

基于有限远光学系统的光镊设计和调整

任洪亮 丁攀峰 李小燕

(华侨大学信息科学与工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要 光镊可以非接触、无损伤地操纵尺度位于数纳米到数十微米之间的生物细胞、亚细胞、生物大分子以及胶体粒子,已经成为生命科学和胶体化学领域不可缺少的研究工具。根据几何光学,对基于有限远光学系统显微镜的光镊光路进行了分析计算。这类系统由捕获光源、准直透镜、倒置生物显微镜、大数值孔径物镜、成像系统和 CCD 相机组成,可以在保持物镜后瞳充满度的情况下调整阱位和刚度,具有捕获力大、被捕获的粒子成像清晰等优点,可以很好地满足科研和教学需求。

关键词 光学设计;显微;光镊;设计;调整

中图分类号 TN249 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201239.s116002

Design and Adjust for Optical Tweezers Based on Finite Conjugate Microscope Systems

Ren Hongliang Ding Panfeng Li Xiaoyan

(College of Information Science and Engineering, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract Optical tweezers, or single beam gradient force optical traps, are very suitable for micromanipulation with large spectrum of specimens in the diameter range from several nanometers to tens of micrometers. Optical path of optical tweezers based on finite conjugate microscope systems is analysed and calculated. The design of optical tweezers consists of laying out a trapping laser, a collimation lens, an inverted microscope with a high numerical aperture objective and a CCD camera. The optical trains are to maximize the convergence angle and to maintain the trap position while retaining the same degree of overfilling of the microscope entrance aperture. The formulations provide the basis for theoretical analysis of experimental alignment and adjustment.

Key words optical design; microscopy; optical tweezers; design; adjust

OCIS codes 120.4570; 180.2520; 080.2740; 350.4855

1 引 言

光镊利用强聚焦的激光微束所形成的光学梯度力势阱来实现对纳米及微米大小样品的操纵,具有无菌、非入侵、低损伤等优点,在分子生物学、胶体化学等领域的实验研究中发挥了极其重要的作用。光镊可以用于研究植物细胞膜的粘弹性^[1],研究杀伤 T 细胞与其靶细胞的免疫反应^[2],实现 DNA 分子的扭转和打结^[3],光镊结合光刀可以进行细胞融合^[4],结合干涉位移探测技术可以观察动力蛋白运

动的步进方式并测量步长^[5]。光镊也可以精确测量液体中处于某一特定几何条件下粒子的扩散系数^[6]以及粒子之间的相互作用^[7]。

光镊已经成为生命科学和胶体化学研究不可或缺的工具。国内外很多科学家对光镊研究作出了贡献,李银妹等^[8]提出判断光阱位置的方法,姚新程等^[9]对光阱位置操纵系统进行了具体研究。本文根据光镊原理,对基于有限远光学系统显微镜的光镊光路进行了分析计算。

收稿日期: 2012-02-01; **收到修改稿日期**: 2012-03-01

基金项目: 国家自然科学基金(61178015/F050601)、中央高校基本科研业务费专项基金(JB-ZR1146)、厦门科技计划项目(3502Z20113017)和华侨大学科研启动费(09BS614)资助课题。

作者简介: 任洪亮(1980—),男,博士,讲师,主要从事光镊技术以及光镊在胶体体系和生物体系方面的研究。

E-mail: renhongliang@ustc.edu

2 光镊原理

当光照射到微粒时,微粒会受到光力作用。Ashkin^[10]把单条光线对粒子的作用力分为散射力和梯度力,散射力沿光线传播方向,梯度力垂直光传播方向。强会聚光束照射到微粒产生的合力可以有逆着光传播方向的分量,称之为拉力。当粒子捕获在平衡位置时,散射力和梯度力的合力为零。如果梯度力不足,粒子将沿光束传播方向逃逸出光阱。适当改变光束的聚焦情况,使这两个力的大小和比例发生改变,就可以实现对颗粒的加速、捕获和分离等操作。当梯度力大于散射力时,光镊才能实现对目标的稳定捕获。

增大梯度力的办法通常是增大光束经过物镜后的会聚度。同时为了尽量利用物镜的数值孔径,需要保证激光充满物镜后瞳。捕获力足够大时,被捕获的粒子可能处于离焦状态而成像不清晰,此时需要在保证会聚角足够的前提下调节激光会聚点的位置,将阱位落在显微镜物平面上,使得粒子成像清晰。

设计和调整光镊系统时,需要充分考虑物镜后瞳充满度、光束会聚度和会聚点位置这3个约束条件,方能令光镊调节到最佳状态。

3 系统设计

搭建研究级和演示级光镊系统常用的显微镜有无穷远校正光学显微镜和有限远共轭光学显微镜。无穷远系统是指物镜的物平面上的点经过物镜后成像于无穷远处,如Olympus的IX-71。有限远共轭显微镜是指物平面上的点经物镜成像后中间像位置距离物镜后瞳为一个有限值,如《GB/T 2609-2006》国家标准对共轭距离规定为185,195,210 mm的物镜,其机械筒长规定为160 mm。

本文以江南永新的XD-101显微镜为例,给出了基于有限远共轭光学显微镜的光镊设计。该显微镜物平面上的点经物镜成像后中间像位置距离物镜后瞳约为160 mm,但该显微镜中,物镜下方也有一个辅助负透镜,使得物平面上物点的共轭像点在无穷远处。

图1是XD-101显微镜的光路图,这类显微镜是有限远光学成像系统的改进版本。普通有限远筒长光学显微镜没有辅助透镜1和辅助透镜2,物镜的物像共轭距为195 mm。XD-101中,增加的辅助透镜1为发散透镜,物体发出的光经过物镜和辅助透镜1后变成平行光,该平行光经过辅助透镜2后

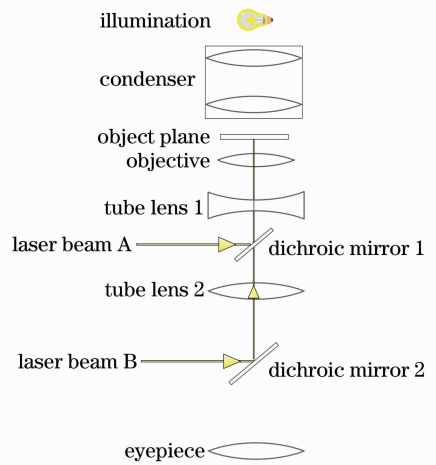


图1 有限远共轭显微镜光路图

Fig. 1 Optical trains of finite conjugate microscope system

成像到目镜的焦面。可以在辅助透镜1和辅助透镜2之间增加一个45°角安置的双色反射镜1,以耦合输入捕获光源。捕获光源也可以从辅助透镜2与目镜之间的双色反射镜2耦合输入。将激光经过物镜后的会聚点定义为名义光镊中心,也往往简称为名义阱位。被光镊捕获的微粒实际位置与此稍稍有点偏移,该位置即为实际阱位。根据几何光学,如果平行光入射到辅助透镜1上,该光束能够很好地被物镜会聚到物平面,也就是名义阱位在物平面内。而真正实验时,实际阱位在物平面内才能成像清晰。

以双色反射镜1耦合输入捕获光源为例进行光镊光路分析。如图2所示,准直透镜 L_c (焦距为 f_c)与激光器相距 l_1 , l_2 是激光经准直透镜成像后会聚点A与准直透镜的距离, θ_1 为激光器出射光的发散半角, r_1 是准直透镜上的光斑半径, θ'_1 是激光器出射光经准直透镜成像后出射光的会聚或发散半角, l_3 是入射光的会聚或发散点A与辅助透镜 L_{tb} 的距离, $f_{tb}(<0)$ 是辅助透镜的焦距, r_2 是经准直透镜准直后入射到辅助透镜上的光斑半径, θ'_2 是辅助透镜后出射光束的会聚或发散半角, l_4 是透过辅助透镜后光束的会聚或发散点C和辅助透镜的距离, d_{c1} 是准直透镜与辅助透镜之间的距离, d 是辅助透镜与物镜 L_{ob} 的间距, f_{ob} 是物镜焦距, r_3 是入射到物镜后瞳的光斑半径, θ_2 是经物镜会聚后出射光束的会聚半角, l_5 是经物镜会聚后出射光束的会聚点B与物镜的距离。

首先对激光器和准直透镜进行光源光路分析。当 $l_1 > f_c$ 时,根据薄透镜成像公式有:

$$l_2 = \frac{l_1 f_c}{l_1 - f_c}, \quad (1)$$

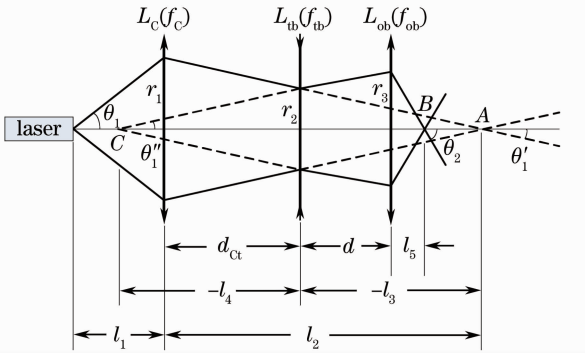


图2 光镊系统光路图

背离显微镜移动。因此,要获得一定的会聚程度会改变会聚点的位置,需要再整体移动激光器和准直透镜。

要使 θ'_1 变小,需要减小 l_1 ,此时 l_2 和 $l_1 + l_2$ 都增大。即要使激光会聚角变小,需要减小准直透镜和激光器之间的距离,而会聚点 A 向显微镜移动。要保证会聚角而改变会聚点的位置,也需要再整体移动激光器和准直透镜。

图3中符号意义与图1中符号意义完全一致。图3(a)中, $l_3 < 0, f_{tb} < 0, |l_3| < |f_{tb}|, r_2 > r_3$,对倒置显微镜而言,会聚点 C 在物平面上方,由透镜成像公式得

$$\tan \theta'_1 = \frac{l_1}{l_2} \tan \theta_1 = \frac{l_1 - f_c}{f_c} \tan \theta_1. \quad (2)$$

选定激光器之后,激光的发散半角 θ_1 为常量,根据(2)式,要使 θ'_1 变大,需要增大 l_1 ,即增大准直透镜和激光器之间的距离,此时 l_2 减小。将激光耦合进入江南永新的显微镜系统时,根据实验,发现需要满足 l_1 在 f_c 附近,否则无法实现稳定捕获。增大 l_1 会使 $l_1 + l_2$ 减小,如果激光器位置固定,则会聚点 A

$$l_4 = \frac{l_3 f_{tb}}{l_3 - f_{tb}} > 0, \quad (3a)$$

$$l_5 = \frac{(l_4 - d) f_{ob}}{l_4 - d + f_{ob}} > 0. \quad (3b)$$

由几何关系得 $r_2 = |l_3| \tan \theta'_1, \tan \theta'_1 = \frac{r_2}{l_4} =$

$\frac{r_3}{l_4 - d}$, 得:

$$r_3 = \frac{l_4 - d}{l_4} r_2 = -\frac{l_3 f_{tb} - d(l_3 - f_{tb})}{f_{tb}} \tan \theta'_1, \quad (4a)$$

$$r_3 = -\frac{(d - f_{tb})[d_{ct}(f_c - l_1) + f_c l_1] - d f_{tb}(f_c - l_1)}{f_c f_{tb}} \tan \theta_1, \quad (4b)$$

$$\tan \theta_2 = \frac{r_3}{l_5} = -\frac{l_3 f_{tb} - (d - f_{ob})(l_3 - f_{tb})}{f_{tb} f_{ob}} \tan \theta'_1, \quad (5a)$$

$$\tan \theta_2 = -\frac{(d - f_{tb} - f_{ob})[d_{ct}(f_c - l_1) + f_c l_1] - (d - f_{ob}) f_{tb}(f_c - l_1)}{f_c f_{tb} f_{ob}} \tan \theta_1. \quad (5b)$$

图3(b)中,对倒置显微镜而言,会聚点 C 在物平面下方,取 $l_3 < 0, f_{tb} < 0, |l_3| > |f_{tb}|, r_2 < r_3$ 。

由透镜成像公式得 $l_4 = \frac{l_3 f_{tb}}{l_3 - f_{tb}} < 0, l_5 = \frac{(|l_4| + d) f_{ob}}{|l_4| + d - f_{ob}} > 0$ 。由几何关系得 $r_2 = |l_3| \tan \theta'_1,$

$\tan \theta'_1 = \frac{r_2}{|l_4|} = \frac{r_3}{|l_4| + d}$ 。由此获得 r_3 和 $\tan \theta_2$ 表达式分别与(4)式和(5)式完全一致。

设计和调试这款光镊时,一旦激光器选定,则其光束发散角也就确定,而辅助透镜焦距和物镜焦距以及这两个透镜间距由显微镜确定,因此系统中可调因素就是激光器和准直透镜的距离 l_1 ,准直透镜和辅助透镜的距离 d_{ct} ,即准直透镜和显微镜的距离。即意味着(3)式和(4)式中 l_1 和 d_{ct} 为独立变量,

可对这两个独立变量进行求导得:

$$\frac{\partial r_3}{\partial l_1} = -\frac{(d - f_{tb})(-d_{ct} + f_c) + d f_{tb}}{f_c f_{tb}} \tan \theta_1, \quad (6a)$$

$$\frac{\partial r_3}{\partial d_{ct}} = -\frac{(d - f_{tb})(f_c - l_1)}{f_c f_{tb}} \tan \theta_1, \quad (6b)$$

$$\frac{\partial \tan \theta_2}{\partial l_1} = -\frac{(d - f_{tb} - f_{ob})(-d_{ct} + f_c) + (d - f_{ob}) f_{tb}}{f_c f_{tb} f_{ob}} \times \tan \theta_1, \quad (7a)$$

$$\frac{\partial \tan \theta_2}{\partial d_{ct}} = -\frac{(d - f_{tb} - f_{ob})(f_c - l_1)}{f_c f_{tb} f_{ob}} \tan \theta_1. \quad (7b)$$

上述(7)式确定了光束会聚角 θ_2 、物镜后瞳光斑大小 r_3 与 l_1, d_{ct} 的变化关系。实际光镊建设就需要根据该两式进行优化设计和调整。光镊要实现稳定捕

获,需要物镜后瞳充满或者过充满,即 r_3 应该保持在 3 mm 以上,同时要保证会聚角 θ_2 足够大。

半导体激光器是廉价的捕获光源,虽然其出射光是椭圆光斑,只要其短轴方向的光斑能够充满物镜后瞳,该光束就能很好地捕获微粒,因此本文并未

对半导体激光器出射光束进行整形分析。下面以 JDSU 公司的半导体激光器 SDL-5400 为例进行光镊光路分析,SDL-5400 出射光波长 810 nm,垂直发散角 30° ,水平发散角 9° 。选取准直透镜焦距为 20 mm。

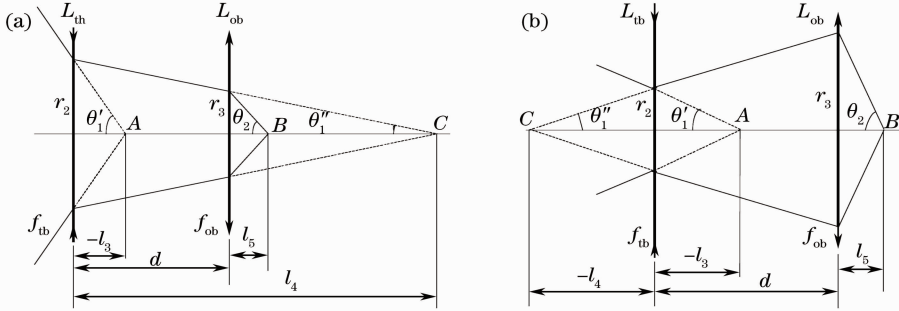


图 3 激光耦合进入显微镜光路图

Fig. 3 Schematic of laser beam coupled into a microscope

从图 4(a)可知,激光器置于准直透镜焦平面上时物镜后瞳过充满,当激光器和准直透镜距离增加时,物镜后瞳光斑迅速变小。图 4(b)则表示随着激光器和准直透镜距离增加,物镜出射光的会聚角度迅速变小。从图 4(c)可知,物镜后聚焦点距离随着激光器和准直透镜距离的增加而缓慢变小。当激光器和准直透镜距离增加到一定程度时,物镜出射光

会聚点位置急剧变化,该距离不能满足光镊捕获要求。

图 4(d), (e), (f) 表示激光器和准直透镜整体与显微镜距离变化对光镊状态的影响,其变化规律和激光器及准直透镜距离变化引起光镊状态变化的规律非常相似。从双色反射镜 2 耦合输入捕获激光的光路可根据上文进行类似分析。

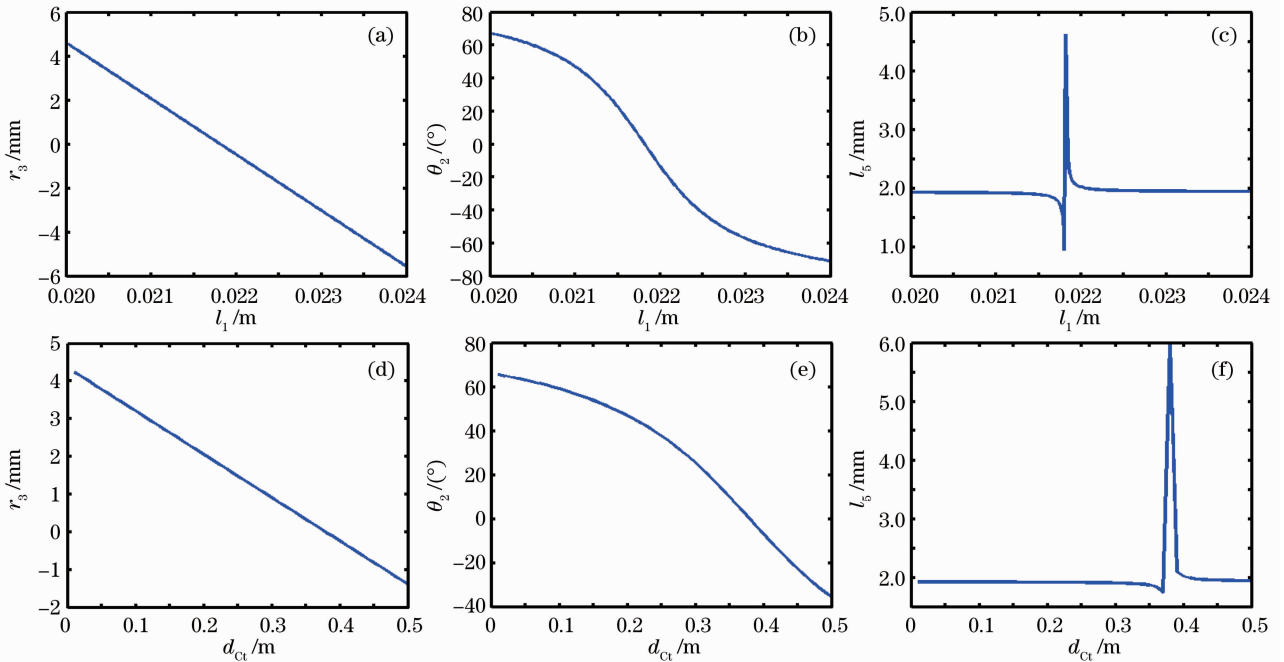


图 4 光镊仿真结果

Fig. 4 Simulation results of optical tweezers

4 结 论

根据几何光学,对基于有限远光学系统显微镜

的光镊光路进行了分析计算,把所有透镜都看成是理想薄透镜,实际上高数值孔径的物镜与简单薄透

镜有很大差异,因此以上分析和实际情况有一定的偏差。另一方面,用几何光学近似处理高斯光束传播及大数值孔径物镜聚焦问题也会引入一定的偏差。但仍然能够为光镊设计和调整到最佳捕获状态提供理论和实验指导。

参 考 文 献

- 1 A. Ashkin, J. M. Dziedzic. Internal cell manipulation using infrared laser traps[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1989, **86**(20): 7914~7918
- 2 K. O. Greulich. Chromosome microtechnology: microdissection and microcloning [J]. *Trends Biotechnol.*, 1992, **10**(1-2): 48~51
- 3 Y. Arai, R. Yasuda, K. I. Akashi *et al.*. Tying a molecule knot with optical tweezers[J]. *Nature*, 1999, **399**(6735): 446~448
- 4 R. W. Steubing, S. Cheng. Laser induced cell fusion in combination with optical tweezers: the laser cell fusion trap[J]. *Cytometry*, 1991, **12**(6): 505~510
- 5 K. Svoboda, C. F. Schmidt, B. J. Schnapp *et al.*. Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry [J]. *Nature*, 1993, **365**: 721~727
- 6 J. C. Crocker, D. G. Grier. Methods of digital video microscopy for colloidal studies [J]. *J. Colloid Interf. Sci.*, 1996, **179**: 298~310
- 7 J. C. Crocker, D. G. Grier. Microscopic measurement of the pair interaction potential of charge-stabilized colloid[J]. *Phys. Rev. Lett.*, 1994, **73**(2): 352~355
- 8 Li Yinmei, Lou Liren, Yao Yuan *et al.*. The observation and adjustment of the position of a laser trap[J]. *Chinese J. Lasers*, 1998, **A25**(12): 1083~1086
李银妹, 楼立人, 姚 媛 等. 光阱位置的观察与调节[J]. *中国激光*, 1998, **A25**(12): 1083~1086
- 9 Yao Xincheng, Li Zhaolin, Guo Honglian *et al.*. Investigation of adjustment of the position of a laser trap[J]. *Optics and Precision Engineering*, 2001, **9**(2): 55~58
姚新程, 李兆霖, 郭红莲 等. 光阱位置操纵系统的研究[J]. *光学精密工程*, 2001, **1**: 55~58
- 10 A. Ashkin. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime[J]. *Biophys. J.*, 1992, **61**(2): 569~582

栏目编辑: 韩 峰