



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Biomedical Engineering—Review

生物细胞的旋转——基本原理及应用

Tao Tang^a, Yoichiro Hosokawa^a, Takeshi Hayakawa^{b,c}, Yo Tanaka^{d,e}, Weihua Li^f, Ming Li^{g,*},
Yaxiaer Yalikusun^{a,e,*}

^a Division of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology, Nara 630-0192, Japan

^b Institute of Innovation for Future Society, Nagoya University, Aichi 464-8603, Japan

^c Department of Precision Mechanics, Faculty of Science and Engineering, Chuo University, Tokyo 112-8551, Japan

^d Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan

^e RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research, Osaka 565-0871, Japan

^f School of Mechanical, Materials, Mechatronic, and Biomedical Engineering, University of Wollongong, Wollongong, NSW 2522, Australia

^g School of Engineering, Macquarie University, Sydney, NSW 2109, Australia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 March 2020

Revised 17 June 2020

Accepted 21 July 2020

Available online 19 January 2021

关键词

细胞旋转
细胞重新定向
显微操作
微流控技术

摘要

细胞旋转是现代生物科学中最重要的细胞操作技术之一,不仅允许从任意角度观察细胞,而且还简化了分析细胞力学特性、表征细胞生理学和进行显微手术的程序。在广泛的学术和工业应用中,已经报道了许多细胞旋转的方法。其中,最受欢迎的是基于微型机器人的直接接触控制和基于场的非接触方法(如光场、磁场、电场、声场和流体动力场方法)。本文首先总结了这六大类方法的基本机制、优点和缺点,然后详细讨论了它们的区别和局限性。本文旨在缩短每种方法之间的差距,并说明细胞旋转领域目前的研究进展及未来前景。

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

细胞旋转是一种细胞操作技术,能够实现三维(3D)细胞成像[1–4]和特定角度的观察[5–6]。细胞在特定条件下的旋转运动[7–8],如电旋转(ROT)是一种用于细胞识别的重要无标签生物标志物。根据应用机制,可将用于细胞旋转的方法分为六大类:光场[9–10]、机械接触[11]、磁场[12–13]、电场[14–15]、声场[16–17]和流体动力场[18–19]方法,如图1(a)所示。

细胞群是异质的,即使是同一类型的细胞也彼此不

同;活的生物细胞在其形状、大小和其他生物物理特征上是不同的[20]。在生物、医疗和临床应用中,检测和可视化细胞表面形态的生物动力学具有重要意义[21]。然而,共聚焦显微镜作为一种常用的细胞图像采集光学技术,仅限于透明样品和某些可视角度,在XY平面(100 nm)和Z方向(200 nm)的分辨率有限。与其他可用的设备(如3D结构照明显微镜(SIM)[22–24])相比,共聚焦显微镜下的片上细胞旋转由于试剂消耗低、样品处理快、集成度高、便携性好、成本低,是一种更实惠的提高空间分辨率和实现细胞动力学3D可视化的方法。例如,由声镊激

* Corresponding authors.

E-mail addresses: ming.li@mq.edu.au (M. Li), yaxiaer@ms.naist.jp (Y. Yalikusun).

2095-8099/© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

英文原文: *Engineering* 2022, 10(3): 110–126

引用本文: Tao Tang, Yoichiro Hosokawa, Takeshi Hayakawa, Yo Tanaka, Weihua Li, Ming Li, Yaxiaer Yalikusun. Rotation of Biological Cells: Fundamentals and Applications. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.07.031>.

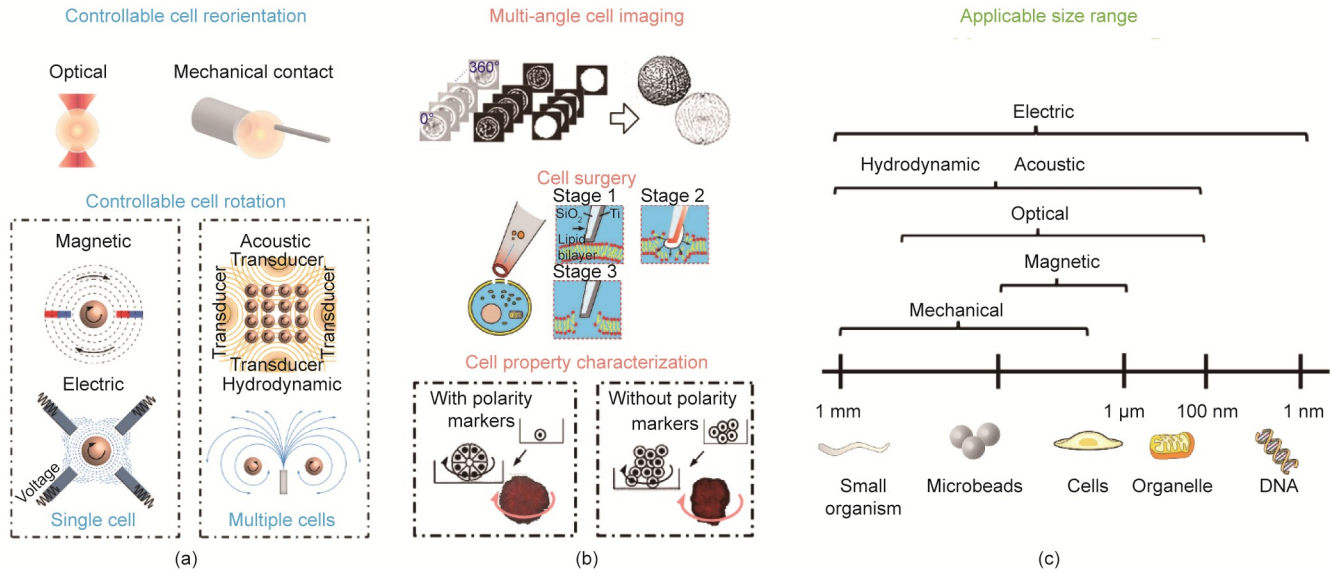


图1. 用于细胞旋转操作的六类方法。(a) 具有不同外力的细胞旋转方法, 即基于光场和机械接触的方法, 通常应用于细胞的重新定向, 而其他四类技术(磁场、电场、声场和流体动力场方法)主要用于细胞以稳定的速度旋转。(b) 细胞旋转和重新定向的应用包括多角度细胞成像[34]、细胞手术[35]和细胞属性表征[33]。经 National Academy of Sciences, © 2012 许可, 转载自参考文献[33]; 经 Springer Science Business Media, LLC, part of Springer Nature, © 2020 许可, 转载自参考文献[34]; 经 American Chemical Society, © 2021 许可, 转载自参考文献[35]。(c) 每类方法的适用尺寸范围不同, 从 1 nm 到 1 mm 不等。

活的片上细胞旋转[25]已被应用于在普通共聚焦显微镜下建立高分辨率的3D光学重建, 可视角度高达 140° [1]。此外, 微流控设备中光镊(OT) [26–27]的整合进一步将细胞的可视角度扩展到 180° , 并在一个被称为细胞重新定向的过程中实现了从特定角度对细胞的可视化。由于其调整细胞方向和可视化的能力, 光学激活的片上细胞旋转已经在细胞手术过程(如细胞注射、细胞内结构活检和细胞器提取)中得到了广泛的应用, 其中靶细胞需要获得正确的方向, 以减轻对细胞活力的副作用[28–29]。例如, 在哺乳动物的卵母细胞操作中, 必须将卵母细胞的极体旋转到远离注射部位, 以防止损伤卵母细胞内靠近极体的纺锤体[3,30]。其他例子包括必要的、精确的细胞方向控制, 以避免损伤细胞内的细胞器, 从而提高显微操作的成功率[31–32]。

即使在相同的条件下, 不同形状或类型的细胞的旋转运动也不相同, 所以细胞旋转可以用来描述与化学成分或物理特征有关的细胞特性和状态。一项乳腺癌研究[33]发现, 癌细胞的旋转运动与具有球形形状的正常细胞的旋转运动不同。一个稳定的旋转, 或所谓的相干角运动, 是正常细胞形成球体的必要条件。然而, 该研究指出, 极性的丧失阻止了癌细胞形成球体, 这是恶性肿瘤的最早迹象之一, 并导致旋转运动紊乱, 如图1(b)所示[33–35]。此外, 细胞的物理特征和化学成分(如细胞的介电性能)可以从基于实验室芯片技术的细胞旋转运动中获得。例如,

Han等[15]提出了一种具有非均匀电场的微流控装置, 该装置被用于分析靶细胞的旋转模式(如旋转速度和方向); Huang等[36]展示了其对细胞的表征和辨别能力。细胞和微珠的可控旋转是一种工具, 使研究人员能够发现目标组件的力学特性。例如, 利用磁珠在旋转磁场下的旋转, 可以高速测量DNA陀螺仪的结构动力学[37–38]。同样, 基于声场的旋转是细胞表征的首选, 因为其能够以相对较大的输出力激发众多粒子的旋转[39]。基于外部声场的旋转策略也能实现利用开放或封闭的微流控设备对多个生物样本进行并行分析[40–41], 尽管需要进一步提高多细胞控制的稳定性。

虽然有几种基于芯片的细胞旋转方法, 但每种方法对细胞大小的适用范围都很有有限, 如图1(c)所示。对于小的生物体或微珠, 有三种控制方式(机械控制、声学控制和流体动力控制), 适用尺寸可达1 mm。由于输出力低, 光场方法适用于旋转大小为 $0.1\sim 100\ \mu\text{m}$ 的细胞或细胞器。磁场方法主要用于旋转大小为 $1\sim 10\ \mu\text{m}$ 的磁珠。最后, 电场方法可用于旋转各种尺寸的样品, 范围从 $0.001\ \mu\text{m}$ 到 $1000\ \mu\text{m}$ 。值得注意的是, 尽管光学方法和机械方法都具有相对较高的空间分辨率(高达 $0.1\ \text{nm}$, 分辨率在第4节进行概述), 都能实现旋转角度的精确控制, 但在实际应用中都存在局限性。机械接触方法具有伤害软细胞膜和损害细胞活力的高风险, 而具有高光强度(通常大于 $10^5\ \text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$)的OT显示出杀死细胞或造成光学损伤

的倾向，限制了其应用。

本文旨在分析利用六大类旋转方法[直接接触法或非接触法，如图1(a)所示]的相关研究，然后，提供关于每种方法在不同条件下的优点和缺点的额外细节，并讨论未来的发展趋势。根据旋转的目的将这六种方法分为两类：细胞重新定向和细胞旋转[图1(a)]。更具体地说，可控细胞重新定向的目的是将细胞精确地旋转到一个特定的角度，主要是利用光场或机械接触方法进行。相比之下，可控细胞旋转的目的是以稳定的速度旋转细胞；在这种情况下，磁场或电场方法通常用于旋转单个细胞，而声场或流体动力场方法主要侧重于多个细胞的并行旋转。

2. 可控的细胞重新定向

精确的细胞定向对于细胞显微注射、精确地将物质送入细胞，以及研究细胞转染、信号通路和细胞器功能来说是必要的[42–45]。为了能够在胚胎的特定位置进行注射，并避免对特定的内部细胞器造成任何损害，过去需要手动调整细胞的位置和姿势，导致效率低和成功率低[31]。目前，自动化程序正逐渐取代现有的人工重新定向策略。例如，由直流(DC)电机驱动的闭环控制机械手[5,46]可以提供空间分辨率大于 $0.1\ \mu\text{m}$ 的可重复和快速的细胞定位，这是人工操作难以实现的。

2.1. 机械接触方法

机械接触方法利用安装在控制器上的工具(如具有一定制造规格的微吸管)，直接与靶细胞相互作用，实现细胞的移位或重新定向。与需要高度熟练的操作者的人工重新定向方法相比，控制器和控制系统的使用使机械接触方法能够简化操作过程并减少细胞损伤[4–5,47]。

绝大多数机械接触方法的目的是用微型机器人代替操

作员(表1[4,46–52])。例如，Wang等[46]提出了一种实时识别和重新定向胚胎方向的方法，其中靶细胞的重新定向是由与细胞变形有关的摩擦力驱动的[图2(a)]，有 2° 的旋转自由度，成功率高达97.50%。此外，如图2(b)所示，由程序控制的推力[48]可以在旋转角度误差为 5° 的情况下定位细胞，尽管这种方法的自由度(DOF)被限制为1。另外，如图2(c)所示，多个微吸管可以发挥类似“手指”的作用[4]，靶细胞由一个手指夹住，由另一个手指旋转，可以将旋转误差减少到 1.2° 左右。基于最小旋转力模型，根据细胞变形施加不同的扭矩来旋转靶细胞，可成功地将对细胞活力产生的副作用降到最低(尽管对控制效率产生一定的影响)。最近，一种改进的方法[49]被开发出来，该方法优化了注射微吸管的方向，并将处理时间大大降低到 $5\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$ 。同时，用两根微吸管，系统[50]的成功率可高达92.5%，最大误差为 0.3° 。

目前，基于机械接触的方法被广泛用于细胞的重新定向，尽管它们有物理损伤和不期望的刺激的风险[51]。这些方法允许相对较高的空间分辨率(高达 $0.01\ \mu\text{m}$)进行粒子的重新定向和操作，确保类似定向操作的可重复性。此外，基于机械接触的技术已经实现了 0.3° 的旋转精度，这比其他人工方法(8.3°)小得多[4]。尽管已经对控制系统进行了许多改进，以提高操作的稳定性和精确性，但最小的适用尺寸被限制在大约 $100\ \mu\text{m}$ 。

与细胞的直接旋转相比，通过微流控设备进行旋转控制要简单得多，并且也更容易进行细胞观察。Aishan等[52]通过结合基于热膨胀的玻璃-穹顶结构制造技术[53]和超薄玻璃熔接技术[54]，制造了一个全封闭的玻璃室，建立了一个观察平台，实现了观察角度的高精度控制，误差为 0.72° 。靶细胞被放置在一个封闭的玻璃室中，以减少观察过程中外部污染的风险，并消除僵硬的致动器可能造成的物理损伤；然而，全封闭的微环境限制了细胞手术等

表1 使用机械接触方法进行细胞重新定向的相关文献

Authors	Rotational DOF	Speed	Rotation angle error	Success rate	Rotating object	Application
Zhao et al. [4]	1	$28.6\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$	1.2°	93.3%	Porcine oocytes	Nuclear transplantation
Wang et al. [50]	3	$31\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$	0.3°	92.5%	Zebrafish embryos	Cellular structure recognition
Wang et al. [46]	2	In-plane: $1\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$ Out-of-plane: $4\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$	0.5°	97.5%	Zebrafish embryos	Cellular structure recognition
Wang et al. [47]	3	Out-of-plane: $2\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$	—	96.25%	Mouse oocytes	Polar body biopsy
Zhuang et al. [51]	2	$44\ \text{s}\cdot\text{larva}^{-1}$	0.5°	z-axis: 94%; x-axis: 100%	Zebrafish larva body	Organs injection
Ajamieh et al. [48]	1	—	5°	—	Mouse embryos	Cell biopsy procedure
Zhao et al. [49]	1	$23.6\ \text{s}\cdot\text{cell}^{-1}$	—	93.3%	Porcine oocytes	Nuclear transplantation
Aishan et al. [52]	3	—	0.72°	—	Xenopus oocyte	Full surface cell observation

DOF: 自由度。

其他应用。

2.2. 光场方法

继 Ashkin 等[56–57]首次研究之后，OT 已经成为应用于细胞旋转的最常用的基于光场的技术之一。高度集中的激光束作为一个光学陷阱，对感兴趣的粒子施加捕获力和扭矩，允许对捕获的微米级电介质粒子进行无标签操作[58–62]。与机械接触方法相比，OT 的硬度和作用力的大小随激光束的强度而变化，OT 的捕获力在从飞牛顿到纳牛顿的范围内变化，使得它们很适合用于捕获不同尺寸和质量的微米级粒子[63–64]。此外，双光束光学捕获器已经显示了细胞重新定向的能力[65–66]，其自组织特性[67–68]已经用反传播的激光束进行了验证。Kreysing 等[69]和 Dasgupta 等[70]的研究描述了为控制红血球和癌细胞而选择适当的激光束。此外，在我们团队过去的研究[71–72]中，发现聚焦的飞秒激光束可以在不产生任何热效应的情况下诱发冲力，从而实现非接触式的细胞操作。虽然关于 OT 对细胞旋转的相关研究较少，但这个话题可能会成为一个未来的研究趋势。

2.2.1. 光学捕获力和细胞折射

光学捕获力是由聚焦的激光与被捕获物体之间的相互作用而产生，在普通的商业显微镜下，通过 OT 可以实现靶细胞的旋转。用于光学操作的典型仪器[图 3 (a)]主要包括一些光学元件，如带有明场或照明的显微镜、高数值孔径 (NA) 物镜和聚光检测镜。通常情况下，所应用的激光束的波长位于近红外区，可以避免各种生物的光损伤，并且很容易与其他可见光形式[73]结合在成像系统中。此外，激光捕获器可以与单模光纤耦合，产生一个干净的光束轮廓，然后被空间光调制器 (SLM) 分割成多个同时捕获的光束。因此，利用全息 OT 可以并行地对多个细胞进行操作。

图 3 (b) 说明了激光束进入细胞前后传播路径的变化，并显示了在细胞表面发生的动量转换。根据 Snell 定律，折射改变了两束入射激光 ($k_{i,1}$ 和 $k_{i,2}$) 的传播方向。

入射光束 $k_{s,1}$ 和出射光束 $k_{s,2}$ 之间的动量关系可以表示如下：

$$\begin{cases} \Delta k_1 = k_{i,1} - k_{s,1} \\ \Delta k_2 = k_{i,2} - k_{s,2} \\ \Delta k = \Delta k_1 + \Delta k_2 \end{cases} \quad (1)$$

根据动量守恒定律，两束激光的动量，即 Δk_1 和 Δk_2 被转移到靶细胞。因此，被捕获的粒子经过一个补偿性的动量 Δk ，指向焦点，如图 3 (b) 所示。由于散射力的作用，OT 能够通过高度集中的激光束捕获微米级电介质粒子，并将它们捕获在焦平面后面的一点上[图 3 (b)]。

2.2.2. 用于细胞重新定向的光镊

图 3 (c) 中的 I~III 显示了直接光学旋转细胞的方案，这种方法由于精确度高而引起了研究人员广泛的关注[9, 67]。Xie 等[74]最近回顾了过去几十年机器人辅助 OT 系统的快速发展，其中说明了多个激光束用于细胞旋转的操作。在闭环系统的辅助下，Xie 等[5,75]还通过控制两个激光镊的轨迹或距离，实现了对靶细胞在 XY 平面或 YZ 平面的旋转控制[图 3 (c) 中的 II~III]。机器人辅助的方法有高可靠性，适用于更高要求的任务，如细胞的旋转和轨道旋转。在 Chen 等[65]的研究中，两个位移为 $10 \mu\text{m}$ 的 OT 可以以大约 $72.2(^{\circ})\cdot\text{s}^{-1}$ 的速度旋转红细胞；然而，当位移增加到 $15 \mu\text{m}$ 时，细胞将沿着椭圆轨道移动 [$150.7(^{\circ})\cdot\text{s}^{-1}$]，而自旋速度为 $57.3(^{\circ})\cdot\text{s}^{-1}$ 。

OT 的局限性在于易造成光学损伤。一项研究指出，相对较高的光学峰值强度 ($> 10^5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) [76] 是产生稳定陷阱的必要条件；然而，如表 2 [5,65,75,77–80] 所示，这种高度密集的激光照射[81]可能导致细胞或组织的光损伤[82]。更具体地说，激光直接照射可能导致单细胞水平的各种副作用，如局部过热[83]、细胞代谢的变化[84]、分子光形变[81,85]、蛋白质变性[86]和光力学应力[87]，所有这些最终导致细胞活力的丧失。因此，尽管 OT 提供了非常精确的旋转控制，但必须考虑光损伤。激光直接照射的其他不利影响包括布朗运动和热扰动[88]，可以进一步干扰被捕获的粒子。

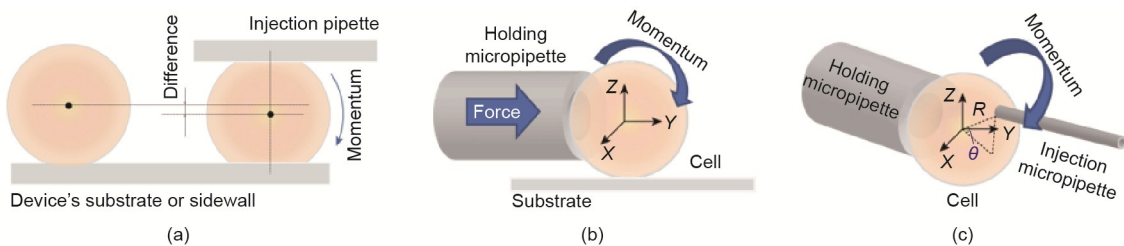


图 2. 不同机械接触方法的示意图。(a) 基于摩擦力的技术，使用摩擦力来驱动靶细胞的旋转；(b) 基于推力的技术，使用推力来旋转基质上的靶细胞；(c) 基于抓取的技术，使用微吸管作为机器人的手指来旋转靶细胞。R: 半径； θ : 角度。

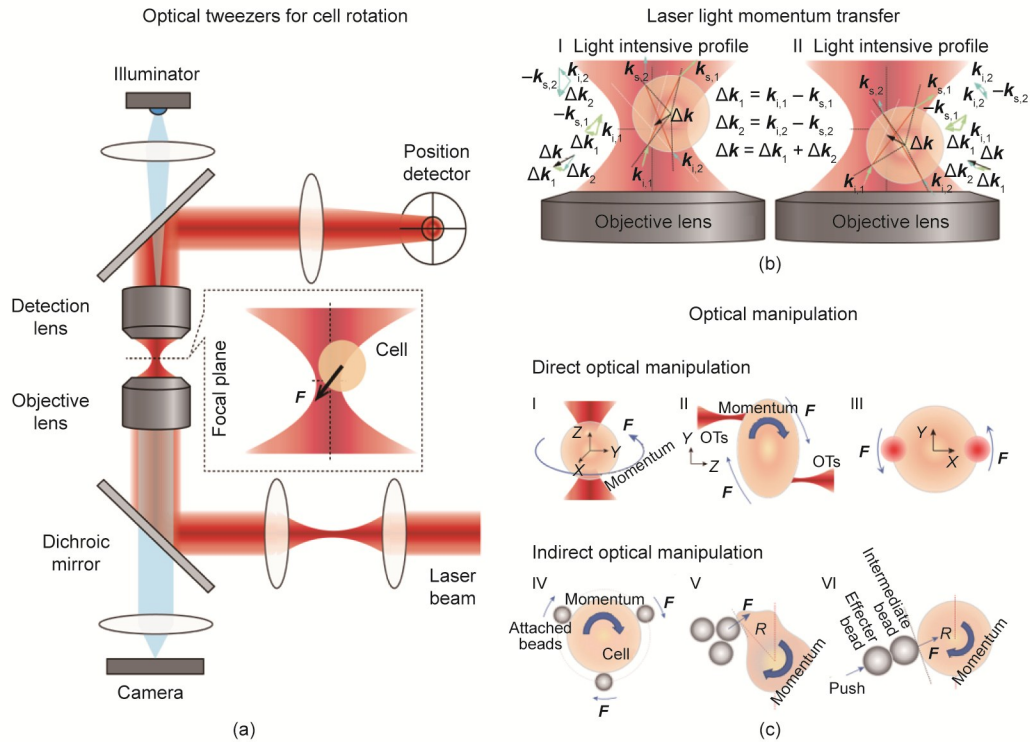


图3. 用于细胞旋转和控制的光学技术。(a) 用于细胞生物光学旋转的仪器图。(b) 激光对靶细胞的动量转移。I: 靶细胞被放置在焦平面的右上方; II: 靶细胞被放置在焦平面的右下方。(c) 不同光学旋转策略示意图。I~III: 直接使用OT控制细胞; IV~VI: 间接光学旋转方法。 F : 力; R : 半径。

表2 使用光场方法进行细胞旋转的相关文献

Authors	Method	Rotational DOF	Angular velocity ($(^\circ) \cdot s^{-1}$)	Photo-damage occurrence rate	Optical beam number	Rotating object	Application
Chowdhury et al. [77]	Pushing-based method	1	—	0	2	Dictyostelium discoideum cells	Migration study of cells
Chowdhury et al. [78]	Topological gripper	1	14.32	33%	3–6	Dictyostelium discoideum cells	Noninvasive transportation of cells
Thakur et al. [79]	Pushing-based method	1	—	0	2	Yeast cells	Cell translocation
Cheah et al. [80]	Topological gripper	1	—	33%	6	Silicon beads	Grasping and manipulating a microscopic particle
Xie et al. [75]	Direct rotation	2	8.59	67%	2	Yeast cells	Single-cell surgery
Chen et al. [65]	Direct rotation	2	Spin: 72.19; orbital: 151.26	67%	2	Red blood cell	Simultaneous spin and orbital rotation
Xie et al. [5]	Direct rotation	2	9.74	67%	2	Acute promyelocytic leukemia cells	Cell surgery

另外, 间接光学旋转可以避免直接激光照射的这些副作用, 并减轻光损伤。表2总结了每种光学旋转方法的光损伤发生率。如图3 (c) 中的IV~VI所示, 可以将这些方法分为三类: 拓扑抓取器、基于推力的方法和附着粒子。例如, 拓扑抓取器[5,78,80]是由几个粒子形成的[图3 (c) 中的IV], 并由多个激光束控制; 它们可以将细胞上的激光照射强度减少90%。一些细胞对剩下的10%的激光照

射仍然很敏感, 在拓扑抓取器使用过程中, 它们的生理特征会发生变化。这个问题可通过在靶细胞和光学控制的粒子之间放置一个中间粒子来处理[77,79], 如图3 (c) 中的V~VI所示, 光学捕获的粒子作为一个非接触的执行器, 几乎消除了激光对靶细胞的所有副作用。

OT旋转的另一个限制是缺乏选择性和排他性。换句话说, OT会捕获激光焦点附近的任何电介质粒子[89]。

因此，需要相对较低浓度的细胞，以防止其碰撞和捕获额外的粒子。为了削弱高浓度对细胞操作的影响，研究人员已经进行了大量研究[90–92]。例如，通过轨迹规划算法来优化细胞操作。此外，基于光学的旋转技术的应用受限于OT的低输出力。例如，单光束光学旋转能产生的捕获力只能旋转约10 μm的细胞，而不足以旋转更大的细胞，如卵母细胞 (> 100 μm) [93]。

本节回顾了两种旋转技术——光学旋转和机器人辅助的力学旋转——用于以精确角度（不是旋转速度）控制的细胞重新定向。可控的细胞旋转对于其他一些情况也是必要的，如细胞的旋转特性分析和3D光学重建，这将在下面进行介绍。

3. 可控的细胞旋转

此处的细胞旋转是指靶细胞以稳定和可控的速度旋转。精确的单细胞旋转对生物技术的许多应用都很重要，如细胞表征[94]、药物发现[95–96]、肿瘤异质性分析[97–98]和细胞成像[1,10]。在本节中，细胞旋转是由非接触的物场，如电场、磁场、声场和流体动力场驱动[图1 (a)]。

3.1. 电场方法

细胞可以在旋转的电场中旋转，其中旋转扭矩是由细胞的偶极矩和旋转电场之间的相位差产生的。此外，在非旋转电场中，旋转运动可以被不均匀的或随时间变化的电场所刺激。在交流（AC）场中，通过改变场强、频率或电极的几何形状，由介电泳（DEP）引起的电扭矩能够控制尺寸从几纳米到几百微米的粒子。DEP [99–101]有许多独特的特点，包括成本低、效率高和损伤率低。此外，不同的粒子对电场的反应可能不同。例如，Janus粒子的旋转方向与AC频率有关[102]，导致粒子在低AC频率下共场旋转，反之亦然。同时，DEP能够根据细胞的运动来区分和分离不同类型的细胞，这与细胞的电介质特性有关。

3.1.1. 介电泳和电旋转

文献[99–101,103]已经很好地描述了DEP力的基本原理。理论上，一个细胞可以在非均匀电场中被极化[104]。如果它的极化程度高于介质，就会产生一个朝向强电场的净力，被称为正DEP，反之亦然。基于这一理论，Chow等[105–106]设计了一个充满液态金属的多功能微吸管，通过在细胞表面的不同位置形成不平衡的力矩，实现四维（4D）单细胞旋转[图4 (a) [106]]。

在均匀电场 \mathbf{E} 中，半径为 R 的均质球形细胞相当于一个具有力矩相位的偶极子[图4 (b) [7]]。在DEP生物芯片[107]中，偶极子将与外部电场相互作用并产生DEP力，如下图所示：

$$\begin{cases} \mathbf{F}_{\text{DEP}} = 2\pi R^3 \cdot \epsilon_m \cdot \text{Re}(f_{\text{CM}}) \cdot \nabla E^2 \\ f_{\text{CM}} = (\epsilon_p^* - \epsilon_m^*) / (\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*) \\ \epsilon^* = \epsilon - i \frac{\sigma}{\omega} \end{cases} \quad (2)$$

式中，DEP力（ \mathbf{F}_{DEP} ）与复数Clausius-Monssotti因子（ f_{CM} ）的实数部分成正比，并且 ϵ_m 和 ϵ_p 分别是介质介电常数和粒子介电常数。 $*$ 代表复数变量，复数许可率 ϵ^* 与旋转电场的物质许可率（ ϵ ）和角频率（ ω ）呈线性关系。此外， $\text{Re}(\cdot)$ 代表复数变量的实部， σ 是介质电导率， i 是虚数单位。

在旋转电场中，细胞旋转可以由电旋转扭矩（ \mathbf{T}_{ROT} ）得出：

$$\mathbf{T}_{\text{ROT}} = -4\pi R^3 \cdot \epsilon_m \cdot \text{Im}(f_{\text{CM}}) \cdot |\mathbf{E}|^2 \cdot \mathbf{z} \quad (3)$$

式中， \mathbf{T}_{ROT} 与复数Clausius-Monssotti因子的虚数部分成正比； \mathbf{z} 是电极表面的单位向量法线； $\text{Im}(\cdot)$ 代表复数变量的虚数部分。电偶极子和外场之间的相位延迟导致了两个旋转扭矩之间的相对滞后角。在稳态平衡条件下，旋转速度或角速度[15]可以定义如下：

$$\alpha_{\text{ROT}} = - \frac{\hat{\mathbf{a}}_m \hat{\mathbf{i}} |\mathbf{E}|^2}{2\zeta} \text{Im}(f_{\text{CM}}) \quad (4)$$

式中，旋转速度（ α_{ROT} ）与复数Clausius-Monssotti因子的虚数部分成正比； ζ 是一个与黏度（ η ）和电场强度有关的比例系数[108–109]（通常是一个常数）。

3.1.2. 细胞旋转的电场

Walid和Dutta [110]通过一个具有时变频率的AC信号实现了细胞在静止电场中的旋转，其中通过形成一个非均匀的电场来极化靶细胞[图4 (c)]。他们发现，静止电场中的旋转速度与AC频率紧密相关（尽管其基本机制还没有被完全理解）。此外，细胞的稳定旋转不仅与其规则形状有关，而且还受细胞内低导电性的偏心包裹体的影响[111]。目前，使用固定的电场进行细胞旋转仍然受到速度控制精度低的限制。

另外，Han等[15]设计了一个基于ROT的微芯片，用于利用电信号捕获和旋转细胞（表3 [7,15,102,105–106,110–114]），其中细胞旋转的速度和方向是细胞的电介质特性[36]（如电导率和介电常数）的敏感函数。利用4个电极形成细胞旋转所需的随时间变化的电场，每个电极被具有不同相位延迟的AC信号通电。也有研究人员建议

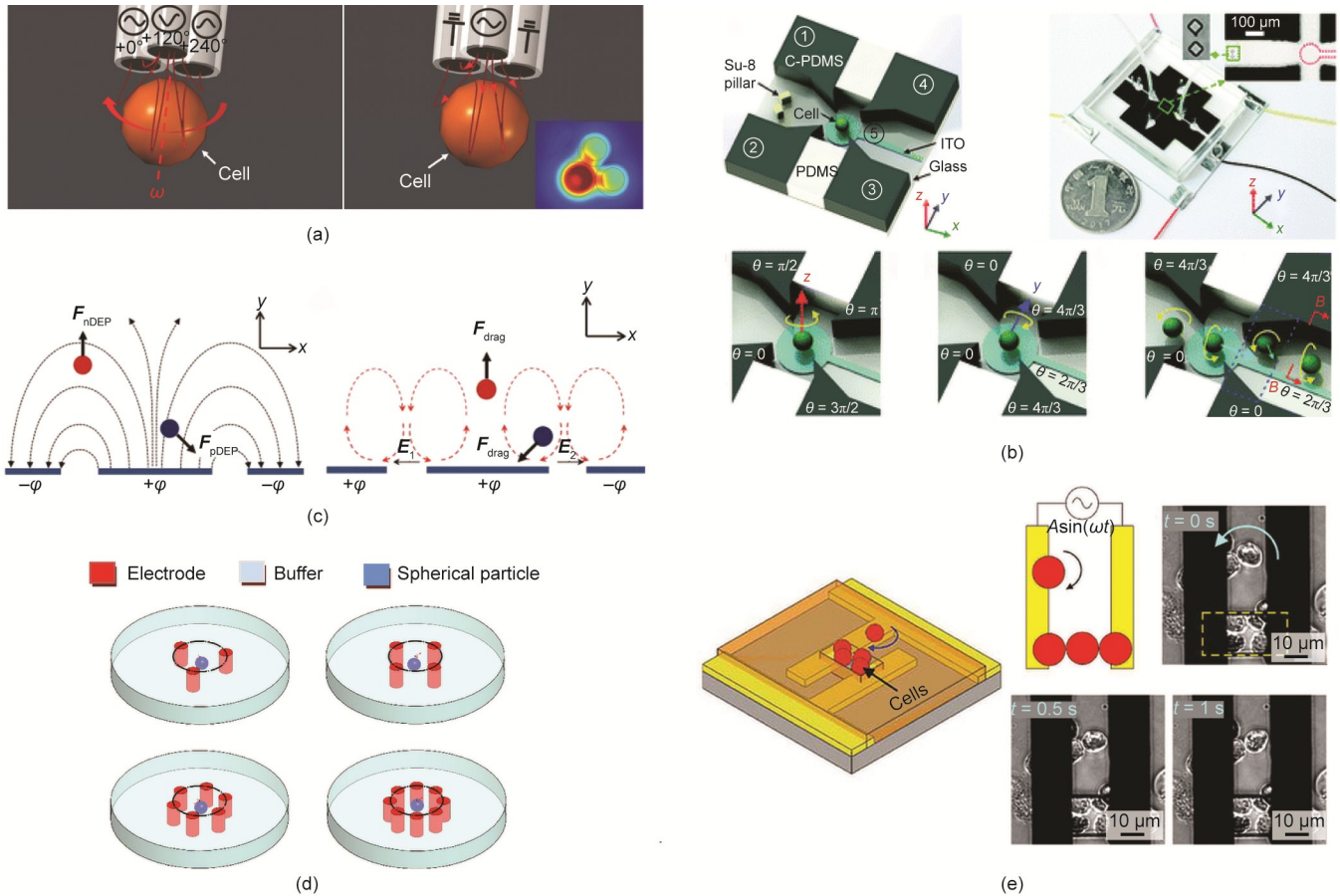


图4. 基于电场的可控细胞旋转策略。(a) 移液器尖端附近的4D电旋转示意图；(b) 用于3D细胞电旋转的微型装置以及单细胞加载和3D旋转的工作原理图；(c) 共面电极上的电场线和旋转策略图；(d) 多个电极的分布；(e) 用于旋转操作的电极和绝缘层上的细胞捕获操作方案。 θ : AC信号的相位； $+\varphi$: 正电极； $-\varphi$: 负电极； F_{nDEP} : 负DEP力； F_{pDEP} : 正DEP力； F_{drag} : 黏性阻力； E_1/E_2 : 电动势的下降方向； A : AC信号的强度； ω : AC信号的频率； t : 时间；PDMS: 聚二甲基硅氧烷；ITO: 锡氧化物。(a) 经 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, ©2018 许可, 转载自参考文献[106]; (b) 经 Royal Society of Chemistry, ©2018 许可, 转载自参考文献[7]; (d) 经 SAGE Publications Ltd., ©2015 许可, 转载自参考文献[112]; (e) 经 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, ©2018 许可, 转载自参考文献[113]。

表3 使用电场方法进行细胞旋转的相关文献

Authors	Electric field type	Rotational DOF	Cell trap	Mechanisms	Manipulating tool	Rotating object	Applications
Han et al. [15]	Rotational	1	Yes	DEP; ROT	nQDEP; ROT signals	Human leukocytes and cancer cells	Measuring cellular dielectric properties
Benhal et al. [112]	Rotational	1	Yes	DEP; ROT	3–8 electrodes	—	Finite-element analysis
Walid et al. [110]	Stationary	1	No	DEP	AC electroosmotic flow	Barium titanate particles	Microfluidic device design
Huang et al. [114]	Rotational	1	Yes	ROT	nQDEP; ROT signals; shaped channels	HeLa cells	Microfluidic device design
Chen et al. [102]	Rotational	1	Yes	DEP; ROT	nQDEP; ROT signals	Pt-silica Janus particles	Analysis of the rotation direction
Zhao et al. [111]	Stationary	1	No	DEP	AC electroosmotic flow	Rat adipose stem cells	Analysis of the rotation under DEP
Huang et al. [7]	Rotational	3	Yes	DEP; ROT	nQDEP; ROT signals	Mammalian cells	Measuring cellular biophysical properties
Chow et al. [105–106]	Rotational	1	Yes	3D DEP; ROT	Liquid metal electrode pipette	HeLa cells	Microfluidic device design
Huang et al. [113]	Rotational	1	No	ROT	Parallel and planar electrodes; polarized cells	HeLa and HepaRG cells	Polarized cells as electrodes

nQDEP: negative quadrupolar dielectrophoretic force.

[112], 在实际应用中不应该超过4个电极。虽然旋转电场的面积随着电极数量的增加而扩大[图4(d) [112]], 但中心电场的强度保持不变, 多个电信号的控制变得更加复杂[115]。因为电场的均匀性得到了改善, 所以多个电极的唯一好处是最大限度减少电场分布对细胞旋转的影响。

此外, 建议细胞不要在中心电场中旋转, 因为这可能会破坏电场, 甚至可能使实验终止。为了稳定旋转运动, Huang等[114]报道了一种新设计的DEP平台, 该平台可以捕获单细胞并同时实现3D旋转。通过调整AC信号的配置, 可以实现细胞的稳定旋转, 控制过程也大大简化。为了进一步简化这种微型设备并扩大应用范围, Huang等[7]提出了一种新的基于芯片的电旋转技术[图4(b)]。这种方法在执行3D旋转方面具有优势, 即能够以可控的方向、速度和旋转轴, 在单个具有典型结构的微芯片上进行3D旋转, 如上述的结构。基于同样的设计, Huang等[116]实现了自适应空间定位控制和单细胞的3D形态学重建。与多电极设计相比, Huang等[113]和Feng等[117]发现偏振细胞也可以像电极一样工作; 这种新颖的电旋转机制大大简化了基于DEP的微芯片的设计[图4(e) [113]]。Chow等[105–106]制造了一种由液体金属填充的多功能微吸管, 用于在液体中旋转细胞[图4(a)]; 该微吸管可以同时产生一个3D DEP陷阱和一个一维(1D) ROT。这种方法的一个独特优势是, 不需要微加工或光刻步骤以形成电极, 简化了制造过程和降低了制造成本。

总的来说, 可以得出结论: 电场方法适用的尺寸范围(即0.001~1000 μm) 要比其他方法宽得多(关于范围的叙述见后面第4节)。到目前为止, 大多数研究都集中在只随一个DOF的细胞旋转, 而不是沿多轴的细胞旋转(目前仍然是一个挑战)(表3); 只有Huang等[7]在电场中借助4个电极成功实现了随3个DOF的细胞旋转。

3.2. 磁场方法

基于磁场的镊子[118–120](简称磁镊)是研究生物微分子(如由核酸和蛋白质组成的单分子)力学特性的可靠工具。放在磁场中的磁性物体将承受一个磁力和(或)磁力矩(数量级为皮米牛顿到纳米牛顿)。与电镊不同(电镊容易引起不希望发生的电化学反应[121]并损害细胞的活力), 磁场对生物样品几乎没有影响。然而, 这种方法的局限性之一是, 被研究的生物分子或细胞必须附着在磁性粒子上进行运输、分离和检测[122–125]。图5(a) [13]显示了一个T细胞附着在磁性Janus粒子上并由外部磁场旋转的例子[13]。鉴于靶细胞需要预处理, 一些研究表明, 其生理特征可能会因为附着的磁珠而发生改变[126–

127]。另一个问题是, 在测量完细胞的力学性能后很难释放附着的磁珠。

磁镊[图5(b)]是在对微米级磁性粒子施加外部磁力矩[89]时形成的。这种技术经常与OT一起使用, 将目标粒子捕获在特定的地方, 克服了OT对生物样品操作的限制(即光损伤和热效应)。例如, Ye和Sitti [88]提出将这两种技术结合起来, 创造一个局部涡流, 以此沿圆形路径运输附近的微生物。然而, Romodina等[122]认为, 激光诱导的局部过热将打破旋转粒子和旋转磁场之间的同步状态, 原因是旋转运动会与热有关的Brownian扭矩所延迟。在这种情况下, 除了光学捕获外, 还可以使用流体捕获, 该技术目前已经在镍纳米线[128–129] [图5(c)]和哑铃形磁驱动器[图5(d) [130]]的基础上实现。这两种方法都能在旋转磁场下产生移动的微涡流, 细胞被捕获在其中, 旋转速度分别高达 $399.92(^{\circ})\cdot\text{s}^{-1}$ 和 $324.87(^{\circ})\cdot\text{s}^{-1}$ 。

在磁场中, 理论上施加在磁偶极子上的 T_{ROT} 被定义为 $T_{\text{ROT}} = \mathbf{m} \times \mathbf{B}$, 其中 \mathbf{m} 是粒子的磁偶极矩, \mathbf{B} 是外部磁场。在磁扭矩的影响下, 磁性粒子将旋转, 直到偶极子的方向与磁场对齐。因此, 随时间变化的磁场可以使磁粉在二维(2D)表面上以稳定的速度旋转。到目前为止, 研究人员已经做了大量工作, 对在时变磁场下施加于细胞、DNA等的扭矩[131–132]或力[120]进行测量。然而, 如前所述, Brownian运动可能会破坏同步状态, 而且由于磁珠之间的磁化差异, 磁镊施加的扭矩并不恒定[133], 这使得磁力难以得到精确量化。

与基于DEP的旋转类似, 大多数基于磁场的研究都实现了单一的旋转自由度, 而不是3D控制。在Berndt等[134]的研究中, 发现磁场能够控制活体标本在3D空间的旋转, 而不需要附着任何磁珠[图5(e)]。然而, 这种方法有损害测试样本的风险(因为控制时施加了过大的磁力)。相比之下, 哑铃形流体镊[图5(d)]是一种更安全的实现细胞旋转的方法, 通过非接触控制(即移动的微涡流)实现相对快速的旋转。然而, 单个细胞的旋转速度不稳定, 并随时间变化而变化。迄今为止, 对于磁镊来说, 精确的细胞操作对于细胞旋转或重新定向仍然是一项艰巨的任务; 因此, 除了在发育生物学中常用的较大的模式生物体, 以及需要高驱动力矩的驱动, 仍然不建议在这两种情况下使用磁镊。

3.3. 声场方法

基于声场的镊子(即声镊)可以通过声波与固体、液体和气体之间的相互作用来实时控制物体, 这是由Wu [135]首次提出的, 用于捕获和线性转移 $270 \mu\text{m}$ 的乳胶粒

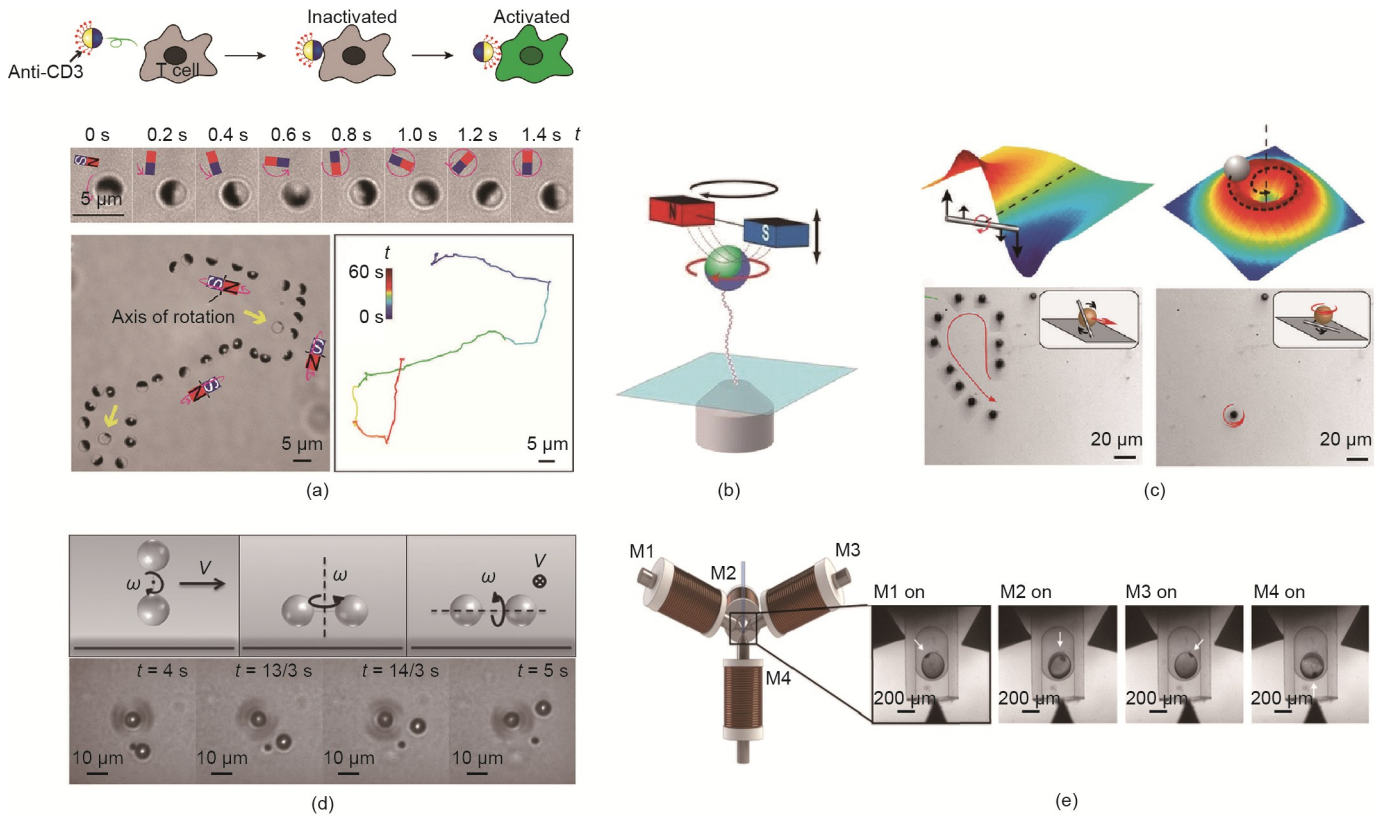


图5. 基于磁的可控细胞旋转策略。(a) 使用磁性 Janus 粒子对 T 细胞进行旋转控制。经 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, ©2016 许可, 转载自参考文献[13]。(b) 显示插入物的示意图, 图中显微镜台上容纳两个电磁铁。经 Springer Nature, ©2008 许可, 转载自参考文献[89]。(c) 切向流场和由纳米线旋转激活的细胞旋转。经 American Chemical Society, ©2011 许可, 转载参考文献[128]。(d) 用于动态捕获和旋转细胞的哑铃形流体镊。经 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, ©2016 许可, 转载自参考文献[130]。(e) 显示基于永久磁铁的磁镊布局的实验结果和原理图。经 Springer Nature, ©2018 许可, 转载自参考文献[134]。CD3: 分化群3; V : 平移速度; M1、M2、M3、M4: 电磁铁。

子和蛙卵。可以将这项技术用于控制多种尺寸范围 (0.1~1000 μm) 的生物粒子。根据工作原理, 可将声镊大致分为三类: ①驻波镊; ②行波镊; ③声流镊。其中, 前两类是直接利用外部声辐射力进行控制, 而最后一类是由流体流动诱导的间接控制手段。

3.3.1. 驻波镊

驻波的特点是能够形成一个稳定分布的声势能场和力学场。根据声波的产生方法, 可以进一步将驻波分为两种亚型: 声表面波 (SAW) 和体声波 (BAW)。

声表面波 (SAW) 通常是在数字换能器 (IDT) 上产生, 沿着弹性材料的表面进行传播。这种传感器可以将电信号转换为 SAW, 并产生周期性分布的机械力。SAW 可以像 OT 一样精确地移动粒子、细胞或微生物, 声场中的粒子被推到声压节点 (即最小压力区) 或压力反节点 (即最大压力区), 这取决于粒子的密度和可压缩性[图 6 (a) [136]]。此外, 这种技术不但可以单独地控制粒子形状, 并可同时控制许多粒子; 这两种类型的控制对 OT 来说都是不可能的[39]。此外, SAW 可被用于粒子对准。

Bernard 等[137]认为, 非球形粒子容易旋转并与各向异性的势阱对齐。SAW 的适用环境并不局限于黏性条件, 如液滴。Yu 等[138]认为, 可以形成具有环形图案的 SAW 场。在这样的液滴中, 声势能的分布随着声振幅的变化而变化, 而内部粒子表现出不同的动态变化, 如旋转和移位。Guo 等[139]利用这一现象实现了大量粒子的聚集, 形成特定的形状, 并将聚集的粒子重新定向到信号输入的方向。

与通常用于控制单细胞的 OT 和电镊相比, 声镊能够并行旋转大量的细胞。此外, 与磁镊 (50 pN) 或 OT (10 pN) 相比, 声镊 (如在小于 5 μm 的粒子上为 150 pN) 对相同大小的粒子具有更大的输出力[39]。值得注意的是, 为了稳定地控制亚微米级粒子, 声波的应用波长必须与粒子的大小相当。

BAW 是在压电换能器上产生, 通常在微通道内使用。如图 6 (b) 所示[136], 反射器上的反射波与原波相互作用, 在通道内产生压力节点和反节点, 以实现多细胞控制。而且, 这些节点的数量可以通过调整相对于通道几何尺寸的电频率而发生改变[140]。目前, 这种技术通常

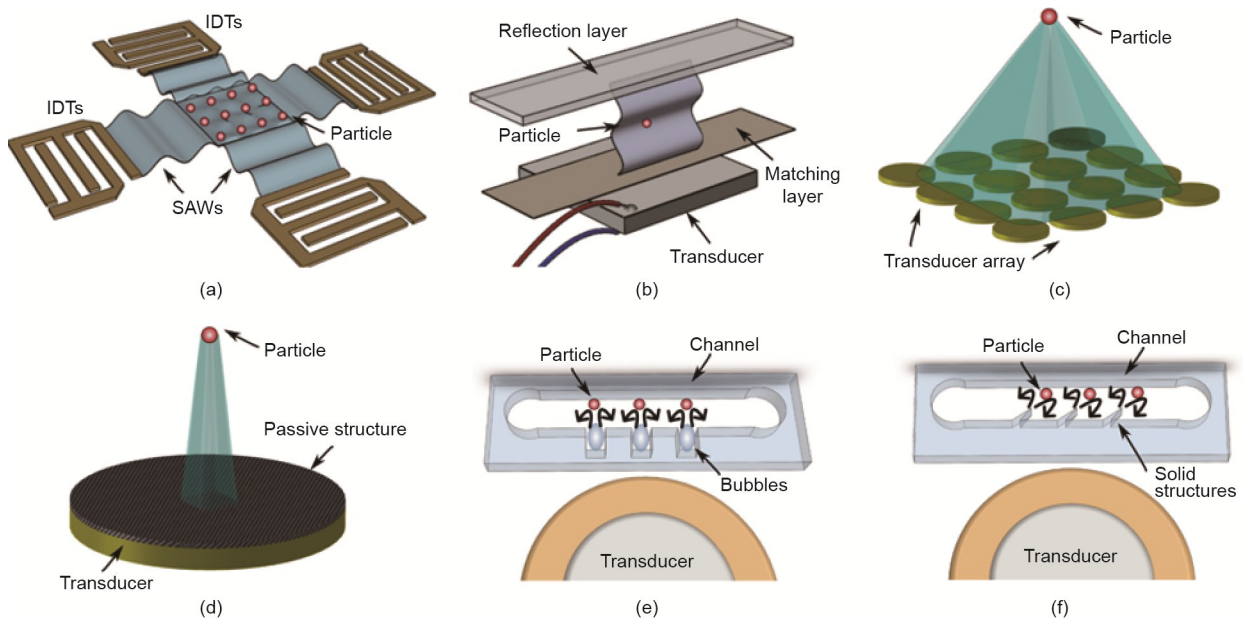


图6. 各种声镊技术的说明。(a) 基于SAW的驻波镊；(b) 基于BAW的驻波镊；(c) 主动行波镊；(d) 被动行波镊；(e) 声流镊；(f) 基于固体结构的声流镊。经Nature Methods, ©2018许可，转载自参考文献[136]。

用于细胞分离或聚焦，而很少用于细胞的平移和旋转。

3.3.2. 行波镊

如图6 (c)、(d) [136]所示，行波镊主要用于声学悬浮。根据Ozcelik等[136]的论述，基于所应用的发生器，可以将行波镊大致分为两类：主动行波镊和被动行波镊。二者的区别关键在于所使用的传感器的数量。对于前者，声波之间的相对相位延迟由传感器阵列产生，并用于形成灵活的压力节点；对于后者，只有一个传感器足以实现复杂的声场分布和粒子的动态控制。

更具体地说，在2015年，Marzo等[141]确定了几种主动方法，并认为粒子可以悬浮在半空中，通过调整每个换能器之间的相位延迟，利用程序控制实现粒子的旋转或平移。此外，对于流体中的应用，Franklin等[142]提出了一种简单而紧凑的换能器，可以产生稳定的3D声学陷阱，帮助粒子克服流体中的重力。这些研究人员实现了平移控制。在Andrade等[143]的研究中，声学悬浮法被描述为具有将物体固定在一个具体位置，并在3D空间中旋转和平移物体的能力。

2016年，Melde等[144]提出了一些被动的方法，其中粒子可以在声学全息图中被捕获和转移，但无法对其进行旋转控制。最近，Muela-Hurtado等[145]报道了一种有效的方法，即利用螺旋式主动衍射光栅在空气中产生声学贝塞尔漩涡，进而实现精确控制。在此研究的基础上，Li等[146]进一步分析了一阶和二阶声学贝塞尔涡流束的声学辐射扭矩，并实现了对不同形状物体的高速、灵活的旋转

控制。由于分辨率有限、可控性低、换能器尺寸大，行波镊还不能用于控制微米级粒子[147]。

3.3.3. 声流镊

声学镊是由声学 and 微流体融合构成的，可以通过液体所吸收的声能来旋转细胞或小生物。如图6 (e)、(f)所示[136]，可控声流通常在高频振荡的微气泡或微结构周围形成。例如，放置在微流控环境中的振荡固体结构可以产生局部声流，如图7 (a)所示，允许控制附近的粒子或细胞，这些粒子或细胞在声学涡流下被捕获并旋转。此外，一个高频振荡结构可以由外部高频声波驱动。例如，Huang等[148]认为，通过调整施加在压电传感器上的输入电压，微通道中尖锐边缘周围诱发的微涡流的流速是可编程的[图6 (f)]。到目前为止，Ozcelik等[17]已经实现了细胞在尖锐边缘周围的可控旋转，旋转速度与电压信号和尖锐边缘结构有关：角度较小或长度较长的边缘可以促成较高的旋转速度。此外，Feng等[149]认为，不对称的微观结构有助于在显微镜下进行平面内或平面外的3D旋转操作。在他们的研究中，Feng等成功地保持了猪卵细胞的旋转速度不变，并使用数值仿真来研究卵细胞在声流中的旋转机制。除了具有尖锐边缘的微结构，微气泡也可以发挥类似的功能，在微通道中形成局部微涡流；Hashmi等[150]总结了微流控设备中振荡微气泡的功能和应用[图6 (e)]。值得注意的是，施加在生物样本上的力取决于样本的大小，这意味着大的微生物比小的细胞容易受到更大的旋转扭矩。此外，有研究表明，细胞的旋转速度随

着驱动电压的平方函数而变化[16]。因此，从理论上讲，在相同的激励电压下，由声流引起的细胞或粒子的旋转速度可能有助于区分它们的大小。然而，从长远来看，微气泡的声学参数不稳定，因为微气泡的大小和几何形状很容易发生改变。另外，这两种结构（即微气泡和锐边结构）的空间分辨率都很低，这限制了它们的实际应用。

3.4. 流体动力场方法

基于流体动力场的方法可以通过各种方式产生微米级的流体场（表4 [16–17,19,93,149–155]），如振荡压电致动器[图6（e）、（f）]，在旋转磁场中旋转磁性微珠[88,122,156]，或控制微吸管内的流速[18–19]。

本文对球形或不对称粒子在剪切流下的旋转运动的现象和基本理论进行了详细的研究。由于作用在靶细胞周围的流体动力的不平衡，可以在其周围形成旋转扭矩。不同的细胞在旋转运动方面对不平衡的扭矩有不同的反应。例如，在Shelby和Chiu [19]的研究中，发现施加在半封闭腔内旋转细胞上的扭矩与细胞的特性和流体的黏度有关。在这种情况下，压力引起的流体脱离发生在半封闭腔的开口处，并为放置在这种腔中的细胞或粒子提供动力，使其旋转。此外，Torino等[151]研究了不对称细胞在直线通道中

的旋转机制，发现旋转速度与细胞相对于流体流动的方向以及细胞与通道壁的距离有关。放置在微通道中的不对称细胞的两侧（一侧靠近通道壁，另一侧靠近通道中心）将经历不同的流速，因此诱发细胞旋转。这种差异对于不对称细胞来说很明显。

此外，当控制微通道内的流速时，随着流速的增加，流体动力的影响变得非常大。Tanyeri等[157–158]设计了一个用于捕获粒子的微流体装置，其中两个对立的层流在交汇点相遇，并形成清晰的流场来捕获粒子。如图7（b）[157]所示，不同大小和形状的单细胞可以被捕获和旋转，但旋转运动是不可控制的。此外，受喷泉原理的启发，Yalikun等[18,152,159–160]提出了一种片上喷泉，通过将高速流动的微流体从微孔结构推到微流控芯片的顶部表面来实现细胞旋转，如图7（c）所示。被捕获的靶细胞在一个圆形区域内旋转[图7（c）]，圆形区域和旋转速度由三个因素主导：微孔结构的大小、微流体的流速，以及与液体表面的距离。同样地，Zhang等[153]提出使用两个并行的微管，在它们之间产生一个漩涡。这样的漩涡有能力输出更大的驱动力，使半径在几微米到几百微米之间的粒子旋转。两个微管的流体流速越大，粒子的旋转速度

表4 使用流体动力场方法进行细胞旋转的相关文献

Authors	Method	Rotational DOF	Angular velocities ((°)·s ⁻¹)	Rotating object	Applications
Shelby et al. [19]	Recirculation flow in the micro-vortex	1	200	Mouse B-lymphocyte cells	Orientation control of single DNA molecules
Hashmi et al. [150]	Bubble-induced acoustic streaming	1	< 1 080	Silica particles	Drug and gene delivery
Hayakawa et al. [93]	Vibration-induced flow by three micropillars	3	Vertical: 3.5; focal: 63.7	Mouse oocytes	3D cell observation
Torino et al. [151]	Rotation caused by the speed difference between two sides	1	—	Yeast cells	3D shape imaging
Ozcelik et al. [17]	Sharp-edge-induced acoustic streaming	3	> 84 000	HeLa cells; <i>Caenorhabditis elegans</i>	Organism studies
Ahmed et al. [16]	Bubble-induced acoustic streaming	1	< 18 000	HeLa cells; <i>Caenorhabditis elegans</i>	Organism studies
Zhang et al. [153]	Swirling flow induced by two microtubules	1	Irregular: 343.77; regular: 171.88	Shrimp eggs; silica particles	Analysis of pressure and velocity distributions
Yalikun et al. [152]	Micro-rotational flow induced by flow at the orifice	3	3 600	Single pronuclear zygotes	Oocyte all-surfaces' imaging
Fuchiwaki et al. [154]	Vibration-induced flow by oscillating pipettes	3	Vertical: 34.8; focal: 188	Egg cell	Multi-axial rotation
Liu et al. [155]	Vibration-induced flow by pipette circular vibration	1	291.1	Mouse egg cell	3D cell observation
Feng et al. [149]	Sharp-edge-induced acoustic streaming	3	3 000	Swine oocytes	In-plane and out-of-plane rotational manipulation

越快。流体动力场诱导的细胞旋转与细胞形态密切相关；对于一个不规则的细胞，旋转扭矩随时间变化，导致旋转速度变化。

类似的功能也可以通过高频振荡获得。例如，一个连续振荡的圆柱体可以产生稳定的涡流，并捕获圆柱体附近的细胞。如图7(a)所示，Fuchiwaki等[154]用一个微吸管作为一个振荡圆柱体。在这种情况下，一旦细胞被圆柱体顶端附近的涡流捕获，该细胞将在一个固定点上围绕垂直轴稳定地旋转；而被圆柱体两侧产生的漩涡捕获的细胞将相应地围绕水平轴旋转。在此基础上，Liu等[161]进一步分析了输入电压、捕获面积和传输速度之间的关系，并成功地改善了由连续振荡的圆柱体诱导的细胞旋转的可控性。

此外，Hayakawa等[93]提出了一个带有三个微柱的开放型细胞旋转芯片[图7(d)]，其中振荡微柱成功地在中心区域诱导了合理的流动，并在焦平面 $[(63.7 \pm 4.0) (\text{°}) \cdot \text{s}^{-1}]$ 或垂直平面 $[(3.5 \pm 2.1) (\text{°}) \cdot \text{s}^{-1}]$ 旋转小鼠卵细胞。该方法允许在一个开放的芯片上观察3D细胞，使其适用于需要外部探头的访问。

3.5. 多细胞旋转

在过去的几十年里，各种类型的细胞旋转和重新定向的方法已经被开发出来，用于单细胞分析，其中一些也可以用于多细胞旋转。将流体动力场与外部驱动技术结合，可以产生一个强大的工具，用于旋转多个细胞。例如，流体动力可以使一群细胞在焦平面和垂直平面上以非常高的

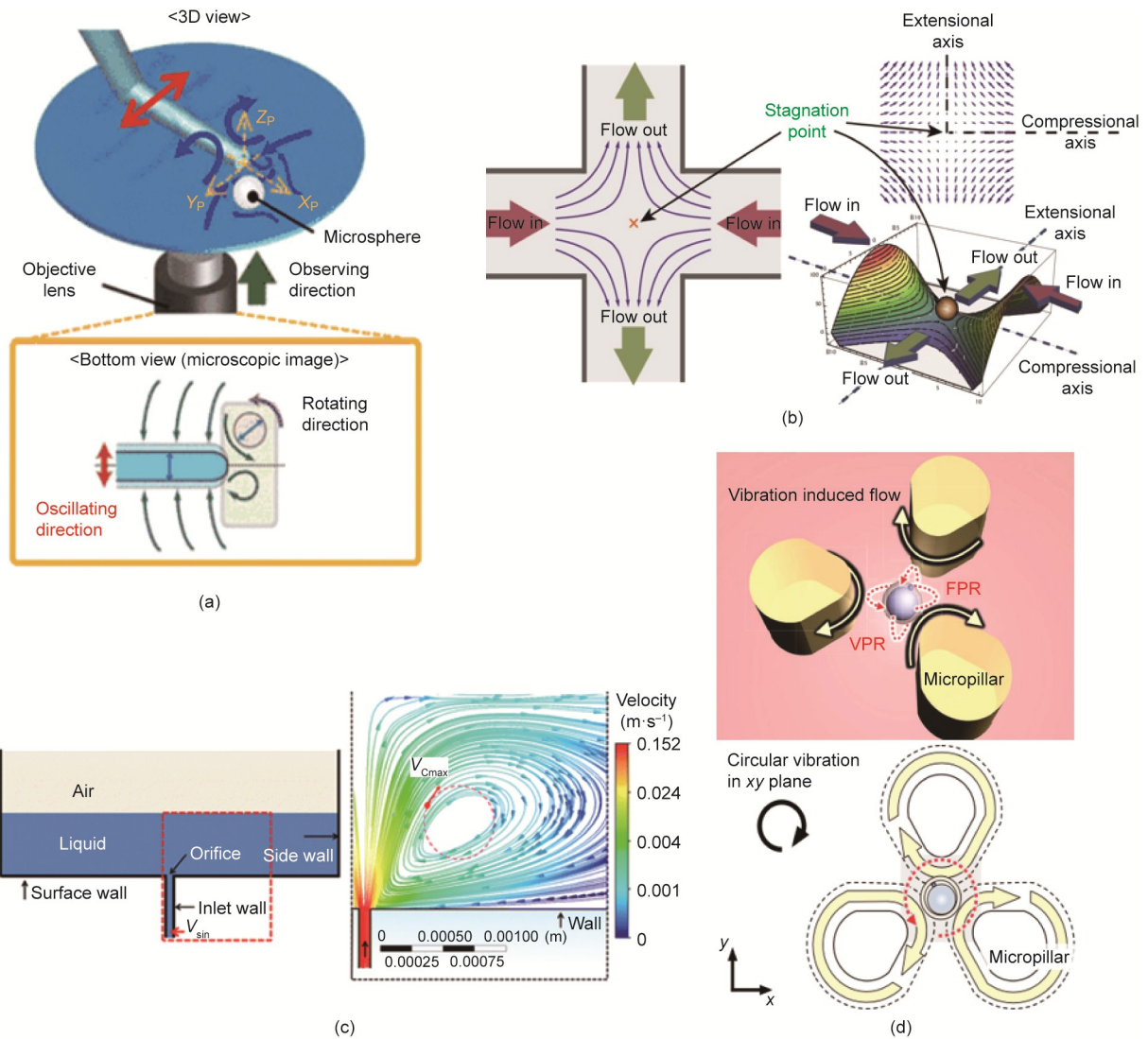


图7. 基于流体动力场的可控细胞旋转策略。(a) 微球垂直旋转的流动模式示意图；(b) 在两个垂直的微通道交界处的平面延伸流场产生一个水动力陷阱；(c) 2D仿真域示意图和再循环区的模拟结果；(d) 基于振荡诱导涡流的细胞旋转。 V_{sin} : 模拟的入口速度； V_{Cmax} : 通过模拟计算出的细胞-流体最大速度；FPR: 焦平面旋转；VPR: 垂直平面旋转。(a) 经 Springer Nature, ©2018 许可，转载自参考文献[154]；(b) 经 American Institute of Physics, ©2010 许可，转载自参考文献[157]；(c) 经 Springer Nature, ©2016 许可，转载自参考文献[18]；(d) 经 Springer Nature, ©2015 许可，转载自参考文献[93]。

速度 ($> 14000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 并行旋转, 特别是当流体动力与声场结合时。此外, 流体动力有能力在连续流动的过程中旋转非球形细胞[162], 如红细胞, 成功率为 $98.7\% \pm 0.3\%$ 。在机器人的帮助下, 流体动力旋转甚至可以在液滴中进行[93], 从而使开放空间中的应用成为可能, 如需要某些设施(如微管)才能进入旋转区域的细胞手术。然而, 上述方法的应用受限于旋转速度和旋转中心的不稳定性。漩涡对大量细胞的捕获和旋转也可以由微气泡[图 8 (a) [34]]或具有尖锐边缘的物体[如微吸管(图 8 (b) [154])的高频振荡引起。然而, 这两种控制方法都不稳定, 因为不同位置的细胞以不同的速度旋转; 特别是在前一种方法中, 微气泡的大小不同, 对细胞的旋转有很大影响。

与声学-流体动力学控制方法相比, 电旋转具有更好的空间分辨率 ($0.1\sim 1 \mu\text{m}$)。当在四极式电极上施加宽频范围 ($50\sim 30 \text{ MHz}$) 的 AC 电场时, 被旋转电场激活的细胞在与场强相对应的不同速度下表现出同场或反场旋转。该旋转机制已通过多种药物的复用和自动并行测试[163] [图 8 (c)], 被用于实现病原微生物抗生素敏感性的快速评估。然而, 很明显, 所有的样品在旋转电场中是随机分布的, 一些样品在旋转过程中可能会相互碰撞, 导致多细胞并行分析的失败。为了重新排列所有细胞, Soffe 等 [101] 研究发现, 当激励电压频率增加到大于 30 MHz 时, 细胞链被拉长, 细胞间的距离增加, 导致沿电场方向形成松散连接的细胞链[图 8 (d)]。因此研究人员就能够控制重新排列的细胞链外层上的细胞团的旋转。这种旋转运动可以通过调整所施加的正弦 AC 信号的频率和电压进行调制。在这种情况下, 尽管细胞不太可能相互碰撞, 但旋转速度在很大范围内变化, 并且只有外层的细胞可以旋转。考虑到这是最近报道的唯一成功的电场多细胞旋转的研究, 以及在 DEP 下大多数细胞的旋转运动是不可控的, 本文将电场方法标记为单细胞旋转技术, 如图 1 (a) 所示。

为了实现高效的多细胞分析, 控制技术必须具有同时重新排列和旋转细胞的能力。OT 可能有潜力满足这两个要求。这是因为一束激光可以通过计算机生成的全息图 [164] 被分割成多个组成部分, 这束激光可以完全控制每个单独光束的焦点位置; 每个被分割的光束作为一个“光学手指”发挥作用, 实现多个细胞的旋转。受控细胞的数量只受被分割的光束的数量的限制, 一般在 100 个左右。此外, 这些“光学手指”能够在所需的位置形成光学陷阱, 并重新安排一群细胞, 以避免单个细胞之间的碰撞, 从而有助于实现控制的高空间分辨率。然而, 到目前为

止, 关于使用多个激光束进行多细胞旋转的研究很少, 这可能是因为激光束会对细胞造成光学损伤。

4. 结论和展望

本文综述了基于非接触场或微型机器人的细胞重新定向和高速旋转的 6 类主要方法。表 5 总结了这些方法的优缺点 [4, 9, 16–17, 46–48, 52, 56–57, 67, 99–101, 118–120, 136, 152, 159–160, 165–166]; 选择一个合适的方法取决于应用的具体要求。

对于较小的细胞 (即大小为 $100 \mu\text{m}$ 以下的细胞), 要想精确地将其重新定向到一个特定的角度, 基于光场的方法是最合适的选择, 因为这些方法是非接触控制的。此外, 借助手术机器人系统和封闭式控制系统, 可以进一步提高细胞重新定向的可控性和精确度。为了尽量减少激光的直接照射, 降低对细胞的光损伤风险 (表 2), 可以采用基于激光的非直接方法或机械接触方法 (对于小于 $100 \mu\text{m}$ 的细胞) 来重新定向靶细胞的方向。对于基于磁性的方法, 只有一项研究曾报道过在一个全封闭的微管中成功实现了细胞定向, 但研究人员还没有通过实验在开放芯片上实现细胞分析。这种非侵入性的方法还不能用于细胞或其他样品的重新定向 [134], 还需要进一步对其进行探究。

旋转的细胞对细胞成像有优势, 因为在细胞观察过程中旋转的细胞呈现零盲点。流体动力场方法对于可控的细胞旋转来说非常适用, 因为它们不会造成不必要的物理或化学干扰。当使用流体动力时, 旋转速度变得越来越快, 旋转方向和旋转轴的可控性也变得越来越强。通过将流体动力场与声场整合在一起, 在微通道中形成声镊, 实现了多个样品的并行旋转; 这有可能加速大量样品旋转模式的成像和分析。粒子或生物样品的旋转模式根据其质量和形状等物理特征表现出一些差异, 但基于旋转模式观察的细胞分类尚未得到验证。

对于单细胞分析, 许多实验 [36, 107] 表明, 细胞的介电特性可以通过电镊来测量, 因为细胞的介电特性 (如电导率和介电常数) 与非均匀电场中的旋转速度和方向直接相关。电镊已经被用于开发旋转纳米电机 [167], 实现每小时高达 16 000 转的连续可调旋转。参考文献 [167] 中的研究也实现了对多个纳米电机的相同控制。然而, 对细胞的类似研究仍然停留在单细胞分析层面。对于多细胞旋转, 目前流行的方法仍然是流体动力场或声场方法, 这两种方法都缺乏精确控制细胞的能力, 只适合于多角度细胞成像。

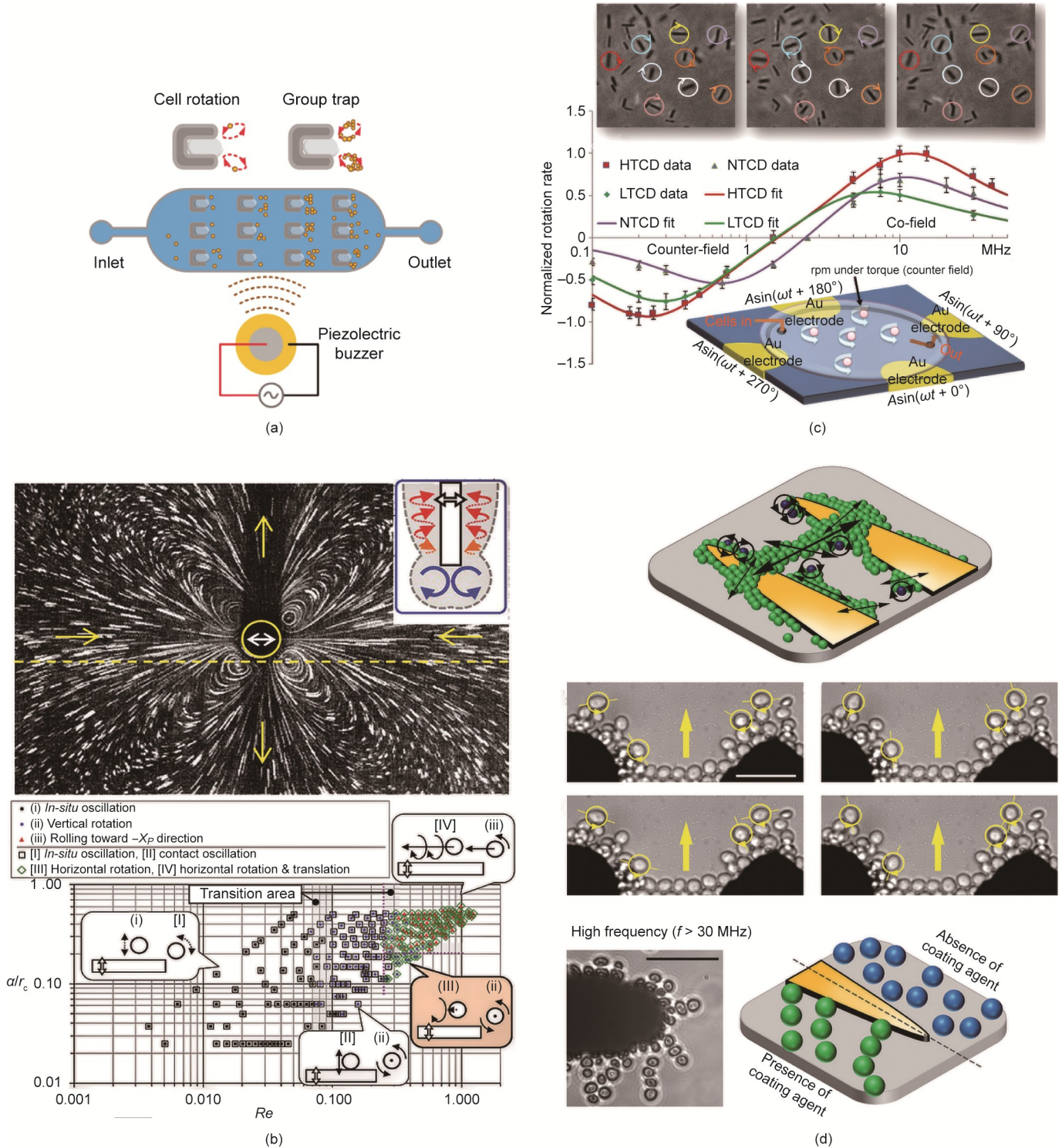


图 8. 由声学或流体动力学方法激活的多细胞旋转控制。(a) 在不同的时间点用四极式电极控制多细胞的旋转速度；(b) 微气泡诱导的多细胞旋转；(c) 位置依赖的多细胞旋转是由流体动力围绕微吸管得出的；(d) 在 DEP 的影响下，细胞群的局部运动。 α : 振荡幅度的一半； Re : 雷诺数； r_c : 圆柱体的半径。HTCD: 高致毒艰难梭菌 (*Clostridioides difficile*)；NTCD: 非致毒艰难梭菌；LTCD: 低致毒艰难梭菌。(a) 经 Biomedical Microdevices, ©2020 许可，转载自参考文献[34]；(b) 经 Springer Nature, ©2018 许可，转载自参考文献[154]；(c) 经 PMC, ©2019 许可，转载自参考文献[163]；(d) 经 American Chemical Society, ©2015 许可，转载自参考文献[101]。

本文总结了用于单细胞或多细胞旋转和定向的各种方法，但实现多细胞并行旋转的例子相对较少，可能是因为在特定的扭矩下精确旋转一群细胞。事实上，由于细

胞的旋转运动与细胞状态和某些生物物理特性有关，因此对这种技术有迫切的需求。迄今为止，基于 AC 电动力学的微流控平台和机器人辅助的多 OT 都是很有潜力的工

表5 粒子(包括生物和合成的)旋转方法

Approaches	Size range (μm)	Spatial resolution	Rotational DOF	Advantage	Disadvantage	Mechanisms (principles)	Additional system requirements
Optical field [9,56–57,67]	0.1–100	0.1–1 nm	1–3	Low noise; low drift; precise rotation	Expensive optics; sample invalidity; sample heating; weak force	Trapping force and torque	High-powered laser; high numerical aperture lens
Mechanical contact [4,46–48,52]	100–1000	0.01–1 μm	1–3	Precise reorientation; stable performance	Complex operation; low success rate; cell deformation; high risk of cell damage; complex system; modified tool fabrication is required	Mechanical contact	Micropipettes; micro gripper
Electric field [99–101]	0.001–1000	0.1–1 μm	1–3	Low cost; highly efficient; precise rotation	Potential electrochemical reactions	DEP force	AC electric signal
Magnetic field [118–120]	1–10	1–10 nm	1	Force-clamp; magnetic bead rotation; specific interactions	Cell pretreatment; contamination	Magnetic gradient field force	Permanent magnet; magnetic beads
Acoustic field [16–17,136]	0.1–1000	1–10 μm	1–3	Low cost; massive particle rotation; low number of injuries	Limited precise cell rotation; cell stimulation	Axial acoustic force	Acoustic source
Hydrodynamic field [152,159–160,165–166]	0.1–1100	1–10 μm	1–3	Low cost; simple operation; low number of injuries	Limited precise cell rotation	Hydrodynamic effects	Special structure; multi-pressure regulators; flow-control algorithms

具, 可以满足并行旋转控制要求。未来对这些方法的研究将是一项有趣的课题, 有助于有效加速对一群细胞的分析, 并根据其旋转特性区分异质细胞。

Acknowledgements

This work is supported by JSPS Grant-in-Aid for Scientific Research (20K15151), Australian Research Council Discovery Projects (DP200102269), JSPS Core-to-Core program, Amada Foundation, and White Rock Foundation.

Compliance with ethics guidelines

Tao Tang, Yoichiroh Hosokawa, Takeshi Hayakawa, Yo Tanaka, Weihua Li, Ming Li, and Yaxiaer Yalikun declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Habaza M, Kirschbaum M, Guernth-Marschner C, Dardikman G, Barnea I, Korenstein R, et al. Rapid 3D refractive-index imaging of live cells in suspension without labeling using dielectrophoretic cell rotation. *Adv Sci* 2017; 4(2):1600205.
- [2] Wollrab V, Thiagarajan R, Wald A, Kruse K, Riveline D. Still and rotating myosin clusters determine cytokinetic ring constriction. *Nat Commun* 2016; 7(1):11860.
- [3] Leung C, Lu Z, Zhang XP, Sun Y. Three-dimensional rotation of mouse embryos. *IEEE Trans Biomed Eng* 2012;59(4):1049–56.
- [4] Zhao Q, Sun M, Cui M, Yu J, Qin Y, Zhao X. Robotic cell rotation based on the minimum rotation force. *IEEE Trans Autom Sci Eng* 2015;12(4):1504–15.
- [5] Xie M, Shakoar A, Shen Y, Mills JK, Sun D. Out-of-plane rotation control of biological cells with a robot–tweezers manipulation system for orientation-based cell surgery. *IEEE Trans Biomed Eng* 2019;66(1):199–207.
- [6] Abu Ajamieh I, Benhabib B, Mills JK. Automatic system for the blastocyst embryo manipulation and rotation. *Ann Biomed Eng* 2020;48(1):426–36.
- [7] Huang L, Zhao P, Wang W. 3D cell electrorotation and imaging for measuring multiple cellular biophysical properties. *Lab Chip* 2018;18(16):2359–68.
- [8] Benhal P, Chase JG. System identification and stochastic estimation of dielectric properties of a spherical particle using AC-induced electro-rotation. In: *Proceedings of the 2015 20th International Conference on Process Control*; 2015 Jul 9–12; Strbske Pleso, Slovakia; 2015.
- [9] Carmon G, Feingold M. Rotation of single bacterial cells relative to the optical axis using optical tweezers. *Opt Lett* 2011;36(1):40–2.
- [10] Merola F, Miccio L, Memmolo P, Di Caprio G, Galli A, Puglisi R, et al. Digital holography as a method for 3D imaging and estimating the biovolume of motile cells. *Lab Chip* 2013;13(23):4512–6.
- [11] Hosseini SM, Moulavi F, Asgari V, Shirazi A, Abazari-Kia AH, Ghanaei HR, et al. Simple, fast, and efficient method of manual oocyte enucleation using a pulled Pasteur pipette. *Vitr Cell Dev Biol Anim* 2013;49:569–75.
- [12] Elbez R, McNaughton BH, Patel L, Pienta KJ, Kopelman R, Chan C. Nanoparticle induced cell magneto-rotation: monitoring morphology, stress and drug sensitivity of a suspended single cancer cell. *PLoS ONE* 2011; 6(12): e28475.
- [13] Lee K, Yi Y, Yu Y. Remote control of T cell activation using magnetic janus particles. *Angew Chem Int Ed Engl* 2016;55(26):7384–7.
- [14] Rohani A, Varhue W, Su YH, Swami NS. Electrical tweezer for highly parallelized electrorotation measurements over a wide frequency bandwidth. *Electrophoresis* 2014;35(12–13):1795–802.
- [15] Han SI, Joo YD, Han KH. An electrorotation technique for measuring the dielectric properties of cells with simultaneous use of negative quadrupolar dielectrophoresis and electrorotation. *Analyst* 2013;138(5):1529–37.
- [16] Ahmed D, Ozelik A, Bojanala N, Nama N, Upadhyay A, Chen Y, et al.

- Rotational manipulation of single cells and organisms using acoustic waves. *Nat Commun* 2016;7(1):11085.
- [17] Ozcelik A, Nama N, Huang PH, Kaynak M, McReynolds MR, Hanna-Rose W, et al. Acoustofluidic rotational manipulation of cells and organisms using oscillating solid structures. *Small* 2016;12(37):5120–5.
- [18] Yalikhun Y, Kanda Y, Morishima K. Hydrodynamic vertical rotation method for a single cell in an open space. *Microfluid Nanofluidics* 2016;20(5):74.
- [19] Shelby JP, Chiu DT. Controlled rotation of biological micro- and nano-particles in microvortices. *Lab Chip* 2004;4(3):168–70.
- [20] Rodrigo JA, Soto JM, Alieva T. Fast label-free microscopy technique for 3D dynamic quantitative imaging of living cells. *Biomed Opt Express* 2017;8(12):5507–17.
- [21] Umezawa K, Yoshida M, Kamiya M, Yamasoba T, Urano Y. Rational design of reversible fluorescent probes for live-cell imaging and quantification of fast glutathione dynamics. *Nat Chem* 2017;9(3):279–86.
- [22] Wang T, Chen J, Zhou T, Song L. Fabricating microstructures on glass for microfluidic chips by glass molding process. *Micromachines* 2018;9(6):1–15.
- [23] Zheng C, Zhao G, Liu W, Chen Y, Zhang Z, Jin L, et al. Three-dimensional super-resolved live cell imaging through polarized multi-angle TIRF. *Opt Lett* 2018;43(7):1423–6.
- [24] Fiolka R, Shao L, Rego EH, Davidson MW, Gustafsson MGL. Time-lapse two-color 3D imaging of live cells with doubled resolution using structured illumination. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(14):5311–5.
- [25] Läubli NF, Shamsudhin N, Vogler H, Munglani G, Grossniklaus U, Ahmed D, et al. 3D manipulation and imaging of plant cells using acoustically activated microbubbles. *Small Methods* 2019;3(3):1800527.
- [26] Habaza M, Gilboa B, Roichman Y, Shaked NT. Tomographic phase microscopy with 180° rotation of live cells in suspension by holographic optical tweezers. *Opt Lett* 2015;40(8):1881–4.
- [27] Kim K, Yoon J, Park YK. Optical diffraction tomography for simultaneous 3D visualization and tracking of optically trapped particles. In: *Proceedings of the Asia Communications and Photonics Conference 2015*; 2015 Nov 19–23; Hong Kong, China; 2015.
- [28] Cao B, Kelbauskas L, Chan S, Shetty RM, Smith D, Meldrum DR. Rotation of single live mammalian cells using dynamic holographic optical tweezers. *Opt Lasers Eng* 2017;92:70–5.
- [29] Zhang S, Gibson LJ, Stilgoe AB, Nieminen TA, Rubinsztein-Dunlop H. Measuring local properties inside a cell-mimicking structure using rotating optical tweezers. *J Biophotonics* 2019;12(7):e201900022.
- [30] Dai C, Zhang Z, Lu Y, Shan G, Wang X, Zhao Q, et al. Robotic manipulation of deformable cells for orientation control. *IEEE Trans Robot* 2020;36(1):271–83.
- [31] Zhao Y, Sun H, Sha X, Gu L, Zhan Z, Li WJ. A review of automated microinjection of zebrafish embryos. *Micromachines* 2018;10(1):E7.
- [32] Laffafian I, Hallett MB. Lipid-assisted microinjection: introducing material into the cytosol and membranes of small cells. *Biophys J* 1998;75(5):2558–63.
- [33] Tanner K, Mori H, Mroue R, Bruni-Cardoso A, Bissell MJ. Coherent angular motion in the establishment of multicellular architecture of glandular tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(6):1973–8.
- [34] Tang Q, Liang F, Huang L, Zhao P, Wang W. On-chip simultaneous rotation of large-scale cells by acoustically oscillating bubble array. *Biomed Microdevices* 2020;22(1):13.
- [35] Wu TH, Teslaa T, Kalim S, French CT, Moghadam S, Wall R, et al. Photothermal nanoblade for large cargo delivery into mammalian cells. *Anal Chem* 2011;83(4):1321–7.
- [36] Huang L, Zhao P, Liang F, Wang W. Single-cell 3D electro-rotation. *Methods Cell Biol* 2018;148:97–116.
- [37] Lebel P, Basu A, Oberstrass FC, Tretter EM, Bryant Z. Gold rotor bead tracking for high-speed measurements of DNA twist, torque and extension. *Nat Methods* 2014;11(4):456–62.
- [38] Xin Q, Li P, He Y, Shi C, Qiao Y, Bian X, et al. Magnetic tweezers for the mechanical research of DNA at the single molecule level. *Anal Methods* 2017; 9(39):5720–30.
- [39] Ding X, Lin SCS, Kiraly B, Yue H, Li S, Chiang IK, et al. On-chip manipulation of single microparticles, cells, and organisms using surface acoustic waves. *PNAS* 2012;109(28):11105–9.
- [40] Xie Y, Bachman H, Huang TJ. Acoustofluidic methods in cell analysis. *Trends Analyt Chem* 2019;117:280–90.
- [41] Tian Z, Yang S, Huang PH, Wang Z, Zhang P, Gu Y, et al. Wave number-spiral acoustic tweezers for dynamic and reconfigurable manipulation of particles and cells. *Sci Adv* 2019;5(5):u6062.
- [42] Kuncova J, Kallio P. Challenges in capillary pressure microinjection. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2004;2004:4998–5001.
- [43] Iritani A. Micromanipulation of gametes for *in vitro* assisted fertilization. *Mol Reprod Dev* 1991;28(2):199–207.
- [44] Ren D, Wang J, Wang B, You Z. Probes for biomolecules detection based on RET-enhanced fluorescence polarization. *Biosens Bioelectron* 2016;79:802–9.
- [45] Ren D, Xia Y, Wang B, You Z. Multiplexed analysis for anti-epidermal growth factor receptor tumor cell growth inhibition based on quantum dot probes. *Anal Chem* 2016;88(8):4318–27.
- [46] Wang Z, Feng C, Muruganandam R, Ang WT, Tan SYM, Latt WT. Three-dimensional cell rotation with fluidic flow-controlled cell manipulating device. *IEEE/ASME Trans Mechatron* 2016;21(4):1995–2003.
- [47] Wang Z, Feng C, Ang WT, Tan SYM, Latt WT. Autofocusing and polar body detection in automated cell manipulation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2017;64(5): 1099–105.
- [48] Ajamieh IA, Benhabib B, Mills JK. Automated system for cell manipulation and rotation. In: *Proceedings of the 2018 IEEE International Conference on Mechatronics and Automation*; 2018 Aug 5–8; Changchun, China; 2018.
- [49] Zhao C, Liu Y, Sun M, Zhao X. Robotic cell rotation based on optimal poking direction. *Micromachines* 2018;9(4):E141.
- [50] Wang Z, Latt WT, Tan SYM, Ang WT. Visual servoed three-dimensional cell rotation system. *IEEE Trans Biomed Eng* 2015;62(10):2498–507.
- [51] Zhuang S, Lin W, Zhong J, Zhang G, Li L, Qiu J, et al. Visual servoed three-dimensional rotation control in zebrafish larva heart microinjection system. *IEEE Trans Biomed Eng* 2018;65(1):64–73.
- [52] Aishan Y, Yalikhun Y, Funano SI, Shen Y, YoTanaka. Accurate rotation of ultrathin glass chamber for single-cell multidirectional observation. *Appl Phys Express* 2020;13:2.
- [53] Aishan Y, Yalikhun Y, Amaya S, Shen Y, Tanaka Y. Thin glass micro-dome structure based microlens fabricated by accurate thermal expansion of microcavities. *Appl Phys Lett* 2019;115(26):263501.
- [54] Tanaka Y. Electric actuating valves incorporated into an all glass-based microchip exploiting the flexibility of ultra thin glass. *RSC Adv* 2013;3(26): 10213–20.
- [55] Bochu W, Hucheng Z, Yiyao L, Yi J, Sakanishi A. The effects of alternative stress on the cell membrane deformability of chrysanthemum callus cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2001;20(4):321–5.
- [56] Ashkin A, Dziedzic J. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria. *Science* 1987;235(80):1517–20.
- [57] Ashkin A, Dziedzic JM, Bjorkholm JE, Chu S. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Opt Lett* 1986;11(5):288.
- [58] Omori R, Kobayashi T, Suzuki A. Observation of a single-beam gradient-force optical trap for dielectric particles in air. *Opt Lett* 1997;22(11):816–8.
- [59] Guck J, Ananthakrishnan R, Cunningham CC, Käs J. Stretching biological cells with light. *J Phys Condens Matter* 2002;14(19):311.
- [60] Neuman KC, Block SM. Optical trapping. *Rev Sci Instrum* 2004;75(9):2787–809.
- [61] Zhang H, Liu KK. Optical tweezers for single cells. *J R Soc Interface* 2008; 5(24):671–90.
- [62] Kim SB, Yoon SY, Sung HJ, Kim SS. Cross-type optical particle separation in a microchannel. *Anal Chem* 2008;80(7):2628–30.
- [63] Koch M, Rohrbach A. How to calibrate an object-adapted optical trap for force sensing and interferometric shape tracking of asymmetric structures. *Opt Express* 2014;22(21):25242–57.
- [64] Koch M, Rohrbach A. Object-adapted optical trapping and shape-tracking of energy-switching helical bacteria. *Nat Photonics* 2012;6(10):680–6.
- [65] Chen X, Xiao G, Han X, Xiong W, Luo H, Yao B. Observation of spin and orbital rotation of red blood cell in dual-beam fibre-optic trap with transverse offset. *J Opt* 2017;19(5):055612.
- [66] Chen X, Xiao G, Yang K, Xiong W, Luo H. Characteristics of the orbital rotation in dual-beam fiber-optic trap with transverse offset. *Opt Express* 2016; 24(15):16952–60.
- [67] Kolb T, Albert S, Haug M, Whyte G. Optofluidic rotation of living cells for single-cell tomography. *J Biophotonics* 2015;8(3):239–46.
- [68] Tatarikova SA, Carruthers AE, Dholakia K. One-dimensional optically bound arrays of microscopic particles. *Phys Rev Lett* 2002;89(28 Pt 1):283901.
- [69] Kreysing MK, Kießling T, Fritsch A, Dietrich C, Guck JR, Käs JA. The optical cell rotator. *Opt Express* 2008;16(21):16984–92.
- [70] Dasgupta R, Ahlawat S, Verma RS, Gupta PK. Optical orientation and rotation of trapped red blood cells with Laguerre–Gaussian mode. *Opt Express* 2011; 19(8):7680–9688.
- [71] Hosokawa Y, Hagiyaama M, Iino T, Murakami Y, Ito A. Noncontact estimation of intercellular breaking force using a femtosecond laser impulse quantified by atomic force microscopy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(5):1777–82.
- [72] Hosokawa Y. Applications of the femtosecond laser-induced impulse to cell

- research. *Jpn J Appl Phys* 2019;58(11):110102.
- [73] Koch MD, Shaevitz JW. Introduction to optical tweezers. *Methods Mol Biol* 2017;1486:3–24.
- [74] Xie M, Shakoor A, Wu C. Manipulation of biological cells using a robot-aided optical tweezers system. *Micromachines* 2018;9(5):245.
- [75] Xie M, Chen S, Mills JK, Wang Y, Liu Y, Sun D. Cell out-of-plane rotation control using a cell surgery robotic system equipped with optical tweezers manipulators. In: *Proceedings of the 2016 IEEE International Conference on Information and Automation*; 2016 Aug 1–3; Ningbo, China; 2016.
- [76] Wu MC. Optoelectronic tweezers. *Nat Photonics* 2011;5(6):322–4.
- [77] Chowdhury S, Thakur A, Wang C, Svec P, Losert W, Gupta SK. Automated indirect manipulation of irregular shaped cells with optical tweezers for studying collective cell migration. In: *Proceedings of the 2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2013 May 6–10; Karlsruhe, Germany; 2013.
- [78] Chowdhury S, Thakur A, Svec P, Wang C, Losert W, Gupta SK. Automated manipulation of biological cells using gripper formations controlled by optical tweezers. *IEEE Trans Autom Sci Eng* 2014;11(2):338–47.
- [79] Thakur A, Chowdhury S, Svec P, Wang C, Losert W, Gupta SK. Indirect pushing based automated micromanipulation of biological cells using optical tweezers. *Int J Rob Res* 2014;33(8):1098–111.
- [80] Cheah CC, Ta QM, Haghghi R. Grasping and manipulation of a micro-particle using multiple optical traps. *Automatica* 2016;68:216–27.
- [81] Lapotko DO, Zharov VP. Spectral evaluation of laser-induced cell damage with photothermal microscopy. *Lasers Surg Med* 2005;36(1):22–30.
- [82] Galli R, Ueckermann O, Andresen EF, Geiger KD, Koch E, Schackert G, et al. Intrinsic indicator of photodamage during label-free multiphoton microscopy of cells and tissues. *PLoS ONE* 2014;9(10):e110295.
- [83] Liu Y, Sonek GJ, Berns MW, Tromberg BJ. Physiological monitoring of optically trapped cells: assessing the effects of confinement by 1064-nm laser tweezers using microfluorometry. *Biophys J* 1996;71(4):2158–67.
- [84] Heymann PGB, Henkenius KSE, Ziebart T, Braun A, Hirthammer K, Halling F, et al. Modulation of tumor cell metabolism by laser phototherapy with cisplatin or zoledronic acid *in vitro*. *Anticancer Res* 2018;38(3):1291–301.
- [85] Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys* 1989;56(5):691–704.
- [86] Doukas AG, Flotte TJ. Physical characteristics and biological effects of laser-induced stress waves. *Ultrasound Med Biol* 1996;22(2):151–64.
- [87] Thomsen S. Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser–tissue interactions. *Photochem Photobiol* 1991;53(6):825–35.
- [88] Ye Z, Sitti M. Dynamic trapping and two-dimensional transport of swimming microorganisms using a rotating magnetic microrobot. *Lab Chip* 2014;14(13):2177–82.
- [89] Neuman KC, Nagy A. Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy. *Nat Methods* 2008;5(6):491–505.
- [90] Li X, Liu C, Chen S, Wang Y, Cheng SH, Sun D. *In vivo* manipulation of single biological cells with an optical tweezers-based manipulator and a disturbance compensation controller. *IEEE Trans Rob* 2017;33(5):1200–12.
- [91] Banerjee AG, Pomerance A, Losert W, Gupta SK. Developing a stochastic dynamic programming framework for optical tweezer-based automated particle transport operations. *IEEE Trans Autom Sci Eng* 2010;7(2):218–27.
- [92] Wu Y, Sun D, Huang W, Xi N. Dynamics analysis and motion planning for automated cell transportation with optical tweezers. *IEEE/ASME Trans Mechatron* 2013;18(2):706–13.
- [93] Hayakawa T, Sakuma S, Arai F. On-chip 3D rotation of oocyte based on a vibration-induced local whirling flow. *Microsyst Nanoeng* 2015;1(1):15001.
- [94] Yu Y, Shang L, Guo J, Wang J, Zhao Y. Design of capillary microfluidics for spinning cell-laden microfibers. *Nat Protoc* 2018;13(11):2557–79.
- [95] Fang Y, Eglén RM. Three-dimensional cell cultures in drug discovery and development. *SLAS Discov* 2017;22(5):456–72.
- [96] Conway JRW, Carragher NO, Timpson P. Developments in preclinical cancer imaging: innovating the discovery of therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2014;14(5):314–28.
- [97] Moreira L, Bakir B, Chatterji P, Dantes Z, Reichert M, Rustgi AK. Pancreas 3D organoids: current and future aspects as a research platform for personalized medicine in pancreatic cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018;5(3):289–98.
- [98] Idbaih A. Structural and functional intratumor heterogeneities in glioblastoma: a spacetime odyssey at single-cell level. *Ann Oncol* 2017;28(7):1415–7.
- [99] Cohen AE, Moerner WE. Method for trapping and manipulating nanoscale objects in solution. *Appl Phys Lett* 2005;86(9):093109.
- [100] Probst R, Shapiro B. Three-dimensional electrokinetic tweezing: device design, modeling, and control algorithms. *J Micromech Microeng* 2011;21(2):027004.
- [101] Soffe R, Tang SY, Baratchi S, Nahavandi S, Nasabi M, Cooper JM, et al. Controlled rotation and vibration of patterned cell clusters using dielectrophoresis. *Anal Chem* 2015;87(4):2389–95.
- [102] Chen YL, Jiang HR. Electrorotation of a metallic coated Janus particle under AC electric fields. *Appl Phys Lett* 2016;109(19):19–23.
- [103] Lannin T, Su WW, Gruber C, Cardle I, Huang C, Thege F, et al. Automated electrorotation shows electrokinetic separation of pancreatic cancer cells is robust to acquired chemotherapy resistance, serum starvation, and EMT. *Biomicrofluidics* 2016;10(6):064109.
- [104] Chow YN, Wan Rosli WI. Effects of young corn ear addition on nutritional composition and acceptability of conventional cake. *Malays J Nutr* 2014;20:93–9.
- [105] Chow YT, Man T, Acosta-Velez GF, Zhu X, Wen X, Chung PS, et al. Rapid fabrication of multifunctional microcapillary for four-dimensional single cell manipulation. In: *Proceedings of the 2018 IEEE Micro Electro Mechanical Systems*; 2018 Jan 21–25; Belfast, UK; 2018.
- [106] Chow YT, Man T, Acosta-Velez GF, Zhu X, Wen X, Chung PS, et al. Liquid metal-based multifunctional micropipette for 4D single cell manipulation. *Adv Sci* 2018;5(7):1700711.
- [107] Benhal P, Chase JG, Gaynor P, Oback B, Wang W. AC electric field induced dipole-based on-chip 3D cell rotation. *Lab Chip* 2014;14(15):2717–27.
- [108] Georgieva R, Neu B, Shilov VM, Knippel E, Budde A, Latza R, et al. Low frequency electrorotation of fixed red blood cells. *Biophys J* 1998;74(4):2114–20.
- [109] Hölzel R. Non-invasive determination of bacterial single cell properties by electrorotation. *BBA* 1999;1450(1):53–60.
- [110] Walid Rezanoor M, Dutta P. Combined AC electroosmosis and dielectrophoresis for controlled rotation of microparticles. *Biomicrofluidics* 2016;10(2):024101.
- [111] Zhao Y, Brcka J, Faguet J, Zhang G. Elucidating the mechanism governing cell rotation under DEP using the volumetric polarization and integration method. *Biomed Microdevices* 2018;20(3):81.
- [112] Benhal P, Chase G, Gaynor P, Oback B, Wang W. Multiple-cylindrical electrode system for rotational electric field generation in particle rotation applications. *Int J Adv Robot Syst* 2015;12(7):84.
- [113] Huang L, He W, Wang W. A cell electro-rotation micro-device using polarized cells as electrodes. *Electrophoresis* 2019;40(5):784–91.
- [114] Huang L, Tu L, Zeng X, Mi L, Li X, Wang W. Study of a microfluidic chip integrating single cell trap and 3D stable rotation manipulation. *Micromachines* 2016;7(8):E141.
- [115] Dalton C, Goater AD, Burt JPH, Smith HV. Analysis of parasites by electrorotation. *J Appl Microbiol* 2004;96(1):24–32.
- [116] Huang L, Liang F, Feng Y. A microfluidic chip for single-cell 3D rotation enabling self-adaptive spatial localization. *J Appl Phys* 2019;126(23):234702.
- [117] Feng Y, Huang L, Zhao P, Liang F, Wang W. A microfluidic device integrating impedance flow cytometry and electric impedance spectroscopy for high-efficiency single-cell electrical property measurement. *Anal Chem* 2019;91(23):15204–12.
- [118] Ebrahimi H, Giesguth M, Dietz KJ, Reiss G, Herth S. Magnetic tweezers for manipulation of magnetic particles in single cells. *Appl Phys Lett* 2014;104(6):063701.
- [119] Chen L, Offenhäusser A, Krause HJ. Magnetic tweezers with high permeability electromagnets for fast actuation of magnetic beads. *Rev Sci Instrum* 2015;86(4):044701.
- [120] Bausch AR, Möller W, Sackmann E. Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers. *Biophys J* 1999;76(1):573–9.
- [121] Khan MR, Trlica C, Dickey MD. Recapillarity: electrochemically controlled capillary withdrawal of a liquid metal alloy from microchannels. *Adv Funct Mater* 2015;25(5):671–8.
- [122] Romodina MN, Lyubin EV, Fedyanin AA. Detection of brownian torque in a magnetically-driven rotating microsystem. *Sci Rep* 2016;6(1):21212.
- [123] Pease C, Wijesinghe HS, Etheridge J, Pierce CJ, Sooryakumar R. Magnetic and hydrodynamic torques: dynamics of superparamagnetic bead doublets. *J Magn Mater* 2018;466:323–32.
- [124] Fomin VM, Smith EJ, Karnausenko DD, Makarov D, Schmidt OG. Asymmetric drag in oscillatory motion: ratchet effect without an asymmetric potential. *Phys Rev E Stat Nonlinear Soft Matter Phys* 2013;87(5):052122.
- [125] Tian Z, Ren D, You Z. Self-oscillation-based frequency tracking for the drive and detection of resonance magnetometers. *Sensors* 2016;16(5):744.
- [126] Lee JH, Kim JW, Levy M, Kao A, Noh SH, Bozovic D, et al. Magnetic nanoparticles for ultrafast mechanical control of inner ear hair cells. *ACS Nano* 2014;8(7):6590–8.

- [127] Dobson J. Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles. *Nat Nanotechnol* 2008;3(3):139–43.
- [128] Petit T, Zhang L, Peyer KE, Kratochvil BE, Nelson BJ. Selective trapping and manipulation of microscale objects using mobile microvortices. *Nano Lett* 2012;12(1):156–60.
- [129] Zhang L, Petit T, Peyer KE, Nelson BJ. Targeted cargo delivery using a rotating nickel nanowire. *Nanomedicine* 2012;8(7):1074–80.
- [130] Zhou Q, Petit T, Choi H, Nelson BJ, Zhang L. Dumbbell fluidic tweezers for dynamical trapping and selective transport of microobjects. *Adv Funct Mater* 2017;27(1):1604571.
- [131] Janssen XJA, Lipfert J, Jager T, Daudey R, Beekman J, Dekker NH. Electromagnetic torque tweezers: a versatile approach for measurement of single-molecule twist and torque. *Nano Lett* 2012;12(7):3634–9.
- [132] Van Oene MM, Ha S, Jager T, Lee M, Pedaci F, Lipfert J, et al. Quantifying the precision of single-molecule torque and twist measurements using allan variance. *Biophys J* 2018;114(8):1970–9.
- [133] Sarkar R, Rybenkov VV. A guide to magnetic tweezers and their applications. *Front Phys* 2016;4:48.
- [134] Berndt F, Shah G, Power RM, Brugués J, Huisken J. Dynamic and non-contact 3D sample rotation for microscopy. *Nat Commun* 2018;9(1):5025.
- [135] Wu JR. Acoustical tweezers. *J Acoust Soc Am* 1991;89(5):2140–3.
- [136] Ozcelik A, Rufo J, Guo F, Gu Y, Li P, Lata J, et al. Acoustic tweezers for the life sciences. *Nat Methods* 2018;15(12):1021–8.
- [137] Bernard I, Doinikov AA, Marmottant P, Rabaud D, Poulain C, Thibault P. Controlled rotation and translation of spherical particles or living cells by surface acoustic waves. *Lab Chip* 2017;17(14):2470–80.
- [138] Yu K, Wei X, Jiang Z, Lei Y, Zhang F. Surface acoustic wave (SAW)-induced particle rotation and aggregation in microdroplet. In: *Proceedings of the 2016 IEEE International Conference on Nano/Molecular Medicine and Engineering*; 2016 Oct 30–Nov 2; Macao, China; 2016.
- [139] Guo F, Li P, French JB, Mao Z, Zhao H, Li S, et al. Controlling cell–cell interactions using surface acoustic waves. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(1):43–8.
- [140] Lenshof A, Evander M, Laurell T, Nilsson J. Acoustofluidics 5: building microfluidic acoustic resonators. *Lab Chip* 2012;12(4):684–95.
- [141] Marzo A, Seah SA, Drinkwater BW, Sahoo DR, Long B, Subramanian S. Holographic acoustic elements for manipulation of levitated objects. *Nat Commun* 2015;6(1):8661.
- [142] Franklin A, Marzo A, Malkin R, Drinkwater BW. Three-dimensional ultrasonic trapping of micro-particles in water with a simple and compact two-element transducer. *Appl Phys Lett* 2017;111(9):094101.
- [143] Andrade MAB, Pérez N, Adamowski JC. Review of progress in acoustic levitation. *Braz J Phys* 2018;48(2):190–213.
- [144] Melde K, Mark AG, Qiu T, Fischer P. Holograms for acoustics. *Nature* 2016; 537(7621):518–22.
- [145] Muelas-Hurtado RD, Ealo JL, Pazos-Ospina JF, Volke-Sepúlveda K. Generation of multiple vortex beam by means of active diffraction gratings. *Appl Phys Lett* 2018;112(8):084101.
- [146] Li W, Ke M, Peng S, Liu F, Qiu C, Liu Z. Rotational manipulation by acoustic radiation torque of high-order vortex beams generated by an artificial structured plate. *Appl Phys Lett* 2018;113(5):051902.
- [147] Zhang SP, Lata J, Chen C, Mai J, Guo F, Tian Z, et al. Digital acoustofluidics enables contactless and programmable liquid handling. *Nat Commun* 2018;9(1): 2928.
- [148] Huang PH, Nama N, Mao Z, Li P, Rufo J, Chen Y, et al. A reliable and programmable acoustofluidic pump powered by oscillating sharp-edge structures. *Lab Chip* 2014;14(22):4319–23.
- [149] Feng L, Song B, Chen Y, Liang S, Dai Y, Zhou Q, et al. On-chip rotational manipulation of microbeads and oocytes using acoustic microstreaming generated by oscillating asymmetrical microstructures. *Biomicrofluidics* 2019; 13(6):064103.
- [150] Hashmi A, Yu G, Reilly-Collette M, Heiman G, Xu J. Oscillating bubbles: a versatile tool for lab on a chip applications. *Lab Chip* 2012;12(21):4216–27.
- [151] Torino S, Iodice M, Rendina I, Coppola G, Schonbrun E. A microfluidic approach for inducing cell rotation by means of hydrodynamic forces. *Sensors* 2016;16(8):E1326.
- [152] Yalikhun Y, Aishan Y, Mosh A, Sumiyama K, YoTanaka. Oocyte all-surfaces' imaging method using micro-scale rotational flow. *Micro Nano Lett* 2018;13(3): 306–11.
- [153] Zhang Q, Fan J, Aoyama H. Manipulation of particles based on swirl. *Jpn J Appl Phys* 2018;57(1):017202.
- [154] Fuchiwaki O, Tanaka Y, Notsu H, Hyakutake T. Multi-axial non-contact *in situ* micromanipulation by steady streaming around two oscillating cylinders on holonomic miniature robots. *Microfluid Nanofluid* 2018;22(8):80.
- [155] Liu X, Shi Q, Lin Y, Kojima M, Mae Y, Fukuda T, et al. Multifunctional noncontact micromanipulation using whirling flow generated by vibrating a single piezo actuator. *Small* 2019;15(5):1804421.
- [156] Zhao L, Zhang L, Ding Y. Analysis of micro-fluidic tweezers in the Stokes regime. *Phys Fluids* 2018;30(3):032006.
- [157] Tanyeri M, Johnson-Chavarria EM, Schroeder CM. Hydrodynamic trap for single particles and cells. *Appl Phys Lett* 2010;96(22):224101.
- [158] Tanyeri M, Ranka M, Sittipolkul N, Schroeder CM. A microfluidic-based hydrodynamic trap: design and implementation. *Lab Chip* 2011;11(10):1786–94.
- [159] Yalikhun Y, Akiyama Y, Hoshino T, Morishima K. A bio-manipulation method based on the hydrodynamic force of multiple microfluidic streams. *J Rob Mechatronics* 2013;25(4):611–8.
- [160] Yalikhun Y, Kanda Y, Morishima K. A method of three-dimensional micro-rotational flow generation for biological applications. *Micromachines* 2016; 7(8):E140.
- [161] Liu X, Shi Q, Lin Y, Kojima M, Mae Y, Huang Q, et al. Hydrodynamic tweezers: trapping and transportation in microscale using vortex induced by oscillation of a single piezoelectric actuator. *Sensors* 2018;18(7):E2002.
- [162] Jakobsson O, Antfolk M, Laurell T. Continuous flow two-dimensional acoustic orientation of nonspherical cells. *Anal Chem* 2014;86(12):6111–4.
- [163] Rohani A, Moore JH, Su YH, Stagnaro V, Warren C, Swami NS. Single-cell electro-phenotyping for rapid assessment of *Clostridium difficile* heterogeneity under vancomycin treatment at sub-MIC (minimum inhibitory concentration) levels. *Sens Actuators B Chem* 2018;276:472–80.
- [164] Curtis JE, Koss BA, Grier DG. Dynamic holographic optical tweezers. *Opt Commun* 2002;207(1–6):169–75.
- [165] Lutz BR, Chen J, Schwartz DT. Hydrodynamic tweezers: I. noncontact trapping of single cells using steady streaming microeddies. *Anal Chem* 2006; 78(15):5429–35.
- [166] Shetty RM, Myers JR, Sreenivasulu M, Teller W, Vela J, Houkal J, et al. Characterization and comparison of three microfabrication methods to generate out-of-plane microvortices for single cell rotation and 3D imaging. *J Micromech Microeng* 2017;27(1):015004.
- [167] Kim K, Xu X, Guo J, Fan DL. Ultrahigh-speed rotating nanoelectromechanical system devices assembled from nanoscale building blocks. *Nat Commun* 2014; 5(1):3632.