

# 光阱阱位的观察与调节\*

李银妹 楼立人 姚 操传顺 丁 剑

(中国科技大学物理系 合肥 230026)

**提要** 分析了用于形成光阱的激光束腰与显微镜耦合时的成像规律, 根据镜面反射原理, 提出了用玻片来观察激光束腰, 判断光阱的位置, 并测量阱位相对物平面的偏离量的方法; 进一步运用高斯光束的透镜变换理论, 通过改变入射激光的束腰位置, 在实验上实现了光阱阱位的精细调节。

**关键词** 光阱, 阱位, 束腰, 位置

## 1 引 言

光阱(也称为光镊)是继光刀之后发展起来的一种新的激光生物技术。它利用会聚激光产生的梯度力, 可以无损伤地捕获细胞, 将其移动、翻转、定位, 从而可以在保持细胞正常生命活动的条件下对单个细胞进行研究。这一技术在生命科学的研究中有着广泛的应用前景。

实际的光阱装置大多以一台显微镜为基本设备, 将一束激光引入显微镜, 并通过其高数值孔径的显微物镜聚焦形成光阱<sup>[1]</sup>。该显微物镜既作为显微成像物镜, 又作为光阱(聚焦)物镜。然而在满足单光束梯度力光场捕获条件时, 阱位(即捕获点)通常不一定落在显微成像的物平面上。这是由于阱位不仅与系统的参数(如束腰的位置)有关, 而且与细胞样品的大小形状等参数有关。为了对捕获的细胞做清晰的观察, 从而进行精确操纵, 在光阱系统的实际操作中必须针对具体的研究对象, 对阱位进行适当的调节, 使之与物平面共面, 以达到理想的捕获与观察效果。

文献[2, 3]中采用几何光学近似, 给出了理想条件下(真空、无重力), 球状粒子被会聚高斯光束捕获的理论计算结果。设球半径为  $\rho$ , 球心到束腰的距离为  $Z$ 。在通常细胞折射率范围内, 阱位处于  $Z/\rho$  略大于 1 的地方。也即已知束腰的位置和细胞的大小, 便可判断阱位。通过对束腰的观察与调节, 便可实现对阱位的调节。然而对实际的光阱系统, 形成光阱的激光束是逆着显微镜的照明光路通过物镜射入的(见图 2), 因此束腰本身又

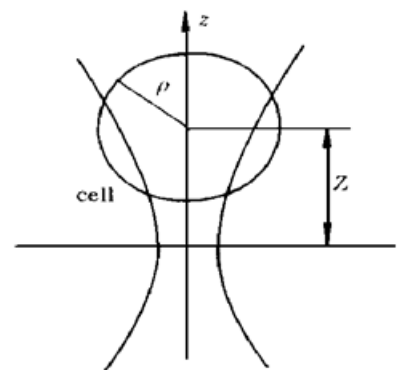


图 1 光阱位置与束腰位置的相对关系  
Fig. 1 The relation between the position of the laser trap and the position of the waist

\* 国家自然科学基金资助项目。

是无法直接观察的。

目前尚未见文献中有关阱位和束腰调节的实际操作方法的报道。本文给出了一种实际的操作方法,可以方便地解决阱位的确定和调节问题,对光阱技术的实际应用,无疑会有很大的推动作用。

## 2 实验装置和条件

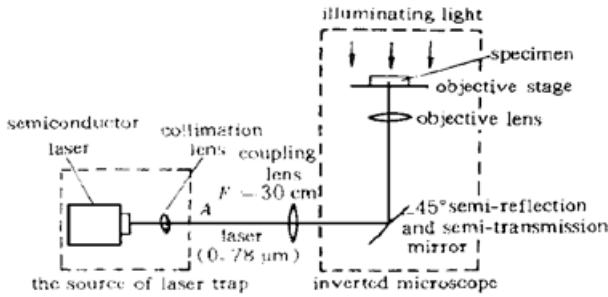


图 2 实验装置简图

Fig. 2 The schematic diagram of the experimental arrangement

图 2 为光阱装置示意图。光阱光源由半导体激光器和准直透镜组成。激光器输出波长 ( $\lambda$ ) 为  $0.78 \mu\text{m}$  的近红外光,输出功率为  $60 \text{ mW}$ 。光束经光学通道进入倒置显微镜,经  $NA = 0.6$  的长工作距物镜聚焦后形成光阱。样品是解离的水螅间细胞,直径为  $10 \sim 20 \mu\text{m}$ 。细胞悬浮在解离液中。载物台上使用的是标准载玻片和盖玻片。

## 3 阱位的确定

根据前面的分析,阱位可通过对束腰位置的观察来确定。虽然我们无法直接观察到,但经某一反射面的反射,将光束传播方向逆转,就可以看到束腰的反射像点。载物台上的玻片就提供了这样的反射面。

当玻片处在特定的位置时(玻片与物平面的间距  $d' = d/2$ , 其中  $d$  为束腰与物平面间的距离),束腰经玻片所成的镜像落在物平面上,我们就能够观察到此镜像(图 3)。当倒置显微镜的物镜上升时,如果先看到束腰的像,再看到玻片的表面,则束腰在物平面的上方(图 3(a));如果先看到玻片的表面,再看到束腰的像,则束腰在物平面的下方(图 3(b))。

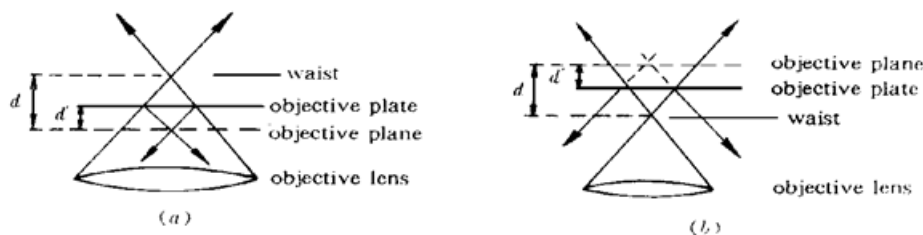


图 3 束腰成像原理

(a) 束腰在物平面的上方;(b) 束腰在物平面的下方

Fig. 3 The imaging of the waist

(a) the waist above the objective plane; (b) the waist under the objective plane

在实际操作时,要注意区别玻片上、下表面的反射像点。用反射镜代替玻片,很容易验证观察到的像点的来源。

图 3 为我们提供了测量束腰位置的方法。调节物镜,分别使载玻片上表面,以及该表面反射而成的束腰的像点清晰成像。测出两种情况下物镜移动的距离,便是  $d'$  的值。代入  $d = 2d'$ , 得到  $d$ 。对于直径为  $\rho$  的球状细胞,阱位便在物平面上方略大于  $\rho \pm d$  处(+ , - 分别对应于图

3(a) 和(b))。显然, 为了使阱位落在物平面上, 束腰应在下方(图 3(b)), 且使  $d$  略大于  $\rho$ 。之所以利用载玻片上表面做为成像面, 是因为细胞在重力作用下, 大多数下沉在载玻片的上表面。用这个面测量束腰的位置, 接近实际操作条件。

### 4 阱位的调节

阱位的调节, 可以通过改变束腰的位置来实现。通常光阱光源是基模激光, 它是高斯光束, 经过透镜变换后仍是高斯光束。

设  $w_{01}, w_{02}, z_1, z_2$  分别是变换前后激光的束腰半径及束腰到透镜的距离(图 4), 则有公式

$$w_{02}^2 = \frac{f^2 w_{01}^2}{(f - z_1)^2 + (\pi w_{01}^2 / \lambda)^2} \tag{1}$$

$$z_2 = \frac{f z_1 (f - z_1) - f (\pi w_{01}^2 / \lambda)^2}{(f - z_1) + (\pi w_{01}^2 / \lambda)^2} \tag{2}$$

其中,  $f$  为透镜焦距,  $\lambda$  为激光波长。

由(1), (2) 式可知, 改变  $z_1$  可以引起  $z_2$  的变化, 因此  $d$  也随  $z_1$  变化。实验中微调半导体激光器前的准直透镜与激光器的输出端之间的距离, 即可改变  $z_1$ , 从而改变了  $z_2$ 。也即达到了调节阱位的目的。

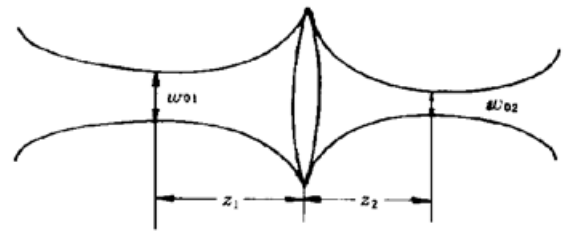


图 4 高斯光束的透镜变换

Fig. 4 The transform of the Gaussian beam through a lens

### 5 结果与讨论

表 1 给出了本系统中准直透镜位置  $\Delta X$  与  $d$  之间的变化关系, 实验中规定激光输出为理想准直光时的透镜位置为起始零点, 透镜沿光束传播方向平移时,  $\Delta X$  为正, 反之为负; 束腰在物平面上方  $d$  为正, 下方  $d$  为负。

表 1 准直透镜位置  $X$  与束腰位置  $d$  的关系

Table 1 The relation between the location of a collimating lens ( $X$ ) and the position of the waist ( $d$ )

$\Delta X / \mu\text{m}$	- 250	- 209	- 167	- 125	- 834	- 42	0
$d / \mu\text{m}$	31	20	18	0	- 24	- 32	- 45

表 1 中,  $d$  值的误差在  $\pm 4 \mu\text{m}$  之内。这是由于显微镜景深约为  $2 \mu\text{m}$ , 对成像是否清晰的判断存在着人为误差。因为测量时经过了两次成像, 故总误差约为  $\pm 4 \mu\text{m}$ 。

从表 1 可看出, 准直透镜沿着光束传播方向平移时, 束腰下降。因此, 利用准直透镜, 能够使束腰在物平面下方  $0 \sim 45 \mu\text{m}$  的范围内变化。这对于一般的细胞尺寸大小是足够了。

实验中实现了捕获位于物平面上的水螅间细胞, 捕获条件如表 2 所示。

对于直径为  $10 \mu\text{m}$  的水螅间细胞, 阱位在束腰下方  $18 \mu\text{m}$  处; 直径为  $20 \mu\text{m}$  的水螅间细胞, 阱位在束腰下方  $20 \mu\text{m}$  处。

然而, 理论结果是阱位在束腰的上方。这一差异, 在于理论计算时没有考虑细胞重力的作用, 而实验中, 水螅间细胞大多沉积在载玻片上, 这表明重力是不可忽略的。计及重力, 则阱位移向束腰下方。由于把阱位调节在物平面上, 因而束腰就在物平面上方。

表 2 捕获水螅间细胞的实验结果

Table 2 The experimental results of the trapping cell

cell diameter/ $\mu\text{m}$	$\Delta X / \mu\text{m}$ (experimental value)	$d / \mu\text{m}$ (experimental value)	$d / \mu\text{m}$ (theoretical value)
10	- 167	18	- 5
20	- 209	20	- 10

## 参 考 文 献

- 1 A. Ashikin, K. Schütze, J. M. Dziedzic *et al.*. Force generation of organelle transport measured *in vivo* by an infrared laser trap. *Nature*, 1990, **348**: 346~ 348
- 2 T. C. Bakker Schut, G. Hesselink, B. G. de Grooth *et al.*. Experimental and theoretical investigations on the validity of the geometrical optics model for calculating the stability of optical traps. *Cytometry*, 1991, **12**: 479~ 485
- 3 Han Zhenfu, Guo Guangcan. The rayleigh particles in single laser trapping. *J. China University of Science and Technology* (中国科学技术大学学报), 1991, **21**(2): 146~ 150 (in Chinese)

## The Observation and Adjustment of the Position of a Laser Trap

Li Yinmei Lou Liren Yao Yuan Cao Chuanshun Ding Jian

(Department of Physics, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

**Abstract** The adjustment of the position of the optical trap is of great importance for its practical application. In this paper, the imaging regularity of the laser waist through an inverted microscope is analysed. A method is advanced to observe the position of the waist and to measure its deviation ( $d$ ) from the objective plane with an object plate. Furthermore, based on the transformation of the Gaussian beam, the position of the laser trap can be easily adjusted by regulating the collimating lens for the semiconductor-laser (the source of the laser trap). This method is simple and adapts to various biological specimens.

**Key words** laser trap, trap position, waist, position