

СУПЕРПОЗИЦИЯ ВИХРЕВЫХ СВЕТОВЫХ ПУЧКОВ ДЛЯ ЗАХВАТА И ПЕРЕМЕЩЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРООБЪЕКТОВ

Скиданов Р.В., Рыков М.А.

Институт систем обработки изображений РАН

Аннотация

В статье рассматривается возможность формирования модифицированной оптической ловушки для биологических микробиологических объектов из суперпозиции вихревых световых пучков. Представлены результаты экспериментов с использованием таких пучков.

Ключевые слова: оптический захват и манипуляции, вихревые световые пучки, суперпозиция, биологические объекты, ДОЭ.

Введение

Оптическое манипулирование биологическими микробиологическими объектами – уникальный инструмент для множества биологических задач, требующих механического перемещения или удерживания отдельных клеток. Такие разделы биологии, как микробиология, генетика нуждаются в неповреждающем инструменте для манипуляции клетками.

Однако оптический захват связан с использованием светового излучения довольно высокой интенсивности (10^9 – 10^{11} Вт/м²), что может привести к повреждению захватываемого биоматериала [1–4].

Повреждение биологических микробиологических объектов продолжает оставаться наибольшей трудностью, сдерживающей развитие технологии оптического пинцета. Основная причина повреждений также остаётся не до конца выясненной. В качестве возможных называются мультифотонная абсорбция [2], образование свободных атомов кислорода [3] и поглощение тепла раствором, окружающим фокус лазера [4]. Снизить повреждение биообъектов можно, используя длину волны лазера, которая находится в диапазоне малого поглощения биологических объектов.

В работе [5] предложено модифицировать используемые для захвата оптические пучки таким образом, чтобы снизить мощность пучка и одновременно обеспечить распределение интенсивности в фокальной плоскости, обеспечивающее прохождение светового излучения через периферийные области захватываемого биологического объекта. В этом случае снижается, например, риск повреждения генетической информации, сосредоточенной в ядре клетки, т.к. ядро почти никогда не располагается вблизи поверхности клетки. Предлагалось формировать пучок в форме полумесяца. Такая конфигурация обеспечивает прохождение светового излучения через граничные области клетки и снижает интенсивность пучка при сохранении мощности и силы захвата. К сожалению, предложенный в [5] подход содержит ряд существенных недостатков, главный из которых – это наличие ограничения на размеры формируемого пучка, т.к. пучки в [5] формировались с помощью бинарных фокусаторов, которые были рассчитаны для параксиального случая. Для получения таких пучков малых размеров, например, менее 5–6 мкм, необходимо использовать высокоапертурные микробиологические объективы ($NA > 1$). Распространение света при этом не является

параксиальным, поэтому при попытке в эксперименте использовать эти пучки их форма получалась весьма далёкой от расчётной.

В настоящей работе предлагается формирование пучков аналогичной формы за счёт создания суперпозиции двух вихревых пучков с топологическим зарядом одного знака с разницей в единицу.

1. ДОЭ для формирования суперпозиции вихревых пучков в форме полумесяца

В работах [6, 7] описан метод формирования суперпозиции вихревых световых пучков для вращения микробиологических объектов за счёт использования составных ДОЭ, в которых формирование вихревых пучков с разным топологическим зарядом осуществляется за счёт пространственного разделения участков, отвечающих за их формирование, на площади ДОЭ. При этом ДОЭ, отвечающий за формирование вихревого пучка с меньшим топологическим зарядом, располагался ближе к границе ДОЭ. За счёт этого вихревые световые пучки также формировались пространственно разделёнными. Пучки с ростом топологического заряда располагались всё дальше от оси пучка. Для задачи вращения микробиологических объектов разделение в пространстве вихревых пучков полезно, т.к. позволяет распределить падающую энергию по большей площади, но в задаче формирования ловушек в форме полумесяца необходимо, чтобы два вихревых пучка интерферировали в одной пространственной области. Этого можно добиться, чередуя в плоскости ДОЭ большое число узких кольцевых зон, отвечающих за формирование вихревых пучков с разными топологическими зарядами. Т.е. в чётных и нечётных кольцевых зонах будут фазовые функции с разными топологическими зарядами.

Рассмотрим дифракционный оптический элемент с функцией пропускания

$$\begin{aligned} \tau(r, \phi) = & \arg \left[\exp(i2\pi vr) \exp(in\phi) + \right. \\ & \left. + \exp(-i2\pi vr) \exp(-in\phi) \right] \cdot \frac{2}{\pi} \cdot \exp(im_1\phi) + \\ & + \left\{ \frac{\pi}{2} - \arg \left[\exp(i2\pi vr) \exp(in\phi) + \right. \right. \\ & \left. \left. + \exp(-i2\pi vr) \exp(-in\phi) \right] \right\} \cdot \frac{2}{\pi} \exp(im_2\phi), \end{aligned} \quad (1)$$

где m_1, m_2 – номера дополнительных вихревых составляющих; r, φ – полярные координаты; v – пространственная несущая частота; n – топологический заряд бинарного дифракционного аксикона, который является основой структуры этого ДОЭ. С точки зрения геометрии ДОЭ с такой функцией пропускания выглядит как аксикон, у которого в выступах записана вихревая составляющая m_1 , а во впадинах – вихревая составляющая m_2 , при этом расположение этих зон таково, что в ближней зоне дифракции такой ДОЭ также может формировать световое поле с топологическим зарядом n . В случае, когда выполняется условие $|m_1 - m_2| = 1$, такой ДОЭ формирует световое поле в виде полумесяца.

Рассмотрим вариант: $n = 0, m_1 = 0, m_2 = 1$. На рис. 1 представлены фаза ДОЭ и распределение интенсивности в дальней зоне.

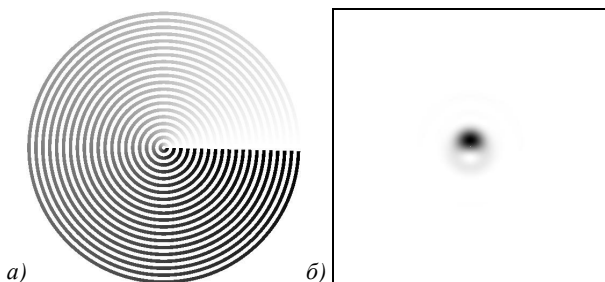


Рис. 1. Фаза ДОЭ ($n = 0, m_1 = 0, m_2 = 1$) (а) и распределение интенсивности при дифракции на ДОЭ в дальней зоне (б)

Как видно из рис. 1, в данном случае полумесяц очень короткий и похож на слегка искажённый гауссов пучок. Если измерять ширину этого пучка по полуспаду интенсивности, то ширина этого пучка по вертикальной координате слегка меньше, а по горизонтальной координате больше, чем ширина по полуспаду интенсивности у пучка Гаусса, распространяющегося при тех же условиях (т.е. в дальней зоне дифракции). Но с ростом абсолютных значений параметров m_1 и m_2 вид у пучков меняется. На рис. 2 представлено аналогичное распределение для случая $n = 0, m_1 = 1, m_2 = 2$.

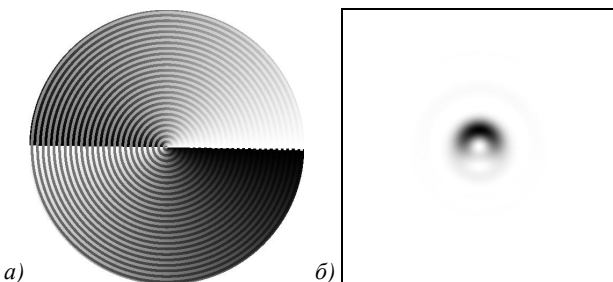


Рис. 2. Фаза ДОЭ ($n = 0, m_1 = 1, m_2 = 2$) (а) и распределение интенсивности при дифракции на ДОЭ в дальней зоне (б)

При дальнейшем увеличении абсолютного значения параметров m_1, m_2 полумесяц становится всё более вытянутым и похожим на распределение, формируемое фокусатором в [5]. На рис. 3 представлен случай $n = 0, m_1 = 4, m_2 = 5$.

Пучки, представленные на рис. 1–3, можно сфокусировать в очень маленькие области, сравнимые с дифракционным пределом.

Ещё один случай может быть полезен при захвате биологических микроорганизмов, который можно наблюдать при соблюдении условия $|m_1 - m_2| = 2$.

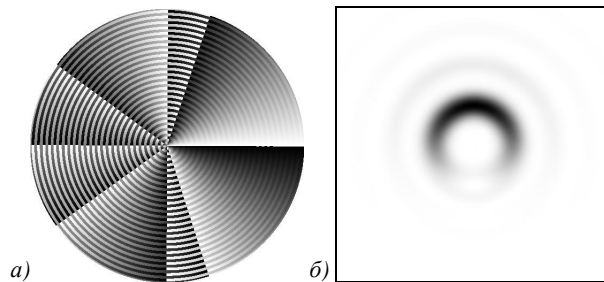


Рис. 3. Фаза ДОЭ ($n = 0, m_1 = 4, m_2 = 5$) (а) и распределение интенсивности при дифракции на ДОЭ в дальней зоне (б)

На рис. 4 представлен случай $n = 0, m_1 = 2, m_2 = 4$.

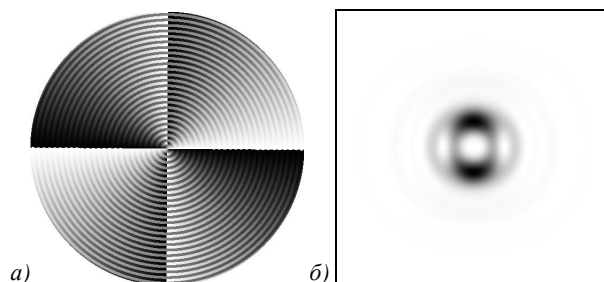


Рис. 4. Фаза ДОЭ ($n = 0, m_1 = 2, m_2 = 4$) (а) и распределение интенсивности при дифракции на ДОЭ в дальней зоне (б)

Как видно из рис. 4, в результате дифракции на таком ДОЭ образуется распределение интенсивности в виде двух полумесяцев с нулевой интенсивностью в центре. Такое распределение удобно для задачи удерживания на месте биологического микроорганизма по одной координате. Это распределение интенсивности за счёт концентрации энергии на одной координате позволяет получить большую силу захвата по сравнению с обычным вихревым пучком такого же масштаба (на 20–25%) (правда, по другой координате сила захвата на столько же меньше). Эти результаты были получены путём моделирования оптического захвата биологического микроорганизма сферической формы методом, описанным в [8, 9].

2. Эксперимент

Для изготовления фазы предложенных ДОЭ была приведена к бинарному виду методом [10] (рис. 5а). Сами ДОЭ были изготовлены методом фотолитографии с $m_1 = 7$ и $m_2 = 9$ на кварцевой подложке диаметром 4 мм с разрешением 1 мкм.

Глубина травления составила 480 ± 50 нм. На рис. 5б представлено распределение интенсивности в дальней зоне дифракции в сформированном пучке.

Для серии экспериментов культура клеток K562 была выдержана в питательной среде в течение 12 часов.

Оптическая схема экспериментальной установки была собрана на базе инвертированного микроскопа Zeiss Axio Observer Z1, её принципиальная схема приведена на рис. 6. Внешний вид установки показан на рис. 7.

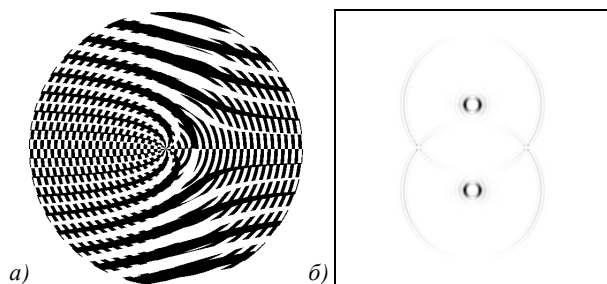


Рис. 5. Фаза ДОО, который был изготовлен для использования в эксперименте (а), распределение интенсивности в дальней зоне дифракции, полученное моделированием

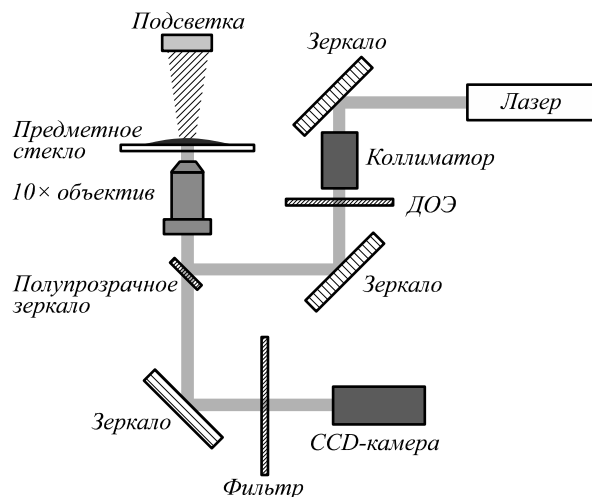


Рис. 6. Принципиальная оптическая схема экспериментальной установки

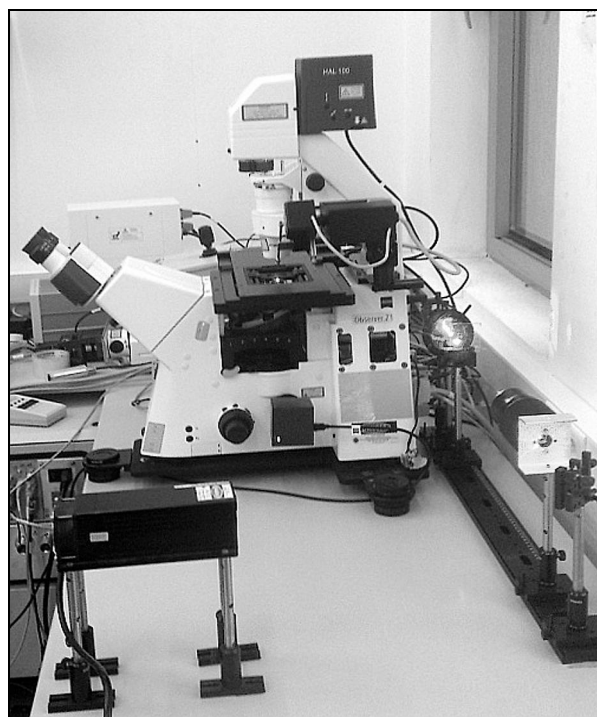


Рис. 7. Внешний вид экспериментальной установки

В качестве источника лазерного излучения использовался лазер с длиной волны 532 нм и переменной мощностью (200–2000 мВт). Предметная плос-

кость подсвечивалась белым светом от лампы накаливания. Изображение в предметной плоскости получалось с помощью CCD-камеры AxioCam ERc (~10 кадр/с, 2560×1920 пикселей). Спектральный светофильтр перед CCD-камерой ослаблял лазерное излучение, чтобы не засвечивать изображение захваченных биологических микробиологических объектов.

Луч лазера с помощью поворотного зеркала направлялся на ДОО. При помощи коллиматора пучок расширялся до 5 мм в диаметре, чтобы полностью покрыть рельеф ДОО. Сформированный пучок фокусировался внутри взвеси клеток K562 при помощи 10× микрообъектива. Подсветка рабочей области осуществлялась сверху. Изображение с камеры в режиме реального времени отображалось на экране ПК, позволяя управлять процессом захвата с помощью микрометров предметного столика, осуществляя визуальный контроль. К сожалению, контролировать положение лазерного пучка можно было только по свету, отражённому от границ разделов сред (вода–воздух, вода–подложка). В результате на рис. 8 виден не сам пучок в рабочей плоскости, а совокупность отражённых пучков. Цветной фильтр перед камерой предотвращал попадание слишком мощного лазерного излучения на матрицу камеры.

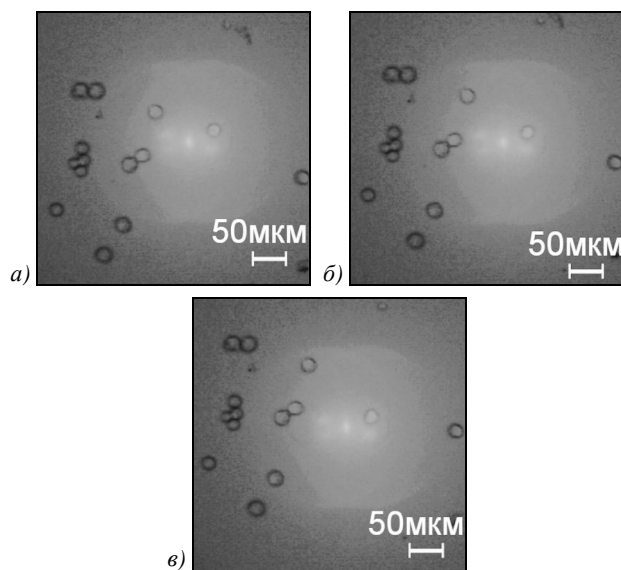


Рис. 8. Изображения, полученные в ходе эксперимента по передвижению клетки K562 при помощи суперпозиции вихревых пучков с топологическими зарядами $m_1 = 7$ и $m_2 = 9$. Изображения получены через промежуток времени в 4 с

Для экспериментального изучения характера образуемой ловушки были проведены опыты по перемещению клеток K562 при помощи суперпозиции вихревых пучков с топологическими зарядами $m_1 = 7$ и $m_2 = 9$. Средняя скорость передвижения клетки составила 5 мкм/с, максимальная – порядка 10 мкм/с. Оптические силы составили порядка 20 пН при мощности лазера на входе в микрообъектив около 200 мВт. Сила измерялась косвенно, по максимальной скорости перемещения микробиологического объекта пучком [10].

Если принять за характеристику качества оптической ловушки отношение силы захвата к мощности пучка:

$$\sigma = F / I, \quad (2)$$

где F – сила захвата, I – мощность излучения в фокусе пучка, то для данной серии экспериментов, с учётом эффективности ДОО 30%, для сформированного пучка имеем следующее значение этого параметра

$$\sigma = 3,3 \cdot 10^{-11} \text{ Н / Вт}. \quad (3)$$

При расчёте учитывалась только мощность, попадающая в рабочую световую ловушку.

Для сравнения, для Гауссова пучка это соотношение составляет при тех же параметрах эксперимента $\sigma_g = 1,6 \cdot 10^{-11} \text{ Н/Вт}$ [10].

Заключение

Представлен новый тип оптических ловушек для захвата биологических микрообъектов на основе суперпозиции вихревых световых пучков с топологическими зарядами с разностью 1 и 2. Представлены результаты эксперимента по перемещению в таких пучках биологических микрообъектов. Показана высокая эффективность сформированных световых пучков для захвата биологических микрообъектов по сравнению с Гауссовым пучком.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках постановления Правительства Российской Федерации от 09.04.2010 г. № 218: договор № 02.Г36.31.0001 от 12.02.2013, Российского фонда фундаментальных исследований (гранты РФФИ 12-07-31075, 13-07-00266, 13-07-97004р_поволжье_а, 13-07-97005р_поволжье_а, 12-07-31075), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (соглашение №8231).

Литература

1. **Leitz, G.** Stress response in *Caenorhabditis elegans* caused by optical tweezers: wavelength, power, and time dependence / G. Leitz, E. Fällman, S. Tuck, O. Axner // *Biophys. J.* – 2002. – V. 82(4). – P. 2224-2231.
2. **König, K.** Cell damage in near-infrared multimode optical traps as a result of multiphoton absorption / K. König, H. Liang, M.W. Berns, B.J. Tromberg // *Opt. Lett.* – 1996. – V. 21(14). – P. 1090-1092.
3. **Thanh, S.D.** Thanh, S.D. Photogenerated singlet oxygen damages cells in optical traps / S.D. Thanh, N.C. Zakharov // <http://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/0911>. - 2009.
4. **Peterman, E.J.G.** Laser-Induced Heating in Optical Traps / E.J.G. Peterman, F. Gittes, C.F. Schmidt // *Biophysical Journal.* – 2003. – V. 84(2). – P. 1308-1316.
5. **Скиданов, Р.В.** Модификация распределения интенсивности лазерного пучка для оптимизации силовых характеристик оптической ловушки / Р.В. Скиданов, М.А. Рыков, Г.С. Инначионе, С.Г. Кривошлыков // *Компьютерная оптика.* – 2012. – Т. 36, № 3. – С. 377-386.

6. **Морозов, А.А.** Сложные вихревые пучки для вращения микромеханических элементов / А.А. Морозов, Р.В. Скиданов // *Компьютерная оптика.* – 2013. – Т. 37, № 1. – С. 68-75.
7. **Морозов, А.А.** Вращение микротурбин в сложных вихревых пучках / А.А. Морозов, Р.В. Скиданов // *Компьютерная оптика.* – 2013. – Т. 37, № 2. – С. 203-207.
8. **Скиданов, Р.В.** Расчёт силы взаимодействия светового пучка с микрочастицами произвольной формы / Р.В. Скиданов // *Компьютерная оптика.* – 2005. – Т. 28. – С. 18-21.
9. **Скиданов, Р.В.** Моделирование движения биологических микрообъектов в световых пучках / Р.В. Скиданов, М.А. Рыков // *Компьютерная оптика.* – 2010. – Т. 34, № 3. – С. 308-314.
10. **Rykov, M.A.** Manipulation of yeast cells with DOE-modulated crescent-shaped and optical bottle laser beams / M.A. Rykov, R.V. Skidanov // *Proc. SPIE.* – 2013, September 12. – 8810. – *Optical Trapping and Optical Micromanipulation X*, 88102Z.

References

1. **Leitz, G.** Stress response in *Caenorhabditis elegans* caused by optical tweezers: wavelength, power, and time dependence / G. Leitz, E. Fällman, S. Tuck, O. Axner // *Biophys. J.* – 2002. – V. 82(4). – P. 2224-2231.
2. **König, K.** Cell damage in near-infrared multimode optical traps as a result of multiphoton absorption / K. König, H. Liang, M.W. Berns, B.J. Tromberg // *Opt. Lett.* – 1996. – V. 21(14). – P. 1090-1092.
3. **Thanh, S.D.** Thanh, S.D. Photogenerated singlet oxygen damages cells in optical traps / S.D. Thanh, N.C. Zakharov // <http://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/0911>. - 2009.
4. **Peterman, E.J.G.** Laser-Induced Heating in Optical Traps / E.J.G. Peterman, F. Gittes, C.F. Schmidt // *Biophysical Journal.* – 2003. – V. 84(2). – P. 1308-1316.
5. **Skidanov, R.V.** The modification of laser beam for optimization of optical trap force characteristics / R.V. Skidanov, M.A. Rykov, G.S. Iannacchione, S.G. Krivoshlykov // *Computer Optics.* – 2012. – V. 36(3). – P. 377-386. – (In Russian).
6. **Morozov, A.A.** Complex vortex beams for of rotation of micromechanical elements / A.A. Morozov, R.V. Skidanov // *Computer Optics.* – 2013. – V. 37(1). – P. 68-75. – (In Russian).
7. **Morozov, A.A.** Rotation of microturbine in complex vortex beams / A.A. Morozov, R.V. Skidanov // *Computer Optics.* – 2013. – V. 37(2). – P. 203-207. – (In Russian).
8. **Skidanov, R.V.** The computation of power between light beam and particles of an arbitrary shape / R.V. Skidanov // *Computer Optics.* – 2005. – V. 28. – P. 18-21. – (In Russian).
9. **Skidanov, R.V.** Modeling of movement of biological microobjects in light beams / R.V. Skidanov, M.A. Rykov // *Computer Optics.* – 2010. – V. 34(3). – P. 308-314. – (In Russian).
10. **Rykov, M.A.** Manipulation of yeast cells with DOE-modulated crescent-shaped and optical bottle laser beams / M.A. Rykov, R.V. Skidanov // *Proc. SPIE.* – 2013, September 12. – 8810. – *Optical Trapping and Optical Micromanipulation X*, 88102Z.

THE MODIFICATION OF LASER BEAM FOR OPTIMIZATION OF OPTICAL TRAP FORCE CHARACTERISTICS

R.V. Skidanov, M.A. Rykov

Image Processing Systems Institute of the RAS

Abstract

The article considers the possibility of forming a modified optical trap for biological micro objects of a superposition of vortex of light beams. Presents the results of experiments with the use of such beams.

Key words: optical capture and manipulation, laser beam modification, biological microobject, DOE.

Сведения об авторах



Скиданов Роман Васильевич, 1973 года рождения. В 1990 году с отличием окончил Самарский государственный университет (СамГУ) по специальности «Физика». Доктор физико-математических наук (2007 год), работает старшим научным сотрудником лаборатории лазерных измерений Института систем обработки изображений РАН (ИСОИ РАН), профессором кафедры технической кибернетики СГАУ. Скиданов Р.В. – специалист в области дифракционной оптики, математического моделирования, обработки изображений и нанопоники. В списке научных работ Р.В. Скиданова 60 статей, 3 монографии.

E-mail: romans@smr.ru.

Roman Vasilevich Skidanov (b. 1973) graduated with honours (1990) from the Samara State University (SSU), majoring in Physics. He received his Doctor in Physics & Maths (2007) degrees from Samara State Aerospace University. He is the senior researcher laboratory of laser measurement at the Samara Image Processing Systems Institute of the Russian Academy of Sciences (IPSI RAS), holding a part-time position of professor at SSAU's Technical cybernetics sub-department. He is co-author of 60 scientific papers, 3 monographs. His current research interests include diffractive optics, mathematical modeling, image processing, and nanophotonics.



Рыков Михаил Александрович, 1987 года рождения, в 2008 получил степень бакалавра в СГАУ по специальности «Прикладная математика». Область научных интересов: дифракционная оптика.

Mikhail Aleksandrovich Rykov (b. 1987). He received his bachelor in Applied mathematics (2008) in SSAU. His research interests are currently diffractive optics.

Поступила в редакцию 29 сентября 2013 г.