attracted significant attention in the optical trapping field owing to their flexible manipulation, compact structure, and ease of fabrication. As a non-invasive technique, TOFTs can be used to directly

manipulate cells in multiple dimensions in different bio-microenvironments. In addition, infrared light waves penetrate biological tissues well, which enhances the performance of TOFTs technology in the biology and medicine fields. Here, we review TOFT-based trapping and manipulation at the single-, multi-, and sub-cellular levels, as well as the latest developments in neuron regulation.

Progress Since Arthur Ashkin used two focused and counter-propagating beams to trap particles in 1970, optical forces have been widely used to manipulate and trap particles using laser beams. In 1986, Ashkin *et al.* discovered that a single tightly focused laser beam could achieve stable particle trapping. Subsequently, they named the optical-trapping technique as “optical tweezers,” which we now refer to as conventional optical tweezers (COTs). Over the years that followed, Ashkin *et al.* conducted numerous studies using a single focused laser beam for capturing particles ranging from tens of nanometers to tens of microns, including viruses and bacteria. Optical trapping and manipulation using COTs has undergone substantial progress regarding its methodologies and applications over the span of nearly 50 years. These techniques involve manipulating various samples, including dielectric particles, biological cells, and biomolecules. Nonetheless, focusing light via COTs requires a high-numerical-aperture (NA) objective along with diverse optical components for beam steering and expansion. Owing to its bulky structure, this framework remains deficient in control and manipulation flexibility.

Alternatively, holographic optical tweezers (HOTs) were created in 1998 to allow the manipulation of multiple particles using complex-structured light fields. This technology uses computer-generated holograms through spatial light modulators to achieve multiple traps, thereby providing enhanced control and manipulation capabilities. However, trapping particles at the nanometer scale using HOTs remains challenging because of the diffraction limit. Surface-plasmon-based optical tweezers (SPOTs) were developed in the late 2000s to trap and manipulate nanoscale particles, including single molecules that are only a few nanometers in size. However, owing to their ability to trap nanoscale particles, the carefully designed and elaborated nanostructures necessary for SPOTs limit their flexibility. Techniques, such as COTs, HOTs, and SPOT, involve complex devices and components with inflexible control. Therefore, it is critical to develop simple and flexible manipulation tools. The advancements in optical fiber tweezers (OFTs) has made them versatile candidates for the optical trapping and manipulation of different samples. The simple structure of OFTs, consisting solely of optical fibers, provides them with exceptional advantages in terms of manipulation flexibility. OFTs can be easily inserted into thick samples and turbid media, significantly extending sample applicability. In addition, OFTs offer a low-cost solution because of their simple fabrication procedures. They can be integrated into small devices, such as optofluidic channels and chips, paving the way for a scaled-down approach. OFTs were first demonstrated in 1993 by employing two aligned single-mode fibers for optical trapping. Although tiny particles and cells can be directly captured and manipulated using the optical scattering force generated by two fibers, they also result in limited manipulation flexibility. A single optical fiber can also be used for particle trapping and manipulation. Single tapered optical fiber tweezers (TOFTs) were introduced in 1997 and have significantly improved the flexibility of optical manipulation. The end of a single fiber used for focusing the light beam is similar to that used in COTs after being drawn into a lenticular shape, which creates a stronger gradient force on the particle and facilitates optical trapping.

Conclusions and Prospects In conclusion, this review highlights recent advancements in tapered optical fiber based tweezers for optical trapping and manipulation. Despite the significant progress, TOFTs still face numerous challenges. One of the major issues is the direct contact of the fiber end surface with the sample, which leads to mechanical damage. Thus, it is necessary to develop of non-contact and damage-free trapping techniques. Another critical area of concern is the stable trapping and manipulation of nanometer-sized samples that surpass the diffraction limits. TOFTs encounter difficulties in trapping individual biomolecules, which is of great importance for single-molecule analysis. Furthermore, optical trapping of cells and biological structures for biosensing *in vivo* is an upcoming trend; however, inserting fibers into living samples may cause mechanical damage. Hence, the construction of biocompatible TOFTs is crucial to maintain their application potential. Biophotonic waveguides composed of living cells enable the manufacturing of biocompatible optical fibers, making trapping, manipulation, sensing, and diagnostics feasible *in vivo*. On the other hand, TOFTs technology is constantly experiencing new breakthroughs owing to its combination with new technologies like artificial intelligence (AI) and spectral analysis, as well as new applications like neuromodulation and precision medicine.

Key words bio-optics; fiber optics; optical fiber tweezers; optical trapping; cell manipulation; neuron regulation