

**Universität  
Rostock**



Traditio et Innovatio

**NOVEL FIBER-BASED PROBE FOR LOCALISED OPTICAL STIMULATION  
AND ELECTROPHYSIOLOGICAL RECORDING IN OPTOGENETICS**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor - Ingenieur (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik

der Universität Rostock

---

vorgelegt von

Jelena Petrovic

geboren am 07.03.1990

in Brcko

aus

Rostock

---

Rostock, September 2022

# Abstract

---

Deep brain stimulation has provided remarkable benefits for people with a variety of neurologic conditions. Besides the advantages of electrical stimulation-based prostheses, a major limitation of these devices is the difficulty to locally constrain the electrical field to attain accurate and precise stimulation of preferably individual single cells. This reduces the device's efficacy and gives rise to potential side effects, such as unintended stimulation of non-targeted brain regions or stimulation of non-therapeutic cell types within the targeted tissue. Genetic modification of nerve cells with ion channels that are sensitive to light brought the promising new method of optogenetics into neuroscience. This unique neuromodulation technique allows optical control of genetically targeted specific neurons that express light sensitive proteins (opsins) integrated into the cell membrane. To achieve light delivery and simultaneous electrophysiological recording from the nervous system, scientists and engineers designed dual optical and electrical probes. The combination of optical and electrical elements in one single probe is referred to as an optrode.

Optrodes usually represent a combination of optical fiber or waveguide (as light guiding structure) and single or multiple microelectrodes that enable simultaneous light delivery and electrophysiological recording. Fiber-based optrodes are mostly assembled by gluing of flat cleaved optical fiber to one or multiple microelectrodes. In rare scenarios, tapered fibers are used as light delivery tools, while metal coatings serve as microelectrodes.

This thesis proposes a novel fabrication process for fiber-based optrodes consisting of tapered optical fiber with two or multiple deposited gold electrodes on its surface. Furthermore, design and construction of custom mechanical grinding setup, that enables fabrication of tapered fiber tips of good optical quality with various cone angles, represents an important part of this thesis. Detailed optical and electrical characterization of fabricated optrodes is also presented.

The fiber tip is formed by mechanical grinding and subsequent polishing of a cleaved optical fiber end using a custom-made setup consisting of a horizontal rotating grinding/polishing disc and a rotating optical fiber placed on an angular stage, enabling the fabrication of a tapered conical fiber tip with a wide range of cone angles. The influence of process parameters (e.g. rotation speed of grinding disc and fiber holder, processing time, and grit size of polishing discs) on quality of fabricated cone fiber tips is discussed in detail. Gold electrodes are deposited on the cylindrical fiber surface by magnetron sputtering through a shadow mask, aligned and fixed on custom-made fiber holder. In order to deposit multiple electrodes on the same optical fiber, a custom precision fiber rotation setup is used. Methods for improvement of electrode adhesion to fiber surface are also presented. To expose only a small portion of deposited electrodes in the tapered fiber region, heat shrink tube is applied. Finally, the optrode is assembled by establishment of electrical contacts between deposited electrodes and printed circuit board (PCB) using conductive silver epoxy. Coupling to a light source is achieved by butt coupling of flat cleaved optrode end to LED-coupled optical fiber.

Emission profiles of multiple fiber tip geometries are visualized by placing tapered fibers in a non-scattering medium (Rhodamine-6G solution). Green light was coupled into the optrode for the fluorescence excitation. Effect of cone angle of tapered fiber tip on emission profile is

discussed in detail. Application of an integrating sphere enabled investigation of cone angle effect on total transmitted light power. Detailed analysis of beam shape and illumination volume dependence on cone angle is achieved by obtaining beam profiles at various distances from fiber tip end.

Geometry of deposited microelectrodes is investigated using scanning electron microscope (SEM) and profilometry measurements. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) is applied as a tool for characterization of recording capability of deposited electrodes. The effect of the size of electrode area on impedance magnitude at 1 kHz and cut-off frequency is discussed in terms of electrode's recording capability.

**Keywords:** optogenetics, optrode, optical fiber, optical stimulation, electrical recording, tapered optical fibers

# Zusammenfassung

---

Die tiefe Hirnstimulation hat Menschen mit unterschiedlichen neurologischen Erkrankungen bemerkenswerte Vorteile gebracht. Neben den Vorteilen von auf Elektrostimulation basierenden Prothesen besteht eine Haupteinschränkung dieser Vorrichtungen in der Schwierigkeit, dass elektrische Feld lokal einzuschränken, um eine genaue und präzise Stimulation vorzugsweise einzelner Zellen zu erreichen. Dies verringert die Wirksamkeit des Geräts und führt zu potenziellen Nebenwirkungen, wie z. B. einer unbeabsichtigten Stimulation nicht betroffener Gehirnregionen oder einer Stimulation nicht therapeutischer Zelltypen innerhalb des Zielgewebes. Die genetische Veränderung von Nervenzellen zur Ausbildung lichtempfindlicher Ionenkanäle brachte die vielversprechende neue Methode der Optogenetik in die Neurowissenschaften. Diese einzigartige Neuromodulationstechnik ermöglicht die optische Kontrolle einzelner, genetisch modifizierter Neuronen. In die Zellmembran dieser Neuronen sind lichtempfindliche Proteine (Opsine) integriert. Um eine Lichtabgabe und gleichzeitige elektrophysiologische Aufzeichnung aus dem Nervensystem zu gewährleisten, haben Wissenschaftler und Ingenieure Kombinationen aus optischen und elektrischen Sonden entwickelt. Die Integration optischer und elektrischer Elemente in eine einzige Sonde wird als Optrode bezeichnet.

Optroden stellen normalerweise eine Kombination aus Glasfaser oder Wellenleiter (als Lichtleitstruktur) und einzelnen oder mehreren Mikroelektroden dar, die eine gleichzeitige Lichtabgabe und elektrophysiologische Aufzeichnung ermöglichen. Faserbasierte Optroden werden meist durch einfaches Kleben einer optischen Faser mit flachem Faserende auf eine oder mehrere Mikroelektroden aufgebaut. In seltenen Fällen werden sich verjüngende Fasern als Lichtübertragungswerkzeuge verwendet, während Metallbeschichtungen als Mikroelektroden dienen.

Diese Arbeit konzentriert sich auf die Erstellung eines Herstellungsprozesses einer faserbasierten Optrode, die aus einer sich verjüngenden optischen Faser mit zwei auf ihre Oberfläche abgeschiedenen Metallelektroden besteht. Darüber hinaus stellen das Design und die Konstruktion eines kundenspezifischen mechanischen Schleifaufbaus, der die Herstellung konischer Faserspitzen von optischer Qualität mit verschiedenen Konuswinkeln ermöglicht, einen wichtigen Teil dieser Arbeit dar. Eine detaillierte optische und elektrische Charakterisierung der hergestellten Optroden wird ebenfalls vorgestellt.

Die Faserspitze wird durch mechanisches Polieren eines des Endes einer optischen Faser unter Verwendung eines eigens entwickelten Aufbaus gebildet, der aus einer horizontal rotierenden Polierscheibe und einer geneigten rotierenden Faserhalterung besteht. Dies ermöglicht die Herstellung einer sich verjüngenden konischen Faserspitze mit unterschiedlichen Konuswinkeln. Der Einfluss von Prozessparametern (z.B. Rotationsgeschwindigkeit der Schleifscheibe und Faserhalterung, Bearbeitungszeit und Körnung der Polierscheiben) auf die Qualität der hergestellten Kegelfaserspitzen wird ausführlich diskutiert. Goldelektroden werden auf der zylindrischen Faseroberfläche durch eine Schattenmaske aufgebracht, indem diese zueinander ausgerichtet und auf einem maßgefertigten Faserhalter fixiert werden. Um mehrere Elektroden auf derselben optischen Faser herzustellen, wird ein eine weitere selbst entwickelte Vorrichtung zur präzisen Drehung der Faser verwendet. Verfahren zur Verbesserung der

Elektrodenhaftung an der Faseroberfläche werden ebenfalls vorgestellt. Um nur einen kleinen Teil der abgeschiedenen Elektroden im verjüngten Bereich freizulegen, wird ein Schrumpfschlauch angebracht. Abschließend wird die Optrode in eine Leiterplatte integriert zusammengebaut, indem elektrische Kontakte zwischen den aufgetragenen Elektroden und der Leiterplatte unter Verwendung von leitfähigem Silberepoxid hergestellt werden. Die Kopplung mit einer Lichtquelle wird durch Stoßkopplung des flachen Endes der Optrode mit einer fasergekoppelten LED erreicht.

Emissionsprofile unterschiedlicher Faserspitzengeometrien werden sichtbar gemacht, indem konische Fasern in ein nicht streuendes Medium (Rhodamin-6G-Lösung) gelegt werden. Zur Fluoreszenzanregung wurde grünes Licht in die Optrode eingekoppelt. Die Auswirkung des Konuswinkels der sich verjüngenden Faserspitze auf das Emissionsprofil wird im Detail diskutiert. Die Anwendung einer integrierenden Kugel ermöglichte die Untersuchung des Kegelwinkeleffekts auf die gesamte durchgelassene Lichtleistung. Eine detaillierte Analyse der Strahlform und der Abhängigkeit des Beleuchtungsvolumens vom Kegelwinkel wird erreicht, indem Strahlprofile in verschiedenen Abständen vom Ende der Faserspitze untersucht werden.

Die Geometrie abgeschiedener Mikroelektroden wird mit Rasterelektronenmikroskopie und Profilometriemessungen untersucht. Elektrochemische Impedanzspektroskopie wird als Werkzeug zur Charakterisierung der Aufzeichnungsfähigkeit von abgeschiedenen Elektroden angewendet. Die Auswirkung der Größe der Elektrodenfläche auf die Größe der Impedanz bei 1 kHz und die Grenzfrequenz wird im Hinblick auf die Aufzeichnungsfähigkeit der Elektrode diskutiert.

**Schlüsselwörter:** Optogenetik, Optrode, optische Faser, optische Stimulation, elektrische Aufzeichnung, konische optische Faser