

文章编号: 0258-7025(2010)06-1659-06

适用于微流控芯片颗粒分选的阵列光镊系统

周妍煌 李婧方 任有健 胡晓明 李 勤

(北京理工大学生命学院生物医学工程系, 北京 100081)

摘要 介绍了基于双平板剪切干涉的阵列光镊系统的基本原理以及采用微流控芯片制备技术制作阵列光镊样品池的方法,并通过实验验证了阵列光镊系统可以有效实现颗粒捕获和移动的功能。双平板剪切干涉法利用多光束干涉原理,可实现高亮度、边缘清晰的明暗条纹,确保捕获颗粒所需的光学梯度力;条纹的周期易于调节,具有较大的灵活性。采用基于化学刻蚀法的玻璃微流控芯片制作方法具有较好的光学性能、力学性能和电绝缘性,且玻璃芯片对蛋白的吸附较小,适合细胞以及蛋白质等生物大分子的实验。阵列光镊与微流控芯片分析技术结合,可发挥样品用量少、效率高等优点,有望成为微纳尺度分析技术中的重要手段。

关键词 生物光学;阵列光镊;微流控芯片;颗粒捕获;颗粒分选

中图分类号 Q63;TN249 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20103706.1659

Optical Tweezers Array Based on Double-Plate Shearing Interference for Microfluidic Particle Sorter

Zhou Yanhuang Li Jingfang Ren Youjian Hu Xiaoming Li Qin

(Department of Biomedical Engineering, School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract The principle of optical tweezers array based on double-plate shearing interference and the particle separation chip by microfluidic fabrication method is introduced. The function of particle trapping and separation of the optical tweezers array is verified by the experiments. According to the principle of multi-beam light interference, double-plate shearing interference can produce stripes with high brightness and sharp edge to insure the gradient force applied to the trapped particles. The high flexibility of the system is benefited from the easy adjustment of stripe period. The microfluidic chip made by glass is fabricated by chemical etching, with good optical property, mechanical strength and electricity insulation. And the glass microfluidic chip is suitable for the samples of cell and macromolecules, such as protein, because of weak adsorption of protein. Taking advantage of fewer sample consumption and higher efficiency, the combination of optical tweezers array with microfluidic chip could be one of important tools for micro-nano scale analytical technology in the near future.

Key words biological optics; optical tweezers array; microfluidic chip; particle trapping; particle separation

1 引 言

1986年 A. Ashkin 等^[1]利用单光束形成的三维势阱成功捕获微小颗粒,开启了光镊技术在生命科学中应用的大门。自此之后,光镊技术飞速发展,

已经成为生物学、物理学等领域重要的应用工具,用于微小颗粒的操控和微小力的测量等方面^[2],是进行微纳尺度分析的一种重要研究手段。

由于单光镊通常只能捕获一个微粒,对于多个

收稿日期: 2009-09-28; 收到修改稿日期: 2009-11-25

基金项目: 国家自然科学基金(20505002),北京市优秀人才培养资助计划(20071D1600300394)和教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-08-0048)资助课题。

作者简介: 周妍煌(1986—),女,硕士研究生,主要从事阵列光镊和微流控芯片等方面的研究。

E-mail: zhouyanhuang@bit.edu.cn

导师简介: 李 勤(1970—),女,博士,副教授,主要从事生物医学光子学及生物医学图像处理等方面的研究。

E-mail: liqin@bit.edu.cn(通信联系人)

微粒的操作需要采用多光镊技术。如果需要对大量的微粒进行捕获,则需要由阵列光镊来实现。因此,阵列光镊的研发在近 10 年来成为光镊技术中的重要方向之一。可形成阵列光镊的方法包括利用光学分光方法控制激光照射时间的分时复用法^[3,4];利用空间光调制器调制激光束的衍射光学法^[5];利用多种干涉原理形成多光束干涉的干涉光束法^[6];利用垂直腔面发射激光器直接形成光镊点阵的垂直腔面发射激光器法^[7];利用光纤束耦合激光形成光镊阵列的光纤束法^[8]等。阵列光镊能够实现对大量微粒的同时捕获,捕获的数量与阵列光镊的点阵数量直接相关。同时,根据对单光镊的研究可知,光镊对颗粒的捕获主要依赖于光镊的功率密度和被捕获颗粒的尺度、折射率等物理参数,无需对颗粒进行荧光标记或染色。因此,阵列光镊可用于细胞等样品的分选,特别适用于不适合流式细胞仪分选或稀少且珍贵的样品。通过调节阵列光镊的光斑尺度,可用于不同尺度生物颗粒的分选,如干细胞、血细胞及细胞器等,甚至可以分离某些蛋白质, DNA 等生物微小颗粒^[9~12]。由于分选过程没有对样品进行标记,可以对收集的样品进一步培养和研究,这一特点对生物学基础研究意义重大。通过阵列光镊分选细胞还可因光的力学效应阻止细胞相互靠近,在某种程度上解决细胞的相互粘连问题。

本文主要研究基于双平板剪切干涉形成阵列光镊的方法,并采用微流控芯片制备技术设计、制作用于颗粒分选的样品池,发挥两者在微纳尺度分析中的优势。目前已基本完成阵列光镊装置的搭建,并实现了在微流控芯片上对聚苯乙烯微粒的捕获和移动,有可能实现细胞的分选。

2 实验原理

2.1 阵列光镊的形成

阵列光镊根据多光束干涉原理,采用双平板剪切干涉法形成干涉条纹。通过调节干涉场明暗条纹的宽度、光强,满足颗粒的捕获条件即可实现颗粒的捕获。图 1 为双平板剪切干涉原理示意图。实验装置为两块光学平板,其中一块是半反半透平板,另一块是高度反射平板,两块平板之间的夹角为 β 。光束以入射角 θ 入射,在干涉域内形成捕获区域。若被透镜汇聚可使干涉条纹更加锐利,确保捕获颗粒所需梯度力。

根据双平板剪切干涉法原理,条纹宽度 x 与两平板夹角 β 的关系为

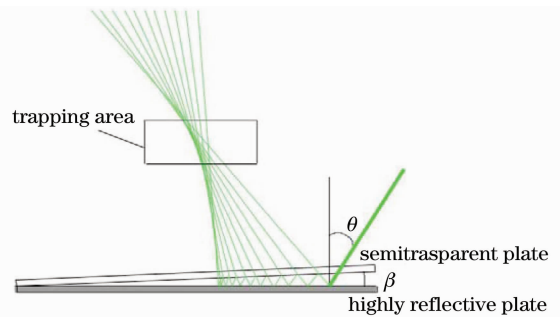


图 1 多光束干涉原理示意图

Fig. 1 Principle of multi-beam interference

$$x = \frac{\lambda}{2n\beta}, \quad (1)$$

式中 λ 为激光波长, n 为两平板之间介质的折射率,通常为空气的折射率。由(1)式可知,调节 β 的大小可实现条纹干涉周期的调整,控制明暗条纹的宽度,从而控制有效光学面积内干涉条纹的数量,即阵列光镊的数量。此方法最大的优势在于比较容易实现高亮度且边缘清晰的明暗条纹,可确保捕获颗粒所需的光学梯度力^[13]。

图 2 为基于双平板剪切干涉的阵列光镊原理图,其中包括两套双平板剪切干涉装置,分别从样品池上下两侧形成干涉场。激光输出后经分光装置分成均等的两束,一束经反射镜 R_1 照射到样品池上方的双平板剪切干涉装置,形成 x 方向干涉条纹;另一束经反射镜 R_2 照射到样品池下方的双平板剪切干涉装置,形成 y 方向干涉条纹。调节两个方向干涉条纹的夹角,可以在样品池内形成光镊点阵。将反射镜 R_1 和 R_2 由振镜代替,即可实现干涉条纹的移动。 x 方向和 y 方向干涉条纹通过计算机软件控制,既可以单独移动,分别实现颗粒的捕获,也可以同步移动,实现光镊点阵的移动。CCD 用于观察颗粒的现象。

2.2 颗粒分选原理

根据多光束干涉的基本原理,对干涉所形成的阵列光镊进行力学效应分析及仿真^[14]。结果显示,当颗粒在 x 方向干涉条纹作用下受到大小为 F_{grad} 的光梯度力作用开始向光强最强的位置移动时,还受到溶液粘滞阻力 F_{stocks} 的作用。若干涉条纹以速度 v 移动,则被捕获受到的粘滞阻力包含两部分。一部分由系统初始驱动速度 v 决定,大小为 $6\pi r\eta v$;另一部分是由光镊刚度引起颗粒速度的微小变化所产生的粘滞阻力。设定光镊刚度为 k ,颗粒偏离干涉条纹中心的位移为 x' ,则光镊刚度引起的粘滞阻力为 kx' 。因此,被捕获颗粒在分选过程中受到的

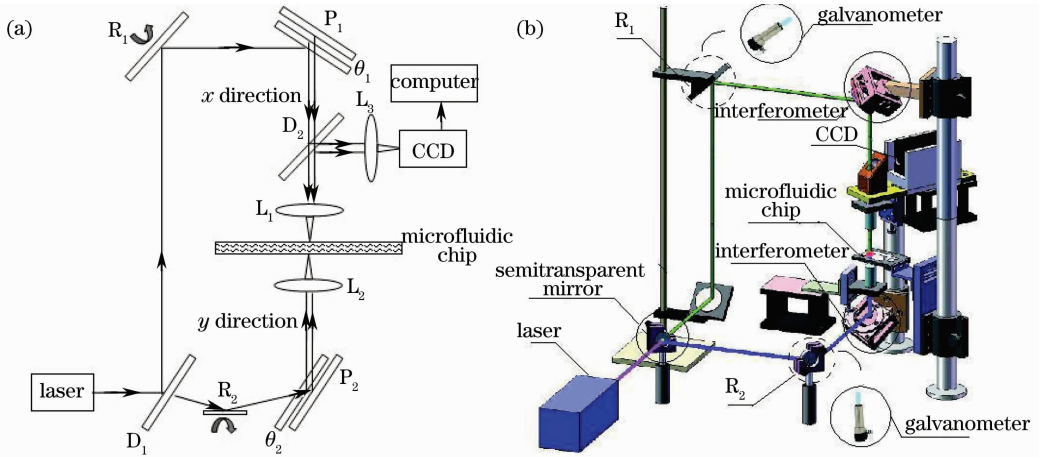


图 2 基于双平板剪切干涉的阵列光镊原理图。(a) 光路原理图；(b) 结构示意图

Fig. 2 Principle of optical tweezers array based on double-plate shearing interference. (a) schematics of principle; (b) schematics of structure

力 F_x 可表示为

$$F_x = \frac{8\pi^2 r^3}{3x_0} \alpha I_1 \sqrt{\frac{\mu}{\epsilon}} \sin\left(\frac{2\pi x}{x_0}\right) - 6\pi r \eta v - kx', \quad (2)$$

式中 r 为颗粒半径, x_0 为作用于颗粒的干涉条纹周期, $\alpha = 3n_m^2 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}$ 是特殊极化系数, $m = n_p/n_m$ 是相对折射率, n_p 和 n_m 分别为颗粒和周围介质的折射率, I_1 为颗粒表面接收到的激光强度, ϵ 为介电常数, μ 为磁导率, η 为液体粘滞系数, v 为光镊驱动颗粒的移动速度(假设为匀速运动)。(2)式中第一项为颗粒受到的梯度力,第二项和第三项构成粘滞

阻力。

由(2)式可知,调节激光器的输出光强和干涉条纹的周期,即可实现对一定尺度颗粒的捕获并以一定速度移动。两个双平板剪切干涉装置形成的干涉场分别由位于样品池两侧的两个显微物镜汇聚到样品池的分选通道中(图3)。驱动振镜可移动条纹,在分选通道内往复运动形成一个扫描过程。被捕获的颗粒就被不断“扫”到收集通道中,实现颗粒的分选。 x, y 两个干涉场既可独立工作,分选不同尺度的颗粒,也可以汇聚在同一个平面内,以光镊点阵方式工作,颗粒捕获的准确度会更高。

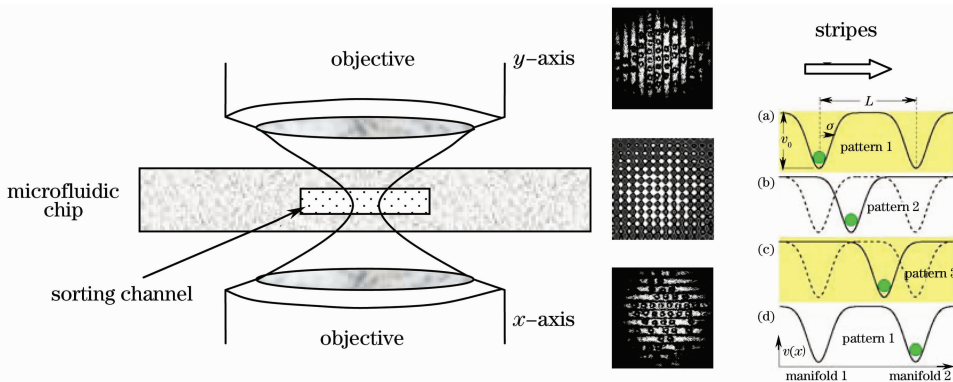


图 3 阵列光镊颗粒分选原理示意图

Fig. 3 Principle of particle sorting by optical tweezers array

2.3 样品池设计原理

阵列光镊用于捕获颗粒并进行分选,样品池是实现这一任务的核心部件。根据颗粒运动的相关参数设计样品池形状,并采用制备微流控芯片的方法制作样品池。微流控芯片分析技术是目前生命科学和分析化学研究领域内的研究热点^[15,16]。随着微电子加工技术的快速发展,微全分析系统(μ -TAS)

或 Lab-on-a-Chip 这个新的研究领域已相当活跃。最初由瑞士 Manz 等^[17]提出的 μ -TAS 已被应用于毛细管电泳与流动注射分析等方面。随着该技术的进一步发展,微流控芯片还被应用于高速 DNA 测序,多聚酶链式反应(PCR)扩增,多通道毛细管电泳等^[18]。微流控芯片具有分离效率高、分析速度快、分离模式多、所需样品少、应用范围广及自动化程度

高等优点。将阵列光镊技术应用于微流控芯片分析系统进行颗粒分选,可以发挥两者的优势,减少样品处理环节,降低样品的用量,提高实验的准确性。

用于阵列光镊的样品池主要组成结构应包括:待分选颗粒入口、缓冲溶液入口、已分选颗粒出口、废液出口和捕获及分选区域。采用微流控芯片制备技术,设计制作了 X 型样品池(图 4)。将阵列光镊

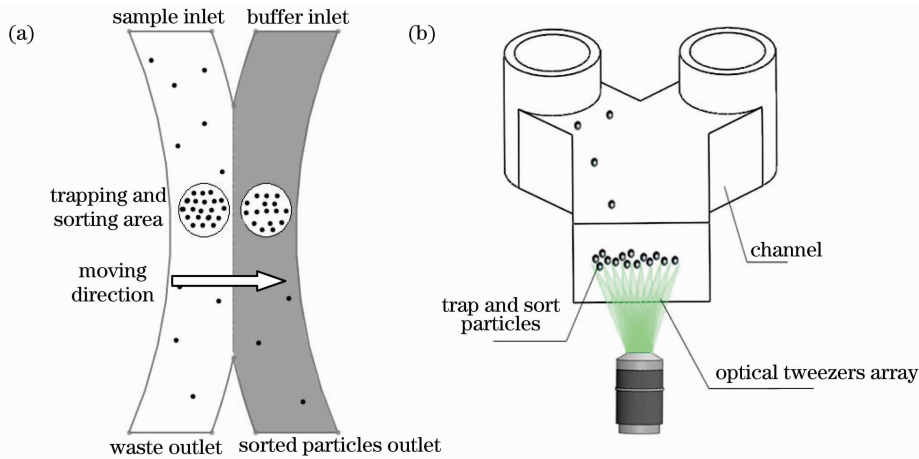


图 4 X 型阵列光镊样品池和颗粒分选原理图。(a) X 型阵列光镊样品池;(b)将阵列光镊聚焦到微流控芯片的通道中进行颗粒分选的原理图

Fig. 4 X-pattern microfluidic chip and particle sorting. (a) X-pattern microfluidic chip; (b) principle of applying optical tweezers array to microfluidic chip

3 实验装置

3.1 阵列光镊系统

根据阵列光镊原理图,搭建二维阵列光镊系统。该系统主要结构包括光源、扩束分光机构、光束转折机构、双平板剪切干涉装置和聚焦成像机构[图 2(b)]。其中光源采用输出波长 532 nm,总输出功率为 1 W 的半导体抽运固体激光器;两套双平板剪切干涉装置中采用 New Focus 公司的 8807 压电陶瓷微调机构,控制双平板之间的夹角,控制精度可以达到 $0.7 \mu\text{rad}$ 。将图 2 中的反射镜 R_1 和 R_2 用振镜代替,采用美国 Cambridge Technology 公司生产的 6210H 型激光扫描检流计。

3.2 样品池加工

样品池加工采用微流控芯片通道制备技术。微流控芯片通道加工的方法有很多,包括模塑法、热压法、激光切蚀法及激光直写加工法等。本实验采用的是基于化学刻蚀法的玻璃微流控芯片制作方法。选择玻璃材质芯片的理由在于:材料容易获得,光学性能、力学性能和电绝缘性良好,且制作设备与传统的集成电路(IC)工艺设备兼容性好,容易获得微细完美的沟道。玻璃芯片对蛋白的吸附较小,因此更

的光斑[图 4(a)]聚焦到微流控芯片的通道中[图 4(b)]。因通道内的液体为层流状态,通过调节液体流速可实现颗粒样品、缓冲液之间不会发生混合。满足分选条件的颗粒将被捕获,向右移动阵列光镊可将其送入缓冲液通道中,从已分选颗粒出口流入收集容器中。

加适合细胞以及蛋白质等生物大分子的实验。

根据化学刻蚀法制作的三种微流控芯片样品池实物如图 5 所示。

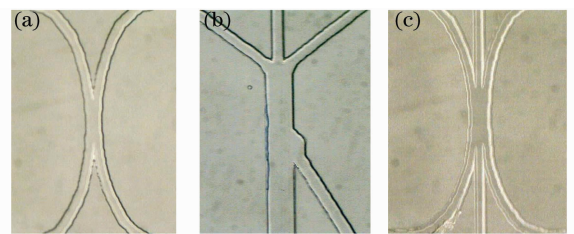


图 5 用于分选微小颗粒的 3 个样品池样式

Fig. 5 Three patterns of microfluidic chip used for particle sorting

4 实验结果

4.1 二维阵列光镊的颗粒捕获

通过调节双平板剪切干涉装置的剪切角 β ,可得到干涉周期为 $20 \mu\text{m}$ 的干涉条纹。将 x 方向和 y 方向的干涉条纹以 90° 叠加可得到样式不随时间变化的二维点阵式阵列光镊。实验样品采用原始浓度稀释 10 倍,直径为 $6 \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球,激光器输出功率为 900 mW,可实现微粒的捕获。

如图 6 所示,颗粒(黑色圆圈内)受到阵列光镊梯度力的控制,被捕获在光阱的作用范围内。由于

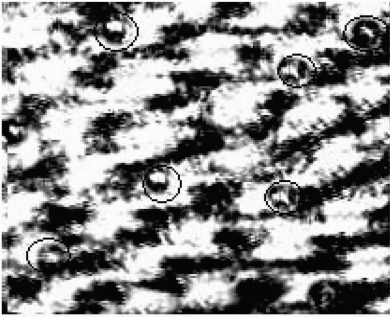


图 6 二维阵列光镊的颗粒对 $6\ \mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球的捕获现象

Fig. 6 2D optical tweezers array is applied to trapping $6\ \mu\text{m}$ polystyrene particles

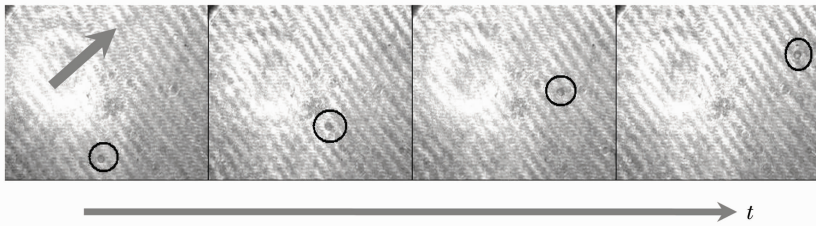


图 7 一维阵列光镊驱动颗粒移动

Fig. 7 1D optical tweezers array traps and moves polystyrene particles

5 结 论

介绍了基于双平板剪切干涉的阵列光镊系统的基本原理以及采用微流控芯片制备技术制作阵列光镊样品池的方法,并通过实验验证了阵列光镊系统可以有效实现颗粒捕获和移动的功能,说明系统设计方案合理、可行。但要将阵列光镊用于微流控芯片分析技术,进行细胞等真实生物样品的分选,还需要对系统的控制参数进行细致分析,同时优化系统的设计方案,提高激光能量使用效率,使阵列光镊性能更加稳定。

参 考 文 献

- 1 A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm *et al.*. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles [J]. *Opt. Lett.*, 1986, **11**(5): 288~290
- 2 Chen Hongtao, Li Yinmei, Lou Liren *et al.*. Detection of nanometer displacement in optical-tweezers and its related measuring errors[J]. *Chinese J. Lasers*, 2004, **31**(6): 729~734
陈洪涛,李银妹,楼立人等. 光镊技术中的纳米位移探测及其测量误差讨论[J]. *中国激光*, 2004, **31**(6): 729~734
- 3 V. Emiliani, D. Sanvitto, M. Zahid *et al.*. Multi force optical tweezers to generate gradients of forces[J]. *Opt. Express*, 2004, **12**(17): 3906~3910
- 4 K. Sasaki, M. Koshioka, H. Misawa *et al.*. Pattern formation and flow control of fine particles by laser-scanning

激光器输出光斑光强呈高斯分布,实验中观察到干涉场边缘的光强较弱,因此,阵列光镊的有效捕获范围受到一定限制。位于阵列光镊边缘的颗粒处于不稳定捕获状态,比较容易逃脱光镊的束缚。

4.2 一维阵列光镊的颗粒移动

启动阵列光镊系统中的振镜,令振镜以 2 Hz 的频率摆动,可以使干涉场沿某一方向移动,颗粒随振镜的运动规律呈现有方向性的运动(图 7)。图 7 中箭头所指方向为干涉条纹移动方向。圆圈中的颗粒随着条纹移动的方向移动,且没有逃出亮条纹的控制,说明本课题组设计的阵列光镊具备实现颗粒分选的能力。如何能够更加高效、快速、稳定地实现颗粒捕获和分选,还需要对振镜的驱动信号进行研究,确定最佳的信号波形和频率等参数。此项工作目前正在进行中。

- micromanipulation[J]. *Opt. Lett.*, 1991, **16**(19): 1463~1465
- 5 P. Rodigo, R. Eriksen, V. Daria *et al.*. Interactive light-driven and parallel manipulation of inhomogeneous particles[J]. *Opt. Express*, 2002, **10**(26): 1550~1556
- 6 A. A. Afanas'ev, V. M. Katarkevich, A. N. Rubinov. Modulation of particle concentrations in the interference laser radiation field[J]. *J. Appl. Spectrosc.*, 2002, **69**(5): 782~787
- 7 V. Ogura, K. Kagawa, J. Tanida. Optical manipulation of microscopic objects by means of vertical-cavity surface-emitting laser array sources[J]. *Appl. Opt.*, 2001, **40**(30): 5430~5435
- 8 J. M. Tam, I. Biran, D. R. Walt. An imaging fiber-based optical tweezer array for microparticle assembly[J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2004, **84**(21): 4289~4291
- 9 Yan Qiulao, Zhang Zhenxi, Yu Youli *et al.*. The research on application and measuring method of surface-charges of cells[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2008, **17**(2): 261~264
严秋劳,张镇西,喻有理等. 细胞表面电荷的光镊测量方法及应用研究[J]. *激光生物学报*, 2008, **17**(2): 261~264
- 10 X. Zhang. Unraveling DNA condensation with optical tweezers [J]. *Science*, 2004, **305**(5681): 188~190
- 11 Wang Chu, Li Qin, Cao Qun *et al.*. Development of optical tweezers array [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2007, **44**(5): 62~66
王初,李勤,曹群等. 阵列光镊的发展[J]. *激光与光电子学进展*, 2007, **44**(5): 62~66
- 12 Li Qin, Hu Xiaoming, Wang Xin *et al.*. Optical tweezers array system based on double-plate shearing interference [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, **29**(s1): 70~73
李勤,胡晓明,王欣等. 基于双平板剪切干涉的阵列光镊系统[J]. *光学学报*, 2009, **29**(s1): 70~73
- 13 J. Rohner, J. M. Fournier, P. Jacquot *et al.*. Multiple optical

- trapping in high gradient interference fringes[C]. *SPIE*, 2006, **6326**: 632606
- 14 Li Qin, Feng Wanli, Hu Xiaoming *et al.*. Theoretical study of the trapping efficiency of an optical tweezers array system[J]. *Chinese Physics B*, 2008, **17**(2): 726~735
- 15 D. J. Bornhop, J. C. Latham, A. Kussro *et al.*. Free-solution, label-free molecular interactions studied by back-scattering interferometry[J]. *Science*, 2007, **317**(5845): 1732~1736
- 16 P. Yager, T. Edwards, E. Fu *et al.*. Microfluidic diagnostic technologies for global public health [J]. *Nature*, 2006, **442**(7101): 412~418
- 17 A. Manz, N. Graber, H. M. Widmer. Miniaturized total analysis systems: a novel concept for chemical sensing [J]. *Sensors and Actuators B*, 1990, **B1**: 244~248
- 18 A. T. Woolley, R. A. Mathies. Ultra-high speed DNA sequencing using capillary electrophoresis chips [J]. *Anal. Chem.*, 1995, **67**(20): 3676~3680

《中国激光》“激光分子影像诊断与治疗监控”专题 征 稿 启 事

随着光学成像技术、分子标记技术和基因组学/蛋白质组学的发展,激光分子影像已经成为光子学技术与生命科学和医学应用交叉的关键技术科学,发展十分迅猛。激光分子影像可在细胞和分子层面探索生命最小基本单元的功能、疾病发生发展的分子机理,可为疾病的早期诊断及其治疗进行无创、实时、靶向性的检测和监控提供有效手段;有望解决长期困扰人类健康与发展的重大关键难题,从而有效改善人类生存与生活质量。《中国激光》计划于**2010年10月正刊**(EI核心收录)上推出“激光分子影像诊断与治疗监控”专题栏目,现特向国内外广大专家学者征集“激光分子影像诊断与治疗监控”方面原创性的研究论文和综述,旨在集中反映该方面最新的研究成果及研究进展。

征稿范围包括:

光学分子成像的新技术与新方法:主要包括荧光分子成像技术(FRET、FRAP、FCS等);光声成像(PAI);光学相干层析成像(OCT);激光散斑成像(LSI);微波热声成像(TAI);近红外光学漫射成像(DOT)以及太赫兹成像(THz)等。

光学分子探针与分子诊断:主要包括近红外高效光学分子探针;多模态复合纳米探针;蛋白质和多肽小分子光学探针;分子水平诊断光谱学研究(荧光、吸收、偏振和拉曼光谱等)以及基于纳米技术的高效基因检测、单分子识别等。

光学分子成像在疾病早期诊断和治疗监控中的应用:主要包括疾病早期诊断中的基础研究;肿瘤的光热、光化学治疗及其监控;低强度光子治疗技术及其机制;手术过程中的光学导航以及预后的无损伤光子学疗效评估与检测技术等。

特邀组稿专家:

邢 达 教授 华南师范大学

截稿日期: 2010年6月30日

投稿方式以及格式:可通过中国光学期刊网网上投稿系统直接上传稿件(主题标明“激光分子影像诊断与治疗监控”投稿),详情请参见 <http://www.opticsjournal.net/zgjg.htm>。本专题投稿文体不限,中英文皆可,其电子版请使用MS-word格式,有任何问题请咨询马浙编辑,E-mail: CJL@siom.ac.cn;电话:021-69918427。