

光钳及其在生物学中的应用

田兆斌 夏道莲

(扬州工学院,扬州 225001)

激光器的出现,为光压的实际应用提供了可能。从理论原理、实验方法和应用价值三方面,对光钳技术作了概要评述。介绍了光钳技术在细胞、线粒体和染色体等三个不同的生物学层次的研究中的应用。并提出了新的实验构思,建议开发“光钳仪”,总结光钳方法,以开拓生物学研究的新领域。

激光器问世以来,以其能量高度集中的特点,开创了许多别具一格的应用。如生物工程中的激光裁剪和基因移植,以及医学临床上的激光手术等。

根据相对论的观点,任何物质既具有能量,必具有一定的动量。能量和动量的关系为:

$$E^2 = (m_0c^2)^2 + (pc)^2, \quad (1)$$

其中 E 为总能量, m_0 为静质量, c 为光速, p 为动量。光子的静质量为 $m_0 = 0$, 故具有能量为 E 的激光,其动量为

$$p = \frac{E}{c} = \frac{h\nu}{c}. \quad (2)$$

在光与物质相互作用时,由于反射或折射,其动量 p 将发生改变 (Δp)。与此同时,被作用物体则受到一冲量 $F\Delta t$ 的作用,其间的关系为

$$F\Delta t = -(\Delta p), \quad (3)$$

式中 Δt 为动量作用时间。因此,反射光或折射光的物体,均受到光压力的作用。

虽然“光压”的概念早在 1901 年就已提出,但由于缺乏足够强的光源,一直没有获得实际的应用。激光器产生后,作为一类新型光源,其能量高度集中,经聚焦后,焦点附近的光束的动量亦很大。当激光作用于物体时,物体则受到一个可观的光压力的作用。此光压(辐射压)在实践中已导致许多独特的应用——利用激光动量

“转移”时的作用力,可以“抓住”或“操纵”微小物体,如胶体微粒、分子,甚至原子等,以便对它进行更详细的研究。范围遍及数十微米线度的米粒子到数 \AA 大小的瑞利粒子。

应用激光动量“转移”产生的辐射压,进行科学研究的工作,始于 1970 年,比激光能量的实际应用差不多晚了十年之久。美国贝尔电话实验室的 A. Ashkin 小组首先提出并实现了用激光辐射压力固定和加速位于粘滞流体中的球形微粒^[1]。Ashkin 用 150mW 的单模 A^+ 激光,使直径为 $20\mu\text{m}$ 的微粒,克服范德瓦耳力,从容器底面由静止而向上运动并固定于容器半空中。1987 年, Ashkin 小组又首次用此光学方法“钳”住微生物——烟草花叶病毒和细菌^[2]。他们观察到存在于样品室中的活体微粒,在激光形成的“陷阱”中可以继续存活。

由于激光辐射压的作用,可以“抓住”微粒,并拖着微粒随光线而运动。这里,激光的功能就像是一把精细的“钳子”,故称,此种技术为“光钳”(optical tweezers)。

利用激光动量“转移”,无损伤地控制细胞,研究其运动和繁殖情况,甚至移植细小有机质进入细胞内部而不用切开细胞等,将为生物学研究开辟一个新天地。光钳技术已引起科学界的极大兴趣。

一、理论考虑

下面以对球形微粒的控制为例,说明激光光镊的作用原理。

前已述及,具有能量为 E 的激光束,其动量大小为 $p = E/c$ 。当此光束斜射至一球体表面时,在经两次折射而透过球体的过程中,方向发生偏转,因而光束的动量发生改变。光束的偏转方向,由几何光学可知,与球体的折射率 n_1 ,及周围介质的折射率 n_2 有关。图 1 所示为 $n_1 > n_2$ 的情况。

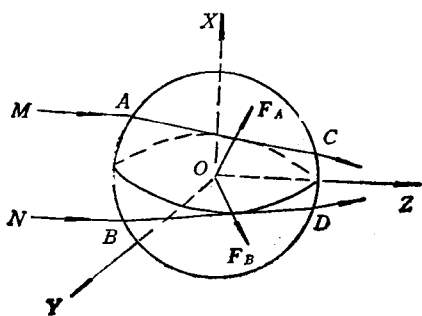


图 1

光束 MA 从小球的 A 处射进,而从 C 处折射出。由物理学定律可知,此过程中光束对小球的辐射作用力方向为图 1 中 F_A 所示的方向。在 F_A 的作用下,小球不仅在原光束方向得到加速,而且在垂直于光束的方向也得到了加速,即小球将产生横向侧移。侧移方向为 X 轴正向。同理可知,光束 NB 从小球的 B 处射进,而从 D 处折射出。其对小球的辐射压力作用方向为图 1 中 F_B 所示的方向。它使小球的侧移向着 X 轴负向进行。显然,光束的强度愈大,则该光束对小球的侧移作用就愈大。

在此种情况下,为使被激光束俘获的粒子移向光轴,并稳定地控制住微粒,应当使用具有高斯光强分布的光束,即激光器输出激光应为 TEM_{00} 模。此时光轴处的光强最大,离轴处光强急剧减弱。在该光束作用下,微粒将趋向光轴并被控制在那里(见图 2)。

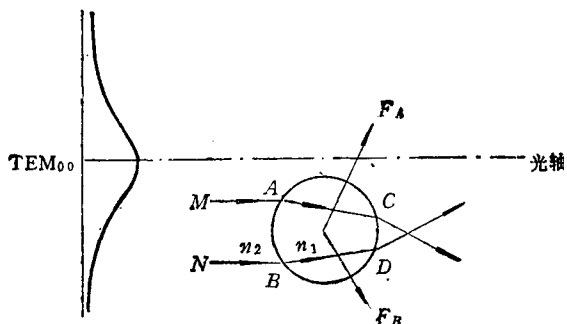


图 2

图 3 为 $n_1 < n_2$ 的情况。

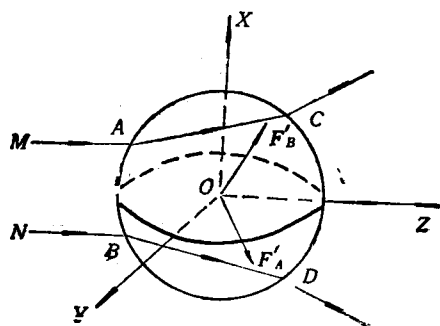


图 3

由于折射率差异的关系,光束的偏转方向不同,因而使小球的侧移方向也就不同。显然,光束 MA 在折射过程中,使小球沿 X 轴负向侧移;而光束 NB 在折射过程中,使小球沿 X 轴正向侧移。

目前,对于这种情况,只有选用输出模式为 TEM_{01} 的激光,才能达到使微粒在激光作用下,移向光轴,并控制在那里的目的。力的分析如图 4 所示。

二、实验方法和装置

若是单纯为了达到“抓住”微粒的目的,实验可这样进行:

设一球形微粒浮于空气或真空样品室中(如图 5),入射激光经转向棱镜和会聚透镜后,直射样品室中的微粒。当激光对微粒的向上辐射压力与微粒的重力 mg (m 为微粒质量)大小

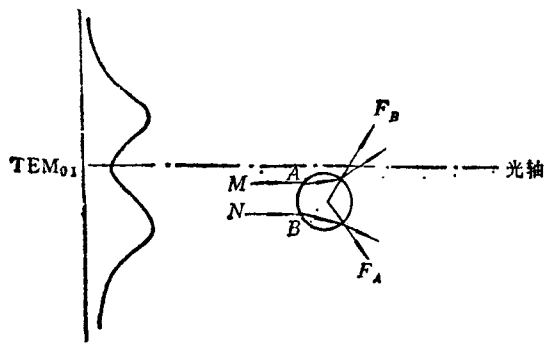


图 4

相等时,则该微粒即可稳定地浮于样品室中.通过显微镜便可对它进行观察研究.此时所用的激光束,如前所述,一般应选 TEM_{00} 模输出.

如所要控制的目标是密度小于周围溶剂的粒子,由于粒子受一向上的浮力作用,此时应选用 TEM_{01} 模激光束,使其产生的辐射压力向下作用于粒子,以克服浮力而将其控制在样品室中,如图 6. 以控制水中生成的气泡为例.设气泡的半径为 a , 水的密度为 $\rho (=1)$, 则气泡在水中所受的向上的浮力

$$F_{\#} = \frac{4}{3} \pi a^3 \rho g = \frac{4}{3} \pi a^3 g.$$

当激光束的辐射压力

$$F_{\#} = \frac{4}{3} \pi a^3 g$$

时,即可将气泡俘获住.

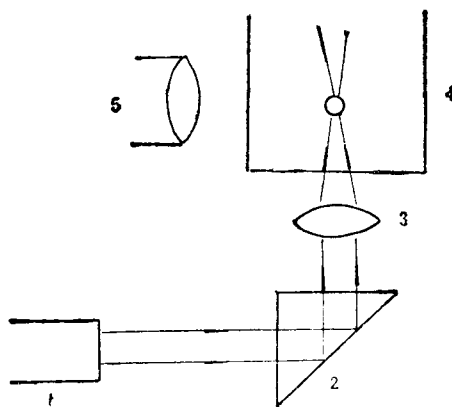


图 5 1.激光器; 2.棱镜; 3.透镜; 4.样品室;
5.观测显微镜

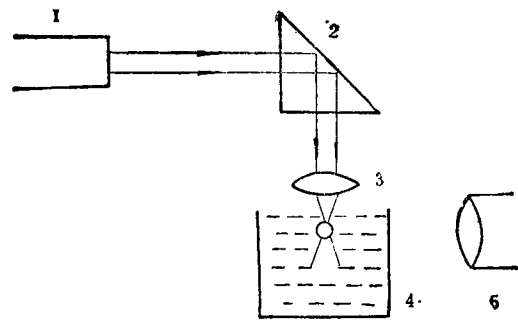


图 6 1.激光器; 2.棱镜; 3.透镜; 4.样品室;
5.观测显微镜

下面着重介绍我们用光钳加速胶体微粒并测定其速度的实验.

装置如图 7 所示. 激光器为 10mW 单横模氦-氖激光器,微粒线度约 $15\mu\text{m}$. 为使光束直径能与微粒线度相匹配,以增加光束与微粒的相互作用截面,我们使用 8cm 焦距的透镜会聚光束. 经会聚后的光束直径,在整个样品室的长度范围内,保持在 $20\mu\text{m}$ 左右. 这样,激光辐射压力随距离而改变,微粒的末速度也随在样品室的位置不同而不同. 在不同的时刻记录下微粒的位置,便可较精确地计算出微粒获得的速度和受到的作用力.

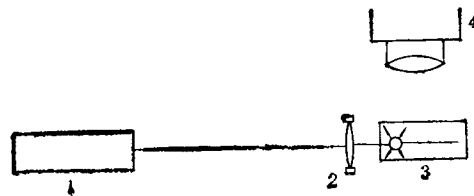


图 7 1.激光器; 2.透镜; 3.样品室; 4.观测显微镜

综上所述,光钳实验装置通常包括四个部分:激光器,聚焦系统,样品室和观测系统. 在生物学研究中,可将激光直接输入光学显微镜的物镜. 此时该物镜同时亦作聚光透镜用. 样品室则置于镜台上.

三、生物学应用

光压是一种非接触作用. 在光钳控制下的生物微粒, 其重要特点之一是可以使其不受损

伤,保持活性;同时,光钳可以捕获小至原子的微粒。由于这两个特性,使它在细胞生物学和分子生物学研究中具有特别的价值。

1. 观察微生物在光钳中的运动和繁殖

1987年A. Ashkin首次报道了用 Ar^+ 激光控制烟草花叶病毒和大肠杆菌的实验结果^[2]。

光钳是一个具有梯度力场的“光学阱”。在这个“阱”中的生物微粒的运动特性,可以通过改变激光强度或透镜焦距的方法,也就是改变辐射压力的方法,加以研究。

病毒和细菌一旦被具有高斯光强分布的单模 Ar^+ 激光束所捕获即不再逸出,并随激光束的移动而移动。对于烟草花叶病毒,观察表明,在 Ar^+ 激光功率达到100mW时,病毒开始受到钳制。而当功率超过120mW时,病毒由于吸收部分激光而导致的温升将逐渐丧失其活性。

后来,Ashkin应用输出为 $1.06\mu m$ 的Nd:YAG激光进行类似的实验^[3]。由于生物微粒对红外辐射的相对透明,从而大大减少了受钳制微生物的损伤,提高了可使用激光的功率。细菌在 $1.06\mu m$ 激光作用下,拖动速度可达到 $500\mu m s^{-1}$ 而不产生损伤,这比应用 $0.51\mu m Ar^+$ 激光所能产生的速度几乎高出一个数量级。在这样强的功率下,大多活细菌均可被控制和拖动。

利用光钳技术还实现了大肠杆菌的空间转向用一束激光钳住杆菌一端,另一束激光作用于另一端,使其转动,以改变取向。

用酵母细胞所做的实验证明^[4],应用 $1.06\mu m$ 激光在5—80mW的功率范围内,均可很好地控制活酵母细胞。在长达五个小时的间隔内,观察到酵母细胞从生芽到长成具有八个细胞的群体的繁殖过程。长成的新细胞单体线度可达 $5-10\mu m$ 直径。

2. 观察线粒体的运动,测定驱动力(driving force)

线粒体是细胞的动力源,在生物学研究中,定量测定活细胞的驱动力,具有十分重要的意

义。应用光钳技术,可以在活的状态下,直接地确定线粒体驱动力而不损伤有机质。

A. Ashkin应用红外激光测定了线粒体在微管中运动的驱动力^[4]。线粒体呈球形,直径 $\sim 320\mu m$,折射率 $n=50$ 。由于其高折射率,在光学显微镜中,可很容易地与其他微粒相区别。

为了钳住运动着的线粒体,所施辐射力必需大于其最大驱动力。在光钳中只有一个微粒的情况下,测定驱动力只须先用一高功率激光束控制住微粒,尔后逐渐降低激光功率,直到被钳粒子开始逸出,则逸出时的激光功率,便是该粒子的驱动力。但在实际过程中,在微管中运动的粒子数量甚大,因而Ashkin采用了如下办法:先用高功率激光束控制住所有被捕获的粒子,然后逐渐降低激光功率,于是粒子开始逸出,直至最后一个粒子逸出,记下不同激光功率下,开始逸出的不同粒子数。再取其平均逸出功率,便可推算出每个粒子的驱动力。

在Ashkin的实验中,当激光功率达到220mW时,所有粒子(30个)全被钳住。激光功率降至110mW时,开始有粒子逸出,在功率达到30mW时,全部粒子逸出。据此,估算出单个粒子的驱动力,约为 $2.6 \times 10^{-12}N$ 。

3. 观察染色体的运动和有丝分裂过程

1989年,Berns等第一次报道了用光学方法控制有丝分裂细胞染色体的实验^[5],随后,H. Liang等又作了进一步的研究^[6]。他们所用的实验方法如前所述。激光器为单模YAG,输出功率在60—200mW之间。

通过他们的实验,可以得到这样几项结果:

(1) 被激光辐射压捕获和控制的染色体,只要功率适当,则不影响其活性;

(2) 在光钳作用下,可以加速处于细胞分裂中期的染色体的运动速度,平均可达 $9.5\mu m/min$,这差不多是正常速度的五倍;

(3) 对处于分裂期的染色体,光钳可以控制其中某对染色单体,使之保持不动,而不影响其余单体的分裂和运动。若在细胞完成分裂后,撤去光钳控制,则该染色单体对,可恢复运动,并移向相应的子细胞。

自 1987 年首次实现光钳在生物学研究中的应用以来, 仅仅几年时间, 研究对象, 已从细胞整体深入到亚细胞结构中的线粒体和染色体; 实验内容, 则从活体生物微粒的性状观察, 到细胞运动速度, 驱动力和有丝分裂等重要现象的定量测定, 从而充分显示了光钳在生物学领域中的价值。

根据光钳的特点和现代生物学研究的需要, 这里提出几项进一步深入工作的方向:

(1) 光钳可以俘获和控制细胞及其中的亚结构。我们可以绘制细胞内部结构的细节; 并且, 通过对不同分裂代数的细胞的内部细节和运动性状(如速度、驱动力等)的测定、比较, 来判定细胞的衰老程度和病理变化。

(2) 在光钳作用下, 实现染色体裁剪和重组。这只需首先将所研究细胞用一束激光控制住, 然后再用另一束激光加以切割和熔融。控

制激光所用的是激光的动量参数, “手术”激光所用的则是激光的能量参数。两束激光, 应根据细胞特性和用途的不同, 选用不同的激光器完成。

(3) 光钳作为一种工具, 激光器是动力源, 显微镜和样品室是工作台。“工欲善其事, 必先利其器”。从使用的可靠和方便出发, 应当开发集三者于一体的“光钳仪”。完成实验手段从装置向仪器的过渡, 以便开拓更多、更深入的应用!

- [1] A. Ashkin, *Phys. Rev. Lett.*, **24** (1970), 156.
- [2] A. Ashkin and J. M. Dziedzic, *Science*, **235** (1987), 1517.
- [3] A. Ashkin, *Nature*, **330** 24/31 (1987), 769.
- [4] A. Ashkin et al., *Nature*, **348**-22 (1990), 346.
- [5] M. W. Berns et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86** (1989), 4539.
- [6] H. Liang et al., *Experimental Cell Research*, **197** (1991), 21.

(上接第 344 页)

叶表上停留足够长的时间, 但一些农药并不浸润植物叶表, 它们往往聚成较大的液滴滚落下来。为此, 人们可以设计一种合适的表面活性剂, 既可使农药浸润在叶表, 同时又可提高农药的功效, 这要求我们了解有关的浸润性质。在日用化学工业中, 人们可以根据浸润相变的知识来设计洗涤剂, 使之浸润在污物和衣服之间, 用来清洗某些不易去除的污垢。在生物或医学中, 对药物或化肥进行合理设计, 以便于吸收。另外, 在工业焊接, 冶金选矿等等方面的许多应用, 就不在此评述了, 有兴趣的读者参见文献 [13] 给出的几个例子。

- [1] de P. G. Gennes, *Rev. Mod. Phys.*, **57** (1985), 827.
- [2] S. Dietrich, Wetting phenomena, in *Phase Transition and Critical Phenomena*, Vol.12, C. Domb and J. Lebowitz ed., Academic Press. London,

- (1988), 1.
- [3] E. H. Hauge, in *Fundamental Problem in Statistical Mechanics*, E. G. D. Cohen, ed. North-Holland. New York, (1985), 65.
- [4] M. S. Moldover and J. W. Cahn, *Science*, **207** (1980), 1073.
- [5] P. C. Hemmer and J. L. Lebowitz, in *Phase Transition and Critical Phenomena*, Vol. 5, B. C. Domb and M. S. Green ed., Academic Press. London, (1976), 207.
- [6] D. E. Sullivan, *Phys. Rev. B*, **27** (1979), 3991; *Phys. Rev. A*, **25**(1982), 1669.
- [7] 丁鄂江, 北京师范大学学报(自然科学版), No. 2 (1987), 32; No. 3(1987), 20; No. 4(1987), 31, No. 1(1988), 28.
- [8] E. J. Ding and E. H. Hauge, *Physica A*, **143** (1987), 54.
- [9] Y. Song, E. J. Ding and Z. Q. Huang, *J. Phys. Condens. Matter.*, **4**(1992), 6189.
- [10] 宋岩、丁鄂江、黄祖洽, 物理学报, **41**(1992), 960.
- [11] 宋岩、丁鄂江、黄祖洽, 物理学报, **41**(1992), 1647.
- [12] Y. Song, Z. Q. Huang and E. J. Ding, *J. Phys. Condens. Matter.*, **5**(1993), 3139.
- [13] Wetting, in *Spreading and Adhesion*, J. F. Paday ed. Academic Press, (1978).