

光镊技术的研究现况

李银妹^{1,2,3} 龚 雷¹ 李 迪¹ 刘伟伟¹ 钟敏成¹ 周金华¹ 王自强¹ 姚 焜¹

¹中国科学技术大学光学与光学工程系, 安徽 合肥 230026

²安徽省光电子科学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230026

³合肥微尺度物质科学国家实验室, 安徽 合肥 230026

摘要 光镊技术是激光技术的重大发明,能利用光的动量与物质相互作用产生光势阱效应,已成为微纳米微粒操控和皮牛顿力测量的重要工具。光镊技术不仅丰富和推进了光学领域的发展,也为光学与多学科的交叉融合架起了一座桥梁,彰显出了它独特而不可替代的作用。综述回顾了30年来光镊理论和技术的发展,系统梳理了光镊在细胞生物学、单分子生物学、软物质胶体科学以及物理纳米科学等领域的应用,并列典型的应用实例,探讨了光镊技术应用的特点,展望了光镊技术应用蓬勃发展的美好未来。

关键词 激光技术; 光镊; 皮牛顿力测量; 活体细胞操控; 单分子测量

中图分类号 O436

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201542.0101001

Progress in Optical Tweezers Technology

Li Yinmei^{1,2,3} Gong Lei¹ Li Di¹ Liu Weiwei¹ Zhong Mincheng¹ Zhou Jinhua¹
Wang Ziqiang¹ Yao Kun¹

¹Department of Optics and Optical Engineering, University of Science and Technology of China,
Hefei, Anhui 230026, China

²Anhui Key Laboratory for Optoelectronic Science and Technology, Hefei, Anhui 230026, China

³Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale, Hefei, Anhui 230026, China

Abstract Optical tweezers, a significant application technology of the laser, are capable of trapping microscopic particles by photon linear momentum transfer. Currently, it is a vital member of the family of micromanipulation tools as well as the precision measurement instrument of pico-Newton force spectroscopy. Its invention does not only aroused vast applications in optics but also plays an important role, as a bridge, in the interdisciplinary research. A short overview on the basic physical principles and concepts of optical trapping over the latest 30 years is provided. Further, some important applications of optical tweezers in cell biology, single molecular biology, the physics of colloidal systems and nano-science are presented as well as the main technical features implied in these applications. Finally, we discuss and expect the perspective of application of optical tweezers in the future.

Key words laser technique; optical tweezer; pico-Newton force measurement; optical trapping *in vivo*; single molecule measurement

OCIS codes 020.7010; 140.3300; 170.1420; 120.4640

1 引 言

光具有能量和动量,经典光学主要是以电磁辐射本身为研究对象,而近代光学的发展则是以光与物质

收稿日期: 2014-10-27; 收到修改稿日期: 2014-12-01

基金项目: 国家973计划(2011CB910402)、国家自然科学基金(11374292,113002220)

作者简介: 李银妹(1953—),女,教授,博士生导师,主要从事光镊技术及相关应用等方面的研究。

E-mail: liyinmei@ustc.edu.cn

相互作用为重要的研究内容。20世纪60年代激光的发明,为人们研究光与物质相互作用提供了一种崭新的光源,其中高筒并度的激光束使得光镊技术得以问世。光镊技术是光的力学效应的典型实例,它直观充分的展现了光具有动量这一基本属性。光镊技术的发明不仅丰富和推进了光学领域的发展,也为光学与其他多学科的交叉融合架起了一座桥梁,彰显出了它独特而不可替代的作用。

从 Ashkin 等^[1-2]1986年发表的第一篇单光束光镊论文起,已经历了约30年。光镊从鲜为人知,集中在少数物理学家的实验室中,只能简单地操控微米细胞到目前可以实现对单分子亚纳米级精度的测量,极大地促进了定量生物学的发展。光镊技术已成为众多学科的科学家长渴望的工具。正值2015国际光学年,本文对光学领域的重大技术发明——光镊技术做一次较为全面的回顾,迎接光镊技术应用发展的新阶段。

2 理论发展概况

光镊技术的理论主要是利用各种计算方法研究聚焦光束与微粒的相互作用力。首先是单光束梯度力阱与微粒的相互作用及其对微粒的控制;其次是新型光束聚焦后形成新的光阱特性。另外,还有一类是光镊系统设计和应用中遇到的光场畸变的问题。

单光束梯度力阱理论是光镊理论的基础。从原理上研究单光束梯度力阱能清楚地理解光俘获机理和影响光阱力的因素;从工程方面研究可以推导如何提高光镊的品质,如何优化光镊仪器。各种新功能的光镊的出现,需要学者们更好地理解 and 运用,揭示隐藏在实验现象背后的物理规律。

2.1 光镊光场的理论

光镊是由强会聚的激光束形成的光学势阱,研究微粒在光阱中受到的光阱力的理论模型有几何光学(RO)近似模型和电磁(EM)模型。

RO模型理论适用于几何尺寸大于波长的微粒,计算较简单,作为一种近似方法其计算结果对实验具有参考价值。RO模型广泛应用于光阱力大小的计算,研究光束发散特性对光学悬浮的影响^[3]。结合高斯光束标量理论^[4]计算强聚焦光束对微粒的俘获力。不考虑光的波动性,研究光阱里微球在横向、轴向和任意位移后的受力,入射光在空间不同方位的追迹方式等^[5-11],如图1所示。RO模型理论便于分析微粒三维空间受到的应力^[12],进而可以分析不规则微粒(如椭球)受到光阱的应力及其动力学特性^[13]。利用RO模型分析光阱中微粒的受力,能很好地指导实验设计和理解实验现象。

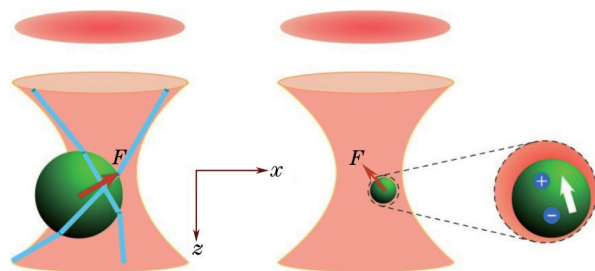


图1 光镊原理示意图

Fig.1 Schematic diagram of optical tweezer

EM模型可精确分析所有尺度的微粒。EM模型分析光阱力包含三个部分:即激光束的电磁场描述、微粒对电磁场的散射求解以及电磁场对微粒的辐射压力的计算。对辐射压力的计算根据模型的不同,一般采用远场计算的电磁张量形式^[14]和近场的偶极子^[15]表示。采用广义洛仑兹米氏散射理论(GLMT)、角谱和T矩阵法分析球形微粒具有优势,但不适用于计算非球形微粒,因为此时散射场比较复杂。时域有限差分(FDTD)、有限元法(FEM)和离散偶极子方法(DDA)属于纯数值的计算方法,对于计算球形和非球形微粒均适用。上述方法中T矩阵法使用较为广泛,常用于研究微粒形状对光阱力的影响^[16]。

由于纳米微粒尺度远小于光波长,微粒对光的散射可以忽略,因此采用电磁理论分析纳米微粒的光阱力比分析微米、亚微米微粒要简单^[17],可以直接从入射场计算偶极子的作用力^[18-19]。

各种理论模型可以根据实际需要而采取不同算法,对于RO模型,最重要的是如何追踪光线与小球作用

后的变化,这样就能有效地计算光阱力。在EM模型中,聚焦光束的描述以及场与物质相互作用的计算是最重要的部分,通过计算场的分布,就能计算出辐射压力和力矩。时至今日,在光镊技术的理论研究方面,许多理论模拟结果都得到了实验的验证,单光镊光场的理论基本完善。

2.2 新型光镊光场的研究

光与物质相互作用依赖于光场内在的性质,如能量和动量,也依赖于这些物理量的空间分布,如光场的强度梯度等。因此,调控这些光场的性质会直接改变光与物质相互作用的结果,这为直接控制光捕获提供了一个重要的途径^[20]。而光场性质的变化可以通过光场调制来实现,例如振幅、相位和偏振的调制。所以,光镊一个特别重要的发展趋势是结合各种新型光场来实现特殊或复杂的操控功能^[21]。新型光镊光场的研究得益于复杂光场调制技术的快速发展,如空间光调制技术。新型光场光镊不仅能够实现对不同材质、不同大小的微粒多自由度操控,而且可以通过计算机控制,方便地实现实时智能的操控,大大拓展了光镊的应用范围^[22]。

新型光场包括涡旋光束、非衍射和自修复光束、自加速光束以及矢量光束等。涡旋光束与相位奇点相关^[23],本身携带轨道角动量,在与物质相互作用过程中可以将角动量传递给微粒,从而导致微粒在光场中做旋转运动^[24-26]。常见的涡旋光束有拉盖尔高斯光束(Laguerre-Gaussian beam)和贝塞尔光束(Bessel beam)。其中贝塞尔光束属于非衍射和自修复光束,相比于高斯型光束,贝塞尔光束可传播较远距离而保持中心光斑的大小和尺寸基本不变,而且在传输过程中遇到障碍物阻挡后能很快恢复原来的光场分布。由于贝塞尔光束在传播过程中具有很好的稳定性^[27-28],故被用于引导微粒沿轴向输运距离可达3 mm^[29],这个间距远远大于高斯型光束的光镊的轴向捕获深度。并且,在轴向3 mm距离中可以实现多个平面长距离捕获多微粒,如图2所示。非衍射光束还包括马提厄光束(Mathieu beam)^[30]、抛物线光束(parabolic beam)^[31]、艾里光束(Airy beam)^[32]等。其中抛物线光束和艾里光束也是一种自加速光束。自加速光束在沿轴向传播过程中以某个角度弯曲而不沿直线传播,看起来像是在自由空间中加速。这种光束在光操控中可以用于沿着设定的轨迹输运微粒,如图2(b)所示^[33]。自加速光束还有韦伯光束(Weber beam)^[34]和螺旋光束(spiral beams)^[35]等。此外,不均匀的偏振光场,如径向偏振光束和角向偏振光束,具有优越的会聚特性^[36],使得矢量光束在操控纳米粒子,特别是金属纳米粒子方面具有明显的优势^[37]。

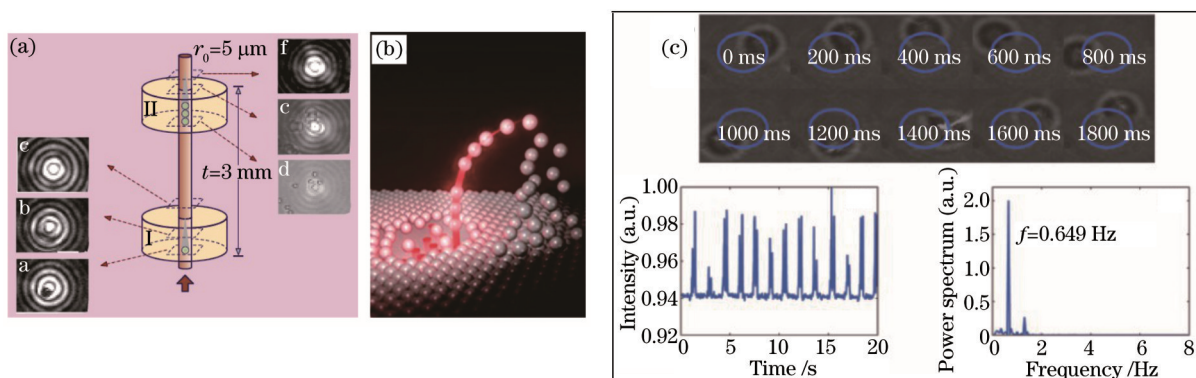


图2 新型光场光镊实现多功能微粒操控。(a) 贝塞尔光束沿轴向的长距离和多层捕获微粒^[29];

(b) 艾里光束捕获多个微粒沿曲线轨迹输运^[33]; (c) 拉盖尔高斯光束形成的涡旋光阱研究酵母细胞的旋转动力学^[24]

Fig.2 Multifunctional optical manipulation with novel light beams. (a) Bessel beam can be exploited to trap microparticles in multiple planes^[29]; (b) Airy beams can guide multiple particles along an accelerating trajectory^[33]; (c) Laguerre-Gaussian beam has been used to study the rotation dynamics of yeast cell in vortex optical tweezers^[24]

为满足新的应用需求而发展出许多新型光镊,如对多个微粒实现同时操控的全息光镊、能够对微粒在纵向位置深度操控的贝塞尔光镊和偏正光镊,以及对微粒进行旋转操控的涡旋光镊等。新型光镊的研究直接依赖于新型光场理论的支持^[21],计算全息的各种算法的不断优化^[38-39],和趋于自动化和智能的新型光镊操控等^[40]。可以预见,基于新型光场的光镊将在未来的科学研究中发挥越来越重要的作用。

2.3 应用中相关的理论

光镊系统中的捕获物镜一般采用商业显微镜的高数值孔径油浸物镜,属于非标准使用法。这意味着激

光到达被捕获的微粒之前要先经过匹配油-玻璃(0.17 mm 盖玻片)-水溶液,由于匹配油的折射率与水的折射率不同,由此引入了球差使得系统品质变差,严重影响光镊的捕获效果^[41-42]。由于球差的存在,激光经过物镜以后,与光轴夹角不同的光线与光轴相交于不同位置,在像面上形成一个圆形弥散斑,导致部分光线没有与小球相交未发生动量转移。随着捕获高度的增大,弥散斑的直径随之增大,没有相交的光线也随之增多,因此光阱的捕获能力迅速下降^[43]。球差是光镊系统中普遍存在的问题,因此需要通过光学设计对显微物镜进行相差补偿^[44-45]。

以常用的高数值孔径 100 倍油浸物镜作为光镊的捕获镜为例,当光经过玻璃材质的盖玻片后进入水中,由于水的折射率大于物镜匹配介质空气的折射率,光线产生了折射,如图 3(a)所示。光镊系统中球差主要是物镜的折射率失配引起的,研究表明,通过改变物镜实际光学筒长,可以将光镊的最佳捕获平面延至到更深的位置。使用水浸物镜,由于浸润介质和捕获微粒环境都是水,光线从物镜进入水溶液以后不会产生球差,所以在液相中捕获微粒比较理想的介质是水,但水浸物镜价格不菲。如图 3(b)所示为不同物镜的捕获刚度随捕获深度的变化。实验表明,略发散的光束更适合于水浸物镜捕获高折射率溶液内的微粒^[45]。对确定的设备和应用对象,球差可以在设备设计和实验方法设计中进行修正补偿,尽量取得优质的光镊。

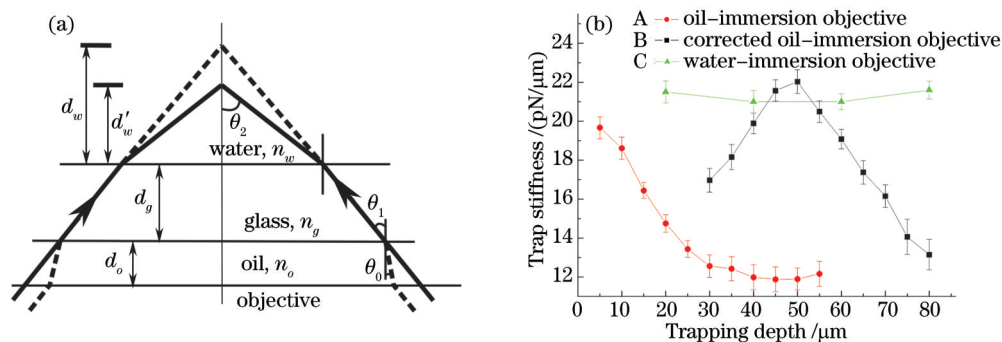


图 3 显微物镜用作捕获物镜引起的球差^[45]。(a) 油浸物镜聚焦过程中光线的折射过程;
(b) 不同物镜的捕获刚度随捕获深度的变化

Fig.3 Spherical aberration of the micro-objective^[45]. (a) Geometric optics representation of the refraction of a light beam focused in oil-immersion objective; (b) trapping stiffness as a function of trapping depth for different types of objectives

3 光镊技术的应用特点

光镊作用的对象多为液体中的微粒,介质与布朗力成为光镊在液相中工作的特点。光镊通过手柄小球间接操控单分子,所以手柄小球是研究单分子的桥梁,要达到亚纳米级精度的测量,超稳定系统成为实验研究的保障。

3.1 介质与布朗力

光镊是光与物体相互作用的结果,光与物体是通过介质相互作用的。常用的介质为液体,而液体的温度、粘度和折射率等物理参数决定了介质的性质。因此,不同的液体性质和参数直接影响光与物体相互作用,影响到光捕获效果。介质的选择首先是光学透明且折射率要小于被捕获的微粒的折射率,折射率 n 与被捕获物体的折射率 n_0 之差越大,越有利于捕获。其次要考虑介质的化学性质及其与微粒相互作用的影响。

光镊操控的微粒相当于胶体体系中的分散项,微粒所在的溶液,即介质为分散剂。一方面可以方便地利用介质,通过改变介质的参数设计实验方案,研究待定的科学问题。另一方面,介质的温度随环境的易变性,介质粘度影响光操控和施力大小,不同介质的折射率存在差异,这些因素同时也为实验方案的设计和实验精确测量增加了难度。故介质在光镊的应用中扮演着非常重要的角色。

在光捕获微粒的过程中,微粒受到很多种力的作用,其中水的粘滞阻力和布朗力在光捕获中是非常重要的,测量光阱力及其光阱参数主要利用了这两个力,而粘滞阻力和布朗力则是研究软物质胶体体系的重要参量。介质的性质决定了布朗力的大小。在利用光镊技术操控和测力的过程中,介质和布朗力的影响时刻伴随其中,而布朗力是否可以忽略,取决于所关注的科学问题和实验精度。

3.2 手柄小球与生物单分子操控

远场显微镜不能观测纳米尺度的微粒,光镊操控纳米微粒是通过直接可控的微米小球作为手柄间接操控纳米微粒,例如操控脱氧核糖核酸(DNA)、蛋白质、核酸等生物大分子。手柄微球分为结构型和功能型。当利用光镊拉伸 DNA 或蛋白质微丝时, DNA 或微丝的两端需要结合手柄微球才能被光镊操控,此时微球仅仅起到手柄的作用。而在研究抗体-抗原结合力以及分子马达动力学行为时,需要将蛋白质分子修饰在微球表面,此时微球同时也是研究对象的载体。

1990年 Block 等^[46]用手柄小球的方法成功地实现了对生物单分子的操控,研究了驱动蛋白分子的运动状态,使人类第一次观测到动物体内化学能转变成机械能的元动力。该研究成果不仅突破了远场光镊研究纳米微粒的技术瓶颈,也开创了将光镊应用于单分子生物学领域的先河,为定量研究生物大分子的性质提供了一种全新的方法,紧接着一批科学家投入了对单分子的研究并取得辉煌的成就。

具有代表性,且常用的单光镊加微针研究蛋白分子的方法如图4所示,其中 DNA 是为了加长手柄, DNA 两端分别要和两个相同材料的微球进行化学偶联,故两段 DNA 的4个偶联位点均需要进行不同的化学偶联设计。

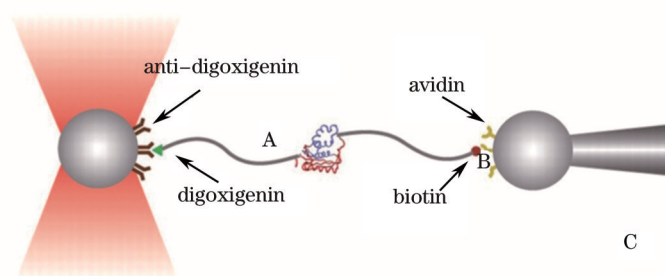


图4 微球-蛋白-DNA 化学偶联方法^[47]

Fig.4 Chemical coupling method for microballoon-protein-DNA^[47]

微米小球与单分子连接是通过化学修饰的方法来实现的,这种修饰是对介质和微球表面的物理化学性质的设计。微球表面修饰分子的方法有表面吸附法、共价偶联法、亲和力结合法等。每种方法都有其优点和缺点,如表面吸附法难以精确控制微球表面分子的密度;而共价偶联法,微球之间没有共价偶联作用,彼此独立不存在相互影响。选择哪一种方法与研究对象、与所要解决的科学问题以及实验技术等因素相关。如果在一个实验中同时要求多个修饰时,需要设计彼此互不干扰的多种修饰方法才能达到预期的效果。

由此,可以感受到物理与生命科学的交叉,物理学家除了研制高精度的仪器,还需要学习和探索生物学领域的科学问题,研究中还必须跨越所涉及到的生化基础和实验技术,生物单分子研究对物理学者无疑是一个很大的挑战。

3.3 超低噪声与亚纳米级精度的测量

单分子研究要求光镊仪器测量精度达到亚纳米量级,如何实现高精度的测量,目前主要有以下三种途径。

首先,在硬件配置上尽量避免各种机械噪声,选择优良的器件,高的时间分辨和高精度的空间分辨率。将实验室建在地下室,仪器置放在气垫隔振平台上并且全封闭。在仪器的设计和环境条件中,尽量降低空气对流、声音震动、磁场等外界干扰以保证系统在良好的稳定状态运行^[48]。采取反馈控制也是提高光镊探测精度的有效方法,反馈控制采取定点实验和定力测量来消除激光器光强的波动和消除物镜的漂移等等,提高仪器测量的分辨率和光镊在三维空间的稳定性^[49]。

其次是发展新的实验方法,降低或消除系统噪声以及削弱信号漂移。双光阱的设计可以有效屏蔽环境噪声和隔离布朗运动,使系统的稳定性得到很大的提升。特别是采取了差分探测法,即同时测量两个微球的运动,可以隔离掉两个微球的共同噪声和漂移,如图5(a)所示。

“光束-光镊”差分探测法^[50],是将一光束投射到其中一个小球或样品室作为基准,监控其漂移和低频波动,使用差分的方式,获得两个静止小球的位置存在1 nm左右的波动,差值 Δx 波动仅为0.2 nm左右。这说明使用差分的方法能有效地改善光镊设备的静态分辨率^[3]。双光镊差分探测法^[51]是同时捕获两个小球,测量它们的位置信号,然后对信号做差值。在比较宽的光阱刚度(0.05~0.5 pN/nm)和频率(0.03~100 Hz)范围内,得

到了接近布朗噪声极限的静态分辨率(小于等于 0.05 nm)。之后发展的差分坐标法又提高探测的分辨率,其精度逼近了布朗噪声的极限^[51]。

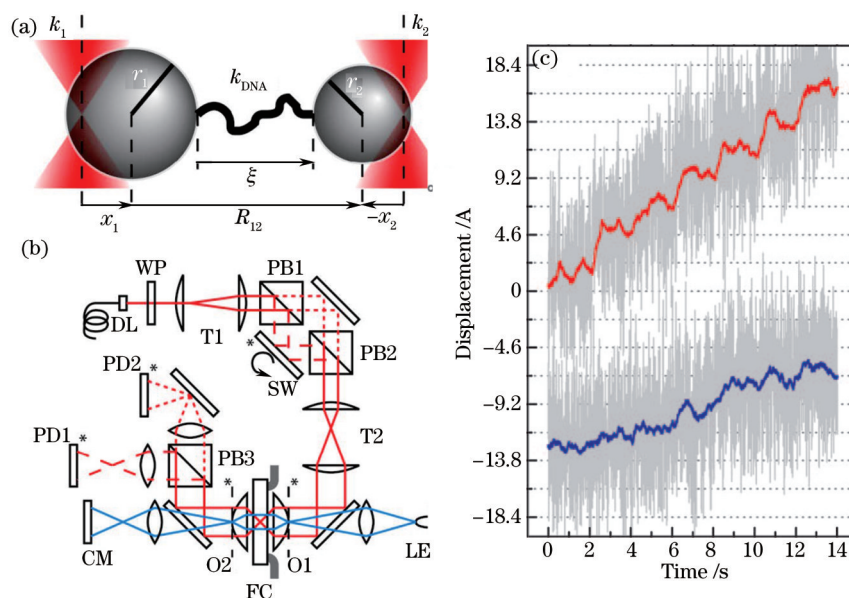


图 5 双光镊差分探测。(a) 原理示意图; (b) 实验装置; (c) 实验结果

Fig.5 Differential detection of dualtraps. (a) Schematic diagram; (b) layout; (c) experiment results

在光镊系统中实现恒力和恒位置的控制功能,不但可以有效抑制实验噪声,还可以实进行特定情况下的单个生物大分子动力学行为的研究^[52],如研究恒力负载下马达行走的特性。

提高精度的第三种措施是对噪声信号和实验数据进行有效的分析和处理。弄清楚光镊系统中有哪些噪声,分别由哪些因素引起,对于提高测量精度具有重要意义。消除或者降低噪声已有很多方法,而这些方法的效果需要通过信号分析做出判断^[48,53]。另外,由于光镊系统中的噪声繁多且与所测信号纠缠在一起难以分辨,也需要引进新的数据处理方法从复杂噪声信号中分离出有用信号,从而提高测量精度^[49]。

将已知光镊系统中的各种噪声,用 Allan 方差(标准差)法综合这些噪声,计算分析得到光镊系统中各种噪声的相关时间 t 与 Allan 标准差 σ 的关系,如图 6 所示。实验测试表明在大多数情况下,光镊系统中的随机过程都是统计上独立的,不同的噪声出现在不同的 t 区域,因此,据此可以辨别数据中的不同随机过程。

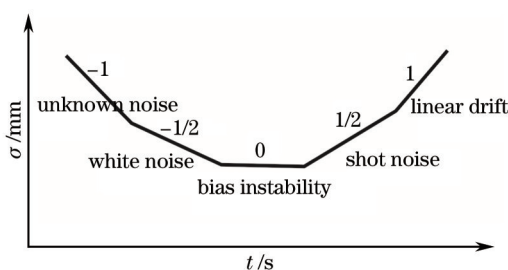


图 6 Allan 标准差研究光镊系统的随机误差特性

Fig.6 Sample plot of Allan variance analysis results for optical tweezers system

引进 Allan 方差法能有效分析各种噪声特征及其误差源,采用最小方差拟合出相应噪声系数,用以量化各种误差。Allan 方差法可以分析各种实验条件下的测量噪声情况,如不同的功率的噪声、不同采样频率的噪声、不同数据长度的噪声等,以及进行检测和比较不同设备的噪声,从而优化实验条件,提高测量精度。通过 Allan 方差的分析也能为硬件的改进指明方向。

采用时间序列分析方法对光镊漂移建模,以及 Kalman 滤波对信号进行补偿,如图 7(b)所示,滤波后的数据分布区间大大减小了,Allan 标准差比滤波前大幅度减小,Kalman 滤波有效降低测量中的各种噪声和抑制信号漂移。另外,采用现代小波滤波法对光镊系统静态与动态数据进行滤波都能取得良好的效果。

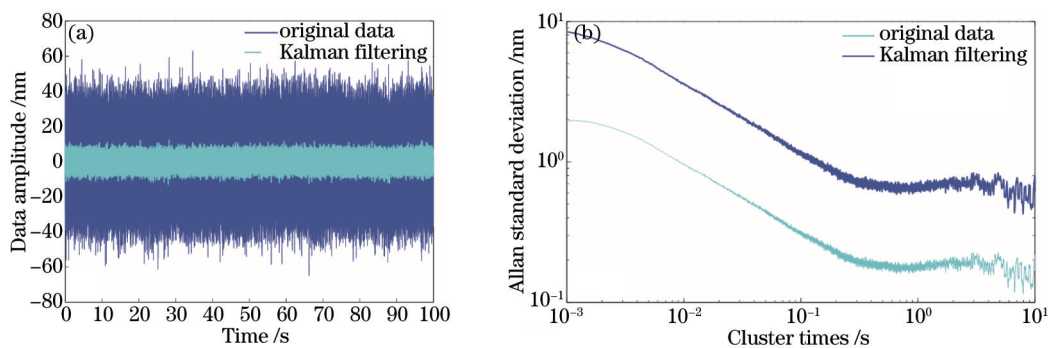


图7 滤波前后的随机信号序列图和 Allan 方差图。(a) 随机信号序列图; (b) Allan 标准差图

Fig.7 Random signal sequence and the Allan variance of signal before and after Kalman filtering.

(a) Random signal sequence; (b) Allan standard deviation

目前,光镊系统的信号处理中的误差分析、建模与仿真、信号滤波以及参数标定等技术已经勾勒出较完整的光镊系统信号处理体系,研究实时动态数据处理,进一步提升系统信号分析精度将成为该领域的发展趋势。

4 光镊技术的应用

光镊诞生之时,正值纳米科技蓬勃发展之际。人类对自然界和自身的认识深入到对个体微观机理和功能的定量研究,以便自主掌握客观规律和改造自然。光镊一问世,科学家们就预感用光力控制微米尺度微粒的技术具有不可估量的发展前景和应用潜质。近30年来,基于单光束光力可控微粒的应用研究,确实证明了该技术的独到和不可或缺的价值及其广阔的应用领域。光镊的应用可归纳为四类,即光镊与细胞生物学、光镊与单分子生物学、光镊与胶体科学以及光镊与物理学4个学科领域,光镊在这些领域已成功解决了许多的重大科学问题。以下所列举的例子主要依据典型应用案例,方法学的先进性和普适用性,以及历史开创性意义和所解决问题的重要性。

4.1 光镊与细胞生物学

光镊发明初期,Ashkin等^[54]首次用这个新的工具尝试操纵细胞和病毒等各种生物样品,并且成功地演绎了光镊捕捉、拖动、损伤细胞和深入到细胞内部操控细胞的功能。Ashkin预言“将细胞器从它们正常位置移去的能力,打开了精细研究细胞功能的大门”。Liang等^[55]联合光镊和光刀对细胞和细胞器进行手术,感慨细胞工具箱里又多了一把镊子,用起来更方便了。光镊操控细胞和细胞器的手段是多种多样的,包括悬浮、移动、分选、融合等,还可以定量的测量细胞的力学性质以及细胞间的相互作用。随着光镊技术的成熟以及与更多的技术结合,如微分干涉和荧光技术,脉冲激光技术、激光拉曼技术、全息技术、共聚焦技术、磁镊技术等,使得在实时测量细胞的变化,细胞的相互作用,细胞的力学性质等方面的研究更加深入的展开。

4.1.1 光镊分选单条染色体

图8是早期将光镊操控单细胞功能和脉冲激光对细胞局部烧蚀的有机结合的一例。水稻中期分裂相细胞的染色体长度约 $2\ \mu\text{m}$,线度小于 $1\ \mu\text{m}$ 。由于尺寸较小,用细胞流式仪不易分离。先用脉冲激光刀破碎细胞,使染色体释放于胞外,然后用光镊俘获的方法,捕获一条目标染色体并将其拖离染色体群,实现单条染色体的分离。

对光镊提取的单条染色体可进行多聚酶链式反应扩增、电泳实验、杂交实验、DNA序列测量和同源性比较生物学实验,证明了光学微操作技术分选的是来自于水稻1号染色体^[56-57]。生物学家认为,光镊-光刀方法适用于对任何一种植物和动物细胞中染色体的分选,是直接从活体细胞内提取,未进行任何处理的最原始的染色体俘获与分离方法,为转染色体动物活体移植提供新技术,开辟新的途径。

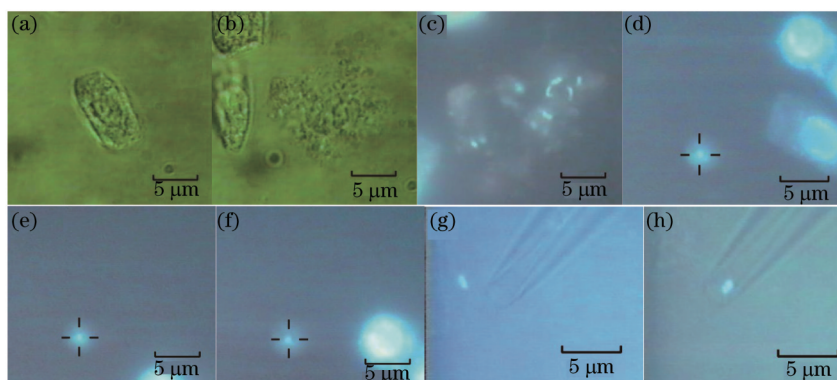


图8 光镊分选单条染色体^[56-57]。(a) 游离的水稻中期分裂相细胞; (b) 紫外脉冲光对细胞穿孔使之破裂, 释放出染色体; (c) 荧光激发下观测染色体, 用光镊夹持其中单条染色体; (d)~(f) 光镊夹持单条染色体使其从细胞残骸(染色体群体)中分离出来; (g)~(h) 利用微吸管将光镊分离的染色体富集

Fig.8 Single chromosome sorting using optical tweezers^[56-57]. (a) A rice root meristem cell observed; (b) cell fragmented by the laser scalpel; (c) fluorescent image of the same cell crushed by the laser scalpel, showing tiny bright rods clearly distinct from each other; (d)~(f) chromosome remains in the centre of the black cross, whereas other oddments move away from the area as the stage moves; (g)~(h) collection of the sorted chromosome using a capillary

4.1.2 测量细胞膜的弹性

用光镊技术进行细胞膜的弹性检测的方法很多, 如用双光镊捕获手柄拉伸细胞^[58], 双光束直接拉伸细胞^[59], 还有分时复用光镊^[60]等方法。如图9是单光镊牵拉细胞的方法, 将微球通过生化的方法与细胞表面结合, 细胞与样品室低端固定, 光镊控制微球, 通过压电平台带动样品室中的细胞运动, 细胞膜受到剪切力被拉伸, 测量细胞的形态变化量。图9(b), (c)中十字表示光阱位置。

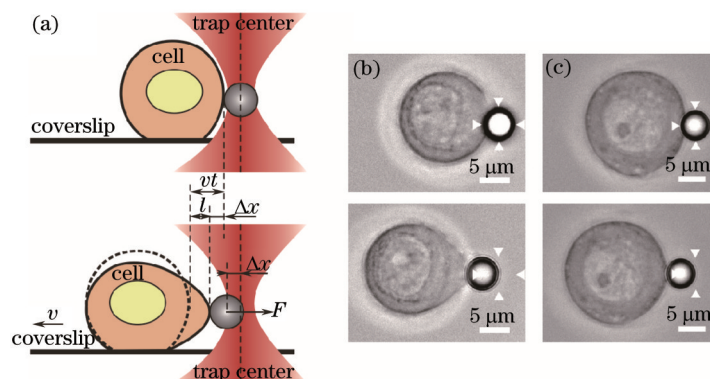


图9 光镊测量细胞膜弹性^[61]。(a) 光镊拉伸细胞的示意图; (b) 用药后细胞膜的变化量; (c) 没有加药细胞膜的变化

Fig.9 Stretching cells with optical tweezers^[61]. (a) Sketch of stretching; (b) stretching the cell with nocodazole treatment; (c) stretching the cell with no treatment

真核细胞内微管蛋白不停处于动态聚合和解聚过程中, 蛋白 TIP150 和蛋白 MCAK 协作调控了微管蛋白的塑性。微管蛋白塑性会影响细胞膜的软硬程度, 进而影响细胞间相互吞噬进程。光镊可以定量研究通过药物处理后特定蛋白分子调控的细胞膜的弹性, 以及细胞吞噬过程中膜弹性的变化, 研究微管蛋白弹性对细胞膜弹性的影响。

4.1.3 检测单个囊泡的拉曼光谱

拉曼光谱是研究物质成分和结构的重要工具。拉曼峰强度反映分子能级的拉曼活性, 拉曼位移(特征频率)表征分子的结构, 拉曼峰位置的改变反映物质应力的变化, 以及拉曼峰的宽度反映了物质组分的浓度^[62]。但大量的化学材料是微粒分散在溶液中, 微粒的不均匀性决定了必须在单个微粒水平上来表征它们。由于水的拉曼散射很弱, 非常利于能在液相中捕获单个微粒的光镊技术与拉曼光谱探测技术相结合, 拉曼光镊技术解决了长期以来难以探测物质微区拉曼信息的技术瓶颈^[63-66]。例如, 利用拉曼光镊捕获并测量了单个

蓝藻细胞的拉曼信号随时间的变化,研究了氮元素在细胞新陈代谢中的作用,以及用于研究新材料的结构和性质^[67]。

利用光镊控制单个 PNIPAM-b-PAzPy0 组装的囊泡,研究囊泡的聚或非聚集部分的拉曼信号,如图 10 所示,十字表示探测位置。双组份的囊泡在光阱的束缚下处于稳定状态,激发光分别激发囊泡的不同组分,获得相应组分的拉曼光谱。其激发位置精度可以达到微米量级。通过分析微区拉曼光谱,发现了间隔链长度的不同而导致的分子链亲疏水性的变化,以及偶氮吡啶基团的紫外光致顺反异构是导致 PNIPAM-b-PAzPy2 组装偶氮聚合物囊泡的形貌变化的主要原因。

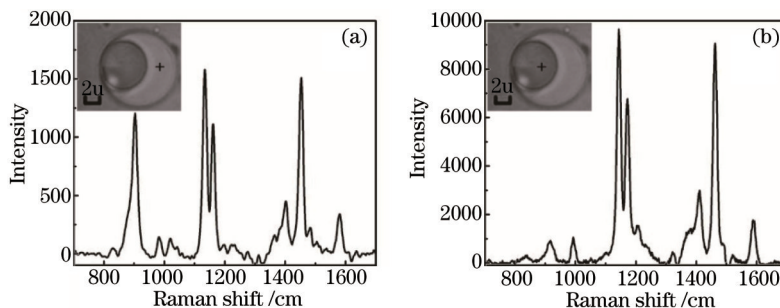


图 10 拉曼光镊研究囊泡的拉曼谱^[64-65]。(a) 聚集部分; (b) 非聚集部分

Fig.10 Raman spectra of vesicles by Raman optical tweezers^[64-65]. (a) Aggregation part; (b) non-aggregation part

单个微粒的拉曼光谱应用于表征物质的成分或结构变化、温度效应、检测光聚合反应、细胞的新陈代谢、囊泡中的药物释放以及光响应机制等。拉曼光镊技术是属于非破坏性、高灵敏度的新技术,为研究重大生物学基本问题和医学诊断提供了极好的切入点。拉曼光镊技术将会在分子水平上使各种单细胞探测、癌细胞识别、分选及动力学的研究进一步加快,尤其在生理生化研究、疾病排查、医学诊断、药理实验与生命规律的探讨方面将会越来越有潜力。

4.1.4 操控动物活体内红细胞

在活的动物体内研究细胞生长、迁移、细胞间及蛋白质间相互作用等生物学过程,对生命科学、医学研究以及临床诊断具有重大意义。而以往光镊技术仅限于体外的单分子和细胞的研究,2013年 Zhong 等^[68]用光镊直接深入到动物活体内,首次实现了对活体内红细胞的实时观察,操控与测量。该实验将光镊深入到小白鼠耳朵的毛细血管内操控单个或多个红细胞,利用光阱力聚集多个红细胞堵塞血管,或者用光镊牵引红细胞疏通被阻塞的毛细血管,如图 11 所示,开拓了光镊技术研究活体动物新领域。通过这种非接触式的微创手术进行的实验取证,为活体研究和临床诊断提供了一种全新的技术。图 11 中十字表示光阱中心,箭头指示血流方向。

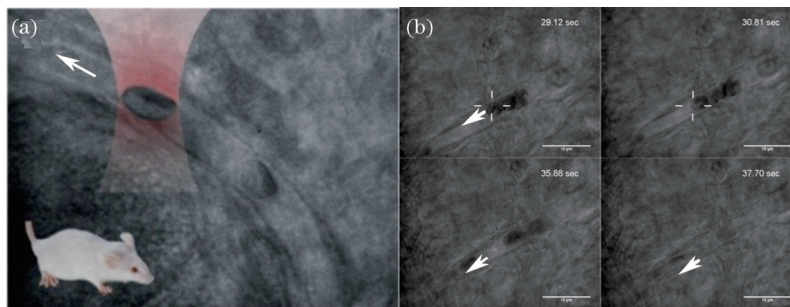


图 11 光镊技术操控活体动物内的红细胞^[68]。(a) 光镊操控小白鼠耳朵毛细血管中的红细胞示意图;

(b) 光镊诱导红细胞疏通血管恢复正常血液流动

Fig.11 Manipulation of the red blood cells in living animals^[68]. (a) Schematic diagram of the trapping of red blood cells in the capillary of a living mice; (b) optical tweezers clear a clogged capillary to restore the normal blood flow

光镊在细胞和细胞器层面上的应用都是基于对细胞整体的控制或物理形态的改变,不涉及对细胞的生化性质的改变。传统的细胞生物学研究的特点是耗时耗力,周期长,尽管新技术的介入在某些方面有长足的进步,但物种的生长周期是客观的,如细胞融合,单条染色体分选等诸如此类的研究是需要有后续的生物

学培养做后盾,所以涉及到细胞培养周期的成果也仅停留技术层面。但是可以相信,随着新技术的不断涌现,已经在很大程度上挑战了生命科学的传统方法。在众多的应用领域,无论是直接操控和间接测力,光镊最适合研究微米尺度的细胞,光镊技术在细胞研究领域将会有有一个非常鼎盛的发展。

4.2 光镊与单分子生物学

光镊技术的亚纳米线的空间分辨率和飞牛顿级的力分辨率正好满足了体外研究单个生物大分子的条件,如研究生物单分子水平的微小作用力及运动步幅,测量天然或变异的单分子的速度、力、位移、周期和其他的物理量来解译生命运动的规律。光镊能够实时跟踪生物分子运动,获取单分子静态和动态的力学性质,已被越来越多地用于研究生化或者生物物理的精细过程,为定量研究生命规律和改造生命活动提供了一种不可或缺的研究工具。

光镊是通过微米“手柄”小球对大分子进行间接操控和测量。目前测量的方法已发展有多种,如单光镊、双光镊、光镊与微针结合等,都有很好的应用。还有光镊与光致旋转、光镊与磁镊,以及光镊与全内反射荧光技术结合等,形成独特的技术和方法,有效地解决了相应的科学问题。

4.2.1 研究驱动蛋白的动力学特性

驱动蛋白是一种生物体内用于产生机械力的酶,它通过水解三磷酸腺苷(ATP)获得能量而沿着微管运动。

光镊研究驱动蛋白运动的实验方法如图 12(a)所示,将微管固定在玻片的表面,将驱动蛋白预敷在 200 nm 的硅基小球上,然后用光镊将小球放置到微管上。在驱动蛋白的带动下,小球会沿着微管进行运动。图 12(b)为驱动蛋白运动的实验分解图,在尺蠖模型(inchworm mechanism)中,驱动蛋白脚上的染料分子以 16.6, 0, 16.6 nm 的长度移动,如图 12(b)左所示。染料分子以一致的 8 nm 长度,如图 12(b)右所示。Paul Selvin 利用荧光分子标记马达的一头跟踪马达头的运动。荧光曲线显示单个马达头以 16 nm 的步长前进。实验结果再次证明了驱动蛋白的运动方式为移交手模型^[69]。

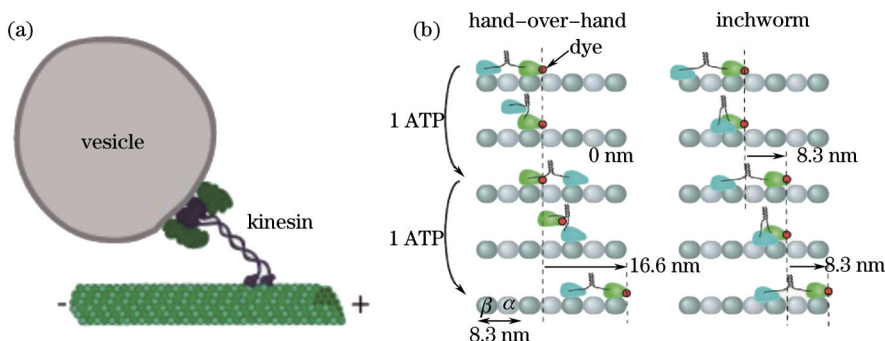


图 12 (a)光镊研究驱动蛋白运动的实验方法示意图; (b) 驱动蛋白的两种经典运动机制

Fig.12 (a) Experimental diagram of kinesin movement by optical tweezers; (b) examples of two alternative classes of mechanisms for processive movement by kinesin

Svoboda 等^[70]使用光镊-双光束干涉仪,首次观察到驱动蛋白分子如何将化学能转换为机械能的转换过程,并且这个转换过程是非连续的。发现驱动蛋白分子在其微管轨道上是以 8.3 nm 的步幅阶梯式前进,步距恰好与构成微管重复单元 α - β 二聚体的长度相等。精细研究表明驱动蛋白每步之间的时间间隔是随机的,阻止马达停止前进需要施加约 5 pN 的力,无负载时,每步消耗 1 个 ATP 分子,蛋白分子运动步长为约 8 nm^[70-72]。

4.2.2 研究血管性假血友病因子蛋白

凝血是一个重要的生理过程,凝血过少会引起流血致死,而凝血活动过多则导致血栓形成,凝血能力与血管性假血友病因子(vWF)蛋白的长短有关。2009年,Zhang 等^[73]利用光镊和微针相结合,研究了 vWF 蛋白的去折叠和折叠过程,成功操纵了单个蛋白分子并实时观测其细微的结构变化。研究发现,该蛋白 A2 结构域对拉力敏感,在约 10 pN 的力作用下 A2 会失去其三维结构而去折叠,展开后的 A2 则会被 ADAMTS13 蛋白酶剪切导致 vWF 长度减少,如图 13 所示。

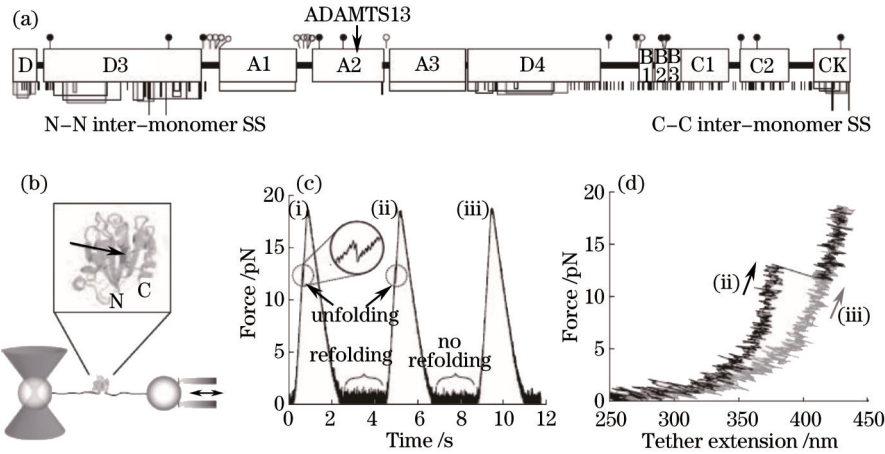


图 13 光镊研究血管性假血友病因子蛋白^[73]。(a) 蛋白结构示意图; (b) 光镊-微针法拉伸 DNA; (c),(d) 为拉伸结果, 箭头所示 A2 结构域在光镊力作用下的折叠或去折叠

Fig.13 Researches of vWF with laser tweezers. (a) Structure of vWF; (b) experimental method; (c),(d) force on a molecular tether during representative cycles of force increase, decrease, and clamping at a constant low level

人体通过 A2 这一精确的力传感器来调节血液中 vWF 的长短, 实验佐证了在凝血因子中是 A2 结构域行使了凝血功能。该研究成果从分子水平上加深了对人体凝血机制的理解, 为深入了解血液性疾病和血栓形成, 以及对于凝血有关的各类疾病的诊断和治疗提供重要的科学依据。

4.2.3 研究核糖体运动规律

核糖体是细胞内蛋白质合成的场所, 它通过读取信使核糖核酸 mRNA 核苷酸序列所包含的遗传信息, 并使之转化为蛋白质中氨基酸的序列信息以合成蛋白质。因此, 核糖体在生物的生命活动中具有非常重要的生理作用。2008 年 Wen 等^[74]研究了核糖体在翻译过程中的动力学特性, 即其沿着信使 RNA 运动的精细动力学过程, 并首次证明了核糖体在易位运动中存在 3 个亚步, 如图 14 所示。

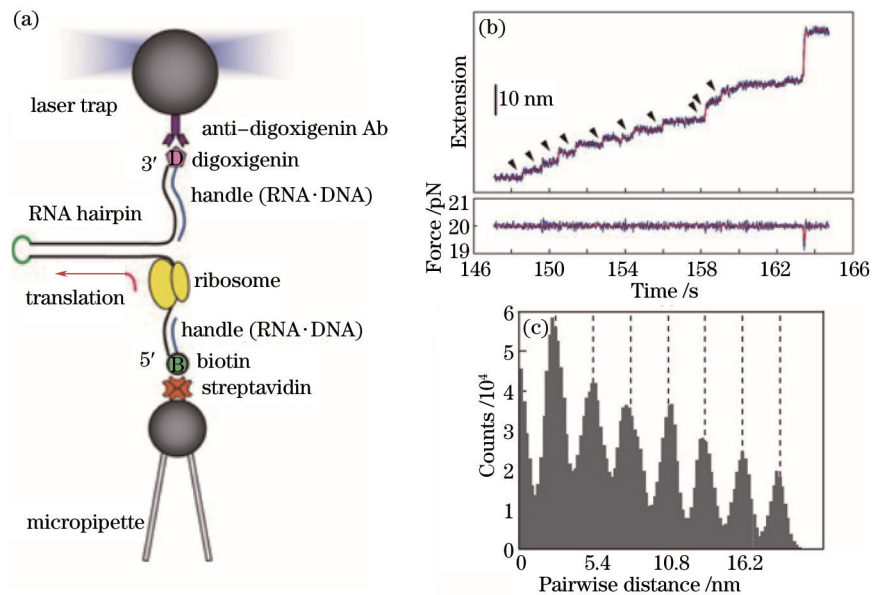


图 14 光镊研究核糖体运动^[74]。(a) 原理图; (b) 核糖体运动的“位移-时间”关系曲线; (c) 转录过程中每一次暂停生物分子长度改变为 2.7 nm

Fig.14 Experimental study of single ribosomes with optical tweezers^[74]. (a) Principle diagram; (b) extension and force trajectories during translation; (c) pairwise distance analysis of the extension trajectory

单分子实验技术的进步使生命科学发展到单分子生物学的新世代, 目前可以用于单分子的实验手段主要有光镊、磁镊、原子力显微镜等。而光镊技术的优秀微观操纵能力能够实时跟踪生物分子运动, 获取单分

子静态和动态的力学性质,研究生物单分子水平的微小作用力及运动步幅的精细过程,使其成为单分子生物学领域中一种不可或缺的研究技术。有望在推进分子力学,分子机械学、分子水平仿真优化设计等一系列研究中发挥重要作用。

4.3 光镊与软物质胶体科学

分散体系是指一种或几种物质分散在另一种物质中的体系,被分散的微粒直径在微纳米尺度,如油漆、涂料、洗涤剂、墨水、牛奶和血液等等。研究分散体系都涉及到微小宏观微粒与流体相互作用这样一个基本问题。直接通过实验研究很困难,而理想化的理论与错综复杂的实际情形差异又很大,所以该领域的进一步发展几乎决定性地依赖于对单个微粒相互作用过程的研究。光镊的特点是可以限制微粒的运动,帮助研究人员在严密控制的条件下精确观测单个微粒的动力学过程。如利用光镊研究微粒相互作用势^[75],长程引力相互作用^[76],研究布朗运动和扩散以及其他动力学性质,研究流体动力学相互作用^[77],两分散体系混合液的性质,测量微粒在流体中受的粘滞作用等。光镊是在微粒层次对胶体科学进行实验研究的重要工具。

4.3.1 研究分散体系结合几率

徐升华利用光镊捕获微粒,使两微粒碰撞在显微镜焦平面附近发生并直接进行观察。通过大量的碰撞后两个微粒结合与分散,可得到相互作用的直接信息。研究的基本思想是,先用光镊捕获一个微粒,然后再捕获第二个微粒,短时间关闭光镊后,观察两个微粒结合与否,对大量的重复实验进行统计,从而获得两个微粒碰撞后的结合几率。

图 15 中给出了光镊操控微粒的三种状态,两个微粒先后被光镊捕获在光阱中沿光轴方向排列,如图 15(a) 所示(箭头指向光传播方向);一定时间后关掉光镊,观测两微粒分开或结合,如图 15(c)或图 15(d)所示。图 15(e)(箭头指示光镊控制微粒旋转的方向)表示两个微粒结合在一起,但在一定的外力作用下还能相对运动,表现结合的松散状态。通过大量统计得到结合率、两个微粒在光阱中停留的时间对结合率的影响等。

利用光镊研究分散体系聚集行为的微观方法,从实验中得到了二微粒体系的一次碰撞的微粒聚集率和分散体系的稳定率。提出了一个由紧密状态过渡到松弛状态的物理模型解释实验规律^[78]。微粒之间的空间相互作用和空缺相互作用的势能也已经用类似光镊进行了测量^[79]。这种实验方法验证了以往理论的正确性,同时也发现了有些理论缺陷,为微粒之间相互作用力理论的修正提供了实验基础。光镊研究使用样品的量很少,可用于分散剂的筛选。

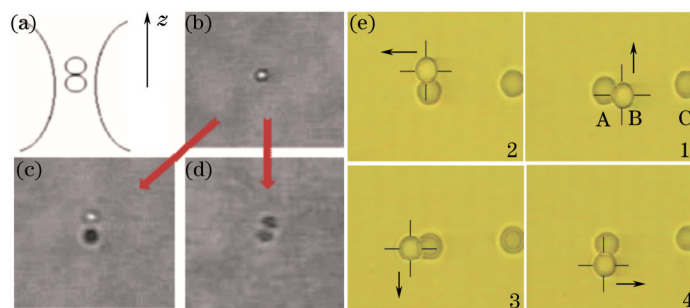


图 15 胶体微粒结合性质的研究^[78]。(a) 两个微粒在光阱中的示意图;(b) 两个微粒在光阱中的像,垂直光场观测;(c) 分散状态;(d) 聚集状态;(e) 松散状态

Fig. 15 Microscopic approach to study colloidal stability^[78]. (a) Diagram of two particles trapped in the optical trap; (b) particle pair in the trap will separate upon release; (c) particle pair in the trap has been coagulation; (e) two particle are connected, but not coagulation

4.3.2 测量线性小球链的结合力

利用扫描光镊捕获和操控多个胶体微粒,依靠微粒间自身的相互吸引力,结合成简单的线性小球链,如图 16(a)~(e)。然后用双光镊沿着小球链的方向拉伸小球链,直到小球链中的某处断开,这时的光镊的作用力即为此状态条件下微粒的结合力^[80-81],如图 16(f)所示。

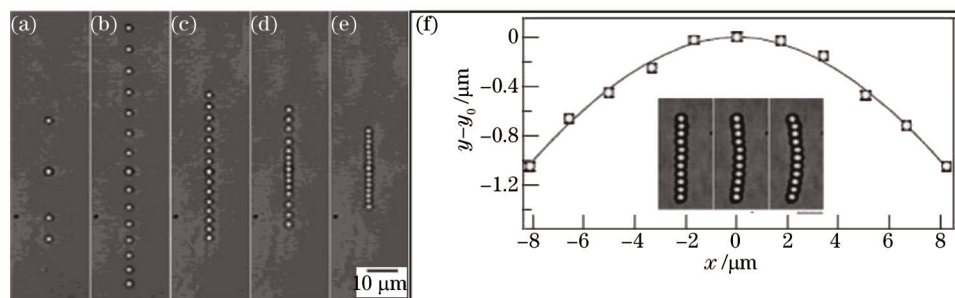


图 16 (a)~(e) 扫描光镊排布线性小球链^[80]; (f) 测量小球链的力学性质^[81]

Fig.16 (a)~(e) Discrete trapping method for assembling colloidal aggregates^[80]; (f) mechanical property for measuring particle aggregate^[81]

光镊研究表明,胶体小球间的结合能承受一定力矩,可直接测量出小球间的剪切相互作用。在临界力矩之下,小球链为弹性弯曲,超过临界力矩小球链会产生塑性形变。这些研究结果对胶体体系性质的微观理解有重要意义,为光镊研究胶体体系开拓了思路。

在光镊研究分散体系领域,往往通过研究物体中微粒的布朗运动的特性来了解微粒的性质。在光阱中的微粒受到光阱力的束缚,所以微粒是做受限布朗运动。光镊操控界面之间的微粒,通过测量微粒由于布朗运动导致的位移,进而研究界面对微粒运动的影响,研究自由面与固体界面内微粒的流体力学行为,进行微区流变学的测量^[82-83]。

分散体系中的微粒的相互作用十分复杂,这些相互作用力的来源包括重力、布朗运动的随机力、表面张力、与流体动力学有关的力、静电力、范德华力等。众多的力相互作用,理论研究也只限于为数不多的理想情况,有些理论预言和实验结果还存在很大的分歧。光镊可以直接用于操控微小微粒,是研究分散体系微粒的相互作用的一个十分重要的工具。

4.4 光镊与物理学

光镊在物理学领域应用,可以证实以前无法通过实验验证的物理规律,增进人们对于已有的物理现象和规律的认识,还能为物理的其他学科领域提供新的研究方法和实验技术,例如在光的力学效应验证和力的精确测量^[84]、声学显微^[85]、布朗运动^[86-87]、纳米技术^[88]、量子力学^[89]等应用,表明光镊正日益成为促进物理学进展的重要工具。

4.4.1 布朗运动的新认识

1907年,爱因斯坦认为能量均分定理适用于布朗微粒,但是因为单个微粒的瞬时速度变化太快,所以这个预言难以从实验上直接证明。2010年,Science杂志报道,采用光镊技术在真空中测量了微粒的瞬时速度,首次从实验上成功地验证了布朗微粒符合能量均分定理^[86]。

光镊测量布朗粒子的瞬时速度的方法,如图 17(a)所示。利用两束正交偏振相向传播的光束形成的光阱将 $3\ \mu\text{m}$ 小球悬浮在空中。采用快速的位置探测器,严格均等分开的两束探测光强信号的差别获取小球位置信息。系统测量的是 x 方向位移随时间的变化,得到小球的速度分布曲线如图 17(b)所示。其中实线是麦克斯韦-玻尔兹曼速度分布曲线,三角信号是噪声,测量得到单个微粒的布朗运动的瞬时速度约等于 $0.422\ \text{mm/s}$,实验误差为 $0.021\ \text{mm/s}$ 。与能量均分定理的预期值 ($\sqrt{k_B T/m} = 0.429\ \text{mm/s}$) 很接近,从而直接证明了布朗运动的麦克斯韦-玻尔兹曼速度分布和能量均分定理。

该研究第一次实验揭示了布朗粒子在真空中运动的全过程。对布朗运动的精细研究使人们对布朗运动有了新的认识,也为这个古老的物理学分支注入了新的活力。Pusey 等^[90]评论布朗运动的研究已经开始进入到冲击区域,这也必将推动其在其他科学领域的应用。

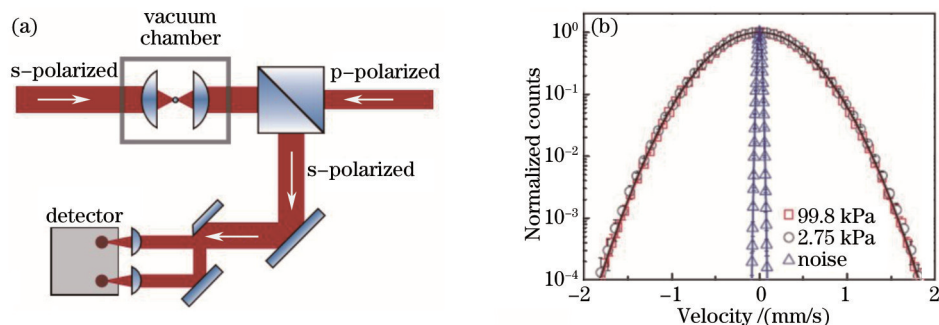


图 17 光镊测量微粒布朗运动的瞬时速度^[86]。(a) 实验装置原理图; (b) 微粒的布朗运动瞬时速度分布曲线
Fig.17 Instantaneous velocity of the Brownian particle using optical tweezers^[86]. (a) Experiment device schematic;
(b) distribution of the measured instantaneous velocities of a bead

4.4.2 光镊操控金刚石氮-空位色心

金刚石氮-空位(NV)色心近年来受到广泛关注,因为它在量子光学、生物荧光标记等领域中有着非常广阔的应用前景。特别是,NV的荧光非常稳定,可以作为一种良好的单光子源^[91]。此外,由于NV的电子自旋相干时间可达毫秒量级,它被认为在未来的量子计算机研制中十分具有潜力。NV也可作为纳米尺寸的传感器,用于磁场、电场、温度等物理量的测量^[92]。如何控制金刚石中的NV色心纳米颗粒是其应用中的一个技术瓶颈,然而具有操控微粒功能的光镊技术则能恰到好处地解决这个困难。

最近,光镊被用于操控纳米金刚石NV色心来测量基态电子自旋信号^[93]。实验中一束激光用于光镊三维捕获和操控金刚石纳米粒子,如图18(a)所示,另一束激光用于激发镶嵌在金刚石中的NV色心,这时可用微波测量技术来定量测量NV色心的电子自旋信号。如图18(b)~(c)所示,实验中当捕获激光打开的时候,可以测量的明显的自旋信号;而当激光关闭时,没有明显的信号,这是由于光阱可以将NV色心捕获到焦点位置用于测量,而光镊关闭时,金刚石纳米粒子会由于布朗运动离开焦点位置导致信号消失。所以,光镊为NV色心的测量和应用提供了重要的捕获和操控技术,可以进一步用于测试量子引力等^[94]。

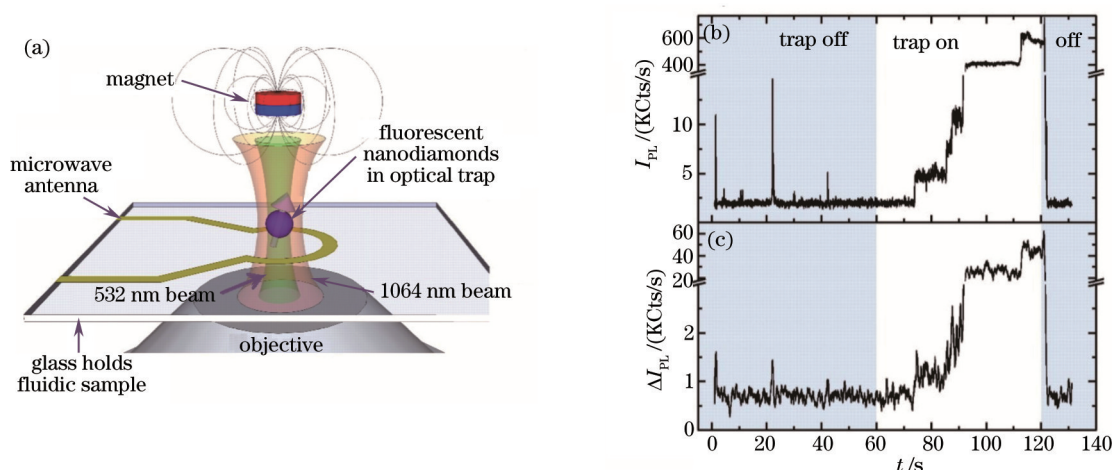


图 18 光捕获金刚石NV色心电子自旋信号的测量^[93]。(a) 实验装置; (b)~(c) 在捕获光开启和关闭的前后, NV色心的电子自旋信号

Fig.18 Electron spin resonance of NV centers in optically trapped nanodiamonds^[93]. (a) Experiment device;
(b)~(c) electron spin resonance of NV centers before and after turning on the trapping beam

5 光镊技术的发展态势

检索光镊研究论文的增长趋势,在重要期刊发表的数量,光镊技术的专利,这些资料充分表明了光镊技术的应用研究成果的前瞻性和创新性,并且,光镊技术正迈向美好未来,广泛应用于各领域的研究。

5.1 研究工作的科学价值

光镊技术及其应用的研究论文,2014年统计如图 19 所示,表明每年有大量的研究成果发表在国际顶级学术期刊上。可见光镊技术有其不可替代性的特点,能够解决重要的科学问题,受到国际科学界的高度重视。

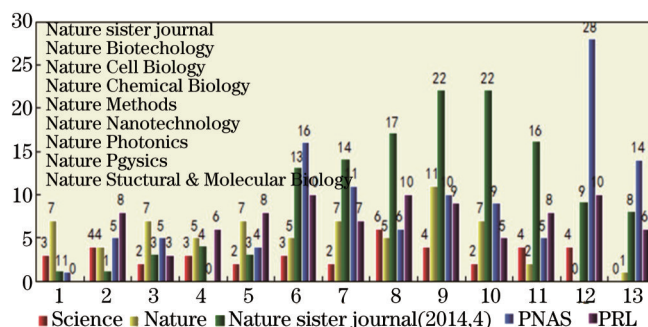


图 19 光镊在国际顶级期刊上近十年发表论文的篇数统计

Fig.19 Statistics of the papers published in world-class journals over the last ten years, which is related to optical tweezers

利用 SCI(Web of Science)数据库,通过关键字 optical tweezers,对 2000 年到 2013 年发表于国际顶级期刊的论文进行了检索,期刊包括 Science、Nature、Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)、Physical Review Letters (PRL) 以及部分 Nature 子刊(Nature Communication、Nature Physics、Nature Photonics、Nature Nanotechnology、Nature Biotechnology、Nature Cell Biology、Nature Chemical Biology、Nature Methods)。

通过图表不难看出,在十年多的时间里,光镊相关的论文总数逐年递增,并有望保持此趋势。

5.2 研究论文的发展态势

2014 年 1 月在 Web of Science 扩展版(SCI-E)网和中国知网(CNKI)数据库检索,关键词为“optical tweezers”的文章数目近十三年呈快速增长趋势,2013 年文章数达到 734 篇/年,如图 20。

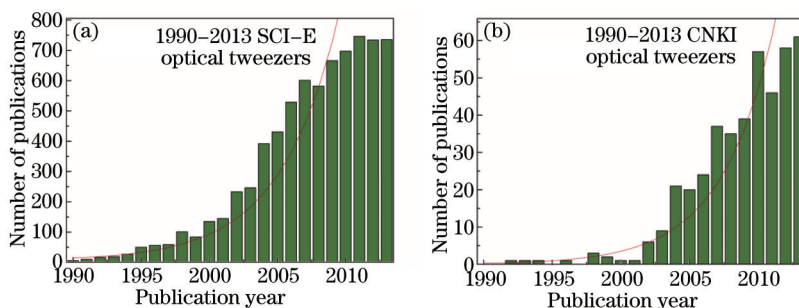


图 20 “光镊”为关键词的文章年份统计

Fig.20 Development trend of published papers in which optical tweezers is the keyword in terms of years

关于光镊的论文的引用率,除了 Ashkin 关于光镊开拓性的论文,引用次数超过千次的有 Block 教授组于 1993 年发表在 Nature 杂志上的有关 Kinesin 马达步进运动的文章^[70],这个工作开拓了光镊定量研究单分子的领域,纽约州立大学的 Girer 教授是全息光镊的发明者,2003 年在 Nature 杂志上预言全息光镊将会给光捕获带来革命性的发展^[21]。

5.3 技术专利的情况分析

光镊专利检索使用的是 Innography 专利检索与分析平台,它包含 91 个国家和地区的发明专利、部分国家的实用新型和外观设计等。其中代表性的国家和地区专利组织机构有:美国专利商标局、日本特许厅、英国专利局、法国专利局、德国专利局、中国知识产权局、韩国专利局、欧洲专利局、世界知识产权组织等。

图 21 表明,光镊技术专利自 1993 年起,之后的十年专利数量呈现快速的上升趋势,说明该时间段属于光镊技术早期研发成型阶段;2004 年后至今公开专利数量在高位保持平稳趋势,说明光镊技术日渐成熟,技术发展到达繁荣期。随着技术的成熟,光镊正在迅速转向应用。

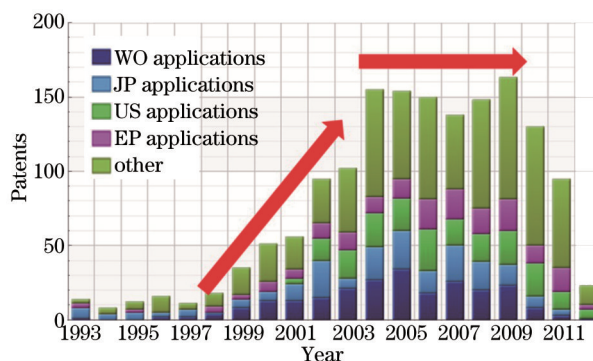


图 21 光镊专利公开年份柱状图(2014年)

Fig.21 Histogram of patents related with optical tweezers in terms of years (2014)

光镊技术专利主要分布在美、日、欧等地区,领先的企业专利权人为美国的 Arryx、Arcturus,德国的 PAML Microlaser、莱卡公司。光镊领域发展了 20 年左右,专利总数量不大。

6 结 语

自 1986 年美国科学家 Ashkin 在发明光镊的同时就建立了光镊仪器的雏形。最初阶段,国际上仅少数著名大学及科研机构的研究人员根据自己的研究需要搭建了不同形式的光镊实验装置。随着光镊技术的逐步成熟和应用的需求,应用范围也不断扩大。光镊技术能方便地与其他多种光学技术衔接,如与激光微束、荧光激发、共焦扫描显微镜、喇曼光谱仪等结合,光镊技术自身已从微米精度的操控与探测发展到了纳米精度的操控与探测。由单光镊到多光镊,线性光镊到旋转光镊等形成了光镊的大家族。光镊技术从深度和广度而言,已迈入了一个具有独立内涵和外延的新技术领域。特别是光镊微纳操控与高分辨率成像以及数字图像分析紧密结合,已形成了一种强大的用于单分子单细胞和微观实验的技术平台。光镊技术已经打开了许多可能的应用途径,将会为 21 世纪许多新科学提供发展契机。光镊的潜在发展趋势和市场需求正引起商家的关注,光镊产业也在逐步形成。

经过 30 年潜心研究,光镊领域正迎接技术应用蓬勃发展的未来。近年来,国内参与光镊技术研究的课题组越来越多,然而大多数集中于理论研究,涉及实验的较少^[39,95-98]。对光镊技术的全面深入了解和对仪器的需求已成为该领域发展的迫切需求。本综述仅仅是初略地俯览了光镊领域,一本全面阐述光镊技术的著作将在 2015 年世界光学年与读者见面。其意义在于,一方面学科发展到现阶段,本身需要梳理总结以便明确今后的研究方向;另一方面,为更多科技人员全面系统地了解 and 参与该领域研究提供方便,为该领域深入研究创造新的发展契机。

参 考 文 献

- 1 A Ashkin, J Dziedzic, J Bjorkholm, *et al.*. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles[J]. *Opt Lett*, 1986, 11(5): 288-290.
- 2 李银妹, 操传顺, 崔国强. 近十年来光镊研究的进展[J]. *科学通报*, 1997, 40(20): 2129-2133.
- 3 G Roosen, S Slankys. Influence of the beam divergence on the exerted force on a sphere by a laser beam and required conditions for stable optical levitation[J]. *Opt Commun*, 1979, 29(3): 341-346.
- 4 R Gussgard, T Lindmo, I Brevik. Calculation of the trapping force in a strongly focused laser-beam[J]. *J Opt Society Am B*, 1992, 9(10): 1922-1930.
- 5 J Guck, R Ananthakrishnan, T J Moon, *et al.*. Optical deformability of soft biological dielectrics[J]. *Phys Rev Lett*, 2000, 84(23): 5451-5454.
- 6 K B Im, D Y Lee, H I Kim, *et al.*. Calculation of optical trapping forces on microspheres in the ray optics regime[J]. *Journal of the Korean Physical Society*, 2002, 40(5): 930-933.
- 7 M Gu, P C Ke, X S Gan. Trapping force by a high numerical-aperture microscope objective obeying the sine condition[J]. *Rev Sci Instrum*, 1997, 68(10): 3666-3668.

- 8 E Fällman, O Axner. Influence of a glass-water interface on the on-axis trapping of micrometer-sized spherical objects by optical tweezers[J]. *Appl Opt*, 2003, 42(19): 3915-3926.
- 9 S H Xu, Y M Li, L R Lou. Axial optical trapping forces on two particles trapped simultaneously by optical tweezers[J]. *Appl Opt*, 2005, 44(13): 2667-2672.
- 10 X C Yao, Z L Li, H L Guo, *et al.*. Effect of spherical aberration introduced by water solution on trapping force[J]. *Chin Phys*, 2000, 9(11): 824-826.
- 11 Z Gong, Z Wang, Y M Li, *et al.*. Axial deviation of an optically trapped particle in trapping force calibration using the drag force method[J]. *Opt Commun*, 2007, 273(1): 37-42.
- 12 J H Zhou, H L Ren, J Cai, *et al.*. Ray-tracing methodology: application of spatial analytic geometry in the ray-optic model of optical tweezers[J]. *Appl Opt*, 2008, 47(33): 6307-6314.
- 13 J H Zhou, M C Zhong, Z Q Wang, *et al.*. Calculation of optical forces on an ellipsoid using vectorial ray tracing method[J]. *Opt Express*, 2012, 20(14): 14928-14937.
- 14 G Gouesbet, B Maheu, G Gréhan. Light scattering from a sphere arbitrarily located in a Gaussian beam, using a Bromwich formulation [J]. *J Opt Soc Am A*, 1988, 5(9): 1427-1443.
- 15 A Rohrbach, E H K Stelzer. Optical trapping of dielectric particles in arbitrary fields[J]. *J Opt Soc Am A*, 2001, 18(4): 839-853.
- 16 D B Phillips, M J Padgett, Hanna S, *et al.*. Shape-induced force fields in optical trapping[J]. *Nat Photon*, 2014, 8(5): 400-405.
- 17 Chen Guanxiong, Zhou Jinhua, Ren Yuxuan, *et al.*. Manipulating metallic particles using optical tweezers[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2009, 46(6): 32-38.
陈冠雄, 周金华, 任煜轩, 等. 操控金属粒子的光镊技术[J]. *激光与光电子学进展*, 2009, 46(5): 32-38.
- 18 Y Harada, T Asakura. Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime[J]. *Opt Commun*, 1996, 124(5-6): 529-541.
- 19 P Zemánek, A Jonáš, L Šrámek, *et al.*. Optical trapping of Rayleigh particles using a Gaussian standing wave[J]. *Opt Commun*, 1998, 151(4-6): 273-285.
- 20 C W Qiu, D Palima, A Novitsky, *et al.*. Engineering light-matter interaction for emerging optical manipulation applications[J]. *Nanophotonics*, 2014, 3(3): 181-201.
- 21 Ren Yuxuan, Zhou Jinhua, Wu Jianguang, *et al.*. Holographic tweezers—the most vigorous member in optical tweezers’ family[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2008, 45(11): 35-41.
任煜轩, 周金华, 吴建光, 等. 全息光镊—光镊家族中极具活力的成员[J]. *激光与光电子学进展*, 2008, 45(11): 35-41.
- 22 D G Grier. A revolution in optical manipulation[J]. *Nature*, 2003, 424(6950): 810-816.
- 23 M R Dennis, K O’Holleran, M J Padgett. Singular optics: optical vortices and polarization singularities[J]. *Prog Opt*, 2009, 53: 293-363.
- 24 Gao Hongfang, Ren Yuxuan, Liu Weiwei, *et al.*. Rotation dynamics of yeast cell in vortex optical tweezers[J]. *Chinese J Lasers*, 2011, 38(4): 0404002.
高红芳, 任煜轩, 刘伟伟, 等. 酵母细胞在涡旋光阱中的旋转动力学研究[J]. *中国激光*, 2011, 38(4): 0404002.
- 25 K Gahagan, G Swartzlander Jr. Optical vortex trapping of particles[J]. *Opt Lett*, 1996, 21(11): 827-829.
- 26 G Molina Terriza, J P Torres, L Torner. Twisted photons[J]. *Nature Phys*, 2007, 3(5): 305-310.
- 27 F Wu, Y Chen, D Guo. Nanosecond pulsed Bessel-Gauss beam generated directly from a Nd:YAG axicon-based resonator[J]. *Appl Opt*, 2007, 46(22): 4943-4947.
- 28 Z Zheng, B F Zhang, H Chen, *et al.*. Optical trapping with focused Airy beams[J]. *Appl Opt*, 2011, 50(1): 43-49.
- 29 V GarcésChávez, D McGloin, H Melville, *et al.*. Simultaneous micromanipulation in multiple planes using a self-reconstructing light beam[J]. *Nature*, 2002, 419(6903): 145-147.
- 30 C Lpez-Mariscal, J C GutiérrezVega, G Milne, *et al.*. Orbital angular momentum transfer in helical Mathieu beams[J]. *Opt Express*, 2006, 14(9): 4182-4187.
- 31 M A Bandres, J C Gutiérrez Vega, S Chávez Cerda. Parabolic nondiffracting optical wave fields[J]. *Opt Lett*, 2004, 29(1): 44-46.
- 32 G Siviloglou, J Broky, A Dogariu, *et al.*. Observation of accelerating Airy beams[J]. *Phys Rev Lett*, 2007, 99(21): 213901.
- 33 J Baumgartl, M Mazilu, K Dholakia. Optically mediated particle clearing using Airy wavepackets[J]. *Nature Photonics*, 2008, 2(11): 675-678.
- 34 P Zhang, Y Hu, T Li, *et al.*. Nonparaxial Mathieu and Weber accelerating beams[J]. *Phys Rev Lett*, 2012, 109(19): 193901.
- 35 V R Daria, D Z Palima, J Glückstad. Optical twists in phase and amplitude[J]. *Opt Express*, 2011, 19(2): 476-481.

- 36 Q Zhan. Cylindrical vector beams: from mathematical concepts to applications[J]. *Adv Opt Photon*, 2009, 1(1): 1–57.
- 37 M Donato, S Vasi, R Sayed, *et al.*. Optical trapping of nanotubes with cylindrical vector beams[J]. *Opt Lett*, 2012, 37(16): 3381–3383.
- 38 Liu Weiwei, Ren Yuxuan, Gao Hongfang, *et al.*. Aberration in holographic array optical tweezers corrected with Zernike polynomials[J]. *Acta Physica Sinica*, 2012, 61(18): 188701.
刘伟伟, 任煜轩, 高红芳, 等. 泽尼克多项式校正全息阵列光镊像差的实验研究[J]. *物理学报*, 2012, 61(18): 188701.
- 39 Sun Qing, Ren Yuxuan, Yao Kun, *et al.*. Algorithm for diffractive optical element of array optical tweezers[J]. *Chinese J Lasers*, 2011, 38(1): 0109003.
孙 晴, 任煜轩, 姚 焜, 等. 阵列光镊衍射元件的算法设计[J]. *中国激光*, 2011, 38(1): 0109003.
- 40 R Bowman, G Gibson, D Carberry, *et al.*. iTweezers: Optical micromanipulation controlled by an Apple iPad[J]. *J Opt*, 2011, 13(4): 044002.
- 41 E Theofanidou, L Wilson, W J Hossack, *et al.*. Spherical aberration correction for optical tweezers[J]. *Opt Commun*, 2004, 236(1): 145–150.
- 42 K D Wulff, D G Cole, R L Clark, *et al.*. Aberration correction in holographic optical tweezers[J]. *Opt Express*, 2006, 14(9): 4169–4174.
- 43 Chen Hongtao, Li Yinmei, Lou Liren, *et al.*. Experimental conditions dependence of trap stiffness in optical tweezers[J]. *Chinese J Lasers*, 2004, 31(11): 1361–1366.
陈洪涛, 李银妹, 楼立人, 等. 光阱刚度与实验条件的依赖关系[J]. *中国激光*, 2004, 31(11): 1361–1366.
- 44 M C Zhong, J H Zhou, Y X Ren, *et al.*. Rotation of birefringent particles in optical tweezers with spherical aberration[J]. *Appl Opt*, 2009, 48(22): 4397–4402.
- 45 M C Zhong, L Gong, J H Zhou, *et al.*. Optical trapping of red blood cells in living animals with a water immersion objective[J]. *Opt Lett*, 2013, 38(23): 5134–5137.
- 46 S M Block, L S Goldstein, B J Schnapp. Bead movement by single kinesin molecules studied with optical tweezers[J]. *Nature*, 1990, 348(6299): 348.
- 47 C Cecconi, E A Shank, C Bustamante, *et al.*. Direct observation of the three-state folding of a single protein molecule[J]. *Science*, 2005, 309(5743): 2057–2060.
- 48 P R Selvin, Taekjip Ha. Single-Molecule Techniques: A Laboratory Manual[M]. Luo Jianhong Transl.. Beijing: Science Press, 2010.
P R 塞尔文, 河泽集. 单分子技术实验指南[M]. 罗建红译. 北京: 科学出版社, 2010.
- 49 A R Carter, Y Seol, T T Perkins. Precision surface-coupled optical-trapping assay with one-basepair resolution[J]. *Biophys J*, 2009, 96(7): 2926–2934.
- 50 L Nugent Glandorf, T T Perkins. Measuring 0.1 nm motion in 1 ms in an optical microscope with differential back-focal-plane detection[J]. *Opt Lett*, 2004, 29(22): 2611–2613.
- 51 J R Moffitt, Y R Chemla, D Izhaky, *et al.*. Differential detection of dual traps improves the spatial resolution of optical tweezers[J]. *Proc National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(24): 9006–9011.
- 52 F Gittes, C F Schmidt. Signals and noise in micromechanical measurements[J]. *Methods in Cell Biology*, 1997, 55: 129–156.
- 53 F Czerwinski, A C Richardson, L B Oddershede. Quantifying noise in optical tweezers by Allan variance[J]. *Opt Express*, 2009, 17(15): 13255–13269.
- 54 A Ashkin, J M Dziedzic, T Yamane. Optical trapping and manipulation of single cells using infrared-laser beams[J]. *Nature*, 1987, 330(6150): 769–771.
- 55 H Liang, M W Berns. Astral and spindle forces in PtK2 cells during anaphase B: a laser microbeam study[J]. *J Cell Science*, 1993, 104(4): 1207–1216.
- 56 Wang Haowei, Liu Xiaohui, Li Yinmei, *et al.*. Optical technic of isolation a single chromosome[J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2004, 20(1): 50–56.
王浩威, 刘晓辉, 李银妹, 等. 应用光学微操作技术分选单条水稻染色体[J]. *生物物理学报*, 2004, 20(1): 50–56.
- 57 H W Wang, X H Liu, Y M Li, *et al.*. Isolation of a single rice chromosome by optical micromanipulation[J]. *J Opt a-Pure Appl Opt*, 2004, 6(1): 89–93.
- 58 S Henon, G Lenormand, A Richert, *et al.*. A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers[J]. *Biophys J*, 1999, 76(2): 1145–1151.
- 59 P B Bareil, Y Sheng, Y Q Chen, *et al.*. Calculation of spherical red blood cell deformation in a dual-beam optical stretcher[J]. *Opt Express*, 2007, 15(24): 16029–16034.
- 60 M T Wei, A Zaorski, H C Yalcin, *et al.*. A comparative study of living cell micromechanical properties by oscillatory optical tweezers

- [J]. *Opt Express*, 2008, 16(12): 8594–8603.
- 61 P Xia, J Zhou, X Song, *et al.*. Aurora A orchestrates entosis by regulating a dynamic MCAK – TIP150 interaction[J]. *J Mol Cell Biology*, 2014, 6(3): 240–254.
- 62 Zhang Yong, Ye Anpei, Wen Cheng. A micro-Raman Spectroscopy combing with optical tweezers[J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, 30(2): 491–497.
张 勇, 叶安培, 闻 丞. 一种与光镊结合的显微拉曼光谱技术[J]. *光学学报*, 2010, 30(2): 491–497.
- 63 J. W. Chan. Recent advances in laser tweezers Raman spectroscopy (LTRS) for label-free analysis of single cells[J]. *J Biophotonics*, 2013, 6(1): 36–48.
- 64 G Shen, G Xue, J Cai, *et al.*. Photo-induced reversible uniform to Janus shape change of vesicles composed of PNIPAM-b-PAzPy2 [J]. *Soft Matter*, 2013, 9(8): 2512–2517.
- 65 G Shen, G Xue, J Cai, *et al.*. In situ observation of azobenzene isomerization along with photo-induced swelling of cross-linked vesicles by laser-trapping Raman spectroscopy[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(35): 9127–9131.
- 66 G Xue, K Chen, G Shen, *et al.*. Phase-separation and photoresponse in binary azobenzene-containing polymer vesicles[J]. *Colloid Surface A*, 2013, 436(0): 1007–1012.
- 67 H Wu, J V Volponi, A E Oliver, *et al.*. In vivo lipidomics using single-cell Raman spectroscopy[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2011, 108(9): 3809–3814.
- 68 M C Zhong, X B Wei, J H Zhou, *et al.*. Trapping red blood cells in living animals using optical tweezers[J]. *Nature Commun*, 2013, 4: 1768.
- 69 A Yildiz, M Tomishige, R D Vale, *et al.*. Kinesin walks hand-over-hand[J]. *Science*, 2004, 303(5658): 676–678.
- 70 K Svoboda, C F Schmidt, B J Schnapp, *et al.*. Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry[J]. *Nature*, 1993, 365(6448): 721–727.
- 71 S M Block, L S Goldstein, B J Schnapp. Bead movement by single kinesin molecules studied with optical tweezers[J]. *Nature*, 1990, 348: 348–352.
- 72 M J Schnitzer, S M Block. Kinesin hydrolyses one ATP per 8-nm step[J]. *Nature*, 1997, 388(6640): 386–390.
- 73 X Zhang, K Halvorsen, C Z Zhang, *et al.*. Mechanoenzymatic cleavage of the ultralarge vascular protein von Willebrand factor[J]. *Science*, 2009, 324(5932): 1330–1334.
- 74 J D Wen, L Lancaster, C Hodges, *et al.*. Following translation by single ribosomes one codon at a time[J]. *Nature*, 2008, 452(7187): 598–603.
- 75 Ren Hongliang, Zhuang Lihui, Li Yinmei. Measurement of interaction potential between colloidal particales using dual optical tweezers[J]. *Chinese J Lasers*, 2008, 35(1): 151–155.
任洪亮, 庄礼辉, 李银妹. 双光镊测量胶体微粒间相互作用势[J]. *中国激光*, 2008, 35(1): 151–155.
- 76 J C Crocker, D G Grier. When like charges attract: the effects of geometrical confinement on long-range colloidal interactions[J]. *Phys Rev Lett*, 1996, 77(9): 1897–1990.
- 77 J Crocker, J Matteo, A Dinsmore, *et al.*. Entropic attraction and repulsion in binary colloids probed with a line optical tweezer[J]. *Phys Rev Lett*, 1999, 82(21): 4352–4355.
- 78 Z Sun, S Xu, G Dai, *et al.*. A microscopic approach to studying colloidal stability[J]. *J Chem Phys*, 2003, 119(4): 2399–2405.
- 79 Xu Shenghua, Li Yinmei, Lou Liren, *et al.*. Computer simulation of the collision frequency of two particles in optical tweezers[J]. *Chin Phys*, 2005, 14(2): 382–385.
- 80 J P Pantina, E M Furst. Directed assembly and rupture mechanics of colloidal aggregates[J]. *Langmuir*, 2004, 20(10): 3940–3946.
- 81 J P Pantina, E M Furst. Elasticity and critical bending moment of model colloidal aggregates[J]. *Phys Rev Lett*, 2005, 94(13): 138301.
- 82 A Yao, M Tassieri, M Padgett, *et al.*. Microrheology with optical tweezers[J]. *Lab Chip*, 2009, 9(17): 2568–2575.
- 83 D Preece, R Warren, R Evans, *et al.*. Optical tweezers: wideband microrheology[J]. *J Opt*, 2011, 13(4): 044022.
- 84 M C Williams. Optical tweezers: measuring piconewton forces[J/OL]. *Biophysics Textbook Online*, 2002 [2014–12–22]http://www.biophysics.org/btol.
- 85 A Ohlinger, A Deak, A A Lutich, *et al.*. Optically trapped gold nanoparticle enables listening at the microscale[J]. *Phys Rev Lett*, 2012, 108(1): 018101.
- 86 T Li, S Kheifets, D Medellin, *et al.*. Measurement of the instantaneous velocity of a Brownian particle[J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1673–1675.

- 87 S Kheifets, A Simha, K Melin, *et al.*. Observation of Brownian motion in liquids at short times: instantaneous velocity and memory loss[J]. *Science*, 2014, 343(6178): 1493–1496.
- 88 O M Maragò, P H Jones, P G Gucciardi, *et al.*. Optical trapping and manipulation of nanostructures[J]. *Nature Nanotechnol*, 2013, 8(11): 807–819.
- 89 T Li, S Kheifets, M G Raizen. Millikelvin cooling of an optically trapped microsphere in vacuum[J]. *Nature Phys*, 2011, 7(7): 527–530.
- 90 P N Pusey. Brownian motion goes ballistic[J]. *Science*, 2011, 332(6031): 802–803.
- 91 C Kurtsiefer, S Mayer, P Zarda, *et al.*. Stable solid-state source of single photons[J]. *Phys Rev Lett*, 2000, 85(2): 290–293.
- 92 R Schirhagl, K Chang, M Loretz, *et al.*. Nitrogen-vacancy centers in diamond: nanoscale sensors for physics and biology[J]. *Annu Rev Phys Chem*, 2014, 65: 83–105.
- 93 V R Horowitz, B J Alemán, D J Christle, *et al.*. Electron spin resonance of nitrogen-vacancy centers in optically trapped nanodiamonds[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2012, 109(34): 13493–13497.
- 94 A Albrecht, A Retzker, M B Plenio. Testing quantum gravity by nanodiamond interferometry with nitrogen-vacancy centers[J]. *Phys Rev A*, 2014, 90(3): 033834.
- 95 Li Yinmei, Lou Liren, Cao Chuanshun. Theoretical analysis and experimental simulation of astigmatic elliptic Gaussian beam[J]. *Acta Optica Sinica*, 1999, 19(3): 428–432.
李银妹, 楼立人, 操传顺. 像散椭圆高斯光束的理论分析与实验模拟[J]. *光学学报*, 1999, 19(3): 428–432.
- 96 Xing Qirong, Mao Fanglin, Cai Lu, *et al.*. Computing of the axial optical force applied by the femtosecond laser trap[J]. *Chinese J Lasers*, 2004, 31(4): 445–448.
邢岐荣, 毛方林, 柴路, 等. 飞秒激光光镊轴向力的计算与分析[J]. *中国激光*, 2004, 31(4): 445–448.
- 97 Y Ren, J Wu, M Zhong, *et al.*. Monte-Carlo simulation of effective stiffness of time-sharing optical tweezers[J]. *Chin Opt Lett*, 2010, 8(2): 170–172.
- 98 Wu Zhongfu, Liu Zhihai, Guo Chengkai, *et al.*. Numerical simulation and experiments of two fiber optical tweezers[J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, 28(10): 1971–1976.
吴忠福, 刘志海, 郭成凯, 等. 两种单光纤光镊捕获效果的数值仿真与实验研究[J]. *光学学报*, 2008, 28(10): 1971–1976.

栏目编辑: 韩 峰