

PESETA OPTYCZNA JAKO NARZĘDZIE WSPÓŁCZESNEJ BIOINŻYNIERII

OPTICAL TWEEZERS AS A TOOL OF MODERN BIOENGINEERING

Marcin Bacia^{1,2*}, Sławomir Drobczyński¹, Jan Masajada¹, Marta Kopaczyńska²

¹ Instytut Fizyki, Politechnika Wrocławska, 50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27

² Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Politechnika Wrocławska, 50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27

* e-mail: marcin.bacia@pwr.wroc.pl

STRESZCZENIE

Pęseta optyczna jest dość nowym narzędziem pozwalającym na wszechstronną manipulację obiektami w mikro- i nanoskali. Manipulacja odbywa się wewnątrz odpowiednio ukształtowanej zogniskowanej wiązki laserowej. Wykorzystując technikę holograficzną, można za pomocą pęsety optycznej utworzyć kilkanaście niezależnych pułapek optycznych, zdolnych do chwywania mikroobektów. Urządzenie to wykorzystuje się między innymi do pomiaru sił z rozdzielczością pojedynczych pikoniutonów, segregacji komórek, pomiaru właściwości mechanicznych błon komórkowych, nici DNA lub do badania procesów biochemicznych na poziomie komórkowym. W niniejszej pracy przedstawiano krótki opis techniczny zbudowanych w zespole układów, jak również omówiono przykładowe zastosowania pęsety optycznej.

ABSTRACT

Optical tweezers are a quite new tool for versatile manipulation of objects in micro and nanoscale. Optical tweezers may be used in various fields, for example in microbiology. The observation and measurement take place inside the specially focused laser beam. The holographic methods enables generating several optical traps that can be driven, independently. The possible applications include the force measurement between molecules and cells (at the level of piconewtons), cells segregation and transport, cells activity analysis, DNA mechanical properties analysis and many others. In this paper, short technical data on the systems constructed in our group, along with the description of potential applications, are presented.

Słowa kluczowe: pęseta optyczna, pułapki optyczne, nanomanipulatory optyczne

Keywords: optical tweezers, optical trap, optical nanomanipulator

1. Wstęp

Pęseta optyczna (inne spotykane nazwy to: manipulatory optyczne, szczypce optyczne, pułapki optyczne, w języku angielskim: *optical manipulators*, *optical tweezers*, *optical traps*) to narzędzie umożliwiające chwywanie i manipulację obiektami o rozmiarach w zakresie od 0,4 μm do 20,0 μm [1, 2, 3]. W literaturze opisane jest również działanie pęsety optycznej na obiekty o rozmiarach rzędu

kilkunastu nanometrów. W tym jednak wypadku są to spuląpkowane duże grupy nanocząsteczek i trudno jest mówić o pełnej kontroli dotyczącej zachowania się pojedynczego obiektu [4].

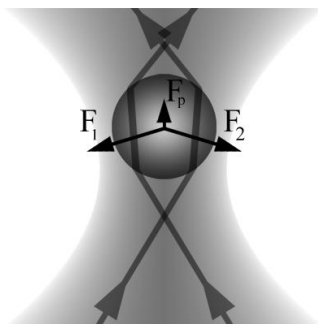
Chwyatanie obiektów w preparacie mikroskopowym realizowane jest przy pomocy zogniskowanej wiązki światła laserowego o długości fali z zakresu podczerwieni lub światła widzialnego. System kształtowania wiązki laserowej powoduje, że w płaszczyźnie ogniskowej obiektywu mikroskopowego tworzą się tak zwane pułapki optyczne, ściągające do swojego wnętrza dielektryczne obiekty znajdujące się w najbliższym otoczeniu [1, 2, 3]. Tak uwięzione obiekty można następnie przesuwać poprzez ruch pułapki lub preparatu. Najbardziej zaawansowane systemy kształtowania wiązki laserowej wykorzystują technikę holografii dynamicznej [5, 6]. Hologramy kodują pułapki optyczne, które są odtwarzane poprzez obiektyw mikroskopowy w płaszczyźnie preparatu. Technika holografii dynamicznej pozwala na definiowanie wielu pułapek jednocześnie. Każda z tych pułapek może być niezależnie sterowana. Możliwe jest również jednoczesne generowanie różnych typów pułapek optycznych.

Układ pęsety optycznej pozwala na bezpośrednie chwyatanie żywych struktur. Często stosuje się jednak dielektryczne kulki, które uchwycone w pułapkę optyczną pozwalają pośrednio oddziaływać na badane obiekty. Zaletą tej metody jest możliwość manipulacji bardzo szeroką klasą mikroobektów, również takich, których nie można bezpośrednio chwycić pęsetą optyczną.

W Instytucie Fizyki na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej powstało laboratorium, którego celem jest rozwój pęsety optycznej, jak również propagowanie tego rozwiązania wśród potencjalnych użytkowników, pracujących w zakresie nauk biomedycznych, chemii i inżynierii materiałowej. Laboratorium dysponuje obecnie dwoma układami holograficznej pęsety optycznej. Pierwszy z nich, o całkowicie otwartej budowie, służy za poligon do prac rozwojowych nad układem pęsety optycznej. Drugi układ zbudowano na bazie odwróconego mikroskopu biologicznego firmy Olympus. Układ ten udostępniany jest współpracującym z nami grupom badawczym. W niniejszej pracy przedstawimy krótki opis techniczny zbudowanych układów. Opiszemy również przykładowe zastosowania pęsety optycznej.

2. Budowa i zasada działania pęsety optycznej

W pierwszych latach rozwoju pęsety optycznej ograniczano się do stosowania pojedynczej pułapki utworzonej poprzez silne skupienie wiązki laserowej o gaussowskim rozkładzie natężenia światła. W pobliżu ogniska wiązki gaussowskiej tworzy się obszar, w którym siły działające na dielektryczną kulkę (tutaj dielektryczną kulkę traktujemy jako modelowy obiekt) równoważą się, tworząc pułapkę (p. rys. 1). Pułapki takie mogą bezpośrednio chwycić obiekty o współczynniku załamania większym od cieczy, w której zanurzono badany obiekt. W pierwszych układach pęsety optycznej pułapka była nieruchoma, a ruch spuląpkowanego obiektu był realizowany poprzez ruch stolika mikroskopowego.

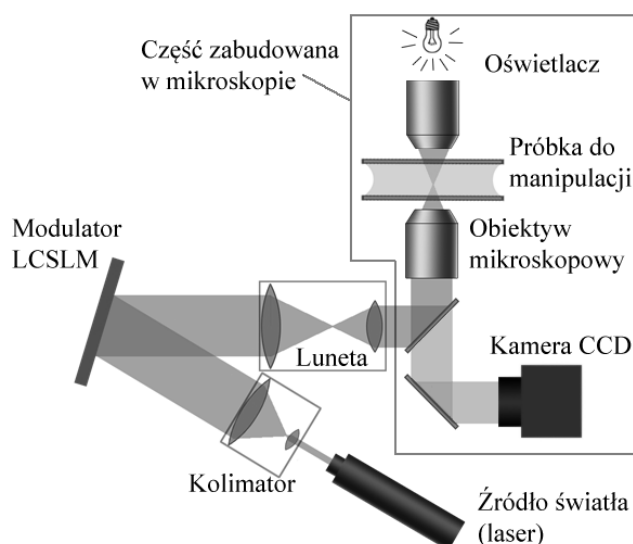


Rys. 1. Schemat sił działających na dielektryczną kulkę w pułapce optycznej (F_1 , F_2 – siły wynikające z przekazania pędu przy załamaniu pokazanych promieni świetlnych na dielektrycznej kulce, F_p – siła przyciągająca obiekt z ogniska wiązki – siła ta wynika z przekazu pędu światła przy szczytkowym odbiciu od pierwszej i drugiej powierzchni kulki)

W kolejnym etapie rozwoju urządzenia wiązka laserowa kierowana była na układ optoelektroniczny, który w szybki i precyzyjny sposób mógł zmienić kierunek jej biegu. Przykładem takiego układu jest zwierciadło umieszczone na piezoelemencie. Dzięki temu zyskano możliwość zmiany położenia pułapki w płaszczyźnie preparatu. Ruch w kierunku prostopadłym do tej płaszczyzny uzyskiwano

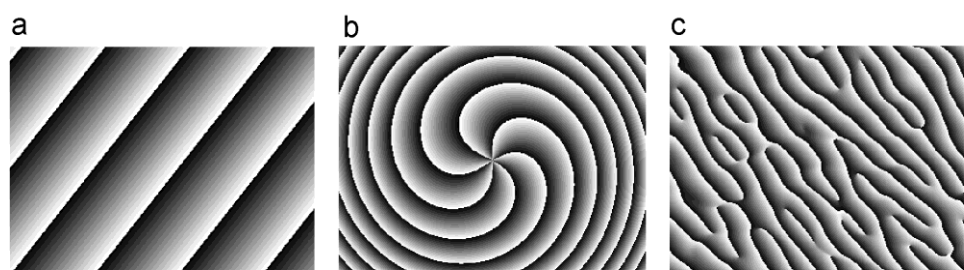
poprzez ruch obiektywu mikroskopowego. Gdy ruch zwierciadła jest dostatecznie szybki, można wygenerować kilka pułapek optycznych. Wiązka laserowa szybko zmienia położenie od punktu do punktu w preparacie, tworząc kolejne pułapki. Czas przejścia pomiędzy poszczególnymi punktami musi być wyraźnie krótszy od czasu zatrzymania w tych punktach.

Dalsze zwiększenie liczby pułapek uzyskano dzięki technologii holograficznej. Układ holograficznej pęsety optycznej (ang. *holographic tweezers*) [5, 6] pokazany jest na rysunku 2. Według tego schematu zbudowane zostały obie pęsety optyczne w Instytucie Fizyki Politechniki Wrocławskiej.



Rys. 2. Schemat przedstawiający układ holograficznej pęsety optycznej, zrealizowanej w Instytucie Fizyki Politechniki Wrocławskiej

Skolimowana wiązka laserowa pada na przestrzenny modulator optyczny LCSLM (ang. *Liquid Crystal Spatial Light Modulator*) [7], na którym wyświetlany jest układ siatek dyfrakcyjnych lub hologramów. Rysunek 3 pokazuje przykłady wyświetlanych struktur. Za pomocą siatek można podzielić padającą wiązkę laserową na kilka wiązek tworzących w płaszczyźnie preparatu niezależne pułapki. Trudniejsze w użyciu hologramy pozwalają na jeszcze bardziej precyzyjne kształtowanie pułapek, w tym na generację pułapek różnego typu.

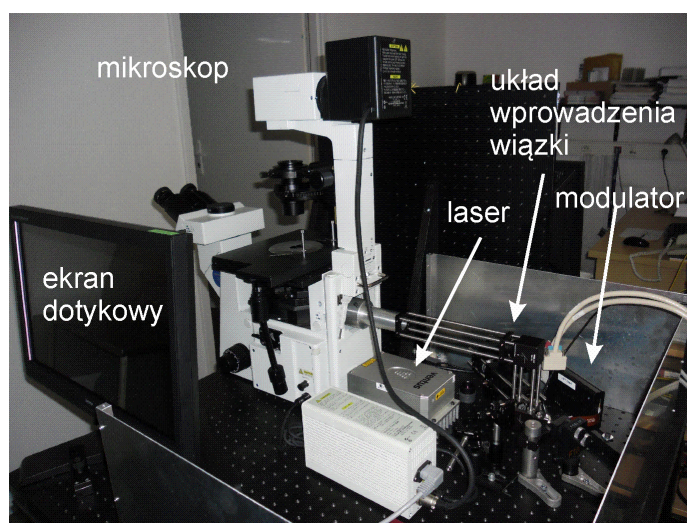


Rys. 3. Przykładowe struktury fazowe wyświetlane na przestrzennym modulatorze optycznym: a) prosta siatka fazowa, b) struktura złożona z elementu generującego pojedynczy wieloładunkowy wir optyczny (ciemna pułapka) i z soczewki Fresnela, c) struktura generująca kilka ciemnych pułapek

Jak już zostało wspomniane, największą zaletą modulatora ciekłokrystalicznego jest duża dowolność w generowaniu i sterowaniu pułapkami optycznymi. Układ holograficzny pozwala między innymi na generowanie pułapek z wirem optycznym (ang. *doughnut traps*) [8, 9], które umożliwiają chwywanie obiektów o współczynniku załamania niższym od współczynnika załamania otoczenia. Pułapki te ze względu na zerowe natężenie światła w ich centrum nazywane są również ciemnymi pułapkami. Innym typem pułapek są tzw. pułapki Bessel'a powstające w wyniku holograficznego generowania wiązek opisanych funkcjami Bessel'a [10]. W pułapkach tych można chwytać

mikroobiekty i wprawiać je w ruch okrężny wokół centrum pułapki. W układach holograficznych możliwe jest jednoczesne generowanie pułapek różnych typów, co jest niezwykle trudne w układach bazujących na mechanicznym sterowaniu wiązką światła (na przykład za pomocą ruchomych zwierciadeł). Każda z pułapek jest sterowana niezależnie, zarówno jeśli chodzi o jej położenie w objętości próbki, jak i ilość energii do niej kierowanej (od energii w pułapce zależy siła jej chwytu). Możliwe jest precyzyjne przenoszenie uchwyconego obiektu w trzech osiach x - y - z .

Rysunek 4 przedstawia zdjęcie układu pęsety optycznej zbudowanej w naszym zespole w oparciu o odwrócony mikroskop biologiczny Olympus IX71. Do jednego z torów optycznych mikroskopu wprowadzona została wiązka światła laserowego odbitego od modulatora LCSLM (HoloEye-Pluto). Obecnie w naszym systemie stosujemy wymiennie dwa lasery: YAG o mocy 4W i długości fali 1064 nm lub diodę laserową o mocy 300 mW i długości fali 980 nm. Po odbiciu od modulatora wiązka przechodzi przez lunetę, mającą za zadanie dopasować rozmiar wiązki do rozmiaru apertury wejściowej obiektywu mikroskopowego, który ogniskuje wiązkę i odtwarza pułapki optyczne w płaszczyźnie preparatu (p. rys. 2). W układzie wykorzystano wysokiej klasy obiektywy immersyjne o aperturze numerycznej $NA = 1.3$. Dodatkowymi blokami zabudowanymi w mikroskopie są układy oświetlacza i kamery rejestrującej obraz próbki, które pozwalają na obserwację preparatu oraz prowadzenie pomiarów. W celu efektywnego prowadzenia pomiaru zastosowana została szybka kamera mogąca rejestrować do dziesięciu tysięcy klatek na sekundę. Innym, opcjonalnym elementem pomiarowym jest fotodioda podzielona na cztery obszary. Mierzy ona przesunięcia obiektu z dużą częstotliwością i dokładnością. Użycie fotodiody ograniczone jest do pomiarów z jedną pułapką optyczną. Możliwe jest także dodanie kolejnych bloków – na przykład do pomiarów z wykorzystaniem fotoluminescencji. W układzie można stosować różne typy laserów, w tym lasery półprzewodnikowe.



Rys. 4. Zdjęcie układu pęsety optycznej bazującej na odwróconym mikroskopie biologicznym. Ekran dotykowy jest istotną częścią układu operatora

Oprogramowanie sterujące układem LCSLM pozwala na elastyczny wybór metody generowania pułapek. Jak już wspomniano, najprostszą metodą jest wyświetlanie specjalnych siatek dyfrakcyjnych, które służą do odchylenia wiązki światła od osi optycznej (p. rys. 3a). Zmieszanie kilku takich siatek pozwala na generowanie większej ilości pułapek. Metoda ta jest prosta i szybka obliczeniowo. Obarczona jest jednak niepożądanymi artefaktami, czyli dodatkowymi pułapkami o mniejszej energii, nazywanymi po angielsku ghost-traps. Metoda holograficzna polega na wyświetlaniu na modulatorze hologramów (p. rys. 3b–c), które są obrazowane przez układ mikroskopu, tak że tworzą w płaszczyźnie preparatu pułapki o zadanych parametrach. W celu uzyskania odpowiedniej jakości pułapek stosuje się algorytmy iteracyjne, z których najpopularniejszym jest algorytm Gerchberga-Saxtona [11]. Zastosowanie hologramów jest o wiele bardziej złożone obliczeniowo w porównaniu z metodą bazującą na siatkach, przez co wymaga profesjonalnej implementacji i szybkiego komputera w celu zapewnienia płynnego sterowania kilkunastoma pułapkami jednocześnie. Metody iteracyjne

pozwalają na eliminację z obrazu artefaktów. Bardzo ważnym elementem obrazu wyświetlanego na LCSLM są struktury holograficzne korygujące błędy samego modulatora (głównie zakrzywienie jego powierzchni).

Rysunek 5 pokazuje zdjęcie panelu operatora pęsety optycznej. Szukając możliwie intuicyjnej metody obsługi urządzenia, zdecydowaliśmy się na zastosowanie sterowania za pomocą ekranu dotykowego. Każdą zdefiniowaną pułapkę można przesuwać ruchem palca po ekranie. Możliwe jest również programowe sterowanie układem pułapek.



Rys. 5. Zdjęcie panelu dotykowego. Pułapki mogą być przemieszczane poprzez dotknięcie powierzchni panelu (w miejscu generacji pułapki) i przesunięcie go w żądane położenie

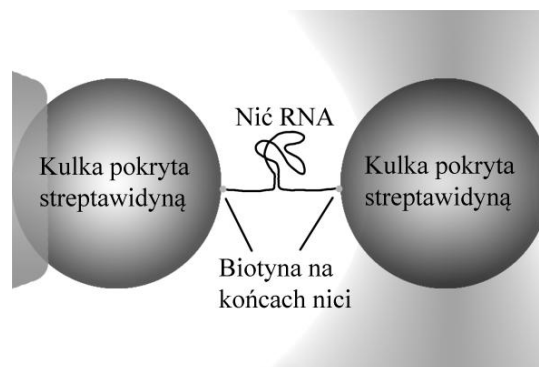
3. Zastosowania

Pęseta optyczna jest nowym narzędziem badawczym. Jej pierwsze komercyjnie dostępne modele pojawiły się pod koniec lat 90-tych XX wieku. Pierwsze komercyjne modele holograficznej pęsety optycznej pojawiły się około 2010 roku. Mimo krótkiej historii rynkowej pęseta optyczna znalazła zastosowanie w wielu laboratoriach. W krótkim czasie zaowocowało to wieloma artykułami w prasie fachowej poświęconych samej technice pęsety optycznej lub jej zastosowaniom. Dziś nie sposób już śledzić całej literatury związanej z pęsetą optyczną i jej różnorodnymi zastosowaniami. Pisząc o zastosowaniach, ograniczymy się do spraw leżących w sferze zainteresowań naszego zespołu. Podkreślić należy, że efektywne wykorzystanie możliwości pęsety optycznej wymaga interdyscyplinarnej współpracy, umiejętności w zakresie techniki pomiarowej, jak świadomości ograniczeń.

Pęseta optyczna może znaleźć potencjalnie wiele zastosowań w medycynie, biologii, chemii lub inżynierii materiałowej. Umożliwia badanie właściwości fizycznych obiektów biologicznych, takich jak pojedyncze biocząsteczki, całe struktury wielokomórkowe, ale również poszczególne elementy cytoszkieletu komórki. W odróżnieniu od innych metod manipulacji tego typu obiektami, pęseta optyczna jest narzędziem nieinwazyjnym, w którym siły przykładane do badanych próbek są precyzyjnie kontrolowane [12]. Dzięki temu maleje ryzyko przypadkowego uszkodzenia badanego obiektu. Brak elementów mechanicznych wprowadzanych do próbki zwiększa także niezawodność i upraszcza procedurę przygotowania pomiaru. Preparat może być umieszczony na tradycyjnym szkiełku mikroskopowym. Dodatkowo, jako jedno z nielicznych urządzeń, pęseta optyczna pozwala na pomiary dynamiki procesów w czasie rzeczywistym. Dzięki temu można natychmiast reagować na zmiany zachodzące w badanej próbce.

Jednym z zastosowań pęsety optycznej jest badanie elastyczności błon komórkowych lub ich wytrzymałości na rozerwanie. Drobne różnice w budowie błon, na przykład komórki zdrowej i nowotworowej, mogą znacząco wpływać na ich właściwości mechaniczne [15]. Pomiary sił rzędu pojedynczych pikoniutonów umożliwiają badania na poziomie subkomórkowym [13]. Pęseta optyczna

daje także szansę obserwacji i kontroli dynamiki procesów zachodzących w mikroskali oraz nanoskali. Jako przykład takiego procesu można podać rozplatanie łańcucha RNA [14, 15]. Do obu końców łańcucha zostają przytwierdzone kulki dielektryczne (p. rys. 6). Przytwierdzanie to jest realizowane za pomocą modyfikacji zarówno powierzchni kulki dielektrycznej, jak i badanego obiektu biologicznego. Badane biocząsteczki zostają zmodyfikowane za pomocą białka – biotyny, natomiast powierzchnia kulek zostaje pokryta białkiem – streptawidyną. Oba białka mają silne wzajemne powinowactwo, dzięki czemu dochodzi do oddziaływania biocząsteczek z powierzchnią zmodyfikowanej kulki. Następnie, w zależności od układu pęsety optycznej, jedna z kulek jest przytrzymywana nieruchomo przy pomocy mikropipety, druga natomiast znajduje się w pułapce optycznej, która „ciągnie” cały łańcuch, doprowadzając do jego rozplatania. W układach wielopułapkowych obie kulki mogą być trzymane przez niezależne pułapki.

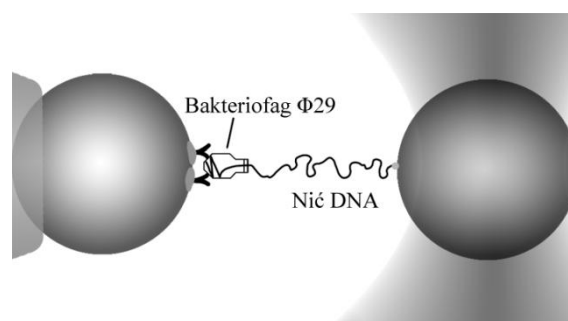


Rys.6. Schemat rozplatania łańcucha RNA przy pomocy układu pęsety optycznej

W podobny sposób można badać mechanizm transkrypcji łańcucha DNA za pomocą polimerazy RNA lub mechanizm pakowania łańcucha DNA przez bakteriofagi [16]. Pęseta optyczna jest odpowiednim narzędziem przy badaniach tego typu procesów, ponieważ możliwe jest dopasowanie sił, z jakimi układ działa na próbkę, do sił występujących w badanych procesach. Dzięki temu uzyskiwana jest duża dokładność pomiaru, a także niwelowane jest ryzyko przypadkowego uszkodzenia badanego obiektu poprzez przyłożenie zbyt dużej siły.

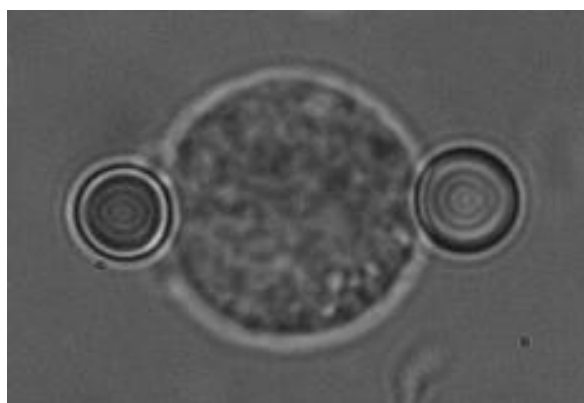
Proces transkrypcji DNA jest jednym z kluczowych procesów rozmnażania się żywych organizmów, ponieważ następuje podczas niego replikacja materiału genetycznego. Poznanie procesu transkrypcji dostarcza informacji o mechanizmie kodowania materiału genetycznego. Prowadzi także do poznania sposobów powstawania mutacji genetycznych. W procesie transkrypcji, polimeraza RNA porusza się wzdłuż nici DNA, odczytując informacje zakodowane w sekwencji białek. Badanie dynamiki transkrypcji pozwala na badanie mechanizmów całego procesu [17]. Natomiast proces pakowania materiału genetycznego do bakteriofagów jest interesujący ze względu na potencjalne zastosowania tak przygotowanych bakteriofagów w zwalczaniu wybranych szczepów bakterii. Bakteriofag atakuje i prowadzi do efektywnego niszczenia bakterii określonych typów. Możliwość zapakowania zmutowanego materiału genetycznego do kapsydu bakteriofaga oznacza zaprogramowanie go przeciw konkretnemu szczepowi bakterii [18].

W obu tych przypadkach łańcuch DNA jest jednym swoim końcem przytwierdzony do dielektrycznej kulki, która z kolei jest przytrzymywana w pułapce optycznej. Drugi koniec łańcucha jest poddawany transkrypcji na polimerazie lub jest pakowany do bakteriofaga. Zarówno polimeraza, jak i kapsyd bakteriofaga, są przytwierdzane do kolejnej kulki przytrzymywanej przez pęsetę optyczną (p. rys. 7). Zdarza się także przytrzymywanie jednej z kulek przez mikropipetę. Obserwując zachowanie kulki w pułapce, można wyciągać wnioski na temat sił działających podczas tych procesów. Pomiar dostarczający informacji o siłach towarzyszących procesom jest nazywany pomiarem przy stałym położeniu – pułapka optyczna jest nieruchoma, a wychylenie kulki z tej pułapki jest wprost proporcjonalne do siły, z jaką łańcuch DNA jest ciągnięty przez polimerazę czy bakteriofaga. Wykonuje się także pomiary stałej siły. W tym doświadczeniu pułapka optyczna podąża za kulką, utrzymując stałe jej wychylenie (stałą siłą ciągnięcia). W tym przypadku możliwe są precyzyjne pomiary zmian prędkości zachodzenia procesu [19].



Rys.7. Przykładowy układ do badania pakowania łańcucha DNA do bakteriofaga $\Phi 29$

Innym rodzajem badań przy użyciu pęsety optycznej jest badanie właściwości fizycznych pojedynczych komórek lub błon biologicznych. Określając podatność żywej komórki na odkształcenia, możliwe jest wyciąganie wniosków o jej wewnętrznej budowie, a pośrednio także o jej kondycji. Parametrem stosowanym do zdefiniowania elastyczności jest moduł Younga badanej komórki (najczęściej wyznaczany jest moduł Younga komórki jako całości, jednak możliwe są także pomiary samych błon komórkowych). Dla przykładu, komórki rakowe mają inną budowę wewnętrzną: zmienia się ich cytoszkielet, co wpływa bezpośrednio na sztywność całej struktury. Poprzez badanie podatności komórki na odkształcenia, możliwe jest wykrycie komórek rakowych. Przy pomocy dwóch lub więcej pułapek i dielektrycznych kulek w tych pułapkach wykonuje się ściskanie lub rozciąganie komórek (p. rys. 8). Możliwe jest także badanie wytrzymałości mechanicznej struktur biologicznych poprzez próby rozerwania czy zmiążdżenia. Przykładem tego typu badań są eksperymenty prowadzone na czerwonych krwinkach. Za pomocą pęsety optycznej można pokazać różnice w elastyczności krwinek zdrowych i chorych. Zauważalny jest na przykład spadek elastyczności komórek u pacjentów, u których zdiagnozowano malarię [20, 21].

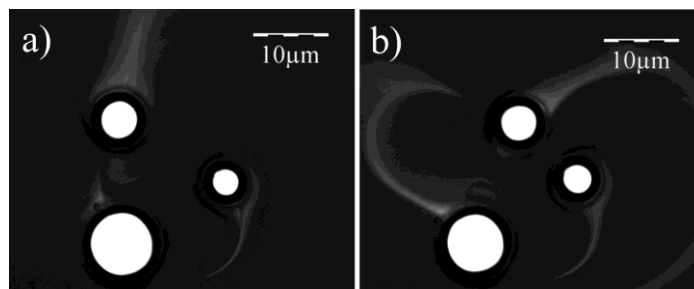


Rys.8. Obraz mikroskopowy komórki przytrzymywanej i ściskanej przez dwie kulki w pułapkach optycznych (badania własne, obraz uzyskany w układzie szczypiec optycznych w laboratorium manipulatorów optycznych na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, dr S. Drobczyński i mgr inż. M. Bacia)

Kolejnym zastosowaniem pęsety optycznej jest mechaniczna segregacja obiektów biologicznych. Najczęściej realizowane jest sortowanie w przepływie [22]. Polega ono na zastosowaniu kanału w kształcie litery „Y” i przy pomocy pułapek optycznych umieszczonych w rozwidleniu kanału, kierowanie przepływających obiektów na odpowiednią drogę. Obiekty są sterowane bezpośrednio przez pułapki optyczne. Nie stosuje się w tym przypadku pomocniczych dielektrycznych kulek. Przepływ materiału przez tak przygotowany kanał zapewniają pompy mikrofluidyczne.

Rysunek 9 przedstawia zaskakujący efekt odkryty w ferrofluidach [22]. Ferrofluidy uzyskuje się przez utworzenie zawiesiny nanocząstek substancji magnetycznej (typowy rozmiar to 10 nm) w cieczy nośnej. Dodatek surfaktantu zapobiega łączeniu się i sedymentacji cząstek. Cząsteczki magnetyka są wypychane na obrzeża pułapki optycznej, gdzie formują dobrze widoczny ciemny pierścień. Jednocześnie centrum pułapki staje się przezroczyste. Trzy pokazane na rysunku 10 pułapki tworzą trzy pierścienie nanocząsteczek magnetycznych. Zaskakujący jest efekt tworzenia się jasnych linii,

łączących te pierścienie. Linie te stanowią kanały, przez które przepływa strumień nanocząsteczek magnetycznych. Przemieszczanie się pułapek optycznych powoduje reorientację jasnych linii, czasem bardzo gwałtowną [23]. Fizyczne procesy stojące za formowaniem się tych linii nie są jeszcze poznane. Procesy aglomeracji cząsteczek ferrofluidów pod wpływem światła białego i laserowego opisane zostały w publikacjach [24, 25]. Jednak formowanie się jasnych linii łączących pierścienie nanocząsteczek i ich dynamika zostały odkryte dzięki zastosowaniu holograficznej pęsety optycznej. Badanie ferrofluidów jest tylko jednym z bardzo licznych przykładów ciekawych zastosowań pęsety optycznej w badaniach roztworów koloidalnych.



Rys. 9. Wzajemne oddziaływanie pierścieni nanocząsteczek magnetycznych wygenerowane za pomocą pęsety optycznej. Pod wpływem działania światła nanocząsteczki magnetyka wypychane są z centrum zogniskowanej wiązki i formują ciemny pierścień. Wolne od cząstek magnetyka wewnątrz pierścienia staje się przezroczyste i staje się widoczne jako jasna kolistą plama. Zdjęcia a) i b) pokazują rekonfigurację jasnych linii łączących pierścienie przy przemieszczeniu jednej z pułapek

Podane przykłady ilustrują wszechstronność zastosowań pęsety optycznej w badaniach biologicznych, biochemicznych i chemicznych. Dzięki pęsetce optycznej możliwe są działania na pojedynczych komórkach, jak i kontrola procesów na poziomie subkomórkowym. Dane uzyskane w tych doświadczeniach dostarczają informacji o budowie badanych biocząsteczek, jak i poszczególnych ich elementów składowych, takich jak błony komórkowe. Pozwalają także lepiej zrozumieć procesy zachodzące z udziałem materiału genetycznego, co z kolei może dostarczyć informacji na przykład o mechanizmach powstawania mutacji genetycznych. Pęseta optyczna pozwala na precyzyjny pomiar właściwości układów fizycznych w skali mikro.

4. Podsumowanie

Pęseta optyczna daje możliwość prowadzenia w czasie rzeczywistym badań na mikroobiekcie za pomocą odpowiednio ukształtowanej wiązki laserowej. Manipulacja za pomocą światła ma wiele zalet. Światło jest medium sterylnym, oddziaływanie z badanym obiektem związane jest z niewielkim transferem energii do tego obiektu, szczególnie w przypadku zastosowania pułapek ciemnych. Analiza zachowania uchwyconych obiektów pozwala na wyznaczenie ich właściwości z bardzo wysoką precyzją. W nowoczesnych holograficznych pęsetach optycznych możliwe jest generowanie wielu różnych pułapek, niezależnie sterowanych. Pęseta optyczna może współpracować z modułami zwiększającymi jej funkcjonalność; przykładem może być układ do badań fluorescencji. O możliwościach tego urządzenia świadczy szybko rosnąca liczba publikacji.

Na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej otwarte zostało w tym roku laboratorium wyposażone w dwie pęsety optyczne. Pęsety optyczne należące do Wydziału Podstawowych Problemów Techniki wyposażone są w wygodny interfejs, a obsługa pułapek odbywa się z poziomu dużego ekranu dotykowego.

PODZIĘKOWANIE

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2010-2013, projekt rozwojowy NR13-0023-10/2010 pt.: „Pęseta optyczna w zastosowaniach biomedycznych” oraz jako projekt własny N N518 498839.

LITERATURA

- [1] A. Ashkin, J.M. Dziedzic, J.E. Bjorkholm, S. Chu: *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*, Opt. Lett., vol. 11, 1986, s. 288–290.
- [2] D.G. Grier: *A revolution in optical manipulation*, Nature, vol. 424, 2003, s. 21–27.
- [3] D.J. Stevenson, F. Gunn-Moore, K. Dholakia: *Light forces the pace: optical manipulation for biophotonics*, Journal of Biomedical Optics, vol. 15(4), 2010, s. 041503–1–21.
- [4] T. Sugiyama, K. Yuyama, H. Masuhara: *Laser trapping chemistry: from polymer assembly to amino acid crystallization*, Accounts of Chemical Research, vol. 45(11), 2012, s. 1946–54.
- [5] J.E. Curtis, B.A. Koss, D.G. Grier: *Dynamic holographic optical tweezers*, Opt. Commun., vol. 207, 2002, s. 169–175.
- [6] D.G. Grier, Y. Roichman: *Holographic optical trapping*, Appl. Opt., vol. 45, 2006, s. 880–887.
- [7] N. Savage: *Digital spatial light modulators*, Nature Photonics, vol. 3, 2009, s. 170–172.
- [8] M.R. Dennis, K. O’Holleran, M.J. Padgett: *Singular optics: optical vortices and polarization singularities*, Prog. Opt., vol. 53, 2009, s. 293–363.
- [9] K.T. Gahagan, G.A. Swartzlander: *Optical vortex trapping of particles*, Opt. Lett., vol. 21, 1996, s. 827–829.
- [10] J. Arlt, V. Garcez-Chavez, W. Sibbett, K. Dholakia: *Optical micromanipulation using a Bessel light beam*, Opt. Commun., vol. 197, 2001, s. 239–245.
- [11] J. Yamamoto, T. Iwai: *On-demand Optical Tweezers Using Computer-generated Phase Holograms*, Rev. Laser Eng., vol. 36, 2008, s.1331–1334.
- [12] S. Suresh: *Biomechanics and biophysics of cancer cells*, Acta Biomaterialia, vol. 3, 2007, s. 413–438.
- [13] S.C. Kuo, M.P. Sheetz: *Force of single kinesin molecules measured with optical tweezers*, Science, vol. 260(5105), 1993, s. 232–234.
- [14] J. Liphardt, B. Onoa, S.B. Smith, I. Tinoco Jr., C. Bustamante: *Reversible Unfolding of Single RNA Molecules by Mechanical Force*, Science, vol. 292(5517), 2001, s. 733–737.
- [15] C. Bustamante: *Unfolding single RNA molecules: bridging the gap between equilibrium and non-equilibrium statistical thermodynamics*, Quarterly Reviews of Biophysics, vol. 38(4), 2005, s. 291–301.
- [16] D.E. Smith, S.J. Tans, S.B. Smith, S. Grimes, D.L. Anderson, C. Bustamante: *The bacteriophage phi29 portal motor can package DNA against a large internal force*, Nature, vol. 413, 2001, s. 748–752.
- [17] C. Hodges, L. Bintu, L. Lubkowska, M. Kashlev, C. Bustamante: *Nucleosomal Fluctuations Govern the Transcription Dynamics of RNA Polymerase II*, Science, vol. 325(5940), 2009, s. 626–628.
- [18] J.R. Moffitt, Y.R. Chemla, K. Athavan, S. Grimes, P.J. Jardine, D.L. Anderson, C. Bustamante: *Intersubunit coordination in a homomeric ring ATPase*, Nature, vol. 457, 2009, s. 446–450.
- [19] F.M. Fazal, S.M. Block: *Optical tweezers study life under tension*, Nature Photonics, vol. 5, 2011, s. 318–321.
- [20] J. Sleep, D. Wilson, R. Simmons, W. Gratzer: *Elasticity of the Red Cell Membrane and Its Relation to Hemolytic Disorders: An Optical Tweezers Study*, Biophysical Journal, vol. 77(6), 1999, s. 3085–3095.
- [21] H. Zhang, K.K. Liu: *Optical tweezers for single cells*, J. R. Soc. Interface, vol. 5, 2008, s. 671–690.
- [22] J. Philip, J.M. Laskar, J. Nanofluids: *Optical properties and applications of ferrofluids – a review*, Journal of Nanofluids, vol. 1, 2012, s. 3–20.
- [23] J. Masajada, M. Bacia, S. Drobczyński: *Cluster formation in ferrofluids induced by holographic optical tweezers*, Opt. Lett., vol. 38, 2013, in press.
- [24] R.R. Kellner, W. Köhler: *Short time aggregation dynamics of reversible light-induced cluster formation in ferrofluids*, J. Appl. Phys., vol. 97, 2005, s. 034910–1–6.
- [25] Z.M. Meng, H.Y. Liu, W.R. Zhao, W. Zhang, H.D. Deng, Q.F. Dai, L.J. Wu, S. Lan, A.V. Gopal: *Effects of optical forces on the transmission of magnetic fluids investigated by Z-scan technique*, J. Appl. Phys., vol. 106, 2009, s. 044905.

otrzymano / submitted: 02.04.2013r.

wersja poprawiona / revised version: 20.07.2013r.

zaakceptowano / accepted: 23.09.2013r.