

文章编号: 0258-7025(2002)Supplement-0672-03

激光光镊中纳米位移 QD 法和 CCD 法测量装置

陈洪涛¹ 李银妹² 楼立人² 王浩威²

(¹ 中国科学技术大学选键化学开放实验室, 合肥 230026)
² 中国科学技术大学物理系, 合肥 230026)

摘要 在微米量级的光操控和测量的基础上, 建立起纳米位移的定量测量装置和方法。文中描述了一个简单的实验, 对这两种方法作了讨论。

关键词 光镊, 纳米位移, QD, CCD

中图分类号 Q631 **文献标识码** A

High Precision Measurements in Optical Tweezers

CHEN Hong-tao¹ LI Yin-mei² LOU Li-ren² WANG Hao-wei²

(¹ Open Lab. of Bond Selective Chemistry, USTC, Hefei 230026)
² Department of Physics, USTC, Hefei 230026)

Abstract Based on the micron precision manipulation and measurement of the optical tweezers, this new system that can make quantitative measurement of displacement with nanometer resolution. It is an eminent tool for manipulating biological specimens at the macromolecular level. This paper describes its technical properties, design, and does some discussion of these methods.

Key words optical tweezers, nanometer resolution, QD, CCD

1 引言

为研究单个生物大分子的动力学过程, 研制了一套光镊系统, 可进行纳米精度位移的定量测量, 在此基础上建立了皮牛力的测量。

将一路双光束光阱和两路高精度的观测系统合到一起。观测系统一路以四像限探测器(QD)为核心, 一路以 CCD 图像采集获取与处理为手段。样品位置由压电扫描平台和光镊精确控制, 以实现纳米量级操作控制。将生物大分子粘附在微米量级的小球上, 利用这个小球作为手柄, 可以观测和控制生物大分子。在 QD 探测方法中, 样品小球的水平移动是通过 QD 探测器观测到的光场变化来获得的, 可以获得毫秒量级的、纳米精度的样品位移。CCD 方法通过光学显微图像获取精确的位移信息。对序列图像进行交叉相关运算, 然后对相关运算后的序列图像进行质心计算, 质心就代表了样品的位置。一系列质心就精确地反映了样品像的运动。在纳米位移测量的基础上, 可以实现皮牛力的定量测量。QD 观测方式实时性好, 直观; CCD 方式结果依赖于

数据的后期处理, 探测精度高。

2 实验装置

实验装置如图 1 所示。系统分为两大部分: 操控部分和观测部分。操控部分包括半导体激光作为光镊光源; 采用正置式显微镜; 输出激光束经半波片后, 由偏振分束棱镜将其分为两束, 分别经过各自的光路, 然后再由偏振分束棱镜将两束光整合, 经透镜后引入显微镜, 在物平面附近形成双光阱; 其中一路光路中加入声光调制器, 以提供双光镊的小范围的相对移动; 显微镜平台上加载了一个压电扫描平台。观测部分包括 CCD 图像探测, 专业图像采集卡进行序列图像采集, 四像限探测器 QD 进行光场变化探测, 16 路隔离性 A/D 板进行 QD 信号采集。

3 方法分析

1) QD 法: 四像限探测器是由四个光电二极管组成。光电二极管通过积分电路连接起来, 以比较

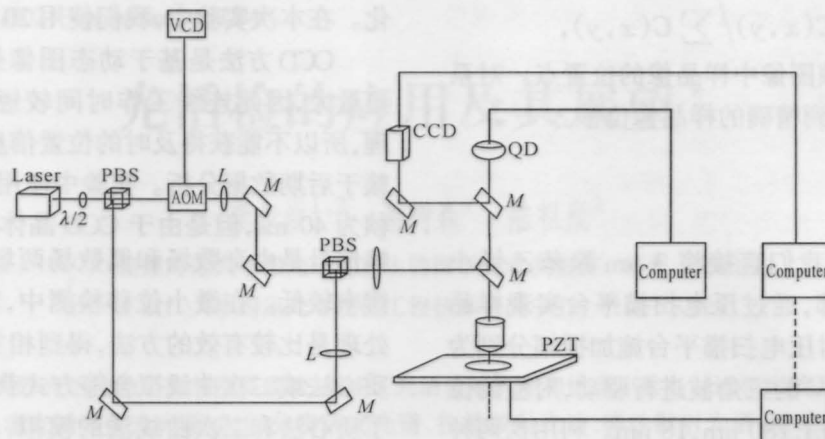


图 1
Fig. 1

每半个面的光场强度。通过位置判别电路将光电流信号转化成电压信号,在经过加减运算在输出端得到表示 X、Y 位置的电压信号。样品在光场中运动,引起了光场变动,就可以从 QD 得到代表样品位移和方向的输出信号。

2) CCD 法: CCD 方法是建立在动态图像分析的基础上。通过对所采集的光学显微图像序列进行分析,采用相关方法从图像中提取尽量多的位置信息,这样就可以从整个图像获取位置信息,比起仅仅利用孤立的点或者边缘获得的位置信息来,可以获得更加精确的位移,灵敏度可达到 0.01~0.05 个像素所代表的大小。

实验中采用 CCD 进行观测,通过采集卡进行图

像序列采集和数字化,得到 PAL 制式,每秒 25 帧,点阵 640×480,256 度灰度级的图像序列。每帧图像都是 640×480 的整数矩阵 $I(x, y)$, 矩阵元就是灰度值,代表了点 (x, y) 上的光场强度。选择某一帧中包含样品像的区域作为 kernel 矩阵。在本次数据分析中,选择了图像正中的 51×51 区域(这个区域可调整,标为 α, β)。用 kernel 矩阵和每一帧图像矩阵进行交叉相关运算,得到矩阵 $C(x, y)$, 公式为:

$$C(x, y) = \sum_{i=-\alpha/2}^{\alpha/2} \sum_{j=-\beta/2}^{\beta/2} I(x+i, y+j) \text{kernel}(i, j)$$

矩阵 $C(x, y)$ 中,产生尖锐峰值的地方正是光场最为匹配的区域。然后进行质心计算:

$$x_c = \frac{\sum xC(x, y)}{\sum C(x, y)}$$

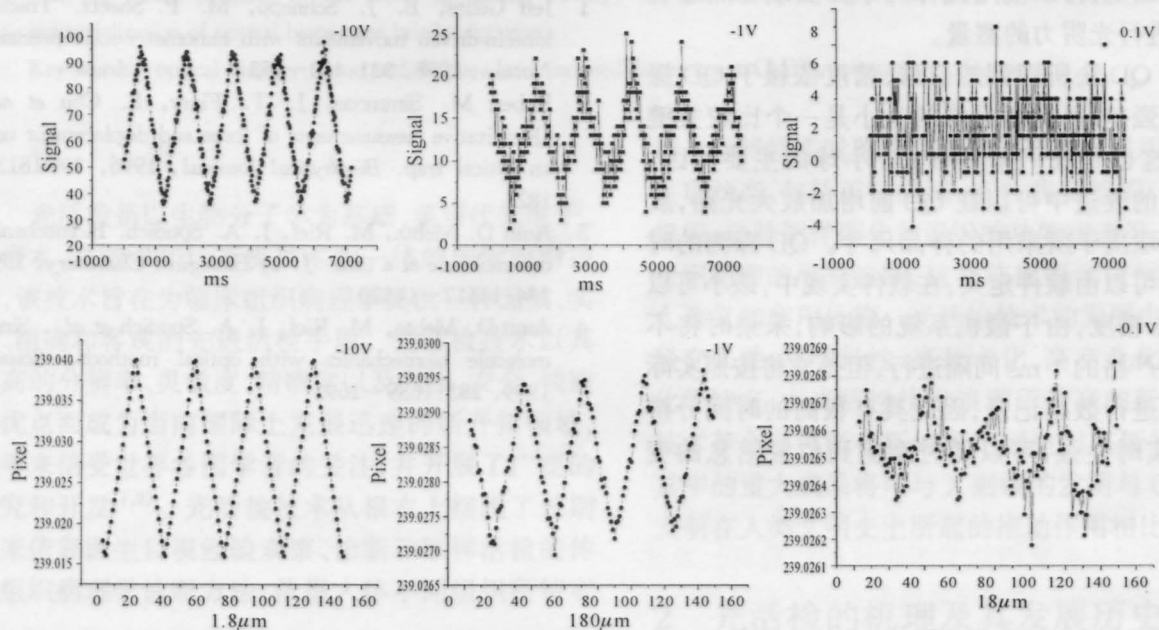


图 2
Fig. 2

$$y_c = \sum yC(x, y) / \sum C(x, y),$$

这个点被看作是帧图像中样品像的位置点。对系列图像运算,就能得到精确的样品像位移。

4 实验结果

在本次实验中,我们直接将 $3 \mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球粘附在样品池底部,通过压电扫描平台实现样品小球的精确移动。对压电扫描平台施加振幅分别为 -10 V , -1 V , 0.1 V 的三角波进行驱动,对应的位移振幅分别为 $1.8 \mu\text{m}$, 180 nm , 18 nm 。利用这两种方法,均可以观测到样品小球的位移。

在图 2 中,四像限探测器 QD 所探测到的位置信号(横坐标单位是毫秒;纵坐标单位为信号单位,是由 QD 采集到的电压信号按一定关系换算);CCD 图像分析所得到的位置信息(横坐标为帧单位;纵坐标为像素单位,因为经过相关处理,所以这个单位并不代表具体大小,而是表明相对关系)。

5 结果分析

由实验结果可以看出,使用 QD 法和 CCD 法均可以获得样品的精确位移。在小位移状态下,噪声等外界干扰源的影响就明显地体现了出来,位移曲线有一定偏差。在目前实验中,主要影响因素是压电扫描平台的非线性和电滞特性。在获得精确位移信息的基础上,可以使用流体力学方法或者热运动轨迹法,进行光阱力的测量。

对于 QD 法所探测的位移,精度依赖于 QD 探测面上光强差,因此样品像的大小是一个比较关键的因素,这也是我们采用 $3 \mu\text{m}$ 小球的主要原因。在进一步的改进中可以在 QD 前增加放大光路,放大倍数将取决于所采用的样品尺寸。QD 探测的时间分辨率可以由软件定义,在软件实现中,最小可以达到 1 ms 精度,由于微机系统的影响,采集时将不能够按照严格的 1 ms 间隔进行,但是它将按照实际采集时间进行数据记录,因此具有很高的时间分辨率,而且实时性强,可以随时观测到位置信息的变

化。在本次实验中,我们使用 20 ms 间隔进行测量。

CCD 方法是基于动态图像处理。它的数据采集量大,因此连续工作时间较短,不能进行实时处理,所以不能获得及时的位置信息,主要计算工作依赖于后期数据分析。实验中使用 PAL 制式采集,每帧为 40 ms ,但是由于 CCD 晶体的信号延迟以及每帧信号是由奇数场和偶数场两场组成,导致时间分辨率较低。在微小位移检测中,利用图像进行相关处理是比较有效的方法,得到相关图像后,可以利用质心法或二次曲线拟合等方式获得位置信息。进行了质心法和二次曲线法的模拟,发现在低噪声情况下,质心法的精度更高。在实际实验中,背景噪声等的影响还是非常明显的,因此还需要在图像处理的过程中建立滤波等方法,以进一步提高测量精度,该方法可以达到较高的精度。从图 2 可以看到,CCD 方法的探测精度可以达到纳米量级,比同样情况下的 QD 方法精度更高。

这两种方法均能够实现纳米级位移的测量。QD 法实时、直观,便于实时控制,而且具有很高的时间分辨率;而 CCD 方法具有探测精度高的特点。本系统结合这两种方法,可以实现纳米位移的定量测量,在此基础上可以建立皮牛力的测量体系。这样就能把微米精度的、细胞层次的操控与测量推进到纳米精度的生物大分子层次的研究工作中去。

参 考 文 献

- 1 Jeff Gelles, B. J. Schnapp, M. P. Sheetz. Tracking kinesin-driven movements with nanometer-scale precision. *Nature*, 1998, **331**:450~453
- 2 Robert M. Simmons, J. T. Finer, S. Chu *et al.*. Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap. *Biophysical Journal*, 1996, **70**: 1813 ~ 1822
- 3 Amit D. Mehta, M. Rief, J. A. Spudich. Biomechanics, one molecule at a time. *J. of Biological Chemistry*, 1999, **274**:14517~14520
- 4 Amit D. Mehta, M. Rief, J. A. Spudich *et al.*. Single-molecule biomechanics with optical methods. *Science*, 1999, **283**:1689~1695