

光学学报

光致温度场光镊:原理及生物医学应用

钟义立, 彭宇航, 陈嘉杰*, 周健行, 戴小祺, 张晗, 屈军乐, 邵永红

深圳大学物理与光电工程学院, 射频异质异构集成全国重点研究实验室, 光电子器件与系统教育部/广东省重点实验室, 广东 深圳 518060

摘要 面向生物粒子操控方法的研究,在生物医学和生命科学等领域具有重要意义。光镊操控具有无接触与高精度的特点,已被广泛应用于多个领域的研究中。然而,传统光镊的光热效应以及衍射极限都制约着光镊在生物医学领域的更广泛应用和发展。近十年来,研究者们将光热效应化劣势为优势,利用光与热的耦合效应实现了多种粒子的精确捕获及操控,即光致温度场光镊(OTFT)。由于此种新型光镊对光能的利用率极高,能量密度低于传统光镊近3个数量级,并可实现颗粒的大范围操控,极大地拓展了光镊可操控粒子的种类,已经成为纳米技术以及生命科学领域的重要研究工具。温度场光镊仍面临诸多问题,例如对于颗粒界面调控的依赖性以及三维捕获受限等,尤其是在生物光子学的研究中,还需要进一步发展和优化。本文对光致温度场光镊操控基本原理及其在生物医学中的应用两个方面进行了系统阐述,并对其今后的发展与挑战进行了展望。

关键词 光镊; 光热镊; 光流控; 光热效应; 微流控; 生物传感器

中图分类号 O435

文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOS230530

1 引言

光子与物质相互作用时发生动量传递,物体会受到一个沿着光传播方向的力,即光的散射力(F_{scat}),使得物体有被光推走的趋势。当光场的光强分布不均匀时,也会对其中的物体产生梯度力(F_{grad})。1986年, Ashkin 等^[1]使用一束经过高数值孔径(NA)物镜的高功率(>100 mW)强聚焦激光产生足够的梯度力,克服了推开微球的散射力,实现了微球三维捕获,光镊由此诞生。此后,基于此种纯光学方式实现捕获的传统光镊得到了极大的发展。2018年, Ashkin 因发明光镊技术获得了诺贝尔物理学奖。如图 1(a)~(c)所示,传统光镊主要可分为两类:一类是基于空间光场调控的颗粒捕获;另外一类是基于金、银等平面纳米结构的表面等离子体共振(SPR)纳米光镊捕获。近20年来,我国科研人员在光镊研究方面开展了许多具有重要意义的工作,利用多种光学方法实现了对于介质球、生物粒子,以及纳米金属球的操控与捕获^[2-5]。中国科学院、同济大学、天津大学、深圳大学、暨南大学、西安交通大学、华南师范大学等对传统光学驱动的光镊技术做了很好的总结与展望^[6-21]。

光镊具有非接触性,可对粒子进行微米量级的精

确定位,可对特定个体进行选择等优点,并且通过后续的不断优化,已被广泛应用于生物医学和生命科学以及其他领域,成为捕获、操控和分类胶体粒子以及生物细胞的强有力工具。然而,最初可进行三维空间捕获的传统光镊具有局限性,其原因主要有以下三点:

1) 过高的光功率对于捕获颗粒具有光损伤,以及激光产热会使得颗粒的布朗运动加剧甚至变形,不利于对颗粒进行捕获^[22-25]。例如, Ashkin 等^[1]在 1986 年的实验中使用 mW 量级的激光对水中直径为 1 μm 的单个胶体聚苯乙烯(PS)乳胶颗粒进行光学捕获,观察发现颗粒在激光作用下不断缩小,并且在几十分钟后消失了。直径为 0.109 μm 的微球在 12~15 mW 的激光作用下被困住,直到约 25 s 后消失。相同功率的激光对于直径为 38 nm 和 85 nm 的颗粒的光损伤非常严重,导致颗粒消失太快,以至于很难观察到散射。

2) 传统光镊往往需要大数值孔径的物镜来产生足够大的捕获梯度力,这也限制了光镊的应用范围。

3) 受光学衍射极限以及小颗粒布朗运动的影响,对纳米尺度以及不与光发生相互作用的微粒的捕获是传统光镊面临的难题。

为了解决以上问题,研究人员开发出近场倏逝波光镊^[26]、表面等离子激元光镊^[27]、光纤光镊^[2,28-31]等。值

收稿日期: 2023-02-08; 修回日期: 2023-03-20; 录用日期: 2023-03-21; 网络首发日期: 2023-04-25

基金项目: 国家自然科学基金(62275164, 61905145, 62275168)、国家重点研发计划(2022YFA1200116)、广东省自然科学基金(2021A1515011916)、广东省重大人才工程引进类项目(2021QN02Y124)、深圳市科技计划项目(ZDSYS20210623092006020)

通信作者: *cjj@szu.edu.cn

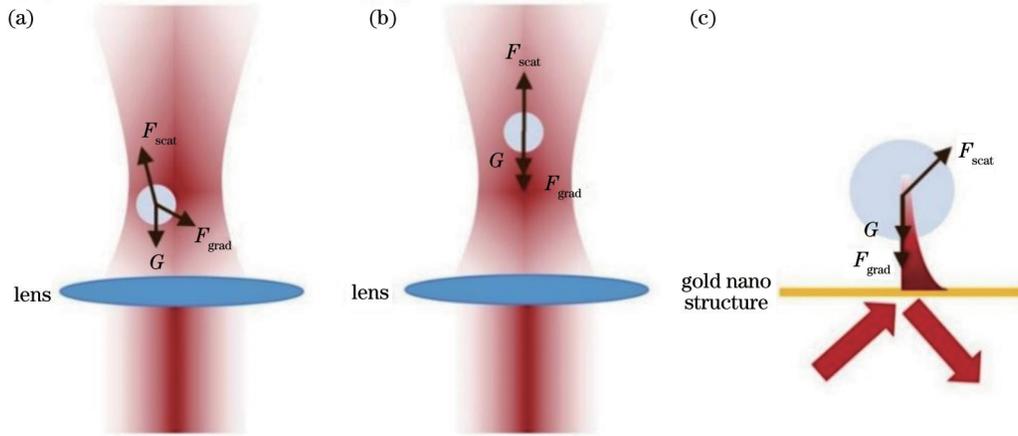


图1 传统光镊捕获微粒示意图,其中 G 为重力。(a)受透镜会聚光束产生的光场梯度力作用,传统光镊三维捕获的未平衡状态;(b)传统光镊三维捕获的平衡状态;(c)SPR纳米光镊,表面场强大小随传播距离呈指数衰减,从而产生捕获的梯度力,其方向指向金纳米结构

Fig. 1 Particle capture schemes of traditional optical tweezers, and G is gravity. (a) Unbalanced state of three-dimensional trapping by gradient force of light field generated by lens convergence beams; (b) equilibrium state of three-dimensional trapping; (c) SPR nanotweezers, the surface field intensity decays exponentially with the surface-particle distance, resulting in a trapping force to the gold nanostructure surface

值得注意的是,光致温度场光镊(OTFT)也被研发出来,其利用光致温度场效应辅助粒子捕获,光能利用率高。因此,光致温度场光镊所需的功率密度比传统光镊低3个数量级^[32-34]。此外,光致温度场光镊采用温度场主导的操控方式,降低了对操控物镜数值孔径的要求,并且更易于操控尺度小于衍射极限尺度的颗粒。温度场光镊的发展可追溯到2002年,Braun和Libchaber^[35]通过对流和热泳的相互作用捕获质粒大小的脱氧核糖核酸(DNA)。2015年起,香港中文大学Ho Pui Ho课题组使用随机金纳米岛、蒸镀金膜的光纤、微尺度电热加热器、聚二甲基硅氧烷(PDMS)微孔等装置开发出基于温度场或者温度场与光学力结合的光镊,实现对PS颗粒以及大肠杆菌的捕获和操控^[33-34, 36-38]。2018—2022年,基于表面活性剂构建的热电场效应的温度场光镊^[39-40]以及可以避免热损伤的光制冷光镊^[41-42]也被研发出来,使得温度场光镊技术朝着捕获精度更高、功耗更小、捕获颗粒种类更广的方向发展,并成为一个十分活跃的研究方向。

光致温度场光镊操控涉及热泳、热电泳、电热等离子体流、自然对流、热渗透流、耗尽力以及马兰戈尼对流等学科,这些学科都属于光学与流体力学的交叉学科,因此深入挖掘多种热动力学现象机理对推动温度场光镊的进一步发展与应用具有重要的意义。本文首先从温度场构建以及多种热动力学效应耦合两个方面,对近十年来发展的基于光致温度场的光镊操控技术的原理进行了全面总结;然后,介绍了温度场光镊在纳米颗粒操控、蛋白操控、核酸操控、其他生物分子操控,以及生物传感方面的生物医学应用;最后,对温度场光镊的未来发展与挑战进行了展望。温度场光镊

作为一种新型的光流控技术,不会仅局限于实验室之中,必将会进入更多的实际应用场景,为生物粒子操控以及生物传感领域的发展作出更多贡献。

2 光致温度场光镊的操控原理

2.1 温度场的构建:光学加热和光学制冷

2.1.1 光学加热

很多材料能在合适条件下吸收特定波长的光,并产生热量。在实验室中常见的用于光学加热的材料主要为金属以及半导体材料,例如金、银、铬,以及多种二维材料等。特别地,在激发光为可见光和近红外光的情况,应用较为广泛的是金属纳米结构,此情况又被称为表面等离子体加热(plasmonic heating)。其原理是入射光激发纳米结构的局部表面等离子体共振时,金属中电子的运动变得更为激烈,并增大了电子和晶格原子的碰撞频率,促进了光子到声子的转换,产生了热量^[43]。一般来说,激光照射区域的温度场可以用一般传热方程式表示^[44],即

$$\rho C_p \frac{\partial T(r)}{\partial t} = \nabla \cdot [k \nabla T(r)] + Q, \quad (1)$$

式中: ρ 为恒定压强下金属衬底的密度; C_p 为恒定压强下金属衬底的比热容; $T(r)$ 为绝对温度; t 为时间; k 为金属衬底的导热系数; Q 为纳米结构在单位时间、单位体积产生的热量。 Q ^[45]可以表示为

$$Q = \text{Re} \langle J(r, t) \rangle \cdot E(r, t), \quad (2)$$

式中: $J(r, t)$ 为金属纳米结构的电流密度; $E(r, t)$ 为金属纳米结构的电场。当温度场到达稳态^[46]时,有

$$\nabla \cdot [k \nabla T(r)] = -Q = -\text{Re} \langle J \cdot E \rangle. \quad (3)$$

2.1.2 光学制冷

除了光热效应外,半导体的光学制冷效应也是产生温度场的重要方式之一。固体晶体的光学制冷可以通过反斯托克斯荧光来实现。电子吸收入射光子后从基态激发到激发态,而被激发的电子又吸收晶格声子能量,自发地发射出比入射光子带有更大能量的新光子,这些多余能量来自晶格声子的热量,从而导致固体晶体内部温度降低^[47]。

1995年, Epstein等^[48]利用掺镱(Yb)氟钨酸盐玻璃证明了固体材料存在光学制冷效应。在此之后,掺镱晶体的光学制冷受到越来越广泛的关注。掺镱的氟钨酸盐晶体在真空中能从室温降至91 K左右^[49]。2015年,单个掺镱的氟化钇锂(Yb:YLF)晶体在介质为液体时[截断的四方双锥(TTB)形态,平均半径约为764 nm,可通过水热合成法制备],可在外界1020 nm激光的激发下使温度较室温降低15 K^[50],并产生足够大的温度梯度。因此,将此晶体通过PDMS基底固定,突出的部分可作为纳米冷源(图2),产生对周围粒子的热泳以及对流效应,并进行捕获^[42]。2021年, Zheng课题组利用涂覆在玻璃表面的Yb:YLF晶体层的局部光学制冷效应在重水(D₂O)溶液中产生了5 K/μm的温度梯度场,首次证明光学制冷也可以对纳米颗粒进行捕获^[41]。

2.2 热动力学效应

2.2.1 热泳以及热电泳

当粒子与溶剂接触时,由于电荷分离,在二者之间会产生电势差,形成电双层。当粒子与溶剂所在的溶液具有温度场时,温度场的不均匀性就会导致二者之间离子分布的电双层内产生超额静水压力,从而产生热渗透流。除了电双层会产生热渗透流外,范德瓦耳

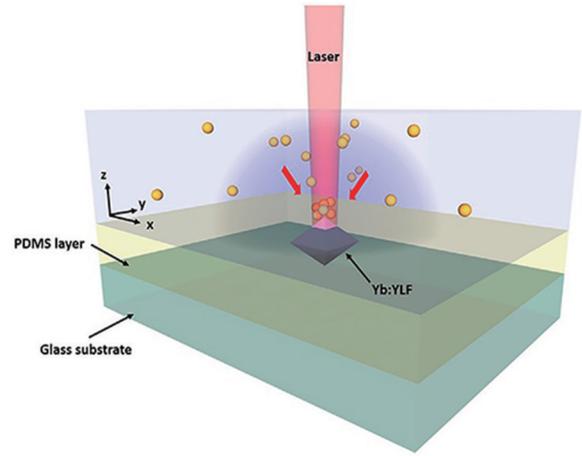


图2 用于操纵纳米颗粒的光致冷镊示意图^[42]

Fig. 2 Schematic of refrigerative tweezers for nanoparticles manipulation^[42]

斯效应(van der Waals effect)也参与作用,这二者综合表现到粒子的运动上就是热泳。因此,如图3(a)所示,热泳力作为一种施加在胶体(悬浮粒子、分子、胶束等)的广义力,其作用到粒子上的漂移速度^[51]可表示为

$$v = -D_T \cdot \nabla T, \quad (4)$$

式中: D_T 为热扩散系数; ∇T 为温度梯度。

一般状态下,溶液中的粒子会向低温区转移,但并不是所有的粒子都会向低温区转移,其大小和方向可以由热泳(Soret)系数公式(5)来描述,即

$$S_T = \frac{D_T}{D}, \quad (5)$$

式中: D 为由布朗运动引起的扩散系数。当Soret系数 $S_T > 0$ 时,粒子向低温区转移(厌热);反之,粒子向高温区转移(嗜热)^[52]。

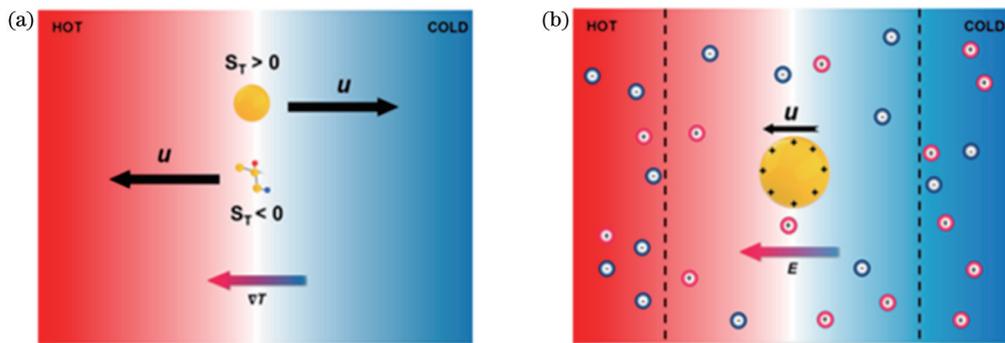


图3 温度场粒子驱动的物理机制^[32]。(a)热泳示意图;(b)热电效应示意图

Fig. 3 Physical mechanisms of OTFT^[32]. (a) Diagram of thermophoresis; (b) diagram of thermoelectric effect

如图3(b)所示,在温度梯度场中,当溶液中存在离子时,热泳会让具有不同Soret系数的离子的迁移方向或者速度不一样,这会让两种带不同电荷的离子在中和位置分离,从而形成一个热电场,这也叫作塞贝克效应。在离子分布达到稳定的情况下,热泳产生的电场^[53] E_T 可表示为

$$E_T = S \nabla T, \quad (6)$$

式中: S 为塞贝克系数^[54]。

$$S = \frac{k_B T}{e} \frac{\sum_i Z_i C_i S_{T,i}}{\sum_i Z_i^2 C_i}, \quad (7)$$

式中: k_B 为玻尔兹曼常数; T 为环境温度; e 为单位电

荷; i 为离子种类; Z_i 为 i 类离子的电荷数; C_i 为 i 类离子的浓度; $S_{T,i}$ 为 i 类离子的热泳系数。式(6)表明电场和温度梯度成正比。根据文献[52], 还可以得到离子漂移速度的另外一个表达式, 即

$$u = -\frac{\epsilon \xi^2}{3\eta} \frac{\nabla T}{T} + \frac{\epsilon \xi^2}{\eta} E_T, \quad (8)$$

式中: ϵ 为溶剂介电常数; ξ 为表面电位; η 为黏滞系数。

2.2.2 电热等离子体流

当激光照射纳米结构时, 激光与纳米结构发生光耦合, 在纳米结构附近产生一个高度局域化的增强电磁场, 导致流体的介电常数以及电导率产生局部梯度, 结合在流体中施加的交变电场, 产生电热等离子体(ETP)流, 会对发生热运动的液体施加一个阻力。经过微扰展开, 在频率为 ω 的交变电场作用下, 单位体积的时间平均电力^[55]可以表示为

$$\langle F_{\text{ETP}} \rangle = \frac{1}{2} \epsilon \left[\frac{(\alpha - \gamma)}{1 + (\omega\tau)^2} (\nabla T \cdot E) E - \frac{1}{2} \alpha |E|^2 \nabla T \right], \quad (9)$$

式中: 电荷弛豫时间 $\tau = \epsilon/\sigma$; $\alpha = (1/\epsilon)(\partial\epsilon/\partial T)$; $\gamma = (1/\sigma)(\partial\sigma/\partial T)$; ϵ 和 σ 分别为流体的介电常数和电导率; E 为外加交变电场强度。

2.2.3 自然对流

自然对流是指在重力作用下由流体自身密度不均匀而引起的流动。当溶液中存在温度梯度时, 高温区域的溶液密度减小, 导致溶液出现密度梯度。低密度的流体向上转移时, 高密度流体会因为流体的连续性而向热源流动, 而高密度流体在热源处被加热后继续向上转移, 进而形成自然对流。自然对流与溶液中的粒子大小以及带电情况等因素无关, 由温度场引起并只发生在流体内部。可以用纳维-斯托克斯方程描述流体速度分布^[56], 即

$$\frac{\partial}{\partial t} \mathbf{v}(r, t) + [\nabla \cdot \mathbf{v}(r, t)] \mathbf{v}(r, t) = \eta \nabla^2 \mathbf{v}(r, t) + \mathbf{f}_i[T(r, t)], \quad (10)$$

式中: $\mathbf{v}(r, t)$ 为周围流体的速度; $T(r, t)$ 为温度梯度; \mathbf{f}_i 为由温度梯度产生的单位质量流体的力。为了降低非等温流体速度的求解难度, 通常采用 Boussinesq 近似^[48]。可以认为流体密度的变化只对 \mathbf{f}_i 产生影响, 对其他项不产生影响, 因此 \mathbf{f}_i 的估算公式^[57]为

$$\mathbf{f}_i(T) = \beta_s g [T(r, t) - T_0] \mathbf{z}, \quad (11)$$

式中: β_s 为流体的膨胀系数; g 为重力加速度; T_0 为环境温度; \mathbf{z} 为 z 方向的单位向量。图 4 所示为自然对流的模拟结果以及腔室高度对自然对流速度场的影响。

2.2.4 热渗透流

光致热渗透流是由光诱导产生的且出现在固-液边界的一种环流, 基本在所有等离子体结构中涉及温度场的情况下都存在。光聚焦在等离子体结构(金膜、

石墨烯等)时会产生热量, 从而产生不均匀的温度场, 影响了原来稳定的固-液相互作用。在固-液界面的液体边界层中, 过量的焓会驱动产生一种平行于固-液界面的滑移流, 即热渗透流^[59-60]。在边界上的固-液相互作用的长度通常只有几纳米, 所以固-液边界上的边界流可被视为准滑移流体动力边界条件^[56], 热渗透流产生的有效滑移速度为

$$v_s = -\frac{1}{\eta} \int_0^\infty zh(z) \frac{\nabla T}{T} dz \equiv \chi \frac{\nabla T}{T}, \quad (12)$$

式中: $h(z)$ 为过量的焓; χ 被定义为热渗透系数, 这个系数很好地描述了固-液界面的相互作用。当 $\chi < 0$ 时, 液体流向到冷区; 当 $\chi > 0$ 时, 液体流向到热区。

2.2.5 耗尽力

光学加热效应会产生不均匀温度场, 从而导致热泳, 而热泳导致溶质分子分布产生浓度梯度, 例如聚乙二醇(PEG)等高分子。稳定后, 假设分子的 Soret 系数 S_T^m 与温度无关, 其分子浓度分布^[61]可表示为

$$c(r) = c_0 \exp[-S_T^m \Delta T(r)], \quad (13)$$

式中: r 为分子与最热点的距离; c_0 为初始分子浓度; S_T^m 为分子的 Soret 系数; $T(r)$ 为温度分布。目标粒子可以在溶质存在分子浓度梯度的情况下被驱动, 即受到溶质分子的耗尽力作用, 有时也将此力称为热扩散力, 是由目标粒子边界层中溶质浓度不同导致的, 而目标粒子和溶质间的相互作用将会导致额外的压力。耗尽力给粒子带来的作用^[61]可以表示为

$$u = \frac{k_B}{3\eta} R^2 c (TS_T^m - 1) \nabla T, \quad (14)$$

式中: R 为聚合物旋转半径; T 为温度; c 为聚合物浓度。如图 5 所示, 耗尽力还可以用熵(有限体积)效应来解释, 即溶质分子浓度梯度产生了非平衡熵力, 把 DNA 等低浓度的溶质推向溶质分子浓度更低的热区。

2.2.6 马兰戈尼对流

马兰戈尼对流现象是指两种流体之间由于表面张力梯度的存在进行了质量传递, 两种流体的表面张力梯度不一样, 导致两种流体分界面上的应力不连续, 从而产生了马兰戈尼对流现象。浓度梯度和热梯度都可以引起表面张力梯度, 而由热梯度表面张力引起的对流现象也可称为热毛细管对流现象^[63]。如图 6 所示, 在一般情况下, 随着温度的升高, 液体表面张力会呈线性下降, 从而产生界面剪应力(从温度高的地方到温度低的地方), 因此马兰戈尼对流会沿着分界面的温度梯度移动, 由于流体具有整体性, 因此形成一种循环流。与温度有关的马兰戈尼对流公式^[64]为

$$\tau_s = -\sigma_T \nabla T = \eta \frac{\partial \mathbf{u}_s}{\partial N}, \quad (15)$$

式中: τ_s 为界面剪应力; σ_T 为表面张力的温度系数(由 Eötvös 定律^[65-66]计算得到); \mathbf{u}_s 为对流分子到曲面的切

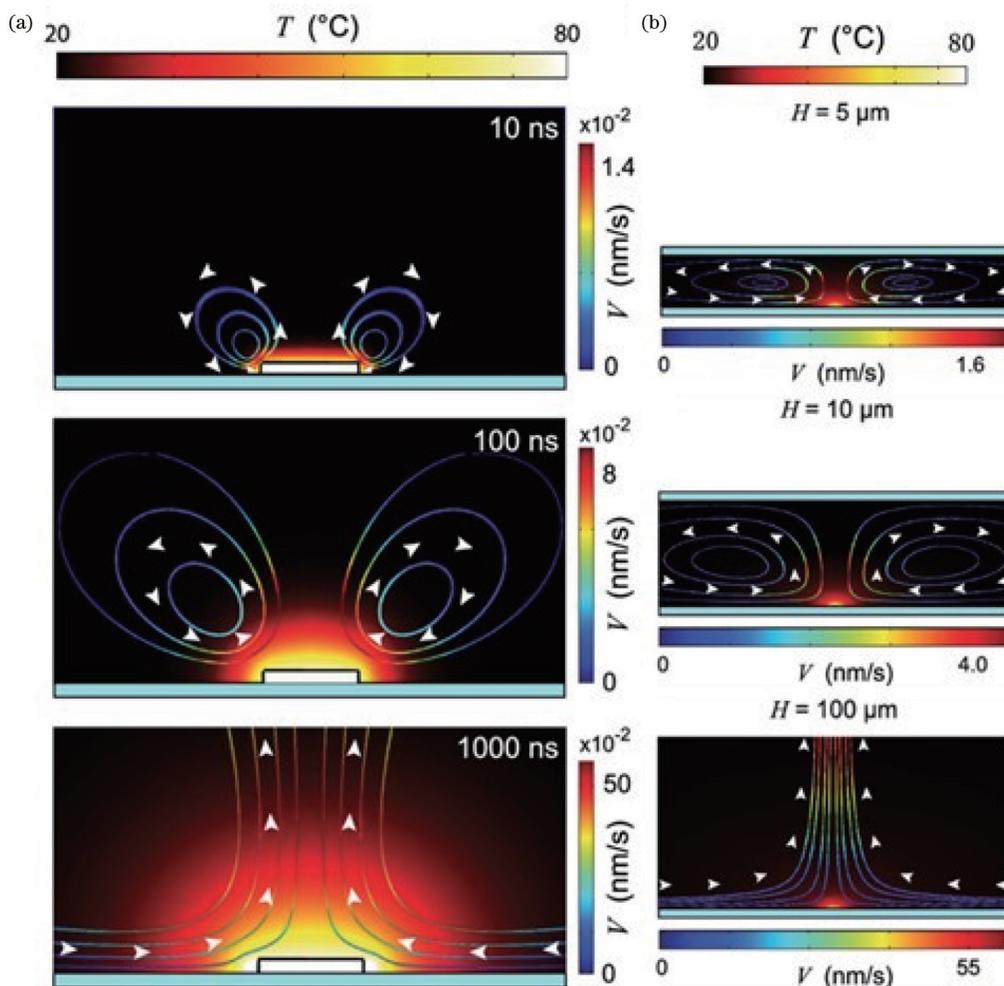


图 4 自然对流的模拟结果^[58]。(a)厚度为 40 nm、直径为 500 nm 的金纳米盘从室温加热到 80 °C 时,周围对流情况的模拟;(b)不同腔室高度条件下,半径为 250 nm、温度为 80 °C 的金纳米结构周围产生的速度场

Fig. 4 Simulation results of natural convection^[58]. (a) Simulated convection around a gold nanodisk with a thickness of 40 nm and a diameter of 500 nm, and the heating of nanostructures from room temperature up to 80 °C; (b) velocity fields for various chamber heights, induced by a gold disk of radius $r=250$ nm and $T=80$ °C

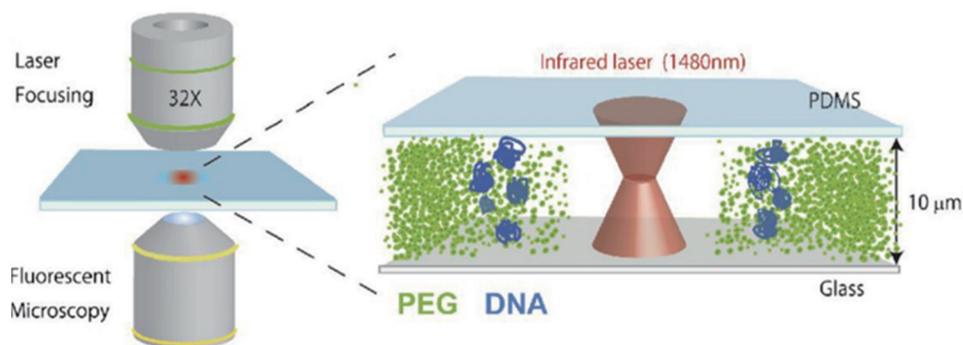


图 5 PEG 分子和 DNA 在不均匀温度场下的分布示意图^[62]

Fig. 5 Distribution of PEG and DNA under non-uniform temperature field^[62]

向速度; N 为法向量。

3 基于温度场的光镊对于生物粒子的操控

3.1 纳米颗粒的操控

在大部分光镊系统的测试中,最常见的捕获粒子

就是 PS 颗粒,主要是因为 PS 颗粒带有与生命物质表面尺寸和形貌相似的特征,因此不仅可以当作表面复杂的生命物质的模型系统^[67],还可以当作靶向药物的载体^[68]。PS 颗粒表面带电(微量)、疏水且光滑^[69-71],这些特性对于生物医学研究具有重要意义。热电光镊^[39]、光热泳镊^[72]、光冷镊^[41-42]、耗尽力驱动光镊^[73]、自

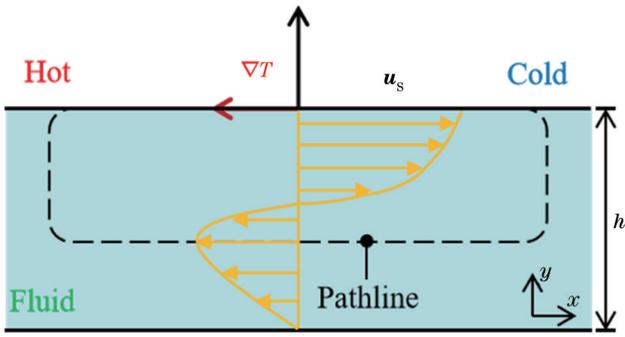


图6 马兰戈尼对流截面示意图(温度场梯度存在情况下),流体的切向表面速度 u_s 指向靠近液-气界面的冷区,然后通过表面下的流动流回温度高的一端

Fig. 6 Marangoni convection section diagram (in the case of temperature field gradient), the tangential surface velocity u_s of the fluid points to the cold zone near the liquid-gas interface, and then flows back to the higher end through the flow under the surface

然对流光镊^[36]、马兰戈尼对流光镊^[74-75]、热流体动力镊^[71]等微纳米粒子操纵技术都可以对PS颗粒进行捕获和操纵,并且使粒子富集起来,但每一种微纳米粒子操纵技术的操纵水平、适用性和精度都不一样。

这里举几个比较典型的例子。2012年,一种基于马兰戈尼对流的光镊被研制出来^[74],其原理是光学加热导致液-气界面的表面张力发生变化,液体向表面张力大的区域流动,从而产生捕获、富集效应。值得注意的是,马兰戈尼对流光镊需要利用光加热水-油界面或液-气界面,其优点是对样品的性质、尺寸等要求不高,且所产生的捕获力比自然对流大。马兰戈尼对流光镊可以捕获与热源有一定距离的粒子,从而减小了光热损伤,在集群操纵上可以发挥所长,但其局限性是对单个小球的操纵精度较低。2022年,暨南大学辛洪宝与李宝军团队提出一种光诱导的基于冷马兰戈尼对流(CMF)的微粒操控与捕获方法^[75]。他们利用反向的马兰戈尼对流实现微粒集体迁移与自组织等微群驱动应用,因此该方法在药物输送以及精准医疗方面具有重要的应用意义。

如图7所示,2015年香港中文大学的Ho Pui Ho课题组使用大规模随机金纳米岛以及金膜结构开发出基于光致温度场的纳米光镊,实现对PS颗粒的操控^[33,36,76]。其核心原理是自然对流与热泳力的共同作用,使得PS颗粒向高温处移动,从而产生捕获以及组装。该方法仅仅可以实现对于嗜热($D_T < 0$)粒子的捕获,但是在自然界中嗜热粒子占少数。此外,热区捕获也存在潜在的光热损伤。

如图8所示,2018年德州大学奥斯汀分校研发的光热电镊(OTENT),可进行金属纳米球的精确操控以及原位光谱检测^[39]。其主要操控原理是使用光学加热形成的温度场让Soret系数不同的正、负离子进行热

泳迁移,从而形成内电场,并作用于表面改性为正电后的金属纳米颗粒,以实现捕获。另外,将光热响应基底换成热响应系数更高的石墨烯材料,可以实现效率更高的热电镊操控^[40]。光热电镊所使用的激光功率比传统光镊低得多,是一个对于无机物来说效率极高的操控方式,但该方法依赖表面活性剂对目标的改性作用,对生物粒子操控的应用有限,而且小球被捕获在光束中心,对生物粒子的潜在光热损伤还是存在的。

2020年,一种基于热流体动力的光镊(OTET)也被研发出来,其作用原理是纳米孔阵与光耦合产生高度局域化且增强的热点,并产生光诱导的温度梯度,进而产生径向向内的ETP流^[77]。结合交变电场引起粒子和溶液的径向向外的电渗透(ACEO)流,会出现一个流体速度为0的停滞区,粒子便在此被捕获。此光镊可以根据粒子大小对其进行分选。值得注意的是,捕获位置距离高强聚焦激光几微米,这可以尽可能地减少光热损伤。

2021年,主要利用Yb:YLF晶体层的局部制冷效应在 D_2O 溶液中产生温度梯度场来捕获厌热粒子的光镊被研制出来^[41],其作用原理与光热泳镊类似,但光镊产生的是中心低温的温度梯度场,而厌热粒子($D_T > 0$)可以在冷区(激光的焦点)被捕获。因为大多数生物粒子的 $D_T > 0$,所以此种光镊的生物应用将更为广泛。未来还要解决纳米晶体的生物毒性,以及溶剂分子的产热问题。

3.2 蛋白质分子的操控

蛋白质是生物大分子,由多个氨基酸分子组成,是地球生物体的必要组成部分,在生物体中有着重要作用。操纵单个蛋白质或者多个蛋白质对于生物医学的研究具有重要意义,例如抗原抗体的结合、蛋白质酶、蛋白结构的研究等。在操纵的过程中,主要关注光镊对蛋白质结构的影响。蛋白质一般分为四级结构:一级结构是组成蛋白质多肽链的线性氨基酸序列;二级结构主要是不同氨基酸中的羰基和氨基之间产生氢键后形成的稳定结构,主要有两种形式(α 螺旋和 β 折叠)^[78];三级结构是多个二级结构通过三维排布构成的空间结构,有氢键等稳定三级结构,三级结构可控制一个蛋白质的基本功能;四级结构是指由多个蛋白质组成的具有新功能的复合体(若其中一个蛋白质亚基失效,这个复合体便一起失效)。因此,如何在对蛋白质的各级结构影响最小的情况下选用合适的操控方式,是一个关键问题。

传统的光学力主导的纳米光镊在2012年已经实现对于蛋白分子的捕获。2011年,维多利亚大学的Gordon课题组使用双纳米孔结构来构建双纳米孔光阱,实现了光场局部增强的捕获点,并设计了一种自诱导反作用(SIBA)光学阱^[79]。实验结果表明,该装置实现了对20 nm PS颗粒的稳定捕获,捕获时间超过5 min。对比100 nm PS颗粒的捕获情况,在相同的捕

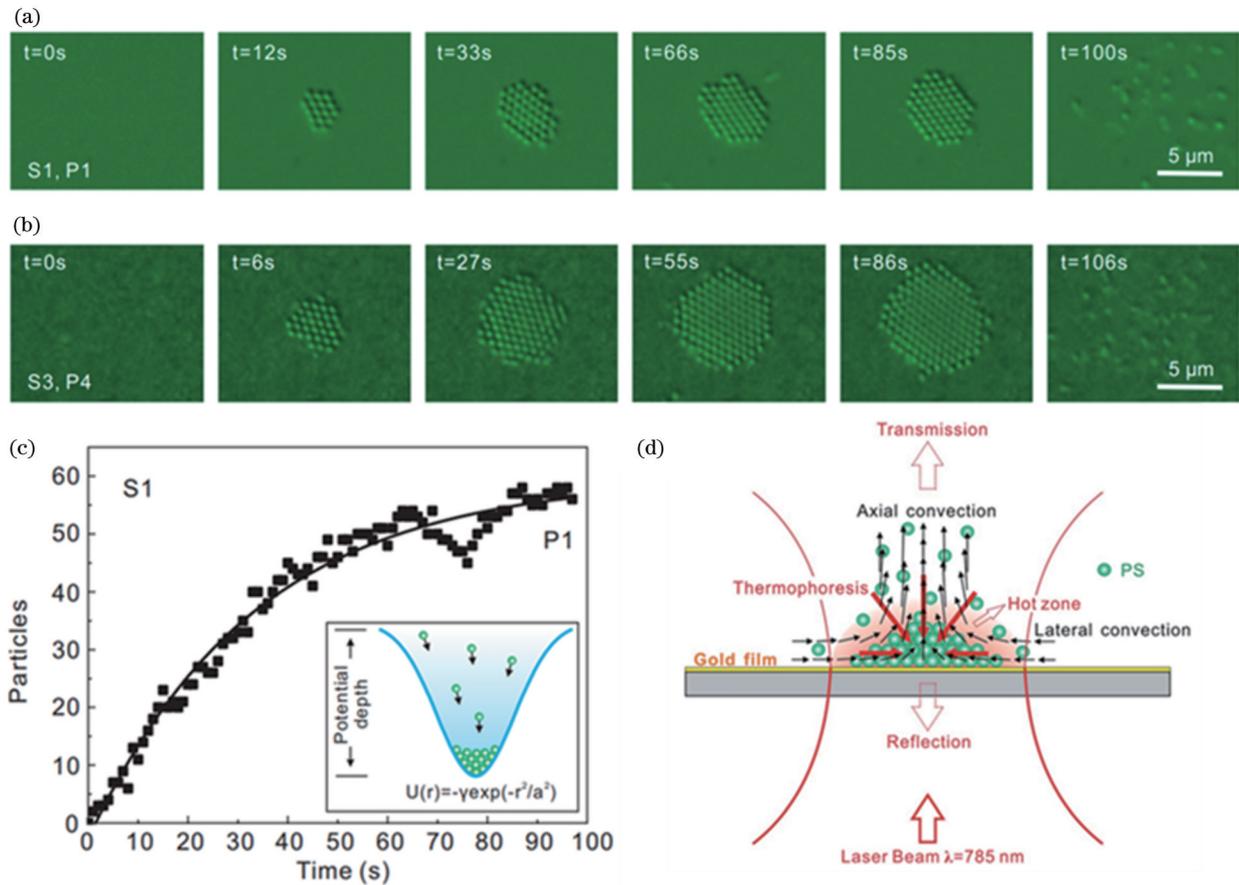


图 7 基于纳米岛和金膜的 OTFT 示意图。500 nm 的 PS 颗粒在(a)激光功率为 1 mW 和(b)激光功率为 14.5 mW 下的捕获图像^[36]；(c) 1 mW 激光功率下,被捕获的 500 nm PS 颗粒捕获数量随时间变化的统计分析图,插图为高斯分布的捕获势阱原理图,其深度描述为 $U(r)$, γ 是一个常数, r 为坐标, a 为势阱的宽度^[36]；(d) 实验原理示意图(热对流使溶液沿横向进入热区,然后沿轴向离开热区;热泳驱动 PS 颗粒从冷区到热区,其驱动力大于轴向对流阻力)^[76]

Fig. 7 Schematic of OTFT based on gold nanoislands and gold films. Successive images of 500 nm PS particles trapping at (a) laser power of 1 mW and (b) laser power of 14.5 mW^[36]; (c) statistical analysis of the trapped PS number as a function of time for 500 nm particles, and the inset shows the schematic of the trapping potential well with a Gaussian profile, whose depth is described as $U(r)$, γ is a constant, r is the coordinate, and a is the width of the potential well^[36]; (d) schematic of the experiment (thermal convection pushes the solution laterally into the hot zone and then axially out of the zone; thermophoresis drives the PS particle from cold zone to hot zone with a force larger than the axial convective drag force)^[76]

获光束功率下,双气孔可为较小的粒子提供更大的光学力。于是,该小组在 2012 年利用该装置实现了对水动力半径为 3.4 nm 的牛血清蛋白(BSA)的捕获,并且发现 BSA 在该装置的光学力作用下被展开^[78]。因此,该实验使单个分子水平上的蛋白质研究成为可能。

2012 年,康奈尔大学的 Erickson 课题组开发了一种新型的光子晶体纳米镊,利用设计的氮化硅光子晶体 PhC 谐振腔产生增强的捕获光阱,实现了对威尔逊病蛋白的捕获与释放^[80]。其中谐振腔升温小于 0.3 K,有效避免了光热对生物活性的影响。2013 年,北海道大学的 Tsuboi 课题组使用与目标物体的电子跃迁发生电子共振的波长激光捕获方法,也就是共振光学捕获(ROT)方法,在水溶液中使用 1064 nm 激光成功捕获肌红蛋白(Mb)^[81]。

目前光镊在对于蛋白质的研究应用中还只能是对

蛋白质起到捕获固定的作用,而不能对蛋白质进行精准操控^[80-82],在不受束缚的情况下,对蛋白质的精准操控仍具挑战性。面对这个挑战,研究人员在传统光学力的基础上用温度场对蛋白质加以辅助,使得温度场光镊成为对蛋白质精准操控的有力解决方法。

如图 9 所示,2019 年德国莱比锡大学的 Cichos 课题组将一个铬环放置在距离为 1 μm 的两块玻璃板之间,使用波长为 808 nm 的聚焦激光束对铬环进行旋转加热,进而在铬环周围的液体产生一个温度场,利用热泳、热渗透流对淀粉样纤维蛋白进行捕获^[83]。该方法产生的光漂白较弱,可实现对于淀粉样纤维蛋白的长时间观察(至少 10 min),为理解和观察蛋白质错误折叠导致的相关疾病研究提供了工具基础。

此外,加上电场力的辅助也可以增强温度场的操控与捕获功能。2020 年,美国范德堡大学的 Ndukaife

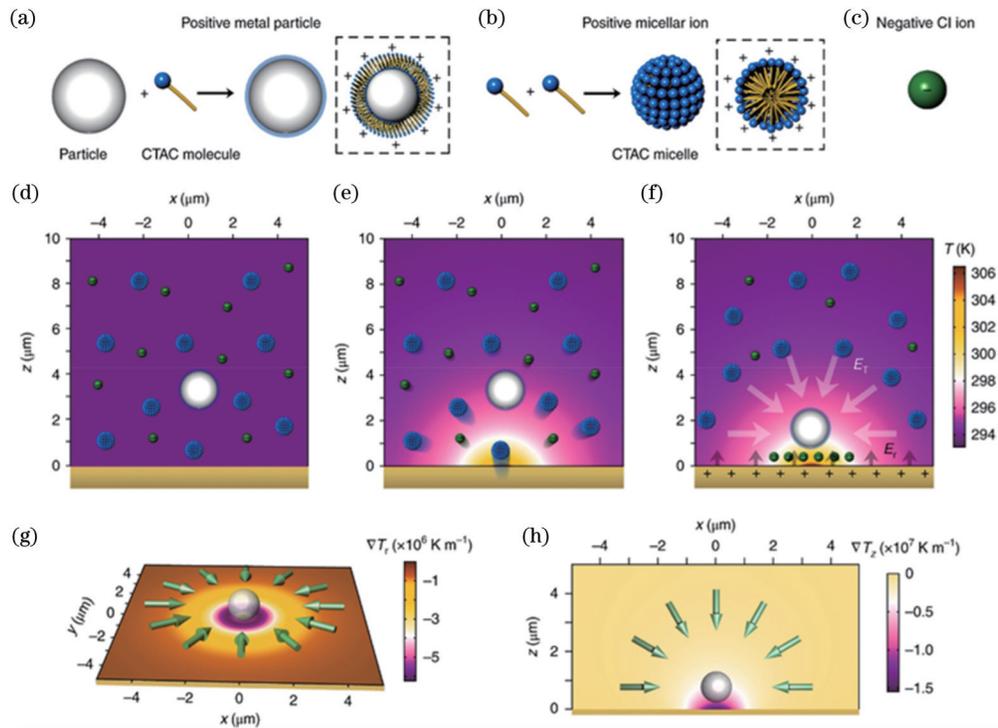


图 8 OTENT 的工作原理^[39]。(a)表面活性剂十六烷基三甲基氯化铵(CTAC)吸附在金属纳米粒子上对其进行改性;(b)CTAC 胶束的形成;(c)氯离子;(d)各种粒子在无加热情况下的分布情况;(e)各种粒子在加热情况下的热泳迁移情况;(f)各种粒子热泳迁移稳定后形成的捕获电场 E_T 与带正电衬底产生的排斥电场 E_r 平衡,实现金属纳米粒子捕获;(g)平面内的温度梯度 ∇T_x 和相应捕获力的方向;(h)垂直剖面的温度梯度 ∇T_z 及相应捕获力的方向

Fig. 8 Working principle of OTENT^[39]. (a) Surface charge modification of a metal nanoparticle by CTAC adsorption; (b) formation of CTAC micelles; (c) schematic of a Cl^- ; (d) dispersion of a single metal particle and multiple ions in the solution without optical heating; (e) thermophoretic migration of the ions under optical heating; (f) steady ionic distribution under optical heating generates a thermoelectric field E_T for trapping the metal nanoparticle, and repulsive electric field E_r arises from the positive charges of the thermoplasmonic substrate and balances E_T ; (g) simulated in-plane temperature gradient ∇T_x and direction of the corresponding trapping force; (h) simulated vertical-section temperature gradient ∇T_z and direction of the corresponding trapping force

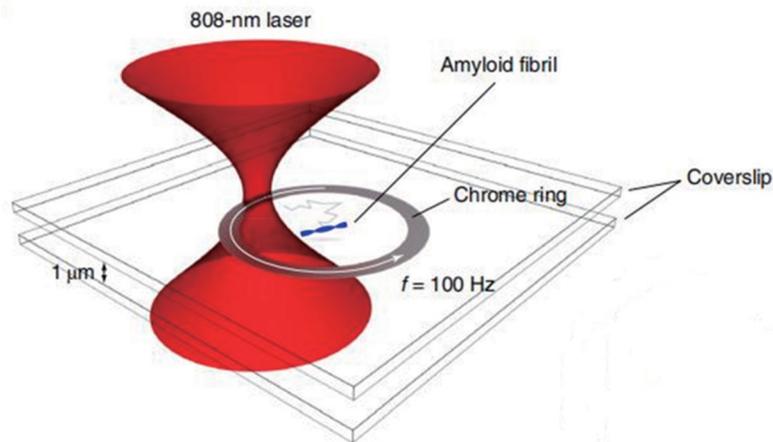


图 9 捕获装置和捕获样品的图解,其中铬环(内径为 $10\ \mu\text{m}$,外径为 $12\ \mu\text{m}$,厚度为 $50\ \text{nm}$)由波长为 $808\ \text{nm}$ 的激光以 $100\ \text{Hz}$ 的频率进行旋转加热^[83]

Fig. 9 Illustration of the trapping mechanism and the sample geometry. A chrome ring (inner diameter is $10\ \mu\text{m}$, outer diameter is $12\ \mu\text{m}$, and height is $50\ \text{nm}$) is heated by a focused $808\ \text{nm}$ laser rotating along the circumference of the ring at $f=100\ \text{Hz}$ ^[83]

小组开发出可在距离激光几微米的位置捕获、操控以及分类粒子的 OTET,实现了对 $10\ \text{nm}$ 以下的 BSA 的捕获和操控^[77]。Ndukaife 小组将 BSA 的浓度稀释至

$15\ \text{fmol/L}$,将波长为 $932\ \text{nm}$ 的激光聚焦在金纳米孔阵列上,结合交流电场,成功在距离金纳米孔阵列边缘约 $8.6\ \mu\text{m}$ 的位置实现 BSA 的捕获与操控。除此之

外,还可以通过调节交流电的频率来改变捕获位置与金纳米孔阵列边缘的距离,结果如图 10 所示,在一定

频率范围内,捕获位置与金纳米孔阵列边缘的距离随着交流电场频率的增大而减小。

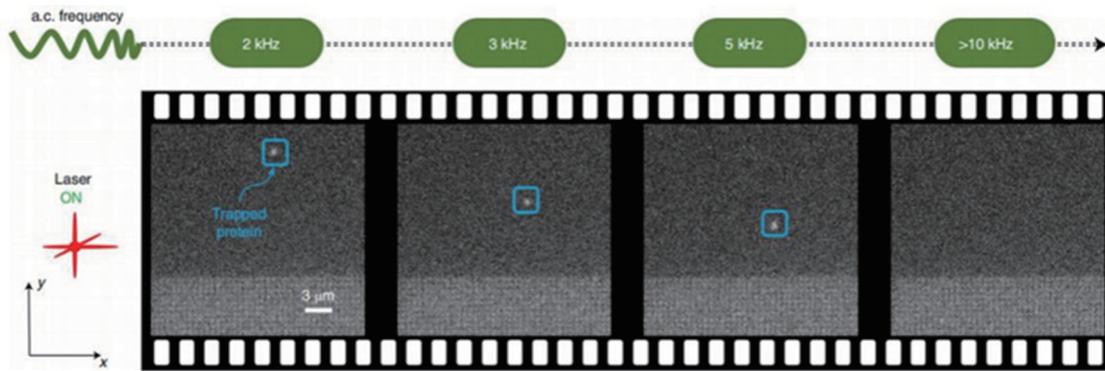


图 10 在不同的交流电场频率下被捕获粒子的位置^[77]:在 2 kHz 的交流电场频率下,粒子被捕获在远离金纳米孔阵列边缘的位置;当交流电场频率从 2 kHz 到 3 kHz 再到 5 kHz 时,捕获位置向内移动,更靠近金纳米孔阵列的边缘;当交流电场频率增大到 10 kHz 时,捕获失效

Fig. 10 Frame-by-frame demonstration of the trapped molecule's position under different AC frequencies^[77]: under 2 kHz AC frequency, the single molecule is trapped farther away from the pattern's edge; when the AC frequency is tuned higher, from 2 kHz to 5 kHz, the trapping position is shifted inward, closer to the pattern's edge; when the AC frequency increases to 10 kHz, the capture fails

图 9 与 10 所示的两种方法都避免了蛋白质在高温区被捕获,减小了对于蛋白质可能的热损伤。2022 年,本课题组利用时变的自然对流和热泳共同作用实现了对于蛋白质在非高温区的群体捕获以及富集(具体内容见 3.5 节)^[84],但仍然未能实现对于单个蛋白质粒子的精准操控。目前,运用温度场光镊对蛋白质进行精准操控仍然是一个难题。

3.3 核酸分子的操控

DNA 是有三级结构的核酸分子,一级是由多种脱氧核苷酸组成,二级是两股 DNA 链组成双螺旋结构,三级是在二级结构的基础上进一步绕同轴扭转,形成额外的螺旋^[85]。核糖核酸(RNA)的结构也有三级,一级是由多种核苷酸组成,二级是形成的局部双螺旋,三级是 RNA 分子二级结构的进一步折叠^[86]。核酸分子的捕获操控,对理解其内部作用力、结构以及分子间的相互作用具有重要意义。如图 11 所示,2002 年,Braun 和 Libchaber^[35]通过对流和热泳的相互作用,捕获质粒大小的 DNA。使用 10 mW 的红外激光对玻璃腔(腔体中具有离子溶液)进行加热,产生的热泳和环形对流将 DNA 富集在中心靠下的腔室壁上,其分子浓度增加了 13 倍。2012 年,Maeda 课题组利用光热产生的热泳和 PEG 分子浓度梯度来对 T4 DNA 和 RNA 进行操控和分离,当 PEG 的热扩散力大于热泳阻力时,溶质被捕获在加热区域^[62]。2013 年,Maeda^[87]再次利用光致热产生热扩散流,演示了对 DNA 在二维空间的捕获过程。热扩散流操作中的势阱力是由界面渗透压梯度产生的,运动方向对物质的依赖性较小。除此之外,热扩散流不仅可以对大于 100 kbp(kilobase pair)的 DNA 进行捕获,也可以积聚较短的 4.3 kbp 的 DNA 分子。因

此,光致温度场光镊提高了光驱动大分子组装的可能性。对 DNA、RNA 的热运动、富集和组装的研究,对于探索地球生命起源也具有重要意义。

2007 年,Jiang 和 Sano^[88]利用热泳对单个 DNA 分子进行拉伸操作,将所产生的 0.1 pN 量级的内部张力作用在单个 DNA 分子上。如图 12 所示,一端栓系的 DNA 沿着温度梯度被拉伸,而两端栓系的 DNA 被拉伸形成一个圆弧形,直到张力与诱导力平衡。

2012 年,洛克菲勒大学的 Maeda 课题组利用热泳以及由 PEG 浓度梯度引起的热扩散流的共同作用实现了 DNA 分子的富集与分离^[62]。如图 13 所示,2015 年慕尼黑大学 Braun 课题组对进化中的多孔岩石附近的核酸分子积累进行模拟,通过加热产生对流与向上的供给流叠加,在势阱内形成不对称的流动,实现对所捕获长链 DNA 的筛选^[89]。该研究表明在地球上普遍存在的非平衡环境中,稀有的长链核酸的自然热富集可能会促使分子进化。

2015 年,九州大学 Maeda 课题组将红外激光聚焦到腔室中,产生 PEG 浓度梯度,利用开发的微流控装置控制热扩散流,实现对 DNA 分子以及盘基网柄菌的持久操控,较低的 PEG 浓度梯度引导细胞自发地向热点中心移动^[90]。由于基于温度和浓度梯度的热扩散流受材料的影响较小,这种低材料依赖性对于软性生物材料的操控具有重大意义。直到 2020 年,Fukuyama 和 Maeda^[91]再次对软性生物材料的操控进行了进一步总结。细胞内现象[三磷酸腺苷(ATP)水解结合钠钾泵进行细胞内外物质交换]与物理转运之间的关系仍然比较模糊,因此推进对生物传输机制的理解以及对其中物理原理解释是应用这一研究的关键。

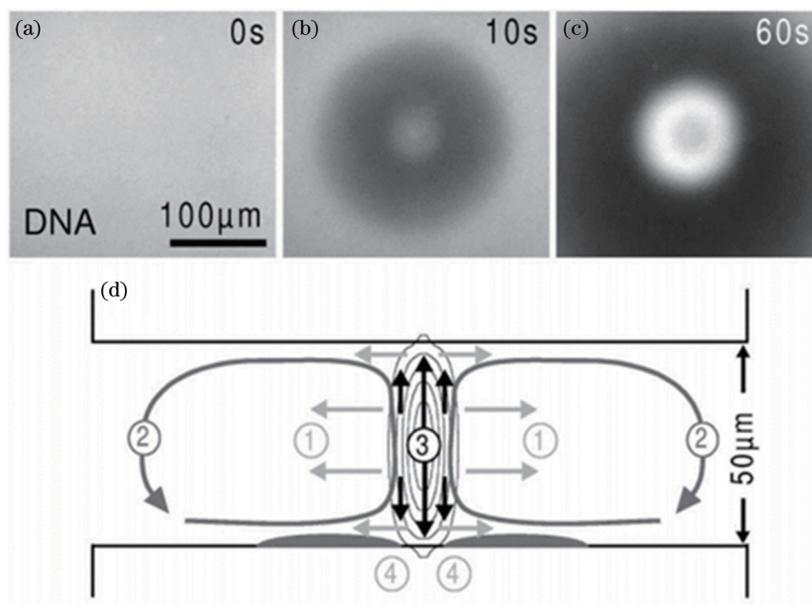


图 11 利用热泳捕获 DNA 的机制^[35]。(a)染色 DNA 在加热前的图像;(b)中心加热产生的热泳向周围排斥 DNA;(c)热泳和环形对流将 DNA 捕获在中心下方的位置,形成一个环的形状;(d)热泳在激光中心的捕获的机制是横向热泳①、④和轴向热泳③以及对流②的相互作用

Fig. 11 Mechanism of thermophoretic trapping of DNA^[35]. (a) Image of stained DNA before heating; (b) thermophoresis from central heating first repels DNA from the surrounding area; (c) thermophoresis and toroidal convection trap DNA in the center toward the lower chamber wall in a ring geometry, and the concentration enhancement is 13-fold; (d) the mechanism of thermophoretic trapping in the center is an interplay of lateral thermophoresis ①, ④ and axial thermophoresis ③ with convection ②

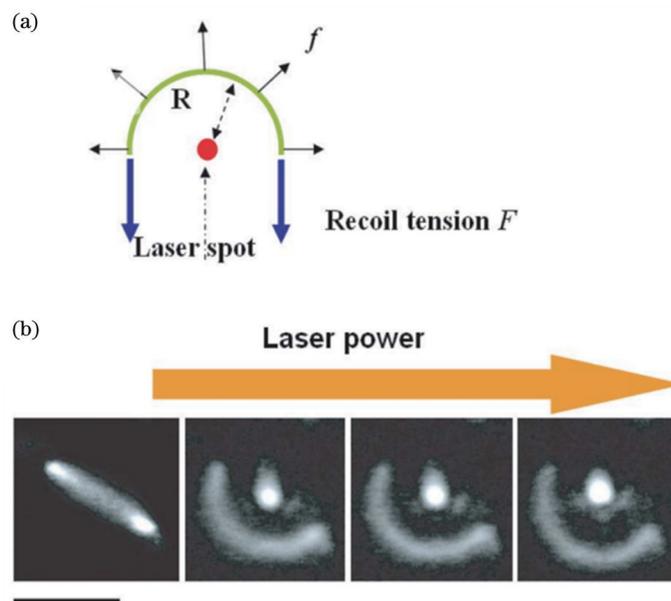


图 12 DNA 在温度梯度场中的拉伸^[88]。(a)通过温度梯度和张力的平衡来拉伸两端栓系 DNA;(b) DNA 在不同激光功率下的拉伸,从左到右,分别是没有加热,以及激光功率为 17.5、19.5、21.5 mW 情况下 DNA 的拉伸情况,后三幅图中间的圆形亮斑是激光会聚位置,图中比例尺为 5 μm

Fig. 12 Schematic of stretching single-molecule DNA via temperature gradient^[88]. (a) Stretching of two end tethered DNA by temperature gradient and force balance scheme; (b) DNA stretching for different laser powers (from left to right, no heating and 17.5, 19.5, and 21.5 mW of laser power; the scalar bar is 5 μm) and circular bright spots in the middle of the last three images are the laser converge positions

上述利用例子都是利用温度场与溶质浓度梯度的共同作用进行操控。温度梯度同时诱导两种不同溶质

的热泳,其中大尺度低浓度的颗粒(例如核酸分子)受局部温度梯度引起的热泳和 PEG 溶质的浓度梯度引

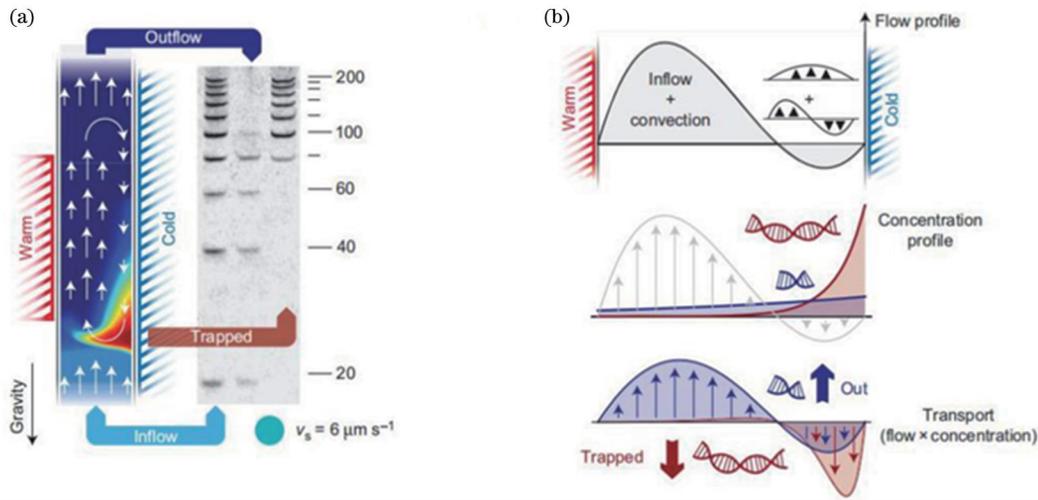


图 13 热驱动过滤器对 DNA 链长的筛选^[89]。(a)核酸分子捕获示意图;(b)热对流对于长链 DNA 的筛选示意图

Fig. 13 DNA strand length screening by heat-driven filter^[89]. (a) Schematic of DNA capturing; (b) schematic of convection induced long strand DNA screening

起的扩散泳同时驱动。然而,以上技术仅仅是利用光热的协同效应对于群体的核酸分子产生了富集效应,对于单分子水平上核酸分子的操作与捕获,目前并未有全面的研究与展示。

3.4 其他纳米生物微粒的操控和分选

对于细菌、细胞、囊泡以及病毒等纳米生物微粒的操控与分选也是光镊的重要应用。目前许多对于病毒的研究都是对其平均特性的分析,但光镊在微纳量级的捕获操控能力,使得对单个病毒或者片段的研究成为可能。另外,目前广泛使用的病毒检测方法,如 PCR^[92]、ELISA^[93]、胶体金免疫法^[94]以及化学发光免疫分析法^[95]等都无法针对病毒的窗口期进行单病毒检测,且有可能产生假阴性的检测结果。使用光镊技术操控单个病毒,将其移动到某种细胞或者组织旁,再结合各种显微技术,就可以观察到病毒对于细胞的完整入侵过程以及细胞死亡的过程。1987年,Ashkin等^[96]使用功率为 120 mW 的单光束氩激光光镊,在没有明

显的光毒性的情况下演示了激光光镊对细菌的光学捕获和操作。目前,微流体力、声学力和光学力等粒子分选方法主要是利用质量、大小、折射率或荧光染色的差异对粒子进行分选。然而,要对具有相似体积和折射率但形状不同的无标记亚微米粒子进行分类,仍然面临着巨大的挑战。

在传统光镊系统中瑞利粒子以及米氏粒子由形状引起的光学力差异非常微小,导致传统光镊对于基于形状的细菌分选捕获效果不太理想^[97]。但是,引起人类疾病的微生物(如球菌以及杆菌)通常具有不同的形状。如图 14 所示,2019 年南洋理工大学的 Liu 团队开发出一种基于硅光子纳米波导阵列的光流控纳米光子锯齿阵列(ONSA),通过光耦合产生锯齿状光场,使得亚微米粒子与光耦合热点相互作用,根据粒子的形状对粒子施加不同的光学力矩,筛分尺寸相近、折射率相同但形状不同的细菌(金黄色葡萄球菌和大肠杆菌)^[98]。

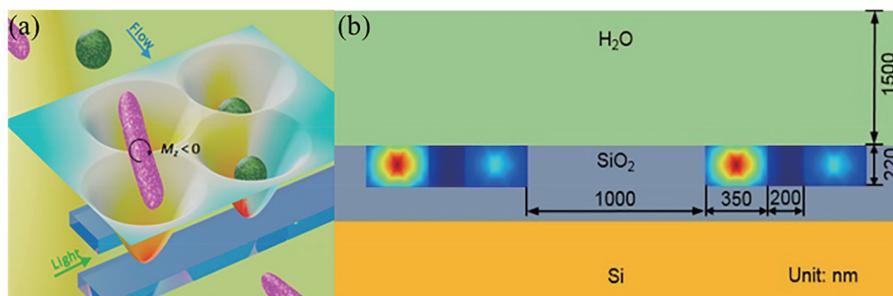


图 14 用于操纵球状(金黄色葡萄球菌)和杆状(大肠杆菌)细菌的 ONSA 的设计示意图^[98]。(a)对于 ONSA 中的细菌分类和动态的说明;(b)ONSA 的尺寸示意图

Fig. 14 Design of ONSA for manipulating spherical (*Staphylococcus aureus*) and rod-shaped (*Escherichia coli*) bacteria^[98]. (a) Illustration of sorting and dynamics of bacteria in the ONSA ; (b) schematic of the dimension of the ONSA

2020 年,Liu 团队基于上述的 ONSA 开发了一种纳米光子芯片,通过控制激光功率以及流速的大小对 100~500 nm 的微球进行分选^[99],表明其在对细菌、病

毒以及囊泡的分选方面具有非常大的应用潜力。由于病毒的尺寸非常小(一般在 20~200 nm),对单个病毒的捕获具有一定的挑战性。2021 年,Liu 团队在

500 nm 的 PS 颗粒表面涂上一层链霉素亲和素,将生物素化腺病毒抗体与链霉素亲和素结合形成连接颗粒,然后将腺病毒抗体连接颗粒加入溶液中捕获腺病毒,并对病毒进行检测^[100]。由于腺病毒和新冠病毒的直径相近,这项技术有望用于对新冠病毒的研究。

当某些致病菌进入人体的血液循环,并在血液中进行生长繁殖时,常常会伴随产生有害的代谢物,从而引起细菌感染。肺结核、猩红热、细菌性痢疾等细菌感

染性疾病严重影响了人类的健康,但是用于食物制作的乳酸菌、作为生物链分解者的枯草杆菌等细菌却对环境和生活具有非常明显的改善作用。因此,针对单个细菌的检测与观察可以让人们更好地了解各种细菌的生物学特征以及行为,改善人类生存环境。如图 15 (a)~(f)所示,2011 年李宝军课题组开发了一种在溶液中基于亚波长直径光纤(SDF)的由光泄漏引起负光泳进而对微粒进行捕获以及移动的装置^[101]。如图 15

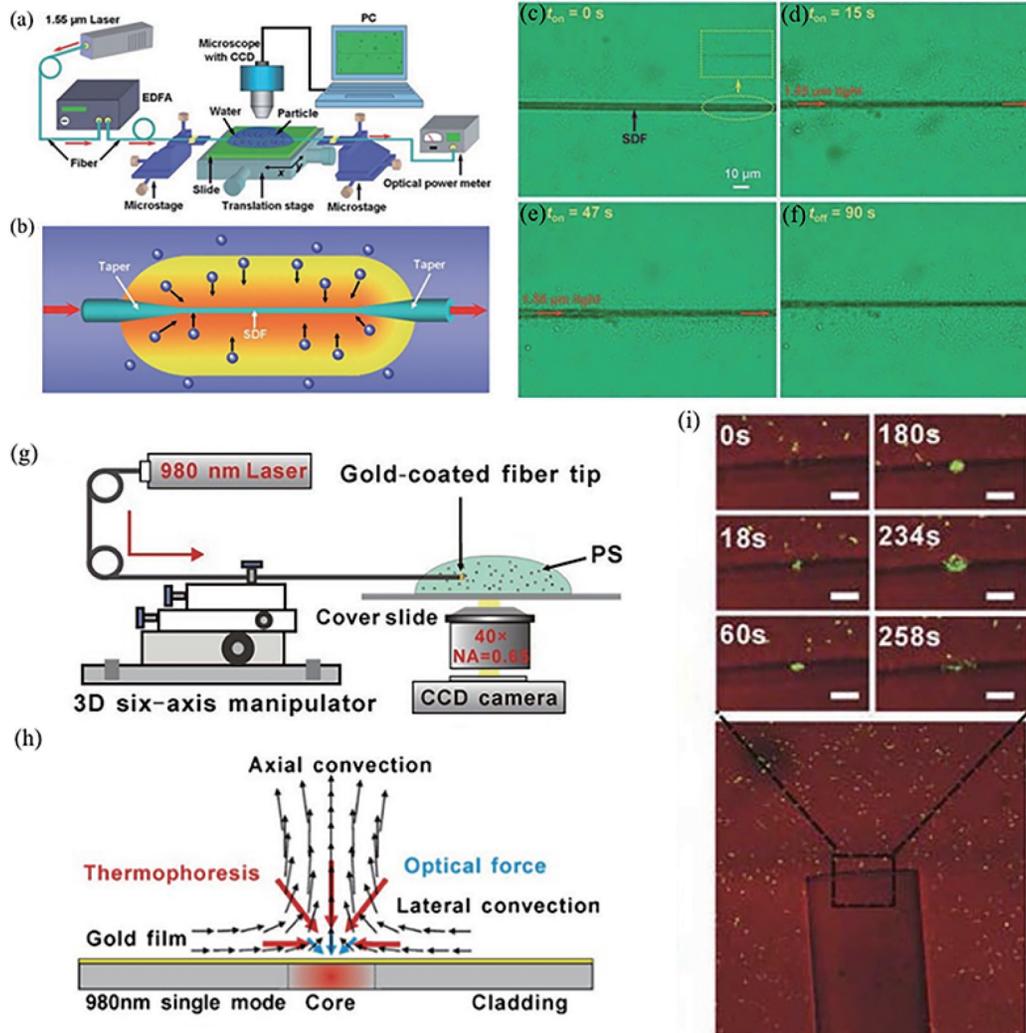


图 15 光纤 OTFT 技术^[33,101]。(a)实验装置图,图像由 CCD 采集,SDF 浸没在粒子悬浮液中;(b)由 SDF 泄漏光辐射导致的粒子的负光泳运动,其中黄色区域表示 SDF 泄漏光的辐射区域;(c) $t_{\text{on}}=0$ s (无入射光)、(d) $t_{\text{on}}=15$ s (入射光功率为 125 mW)、(e) $t_{\text{on}}=47$ s (入射光功率为 125 mW)、(f) $t_{\text{on}}=90$ s (入射光功率为 125 mW)时,在显微镜观察到的大肠杆菌分布情况,其中(c)中的缩略图是聚焦在 SDF 的图像;(g)光纤光热镊光路图;(h)捕获区域中各种力的示意图;(i)大肠杆菌捕获的时间序列侧视图,其中 0.65 mW 激光器在 0 s 时被打开,并在捕获最后一张图像前立即被关闭,共聚焦成像扫描激光波长为 488 nm,激光扫描速度为 3 s/frame,比例尺为 15 μm

Fig. 15 Schematic of fiber-based OTFT^[33,101]. (a) Experimental setup, the image was captured by CCD, which shows the SDF immersed in the particle suspensions; (b) propagating light along the taper-SDF-taper section and the negative photophoretic motions of particles radiated by the leaking light from SDF; microscope images of *Escherichia coli* after the laser on for (c) $t_{\text{on}}=0$ s (without incident optical power), (d) $t_{\text{on}}=15$ s (with an incident optical power of 125 mW), (e) $t_{\text{on}}=47$ s (with an incident optical power of 125 mW), (f) $t_{\text{on}}=90$ s (with an incident optical power of 125 mW), and the insert in Fig. 15(c) shows the image focused on the SDF; (g) experimental setup of optical fiber optothermal tweezers; (h) force components in the trap region; (i) side-view time-sequence images of trapping of *Escherichia coli* cells (the 0.65 mW laser was switched on at 0 s and switched off immediately before capturing of the last image; the excitation laser was 488 nm, and the laser sweeping speed was 3 s/frame; scale bar is 15 μm)

(e)~(h)所示,该课题组还使用功率为 125 mW 的激光以及直径为 $1.2\ \mu\text{m}$ 的 SDF 对大肠杆菌进行捕获。鉴于人体内毛细血管的直径为 $6\sim 8\ \mu\text{m}$,该项技术有望用于人类血管类疾病的诊治。同年,该课题组又利用锥形光纤周围的热泳效应,对水中的二氧化硅介电粒子实现了大范围捕获与迁移^[102]。如图 15(g)~(i)所示,2015 年香港中文大学 Ho Pui Ho 课题组使用在单模光纤端蒸镀 10 nm 厚金膜的方法,利用自然对流与热泳力的协同作用,在 980 nm 单模光纤端面实现了对 PS 微球和大肠杆菌的捕获和堆积^[33]。值得一提的是,其最低光功率密度达到 $19\ \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$,比传统光镊低了 3 个数量级。

如图 16 所示,2016 年 Ho Pui Ho 课题组提出一种基于电热的无光子捕获技术,利用微型电热加热器

(METH)产生的热对流以及热泳,实现了对介电 PS 颗粒以及活大肠杆菌的无光子捕获,捕获的阈值功率密度范围为 $10\sim 100\ \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ ^[34]。此外,其生物活性实验表明,此 METH 镊可以应用于活细胞捕获,且不会引起细胞损伤或功能改变。同年,大阪府立大学 Tokonami 团队提出一种基于光热捕获(PTA)的细菌计数法,成功对 PS 颗粒以及铜绿假单胞菌实现捕获计数^[103]。激光造成的局部热梯度在液体中产生对流和气泡,从而将漂浮的物体聚集到气泡中,以实现捕获。对比培养法、介电泳法以及荧光染色法,基于 PTA 的细菌计数法兼具速度快、精度高、成本低以及适合不同形状细菌的优点,在医疗保健以及实验室分析等方面都有良好的应用前景。

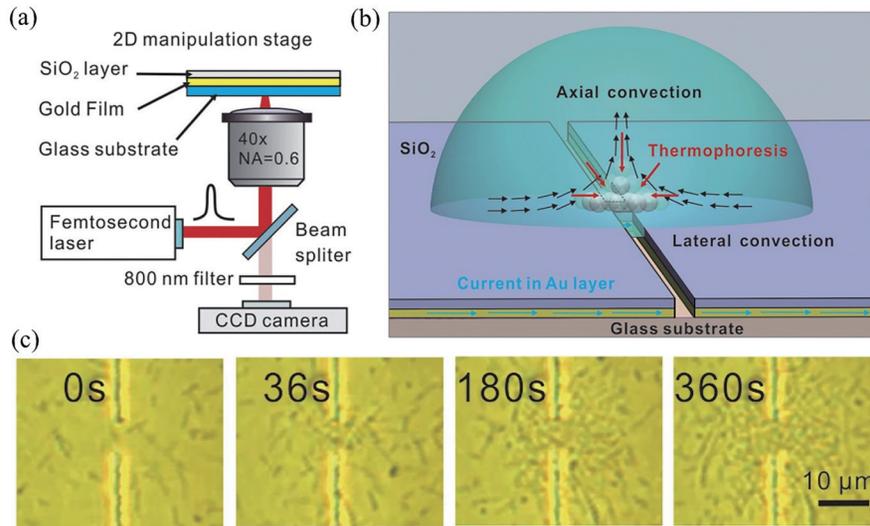


图 16 METH 技术示意图^[34]。(a)使用飞秒激光器加工的 METH 装置;(b)捕获中的受力分析;(c)在 24 mA 直流电流下捕获的大肠杆菌的图像

Fig. 16 Schematic of METH^[34]. (a) Setup of using a femtosecond laser to perform METH fabrication; (b) force analysis in the trapping scheme; (c) *Escherichia coli* images trapped at 24 mA

如图 17 所示,2019 年 Ho Pui Ho 课题组基于镀金 PDMS 微孔结合激光加热产生的径向流、光学散射力等作用实现了对单个细胞的三维操控与裂解,并结合重组酶聚合酶扩增(RPA)实现核酸扩增^[38]。该方法可以在 $0.38\ \text{nL}$ 体积下实现 30 min 内的单细胞检测,可用于快速筛选癌细胞以及验证其耐药性。

生物组织对于光的吸收以及光在不同生物组织中的折射率不同,使得传统光镊在生物的应用受到限制,其中就包括光镊对囊泡的作用。1989 年,Johnstone 等^[104]在研究绵羊网织红细胞的发育时,阐释了细胞小泡的产生机制以及作用,并将其命名为外泌体。将由细胞释放的具有各种膜结构(脂双层)的囊泡统称为细胞外囊泡(EVs),包括外泌体(直径为 $40\sim 100\ \text{nm}$)、微泡(直径为 $100\sim 500\ \text{nm}$)以及凋亡小体(直径为 $400\sim 3000\ \text{nm}$)。囊泡中含有各种来自母细胞的生物活性分子,如各种遗传物质以及蛋白质等。通过对不同囊泡产生的物质进行分选检测,可以对各种疾病进行检

查防治,且具有创伤性小、非侵入性以及可反复采集等优点^[105]。由于体内的囊泡体积非常小以及体液的成分非常复杂,将囊泡在血清等样品中实现分离、提取、富集,需要使用耗时的超离心法,该方法不仅成本高昂,而且过程非常繁杂,因此将囊泡作为疾病的临床检测手段仍没有得到很好的落实^[106]。

2019 年,国家纳米科学中心的孙佳姝课题组开发了一种热泳适体传感器(TAS),利用局部加热产生的热泳、扩散以及对流相互作用实现了对血液中与适体结合的 7 种外泌体的富集,可用于癌症的检测和分类^[107]。TAS 不需要对血清样本进行预分离和纯化就将 EVs 富集超过了 103 倍,并且具有耗时短、精度高、费用低等优点,TAS 在一个血清样本中检测 7 个 EV 蛋白标志物所需时间不到 3 h。最重要的是,TAS 检测 I 期癌症的敏感性、特异性和准确性分别为 95%、100% 和 97%,与活体检测具有相似的性能。

如图 18 所示,2022 年孙佳姝课题组^[108]又提出—

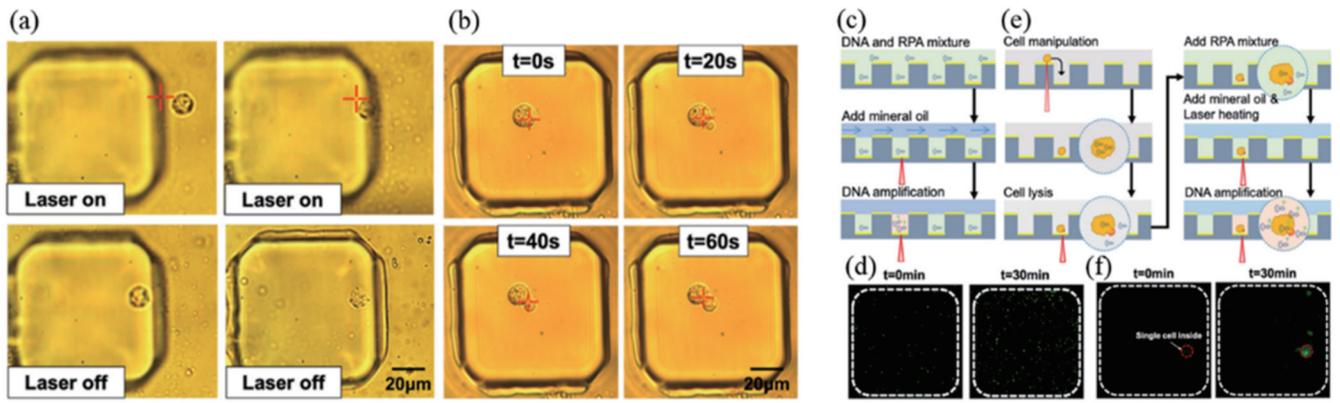


图 17 单细胞捕获以及 DNA 扩增平台^[38]。(a)光学引导自由流动的单活癌细胞进入微孔;(b)细胞在激光作用于细胞膜前 60 s 内发生裂解过程的图像;(c) DNA 在微孔中扩增过程的示意图;(d) 0 和 30 min 时 RPA 反应的荧光图像;(e)靶向癌细胞 DNA 扩增程序的示意图;(f)荧光图像,在 0 和 30 min 的 RPA 反应下,微孔内单个细胞的 DNA 扩增

Fig. 17 Single cell manipulation and DNA amplification platform^[38]. (a) Optical guiding of a free-flowing living single cancer cell into a micro-well; (b) time-lapse images showing cell lysis during the first 60 s of laser illumination directed at the cell membrane; (c) procedures of DNA amplification in a particular micro-well; (d) fluorescence images of the 0 and 30 min RPA reaction; (e) procedures for DNA amplification of a targeted cancer cell; (f) fluorescence images showing amplified DNA of a single cell inside the micro-well at 0 and 30 min RPA reaction

种基于局部加热所致的温度梯度和 PEG 浓度梯度共同作用的细胞外囊泡检测方法(Tango),利用红外激光照射装有血清样本、识别探针与 PEG-8000 的微腔,使得外囊泡富集且外囊泡与识别探针结合,通过检测荧光信号,便可在 15 min 内直接检测前列腺癌细胞外囊泡标志物(PSNAH 和 EpCAM)的过表达,实现了针对血清样本中外囊泡的前列腺癌的精确诊断。Tango 对于 EVs 的检测应用使其有望成为快速、精准并且非侵入的癌症检测手段。

此外,也可以利用温度场光镊关于粒子直径的分选捕获作用对 EVs 中的外泌体以及微泡进行筛选,对单一的囊泡种类进行检测。但是囊泡的种类甚多且尺寸非常小,对温度场光镊对于囊泡的捕获与操控的研究还处于一个起步阶段,而在近期 Ndukaife 小组开发的 OTET 技术^[77]实现了对 10 nm 以下的 BSA 的捕获与操控,有望应用在单个囊泡的捕获以及操控中。

3.5 生物传感的增敏作用

在许多生物传感检测案例中,生物物质之间的亲和作用或者生化反应仅依赖溶液中样品粒子的布朗运动进行结合,导致检测消耗的时间较长、效率不高。特别是当检测样品的浓度过低或者进行单分子检测时,检测结果容易出错。为了解决此问题,可以使用温度场光镊对检测样品进行富集,从而实现生物分析物的浓缩,这样就可以显著提升检测灵敏度并缩短检测时间,达到增强生物传感的作用。温度场光镊实现对于生物分子的驱动作用主要体现在热场的流体扰动方面。

2011 年,田纳西大学 Wu 课题组利用包括交流 ACEO 流和交流电热(ACET)流效应的交流电动力学(ACEK)产生涡流来富集检测样品,实现抗原-抗体结

合的快速检测,其检测速度相较于传统检测手段提高了 10 倍,检测时间在 3 min 左右^[109]。ACEO 流^[110-111]和由电场不均匀加热产生的 ACET 流的共同作用,实现了 ACEK 的单向泵浦。该小组开发的荧光免疫分析法相较于传统的检测手段具有更高的灵敏度以及更快的检测速度,从而达到生物传感增强的作用。

2018 年,巴塞罗那科学技术研究所的 Quidant 课题组在表面等离子体(LSPR)传感芯片的基础上结合基于温度场和电场的 ETP 流效应开发出 ETP-LSPR,并对免疫球蛋白 G(IgG)进行了检测实验^[112]。实验结果证明,有 ETP 流效应辅助的生物传感较无 ETP 流效应 LSPR 的 IgG 结合检测速度增快了约 2.9 倍,检测时间由 50 min 缩短至 17 min。2020 年,Shiho 小组利用马兰戈尼对流效应对细菌进行捕获富集^[113]。同年,Zheng 课题组通过光热效应在液体与衬底界面产生气泡诱导马兰戈尼对流,进而在气泡-液体-衬底界面附近积聚捕获粒子^[114]。为了避免捕获时对蛋白质造成热损伤,该小组使用低沸点和低气溶性的全氟戊烷(PFP)作为产生气泡的组分。与扩散受限的传感方法相比,这种方法将单个抗原-抗体检测时间由 30 min 缩短到 1 min,显著提高了传感效率。

此外,本课题组在 2022 年开发出一种时变光热镊操控技术,在低分子浓度水平或者单分子分析时可以极大地提升生物传感灵敏度,降低传感时间,该方法也被称为光热翻转(OTF)法^[84]。OTF 法是一种面向波长型表面等离子体共振成像(WSPRi)的主动型生物传感增敏方法,其装置结构与原理如图 19 所示。其主要机理是利用激光开闭所产生的金膜附近热泳力的瞬时翻转,有效推动待测蛋白与金膜的受体结合,从而实现生物传感增强。该方法将传统表面等离子体共振成

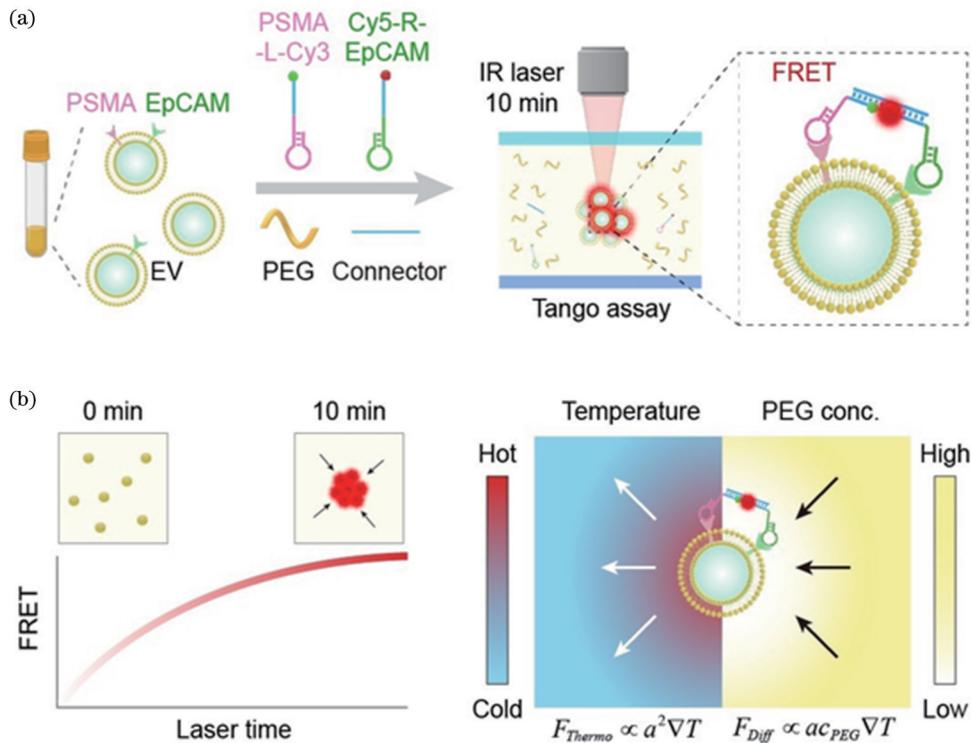


图 18 Tango 技术示意图^[108]。(a) Tango 包括 EV 膜上的 AND 门设计、基于 PEG 热泳聚集效应、两个以 PSMA 和 EpCAM 为目标的适配探针 (PSMAL-Cy3 和 Cy5-R-EpCAM) 和一个连接链; (b) Tango 通过激光加热产生温度梯度和 PEG 浓度梯度, 可以在 15 min 内检测到来源于肿瘤 EVs 的 PSMA 和 EpCAM 的过表达

Fig. 18 Schematic of the one-step thermophoretic AND gate operation (Tango) assay^[108]. (a) Tango assay combining AND gate operation on EV membranes, PEG-enhanced thermophoretic accumulation of EVs, two aptamer-based probes (PSMAL-Cy3 and Cy5-R-EpCAM) targeting PSMA and EpCAM, and one connector strand (connector) were designed; (b) Tango assay can directly detect tumor-derived EVs overexpression both PSMA and EpCAM within 15 min and a temperature gradient and a PEG concentration gradient were induced by local laser heating

像 (SPRi) 传感方案的灵敏度提升了 23.6 倍。

4 总结和展望

传统光镊由于其远程、无接触和精度高的操控优势,被广泛应用于生物医学、化学科学以及纳米技术领域。然而,传统光学捕获所面临的衍射极限、高光功率密度、生物光毒性、光热效应干扰等限制,导致其生物应用仍然存在着很多挑战。近 10 年来,新型 OTFT 的迅速发展,衍生出诸如光热镊、光热电镊、光制冷镊等一系列基于光致温度场的新型操控方式,这些新型光镊继承了传统光镊的优势,又解决了其固有的一些问题,已经成为生物医学工程与纳米技术研究中一个十分重要的工具。本文首先对传统光镊理论进行了回顾;然后,对基于温度场的光镊进行介绍,包括温度场构建、热动力学原理以及粒子操控实验方法;最后,围绕温度场光镊对于生物粒子的操控主题,分别列举了对于纳米颗粒、蛋白分子、核酸分子、病毒、细菌和其他生物微粒的操控应用,并指出其面临的挑战与机遇。此外,基于对生物分子的操控应用,论述了温度场光镊对于生物传感灵敏度的提升作用。相较于传统光

镊,温度场光镊还利用到光能所致的热能,光能转化为机械能的效率更高,因此其具有较低的光功率密度,比传统光镊小了近 3 个数量级。另外,温度场光镊利用了温度场对于粒子的驱动作用和流体运动,使其可以驱动在光学衍射极限尺度之内的粒子,弥补了传统光镊中仅依靠光学力捕获所致的捕获力不足,实现了以低功率激光对不透明、与介质具有相似折射率的小尺寸粒子的捕获。

光致温度场光镊的发展机遇与挑战并存。2002—2022 年,从光热镊到光热电镊,从金膜衬底到二维材料衬底,从多种空间结构的温度场构建到表面活性剂对捕获粒子改性,从多个 DNA 分子的聚集操控到精准捕获 10 nm 以下的 BSA 蛋白分子,温度场光镊在不断发展和更新。但是,由于温度场存在并且捕获粒子尺寸较小,对于具有生物活性的微粒,如蛋白质、miRNA、外泌体以及其他的细胞器等粒子的可筛选捕获以及实现多种生物光子学应用还是较为困难的。目前,主要面临以下问题:其一,温度场光镊产生的温度梯度会对一些具有生物活性的被操控目标造成影响,使得被操控目标失去生物活性;其二,由于粒子受温度

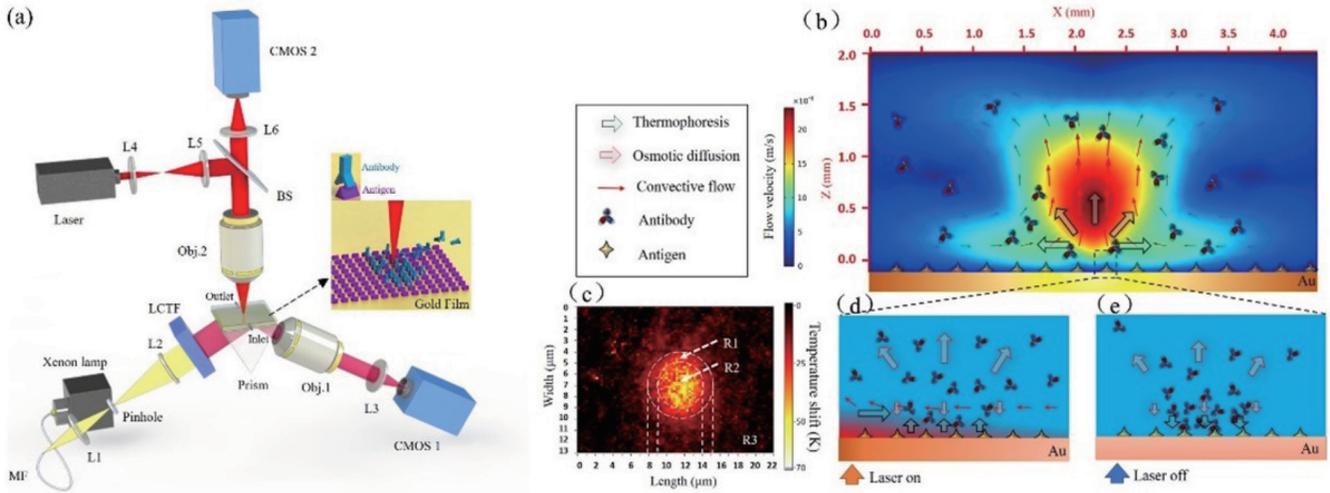


图 19 OTF 装置及原理示意图^[84]。(a) WSPRi 以及激光部分的装置示意图, 其中 L1、L2 和 L4、L5 分别为光束扩束和准直的透镜组, L3、L6 为管镜, Obj. 1~2 为物镜, MF 为多模光纤, BS 为分束器; (b) 加热激光器打开时整个系统的侧视图, 自然对流以及热泳将粒子富集到溶液中温度相对较低的环状区域; (c) 近场温度图背景下环状粒子聚集区域俯视图, 其中 R1 表示环状生物分子富集和结合区域, R2 表示加热激光聚焦的中心区域, R3 表示关闭加热激光的背景区域; (d) 粒子富集区域的放大示意图, 向上的热泳力导致粒子的结合效率低下; (e) 加热激光刚刚关闭时粒子富集区域的放大示意图, 向下的翻转热泳力促使生物分子产生有效结合

Fig. 19 Schematic of OTF^[84]. (a) Optical setup of WSPRi part and optothermal excitation part (L1, L2: beam expanding lens group; L4, L5: collimating lens group; L3, L6: tube lens; Obj. 1-2: objective lenses; MF: multimode optical fiber; BS: beam splitter); (b) side view of the entire system when the heating laser is switching on (the convective flow, which contains natural convective flow and thermo-osmotic flow, together with the thermophoresis, relocated and enriched the biomolecules from bulk solution to a ring shape region where the temperature is in relatively lower level); (c) top view of the ring shape biomolecule aggregation region in the background of near-field temperature map (R1: ring-shape biomolecule enrichment and binding region; R2: heating laser focusing center region; R3: background region with no laser heating); (d) zoom-in schematic of the biomolecule enrichment region when laser is switched on, the upward thermophoretic (UT) force induces inefficient binding of the biomolecules; (e) zoom-in schematic of the biomolecule enrichment region when laser is just switched off, the flipped thermophoretic (FT) force (downward) induces efficient binding of the biomolecules

场驱动的方向和大小易受溶液中离子浓度、种类、温度、pH 值等因素的影响, 很多光热镊需要用表面活性剂对被操控目标进行改性, 才能实现颗粒的可控捕获, 而多数表面活性剂并不是与所有的目标粒子都有较好的相容性, 例如会对某些具有生物活性的粒子产生化学毒性, 改变蛋白分子的空间结构等, 而且表面活性剂的吸附作用使得被操控目标的表面电性改变, 进而影响其多种物理化学特性; 其三, 温度场光镊目前主要利用二维势阱对粒子进行捕获操控, 在构建空间三维势阱来实现高精度、多维度、高稳定操控粒子方面仍无法媲美传统光镊。

对于光致温度场光镊在生物光子学方面的发展, 上述问题亟待解决: 可发展生物相容性较好的表面活性剂或生物大分子基团进行捕获辅助; 或在不加入操控辅助剂的情况下, 通过调控其他环境因子来调整目标生物分子的热泳方向和大小, 从而实现可控的定向捕获。另外, 光致温度场的热效应也可利用起来, 对一些需要局域加热的生化实验进行辅助, 从而利用光致温度场光镊进行单颗粒或单分子的原位生物反应研究。

目前, 对多数生物粒子的捕获研究仅停留在操控这一阶段, 并未体现出温度场光镊对于生化反应的独特优势。光致温度场光镊也可以与其他领域交叉融合, 解决更多的问题, 例如: 可以和介电微球超分辨成像技术交叉融合, 利用光致温度场光镊对于介电微球的低功耗精确操控的优势, 进行大范围扫描, 实现大视场成像; 可以使用生物分子作为超透镜代替介电微球^[115], 实现生物体内的扫描成像; 还可以与表面拉曼增强散射技术结合^[116-118], 进而使该技术在化学检测领域得到更多应用。不仅如此, 光致温度场光镊有望和光学扳手结合^[119], 用于操纵液晶分子取向的研究。可以预想到, 随着光与物质相互作用的研究以及表面化学研究的发展, 光致温度场光镊技术必将愈加完善, 并在生物医学和生化检测领域大放异彩。

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] Yuan L B, Liu Z H, Yang J, et al. Twin-core fiber optical tweezers[J]. Optics Express, 2008, 16(7): 4559-4566.
- [3] Min C J, Shen Z, Shen J F, et al. Focused plasmonic trapping

- of metallic particles[J]. Nature Communications, 2013, 4(1): 1-7.
- [4] Yu X H, Li R Z, Yan S H, et al. Experimental demonstration of 3D accelerating beam arrays[J]. Applied Optics, 2016, 55(11): 3090-3095.
- [5] Zhang Y Q, Shen J F, Min C J, et al. Nonlinearity-induced multiplexed optical trapping and manipulation with femtosecond vector beams[J]. Nano Letters, 2018, 18(9): 5538-5543.
- [6] 闵长俊, 袁运琪, 张聿全, 等. 操纵微纳颗粒的“光之手”: 光镊技术研究进展[J]. 深圳大学学报(理工版), 2020, 37(5): 441-458.
- Min C J, Yuan Y Q, Zhang Y Q, et al. The hand of light for micro/nano-particle manipulation: research progress of optical tweezers[J]. Journal of Shenzhen University (Science and Engineering), 2020, 37(5): 441-458.
- [7] 周瑞雪, 王海燕, 朱德斌, 等. 光镊技术在生物学中的应用新进展[J]. 激光生物学报, 2017, 26(4): 289-293.
- Zhou R X, Wang H Y, Zhu D B, et al. New advances in the application of optical tweezers in biology[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2017, 26(4): 289-293.
- [8] van Mameren J, Wuite G J L, Heller I. Introduction to optical tweezers: background, system designs, and commercial solutions [J]. Methods in Molecular Biology, 2011, 783: 1-20.
- [9] 冯楠, 高影. 单分子光镊技术在生命科学中的应用[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(10): 1345-1352.
- Feng N, Gao Y. Applications in life science of single-molecule optical tweezers[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2015, 37(10): 1345-1352.
- [10] 姚建铨, 安源, 赵海泉. 光镊技术的发展与应用[J]. 光电子·激光, 2004, 15(1): 123-128.
- Yao J Q, An Y, Zhao H Q. The development and application of optical tweezer[J]. Journal of Optoelectronics·Laser, 2004, 15(1): 123-128.
- [11] 李银妹, 龚雷, 李迪, 等. 光镊技术的研究现状[J]. 中国激光, 2015, 42(1): 0101001.
- Li Y M, Gong L, Li D, et al. Progress in optical tweezers technology[J]. Chinese Journal of Lasers, 2015, 42(1): 0101001.
- [12] 熊涛, 王子奇, 刘义铭, 等. 光镊技术在单细胞和单分子特性检测中的研究进展[J]. 激光杂志, 2021, 42(12): 7-17.
- Xiong T, Wang Z Q, Liu Y M, et al. Research progress of optical tweezers in the detection of single cell and single molecule properties[J]. Laser Journal, 2021, 42(12): 7-17.
- [13] 李银妹, 王浩威, 龚雷. 光镊技术在生命科学研究中的应用现状[J]. 生物学杂志, 2019, 36(3): 1-8.
- Li Y M, Wang H W, Gong L. Current applied researches of optical tweezers in biology[J]. Journal of Biology, 2019, 36(3): 1-8.
- [14] 郭红莲, 屈娥, 徐春华, 等. 光镊在生命科学中的应用[J]. 物理, 2007, 36(6): 476-482.
- Guo H L, Qu E, Xu C H, et al. Application of optical tweezers in life science[J]. Physics, 2007, 36(6): 476-482.
- [15] 朱杰, 孙润广. 激光光镊技术在单细胞、单分子科学中的应用研究[J]. 激光杂志, 2005, 26(6): 90-91, 93.
- Zhu J, Sun R G. Applications of laser optical tweezers technique in single molecule and single cell science[J]. Laser Journal, 2005, 26(6): 90-91, 93.
- [16] 朱艳英, 魏勇, 高秋娟, 等. 纳米光镊技术发展与应用的研究[J]. 光学与光电技术, 2007, 5(6): 81-83.
- Zhu Y Y, Wei Y, Gao Q J, et al. Development and application of nanometer optical tweezers technology[J]. Optics & Optoelectronic Technology, 2007, 5(6): 81-83.
- [17] 李银妹, 楼立人. 生命科学研究中的光镊技术[J]. 生命科学仪器, 2004, 2(4): 3-9.
- Li Y M, Lou L R. Optical tweezers in life Science[J]. Life Science Instruments, 2004, 2(4): 3-9.
- [18] 梁言生, 姚保利, 雷铭. 全息光镊在生物学研究中的应用[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207020.
- Liang Y S, Yao B L, Lei M. Applications of holographic optical tweezers in biological research[J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207020.
- [19] Shi Y Z, Song Q H, Toftul I, et al. Optical manipulation with metamaterial structures[J]. Applied Physics Reviews, 2022, 9(3): 031303.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] Neuman K C, Chadd E H, Liou G F, et al. Characterization of photodamage to *Escherichia coli* in optical traps[J]. Biophysical Journal, 1999, 77(5): 2856-2863.
- [23] Blázquez-Castro A. Optical tweezers: phototoxicity and thermal stress in cells and biomolecules[J]. Micromachines, 2019, 10(8): 507.
- [24] Babynina A, Fedoruk M, Kühler P, et al. Bending gold nanorods with light[J]. Nano Letters, 2016, 16(10): 6485-6490.
- [25] Rasmussen M B, Oddershede L B, Siegmund H. Optical tweezers cause physiological damage to *Escherichia coli* and *Listeria bacteria*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(8): 2441-2446.
- [26] Garcés-Chávez V, Dholakia K, Spalding G C. Extended-area optically induced organization of microparticles on a surface[J]. Applied Physics Letters, 2005, 86(3): 031106.
- [27] Righini M, Zelenina A S, Girard C, et al. Parallel and selective trapping in a patterned plasmonic landscape[J]. Nature Physics, 2007, 3(7): 477-480.
- [28] 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, 2021, 22(1): 402-410.
- [29] Zhao X T, Zhao N, Shi Y, et al. Optical fiber tweezers: a versatile tool for optical trapping and manipulation[J]. Micromachines, 2020, 11(2): 114.
- [30] 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.
- [31] Wu H, Jiang C L, Tian S P, et al. Multifunctional single-fiber optical tweezers for particle trapping and transport[J]. Chinese Optics Letters, 2022, 20(12): 121201.
- [32] Chen Z H, Li J G, Zheng Y B. Heat-mediated optical manipulation[J]. Chemical Reviews, 2022, 122(3): 3122-3179.
- [33] Chen J J, Kang Z W, Kong S K, et al. Plasmonic random nanostructures on fiber tip for trapping live cells and colloidal particles[J]. Optics Letters, 2015, 40(17): 3926-3929.
- [34] Chen J J, Cong H J, Loo F C, et al. Thermal gradient induced tweezers for the manipulation of particles and cells[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 1-13.
- [35] Braun D, Libchaber A. Trapping of DNA by thermophoretic depletion and convection[J]. Physical Review Letters, 2002, 89(18): 188103.
- [36] Kang Z W, Chen J J, Wu S Y, et al. Trapping and assembling of particles and live cells on large-scale random gold nano-island substrates[J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 1-8.
- [37] Cong H J, Chen J J, Ho H P. Trapping, sorting and transferring of micro-particles and live cells using electric current-induced thermal tweezers[J]. Sensors and Actuators B, 2018, 264: 224-233.
- [38] Cong H J, Loo F C, Chen J J, et al. Target trapping and *in situ* single-cell genetic marker detection with a focused optical beam[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 133: 236-242.
- [39] Lin L H, Wang M S, Peng X L, et al. Opto-thermoelectric nanotweezers[J]. Nature Photonics, 2018, 12(4): 195-201.

- [40] Wang X Y, Yuan Y Q, Xie X, et al. Graphene-based opto-thermoelectric tweezers[J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(8): 2107691.
- [41] Li J G, Chen Z H, Liu Y R, et al. Opto-refrigerative tweezers [J]. *Science Advances*, 2021, 7(26): eabh1101.
- [42] Zhou J X, Dai X Q, Jia B L, et al. Nanorefrigerative tweezers for optofluidic manipulation[J]. *Applied Physics Letters*, 2022, 120(16): 163701.
- [43] Jauffred L, Samadi A, Klingberg H, et al. Plasmonic heating of nanostructures[J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(13): 8087-8130.
- [44] Landau L, Lifshitz E. *Fluid mechanics*[M]. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press, 1987.
- [45] Govorov A O, Zhang W, Skeini T, et al. Gold nanoparticle ensembles as heaters and actuators: melting and collective plasmon resonances[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2006, 1(1): 84-90.
- [46] Baffou G, Quidant R, García de Abajo F J. Nanoscale control of optical heating in complex plasmonic systems[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(2): 709-716.
- [47] Sheik-Bahae M, Epstein R I. Optical refrigeration[J]. *Nature Photonics*, 2007, 1(12): 693-699.
- [48] Epstein R I, Buchwald M I, Edwards B C, et al. Observation of laser-induced fluorescent cooling of a solid[J]. *Nature*, 1995, 377(6549): 500-503.
- [49] Melgaard S D, Albrecht A R, Hehlen M P, et al. Solid-state optical refrigeration to sub-100 Kelvin regime[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 1-6.
- [50] Roder P B, Smith B E, Zhou X Z, et al. Laser refrigeration of hydrothermal nanocrystals in physiological media[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(49): 15024-15029.
- [51] Piazza R. Thermophoresis: moving particles with thermal gradients[J]. *Soft Matter*, 2008, 4(9): 1740-1744.
- [52] Piazza R, Parola A. Thermophoresis in colloidal suspensions[J]. *Journal of Physics. Condensed Matter*, 2008, 20(15): 153102.
- [53] Majee A, Würger A. Thermocharge of a hot spot in an electrolyte solution[J]. *Soft Matter*, 2013, 9(7): 2145-2153.
- [54] Reichl M, Herzog M, Götz A, et al. Why charged molecules move across a temperature gradient: the role of electric fields[J]. *Physical Review Letters*, 2014, 112(19): 198101.
- [55] Ndukaife J C, Kildishev A V, Nnanna A G A, et al. Long-range and rapid transport of individual nano-objects by a hybrid electrothermoplasmonic nanotweezer[J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11(1): 53-59.
- [56] Chen J J, Loo J, Wang D P, et al. Thermal optofluidics: principles and applications[J]. *Advanced Optical Materials*, 2019, 8(1): 1900829.
- [57] Guyon E, Hulin J P, Petit L, et al. *Physical hydrodynamics*[M]. Oxford: Oxford University Press, 2001.
- [58] Donner J S, Baffou G, McCloskey D, et al. Plasmon-assisted optofluidics[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(7): 5457-5462.
- [59] Fränzl M, Cichos F. Hydrodynamic manipulation of nano-objects by optically induced thermo-osmotic flows[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 656.
- [60] Bregulla A P, Würger A, Günther K, et al. Thermo-osmotic flow in thin films[J]. *Physical Review Letters*, 2016, 116(18): 188303.
- [61] Würger A. Thermal non-equilibrium transport in colloids[J]. *Reports on Progress in Physics*, 2010, 73(12): 126601.
- [62] Maeda Y T, Tlusty T, Libchaber A. Effects of long DNA folding and small RNA stem-loop in thermophoresis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(44): 17972-17977.
- [63] Scriven L E, Sternling C V. The Marangoni effects[J]. *Nature*, 1960, 187(4733): 186-188.
- [64] Quispe J E, Inga J C, Muñoz E M, et al. Single particle manipulation/sorting through the transient response of thermocapillary convection flows[C]//2016 International Conference on Manipulation, Automation and Robotics at Small Scales (MARSS), July 18-22, 2016, Paris, France. New York: IEEE Press, 2016.
- [65] Eötvös R. Ueber den zusammenhang der oberflächenspannung der Flüssigkeiten mit ihrem molecularvolumen[J]. *Annalen Der Physik*, 1886, 263(3): 448-459.
- [66] Palit S R. Thermodynamic interpretation of the Eötvös constant [J]. *Nature*, 1956, 177(4521): 1180.
- [67] Thormann E, Simonsen A C, Hansen P L, et al. Interactions between a polystyrene particle and hydrophilic and hydrophobic surfaces in aqueous solutions[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2008, 24(14): 7278-7284.
- [68] Alexander B, Karandeev S, Limor H, et al. Nanoparticle-decorated erythrocytes reveal that particle size controls the extent of adsorption, cell shape, and cell deformability[J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2018, 1(8): 3785-3799.
- [69] Saeed Z M, Esben T. Hofmeister effect on PNIPAM in bulk and at an interface: surface partitioning of weakly hydrated anions [J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2017, 33(19): 4806-4815.
- [70] Decrop D, Brans T, Gijzenbergh P, et al. Optical manipulation of single magnetic beads in a microwell array on a digital microfluidic chip[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(17): 8596-8603.
- [71] Li D Y, Pan Y L, Zhao X Z, et al. Study on nanobubble-on-pancake objects forming at polystyrene/water interface[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2016, 32(43): 11256-11264.
- [72] Lin L H, Peng X L, Mao Z M, et al. Interfacial-entropy-driven thermophoretic tweezers[J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17(18): 3061-3070.
- [73] Jiang H R, Wada H, Yoshinaga N, et al. Manipulation of colloids by a nonequilibrium depletion force in a temperature gradient[J]. *Physical Review Letters*, 2009, 102(20): 208301.
- [74] Hu W Q, Ishii K S, Fan Q H, et al. Hydrogel microrobots actuated by optically generated vapour bubbles[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(19): 3821-3826.
- [75] Shi Y, Wang D N, Xiao Y Q, et al. Light-induced cold Marangoni flow for microswarm actuation: from intelligent behaviors to collective drug delivery[J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2022, 16(12): 2200533.
- [76] Kang Z W, Chen J J, Wu S Y, et al. Plasmonic absorption activated trapping and assembling of colloidal crystals with non-resonant continuous gold films[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(127): 105409-105415.
- [77] Hong C C, Yang S, Ndukaife J C. Stand-off trapping and manipulation of sub-10 nm objects and biomolecules using opto-thermo-electrohydrodynamic tweezers[J]. *Nature Nanotechnology*, 2020, 15(11): 908-913.
- [78] Brändén C I, Tooze J. *Introduction to protein structure*[M]. 2nd ed. New York: Garland Pub., 1999.
- [79] Pang Y J, Gordon R. Optical trapping of 12 nm dielectric spheres using double-nanoholes in a gold film[J]. *Nano Letters*, 2011, 11(9): 3763-3767.
- [80] Chen Y F, Serey X, Sarkar R, et al. Controlled photonic manipulation of proteins and other nanomaterials[J]. *Nano Letters*, 2012, 12(3): 1633-1637.
- [81] Shoji T, Kitamura N, Tsuboi Y. Resonant excitation effect on optical trapping of myoglobin: the important role of a heme cofactor[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2013, 117(20): 10691-10697.
- [82] Pang Y J, Gordon R. Optical trapping of a single protein[J]. *Nano Letters*, 2012, 12(1): 402-406.
- [83] Fränzl M, Thalheim T, Adler J, et al. Thermophoretic trap for single amyloid fibril and protein aggregation studies[J]. *Nature*

- Methods, 2019, 16(7): 611-614.
- [84] Chen J J, Zeng Y J, Zhou J, et al. Optothermophoretic flipping method for biomolecule interaction enhancement[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 204: 114084.
- [85] Koster D A, Crut A, Shuman S, et al. Cellular strategies for regulating DNA supercoiling: a single-molecule perspective[J]. Cell, 2010, 142(4): 519-530.
- [86] Abraham M, Dror O, Nussinov R, et al. Analysis and classification of RNA tertiary structures[J]. RNA, 2008, 14(11): 2274-2289.
- [87] Maeda Y T. (2+1)-dimensional manipulation of soft biological materials by opto-thermal diffusiophoresis[J]. Applied Physics Letters, 2013, 103(24): 243704.
- [88] Jiang H R, Sano M. Stretching single molecular DNA by temperature gradient[J]. Applied Physics Letters, 2007, 91(15): 154104.
- [89] Kreysing M, Keil L, Lanzmich S, et al. Heat flux across an open pore enables the continuous replication and selection of oligonucleotides towards increasing length[J]. Nature Chemistry, 2015, 7(3): 203-208.
- [90] Fukuyama T, Fuke A, Mochizuki M, et al. Directing and boosting of cell migration by the entropic force gradient in polymer solution[J]. Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids, 2015, 31(46): 12567-12572.
- [91] Fukuyama T, Maeda Y T. Opto-thermal diffusiophoresis of soft biological matter: from physical principle to molecular manipulation[J]. Biophysical Reviews, 2020, 12(2): 309-315.
- [92] Saiki R K, Scharf S, Faloona F, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia[J]. Science, 1985, 230(4732): 1350-1354.
- [93] Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G[J]. Immunochemistry, 1971, 8(9): 871-874.
- [94] Spielberg F, Ryder R, Harris J, et al. Field testing and comparative evaluation of rapid, visually read screening assays for antibody to human immunodeficiency virus[J]. The Lancet, 1989, 333(8638): 580-584.
- [95] Van Dyke K, Trush M, Wilson M, et al. Luminol-dependent chemiluminescence analysis of cellular and humoral defects of phagocytosis using a chem-glo photometer[J]. Microchemical Journal, 1977, 22(4): 463-474.
- [96] Ashkin A, Dziedzic J M. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria[J]. Science, 1987, 235(4795): 1517-1520.
- [97] Neuman K C, Block S M. Optical trapping[J]. The Review of Scientific Instruments, 2004, 75(9): 2787-2809.
- [98] Shi Y Z, Zhao H T, Nguyen K T, et al. Nanophotonic array-induced dynamic behavior for label-free shape-selective bacteria sieving[J]. ACS Nano, 2019, 13(10): 12070-12080.
- [99] Shi Y Z, Zhao H T, Chin L K, et al. Optical potential-well array for high-selectivity, massive trapping and sorting at nanoscale[J]. Nano Letters, 2020, 20(7): 5193-5200.
- [100] Shi Y Z, Nguyen K T, Chin L K, et al. Trapping and detection of single viruses in an optofluidic chip[J]. ACS Sensors, 2021, 6(9): 3445-3450.
- [101] Lei H X, Zhang Y, Li X M, et al. Photophoretic assembly and migration of dielectric particles and *Escherichia coli* in liquids using a subwavelength diameter optical fiber[J]. Lab on a Chip, 2011, 11(13): 2241-2246.
- [102] Xin H B, Li X M, Li B J. Massive photothermal trapping and migration of particles by a tapered optical fiber[J]. Optics Express, 2011, 19(18): 17065-17074.
- [103] Yamamoto Y, Shimizu E, Nishimura Y, et al. Development of a rapid bacterial counting method based on photothermal assembling[J]. Optical Materials Express, 2016, 6(4): 1280-1285.
- [104] Johnstone R M, Bianchini A, Teng K. Reticulocyte maturation and exosome release: transferrin receptor containing exosomes shows multiple plasma membrane functions[J]. Blood, 1989, 74(5): 1844-1851.
- [105] Liu H Y, Kumar R, Zhong C T, et al. Rapid capture of cancer extracellular vesicles by lipid patch microarrays[J]. Advanced Materials, 2021, 33(35): 2008493.
- [106] Witwer K W, Buzás E I, Bemis L T, et al. Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research[J]. Journal of Extracellular Vesicles, 2013, 2(1): 20360.
- [107] Liu C, Zhao J X, Tian F, et al. Low-cost thermophoretic profiling of extracellular-vesicle surface proteins for the early detection and classification of cancers[J]. Nature Biomedical Engineering, 2019, 3(3): 183-193.
- [108] Deng J Q, Zhao S, Li J H, et al. One-step thermophoretic AND gate operation on extracellular vesicles improves diagnosis of prostate cancer[J]. Angewandte Chemie, 2022, 134(33): e202207037.
- [109] Liu X Z, Yang K, Wadhwa A, et al. Development of an AC electrokinetics-based immunoassay system for on-site serodiagnosis of infectious diseases[J]. Sensors and Actuators A, 2011, 171(2): 406-413.
- [110] Ramos A, González A, Castellanos A, et al. Pumping of liquids with AC voltages applied to asymmetric pairs of microelectrodes[J]. Physical Review E, 2003, 67(5): 056302.
- [111] Wu J. Biased AC electro-osmosis for on-chip bioparticle processing[J]. IEEE Transactions on Nanotechnology, 2006, 5(2): 84-89.
- [112] Garcia-Guirado J, Rica R A, Ortega J, et al. Overcoming diffusion-limited biosensing by electrothermoplasmonics[J]. ACS Photonics, 2018, 5(9): 3673-3679.
- [113] Tokonami S, Kurita S, Yoshikawa R, et al. Light-induced assembly of living bacteria with honeycomb substrate[J]. Science Advances, 2020, 6(9): eaaz5757.
- [114] Kim Y, Ding H R, Zheng Y B. Enhancing surface capture and sensing of proteins with low-power optothermal bubbles in a biphasic liquid[J]. Nano Letters, 2020, 20(10): 7020-7027.
- [115] 李姮, 陈熙熙, 张焱, 等. 可变焦叶绿体光学微透镜[J]. 光学学报, 2022, 42(4): 0411003.
- Li H, Chen X X, Zhang Y, et al. Chloroplast optical microlens with variable focus[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(4): 0411003.
- [116] 黄向民, 施慧, 赵航, 等. 基于光热效应的纳米塑料捕获和 SERS 检测[J]. 光学学报, 2022, 42(16): 1624001.
- Huang X M, Shi H, Zhao H, et al. Capture and SERS detection of nano plastics based on photothermal effect[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(16): 1624001.
- [117] Monisha K, Suresh K, Bankapur A, et al. Optical printing of plasmonic nanoparticles for SERS studies of analytes and thermophoretically trapped biological cell[J]. Sensors and Actuators B, 2023, 377: 133047.
- [118] Deng R P, Zhang Y Q, Wang X Y, et al. *In situ* intracellular Raman spectroscopic detection with graphene-based thermoelectric optical tweezers[J]. Sensors and Actuators B, 2022, 361: 131722.
- [119] Li T Y, Xu X H, Fu B Y, et al. Integrating the optical tweezers and spanner onto individual single-layer metasurfaces[J]. Photonics Research, 2021, 9(6): 1062-1068.

Optical Temperature Field-Driven Tweezers: Principles and Biomedical Applications

Zhong Yili, Peng Yuhang, Chen Jiajie*, Zhou Jianxing, Dai Xiaoqi, Zhang Han, Qu Junle, Shao Yonghong

College of Physics and Optoelectronic Engineering, Key Laboratory of Radio Frequency Heterogeneous Integration, Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Ministry of Education and Guangdong Province, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong, China

Abstract

Significance Optical tweezers have revolutionized the field of biological research with their unique advantages of non-contact and high-precision manipulation of various particles, including biomolecules. In 1986, Arthur Ashkin pioneered the development of optical tweezers by demonstrating their ability to capture microspheres in three dimensions, and his pioneering work had earned him a Nobel Prize in 2018. However, the optothermal effect and diffraction limit of lasers in traditional optical trapping techniques have restricted its wider applications. Nevertheless, in the past decade, researchers have turned the optothermal effect into a merit. With the synergy effect of optics and thermodynamics, one can perform high-precision nanoparticle manipulation in a large-scale range, which is called optical temperature field-driven tweezers (OTFT). This new type of tweezers can operate in rather low light density, which is two to three orders of magnitude lower than that of conventional optical tweezers. In addition, with the assistance of thermal energy, it greatly expands the categories of particles that can be manipulated, allowing for the large-scale manipulation of particles that limit the application of optical tweezers, such as opaque particles, metallic nanoparticles, and biomolecules. OTFT has become a useful research tool that enables researchers to study biological particles with high precision. Particularly in the detection of individual bio-nanoparticles, such as viruses, bacteria, proteins, and DNAs. The ability to detect single bio-nanoparticles enables observation of biological behavior on an individual level, which allows us to develop effective disease prevention strategies and expand our understanding of the biological world.

Progress In this review, we systematically demonstrate the manipulation principles of OTFT and its applications in the biological field. In addition, the future development and challenges of OTFT are also discussed. Firstly, we provide a brief analysis of conventional optical tweezers (Fig. 1). Secondly, we demonstrate the basic principles of the common optothermal effects such as thermophoresis, thermoelectricity, electro-thermo-plasmonic flow, natural convection, thermal osmotic flow, depletion forces, and Marangoni convection (Figs. 2–6). Thirdly, we provide an in-depth analysis of OTFT's applications in biomedicine, such as manipulation of nanoparticles (Figs. 7–8), protein molecules (Figs. 9–10), nucleic acid molecules (Figs. 11–13), and sorting of other nano-bioparticles (Figs. 14–18), as well as the sensitizing effect of biosensing (Fig. 19). Notably, the study by Dieter Braun and Albert Libchaber regarding the capture of DNA through convection and thermophoresis in 2002 is often considered a pioneering study in using OTFT for biomolecule capture (Fig. 11). Lately, in 2015, Ho Pui Ho's group in The Chinese University of Hong Kong developed a series of optothermal manipulation schemes to capture nanoparticles or cells (Figs. 7, 15–17). In 2018, Zheng Yuebing's group in University of Texas at Austin utilized surfactants in OTFT to achieve precise manipulation and on-site spectroscopic detection of metal nanospheres (Fig. 8). In 2019, Cichos's group at Leipzig University developed a thermophoretic trapping and rotational diffusion measurement scheme for single amyloid fibrils, which may be useful for understanding neurodegenerative disorders (Fig. 9). In 2020, Ndukaike's group at Vanderbilt University combined OTFT with alternating electric fields to capture and manipulate individual protein molecules as small as 3.6 nm in diameter (Fig. 10). Furthermore, in 2021, Zheng Yuebing's group also accomplished the capture of nanoparticles via opto-refrigerative effect-induced temperature field, thereby avoiding the possible optothermal damage to the captured particles. In 2022, A method for biomolecule enrichment and interaction enhancement was developed by our team using flipped thermophoretic force (Fig. 19). This approach significantly boosted the sensitivity of conventional surface plasmon resonance imaging (SPRI) sensing methods by a factor of 23.6. These typical advances in OTFT technology mark a significant milestone, as they bring about notable enhancements in functionality and broaden the scope of potential applications for OTFT in areas such as nanotechnology and life sciences.

Conclusions and Prospects The implementation of OTFT relies heavily on various hydrodynamic effects generated by the temperature field and still faces several challenges. Firstly, the temperature gradient may cause some biologically

active targets to lose their activity during manipulation. Secondly, various factors, such as ion concentration, temperature, pH value, and type, can easily affect the direction and size of particles driven by the temperature field. As a result, some optothermal tweezers require the addition of surfactants to modify the manipulated targets and achieve controlled particle capture. However, most surfactants are not compatible with biologically active particles and may lead to chemical toxicity or changes in the spatial structure of protein molecules. Additionally, the adsorption of surfactants may change the surface electrical properties of manipulated targets, thereby affecting their physicochemical properties. Thirdly, while OTFT currently utilizes two-dimensional potential wells to capture particles, the construction of spatial three-dimensional potential well capture remains a significant challenge.

In terms of future research directions for OTFT, efforts will be made on the development of biocompatible surfactants or the modulation of other environmental factors to achieve controlled and targeted particle trapping, especially in the field of biology. Furthermore, OTFT can be effectively integrated with other fields to address a broader range of issues. For instance, the combination of OTFT with dielectric microsphere-based super-resolution imaging enables large field-of-view imaging via microsphere scanning. OTFT can also be combined with surface Raman-enhanced scattering to enhance its chemical detection performance. In addition, OTFT is expected to be integrated with optical spanners to study the manipulation of the molecular orientation of liquid crystals. It can be anticipated that with the development of research on the light and matter interaction as well as surface chemistry, the optically-induced temperature field optical trapping technology will be further improved and will shine in the fields of biomedical and biochemical detection.

Key words optical tweezers; optothermal tweezers; optofluidics; optothermal effects; microfluidics; biosensors