

中国科学技术大学
UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY OF CHINA

博士学位论文



论文题目 新型调制光阱的理论、实验
与单分子应用

作者姓名 任煜轩

学科专业 光学

导师姓名 郭光灿 院士 李银妹 教授

完成时间 二〇一二年三月

中国科学技术大学
博士学位论文



新型调制光阱的理论、实验与单分子
应用

作者姓名: 任煜轩
学科专业: 光 学
导师姓名: 郭光灿 院士 李银妹 教授
完成时间: 二〇一二年三月十五日

University of Science and Technology of China
A dissertation for doctor's degree



**Theory, experiment and single molecule
application of novel modulated optical
tweezers**

Author: Yuxuan Ren

Speciality: Optics

Supervisor: Profs. Guangcan Guo and Yinmei Li

Finished time: March 15, 2012

中国科学技术大学学位论文原创性声明

本人声明所呈交的学位论文,是本人在导师指导下进行研究工作所取得的成果。除已特别加以标注和致谢的地方外,论文中不包含任何他人已经发表或撰写过的研究成果。与我一同工作的同志对本研究所做的贡献均已在论文中作了明确的说明。

作者签名: 任煜轩

签字日期: 2012.4.18

中国科学技术大学学位论文授权使用声明

作为申请学位的条件之一,学位论文著作权拥有者授权中国科学技术大学拥有学位论文的部分使用权,即:学校有权按有关规定向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版,允许论文被查阅和借阅,可以将学位论文编入《中国学位论文全文数据库》等有关数据库进行检索,可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。本人提交的电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

公开 保密 (____年)

作者签名: 任煜轩

导师签名: 张世林

签字日期: 2012.4.18

签字日期: 2012.5.2

摘要

本文通过对光镊技术发展的现状、光镊技术的新形势、与光镊技术相关的新技术以及面向应用中出现的新问题进行详细的调研和充分的论述,确定新型调制光阱的理论、实验与单分子应用研究这一主题。在光镊捕获理论方面,利用蒙特卡罗技术对时分复用光镊的有效刚度随光阱切换频率变化关系进行系统地研究;全息光镊理论和实验方面,采用傅里叶光学原理计算全息相位片,探索细胞层次的捕获和旋转,纳米碟的并行操控等;在单分子生物物理方面,搭建了带荧光探测的高精度激光双光镊,系统研究了抑制剂对 DNA 折叠动力学的影响。

在全息光镊理论研究中,本文通过对全息光镊所涉及的理论进行一个详细的研究,运用适应算法计算实现全息阵列光镊所需的相位片,并在实验中得到很好的验证。全息光镊实验方面,我们成功实现全息阵列光镊捕获和排布多个粒子、全息涡旋光镊旋转单个或者多个细胞等。全息光镊应用方面,我们采用高性能计算机对全息阵列光镊进行并行标定,有效地提高光阱刚度的标定速度;采用全息涡旋光镊对酵母细胞的旋转动力学特性进行较详细的研究;设计、制备并表征纳米碟,采用全息光镊对纳米碟进行操控和排布实验;设计软物质综合测量系统。

在时分复用光镊的理论研究方面,我们采用蒙特卡罗模拟技术对不同占空比的时分复用光阱中的粒子运动位置进行模拟,进而计算出光阱的刚度。数值模拟的结果表明,光阱有效刚度随光阱切换频率的变化关系呈指数增长关系,在高频段稳定到一个恒定的值。我们采用旋转玻片法和声光衍射器等形成时分复用光镊,分别在低频段和宽频段有效地验证了数值模拟的结果。

在调制光镊应用方面,我们将时分复用光镊和单分子荧光探测技术相结合,实现 1bp 探测精度的基于时分复用光镊的高精度激光双光镊。该光镊可以工作在多种模式,如恒力模式、变力模式、单分子荧光探测、宽场荧光成像等。实验中,我们设计一系列不同长度、不同序列、不同位置的短单链 DNA 片段作为抑制剂,研究抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学特性的影响。宽场荧光成像方面,我们实现对单个 λ DNA 进行荧光成像。这一系列实验表明,高精度激光光镊在蛋白质折叠、蛋白与 DNA 相互作用、马达蛋白、染色质结构等方面具有广阔的应用前景。

在全息光镊工作之前,我们尝试用激光直写技术制作掩模板,再用离子束刻

蚀技术加工纯相位型衍射光学元件,成功实现将高斯光束整形成叠加的拉盖尔高斯光束,还对叠加光场的轨道角动量分布作了详细的研究。我们还通过对数字微镜器件特性的详细研究,设计一系列叉形光栅透射到数字微镜上,将高斯光束整形成拉盖尔高斯光束,并研究了整形前后光束的偏振特性。

新型调制光镊技术本身也是一个比较宽泛的课题。即包括光镊技术本身的设计、搭建,也包括向应用方面深化。如胶体科学、软物质等领域,采用空间光调制器形成的全息光镊可以同时并行操控微纳米粒子的能力,在胶体的自组装,多个胶体粒子相互作用等方面具有广阔的应用前景。在微纳米尺度研究单个生物分子力和伸长的变化关系,有助于人们了解蛋白质/RNA/DNA 或他们的复合物等生物大分子的动力学行为,得到与传统基于粗快实验的生物学手段互补的信息。结合单分子荧光的高精度光镊技术可以测量蛋白质和 DNA 复合物的构象变化并对某个特定的分子进行可视化等。

本文的新型调制光镊主要涉及时间调制所形成的时分复用光镊和基于液晶空间光调制器的全息光镊。其中时间调制光镊主要在第四章和第五章介绍;空间调制光镊在第二章和第三章介绍;相关的应用主要在第三章和第五章介绍;在全息光镊的早期论证工作中,我们还采用二元相位片和数字微镜器件对光束进行整形,这两部分内容分别在第六章和第七章介绍;第八章对本文的工作进行一个最后的总结并对后续实验室的相关工作做一个展望。

关键词: 光镊, 全息光镊, 时分复用光镊, 单分子生物物理, DNA 折叠

Abstract

This thesis starts with the current status and situation of optical tweezers, reviews novel techniques combined with optical tweezers and discusses novel problems that people haven't solved in related application area. The main focus of thesis are theory, experiment and application of novel modulated optical tweezers which covers time-sharing optical tweezers and holographic optical tweezers. On the theory of optical trapping, we utilize Monte Carlo technique to simulate the relationship between effective stiffness and trap switching frequency; On holographic optical tweezers, we employ Fourier optics to calculate the hologram for array tweezers, further study the dynamics of cells under vortex tweezers, parallel calibrate array tweezers with high performance computer and manipulate nanoplatelets holographic optical tweezers; On single molecule biophysics, we constructed state-of-art high resolution dual trap optical tweezers with single molecule detection and systematically studied the DNA hairpin dynamics with different oligonucleotide inhibitors.

Single molecule biophysics is a highly interdisciplinary subject, involving mechanics, electronics, optics, computer science and biochemistry. Typical approaches to study single molecules are atomic force microscope, optical tweezers, magnetic tweezers, single molecule fluorescence localization and single molecule fluorescence detection. For optical tweezers, since its invention in 1986, it becomes an important research tool in colloidal science, soft matter and single molecule biophysics. Optical tweezers technique itself has developed with those new requirements, absorbing many new techniques. Time-sharing and spatial light modulation are two commonly utilized methods among those novel techniques.

This thesis mainly discusses some topics on holographic optical tweezers based on spatial modulation, time-sharing optical tweezers and their related applications in single molecule biophysics. The holograms were calculated through Fourier optics, and the effective stiffness of time-sharing optical tweezers was studied with Monte Carlo technique. Holographic optical tweezers was utilized to capture and rotate cells, to parallel manipulate nanoplatelets.

On the theory of holographic optical tweezers, we summarize related theories of holographic optical tweezers and utilize the adaptive-additive algorithm to calculate the holograms, and our algorithm is verified in the holographic optical tweezers experiments. On the experimental part, we successfully capture and arrange multiple microscopic particles with array tweezers and rotate single or multiple cells with vortex tweezers; we studied the dynamics of yeast cell in vortex tweezers in more detail; we designed, fabricated, characterized ZrP nanoplatelets and use the holographic optical tweezers to manipulate and arrange them; we design hybrid system based on holographic tweezers and high resolution tweezers for measurement of soft matter.

On the theoretical part of time-sharing optical tweezers, we utilize Monte Carlo

technique to simulate the Brownian motion of microsphere in time-sharing optical tweezers and further calculate the effective trap stiffness. Simulation results demonstrate that the effective stiffness grows exponentially with the trap switching frequency and saturates at higher frequencies. We employ rotating glass plate and acousto-optic deflector to form time sharing optical tweezers and the experimental results confirmed the simulation both in the low frequency range and in a broad frequency range.

On the application of time-sharing optical tweezers, we combined time-sharing optical tweezers with single molecule fluorescence detection, successfully achieved 1bp resolution based on the time-sharing high resolution dual trap optical tweezers. This hybrid tweezers machine can work on different modules, including constant force mode, variable force mode, single molecule fluorescence detection, wide field fluorescent imaging. We designed and synthesized a series of DNA oligonucleotides with different length, different sequence, different position as inhibitor and studied the dynamics change of DNA hairpin induced by the inhibitor. We successfully imaged single λ DNA molecule with wide field fluorescent microscopy.

Novel modulation optical tweezers is a broad research area, involving the design and construction of optical tweezers and the deepened application of this technique. In colloidal and soft matter sciences, holographic optical tweezers based on liquid crystal spatial light modulator with the ability to parallel manipulate nanoparticle will potentially be employed to study the colloidal assembly, multiple particle interaction. The study of force and extension change in microscopic and nanoscopic level helps people understand the dynamics of macromolecules such as protein/RNA/DNA or their complex structure. These information is not obtainable and complementary in traditional approaches based on bulk experiment. High resolution optical tweezers combined with single molecule detection are able to measure the conformational changes and visualize the macromolecule simultaneously.

The novel modulation tweezers in this thesis includes time sharing optical tweezers with time multiplexing and holographic optical tweezers with liquid crystal spatial light modulator. Time sharing optical tweezers will be introduced in Chapter 4 with single molecule application in Chapter 5; Chapter 2 and 3 will introduce the theoretical, experimental and application part of holographic optical tweezers utilizing liquid crystal spatial light modulator; prior to the development of holographic optical tweezers, we fabricated pure phase hologram with ion etching technique and shaped the laser beam into superimposed Laguerre-Gaussian beam which can be found in Chapter 6; Chapter 7 demonstrates another spatial light modulation technique to shape the laser beam with amplitude type modulator, digital micromirror device; Chapter 8 summarizes the whole project during my PhD thesis and prospectively overview the future work of holographic optical tweezers in our lab.

Keywords: Optical tweezers, Holographic optical tweezers, Time-sharing optical tweezers, Single molecule biophysics, DNA folding

目 录

摘 要	1
Abstract	III
第 1 章 新型调制光阱的研究背景	1
1.1 光镊技术发展现状	5
1.1.1 单光束光镊的原理和实现方法	6
1.1.2 光镊的理论模型	7
1.1.3 光镊技术在软物质中的应用	9
1.1.4 光镊技术在蛋白质工程中的应用	10
1.1.5 光镊在胶体聚集速率测量方面的应用	11
1.2 光镊技术中的新形势	11
1.2.1 单个光镊的主动操控	12
1.2.2 多个粒子的同时捕获和操控	12
1.2.3 纳米尺度粒子的捕获、操纵与观察	13
1.2.4 低数值孔径光镊与几十微米的捕获对象	13
1.2.5 光阱下粒子探针的连接与修饰	14
1.3 光镊技术中的新技术	15
1.3.1 声光衍射器件与时间调制技术	15
1.3.2 空间光调制器与空间调制技术	15
1.3.3 光纤与光纤光镊	15
1.3.4 仪器的反馈控制技术	16
1.3.5 实验数据的快速采集	16
1.4 光镊技术中的新问题	17
1.4.1 各种新型光阱的实现及算法优化	17
1.4.2 GPU 以及并行计算技术提高计算速度	17
1.4.3 FPGA 控制	18
1.4.4 实验数据的采集和分析中的新问题	18
1.4.5 单分子生物物理实验对光镊的新要求	18
1.5 新型调制光阱研究的意义	19
1.5.1 光镊技术本身	19
1.5.2 单分子生物物理	19
1.5.3 膜形变调控蛋白聚合	20
1.6 本文的主要研究内容	20
第 2 章 全息光镊的理论基础	21
2.1 全息光镊技术简介	22
2.1.1 数字全息技术	22
2.1.2 空间光调制器	23
2.2 液晶空间光调制器的工作原理	23
2.2.1 平行相列型液晶空间光调制器的调制原理	25
2.2.2 扭曲相列型液晶空间光调制器的调制原理	26
2.2.3 全息光镊装置中所采用的液晶空间光调制器的特性	28
2.3 全息光镊的实现算法	29

2.3.1 全息光镊理论	30
2.3.2 算法简介	31
2.3.3 算法结果	35
2.3.4 结果分析与讨论	35
2.3.5 实验结果	38
2.4 本章小结	38
第 3 章 全息光镊实验实现	39
3.1 全息光镊技术应用背景	39
3.1.1 软物质物理	40
3.1.2 微区流变学	40
3.1.3 单分子生物物理	41
3.2 全息光镊实验装置主要硬件介绍	41
3.2.1 激光器	41
3.2.2 空间光调制器	42
3.2.3 显微镜	43
3.2.4 光路设计与分析	43
3.3 全息光镊的软件简介	46
3.3.1 空间光调制器的控制	46
3.3.2 界面与算法软件	47
3.4 全息光镊的实验结果	47
3.4.1 全息阵列光镊捕获多个微小粒子	48
3.4.2 全息涡旋光阱旋转粒子	48
3.5 全息光镊稳定性分析	50
3.5.1 全息阵列光镊刚度分析的特点	50
3.5.2 数字图像处理	51
3.5.3 功率谱分析	52
3.5.4 能量均分原理	53
3.6 全息光镊的应用	54
3.6.1 采用高性能计算机对阵列光镊的刚度进行并行标定	54
3.6.2 酵母细胞在涡旋光阱中的旋转速率和扭力矩	57
3.6.3 纳米碟的并行操控	59
3.6.4 基于杂化光镊的软物质综合测量系统	61
3.7 本章小结	62
第 4 章 时间调制光阱中粒子的动力学理论研究	63
4.1 时分复用光阱中粒子的动力学描述	64
4.1.1 时分复用光阱简介	65
4.1.2 时分复用光阱中粒子的运动规律	66
4.2 时分复用光阱有效刚度的数值模拟	67
4.2.1 实现算法	68
4.2.2 模拟结果	69
4.2.3 飞秒激光分析	70
4.3 时分复用双光阱稳定性的实验研究	71
4.3.1 旋转玻片时分复用双光镊实验装置	71
4.3.2 时分复用双光镊有效刚度实验结果	74

4.3.3 旋转玻片法时分复用光阱稳定性分析	75
4.3.4 宽频段有效刚度随切换频率的变化关系	76
4.4 振荡光镊中胶体粒子的动力学模拟	77
4.4.1 振荡光镊	77
4.4.2 模拟过程	78
4.4.3 结果	79
4.4.4 讨论与小结	80
4.5 本章小结	82
第 5 章 高精度激光双光镊与单分子生物物理应用	83
5.1 新型高精度激光双光镊的研究背景	84
5.1.1 恒力实验	84
5.1.2 单分子荧光成像和共聚焦荧光相关谱	84
5.1.3 单分子荧光	85
5.2 高精度激光光镊系统介绍	85
5.2.1 光路原理	85
5.2.2 位置探测和图像标定	86
5.2.3 样品池和微流道设计	86
5.2.4 精度标定	87
5.2.5 恒力区的标定	88
5.3 抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响	89
5.3.1 DNA 发卡实验原理	89
5.3.2 DNA 发卡变力模式实验结果	90
5.3.3 恒力模式 DNA 发卡的实验结果	91
5.3.4 抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响	92
5.3.5 小结	94
5.4 荧光探测模块	94
5.4.1 宽场荧光成像	95
5.4.2 单分子荧光探测	95
5.4.3 讨论与小结	96
5.5 本章小结	96
第 6 章 离子束刻蚀相位片实现拉盖尔高斯光束	97
6.1 相位片制作的常见工艺	97
6.1.1 激光直写技术	98
6.1.2 离子束刻蚀技术	98
6.1.3 紫外光刻	99
6.1.4 电子束刻蚀	99
6.1.5 同步辐射刻蚀	99
6.2 相位片的制作流程	100
6.2.1 相位片的设计	100
6.2.2 激光直写技术制作光刻掩模板	101
6.2.3 离子束刻蚀加工相位片	102
6.3 相位片实现叠加拉盖尔高斯光束的实验研究	103
6.3.1 相位片的测试	103
6.3.2 实验装置	103

6.3.3 光阑大小对衍射结果的影响	105
6.4 结果分析	105
6.4.1 讨论	105
6.4.2 光学捕获分析	107
6.5 本章小结	108
第 7 章 数字微镜实现涡旋光束的实验研究	109
7.1 数字微镜器件简介	109
7.1.1 DMD 的工作原理	110
7.1.2 DMD 应用领域	111
7.1.3 DMD 通过脉宽调制实现光强调制	111
7.1.4 DMD 的固有相位调制	112
7.2 DMD 实现拉盖尔高斯光束的实验研究	115
7.2.1 DMD 的控制与使用方法	115
7.2.2 实验装置	116
7.2.3 DMD 工作曲线的校正	117
7.2.4 涡旋光束的实验结果	118
7.4 DMD 实现涡旋光束偏振态研究	121
7.4.1 实验结果	121
7.4.2 理论分析	122
7.4.3 偏振度较低的可能解释	124
7.5 本章小结	124
第 8 章 总结与展望	125
参考文献	127
缩写词索引	141
常用物理量及单位换算	142
致 谢	143
攻读博士学位期间发表论文	145

第 1 章 新型调制光阱的研究背景

单分子生物物理是一个新兴的交叉学科,它利用是物理、化学、光电子和计算机等技术来解决生物问题的国际前沿研究领域。从生物学家角度,生命是如何工作的?打开一个蛋白质分子需要多大的力?折叠态和去折叠态之间的能量是多少^[1]? RNA 有多少种可能的构象^[2],不同构象之间势垒的高度是多少^[3, 4]?不同分子马达运动的步距分别是多长? DNA 转录酶的转录机制如何^[5]?蛋白质聚合化对生物膜有何影响?在细胞膜的融合过程中蛋白质又是如何起作用的?如何测量 DNA 的弹性并观察单个 DNA?基因是如何复制和调控的?这些问题似乎是生物学的问题,但对这些问题的回答多要借助于物理的手段。中国科学院院士郝柏林先生曾说过,生物领域是数理和计算机科学的广阔用武之地^[6]。对上述问题的回答,传统的粗快实验方法测量的结果,如荧光、激光温度突变(laser temperature-jump)、Stopped-flow、圆二色以及共振增强拉曼等,是一个大系综的平均值,随着实验手段的进步,人们发展了一系列的单分子实验手段从单分子的层次加深对上述问题的理解,如激光光镊、磁镊、原子力显微镜(AFM)、单分子荧光共振能量转移(smFRET)等。

DNA 和遗传密码的发现标志着分子生物学时代的到来。生物学的中心法则表明, DNA 可以通过自我复制使得遗传信息得到保存,并通过转录 RNA 进而通过遗传密码子将特定的氨基酸组装成特定的蛋白。氨基酸常见的有 20 种,这 20 种氨基酸是如何组成多种多样的蛋白质的,这些蛋白质的结构如何,对这些问题的回答可以为蛋白质在特定机体中所起的作用有更深入的研究,如血凝的机制,跨膜蛋白的作用等。对蛋白质的空间结构的认识目前主要通过 X 射线衍射和核磁共振谱等,如何测定蛋白质在折叠过程中空间构象的变化以及折叠能量,则需要通过单分子的实验手段来对蛋白质折叠的动力学进行研究。

原核或真核细胞中, DNA 受一系列蛋白的弯曲、拉伸扭曲等作用,也就是说 DNA 的弹性在基因的表达以及细胞的功能中起着很重要的作用^[7],单分子生物物理实验中一个最基本的实验是对 DNA 的弹性进行测量。DNA 的单分子特性包括折叠、包裹、调整、复合、复制以及转录等过程^[8]。早期对 DNA 弹性的测

量主要是通过光镊以及磁镊来实现, 同时在理论上也发展了一系列的模型, 典型的如蠕虫链模型(WLC)、自由链模型(FJC)等对 DNA 结构的力与伸长曲线进行解释。本质上, DNA 和蛋白质都是高分子链, 他们的折叠特性有些类似的地方。Levinthal 曾假设^[9], 蛋白质按随机行走的方式折叠^[10]。假设一个蛋白质由 51 个氨基酸组成, 每个氨基酸有 3 个可能的态, 那么该氨基酸就有 $3^{50}=7 \times 10^{24}$ 个构象。即使蛋白质可以以 10^{13} 个构象每秒的速率去遍历每个构象, 也需要两千多年折叠一个蛋白, 这样在人的一生中一个蛋白质分子都不能折叠起来^[11]。生命现象就是如此奇妙, 有些蛋白甚至在百万分之一秒内就完成自我折叠。这就是所谓的 Levinthal 佯谬。尽管如此, 在理论生物物理界, 基于 Metropolis 的蒙特卡洛算法和分子动力学算法仍不失为一种比较好的方法。

实验上, 为测量蛋白质的动力学过程, 需要将蛋白质通过一定的生化技术连接到双链 DNA 手柄上, 再与微米大小的小球形成系链, 进而可以通过高精度的光镊去观测蛋白质的折叠/去折叠动态跃迁过程。通过一定的计算机技术从蛋白质跃迁的动态轨迹中可求解出跃迁几率、平衡常数与势能曲线等。诚如郝柏林院士所说, 物理学早已经从单纯的实验研究发展成为鼎力于实验、理论和计算三大支柱的成熟的科学^[6]。在生命科学走向成熟的过程中, 理论和计算是不可缺少的两个方面, 通过理论来分析实验数据, 通过高性能的计算来处理实验数据这些是构成定量生物学研究不可缺少的重要组成部分。

随着科技的进步, 各种研究蛋白质功能的先进操纵和可视化手段应运而生^[12], 如: 原子力显微镜 (AFM)^[13]、微吸管 (Micropipette)^[14]、磁镊 (magnetic tweezers)^[15]、光镊^[16, 17]、声镊^[18]、流场 (microfluidic drag force)、生物膜力探针 (Biomembrane Force Probe, BFP)^[19]、单分子荧光共振能量转移 (smFRET)、光敏定位显微术 (PALM)、受激损耗显微术 (STED) 以及单分子荧光检测等。

在单分子力谱研究中最常用的是光镊和 AFM, 这两者各具特色, 光镊具有精度高, 其位移精度可以达到 bp 量级。而原子力显微镜则具有测量范围大的优势。在单分子研究中一般采用光镊技术即可以满足大部分场合的需求, 在对恒力要求较高的场合还可以采用磁镊。在细胞间的结合力测量方面, 由于细胞间结合力较大, 多采用原子力显微镜。典型的光镊测力范围是 $0.1 \sim 100 \text{ pN}$, 而原子力显微镜技术可以测量 $10 \sim 1000 \text{ pN}$ 范围的作用力^[20]。不同生物大分子间的作用强

度的大小从 10pN 到几百 pN 不等^[21], 在不同的大分子作用强度场合, 需要根据结合强度来选择光镊, 磁镊或是原子力显微镜, 这些手段基本覆盖生物大分子间或细胞间相互作用强度的大小。

光镊技术源自物理学^[22], 目前却远超出物理学的范畴, 它是显微镜, 激光, 光电子学等有机结合的产物, 是交叉科学研究中的一个重要的工具。光镊技术的应用涉及生物化学实验、生物物理理论等多个学科。1958 年, 激光的发明, 使得人们采用较大功率的激光束来研究激光的辐射压力成为可能, 1970 年, Arthur Ashkin 悬浮微观粒子, 到 1986 年演示单光束梯度力光镊。1987 年 Ashkin 又操纵活细胞和病毒。1989 年, Steven Block 用激光光镊来操控细菌鞭毛马达, 并测量其弹性。1990 年朱棣文报道用光镊来操纵 DNA。1991 年, Karl Greulich 和同事报道用光镊分选染色体。2000 年, Carlos Bustamante 组研究染色质纤维在一定的力作用下可以保持高阶结构^[7, 23]以及 RNA 聚合酶的转录停止^[24]等。2001 年 Carlos Bustamante 组研究 RNA 折叠, 以及噬菌体 $\phi 29$ 马达在较大的力作用下可以组装 DNA。2006 年, Wuite 等用光镊研究细菌染色体在 H-NS 蛋白质作用下的组装等^[25]。2011 年, Carlos 组研究揭示核糖体在转录过程中利用两种机理拆卷信使 RNA^[5]。国内, 中国科技大学与上海国家基因中心合作于 2004 年采用激光光镊和光刀技术实现水稻染色体分选^[26, 27], 比 Karl 报道晚 13 年。国际上的这一系列报道表明光镊技术在单分子生物物理领域应用具有加速上升的趋势, 其主要原因是国际上像 Carlos 组这样的优秀实验室能够把光镊做到高度集成并运用到极致, 使得即使是没有太多物理背景的人也可以很容易地上手在光镊设备上开展单分子生物物理实验, 并培养一大批活跃在单分子领域的相关专业技术人才。另一个重要的原因是单分子生物物理的研究跟基因组一样是永无止尽的^[26]。

基于光镊的几个杰出的研究主要有, 蛋白质或 DNA/RNA 分子折叠势能曲线以及平衡常数等的测量^[27], 分子马达蛋白的步进运动中力和速度的测量, 细菌鞭毛马达的旋转运动等。细胞中能够高效地把化学能转变为机械功的是一些分子马达^[28]。如, 实现充电的蛋白质机器“腺三磷”(三磷酸腺苷即 ATP)合成酶, 是一种具有转动部分的小机器, 它将 ADP(腺二磷)转化为可以存储能量的 ATP 小分子。生物化学过程需要能量时, 存储在 ATP 小分子三磷酸键中的能量将释放进而驱动各种生化反应。还有许多长着蛋白质双脚或单腿的小膜泡, 沿细胞骨架行

走以输送各种物质,这些是线性分子马达。典型的马达如 Kinesin 马达以及 Myosin 马达。单头 Myosin-V 马达是一个沿着肌动蛋白细丝以较大的步距(约 36nm)搬运物质的蛋白^[29],它具有两端,每端有包括一个马达域和一个约 23nm 的长颈域。高精度的激光光镊可以测量这些马达的运动的步长、速度和马达运动过程中所需的能量以及马达所产生的力的大小。

在胶体软物质研究中,光镊技术可以开展的研究内容包括,软物质体系、细胞之间、以及细胞与单分子间结合力的测量,DNA 弹性的微观测量,蛋白质折叠以及蛋白质与核酸之间的相互作用研究,如高分子聚丙烯酸间相互作用^[30],血凝蛋白折叠动力学等。这些研究的宗旨在揭示微小尺度生物系统^[31]间物质、信息和能量之间发展演化的大科学。

在细胞层次,光镊技术已经在细胞膜弹性的测量上起着非常重要的角色,如测量血红细胞在不同渗透压下的膜弹性^[32],测量不同保存时间后红细胞的弹性^[33],测量疟疾感染的血红细胞的弹性等^[34]。

光镊在基本的物理原理的理解方面也具有较重要的意义。如在实验原子物理中,光镊技术结合单光子计数器可以测量原子序数的分布^[35]。激光冷却原子和波色爱因斯坦凝聚。在统计物理中,光镊技术可以证明爱因斯坦早年提出的一些观点的真伪,如布朗运动的瞬时速度测量^[36]的问题等,还可以研究和证明一些定理如耗散-涨落定理^[37], Jarzynski 等式,热力学第二定律等^[38-40]。真空中或者液体中微观粒子的抛物线运动等^[41, 42]。此外还可以用光镊来捕获单个离子^[43]以及进一步发展并开拓用虚光子捕获粒子等研究领域。在胶体老化方面,光镊技术也发挥着其独特的作用^[44, 45]。

和早期的单光镊一样,不管各种应用场合光镊的形式如何变化,其核心的原理都是一致的,那就是利用聚焦强激光束的线性动量变化对粒子造成辐射压力进而捕获粒子。在这一原则的基础上,随着应用场合的不断变化,光镊技术本身也融入了多种光电探测技术和多种控制技术。在光镊家族出现许多新型光镊技术,如全息多光镊技术,全息涡旋光阱^[46, 47],时分复用光镊^[48-50],震荡光镊^[51, 52],光纤光镊,专门为单分子实验设计的小光镊(miniTweezers),带差分探测的高精度激光双光镊^[53]、恒力光镊^[54]以及结合荧光探测的高精度激光光镊^[55]。

在纳米技术领域,光镊技术一方面可以捕获和操控纳米级的粒子^[56, 57],另一

方面是拓展光镊的使用范围，如构建基于表面等离子体的新型激光捕获技术。2009 年，康奈尔大学的研究人员研究用亚波长的波导^[58]来捕获纳米粒子。他们成功实现在 100 纳米的窄槽中捕获 70nm 的介电粒子和 DNA 等生物分子。同年，康奈尔大学的 Gustavo 等人实现用激光的力学效应来控制光子晶体的结构^[59]，他们制作了一个光学共振结构，其光学响应可以通过相当弱的光学排斥和吸引力来控制。利用光镊捕获的纳米金属粒子还可以作为纳米耳朵聆听微纳米尺度的声音^[60]。在这些一个个令人振奋的优秀实验结果以及变换多样的光镊技术之外，需要发展一个能概括所有光镊技术反映光镊技术最本质的东西作为光镊技术的新的定义，这也是本论文的一个重要的贡献之一。

1.1 光镊技术发展现状

光镊技术自 1986 年发明以来，技术本身一直随着应用需求的推动不断地发展着。应用方面主要涉及软物质复杂体系和单分子生物物理。2012 年 1 月在 Web of Science 网站检索发现，关键词为‘Optical tweezers’的文章数目呈指数增长，2011 年，文章数为 347 篇。国内的中国知网(CNKI)数据库里，同样时间段内，检索到以光镊为检索词的文章呈指数增长，这表明随着技术的成熟，光镊正在迅速向相关的应用学科推进，见图 1.1。

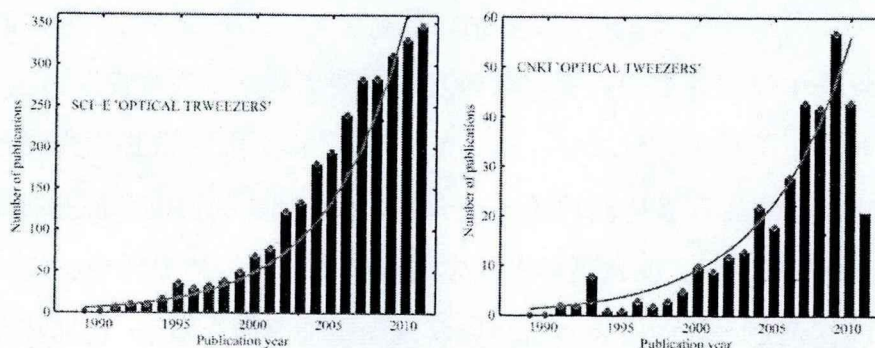


图 1.1 ‘光镊’为关键词的文章数

在 SCI-E 数据库中，排名前三位的作者分别为，Carlos Bustamante, Kishan Dholakia, Grier David，文章数分别为 50、48、44。其中加州伯克利分校的 Carlos 教授为 RNA 折叠方面的开拓者^[1]，英国格拉斯哥大学 Kishan 教授则一直在光镊的相关理论方面从事基础研究，纽约州立大学的 Gierer 教授则是全息光镊的早期

发明者，并从事相关的基础研究。按照引用率排名，排在第一位的是 Grier 教授 2003 年发表在 Nature 杂志上的 'A revolution in optical manipulation'，主要介绍全息光镊将会给激光捕获带来革命性的发展^[61]，引用次数超过一千次；第二位的是 Steven Block 教授组在 1993 年发表在 Nature 上的有关 Kinesin 马达步进运动的文章^[62]，引用次数也超过一千次。

近几十年的发展表明，光镊的精度在亚纳米量级，力的量程在 0.1 到几百 pN 范围。这些力的大小刚好和许多蛋白马达产生的力相当，并且需要改变许多生物化学反应速率的力也在这个范围，因而光镊在生物学研究中是一个很强大的工具，很多生物系统的动态过程都是用光镊来研究的。在光镊技术本身，全息光镊以其实时可控、多自由度操纵等优势为不同的应用领域新需求提供一个具有弹性的多维多角度操控的工具。

1.1.1 单光束光镊的原理和实现方法

对光镊的定义，普遍观点是高斯光束经高数值孔径物镜强聚焦后形成的可以束缚几十纳米到几十微米量级粒子的激光束。它是源自 Arthur Ashkin 在上世纪 80 年代的一项开创性工作^[63-65]。上述观点是基于单光束光镊的角度对光镊的阐释。随着液晶空间光调制器以及声光衍射器件^[66]压电转镜^[67]等的引入，光镊出现了诸如时分复用光镊^[49]、阵列光镊、涡旋光镊^[46]等多种多样的形式。因而光镊的定义也需要做相应的更新，以涵括这些新形式。且不说这些时间空间的调制器件，即使是单光束梯度力光镊，其概念也需要更新。因为有较多的在空气中、真空中捕获粒子的报道，而这些也属于光镊的范畴。因而，我提出光镊技术的一般定义是，经聚焦后可以捕获粒子的激光束，以及相关的调制和探测技术。对这个定义的理解是，1) 实现光镊并不一定需要高数值孔径的显微镜物镜，低数值孔径的物镜甚至是一般的透镜也都可以实现光镊捕获微米粒子，在捕获几十微米的细胞方面，低数值孔径物镜甚至表现的比高数值孔径物镜更出色；2) 光镊操控的对象不一定是在水溶液中，它可以是在空气中甚至是真空中，只要有合适的办法将粒子悬浮在空气或真空中，就可以实现在这些场合下捕获粒子。从应用角度来看，完全有可能做小型化的光镊送到太空中研究微重力、低气压下星际尘埃的动力学特征。3) 光镊光源一般采用高斯光束，但实际光束质量稍差的光束也

都可以实现捕获,如半导体二极管所发射的椭圆形光斑分布的激光,光路中由透镜等引起像差和玻片等引起球差后形成的光镊。当然这样的外延仅从捕获的角度考虑,若考虑探测以及应用等其他因素,对光束的质量还是有一些要求的,如指向稳定性、功率稳定性、噪声水平等。4) 仅仅可以捕获粒子的不能称为完整的光镊,光镊技术一定包括相关的探测技术,如单光镊可以用单个位置探测器甚至多个如六个光电二极管,双光镊可以用两个、单个光扳手需要至少两个位置探测器、阵列光镊可以用快速 CMOS 相机等^[49]。探测器的性能可以根据不同的应用需求来选择。

1.1.2 光镊的理论模型

经显微物镜强聚焦的激光束对处于其中的微小粒子施加作用力,根据 Ashkin 的早期模型^[64]以及之后学者相关的理论工作,大致可以分为三类,一是小球的尺度远大于激光的波长,可以采用几何光学近似模型^[65],其中高斯光束可以分为一根根光线,经小球多次折反射以后,光子动量损失部分对微球产生梯度力和散射力,其中梯度力部分将微球吸引向光阱的中心,达到捕获的目的,如图 1.2(a)所示^[68]。在几何光学近似下,功率为 P 的单根光线以入射角 θ 照射到介电小球上,每秒钟的入射动量为 mP/c 。最后微球的受力是由这些反射光线以及一系列功率递减的折射光线 PT^2 、 PT^2R 、 \dots 、 PT^2R^n 的贡献之和。其中 R 和 T 是入射角 θ 时界面的 Fresnel 折射和透射系数。粒子在 z 方向和 x 方向的受力可写为^[65]

$$F_z = F_{scat} = \frac{n_1 P}{c} \left\{ 1 + R \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2\gamma) + R \cos(2\theta)]}{1 + R^2 + 2R \cos(2\gamma)} \right\} \quad (1.1)$$

$$F_x = F_{grad} = \frac{n_1 P}{c} \left\{ R \sin(2\theta) - \frac{T^2 [\sin(2\theta - 2\gamma) + R \sin(2\theta)]}{1 + R^2 + 2R \cos(2\gamma)} \right\} \quad (1.2)$$

第二种情况,当粒子的尺度跟激光波长相近时,粒子对光场的散射可以通过电磁场理论来求解,常见的方法如有限元法(Finite Element Method)、时域有限差分法(FDTD)、离散偶极子近似算法(Discrete Dipole Approximation)以及 T 矩阵法(T-matrix method)等。当捕获的粒子直径较大时,对电磁场的数值求解,往往需要较高的计算机配置,如 T 矩阵法计算 $10\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球受力是就需要超过 4MB 内存以及较大的计算能力。

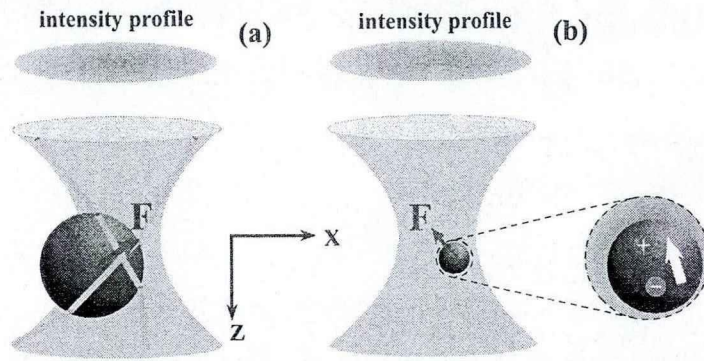


图 1.2 光镊原理示意图 (a)几何光学表述; (b)电磁场激化理论表述

第三类是, 当被捕获粒子的几何尺度远小于激光波长时, 需要采用电磁场理论来求解粒子在光阱中的受力, 如图 1.2(b)所示。其中粒子在光电场中被激化为偶极子, 粒子受到偶极子与强聚焦光场的相互作用力。散射力和散射光强有如下关系 $F_{scat} = n_p P_{scat} / c$, 考虑光强 I_0 和有效折射率 m ,

$$F_{scat} = \frac{I_0}{c} \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 n_p \quad (1.3)$$

对极化率为 α 的瑞利粒子, 沿着光场强度方向的梯度力

$$F_{grad} = -\frac{n_p}{2} \alpha \nabla E^2 = -\frac{n_p^3 a^3}{2} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \nabla E^2 \quad (1.4)$$

激光光强可以通过波印廷矢量的时间平均来表述^[69]

$$I = \langle S \rangle = \frac{1}{2} \frac{1}{\mu_1 n_1 c} |E|^2 = \frac{c \epsilon_0 n_1}{2} |E|^2 \quad (1.5)$$

激光强度的分布依赖于所采用的激光束, 以及光路的调整精度。常用的作为光镊捕获光为高斯分布, 具有如下的形式

$$I = I_0 e^{-\frac{r^2}{\omega^2}} \quad (1.6)$$

其中 ω 为高斯光场在径向的 $1/e$ 宽度。将公式(1.5)和(1.6)代入(1.4)可得

$$F_{grad} = \frac{2n_p^3 a^3}{c \epsilon_0 n} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} r e^{-\frac{r^2}{\omega^2}} \equiv k_r \cdot r e^{-\frac{r^2}{\omega^2}} \quad (1.7)$$

其中 k_r 类似于弹簧的弹性常数。式(1.7)表明, 光强梯度力随距离的变化近似满足胡克定律。式(1.7)中的弹性常数表征光镊的捕获能力, 也叫光阱的刚度。

物理学中, 对力这个物理量的测量, 常见的方法有, 通过观测物体的运动、

比较法或是通过力对弹簧振子引起的位移来实现。如天体物理中测量恒星和行星之间的万有引力,人们可以通过观测行星绕恒星公转的周期等来推演它们之间的吸引力,如图 1.3(a)所示;对物体的质量的测量往往是通过天平来实现,它是将未知质量的物体和已知质量的物体进行比较和平衡,已知质量和重力加速度,人们就可以知道未知物体所受的重力,这就是比较法,如图 1.3(b)所示;还有一种方法测量力的大小是通过弹簧振子的刚性来得到的(图 1.3(c)),根据胡克定律,在弹性范围,弹簧振子所受力的大小跟弹簧振子的形变成正比,比例系数为弹簧振子的刚度系数。

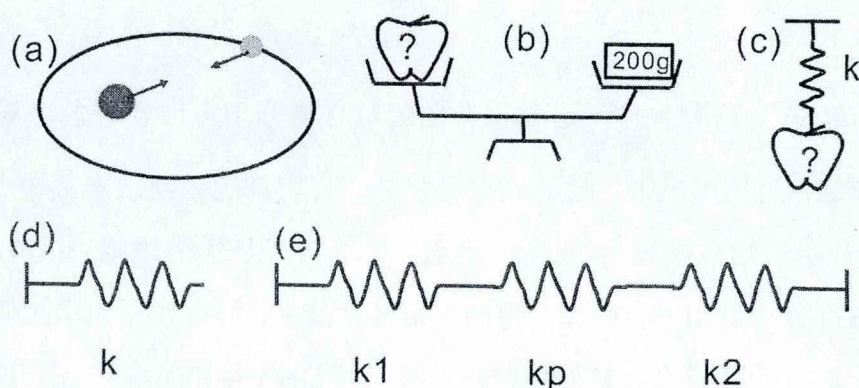


图 1.3 各种测力模型 (a) 天体间万有引力 (b) 天平测量未知物体的重量 (c) 弹簧秤测量未知物体的重量 (d) 单光束梯度力光阱测力简化模型 (e) 高精度激光双光镊测力模型

光镊测量的是微观世界的力,其测力的精度在 100fN ,测力的范围在 $100\text{fN}\sim 100\text{pN}$,光镊测力采用弹簧振子模型,所不同的是,光镊实验中所用的弹簧是激光束,振子往往是表面经过化学修饰的胶体微球。简单的单光镊的模型如图 1.3(d)所示,其中 k 为光阱的刚性系数(Spring constant),也叫光阱的刚度,在单分子实验中一般在 0.2pN/nm 左右。图 1.3(e)为高精度激光双光镊的测力模型,光镊的有效刚度典型值约为 0.1pN/nm 。

1.1.3 光镊技术在软物质中的应用

软物质由法国的 De Gennes 提出,并由此获得 1991 年的诺贝尔奖。目前软物质已经发展成一个独具特色的交叉研究学科,有专门的国际顶级学术刊物《Soft Matter》介绍相关的研究进展。软物质研究包括由聚合物组成的线性链或熵弹链、液晶和表面活性剂等,宏观的沙子和电流变液、磁流变液等也都属于软

物质的范畴。其典型的特征是对外界微小作用可以做出强烈的反应^[70]，如纽扣电池可以使液晶手表成年累月的行走，一滴卤汁可以使豆浆变成豆腐等。

根据热力学理论，体系的状态由自由能 $F=U-TS$ 决定，其中 U 、 T 、 S 分别为内能、温度和熵。体系的自由能越低，则状态越稳定。在软物质中，内能的变化很小，体系的变化主要由熵变引起。与软物质相对应的是硬物质，如弹簧，其弹性是原子相互作用内能所决定的；而软物质，如橡胶，其弹性是由熵引起的^[71]。若橡胶的聚合物分子由 N 个片段组成，每个片段长为 a ，拉长分子使两端点距离为 R ，用无规行走方法计算可得熵 S 的变化为 $\Delta S = -3kR^2 / (2Na^2)$ ，相应的自由能变化为 $\Delta F = -T\Delta S = 3/2(kT)R^2 / (Na^2)$ ，由此可得弹簧张力方程为 $f = dF/dR = (3kT)R / Na^2$ 。这表明卷曲的聚合物分子可以容许的微观状态数较多，熵增加，自由能减低；拉伸的聚合物分子可容许的微观状态数较少，对应于低熵状态。在软物质领域，常见的一类聚合物大分子是生物领域的核酸和蛋白质，他们多由高分子链组成，通过一定的手柄链接技术，可以利用光镊拉伸这些软物质高分子链，并测量力和拉伸的关系曲线。如 DNA 是由 A、T、G、C 等四种碱基组成，RNA 是由 A、U、G、C 等四种碱基组成的具有多级结构的复杂高分子链。

液晶中棒状液晶分子的有序排列^[71]，生物膜系统双亲分子极性头的趋水排列等自组织现象，称为熵致有序。在纳米技术中利用熵致有序效应可以制备所需结构的材料，如光子晶体等，光子具有力学效应的特性使得研究者可以利用光子来调控光子晶体的结构^[59]。光镊的优势是可以通过手柄修饰的办法很方便地操控单个核酸、蛋白质分子，采用全息光镊技术还可以有效地组装胶体颗粒成特定的形状，如胶体晶体等。

1.1.4 光镊技术在蛋白质工程中的应用

在美国，由于国立健康研究所和霍华德医学院的长期资助，光镊技术在单分子生物物理，如蛋白质、核酸领域有长达二十多年的发展历程，并产生出一批杰出的研究小组，典型的代表如 Carlos Bustamante、Steven Block、朱棣文等以及他们的分支，如 Mathiew Lang、Michael Wang、Xiaowei Zhuang、T J Ha 等组。

国内的光镊技术由于生物物理交叉人才以及实验条件的主客观原因,一直处在技术研究的层面,与实际单分子生物物理研究存在很大的差距,许多关键技术并没有掌握。一个好的现象是国家层面已经开始重视单分子生物物理的研究,并着手开始在上海和北京分别建设国家蛋白质工程南方设施和北方设施,其中高精度激光双光镊以及单分子影像是重要的一个板块。

在蛋白质结构方面,随着 X 射线衍射及核磁共振(NMR)技术的发展,科学家相继获得许多蛋白的结构,为进一步研究蛋白的功能打下了坚实的基础^[12]。在蛋白质功能方面,早期的研究多是采用传统的热力学及统计方法,这难以完成单分子水平分子间相互作用强度的研究。光镊可以研究的内容,典型地如肌动蛋白丝^[72],它是构成骨架的主要结构单元。其中, F-actin 肌动蛋白可以组装成高阶结构,如束(bundles)和网络(networks),这些结构在许多的细胞过程中提供重要的支撑作用。2010 年,美国 MIT 的研究者用光镊和主动以及被动微流变的方法体外研究了交叉连接的 F-actin 网络特性。2010 年,哈佛大学医学院的张晓晖博士等用迷你光镊研究血凝蛋白 vWF 因子的动力学过程^[73],2011 年,耶鲁大学的 Ying Gao 博士等用高精度的激光双光镊研究 Coiled coil 蛋白的折叠动力学等^[74]。

1.1.5 光镊在胶体聚集速率测量方面的应用

胶体化学领域,胶体聚集速率的测量常通过动态光散射等来测量^[75]。这个方法是对大量粒子的系综的统计结果。光镊可以捕获单个或少数几个微观粒子的特性,给研究人员提供一个从粒子层次研究胶体聚集速率的手段。徐升华博士和中科院力学所的孙祉伟研究员在这方面做了一系列的研究。实验上利用光镊捕获两个微观粒子,诱导粒子进行碰撞,经过一段时间后,测量他们的碰撞结合几率^[76]。理论上,他们采用 Monte Carlo 模拟计算光镊诱导下两个微观粒子的碰撞结合几率^[77,78]。在这些理论和实验研究中,光镊技术为粒子层次研究胶体的聚集速率提供重要的研究手段和重要的研究数据。

1.2 光镊技术中的新形势

早期的单光束强聚焦光镊既可以束缚几十纳米到几十微米的粒子^[64],然而光镊技术在走向应用的发展过程中,随着不同应用领域需求的增长,光镊技术本身

也不断添加进一些新的技术和概念。就目前的技术而言,光镊技术不仅可以束缚几十微米的胶体粒子,还可束缚几个纳米的粒子,如半导体量子点^[56],金属纳米粒子^[56]等。随着科技的进步,光镊技术也在不断拓展应用领域,原先人们需要高数值孔径的物镜聚焦光束形成强梯度力的光镊,目前,研究人员可以使用较低数值孔径的物镜形成光阱,这样的好处是可以捕获折射率跟周围环境相差较小且几何尺度较大的粒子,如几十微米的细胞;还可以脱离液相环境这样就可以在空气甚至真空中操控粒子^[36],潜在的应用是研究气溶胶中的悬浮粒子,并有望在太空微重力环境中抓获悬浮的星际尘埃。

1.2.1 单个光镊的主动操控

光镊在应用中,最基本的动作就是对粒子进行主动操控。单光镊的主动操控实现方法有多种,常见的有利用电光调制器、声光调制器、压电转镜或是对某个特定透镜的平移来实现对光阱的操控^[79]。这些偏转器件确保光阱能够沿着样品池或相对与其他光阱做精确的移动。现在的商用转镜系统可以达到 3mrad 的偏转范围,工作在 1-2kHz 的频段,最小精度可以达到 $8\mu\text{rad}$ ^[79]。声光调制器的工作是由声光调制晶体来实现的,通过一定频率的射频电波在晶体中激励超声波,超声波在晶体中产生一定的周期性结构,光束通过该结构后第一衍射级光束相对于入射光的偏转角度为 $\Delta\theta=\lambda/fv$,其中 λ 和 f 分别是激光光波的波长和频率。电光调制器的偏转角度为 $\theta=V/w^2$,其中 V 是长度为 l 的晶体两端所加的电压, w 是光束的孔径。采用电光调制器可以实现 20mrad 的光束偏转,切换时间可以达到 100ns,满足大部分光镊的应用需求。此外,压电平台也可以实现样品池相对光阱位置的精确运动,如典型的 Kinesin 马达蛋白实验^[62]。

1.2.2 多个粒子的同时捕获和操控

对多个粒子的捕获和操控可以有多种办法实现,如采用纳米压电转镜实现扫描光镊,利用声光调制器实现对光束的偏转结合计算机编程即可以实现多种多样的复杂形状的时分复用光阱阵列。目前实现动态阵列光镊较常用的方法是采用液晶空间光调制器对光束的相位进行调制,经调制的光束经显微镜物镜聚焦后可以同时捕获多达 400 个粒子的阵列光阱^[61]。全息动态光镊的好处是可以实时修改任

意光阱的位置，这样可以有效地研究不同光阱中的粒子多体相互作用。

1.2.3 纳米尺度粒子的捕获、操纵与观察

目前光镊可操纵的光镊可以捕获几个纳米的半导体量子点^[56]、几十纳米的金属颗粒，如金、银等^[57]，最近的报道可以用光束来捕获离子^[43]。纳米粒子捕获和操控的关键是如何实现对捕获粒子进行判断和识别，进而确认是捕获单个粒子。常见的方法有，采用激光共聚焦显微镜(laser con-focal microscopy)、微分干涉显微镜(DIC)或是通过半导体材料自身的发光特性来判断，如半导体量子点自身具有闪烁发光的性能^[56]、离子需要用射频电波来确认等。

1.2.4 低数值孔径光镊与几十微米的捕获对象

常用的激光光镊是通过将平行的激光束经高数值孔径的显微物镜聚焦后形成，利用物镜后的强汇聚光束形成光阱来捕获粒子。这在捕获微米级粒子或是几百纳米的微纳米粒子方面具有较大的优势，因为在这样的尺度高倍物镜所带来的成像要更清晰，且在成像视场中也能观察到足够多的粒子。高倍强聚焦物镜的缺点是所观察到的视场范围较小，以实验室的钛宝石激光光镊以及全息光镊所用的奥林巴斯 IX70 显微镜为例，使用 100X 物镜和辅助放大插件后，CMOS 相机的视场约为 65 μm 。

细胞的大小是和机能相适应的。卵细胞为了存放更多的营养物质，其个体就比较大；而为了神经信号的传导，神经细胞的轴突就比较长。不同机能的细胞，其大小差异非常大，即使同种细胞，其几何尺度也是有差异的，如实验中常观察到的酵母细胞的大小约为 6 μm ，但也观察到十几微米的酵母细胞。在细胞生物学的应用中，很多细胞的大小都在几十微米到几百微米，如小鼠的肠平滑肌贴壁细胞^[80]。2008 年，英国的研究人员^[81]报道了用低数值孔径的物镜来捕获和操控活体 T 细胞。他们用低的放大倍数、低数值孔径的物镜(10 \times /0.4NA)。在 1mm² 范围内捕获和操控活体 T 细胞。

2009 年，因斯布鲁克大学的 Maximilian Pitzek 等^[82]采用反射镜形成具有较大视场的镜面光阱捕获生物细胞。其所用的物镜数值孔径为 0.2，在 1mm \times 1mm \times 2mm 的范围内可实现鲁棒的三维捕获，其可捕获的粒子的大小为 1.4 μm 到

45 μm 之间。对于常见的酵母细胞，其尺寸为 6 微米到几十微米，这在用简单的单光镊捕获的实验中是一个很好的模型体系。然而，一般的生物细胞器尺度大小不一，如细胞核中的核糖体、叶绿体、细胞膜上的跨膜蛋白等。

常规的单光镊很难实现对这类细胞以及细胞器的捕获。这就需要发展一个捕获范围大的光镊技术。采用低放大倍数和低数值孔径的物镜，可以观察较大的视场并捕获较大的细胞。然而数值孔径的减小会导致同等功率下光阱的梯度力的减小，难以稳定的捕获粒子，这就需要采用全息技术对其中的光场进行整形，以提高光阱中粒子的受力，进而提高捕获的稳定性。

1.2.5 光阱下粒子探针的连接与修饰

在单分子生物物理实验以及膜弹性测量实验中，被光阱捕获的微米、纳米粒子起着力探针的作用。被光阱捕获的粒子，不仅受到生物大分子或是细胞膜的作用力，同时还受到激光光镊的作用力。这两个力达到平衡时，通过测量粒子受到激光光镊的作用力就可以知道大分子或细胞膜的受力。在这样的一系列实验中，最重要的一个步骤就是如何将生物大分子或是细胞膜与微球连接起来，形成系链结构。常用的技术有三种，如图 1.4 所示，一种是通过链霉亲和素和生物素相连，通常的做法是将链霉亲和素包被在聚苯乙烯或二氧化硅微球表面，DNA 手柄的一端修饰生物素，或是细胞膜的表面某种磷脂分子修饰生物素；第二种是表面系链所用的将生物素修饰在玻璃表面的方法；第三种是通过地高辛和抗地高辛连接实现大分子与微球的连接，通常的做法是将微球表面均匀包被抗地高辛，大分子的另一端修饰有地高辛。

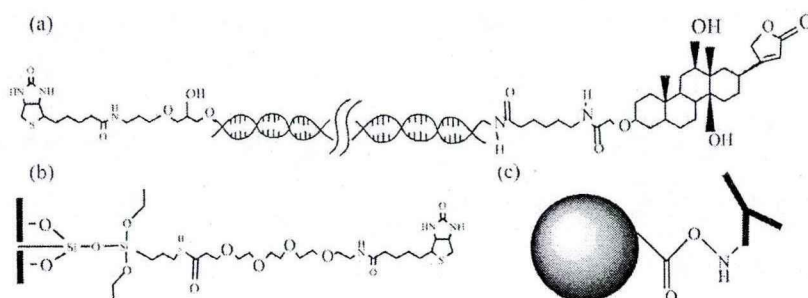


图 1.4 单分子生物物理实验中常见的几种系链连接方法 (a)DNA 两端分别修饰生物素和地高辛；(b)生物素和玻璃片的生化连接；(c)微球表面修饰抗地高辛

1.3 光镊技术中的新技术

由早期的单光束激光光镊捕获胶体颗粒和生物细胞,到高精度探测系统的引入以及后来对单分子的测量,光镊技术不断添加新的调制、探测和数据采集系统,其性能也得到不断的完善和提高,使得光镊技术在不同的应用领域满足不同的需求发挥着重要的作用。在这一系列的技术当中,特别值得一提的是时间和空间调制技术以及光纤技术等。

1.3.1 声光衍射器件与时间调制技术

当加载一定频率的射频信号到声光晶体两侧时,声光晶体中会相应地产生超声波。超声波在声光晶体中产生一定的周期性结构,使得声光晶体中的光学折射率发生周期性的变化。激光束再经过具有周期性折射率分布的晶体后,其传播方向会相对原来方向发生微小的转动,通过改变加载在晶体两端的射频频率就可以改变光束的偏转角度。在激光光镊中,可以采用声光衍射器件来控制激光束的偏转角度,进而控制光阱的位置,这样可以实现时分复用光镊。目前的电子学系统可以做到切换频率高达 100kHz,这样通过编程将激光束在不同的时刻偏转向不同的位置就可以实现阵列扫描的光镊。这类时间调制光阱不仅可以生成扫描的多光阱,而且在单分子生物物理中是一个非常重要的技术^[25]。

1.3.2 空间光调制器与空间调制技术

通过声光衍射器件形成的阵列光阱实际上在某一时刻只有一个光阱工作,并不是完全意义上的阵列光阱。目前常用的形成阵列光镊的器件是空间光调制器,它可以对激光束的相位进行调制,进而将激光束的空间分布由基模高斯光束整形成具有阵列分布的阵列光束。空间光调制器分为振幅型和相位型,如数字微镜器件就是典型的振幅型空间光调制器;硅基上的液晶可以做纯相位型的空间光调制器。全息光镊中多采用液晶空间光调制器来实现,通过在液晶上加载不同的图形,可以实现阵列光镊和涡旋光镊以及贝塞尔光和艾莉光光镊等。

1.3.3 光纤与光纤光镊

光导纤维是一种利用光在玻璃或塑料制成的纤维中全反射原理达成的光传

导工具。由前香港中文大学校长高锟等首先提出光纤可以用于通讯传输的设想，并因此获得 2009 年诺贝尔物理学奖。在光镊领域，可以直接将光纤的末端经一定的处理后形成特定的几何形状使得输出光本身即具有较强的光学梯度力。由此可以形成光纤光镊，光纤光镊的优势是避免使用昂贵的显微镜物镜，而且可以做到体积很小，甚至可以直接植入生物组织捕获体内的细胞等。其缺点是光纤端面容易受污染，清洁困难，可重复性差等。在高精度的激光光镊中，还可以采用光纤束作为光学信号的传导手段，进而实现探测频率高达 100MHz 的数据采集。

1.3.4 仪器的反馈控制技术

无论是全息光镊还是单分子生物物理实验所用的高精度激光光镊，反馈技术始终能够带来更大的便捷。在全息光镊中，可以通过在实时动态录像上修改光阱的位置再将位置信息反馈给液晶空间光调制器，实现光阱位置的添加、删除和修改。在蛋白质或 RNA 折叠实验中，典型地如加州大学伯克利分校的 Carlos 组的小光镊采用反馈控制技术，控制微针的移动实现恒力光阱^[1]；马达蛋白实验中，斯坦福大学的 Steven Block 教授组采用反馈技术控制样品池的移动实现恒力下测量马达蛋白的步长和步距等。有理由相信，无论是单分子生物物理实验还是纳米材料的自组装实验中，反馈技术将会给光镊在这些领域的应用带来更大的便捷。

1.3.5 实验数据的快速采集

在物理学基本问题的实验验证中，需要测量粒子在光阱中布朗运动的超快过程，这些过程依赖数据的快速采集和测量系统来实现。如美国德州大学奥斯丁分校的研究人员测量真空中粒子布朗运动的瞬时速度^[36]，水溶液中粒子运动均方位移服从抛物线规律等实验^[42]，都需要快速的数据采集、存储和测量系统。这些系统能够确保人们能够在更小的时间尺度对最基本的物理问题进行回答。在我们设计的软物质综合测量系统中，也使用美国国家仪器公司的快速数据采集卡 (PXIe-5122)，这就需要对这些快速采集和测量设备一方面要有正确的认识，更重要的是能够熟练地使用并实现自己的想法。

1.4 光镊技术中的新问题

光镊技术在单分子生物物理以及胶体等可以研究中已经发挥着重要的作用,但随着应用需求的扩大,也出现一系列的新问题,如何提高全息光镊的衍射效率,是否能对全息光镊中的每个独立光阱进行高精度快速标定等,单分子生物物理实验中在测量生物大分子伸长量的同时能否进行荧光观测,对这些问题的回答往往又引入许多新的技术,如交叉使用荧光和光镊等。本节对我们认为比较重要的一些可能会有较大发展空间的技术做一些总结。

1.4.1 各种新型光阱的实现及算法优化

在时分复用光阱、全息光镊等相关的实验中,都需要采用一些算法编程实现阵列光阱或是具有特殊性能的光阱。受计算机计算速度以及计算资源的限制,一方面需要对不同的算法进行改进,以节省计算机资源;另一方面可以不断吸纳新的计算机软件技术,如 CUDA 编程,来提高计算算法的速度。这些技术不仅在实验上可以带来更多的便捷,而且在光镊的理论计算上也是一个不可多得的手段,如用 T 矩阵计算光阱力时,就需要更大的计算量,尤其是当粒子的尺度变大时。在全息光镊实验中,有很多算法都能够实现所需的相位图,简单的如棱镜-透镜算法,常见的有 Gerchberg-Saxton 算法以及由此而产生的一系列衍生算法。在这些算法中,需要选择合适的算法满足不同的应用场合需求,这要求对这些算法有大致地了解并能够熟练运用几种算法。

1.4.2 GPU 以及并行计算技术提高计算速度

如前文所说计算机技术的发展和普及在光镊实验中是一个非常重要的助推力。无论是实时动态全息还是单分子生物物理实验,计算机技术的每一个进步都会使得人们能够更加深入的研究实验的细节,提高实验精度。目前,图形处理器(GPU)的迅速发展,使得计算机的计算速度得到大大的提高,这使得人们在动态全息光镊技术中可以采用更加鲁棒的算法,确保光阱的生成质量。在单分子生物物理实验中,如马达步进运动的测量以及单个分子折叠实验,也可以采用一些较费时的算法,更加准确地提取马达运动的步距和单个分子折叠的一些参数。如蛋白质折叠实验数据可以采用隐马尔科夫算法准确地提取折叠动力学信息。

1.4.3 FPGA 控制

FPGA(Field Programmable Gate Array), 即可编程逻辑门阵列。它在光镊的一系列实验中发挥着重要的角色, 比如, 实验恒力实验中, 需要 FPGA 控制声光衍射器件精确控制光阱位置实现光阱在恒力区工作^[54], 在位置钳实验中也可以通过 FPGA 来实现位移的可预测控制^[83]。FPGA 的一个优势是可以方便地在上面烧制用户自行编制的程序, 而且能够跟很多常见的商用仪器有很好的兼容性, 如美国国家仪器公司的 PXIe 控制器。这些先进仪器和技术的引进对激光光镊的应用带来很大的便捷并逐渐改变研究人员传统的实验方式和实验观念。

1.4.4 实验数据的采集和分析中的新问题

传统实验中, 传感器所采集的信号送到数字或模拟仪表中, 由实验操作人员读取并手工记录, 这不仅费时而且所测量得到的数据很不准确。而在自动化的数据采集系统中, 传感器通过数据采集卡直接将电流或电压信息传送给计算机, 这不仅大大地提高了测量的精度, 增大实验点的测量频率, 还可以将前处理和后期处理集成到一个控制系统中。在现代光镊实验中, 对仪器的控制, 信号的获取都得通过计算机来完成, 如全息光镊中需要对空间光调制器的信号进行控制, 高精度激光双光镊需要采集各种信号等, 如何对这些仪器进行有效的控制和测量, 如何去优化各种算法是各类光镊性能好坏的一个重要指标。国内的光镊发展近二十年, 一直没有做出很好的突破, 跟仪器的现代化有很大的关系。国外的光镊技术发展的已经很成熟, 应用也做的很好, 如蛋白质折叠、蛋白质核酸相互作用、马达蛋白的步进运动等, 但在仪器的控制方面也还有进一步发展的空间。如蛋白质折叠实验中, 需要测量很多组折叠信号的数据, 几百组甚至上千组, 目前的做法是需要人工去判断捕获粒子的和 tether 的形成情况, 这需要实验人员长期大量重复同一个实验, 如果能够进一步提高光镊仪器的自动化程将会给单分子生物物理实验带来巨大的影响。

1.4.5 单分子生物物理实验对光镊的新要求

纵观单分子生物物理发展的历史, 从早期用磁镊对单个 DNA 进行捕获和拉伸到现在大规模用光镊研究蛋白质折叠、马达蛋白以及蛋白质 DNA 复合物, 最

基本的实验就是单个 DNA 的捕获和拉伸。这些新要求已经超出早期简单的单光镊捕获细胞、胶体颗粒等范畴。单分子实验需要高度集成的激光光镊，以使得即使没有多少仪器研制或者计算机背景的人也可以很方便地在很短的时间内学会使用光镊仪器。这些对仪器的精度、稳定性等提出更高的要求。

1.5 新型调制光阱研究的意义

新型调制光阱的研究是为更好地深入应用研究的基础，并不是为了研究新型调制光镊本身而研究，其出发点主要是在于交叉学科研究对象的复杂性和多样性。研究新型调制光阱的目的是使得纳米材料科技、单分子生物物理以及胶体化学和软物质等领域多一种更通用的技术。深化人们对纳米尺度物性、软物质体系微观相互作用以及生物单分子体系物质、能量以及信息之间关联的理解，从实验角度为这些研究领域提供更丰富的宝贵数据。

1.5.1 光镊技术本身

随着应用的不断深入，光镊技术本身也在发生不断的变化以适应不同应用场合的需求，使得光镊在各个应用领域给研究人员从不同的角度带来更多的研究信息。这些技术不仅包括前文提到的时分复用以及空间调制等技术，光镊技术本身还吸纳了高速电子学技术、单分子荧光技术等，如调制光束的高速化、光镊探测的高速化等。现代光镊技术基于但远远超出早期的单光镊捕获微观粒子的范畴，是一门综合光学、电子学、计算机软硬件、机械等多个学科交叉技术。

1.5.2 单分子生物物理

在单分子生物物理领域，需要采用激光去捕获微米小球，通过系链构型对所研究的单个分子施加极其微小的可控的力。DNA 的分子是由一系列碱基对组成，它像一个梯子，DNA 聚合酶可以沿着这个双螺旋的梯子爬行去阅读基因序列，为测量这些微小的位移和这些生物化学过程中单分子之间相互作用力，需要激光捕获粒子，通过粒子的散射光探测粒子在光阱中的微小位移并测量受力的大小。进而我们可以研究这些分子是如何工作的，又是如何使得生命工作的。单分子生物物理对光镊仪器的要求极高，需要仪器建在地下室，控制温度，且与光源、

声源、机械振动、气流等隔离。对激光的指向稳定性、功率稳定性都有较高的要求，一般的半导体激光器并不是高精度激光光镊的最佳选择。

1.5.3 膜形变调控蛋白聚合

在细胞膜的弹性研究中，多用激光光镊和微针联用技术^[84-86]。常见的膜弹性测量是通过将细胞膜上修饰一定的有机物，如生物素，在将细胞膜与带有链霉亲和素的聚苯乙烯小球相接触形成系链。高精度的激光光镊可以捕获、操控聚苯乙烯小球，并通过聚苯乙烯小球传感器测量膜丝的受力^[85]。细胞膜的固定是通过微针来实现的，微针内部的压强可以通过微流道来控制并测量。根据细胞膜或囊泡内外的压强差以及膜丝的受力就测量出膜丝的弹性^[72, 74]。

膜弹性的实验研究中往往通过高精度的激光光镊研究单个微丝或微管的弹性。然而，生命活动的过程是一个复杂的过程，细胞在增值分化过程中，会在各个方位产生很多微丝，甚至形成微丝网络。这就需要研究多个微丝之间的相互作用以及多个微丝成型后对细胞膜弹性的影响^[87-89]。此外细胞活动是由许许多多的蛋白参与的，如马达蛋白、dynamin 等^[90]。光镊技术可以用来研究马达蛋白如 myosin 如何调控膜的弹性^[91]，以及膜弹性又如何影响 dynamin 等蛋白的聚合^[68, 69]。膜的形变还会影响到细胞膜表面磷脂的分布，通过测量不同组分磷脂膜的弹性还可以测量磷脂膜的相变^[80, 81]。如何更加深入理解生命活动中细胞膜的形变、分化以及各种蛋白在这些过程中的作用，这就需要发展一些新型的调制光阱来有效地对这些过程中的相关信息进行测量。

1.6 本文的主要研究内容

新型调制光镊技术本身也是一个比较宽泛的课题。即包括光镊技术本身的设计、搭建，也包括向应用方面深化。本文的新型调制光镊主要涉及时分复用光镊和基于液晶空间光调制器的全息光镊。其中时间调制光镊主要在第四章和第五章介绍；空间调制光镊在第二章和第三章介绍；相关的应用主要在第三章和第五章介绍；在全息光镊的早期论证工作中，我们还采用二元相位片和数字微镜器件对光束进行整形，这两部分内容分别在第六章和第七章介绍；第八章对本文的工作进行一个最后的总结并对后续实验室的相关工作做一个展望。

第 2 章 全息光镊的理论基础

在量子点^[56]、纳米线^[57, 92]的自组装以及复杂生物大分子^[25, 33]的光学微操纵中, 需要发展新型杂化的激光光镊仪器^[48, 93]。全息光镊技术是这些杂化光镊技术中的一种, 它主要使用空间光调制器对进入显微镜前的入射光场进行调制。全息光镊相关的理论基础主要包括两个方面内容: 一是全息光镊中常用的液晶空间光调制器的原理和相关的理论分析; 二是利用傅里叶光学原理设计用到相位片的相关算法以及光路的设计。

目前全息光镊主要使用液晶空间光调制器, 因而需要对液晶的特性以及液晶空间光调制器的原理有大致地了解。液晶具有广泛的应用, 如产生矢量光孤子^[94], 微型偶氮器件研制^[95], 光束整形^[96], 波前校正^[97, 98]以及新型光束的产生^[96, 99, 100]等。液晶分子具有双折射特性, 同时在有电场存在时, 液晶分子的取向会偏向电场方向。这就可以通过电场的驱动来改变液晶的取向, 进而改变液晶中非寻常光的折射率来实现液晶对光束相位的调制。然而液晶空间光调制器的调制原理远非几句简单的描述能涵盖的, 需要通过晶体光学原理, 结合一些实际的因素来分析。此外液晶空间光调制器也有多种类型, 正确了解各种类型空间光调制器的原理有助于正确使用空间光调制器。本章从液晶的组成、特性出发, 着重介绍两种典型的液晶空间光调制器的原理, 即平行向列型和扭曲向列型液晶。

在了解液晶的工作原理之后, 需要对全息光镊的形成原理进行分析并设计合适的光路, 再根据实验光路来计算相应的全息片。这部分主要运用傅里叶光学原理, 尤其是数字全息部分的知识, 再结合计算机图像处理技术来生成全息图。运用计算机设计计算全息图的算法多种多样, 最常用的是 Gerchberg-Saxton 算法 (GS 算法)。其他许多算法是基于 GS 算法演变而来, 本章的全息片设计部分, 着重讨论一种基于 GS 算法的迭代算法。在全息片的设计中, 我们创造性地将高斯分布作为阵列光阱中每个光阱光束的理想分布, 和传统的均匀分布相比, 极大地提高了粒子在每个光阱中所受的梯度力。

2.1 全息光镊技术简介

全息光镊是全息和激光光镊完美组合的产物。最早的全息光镊于 1997 年发明^[101]，它是通过一定的算法算出全息相位片，并将相位片通过先进的微加工工艺刻蚀在玻璃相位板上，再用相位板来调制光场实现的，其发明人^[102]为芝加哥大学的 David G. Grier 教授和博士生 Eric R. Dufresne，Eric 现为耶鲁大学教授。早期做全息光镊的还有德国斯图加特大学的一个研究组^[103]，他们在 1999 年报道基于简单的光栅算法做阵列涡旋光阱。全息光镊的典型代表是全息阵列光镊和全息涡旋光镊。广义而言，早期的采用全息相位片，如叉形光栅实现的涡旋光镊也算是全息光镊的一种。和传统的单光镊相比，全息光镊的最主要的特色就是可以对被捕获的粒子进行多方位、多角度、实时可操控等，报道的最多一次可以操控 400 个微小粒子^[61]。典型的例子是可以排列微观粒子并实现拨柳舞^[104]、俄罗斯方块游戏等。更实际的应用就是可以采用此项技术来实现三维空间的粒子分选^[105]，细胞的多方位、多角度成像和定位，以及特殊复杂光场下粒子以及粒子所在环境的空间拓扑性质的研究，如造成自然界小动物羽毛的多样化的光子晶体结构等的深入研究和理解。目前对全息光镊的操控可以通过显微手(Microhand)、操纵杆(Joystick)、鼠标等实现^[104]，随着触摸屏的普及，还可以通过触摸屏实现全息光镊的操控，甚至还可以通过最新款的电子产品远程控制全息光镊操纵粒子，如苹果公司的 iPad^[106]、甚至 iPhone 等，拉近了全息光镊操控粒子和普通百姓的距离。

2.1.1 数字全息技术

全息，顾名思义，即包含光的全部信息，即波长、振幅、相位和偏振，这是描述光波的四个要素。发明全息术的目的是为了提高显微镜的分辨率，目前全息术的应用却远远超出了显微镜分辨率的范畴，如三维物体形貌测量、全息光存储、三维粒子追踪以及眼科^[107]、天文学探测中的像差校正等^[108]。全息技术的广泛应用不仅由于自身的优势，更得益于计算机技术的不断进步。数字全息并不只是传统的全息技术，更重要的是通过高精度的 CCD 相机以及空间光调制器件等对光场三维空间信息的采集、处理以及重构等。而这些过程多依赖快速计算机来实现，如信号的采样、处理等。在全息光镊中，我们充分发挥数字全息的优势，通

过计算机快速计算出实现特定光场所需的相位片并实时加载到空间光调制器件上。

2.1.2 空间光调制器

全息光镊主要依赖于空间光调制器对光束实现调制。空间光调制器可以大致分为液晶空间光调制器、磁光空间光调制器 (Magneto-optic SLMs, MOSLM)、声光空间光调制器(Acousto-optic SLMs)、多量子阱空间光调制器以及微机电系统光调制器^[109]等。其中液晶空间光调制器可分为向列型和扭曲型(parallel, twisted Nematic)液晶空间光调制器、近晶型(Smectic Ferroelectric)铁电空间光调制器等。微机电器件又分为可变形镜^[108](Deformable Mirror Device, DMD)、光栅光伐(Grating Light Valve, GLV)、数字微镜器件^[47, 110](Digital Micromirror Device, DMD)等。此外,还可以用紫外光刻或离子束刻蚀技术^[102, 111]制作特定的衍射光学元件(DOE)来调制光场。液晶空间光调制器按照寻址方式分类,可以分为电寻址的液晶空间光调制器和光寻址的液晶空间光调制器。

目前由于微纳加工技术的进步,商业化的高精度液晶空间光调制器在一般的科研实验室得到广泛使用,这使得全息光镊多基于液晶空间光调制器来实现。由于振幅型空间光调制器,如数字微镜器件,通过脉宽调制的方式,对激光束的强度分布进行调制,对光束功率的损耗较大,在全息光镊中的报道较少。用由计算机寻址的液晶空间光调制器作为全息元件,通过改变全息元件的相位分布就可以使得所形成的光阱做动态变化,其优点是可以实时改变光阱数目和光阱间的相对位置,同数字微镜等振幅型的调制器相比,液晶空间光调制器因具有对激光的利用率较高,损失较小等优点而受到广泛青睐。

2.2 液晶空间光调制器的工作原理

液晶的形成是由一系列的结构单元构成的。这些结构单元^[112]是一些各向异性的物体,如长杆状或盘状的分子。许多分子都可以用来实现液晶,如:小分子、自然生长或人工合成的长螺旋棒,主链或侧链高分子或分子和离子缔合结构组成的双亲复杂单元。这些液晶可以是偶氮染料、花青素染料、核酸等^[113]。典型的液晶分子如图 2.1 所示。

其中, 图 2.1(a)中的液晶分子为 *p*-azoxyanisole(PAA), PAA 液晶棒的长度约为 20Å, 宽度约为 5 Å, 两个苯环近似共平面。2.1(b)和(c)分别示意主链高分子和侧链高分子。2.1(d)为盘状有机小分子。许多合成的多肽和在合适的溶剂中的棒状高分子也有棒状构象, 典型的长度参数为 300Å, 宽度约为 20 Å。在浓溶液中, 这些体系处于临界相。DNA(deoxyribonucleic acids)和某些病毒也处于这些相, 如烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV), 其长度和宽度分别为 3000Å 和约 200 Å。

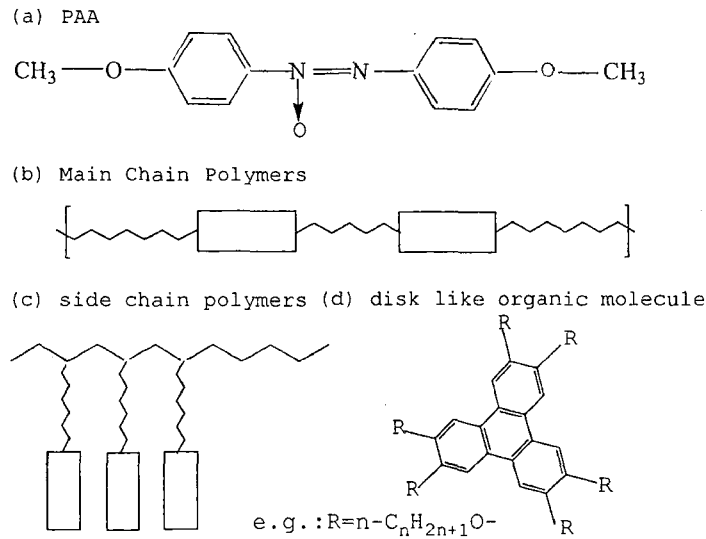


图 2.1 典型的液晶分子的结构

液晶按照分子结构排列的不同分为三种, 粘土状的 Smectic 液晶, 细柱形的 Nematic 液晶和软胶胆固醇状的 Cholesteric 液晶。这三种液晶的物理特性差异较大, 其中第二类细柱形的 Nematic 液晶最适于用来制造液晶显示器。而全息光镊装置中使用的液晶空间光调制器也属于液晶显示器的行列。它按物理结构又可以分为五类, 分别为: (1)扭曲向列型(TN-Twisted Nematic), (2)平行向列型(PAN-Parallel Aligned Nematic), (3)超扭曲向列型(STN-Super Twisted Nematic), (4)双层超扭曲向列型(DSTN-Dual Scan Tortuosity Nomograph), (5)薄膜晶体管型(TFT-Thin Film Transistor)。

正确认识液晶分子的物理特性和液晶结构有助于在实验中正确的选择和使用空间光调制器。如根据不同的工作波长选择可见光波段, 红外波段或是太赫兹波段的液晶^[114]。本节着重介绍常用的两种液晶空间光调制器的调制原理以及对我们实验中所采用的液晶空间光调制器的物理特性进行说明。

2.2.1 平行相列型液晶空间光调制器的调制原理

液晶兼具液体的流动性和晶体的各向异性。向列型液晶分子呈长的棒状，其极化率和折射率等都具有各向异性等，类似于单轴晶体，设其非常光折射率和寻常光折射率分别为 n_e 和 n_o 。给液晶分子加上一定的电压后，其取向会发生变化。液晶是一个连续的弹性体，根据连续弹性体理论，液晶分子的自由能^[115]由如下表达式给出，

$$F = \frac{1}{2} \int \{K_{11}(\nabla \cdot n)^2 + K_{22}[n \cdot (\nabla \times n)]^2 + K_{33}[n \times (\nabla \times n)]^2 - D \cdot E\} dv \quad (2.1)$$

其中 K_{11} , K_{22} , K_{33} 分别是液晶分子的展曲弹性常数、扭曲弹性常数和弯曲弹性常数， n 是液晶分子的指向矢， D 、 E 分别是电位移矢量和电场强度。

实验中采用的液晶空间光调制器中液晶分子为摩擦取向且液晶分子平行排列^[116]，此时，液晶分子的自由能公式可写为

$$F = \frac{1}{2} \int_0^d (K_{11} \cos^2 \theta + K_{33} \sin^2 \theta) \left(\frac{d\theta}{dz} \right)^2 dz - \frac{1}{2\epsilon_0} \int_0^d \frac{D_z^2}{\epsilon_{\perp} \cos^2 \theta + \epsilon_{\parallel} \sin^2 \theta} dz \quad (2.2)$$

式(2.2)中， ϵ_0 是真空中介电常数， ϵ_{\perp} 、 ϵ_{\parallel} 分别是垂直和平行方向的介电常数， D_z 是 z 方向的电位移矢量， d 为液晶的厚度， θ 是液晶分子的倾角。

将式(2.2)中的积分方程转换成如下的微分方程形式

$$\left(\frac{dz}{d\theta} \right)^2 = \frac{K_{11}(1 + K \sin^2 \theta)}{G - \frac{D_z^2}{\epsilon_0 \epsilon_{\perp} (1 + \beta \sin^2 \theta)}} \quad (2.3)$$

其中 $K = (K_{33} - K_{11})/K_{11}$, $\beta = (\epsilon_{\parallel} - \epsilon_{\perp})/\epsilon_{\perp}$, $G = D_z^2 / [\epsilon_0 \epsilon_{\perp} (1 + r \sin^2 \theta_n)]$, θ_n 是液晶分子的最大倾斜角。结合液晶空间光调制器两层边界条件求解方程(2.3)即可得到在一定的电压下液晶分子倾角的分布。由于液晶分子具有晶体的双折射特性，可以根据晶体折射率椭球公式来计算液晶盒内非常光折射率的分布。

$$n_e(\theta_z) = \frac{n_o n_e}{(n_o^2 \cos^2 \theta_z + n_e^2 \sin^2 \theta_z)^{1/2}} \quad (2.4)$$

式(2.4)中 θ_z 是液晶分子的倾角，液晶空间光调制器产生的非常光的相位延迟可表示为

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^d [n_e(z) - n_o] dz \quad (2.5)$$

液晶分子在电场的作用下发生偏转，即不同电场强度对应液晶分子的取向不

同。液晶分子倾角的变化引起液晶非常光折射率 n_e 的变化, 进而引起光束在液晶中传播后相位延迟。液晶空间光调制器就是根据此原理即通过改变加载在液晶单元上的电压实现对光束相位的调制。

2.2.2 扭曲相列型液晶空间光调制器的调制原理

Jeffrey 等通过琼斯矩阵公式的研究表明^[117], 扭曲液晶空间光调制器的本征矢和本征值是扭曲角和双折射率的函数。在纯相位调制模式, 这些本征矢经空间光调制器的作用并不发生变化。他们发现扭曲液晶空间光调制器的本征矢是椭圆偏振光, 并且椭圆度随液晶分子的双折射率的变化而变化。

考虑扭曲型液晶显示器, 每个像素等效于一个扭曲液晶单元, 每个单元的双折射参数由加载在单元上的电压来控制^[118]。当加载的电压为零时, 扭曲液晶指向的扭曲角是单元厚度(沿着光入射光的传播方向)的慢变幅函数, 其值为

$$\alpha(z) = \frac{\alpha_0}{d} z \quad (2.6)$$

其中 α_0 是输入平面($z=0$)到输出平面($z=d$)总的扭曲角度, d 是扭曲液晶单元的厚度。本征的折射率参数可由下式描述

$$\Gamma = \frac{2\pi}{\lambda} (n_e - n_o) d \quad (2.7)$$

上式中 λ 是输入光束的波长, n_e 和 n_o 是平行和垂直于扭曲液晶分子指向的折射率。基于琼斯矩阵理论, 光穿过扭曲液晶单元可以由如下的琼斯矩阵表示^[117, 118]为:

$$M = \exp(-i\beta) R(-\alpha) M(\alpha, \beta) \quad (2.8)$$

其中广义的旋转矩阵由下式定义

$$R(\theta) = \begin{bmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \quad (2.9)$$

矩阵 $M(\alpha, \beta)$ 表达式为

$$M(\alpha, \beta) = \begin{bmatrix} \cos \gamma - i\beta \sin \gamma / \gamma & \alpha \sin \gamma / \gamma \\ -\alpha \sin \gamma / \gamma & \cos \gamma + i\beta \sin \gamma / \gamma \end{bmatrix} \quad (2.10)$$

其中 β 是双折射, α 是扭曲角度, 且有关系式 $\gamma^2 = \alpha^2 + \beta^2$ 。双折射的定义为 $\beta = \pi d \Delta n / \lambda$, 其中 d 是液晶单元的厚度, λ 是入射光的波长, Δn 是液晶分子寻常光

和非常光的折射率差。

当沿着光的传播方向加上电场时，液晶分子朝向电场方向转过一个角度 θ ， θ 是所加电压 V 的函数^[119]，

$$\theta = \begin{cases} 0 & V \leq V_c \\ \frac{\pi}{2} - 2 \tan^{-1} \left\{ \exp \left[-\frac{V - V_c}{V_o} \right] \right\} & V > V_c \end{cases} \quad (2.11)$$

式(2.11)中， V_o 是一个中间值， V_c 是个阈值电压，所加电压小于阈值电压，液晶分子不发生偏转，当电压 V 大于阈值电压 V_c 时，液晶分子的偏转角 θ 随着电压 V 的增大而增大，直到达到饱和值 $\pi/2$ 。

由琼斯矩阵理论可推导出光强反射率和相位差分别^[119]为

$$R = \left\{ \left[\left(\frac{\alpha}{\gamma} \right)^2 + \left(\frac{\beta}{\gamma} \right)^2 \cos(2\gamma) \right] \cos(\psi_1 - \psi_2) \right\}^2 + \left\{ \frac{\alpha\beta}{\gamma^2} [1 - \cos(2\gamma)] \sin(\psi_1 + \psi_2) - \frac{\beta}{\gamma} \sin(2\gamma) \cos(\psi_1 + \psi_2) \right\}^2 \quad (2.12)$$

$$\delta = 2\beta - \tan^{-1} \left\{ \frac{\frac{\alpha\beta}{\gamma^2} [1 - \cos(2\gamma)] \sin(\psi_1 + \psi_2) - \frac{\beta}{\gamma} \sin(2\gamma) \cos(\psi_1 + \psi_2)}{\left[\left(\frac{\alpha}{\gamma} \right)^2 + \left(\frac{\beta}{\gamma} \right)^2 \cos(2\gamma) \right] \cos(\psi_1 - \psi_2)} \right\} \quad (2.13)$$

平行相列液晶也可以认为是扭曲向列在 $\alpha=0$ 时的一种特殊情况，此时 $\gamma=\beta$ ，上式可简化为

$$R = [\cos(2\beta) \cos(\psi_1 - \psi_2)]^2 + [\sin(2\beta) \cos(\psi_1 + \psi_2)]^2 \quad (2.14)$$

$$\delta = 2\beta - \tan^{-1} \left\{ \frac{\sin(2\beta) \cos(\psi_1 + \psi_2)}{\cos(2\beta) \cos(\psi_1 - \psi_2)} \right\} \quad (2.15)$$

有两种方式可以改变液晶的双折射，一是改变输入激光的波长，二是通过改变加载在液晶两端的电压来改变液晶分子的折射率。在全息光镊实验中，通常采用单色相干激光束，此时可以通过改变加载在液晶分子两端的电压来改变液晶分子非常光的折射率，从而实现光束相位的调制。

2.2.3 全息光镊装置中所采用的液晶空间光调制器的特性

我们实验中采用的是德国 Holoeye 公司生产的 Pluto-Vis 型硅片上的反射型的液晶空间光调制器(Liquid Crystal on Silica)。考虑纯相位调制的需求, 液晶设计成平行排列的相列型液晶(Parallel Aligned Nematic, PAN)。在整个液晶盒中, 液晶分子的取向是一致的。在不加电场时, 液晶盒中的液晶分子是各向异性的, 在正交的两个方向的折射率不一样; 当加上最大的电压时, 液晶盒变为各向同性, 光束垂直入射时, 正交的两个方向上的折射率是一样的。液晶分子具有正的电致双折射并且沿着所加电场强度的方向排列。

实验中, 我们测量了没有加电场时空间光调制器上的反射率。激光的入射角小于 6° 时, 反射率随检偏器偏振角的变化关系, 如图 2.2 所示。

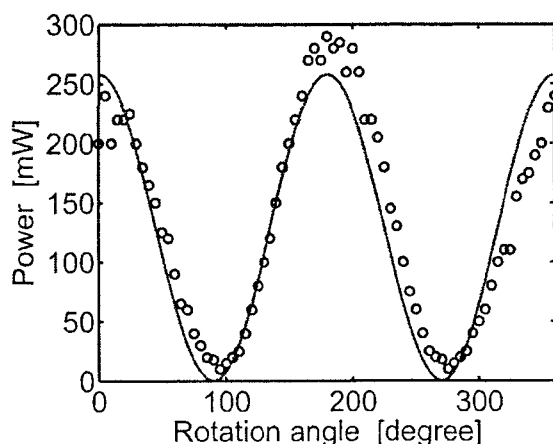


图 2.2 空间光调制器不加电压时, 水平偏振的激光以小于 6° 的入射角照射空间光调制器, 经调制后的光束功率随检偏器取向角的变化关系

液晶分子加上一定的电压以后, 其取向随电压大小的变化而变化, 这会导致经调制后激光强度发生变化。实际上, 输出激光强度和加载在液晶盒上的电压之间并不是成简单的线性关系, 这一非线性的曲线称为液晶空间光调制器的调制曲线, 也叫伽马曲线。空间光调制器在校正前, 伽马曲线一般都是非线性的, 这对任何液晶显示器件都是一样的。为使输出激光强度跟液晶盒上所加电压成线性关系, 需要校正液晶空间光调制器的调制曲线。具体的校正过程是通过测量干涉条纹来实现的, 实验中, 将空间光调制器分成两半, 左半边加载均一的灰度图, 右半边灰度图从 0 到 255 渐变, 扩束准直后的激光束照射到一个双孔光阑上, 将光束分成两个细的光束分别照射到空间光调制器的左右两侧。经调制后的光束和未

调制的光束自空间光调制器反射再经透镜聚焦后会发生干涉, 采用一个 $10\times$ 显微镜物镜可以采集到干涉条纹, 当加载空间光调制器右侧的电压发生变化时, 可以看到所观察到的条纹也会发生移动。在电压渐变过程中采集条纹移动的情况, 即可以通过条纹的变化来反解出空间光调制器加不同电压时对光束的相位调制量。图 2.3 中圆点所对应的曲线为空间光调制器未经相位校正时所测得的伽马曲线。通过未校正的曲线, 我们可以算出校正因子, 并制作成表格(Look-Up table), 供空间光调制器软件查阅, 经过这样校正以后, 我们再测量液晶空间光调制器的伽马曲线, 如图 2.3 中三角形点所示意的曲线。可以看出, 经伽马曲线校正后, 空间光调制器的相位随液晶上所加电压, 实际上是电脑上显示的图片的灰度, 成很好的线性关系。

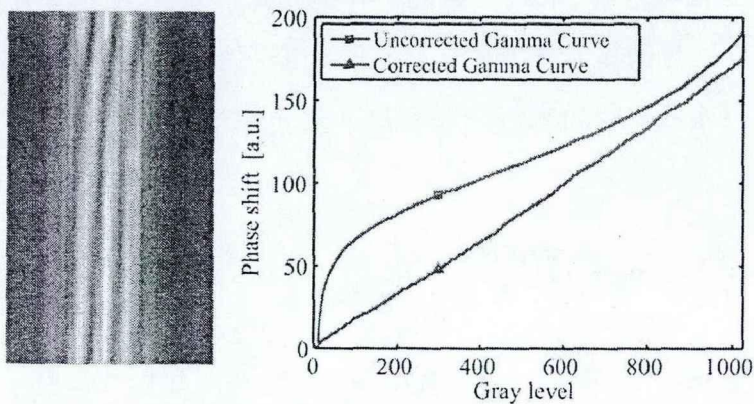


图 2.3 液晶空间光调制器经校正图案以及校正前后的伽马曲线

需要指出的是, 对空间光调制器伽马曲线的校正并不是绝对的, 如果是采用实时校正的动态全息算法, 特定的搜索算法完全可以不考虑伽马曲线的校正问题^[120]。当然这需要对全息光镊进行实时的光场采样。事实上正确了解和使用伽马曲线对空间光调制器进行校正有助于有效地展开相关实验。

2.3 全息光镊的实现算法

全息光镊最主要的特征是光场的实时动态可控性, 构建全息阵列光镊的关键是设计出快速的相位调制算法。在光路中引进能够对光场进行变换的衍射光学元件(DOE)^[111], DOE 对光场的变换可以是振幅型的, 也可以是相位型的, 或是对光场的振幅和相位同时调制。优化算法则是对 DOE 的调制函数进行设计的技术

手段。常见的设计算法大致可分为两类，一是基于变换的迭代方法，如 Gerchberg-Saxton 算法(简称 GS 算法)^[121]、输入-输出算法(IO 算法)、相位混合算法(PMA 算法)^[122]和杨-顾算法^[123]等；第二类是基于搜索极值的优化算法^[124]，如点产生直接搜索法^[125]、共轭梯度算法、模拟退火法^[126]和基因遗传算法^[127]等。在光场质量要求不是很高的情况下，用于全息光镊的 DOE 设计还可以采用速度较快的棱镜透镜组合算法^[128]，它对计算机的要求较低，在需要实时动态改变光场的全息光镊中常被采用。

2.3.1 全息光镊理论

全息光镊典型的光路有两种，一种是基于傅里叶变换型的光路，另一种是基于菲涅尔衍射型光路^[109]。常见的是傅里叶型光路，本文的工作主要基于这种类型的光路来展开。对傅里叶型光路，从空间光调制器到捕获平面，望远镜系统构成一个远场成像系统，空间光调制器上每个象元都可以用一个偶极子来表示。第 j 个象元的贡献

$$A_{j,u}^D(r) = -\frac{a_j}{2\pi c} \exp(i\varphi_j) \frac{\exp(ik|r-r_j|)}{|r-r_j|} P_u \quad (2.16)$$

其中 $k=2\pi/\lambda$ 为波长为 λ 的波数， a_j 和 φ_j 是第 j 个象元的相位和振幅。光线传播沿

$$s_1 = (\sin\theta_1 \cos\phi_1, \sin\theta_1 \sin\phi_1, \cos\theta_1) \quad (2.17)$$

$$p = s_1 \times (z \times \varepsilon) \quad (2.18)$$

其中 ε 是入射光偏振方向。对 N 象元的空间光调制器， r 处总的矢量势可表为

$$A_u^D(r) = \sum_{j=1}^N A_{j,u}^D(r) \quad (2.19)$$

显微镜物镜入瞳处的光场是空间光调制器上每个象元贡献的叠加，几何光学系统入射光线与出射光线满足阿贝正弦条件^[129]，所有的贡献之和可以通过 Debye-Wolf 积分表示成平面波的叠加

$$A_u^O(r_2) = \int_{\Omega_2} B_u(s_2) \exp(iks_2 \cdot r_2) d\Omega_2 \quad (2.20)$$

其中在 s_2 方向传播的平面波是

$$B_u(s_2) = \frac{f_2}{2\pi c} G_u^v(s_2) P_v \sum_{j=1}^N a_j \exp(i\varphi_j) \exp(iks_1 \cdot r_j) \quad (2.21)$$

几何操作算子 $G(s)$ 归因于光束经望远镜后偏振态的变化, 可表为

$$G_u^v(s_2) = \sqrt{\frac{\cos\theta_2}{\cos\theta_1}} R^{-1}(\phi_1) L(\pi - \theta_2) L(\pi - \theta_1) R(\phi_1) \quad (2.22)$$

其中广义琼斯矩阵

$$R(\phi) = \begin{pmatrix} \cos\phi & \sin\phi & 0 \\ -\sin\phi & \cos\phi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad L(\theta) = \begin{pmatrix} \cos\theta & 0 & \sin\theta \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin\theta & 0 & \cos\theta \end{pmatrix} \quad (2.23)$$

望远镜系统形成的光场被高倍显微镜物镜聚集到样品平面。假设样品浸没在均匀各向同性的折射率为 n_m 的介质中, 在 s_2 方向上传播的平面波传播到样品平面可分解成一系列平面波的叠加。偏振为 u 的平面波在 s 方向传播分量可写为

$$A_u^l(r, s) = A_u^l(s) \exp(in_m k_s \cdot r) \quad (2.24)$$

其中复振幅由 Debye-Wolf 积分描述

$$A_u^l(s) = \int_{\Omega_2} H_u^v(s, s_2) B_v(s_2) \exp(-in_m k s \cdot \Delta r) d\Omega_2 \quad (2.25)$$

$$\Delta r = f \sin\theta_2 (\cos\phi_2, \sin\phi_2, 0) \quad (2.26)$$

进一步假设物镜很好地校正像差, 描述偏振旋转的几何张量为

$$H(s_1, s_2) = \frac{i}{\pi} \sqrt{\frac{s_1 \cdot s_2}{n_m}} \frac{1}{1 - (s_1 \cdot s_2)^2} \cdot \{(s \cdot s_2)(s \cdot s_2) + [s_2 - s(s \cdot s_2)][-s - s_2(s \cdot s_2)]\} \quad (2.27)$$

为消除 Debye-Wolf 衍射积分中的额外相位因子, r_j 选取相对 SLM 中心, r_2 的中心位于物镜入瞳中心, r 的中心在光学系统的焦点。

2.3.2 算法简介

典型的全息光镊实验原理图如图 2.4 所示^[8], 经扩束准直后的激光束照射到空间光调制器上, 空间光调制器调制的光场再经一个傅里叶透镜耦合到显微镜中。图 2.4 中为简化起见, 空间光调制器采用透射式, 实际实验中多采用反射式液晶空间光调制器, 其中傅里叶透镜的后焦面和显微镜的观察平面或全息光镊的捕获平面是一对共轭面。在不考虑显微镜内部光路的传输损耗和衍射损耗的情况下, 可以通过将所设计的光场乘以显微镜的放大率后作为目标场来代入迭代算法。这样全息光镊相位片设计中光学系统就简化为阱位透镜对光束的变换。阱位

透镜可选择傅里叶透镜。

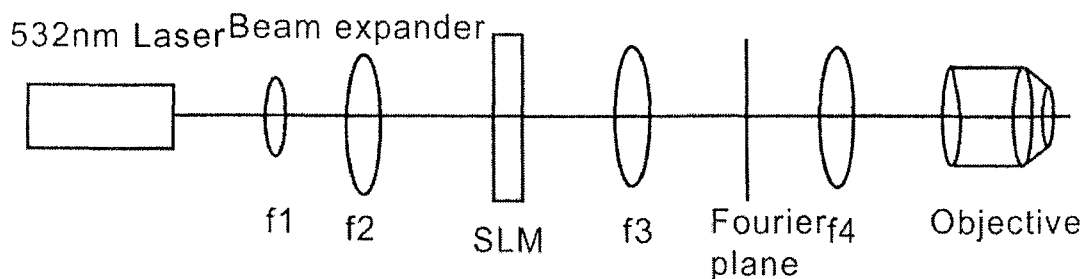


图 2.4 全息光镊原理图

假设输入面为波长为 λ 的线偏振的均匀单色光照明，输入面波前包含相位和振幅信息，

$$E_i(x_i, y_i) = A_i(x_i, y_i) \exp[i\phi_i(x_i, y_i)] \quad (2.28)$$

其中，实值函数 $A_i(x_i, y_i)$ 和 $\phi_i(x_i, y_i)$ 分别代表输入光电场的实值振幅和相位。

输出面即焦平面上电场分布有类似形式

$$E_o(x_o, y_o) = A_o(x_o, y_o) \exp[i\phi_o(x_o, y_o)] \quad (2.29)$$

对上述系统，可以用傅里叶变换来描述，准直的激光束经理想的相位型空间光调制器作用后，光场的振幅不发生变化，而相位会受到器件的调制。设调制相位分布为 $\phi(x_i, y_i)$ ，则相应的复振幅透过率函数为

$$T(x_i, y_i) = \exp[i\phi(x_i, y_i)] \quad (2.30)$$

对理想的傅里叶透镜，后焦面入射光场的复振幅和前焦面出射光场的复振幅间存在如下关系

$$E_o(x_o, y_o) = \frac{1}{\lambda f} \iint E_i(x_i, y_i) T(x_i, y_i) \exp\left[-i \frac{1}{\lambda f} (x_i x_o + y_i y_o)\right] dx_i dy_i \quad (2.31)$$

在全息光镊的 DOE 设计中，常用的做法是给定输入和输出光强信息 $I_i(x_i, y_i)$ 和 $I_o(x_o, y_o)$ ，通过这些光强信息去确定相位分布，使其满足

$$I_o(x_o, y_o) = \left| A \times F \left\{ \sqrt{I_i(x_i, y_i)} \exp[i\phi(x_i, y_i)] \right\} \right|^2 \quad (2.32)$$

其中 F 代表傅里叶变换， A 可以通过 Parseval 定理给出。对于阵列光镊，其目标光场可表示为一系列 δ 函数的叠加^[130]。

$$I_o(x_o, y_o) = \sum_{k=1}^N \delta(x_o - x_o^{(k)}, y_o - y_o^{(k)}) \quad (2.33)$$

考虑到阵列光阱中每个光阱捕获粒子时都应有梯度力作用, 以及计算时需要目标光场进行离散化等因素, 目标场可设为具有如下形式的分布,

$$I_o(x_o, y_o) = \sum_{k=1}^N \text{circ} \left[\frac{\sqrt{(x_o - x_o^{(k)})^2 + (y_o - y_o^{(k)})^2}}{r} \right] \exp \left[-\frac{(x_o - x_o^{(k)})^2 + (y_o - y_o^{(k)})^2}{\omega_0^2} \right] \quad (2.34)$$

其中, r 为每个独立光阱作用区域范围的半径, ω_0 为独立光阱的束腰半径。这里假设每个独立光阱中光场的分布为高斯分布, 这样可以对处于其中的粒子产生梯度力。 $(x_o^{(k)}, y_o^{(k)})$ 为焦平面每个光阱中心的坐标。

空间光调制器的相位分布往往通过多种多样的迭代算法来求得。各种迭代算法研究中, 主要有两方面的研究内容, 即如何进行初始估计和如何提供有效快捷的反馈。在一些要求苛刻的场合, 往往需要综合运用多种算法来求解满足要求的相位分布。GS 算法是迭代算法的起源和代表。它的过程可以表为假设不存在其他约束, 迭代中的反馈通过将每次输出光场的强度替换成理想的光强再进行逆变换。GS 算法的收敛性至少依赖于两个因素, 即相位的初始化和理想输入输出场的约束性质。由于 GS 算法引入的反馈比较绝对化, 因此有时也会失败, 如产生 Gibbs 振荡等^[122]。为克服 GS 算法的诸多缺点, 如常数相位初始化时算法失效等, 研究人员开发了一系列的算法如输入场混入一定扰动后进行逆变换的输入输出算法^[101], 两次相邻循环中相位加权平均的相位混合算法^[122]等。

本文基于 GS 算法^[101], 设计一种带反馈的迭代算法, 即每次输入光场的光强不完全替换成理想的光强进行逆变换, 而是将二者进行一定比例的混合叠加后再进行逆变换。算法流程如图 2.5 所示。对特定的光场分布, 典型的如阵列 9 光束, 先由计算机产生一幅随机相位分布作为初始相位估计, 将初始相位加载到入射光场上并作傅里叶变换求出频谱面或目标平面上光场分布, 再将目标平面光强分布与所期望的理想分布作比较, 若分布误差在一定的误差范围内, 则接受所选相位, 并将所获得的相位投射到空间光调制器上; 若分布误差大于期望的误差容限, 则将期望分布以一定的因子反馈到入射场, 并保留相位分布后进入下一循环, 直到误差小于期望值。

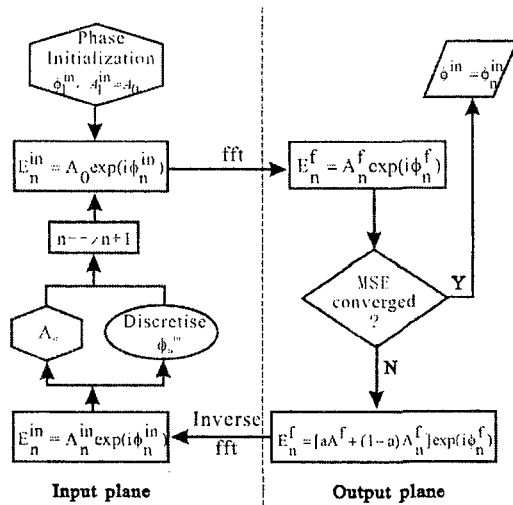


图 2.5 迭代算法的流程图

空间光调制器的抽样间隔可设为 $\Delta=16\mu\text{m}$ ，抽样点数 $N\times N=512\times 512$ 。傅里叶透镜的焦距设为 $f=500\text{mm}$ ，入射光波长 $\lambda=532\text{nm}$ 。入射光的孔径为 $\Delta\times N=16\mu\text{m}\times 512\approx 8\text{mm}$ 。为了验证程序的稳定性，先计算经不同循环后 3×3 的阵列目标区域光场的均匀性和衍射效率。为此，定义两个衡量相位片好坏的参数

$$\text{MSE} = \sqrt{\frac{\sum_{\text{target}} (I - I_o)^2}{2(n^2 - 1)}} \quad (2.35)$$

$$\text{DE} = \frac{\sum_{\text{target}} I}{\sum_{\text{total}} I} \quad (2.36)$$

其中 n 为目标场区抽样点数，MSE为重构光场相对于目标光场的均匀性，DE为设计相位片的衍射效率，计算中采纳目标区域光束强度和总衍射强度的比值。设 S 分别代表图像的空间大小或面积， W 为图像在二维空间频域 (f_x, f_y) 中的带宽，二者乘积为空间带宽积 SW 。其定义可写成 $SW = \iint dx dy \iint df_x df_y = \Delta x \Delta y \Delta f_x \Delta f_y$ 。根据抽样定理，图像在频域 f_x 方向的带宽为 Δf_x ，在 x 方向的最小间隔为 $\delta x = 1/\delta f_x$ 。同理，在 y 方向的最小间隔为 $\delta y = 1/\delta f_y$ ，当总的像场大小为 $\delta x \delta y$ 时，像场中可分辨的总像素点数为 $N = \frac{\Delta x \Delta y}{\delta x \delta y} = \Delta x \Delta y \Delta f_x \Delta f_y = SW$ 。在我们的全息相位片计算算法中空间带宽积为262144。

2.3.3 算法结果

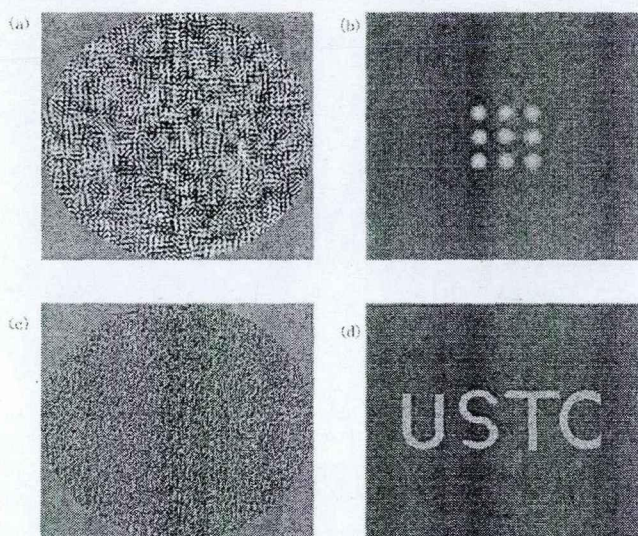


图 2.6 典型的设计结果

如前所述, 我们通过将高斯分布带入阵列光镊每个光阱, 作为设计的理想分布, 其优点是最大程度地增大每个光阱的捕获力。我们算法典型的结果如图 2.6 所示, 其中图(a)和(c)为根据上述算法计算出的相位片相位的二维分布, (b)和(d)分别为对应的重构的全息阵列光阱的光场分布图。对阵列光阱所采用的分辨率为 512×512 , 对 USTC 四个字母采用的分辨率为 1024×1024 。设计时所采用的参数如下, 经空间光调制器前入射光的束腰半径采用 4mm , 阵列光阱每个光阱的束腰半径采用 0.2mm , 反馈因子 a 取 0.005 , 出射阵列光镊每个光阱的范围为半径为 0.35mm 的圆形区域, 循环次数采用 20 次。我们设计的优化算法计算的结果表明, 所设计的光场的衍射效率可以达到 68.37% , 光场不均匀度 MSE 为 0.2059 。

2.3.4 结果分析与讨论

在不同的循环数下, 计算得到的阵列目标区光场的均匀性和衍射效率如图 2.7 所示。其中输入光场的强度分布采用高斯分布, 空间光调制器处光斑半径为 4mm ; 目标光场中, 每个单元光阱中光场的分布采用高斯分布, 光斑半径为 0.2mm , 光斑所在区域的半径 r 采用 0.5mm , 点阵横向间距 d 设为 0.97mm 。

由图 2.7 可以看出, 在不同的反馈系数下, 随着循环次数的增加, DE 值也随着增大, 当循环次数大于一定值, 典型值为 10 次后, DE 值趋于稳定。循环次

数大于 10 次以后衍射效率的稳定值随着反馈系数的增大而减小，为使目标光斑处于衍射效率达到最大值，需要选取较小的 a 值。对于 MSE，在特定的 a 值时，当循环次数大于 10 次时，MSE 基本趋于稳定。同样随着 a 的增加，MSE 的稳定值也随之减小。MSE 越小，表明目标光场越接近设计的全息光镊理想光场，这要求 a 值应取较大的值。综上，从 DE 的角度考虑，需要取较小的 a 值，从 MSE 的角度，需要较大的 a 值。计算中我们发现，在 $a=0.05$ 时，DE 的稳定值约为 70%，MSE 约为 0.1，此时衍射效率较高且目标光场也能较好地反映理想光场，因而，以下计算中均取 $a=0.05$ 。

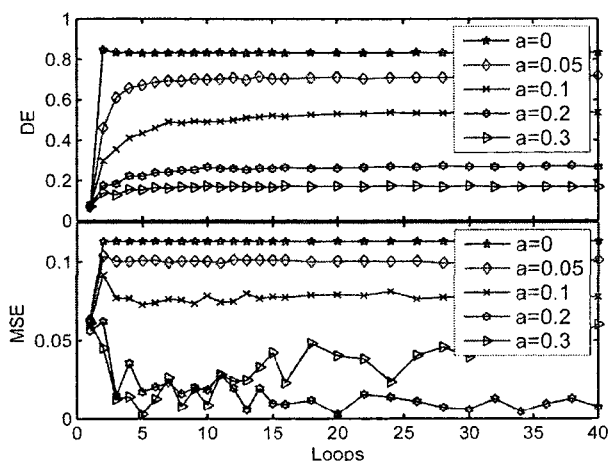


图 2.7 循环次数对衍射效率和均方差的影响。

目标光场每个单元光阱中光束半径越小，对应的光束聚焦程度越高，对陷入其中的粒子的捕获力也越大。而光阱半径越小对相位片的设计要求也越高，同时光阱半径大小还要受到光的衍射效应的限制。为选取合适的单元光阱半径进入迭代算法，需研究单元光阱半径对 DE 和 MSE 的影响。模拟中，选取 $a=0.05$ ，循环次数设为 20 次，入射光的半径为 5mm。每个单元光阱所在区域半径 r 分别取 0.2mm、0.25mm、0.3mm、0.35mm、0.4mm 和 0.48mm。如图 2.8 所示，在同一半径下，DE 和 MSE 值均随 r 的增大而增大。在 r 值一定时，DE 以及 MSE 随单个光阱半径的增大而增大。兼顾取较大的 DE 以及较小的 MSE，阱位透镜频谱面上单个光阱的半径可取为 0.2mm。

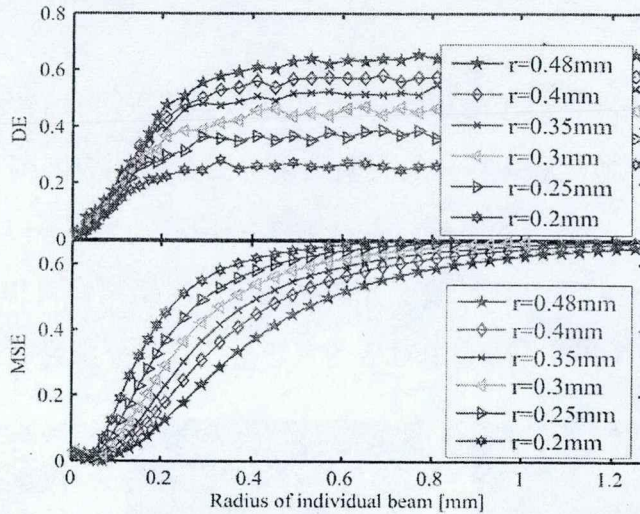


图 2.8 单元光阱的束腰半径对衍射效率和均方差的影响。

输入激光半径的大小直接影响到光束能量的利用以及器件的正常工作。输入激光半径过大，能量过于分散并不能完全被空间光调制器利用，且有一部分光被损失；输入激光半径过小，激光的功率密度会增加，功率密度的增大会导致空间光调制器的损伤。模拟中，单个光阱有效区域半径 $r=0.45\text{mm}$ ，在单个光阱光斑半径分别为 0.18mm 、 0.20mm 、和 0.22mm 时，不同输入光斑半径下的 DE 及 MSE 如图 2.9 所示，其中 $a=0.05$ ，循环次数为 20。模拟结果表明，入射光斑半径很小时，DE 较小，当入射光斑半径大于 1mm 时，DE 及 MSE 基本不受入射光斑半径的影响。考虑相位型液晶空间光调制器不能承受较高的功率密度以及器件几何尺寸等因素，一般入射光斑半径可取为 4mm 。

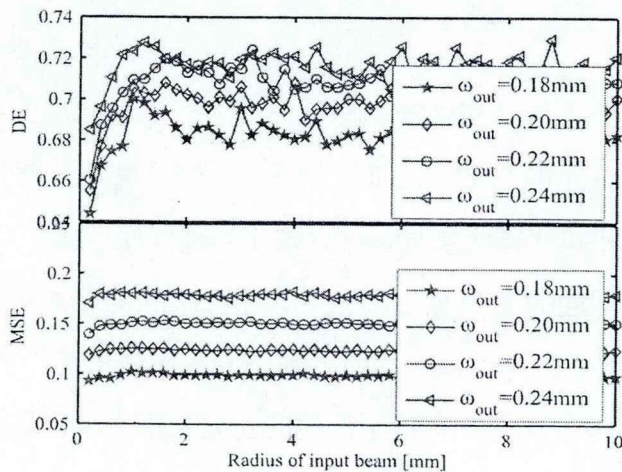


图 2.9 输入激光束腰半径对衍射效率和均方差的影响。

2.3.5 实验结果

详细的实验装置将会在第三章介绍,这里只给出采用我们设计的算法计算相位片后,在全息光镊实验中得到的实验结果。图 2.10(a)为阵列 9 光阱捕获 9 个 $2\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯微球的实验结果;图 2.10(b)和(c)为捕获 7 个聚苯乙烯形成六边形排布的实验结果。通过改变光阱之间的相对距离还可以调节六边形的边长,其中图 2.10(b)和图 2.10(c)中对应的六边形的边长分别为 $6.5\mu\text{m}$ 和 $8.6\mu\text{m}$ 。

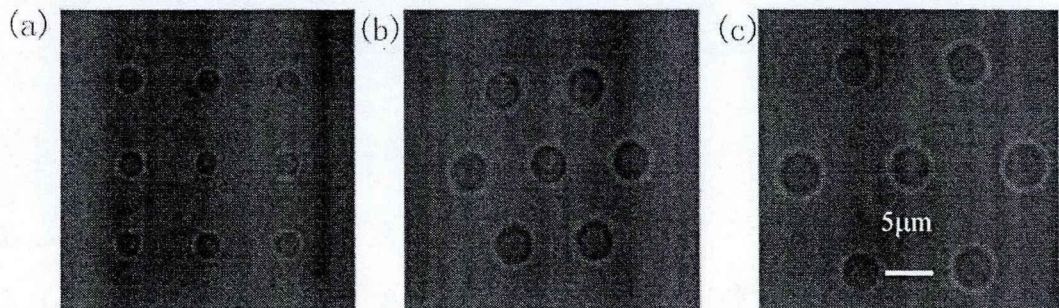


图 2.10 全息阵列光镊和六角形光镊捕获 $2\mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球实验结果图 (a)阵列 9 光阱捕获粒子示意图; (b)7 个聚苯乙烯排布成六边形结果示意图; (c)7 个聚苯乙烯排布成边长较大的六边形结构。

上述结果表明,我们基于迭代算法,考虑目标场光强分布的算法能够很好地运用在全息光镊实验中。通过在算法中调节光阱之间的距离可以有效地操纵微观粒子。

2.4 本章小结

全息光镊理论一方面是有关系液晶空间光调制器的对光束的调制,通过加载一定的电压控制液晶分子的取向,进而控制液晶对激光束的强度分布进行调制;另一方面,是关于设计和计算全息片,使所设计的相位片加载在空间光调制器上可以将高斯光束调制成全息光镊特定的光场。对这些相关的理论的深入了解,有助于人们正确地使用空间光调制器,同时也为不同应用需求选择合适相位片计算算法提供一些有利的借鉴。在具有特定性能的新型光束,如涡旋光束、埃里光束、贝塞尔光束等的相关实验中,还需要针对具体的光束特性来设计相位片。如涡旋光束的生成需要螺旋相位片来调制光场,埃里光束的产生又需要二次型的相位片来实现等。这些在后续的章节会有部分介绍。

第3章 全息光镊实验实现

1948年,匈牙利裔物理学家丹尼斯伽博(Dennis Gabor, 1900-1979)为提高显微镜的分辨率发明全息术,并因此获得1971年诺贝尔物理学奖。全息术在照相、三维电影、以及激光干涉计量等许多方面发挥着重要的角色。即使在最简单的单光镊中,也可以采用全息干涉技术来测量被捕获粒子的位移信息,使得位移的测量精度达到亚纳米量级以下。可见全息术在光镊技术的发展与应用中是贯穿始终的。本章主要目的是介绍全息光镊的实验。

光镊的雏形是 Arthur Ashkin 等开创性地用聚焦的激光束来捕获在水溶液中的胶体颗粒,如聚苯乙烯、二氧化硅小球、细菌等^[63-65]。单光束光镊一次只能形成一个光阱,捕获和操控一个粒子^[64]。为了捕获多个粒子,需要采用声光衍射器、压电转镜或是几束激光,来生成所需的多个光阱。直到1997年,德国的一个小组将全息片写在扭曲液晶空间光调制器上^[131],开创了用全息技术调制光场生成全息多光镊的先河。在1995年,He等人采用带有相位奇点的光束对吸收性粒子进行旋转^[132],事实上这采用的也是全息术。目前广泛认可的全息光镊是由 Eric Dufresne 等^[101]发明的,他也是一直从事相关研究的专家之一。

纵观全息光镊的发展历程,我们提出全息光镊的广义定义,即采用空间光调制器加载不同类型的全息图对光场进行调制后,经物镜聚焦而生成的多个光阱,或者具有特殊性能的单个或者多个光阱,这个特殊性能可以是偏振奇点,也可以是能导致粒子旋转的相位奇点^[133]。更为一般地,全息光镊是采用空间光调制器对激光束的空间相位或是光束的强度分布进行调制的一种调制光镊。本章的内容主要包括,全息光镊的应用背景、全息光镊硬、软件结构、全息阵列光镊和全息涡旋光镊的实验实现以及与全息光镊相关的实验分析手段,如并行图像处理,功率谱分析等。

3.1 全息光镊技术应用背景

全息光镊的应用主要在细胞、复杂流体等领域。近年来也有人尝试用全息光镊来研究单分子^[134,135],由于全息光镊光通量以及摄影显微镜等的限制,全息光

镊在揭示单分子动力学方面并不具有明显的优势^[136]。但是全息光镊在软物质和复杂流体领域有其独到之处。如可以同时研究液相环境中多个胶体颗粒之间的相互作用，进而研究活体细胞表面或内部细胞器之间的相互作用等。

3.1.1 软物质物理

软物质包括颗粒物、细胞等范畴，如二元颗粒物中粒子相互作用的测量、颗粒物的相分离、细胞网络动力学特性等，而光镊技术为这些问题的解答提供一个很好的工具，如多个粒子之间的力矢量和运动张量^[137]的测量。Eric 等采用全息光镊技术对多个粒子间的相互作用进行测量，发现多个粒子相互作用跟 Stokeslet 模型吻合较好，这表明静电相互作用并不能很好地描述该多体相互作用过程。

3.1.2 微区流变学

传统的流变学测量仪有，毛细管型流变仪、转子型流变仪、混炼机型转矩流变仪、振荡型流变仪等，它们很难给出流体的宽频流变学特性，光镊技术可以测量流体在比较宽的频段内的损耗模量和存储模量^[138, 139]，同时光镊技术测量流体的流变学参数采用的样品量小，适合微区分析，且测量速度快，一个样品的测量可以在几秒钟之内完成。方法是利用高精度激光光镊测量被光阱捕获的小球的运动位置信息，利用位置的功率谱来求解微流体的损耗模量和存储模量测量微流体的流变学参数。原理如下：设半径为 R 的刚性小球在聚合物溶液中受到一个力 f 的作用，周围介质的形变 $x_\omega = \alpha(\omega)f_\omega$ ，其中 x_ω 是小球的位置。一般情况下响应函数 $\alpha(\omega) = \alpha'(\omega) + i\alpha''(\omega)$ 是复数，它与材料的复剪切模量 $G(\omega)$ 之间存在如下关

系 $\alpha(\omega) = \frac{1}{6\pi(G(\omega)R)}$ ，其中复剪切模量 $G(\omega) = G'(\omega) + iG''(\omega)$ ， $G'(\omega)$ 为存储模量，

$G''(\omega)$ 为损耗模量。由耗散-涨落定理， $\alpha''(\omega) = \frac{\omega}{2k_B T} \langle x_\omega^2 \rangle$ ，其中

$\langle x_\omega^2 \rangle = \frac{2k_B T}{\gamma} \frac{1}{\omega^2 + \omega_c^2}$ 为光阱中小球运动位移的功率谱。由 Kramers-Kronig 关系，

求解如下色散积分 $\alpha'(\omega) = \frac{2}{\pi} P \int_0^\infty d\zeta \frac{\alpha''(\zeta)}{\zeta^2 - \omega^2}$ ，即可得到复响应函数 $\alpha(\omega)$ ，再通过

$G(\omega) = \frac{1}{6\pi(\alpha(\omega)R)}$ ，计算存储模量 $G'(\omega)$ 和损耗模量 $G''(\omega)$ 。进一步，可以研究

具有不同组分流体的微流变学特性以及相变等。

全息光镊以其同时操控多个粒子的优势，借助高速相机可以同时测量几十微米区域内多个粒子的运动信息，我们提出可以从这些运动信息中提取每个微小区域流变学信息，这样就可以同时测量每个微区流体的流变学特性。对每一个微小区域粒子的流变学研究是并行测量的。

3.1.3 单分子生物物理

2006年，Dame等采用偏振分束以及时分复用等技术^[25]，将一束激光分成四束来测量细菌染色质在HN-S蛋白质作用下的组装。但他们的实验装备通用性较差，全息光镊则是这一系列面向应用的实验发展的一个趋势。全息光镊可以在样品平面产生任意多个光阱的特性，可通过计算机寻址的液晶空间光调制器来实现。全息光镊在生物应用上还没有产生较大的影响，很可能是由于相对低的光通量，但这样的形势在不久的将来随着技术的不断进步会发生变化^[136]，我们相信全息光镊在单分子生物物理方面将会大有作为。

3.2 全息光镊实验装置主要硬件介绍

单光镊采用一束激光通过一定的几何光学系统耦合进显微镜物镜，且确保光束的大小和物镜后瞳匹配就可以实现。在全息光镊中需要在原有单光镊光路中增加空间光调制器对光束进行整形，这需要对所使用空间光调制器的软件和硬件都有一定的了解。本节介绍全息光镊装置中的主要硬件以及光路的设计原则和设计参数，为正确使用全息光镊打下基础。

3.2.1 激光器

激光器的选择关乎全息光镊的最终性能。全息光镊对激光器的要求是低噪声，激光的指向稳定性和功率稳定性要好。综合价格以及实验室现有的空间光调制器的技术指标，我们选择英国Elforlight Ltd.公司的HPG-5000型高功率绿光激光器，其输出波长为532nm，半导体泵浦，风冷。最大输出激光功率为5W。空

间模式分布 TEM_{00} , $M^2 < 1.2$ 。两小时的功率稳定性 $\pm 2\%$ 以内。光束发散角 $< 1\text{mrad}$ 。输出光束直径 2mm 。我们对激光器进行标定, 其中激光器输出功率随遥控器上调节旋钮的刻度变化关系如图 3.1(a) 所示, 曲线为对数据进行二次曲线拟合的结果, 关系式为: $P=0.123n^2-0.793n+1.450$ (W), 其中 n 为控制器上的刻度。图 3.1(b) 为激光输出的偏振特性, 根据马吕斯定律, 可以拟合成: $P=0.555\cos^2(\theta+0.065)$ (W)。可以看出激光的偏振态并不是严格水平, 偏振方向与水平位置有 -3.72° 的夹角, 因而实验中需要采用格兰泰勒偏振片对激光的偏振态进行调控。

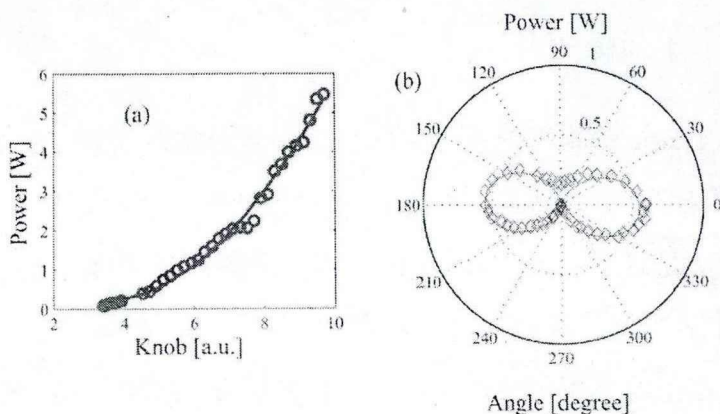


图 3.1 全息光镊的激光光源性能曲线 (a) 功率输出特性, (b) 偏振特性

在后续的实验中, 可以根据以上的功率曲线选择合适的激光功率。这样就可以知道所用的大致激光功率, 在光镊实验中, 实际所关心的往往是光阱的刚度, 因而不必每次都要量测激光的出射功率。以上功率曲线在全息光镊设计光阱数目时是一个重要的参考依据。

3.2.2 空间光调制器

空间光调制器选用 Holoeye 公司的向列型液晶空间光调制器, 像素分辨率为 1920×1080 , 刷新率为 60Hz , 象元大小 $8\mu\text{m}$, 填充因子大于 87% 。空间光调制器上每个液晶单元的电压通过计算机的 DVI 高清数字接线传送过来的信号控制的, 相位图是通过 LabView 程序计算并由双头显卡(dual head)传送到空间光调制器上。空间光调制器自带的软件可以计算衍射光学元件的相位分布, 但所支持图像的抽样点数受到限制。在 HEO 1080P 型空间光调制器所带的软件里, 只能计算抽样点数在 400×400 个像素以内的目标场。输入图像的抽样点数小于这个限

制时,将会自动显示“Compute DOE”按钮,否则,按钮处于未激活状态。通过设定一些简单的图形即可以实现全息相位片的计算并加载在空间光调制器上。

空间光调制器自带软件的缺点是界面不友好,操作起来不方便。因而,在动态全息光镊的实验中,我们采用 LabView 程序实现能交互操作,界面友好的全息光镊操控。LabView 程序由前后两个面板组成,前面板为用户提供一个简洁交互性好的界面供用户操作,后面板则提供链接各个控件的框图。基于 LabView 的全息光镊控制软件可以实时动态的改变光阱的位置、移动被捕获的粒子。

3.2.3 显微镜

较多的全息光镊都是基于商用显微镜并进行一定的改造来搭建的,也有报道自己搭建显微镜构建全息光镊,如 Nancy R. Forde 组的全息光镊^[134]。基于实验室的现有仪器、经费条件和实验室的实验基础,我们在奥林巴斯 IX70 光学显微镜的成像通道上耦合全息光镊实验光路。其优点是光路相对简单,在位置探测精度要求不是很高的情况下都可以通过奥林巴斯的成像通道耦合捕获光束。显微镜上自带的卤素灯用作照明。我们设计并加工一块方形的薄双色镜作捕获光的耦合元件,替换一块光学多通道上一块原有的立方体棱镜。如无特别说明,显微镜物镜采用奥林巴斯数值孔径为 NA1.25 的 100x 油浸物镜。显微镜成像是通过 CMOS 相机(Falcon1.4M100, Dalsa, Canada)记录,相机的曝光时间及采样频率分别为 10ms 和 100fps。

3.2.4 光路设计与分析

全息光镊系统的光路图如图 3.2 所示。自激光器出射的激光束经望远镜系统($f_1=60\text{mm}$, $f_2=240\text{mm}$)扩束,经反射镜 M1 调整角度后,以一个较小的入射角($<6^\circ$)入射到空间光调制器上。空间光调制器上加载由计算机生成的合适的全息相位片,经空间光调制器调制后的衍射光束经阱位透镜($f_3=250\text{mm}$)和显微镜中的管镜(tube lens, $f_4=190\text{mm}$)传输到物镜的后焦面上,在物镜的工作平面即可以形成阵列光阱。其中, M1、M2、M3 和 DM 为自制的对 532nm 激光 45° 全反的反射镜。其中 M1~M3 为直径 30mm 的圆形反射片, DM 为方形片,它们的透过率谱通过 Lambda 900 型光谱仪(PerkinElmer instruments, Shelton)测量,其结果如图 3.3。

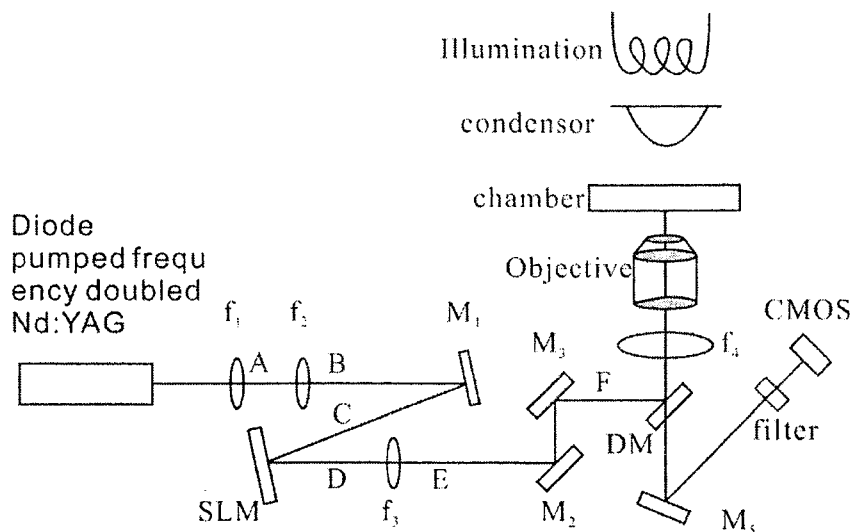


图 3.2 全息光镊系统光路图

45° 圆形反射镜 M1~M3 在 532nm 处的 OD 值($OD=\lg(1/T)$)可以达到 2.3, 这在外光路中使用完全可以起到反射激光束的作用, 且激光能量的损失也不会太大。而对于作为二色镜使用的 45° 方形反射镜其在 531nm、532nm、533nm 附近的 OD 值分别为 0.97、1.15、1.30, 且起伏较大, 此处的光束锥角大小约为 2°, 这会导致最大入射角处透射谱蓝移 1nm, 最小入射角处透射谱红移 1nm。进而导致光束的质量受到影响。商业化的硬镀膜技术加工的二色镜的 OD 值可高达 6, 且谱线的起伏很小, 是最佳的选择, 但其价格昂贵, 因而, 我们仍采用上述软镀膜技术加工的二色镜。

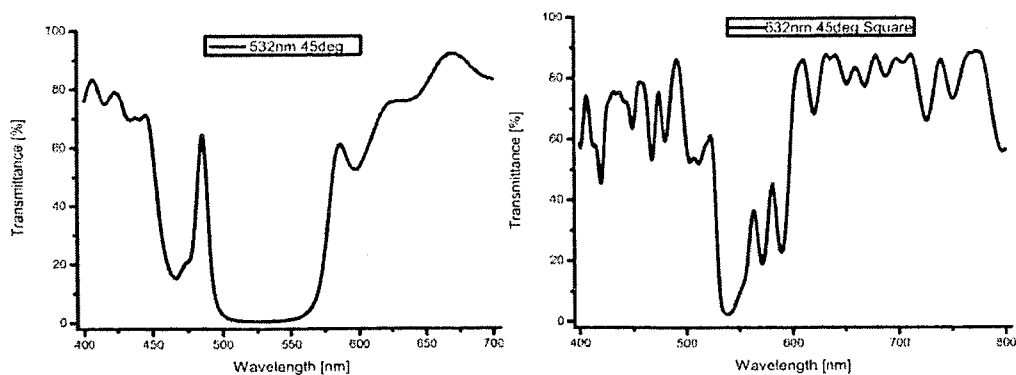


图 3.3 全息光镊外光路中所用介质膜反射片的透过率谱 (a) 左图为直径 30mm 的反射镜的透过率谱, (b) 右图为显微镜中方形二色镜的透过率谱

反射镜 M1 的实际工作时入射角度约为 8°, 为对显微镜外各光学元件的反射性能有个全面的了解, 我们在光路上的 A、B、C、D、E、F 等六点监测激光功率, 一组典型的值为当激光器的功率刻度在 6.5 时, 各点功率分别为 1.6W、

1.58W、1.5W、0.78W、0.7W、0.7W。由B、C点的功率值可知M1的反射率约为 $1.5/1.58=95\%$ 。考虑透镜 f_1 对激光功率的损失很小,由A、F两点的激光功率值可以估算显微镜外光路的透射率约为 $0.7/1.6=44\%$ 。而空间光调制器上的反射率为 $0.78/1.5=52\%$,可见大部分损失由空间光调制器造成。为形成更多更稳定的光阱,需要增大入射激光的功率,而空间光调制器的可承受功率密度是一定的,为此我们需要测量扩束后激光光斑的大小。激光器的输出功率为780mW时,采用商业剃须刀片做直边光阑测量光束的功率随光阑位置的变化关系,经拟合得到扩束后激光光斑的直径,如图3.4所示。

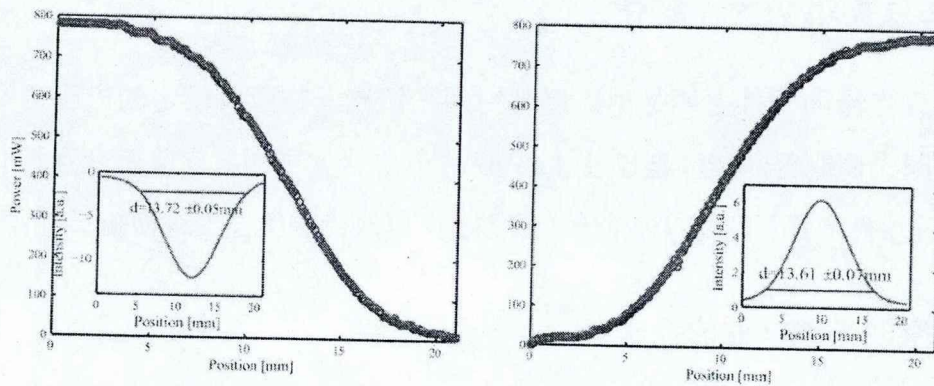


图 3.4 激光功率随光阑位置的变化关系 (a) 光阑靠近激光束, (b) 光阑远离激光束

图 3.4(a)为直边光阑逐渐靠近激光束时测量得到的功率随光阑位置变化关系,其中光阑每步移动的距离为 $143\mu\text{m}$,图中圆圈为实验测量的数据点,曲线为拟合的结果。插图为拟合实验点的微分,反映激光光强的空间分布。由于光强的空间分布满足^[140]

$$I = I_0 \exp\left(-2 \frac{x^2 + y^2}{\omega^2}\right) \quad (3.1)$$

由空间分布曲线可以拟合出分布的半高全宽为 $d=13.72\pm 0.05\text{mm}$ 。图 3.4(b)为直边光阑回退时测量的数据点,光阑的移动步距为 $71\mu\text{m}$ 。采用类似的处理方法,可以求得激光光斑的直径为 $d=13.61\pm 0.07\text{mm}$ 。可见两组数据略有差异,主要原因是测量时间较长,对步距为 $71\mu\text{m}$ 的测量组测量时间约为50min。虽然激光器工作在功率反馈模式,在近一个小时的测量中功率难免有波动。

采用上述二组数据的平均值估算入射到空间光调制器上的激光的平均功率密度

$$D = \frac{4P}{\pi d^2} = \frac{4 \times 780mW}{\pi \times 13.66^2 mm^2} = 0.53W/cm^2 \quad (3.2)$$

空间光调制器的可承受最大功率约为 $2W/cm^2$ 。由上述估算可知，在光斑直径约为 $1cm^2$ 时，激光器的出射功率可以调节到 $780 \times 2/0.53 \approx 2.9W$ 。为使得激光均匀照射到空间光调制器上，扩束后的激光光斑大于空间光调制器的宽度，即便如此激光光强的分布仍不是均匀的而是在空间呈现高斯分布。因而光斑的中心强度要大于边缘，在使用空间光调制器时需要考虑这些因素。为防止空间光调制器损坏，激光器的出射功率一般要小于 $2W$ 。

3.3 全息光镊的软件简介

全息光镊的软件主要是用来控制空间光调制器按照所设定的光阱分布来工作。空间光调制器的控制是通过 LabView 软件来实现的，它具有交互性强等优点。通过软件界面，可以方便地改变光阱数，修改光阱的位置进而操控粒子移动。

3.3.1 空间光调制器的控制

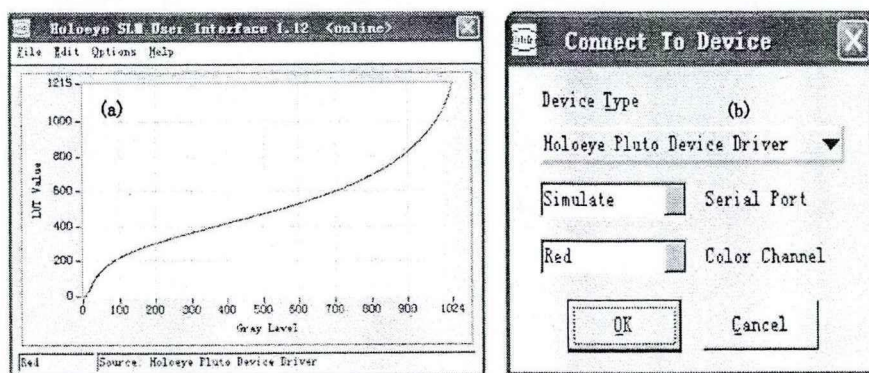


图 3.5 空间光调制器控制软件。图(a)中的曲线为液晶空间光调制器的伽马曲线；图(b)为计算机和空间光调制器的连接界面，实验中采用 DVI 信号线通联，所以选择模拟通道

液晶空间光调制器的控制采用器件自带的软件与计算机通讯。控制软件的界面如图 3.5 所示，其中 3.5(a)图为软件激活后的界面，图中的曲线为对空间光调制器调制特性进行矫正的伽马曲线示意图，空间光调制器在显示图形前会自动根据图中的曲线查表得到相应的校正后的结果，在控制液晶上每个单元的电电压。图 3.5(b)为计算机和空间光调制器通信的接口界面，本文的实验通过计算机上的 DVI 接口输出图形，故选择模拟通道。

3.3.2 界面与算法软件

全息光镊采用 Glasgow 大学的开源 LabView 代码, 实时计算全息图。每次实验时, 根据不同实验的要求, 对算法或参数进行适当的修改。本章的阵列光镊工作多采用棱镜-光栅叠加算法对光阱进行增删或操控。

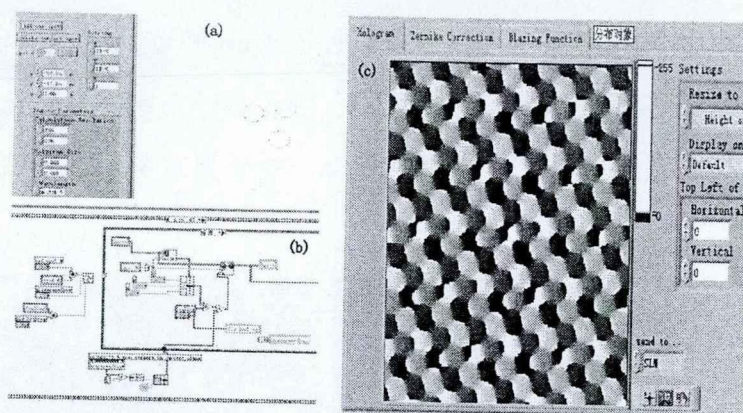


图 3.6 基于 LabView 的相位片计算软件。图(a)为基于 LabView 开发的全息光镊实时交互式操控软件的前面板; 图(b)为对应的程序接线图; 图(c)为经 GL 算法计算得到的相位片分布图, 该分布图将通过空间光调制器控制软件经 DVI 信号传送到并显示在 SLM 上。

基于 LabView 的全息光镊实时互动操控软件的界面如图 3.6 所示。图 3.6(a)为实时互动的操控界面, 图 3.6 (b)为对应的程序接线图, 图 3.6 (c)为由 GL 算法实时生成的全息相位片。实验中上述相位片由液晶空间光调制器的自带软件加载到空间光调制器上, 最终实现对光束的调制。

3.4 全息光镊的实验结果

全息光镊系统可以捕获生物细胞、胶体颗粒等, 捕获粒子的尺度在几百纳米到几十微米范围。这在胶体多体相互作用、细胞多体相互作用, 不同电学、化学环境对细胞膜相互作用、细胞表面抗体抗原相互作用等影响方面的研究中提供一个重要的研究手段。此外全息光镊技术还可以结合全息显微成像, 对细胞进行旋转的同时从不同侧面观察细胞的形貌, 为细胞多维准确定位提供可能。本节通过全息阵列光镊捕获多个粒子, 全息光镊旋转粒子以及基于全息技术的新型调制光阱分选粒子的几个基本的实验, 验证我们全息光镊的功能, 为进一步用全息光镊在微纳米体系相互作用、生物细胞分选、纳米材料人工诱导组装以及单分子并行

检测等领域提供一些思路和借鉴。

3.4.1 全息阵列光镊捕获多个微小粒子

全息阵列光镊捕获多个粒子的实验结果如图 3.7 所示。激光器出射的激光功率为 120mW，经空间光调制器调制以及光路损耗后，在显微镜前的激光功率为 60mW。可以同时牢固捕获 5 个或 9 个直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球。图 3.7(a) 为全息光镊捕获 5 个直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球，图 3.7(b) 为全息光镊捕获 9 个直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球。对 9 光阱情况，考虑显微镜的透射损失，平均每个光阱的功率约为 3mW。

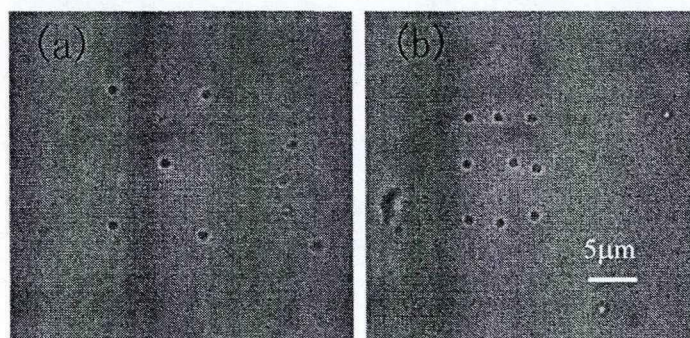


图 3.7 全息阵列光镊捕获 $1\mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球 (a) 阵列 5 光阱 (b) 阵列 9 光阱

3.4.2 全息涡旋光阱旋转粒子

半径无限小的圆柱在静止流体中旋转引起周围液体做圆周运动的流动现象就叫做涡旋(Vortex)。常见的涡旋如龙卷风，划船时船桨产生涡旋，涨潮和落潮时的涡旋等，气象学上也有所谓的气旋。在光学中，常见的光束是具有高斯分布的激光束，此外还有一类光束叫涡旋光束。涡旋光束的典型特征是光束的相位分布为一涡旋分布，如图 3.8 所示。在涡旋的中心，由于相位的不确定性，光束的强度为零，为一相位奇点(phase singularity)，因而也叫奇点光束。事实上径向偏振光也可以称为奇点光束，它在奇点处的偏振态不确定。本节所讨论的奇点光束仅限于相位奇点形成的涡旋光束。

涡旋光束每个光子具有 $l\hbar$ 的轨道角动量(Orbital Angular Momentum, OAM)，其中 l 是轨道角动量量子数。具有这样的光束有拉盖尔高斯光束(Laguerre Gaussian, LG)、高阶贝塞尔(Bessel)光束^[141]等，它们都具有 $\exp(il\phi)$ 形式的相位因

子^[142]。其典型特征是光场中具有相位不确定且光波振幅为零的点，这些点称作相位奇点^[143]，围绕相位奇点，光束呈现螺旋波前的特性。有螺旋波前的光束聚焦后形成一个圆环而不是实心点，它携有轨道角动量，且能够传递给被照明的物体。LG 光束首先在 1992 年由线偏和圆偏振的光束在旁轴近似下计算得到轨道角动量^[17]。这产生之后在相关的一系列理论和实验研究^[132, 133, 144]。

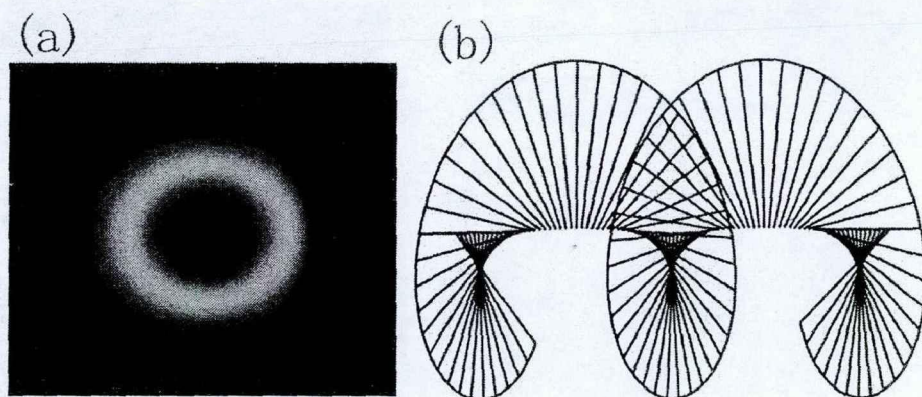


图 3.8 涡旋光束强度和相位的空间分布

借助于纯相位型的液晶空间光调制器，可以通过投射叉形光栅^[142]调制准直的激光束或直接在光路中添加螺旋相位片来实现涡旋光束。本节采用涡旋相位片来实现涡旋光束，并用常见的酵母细胞作为捕获对象演示轨道角动量的光致旋转。

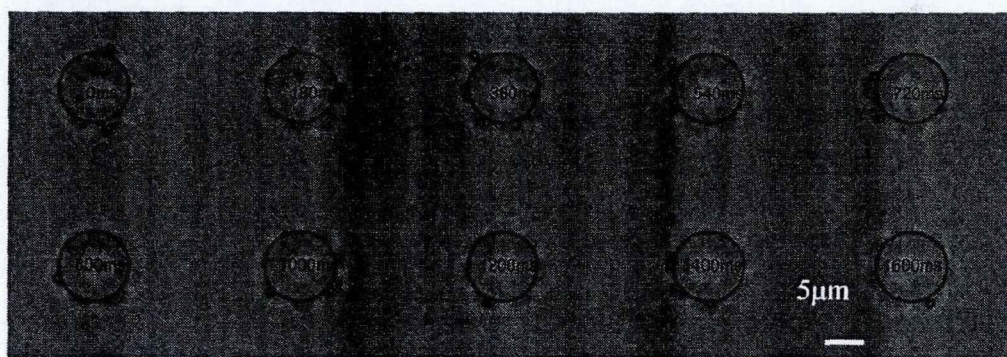


图 3.9 涡旋光束旋转 7 个直径约为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞录像序列

图 3.9 为拓扑荷为 20 的涡旋光阱捕获 7 个直径为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞的实验结果图，其中图中的圆圈表示酵母细胞运动的轨迹，小圆点表示某个特定的细胞在转动过程中的位置。圆圈内的数字为时间，录像采用 CMOS 相机(Falcon 1.4M100, Dalsa Canada)拍摄，相机的拍摄速率为 100fps。

图 3.10 为拓扑荷为+20 和-20 的两种涡旋光阱中三个直径为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞实验结果图, 其中, 上图对应拓扑荷为+20 的光阱, 酵母细胞在光阱中作顺时针旋转; 下图对应拓扑荷为-20 的涡旋光阱, 酵母细胞在光阱中作逆时针旋转。酵母细胞离样品池底面高度为 $8\mu\text{m}$ 。进一步分析表明正转周期约为 1600ms , 反转周期约为 2000ms 。

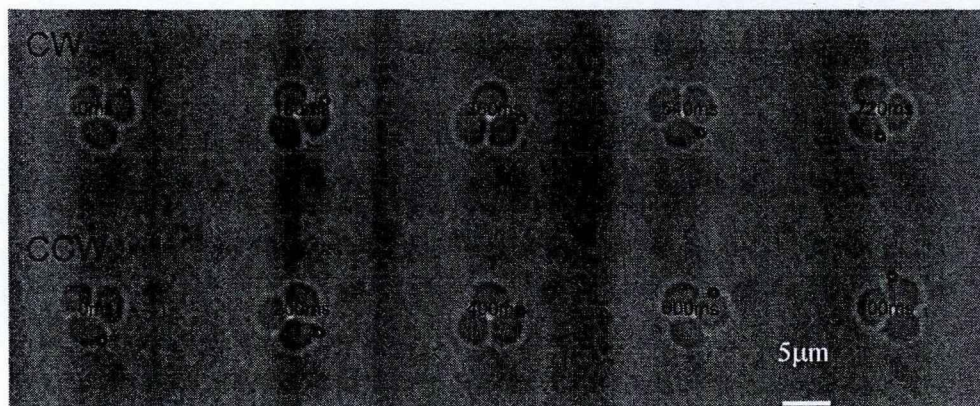


图 3.10 三个直径约为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞的正转(CW)和反转(CCW)录像序列

3.5 全息光镊稳定性分析

我们通过对全息阵列光阱刚度的测量来对光阱的稳定性进行分析。光阱刚度主要通过被捕获粒子的随机热运动信号或是流体力学法来测量。由于全息阵列光镊中相邻的光阱的间距较小, 采用流体力学法测量时由于相互干扰以致不能有效地测量。因而全息阵列需要采用随机热运动信号来测量。另一个问题是对单个光阱的测量可以采用很快的位置探测器, 在阵列光镊的情况下, 需要采用并行标定技术, 最合适的探测器就是快速相机, 而目前商业快速相机可以达到最少 1000fps , 拍摄较小的窗口还可以达到更大的拍摄速度, Glasgow 的小组已经证明, 快速相机的性能已经能够跟常见的位置探测器相当^[145, 146]。

实验中采用的是较低速度的 CMOS 相机, 最大拍摄速度为 100fps 。为了验证并行标定技术, 我们采用降低激光功率的办法, 使得光阱的拐点频率(Corner frequency)处于相机的乃奎斯特频率范围内。

3.5.1 全息阵列光镊刚度分析的特点

全息光镊刚度测量主要通过采用快速相机一次将阵列光阱中每个小球运动

的信息进行实时录像,再利用一定的图像处理算法得到每个小球的运动信息。当相机的采集速度很高时,一般由于计算机计算能力以及内存的限制,需要离线处理实验数据。全息阵列光镊还有一个特点就是每个光阱可以独立处理,而且处理的方法是一样的,这就很适合将程序并行化,采用高效的并行处理技术可以大大地缩短计算时间,如8核CPU可以将计算速度提高约8倍。

3.5.2 数字图像处理

显微镜对粒子的成像通常有两种模式。当粒子非常小,如荧光分子,经过光学系统成像后粒子的大小比相机的一个像素还小时,实际成像经与光学系统的点扩散函数(PSF)卷积后,仍成像在多个像素上,如STOM和PALM等;第二种情况是,粒子的大小比较大时,粒子在相机上的成像经PSF卷积前后都占有多个像素^[147]。对一般的相机,其像素大小在6~10 μm ,若采用100x物镜,每像素约对应60-100nm,这两种情况,对粒子的定位精度都可以达到亚像素的水平,即1~10nm。全息光镊中所采用的探针粒子多为微米、纳米级粒子。为探测每个光阱的刚度等信息,需要采用带宽足够高的快速相机来进行录像。

快速相机所采集的是图像序列,需要对每个独立光阱中粒子的运动信息进行分析。这就有两个特点,一方面对数据的处理速度要求很快,另一方面,对每个光阱的处理算法是一致的,而且相互之间没有影响,这就很适合对这些数据进行并行处理。对全息光镊中粒子的运动信息的处理,可以采用图像灰度重心法。设某个光阱的区域有 N 个像素,则该光阱中粒子的重心坐标可以由下式给出

$$x_c = \frac{\sum_{i=1}^N x[I(x,y) - th]}{\sum_{i=1}^N [I(x,y) - th]} \quad (3.3)$$

$$y_c = \frac{\sum_{i=1}^N y[I(x,y) - th]}{\sum_{i=1}^N [I(x,y) - th]} \quad (3.4)$$

其中 th 为图像的阈值,一般选取为背景噪声大小。此外,即便是商用最好的快速相机,满幅时其采样频率也只能达到1000fps,远不如单光镊采用的位置敏感探测器带宽高。这就需要对低采样率所带来的像模糊(motion blur)和混叠(aliasing)进行校正。和单光镊相比,这是全息光镊实验中所必须要考虑的。

3.5.3 功率谱分析

通过并行算法获得光阱中小球的位置后,需要采用一定的方法衡量光阱的刚度,进而可以测力。常见的测量光阱刚度的方法主要有功率谱法^[148]。这里我们同样采用功率谱法对全息多光阱的刚度进行分析。为获得更加真实的光阱刚度,这里我们对功率谱分析进行一个简要的分析。被谐振势捕获的微粒的双边功率谱 S_{xx} 是频率 f 的函数,满足洛伦兹线型

$$S_{xx}(f) = \frac{k_B T}{2\gamma\pi^2(f_c^2 + f^2)} \quad (3.5)$$

其中 k_B 是波尔兹曼常数, T 是绝对温度。事实上,位移的探测是在有限的采集时间 W 内完成的,对于相机则是图像的采集时间,这样在积分时间内的像模糊将会影响采集到的功率谱。所采集到的功率谱实际上是经过一个低通滤波窗函数的作用^[149]

$$U(f, W) = \int_{-W/2}^{W/2} \frac{1}{W} \cos(-2\pi ft) dt = \frac{\sin(f\pi W)}{f\pi W} \quad (3.6)$$

这样所采集到的功率谱^[148]为

$$S_{blur}(f) = S_{xx}(f) \times \left(\frac{\sin(f\pi W)}{f\pi W} \right)^2 \quad (3.7)$$

有限的数据采集带宽会导致功率谱 S 的混叠。取 Nyquist 频率为采样频率的一半,即 $f_{Nyq} = 0.5 \times f_s$, 得到

$$S_{alias}(f) = \sum_{n=-\infty}^{n=\infty} S(f + 2nf_{Nyq}) \quad (3.8)$$

任何粒子定位技术都有内禀误差。假设误差不依赖于频率 f , 方差为 ε^2 的误差将使得功率谱增加 $\varepsilon^2/2f_{Nyq}$ 。考虑像模糊,混叠和定位误差,测量得到的双边功率谱密度函数可以表示为

$$S_{meas}(f) = \sum_{n=-\infty}^{n=\infty} S_{blur}(f + 2nf_{Nyq}) + \frac{\varepsilon^2}{2f_{Nyq}} \quad (3.9)$$

图 3.11 中对各种情况下的功率谱进行一个比较,其中 $f_c = 20\text{Hz}$, 对应 298K 时 $2\mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球的刚度为 $4\text{pN}/\mu\text{m}$ 。曝光时间为全息光镊实验中采用的典型值 10ms。

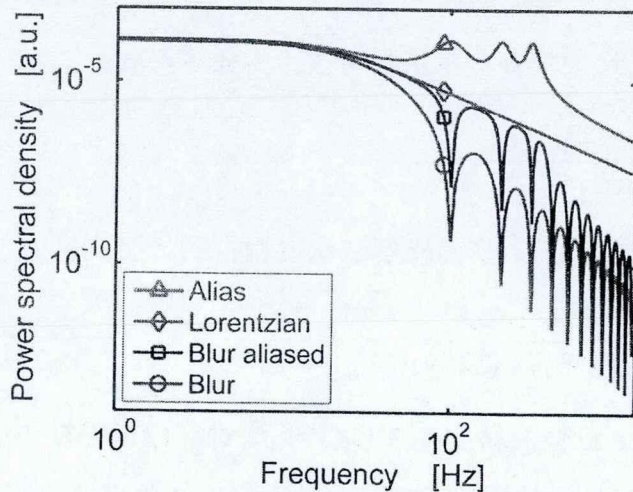


图 3.11 理想功率谱、混叠、像模糊等功率谱比较

通常对光阱刚度的测量是用洛伦兹线型去拟合实验测量得到的功率谱曲线。由功率谱函数可以拟合得到 γ 和 f_c ，光阱刚度 $k=2\pi\gamma f_c$ 。正确认识混叠以及像模糊对功率谱曲线的影响，一方面可以在做功率谱曲线拟合时避开形变较大的区域；另一方面可以通过上述规律对测量后的刚度进行校正。

3.5.4 能量均分原理

在全息光镊中，还可以采用能量均分原理对光阱的刚度进行分析。从方法的角度，能量均分原理和功率谱都来自 Langevin 方程，因而结果也是一致的，通常据此对两种方法进行相互验证。我们采用的快速相机事实上只有 100fps，曝光时间在 ms 量级，这会导致相机的采集带宽较低，使能量均分原理测量的结果偏离真实结果较大。这是因为曝光^[150]时间较大时，会导致像模糊，进而影响测量的刚度。无量纲的参量 α 表示曝光时间相对于光阱驰豫时间的比例 $\tau=\gamma/k$ ，如下式

$$\alpha \equiv \frac{W}{\tau} \tag{3.10}$$

典型地，在温度为 303K 时，对 $3\mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球在 $10\text{pN}/\mu\text{m}$ 的光阱中， $\tau=\gamma/k_0=(6\pi\eta a)/k_0=2.5\text{ms}$ ，其中粘滞系数 η 取 $0.894 \times 10^{-3}\text{kg}/\text{m}\cdot\text{s}$ 。注意 α 还可以利用 Einstein 关系 $\gamma=k_B T/D$ 通过扩散系数 D 表示成 $\alpha = W D k / (k_B T)$ 。方差可以写成

$$\text{Var}(X_m) = \text{Var}(X) S(\alpha) \tag{3.11}$$

上式中 $S(\alpha)$ 是像模糊校正函数

$$S(\alpha) = \frac{2}{\alpha} - \frac{2}{\alpha^2} (1 - \exp(-\alpha)) \quad (3.12)$$

由 Padé 近似, 运动模糊校正函数可以写为如下形式

$$S(\alpha) \approx \frac{1 - 2\alpha/15 + \alpha^2/60}{1 + \alpha/5} \quad (3.13)$$

将上式带入公式(3.11), 容易求解二次方程得到光阱刚度 k

$$k \approx \frac{30k_B T}{2DW + 15 \text{var}(X_m) + [225 \text{var}(X_m)^2 + 240DW \text{var}(X_m) - 11D^2W^2]^{1/2}} \quad (3.14)$$

当 $\alpha < 3$ 时, Padé 近似的精度在 3% 以内, 这对应像模糊校正因子 $S(3) \approx 0.46$ 。这表明, 如果没校正的能量均分原理给出的刚度在 2 倍真实刚度的范围内, 而根据 Wong 等人的数值模拟^[150], 近似公式给出的刚度在 3% 之内。

实验中常取的曝光时间为 10ms, 此时 $\alpha = 10\text{ms}/2.5\text{ms} = 4 > 3$ 上述公式的近似条件不能满足, 因而需要用严格的求解方法。由能量均分原理 $k = k_B T / \text{Var}(X)$, 可以求出测量得到的刚度 k_{mea} 和实际刚度 k 间满足如下关系

$$k = k_{\text{mea}} \left\{ \frac{2\gamma}{kW} - \frac{2\gamma^2}{k^2W^2} [1 - \exp(-\frac{kW}{\gamma})] \right\}^2 \quad (3.15)$$

将通过能量均分原理测量得到的刚度带入上式, 并求解非线性方程即可得出光阱修正后的实际刚度。

3.6 全息光镊的应用

全息光镊在向应用领域深入的过程中, 需要解决一系列问题, 既有光镊技术本身的, 如算法的优化、数据的高性能处理等, 也有应用方面的, 如多个胶体粒子相互作用的测量, 细胞的多维度旋转和操控等。这里我们通过几个例子来说明, 全息光镊在技术本身以及应用角度有哪些相关的工作可做, 并通过这几个例子帮助人们更加深入了解全息光镊, 尤其是全息光镊在哪些领域可以有发挥作用的余地, 让更多的人了解并最终使用全息光镊。

3.6.1 采用高性能计算机对阵列光镊的刚度进行并行标定

全息光镊的应用过程中, 需要对多光阱的刚度以及精度进行并行快速标定

[151]。一个难点在于传统的基于位置敏感探测器(PSD)对单光镊进行标定的方法在多光镊场合并不适用。多光镊的标定需要采用一种能够同时给出每个光阱中粒子运动信息的方法,目前只有快速相机可以达到。本节拟通过采用快速 CMOS 相机对阵列四光阱进行快速标定来给出阵列光镊标定的一般方法。实验中,我们通过 LabView 程序利用棱镜透镜(GL, Gratings and Lens)算法生成全息四光镊的相位片,并通过计算机显示卡实时加载在液晶空间光调制器上。采用快速 CMOS 相机对被捕获的四个直径约为 $2\mu\text{m}$ 大小的聚苯乙烯小球的录像进行采集。相机的采样频率为 100fps。实验后将 tiff 格式存储的录像上传到中国科学技术大学超性能计算中心的曙光 CB60-G 刀片集群服务器上,通过并行计算程序处理实验录像,得到小球的运动位置信息如图 3.12 所示。

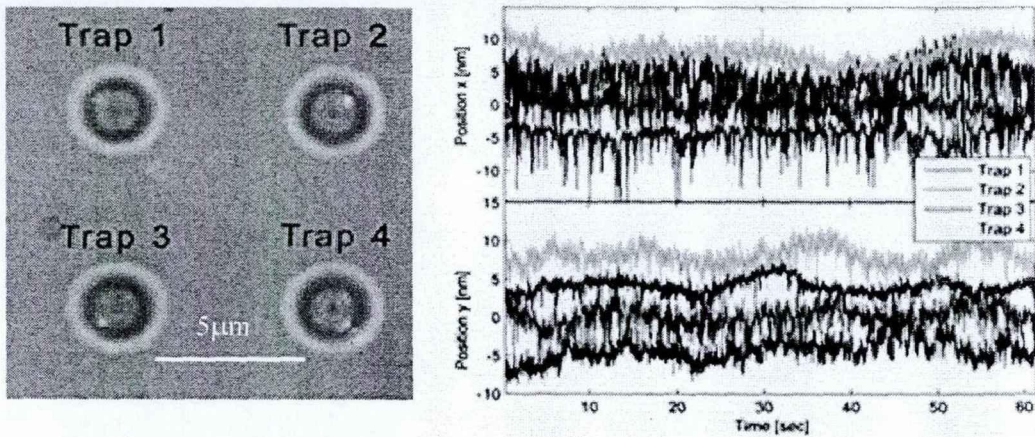


图 3.12 并行标定后阵列四光阱中粒子运动的位置信号

图 3.13 为对应的每个光阱中小球运动的功率谱信号,对功率谱信号进行洛伦兹拟合,可以得到每个光阱中小球运动的拐点频率(corner frequency) f_c 。图 3.13 中四个光阱的拐点频率分别为 3.18Hz, 4.39Hz, 3.58Hz, 4.74Hz。再通过 $k=2\pi f_c$ 就可以求出每个光阱的刚度。图中标出的数字为对应的刚度数值,分别为 $0.15\text{pN}/\mu\text{m}$, $0.21\text{pN}/\mu\text{m}$, $0.17\text{pN}/\mu\text{m}$, $0.22\text{pN}/\mu\text{m}$, 这表明在全息光镊系统中光阱的刚度比较低。此外每个光阱的探测精度为 $0.7\text{nm}/\text{Hz}^{1/2}$, $0.5\text{nm}/\text{Hz}^{1/2}$, $1.1\text{nm}/\text{Hz}^{1/2}$, $0.4\text{nm}/\text{Hz}^{1/2}$, 这个数字受相机探测精度的制约。采用相机探测粒子的位移,其进度在亚像素量级,对于我们的系统,相机靶面每个像元对应显微镜下实际距离为 65nm ,亚像素量级在 6nm 左右,由此可见,我们采用功率谱法做阵列光阱的并行标定已经具有较好的探测精度。

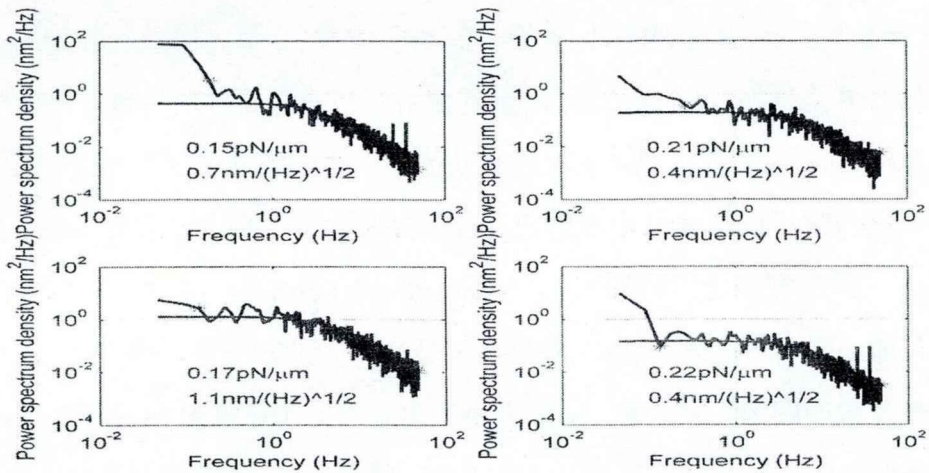


图 3.13 并行标定后阵列四光阱的功率谱曲线以及洛伦兹拟合后的光阱刚度

为验证并行算法的优越性，数据处理过程中，我们对并行计算和串行计算的耗时进行了比较，结果如图 3.14 所示。并行算法和串行算法的耗时均随着图像帧数的增加呈现指数增长的趋势。通过指数拟合，可得两种算法耗时随图像帧数变化关系为 $t_{\text{par}} = -13.6 + 26.3 \exp(0.00018n)$ 和 $t_{\text{series}} = -64.6 + 61.9 \exp(0.00019n)$ 。

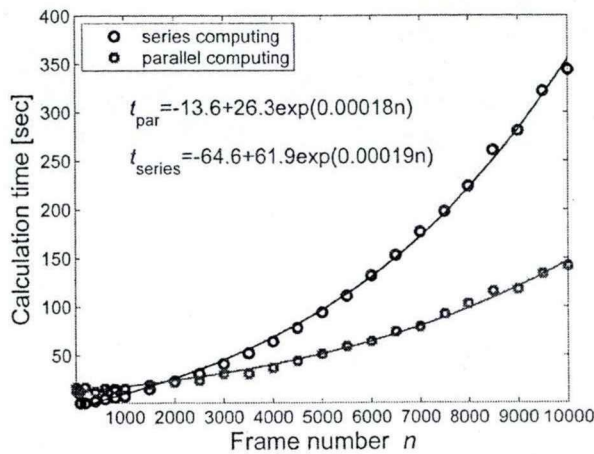


图 3.14 并行标定和串行标定耗时比较

由图 3.14 的结果不难发现，在 2000 帧以下，并行计算时间比串行时间要长。这是由于在并行计算时，计算机在分配任务到每个计算单元时需要耗时，而在串行计算中计算机不存在在多个 CPU 之间传输数据。当计算帧数大于 2000 帧时，和串行计算比较，并行计算具有明显的优势。由图易见，当计算帧数为 10000 帧时，串行计算需要 344s，而并行计算只需 142s，串行计算耗时约是并行耗时的 2.4 倍。理论上，如果不考虑数据在多个 CPU 间分配的耗时，对阵列四光阱的刚

度标定,并行计算的速度是串行计算的4倍。根据预测,这在53000帧时将达到理论预测的极限。

高性能计算在全息光镊的标定方面具有较明显的优势,因而,并行计算的引入必将推动人们解决全息光镊在走向应用过程中所带来的数据处理量大的难题。

3.6.2 酵母细胞在涡旋光阱中的旋转速率和扭力矩

在实际应用中,往往需要根据实际需要来选择合适的旋转速率和旋转扭力矩等参数。对全息涡旋光阱影响捕获粒子的旋转速率的因素较多,如激光功率,离底高度,涡旋光的拓扑荷等。由于全息涡旋光镊对粒子的旋转是基于粒子对涡旋光的吸收特性,这里为简化起见,我们研究单个酵母细胞的旋转速度等随激光功率、离底高度以及拓扑荷的变化关系。

实验中采用的激光功率在显微镜入口处约为600mW。CMOS相机的曝光时间设为10ms,以每秒钟50帧的速率采集1000帧图像并保存。图像经后续计算机处理,图3.15为单个酵母细胞的捕获录像序列和相关的分析结果。图3.15(a)中相邻两幅图像的间隔为200ms。

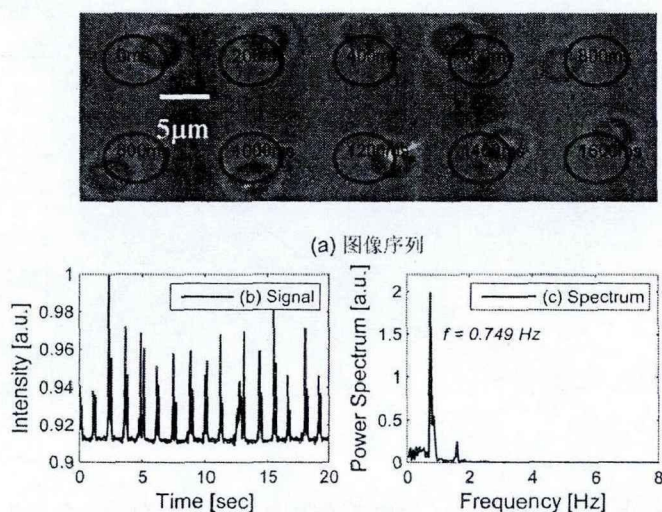


图 3.15 涡旋光束旋转直径约为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞实验结果

(a) 图像序列 (b) 图像中某区域的时序信号 (c) 信号的功率谱

对所采集的1000帧录像中的某个区域的信号进行分析。信号随时间的变化关系如图3.15(b)所示,图3.15(c)显示的是信号对应的功率谱,由功率谱可以发现,在0.749Hz处出现一个较强的峰,这个峰对应的频率就是酵母细胞在光阱中

旋转的频率。值得注意的是，和圆偏振光引起双折射粒子旋转^[152]不同的是，具有轨道角动量的光束引起的旋转是绕着光束的中心做公转，而双折射粒子在光阱中的旋转多为绕着自身的某个轴做自转。轨道角动量引起的旋转是因为粒子对光束的吸收，对细胞类粒子，其主要成份为水、糖类和蛋白质等，对光的吸收能力较弱，因而转动速度不如双折射粒子在圆偏振下旋转的快。

首先我们研究了激光功率对旋转角速度的影响。采用一对格兰-泰勒棱镜(购自曲阜师范大学)改变涡旋光场的激光功率，在不同的格兰-泰勒棱镜对透振方向的夹角下，用激光功率计测出显微镜共轭点处的激光功率，通过对二者关系曲线进行拟合给出标定曲线。再测量不同夹角下酵母细胞在涡旋光阱中旋转角速度，通过功率的标定曲线就可以得到不同功率下的旋转角速度，如图 3.16 所示。对角速度-功率曲线进行二次型拟合得， $\omega=0.0002P^2-0.0021P+2.079(\text{rad/sec})$ 。二次项系数远小于一次项系数的绝对值，可见，二者近似呈线性关系。这表明激光功率越大，酵母细胞单位时间内吸收的光子数越多，涡旋光束传递给酵母细胞的轨道角动量越大，其旋转角速度就会越大。

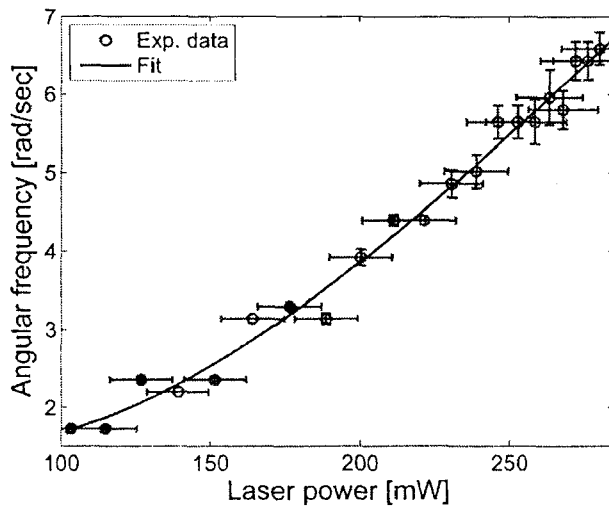


图 3.16 直径约为 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞旋转角速度随激光功率的变化关系

为测量酵母细胞在涡旋光阱中的所受到的转矩，我们先测量不同拓扑荷下涡旋光束光斑半径。拓扑荷从 10 到 100，生成每逢 5 的倍数拓扑荷的涡旋光束，每个拓扑荷的涡旋相位片投射到空间光调制器上时，调节显微镜物镜的位置使得激光光斑最清晰。测量多组最清晰时光斑的直径，在求出其平均值。测量得到的不同拓扑荷下激光光斑的半径如图 3.17(a)所示。对半径和拓扑荷的关系分别做线

性拟合和二次曲线拟合,发现二次曲线拟合和实验数据符合较好。二次曲线拟合的结果为 $b(\mu\text{m})=-0.0002l^2+0.1024l-0.1662$ 。由于二次项的绝对值远小于一次项,因而半径随拓扑荷近似呈线性关系,这一结果与 Grier 等报道吻合较好。

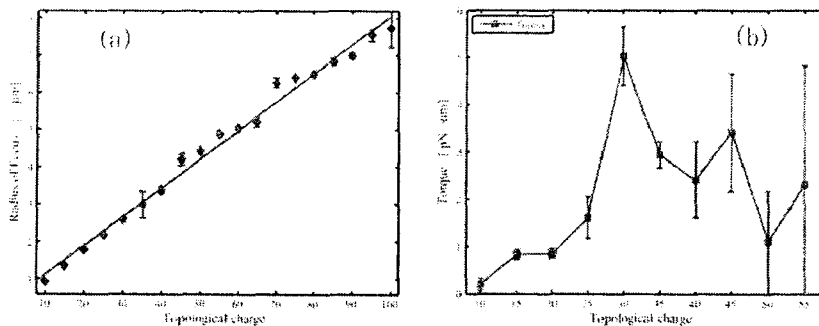


图 3.17 (a)涡旋光束半径随拓扑荷的变化关系; (b)拓扑荷对酵母细胞旋转力矩的影响

接着测量直径约 $6\mu\text{m}$ 的酵母细胞在不同的涡旋光场中旋转速度。对拓扑荷较小的涡旋光,细胞在其中做自转,粘滞阻力力矩可通过 $\tau=-8\pi\eta r^3\omega$ 来求得,其中 η 为水的粘滞系数, r 为酵母细胞的半径。实验温度为 25°C , 水的粘滞系数为 $0.894\times 10^{-3}\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$, 细胞的平均半径为 $2.6\mu\text{m}$, 可估算出对图 3.15 所示的情况,阻力矩约为 $1.8\text{pN}\cdot\mu\text{m}$ 。当涡旋光的拓扑荷较大时,酵母细胞将不再做自转,其运动轨迹为绕着涡旋光束强度较大的区域做公转,我们推导细胞所受的旋转阻力矩为 $\tau=-6\pi\eta r\omega b^2$ 。其中 r 和 b 分别为酵母细胞以及涡旋光束的半径。这样我们就可以测量酵母细胞在不同拓扑荷的涡旋光阱中所受到的转矩大小。图 3.17(b) 为离底高度约 $8\mu\text{m}$, 显微镜入口处激光功率约为 400mW 时酵母细胞转矩随涡旋光束拓扑荷的变化关系。由图不难发现,当拓扑荷小于 30 时,酵母的转矩随拓扑荷的增大而增大,这是由于随着拓扑荷的增大,光子的角动量增大,导致转矩增加;当拓扑荷大于 30 时,由于涡旋光束的半径增大,激光的功率密度减少,细胞上实际接收到的光子数减少,因而转矩会变小。同时由于拓扑荷较大时光镊捕获细胞的稳定性变差,经图像分析后转矩的误差变大。

3.6.3 纳米碟的并行操控

纳米碟片在量子信息和量子计算,生物医学工程等领域具有广泛的应用,如何人工诱导组装成一定的规则结构则具有重要的研究价值。本节介绍我们自行制

备并表征的 ZrP 纳米碟在全息阵列光镊下的人工诱导排布实验结果。详细的纳米碟片的制备方法可以在文献中找到^[153]。我们采用第二种制备方法，即水热法制备 α -ZrP 纳米碟。实验中磷酸的浓度分别取 6M、8M 和 10M，三组样品分别记为 ZrP(6M)、ZrP(8M) 和 ZrP(10M)。X 射线结果在日本玛珂公司的 MXPAAHF 型 18kW 转靶 X 射线衍射仪上测定。通过 X 射线衍射测定三种样品的晶体结构，得到 X 射线衍射图如图 3.18(a)所示，通过与标准的 PDF 数据比较可以测得三个样品的化学式和对应的分子量为 $\text{Zr}(\text{HPO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (301g/mol), $\text{Zr}(\text{HPO}_4) \cdot (\text{H}_2\text{O})_{0.5}$ (292g/mol) 和 $\text{H}_2\text{ZrP}_2\text{O}_8$ (283g/mol)。图 3.18(b)为三种样品在可见光和近红外波段的圆二色谱。通过圆二色谱的结果可以发现，在 600nm~900nm 波段范围，三种纳米碟都显示有手性；在 400nm~600nm 波段，三种纳米碟对左旋圆偏振光和右旋圆偏振光的吸收接近相等。我们还采用扫描电子显微镜对三种纳米碟的形貌进行观察，图 3.18(c)为 ZrP(6M)在扫描电子显微镜下的成像结果。进一步分析表明，所制备的纳米碟的直径在 500nm，厚度在 70nm 左右。

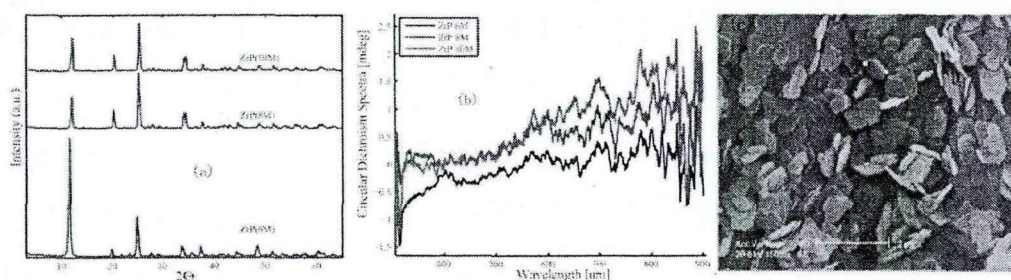


图 3.18 ZrP 纳米碟表征结果，(a)ZrP(6M)、ZrP(8M)和 ZrP(10M)纳米碟的 X 射线衍射结果图；(b)为纳米碟在可见光和近红外波段的圆二色谱；(c)为 ZrP(6M)在 SEM 下的成像。

在全息光镊设备上，先采用单个光镊对每组样品进行捕获实验，将纳米碟分散到水中，稀释到适当浓度，使得显微镜视场中只有少数的纳米粒子出现。用激光光镊捕获一个粒子，并在水平和垂直方向上移动电动平台，被捕获的粒子位置不发生变化，这表明光镊能够捕获所制备的纳米碟。实验结果表面，对所制备的三种纳米碟，都可以采用光镊进行捕获。图 3.19(a~d)给出单光镊捕获 ZrP(6M)纳米碟后水平方向移动电动平台的录像序列图；图 3.19(e~h)为单光镊捕获 ZrP(6M)纳米碟后垂直方向移动电动平台的录像序列图。进一步，我们采用液晶空间光调制器加载相位片生成具有不同光阱距离的阵列四光阱对 ZrP 纳米碟进行捕获，实验结果如图 3.19(i~l)所示。

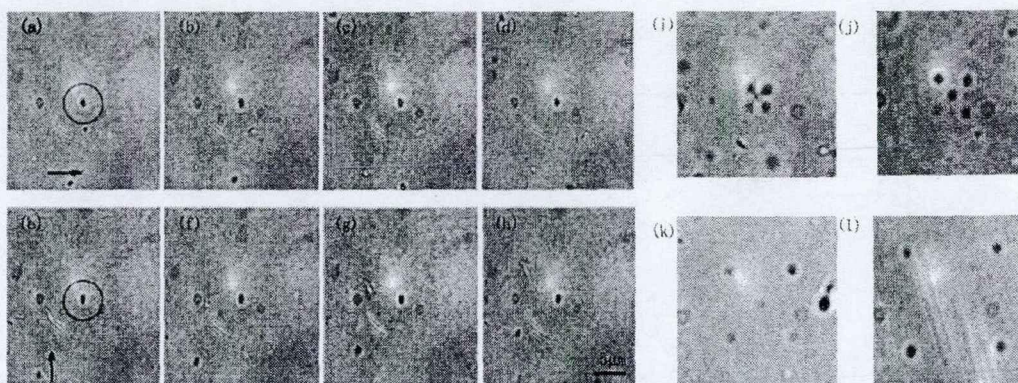


图 3.19 全息光镊操控 ZrP 纳米碟实验结果, (a~d)为单光镊捕获一个纳米碟后, 电动平台带动样品池做水平移动时拍摄的录像; (e~h)为平台沿垂直方向上移动所拍摄到的录像, (i~l)为阵列四光镊操控四个纳米碟的示意图, 对应的光阱的间距逐渐增大。

全息光镊可以捕获和操控纳米碟片的实验表明, 全息光镊在纳米材料的制备、组装以及可能的特性表征等方面具有潜在的应用价值。通过提高拍摄相机的速度还可以进一步研究多个纳米粒子的相互作用, 以及采用纳米粒子作为探针并行测量每个微区的流变学特性。全息光镊还可以用来捕获和操控不同形状的纳米粒子, 如 ZnO 纳米棒、碳纳米管等。

3.6.4 基于杂化光镊的软物质综合测量系统

光镊的基本原理是基于单光束梯度力光阱, 针对不同的应用需求, 出现不同的表现形式, 如时分复用光镊、阵列光镊、涡旋光镊以及单分子生物物理中比较常见的高精度激光双光镊等。每种形式都是具有其独特的地方且在某一个领域发挥重要的作用, 如高精度的激光双光镊以其噪声低等优点在单分子领域有着重要而广泛的应用; 阵列光镊在液相颗粒物的排布领域有特殊的优势; 而涡旋光镊在切向流变学中有广阔的前景。就传统的单光束梯度力光阱而言, 它能够提供微流体在很宽的频域范围内的损耗模量和存储模量等信息, 是传统的流变学仪所不能比拟的。

针对软物质测量的需求, 我们设计了一套具有全息阵列光镊和高精度激光光镊的杂化光镊装置^[154]。其特点是既能够做阵列光镊, 测量多个粒子相互作用以及多个微区流体的流变学特性, 也能够工作在高精度单光镊模式, 利用单个微纳米小球作为探针测量微流体的流变学参数。光镊技术在面向应用过程中会根据具体的应用对象的要求选择合适的性能并添加一些新功能, 如单分子荧光探测就需

要在时分复用光镊的基础上添加荧光显微镜。

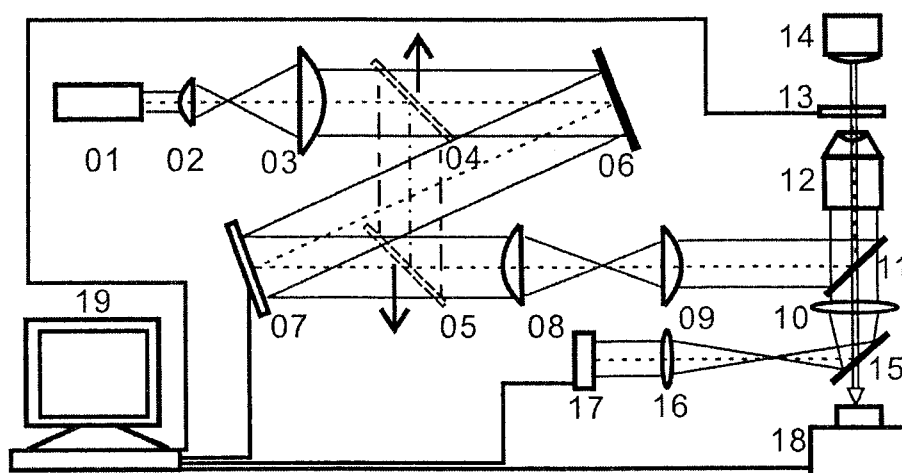


图 3.20 基于杂化光镊的软物质综合测量系统装置图

现有的光镊技术不能同时实现全息光镊和高精度的单光镊。我们所设计的基于杂化光镊的软物质综合测量系统如图 3.20 所示。本发明的一个重要的创新点就是采用一定的机械切换装置，在同一台设备上实现全息光镊和单光束梯度力光镊。在单光镊模式，我们参照美国德州大学奥斯丁分校研究组的设计^[31,32]，自行设计加工的光纤束和 Thorlabs 公司的快速光电二极管(PDB420A, 带宽 75MHz)来代替传统的四象限探测器或是位置敏感探测器系统。数据采集卡选用美国国家仪器公司的 PXIe-5122 双通道的数据采集卡，采集速率可达到 100MS/s。该装置能够满足光镊在软物质和复杂流体领域的各项应用参数的测量，如多个粒子的相互作用、复杂流体的宽频流变学参数等。此外，我们还通过自行设计加工的光路耦合件巧妙地避开成像通道的管镜将激光束耦合到商用的奥林巴斯显微镜中。

3.7 本章小结

本章介绍了我们自行搭建的全息光镊，通过一系列的实验和理论分析，比较详细地探讨了全息光镊应用过程中可能涉及到的研究方向。如液晶空间光调制器的使用和特性测量、阵列光镊的高性能快速标定、涡旋光镊在细胞生物学方面的应用、纳米材料以及软物质测量方面全息光镊可能存在的的应用前景等都有生动的描述。本章内容是博士期间的主要内容之一，所介绍的一系列生动的实例必将推进全息光镊向更深层次的应用。

第4章 时间调制光阱中粒子的动力学理论研究

光镊技术在关乎人类健康的领域,如纳米抗癌药物、血凝机理、食品安全等研究中为适应各种特殊需要逐渐演化成多种形式^[73]。在生物大分子如DNA、蛋白质等力学特性的测量中,相比其它技术如原子力显微镜或扫描隧道显微镜技术等,已经展现出不可替代的作用。随着生物大分子力学特性等研究的不断深入,对实验技术要求也越来越高,这又反过来促进人们去不断的开发出多种多样的新型光镊技术。时间调制光阱就是在这样的大背景下诞生的。它已经在染色体结构、蛋白质折叠等实验中发挥着重要的作用^[25]。

在统计物理学研究^[155, 156]中,分散在液相或气相环境中的微米或纳米级小球为统计物理学提供了一个很好的模型体系。利用可控深度的多势阱可以研究粒子在势阱间的跳跃几率,为进一步阐释统计物理学问题提供一个巧妙的手段。光镊技术还可以用来研究非平衡统计力学^[157],验证统计力学中的一些基本规律,如小尺度系统在小的时间尺度下违背热力学第二定律等^[158]。2010年,美国德克萨斯大学奥斯丁分校的研究者用对持的双光束光镊在真空中捕获玻璃小球,测量真空中玻璃小球的瞬时速度^[159],他们所测的速度和麦克斯韦-波尔兹曼分布吻合较好,打破了100年前爱因斯坦的预测,从实验上证实了能量均分原理适用于布朗粒子,这是统计物理中的一个最基本的具有突破性的实验,其中用了激光对捕获的微米粒子进行冷却^[160]。在二聚物-膜复合物流变学研究方面,2000年法国Louis Pasteur大学的Helfer等^[161]学者用时间调制光阱和单个粒子追踪技术在微米尺度测量这些人工结构的机械力学响应。这个用时分复用光阱的系统可以呈现丰富的二元共聚物的准二维粘弹特性。2008年,瑞士和德国的合作研究组^[162]用光镊来研究受限胶体扩散的各向异性记忆效应,2009年,测量了受限胶体运动速度的持续相关^[163]。2010年,巴西的研究者^[164]研究了周期势中布朗粒子的远足行走。2011年,德克萨斯大学研究者测量了液相中小球从弹道到扩散运动的过渡^[165]。这些工作依赖于正确对胶体颗粒分散在液相或汽相环境中布朗运动的分析。

时间调制光阱的典型代表是时分复用光阱(time-sharing optical tweezers)和振荡光镊^[69](oscillatory optical tweezers)。时分复用光镊可用来排布胶体粒子,拉伸

生物大分子等；而振荡光镊则在微流变学中独占鳌头，从微观单粒子层次测量流体局域的复弹性模量。早在1991年，日本的研究者^[166]就利用压电转镜实现时分复用光阱来排布并精细控制微小粒子的流动速度，他们将微观粒子排布成汉字“光”的字样。1999年，美国科罗拉多的研究人员^[67]采用压电转镜设计了一个扫描光镊，其原理也是采用时分复用技术。2008年台湾国立阳明大学的邱尔德教授研究组采用时分复用光阱拉伸双凹形的人血红细胞^[167]。2011年，英国剑桥大学卡文迪许实验室的研究人员用时分复用光阱研究脂质体囊泡网络的主动流变学特性^[138]。

2005年，美国纽约州立大学的 Daniel S. Kaputa 等^[66]人研究了时分复用光阱的捕获效率，稳定性等随光阱间停留时间、光阱数以及激光功率等的关系。印度的 Joykutty 等^[156]设计实验测量了参量激发下光阱的谐振频率，所采用的技术也基于时分复用光阱的。在运用时分复用光阱时，根据不同的需要，光阱的切换频率在几十 Hz 到几千 Hz 之间。如光阱切换频率为 12Hz^[166]，100Hz^[167]，1200Hz^[67] 和几千 Hz^[156]等。在时分复用光阱的特性以及相关的应用研究中，在几十赫兹到几千赫兹范围内，光阱的稳定性变化较大，时分复用光阱的切换频率怎样影响光阱的稳定性，文献中并没有相关的研究报道。

本章采用 Monte Carlo 技术对不同频率下的稳定性进行模拟研究，目的为人们认识时分复用光阱稳定性随光阱切换频率的变化关系提供一个参考。也为今后的时分复用光镊场合选择合适的光阱切换频率提供一个重要的理论依据。在振动光阱方面，我们研究了处于振动光阱中粒子的运动位移信号的功率谱，发现功率谱信号中在振动频率处出现一个谐振信号峰，进一步的研究发现该谐振峰的信噪比和光阱谐振的振幅呈正相关。此外，本章所采用的 Monte Carlo 方法是以 Langevin 方程为基础，不仅适用于各种新型调制光阱中粒子布朗运动的模拟，如全息阵列光镊，时间调制光镊等，还适用于几个纳米尺度的生物大分子在激光辐射压力作用下荧光相关谱的数值模拟^[168]，是研究单体或多体分散体系中粒子在时间或空间周期势^[164]作用下检验实验结果的一个重要的参考手段。

4.1 时分复用光阱中粒子的动力学描述

在传统的单光束梯度力光阱中，由于受到周围液体分子不断的撞击，被光阱

捕获的粒子并不是处在固定的位置,而是在一个平衡位置附近做微小的随机布朗运动,这个平衡位置就是光阱中心。被捕获小球在光阱中运动的微分方程可由 Langevin 方程描述。本节研究的时分复用光阱是一种新型的时间调制光阱,其中的小球运动规律也同样由 Langevin 方程来决定。所不同的是,时间调制光镊中光阱项随时间变化。

4.1.1 时分复用光阱简介

和全息光镊形成多光阱不同的是,时分复用多光阱是采用光束偏转元件,如声光调制器^[66]、压电转镜^[67]等实现光束偏转,通过计算机编程控制光束在不同的时刻沿着一个方向偏转到一个新的位置,并在此后的一定时间内再偏转回来,如此往复实现准静态的多光阱。若采用两个正交的偏转元件,即可实现在二维平面内扫描的二维多光阱。在要求不是很高的场合,还可以用一个直流电机带动平板玻璃在光路的汇聚处偏转激光来实现时分复用多光阱^[48, 169]。

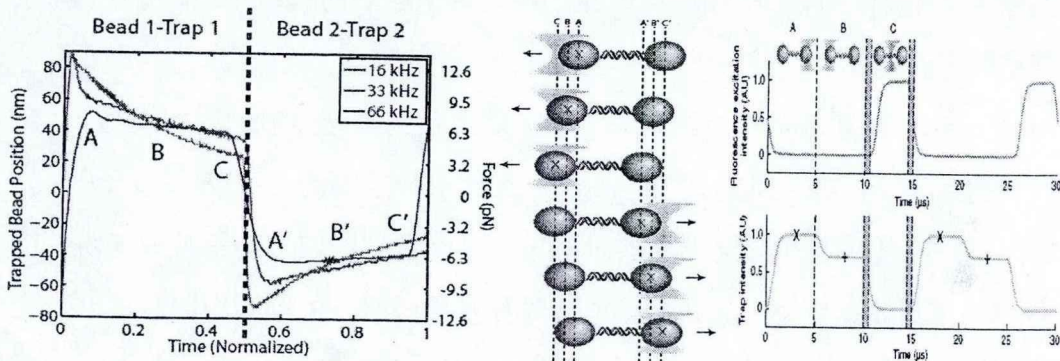


图 4.1 典型的基于时分复用双光阱和单分子荧光探测的超高精度双光阱示意图^[55]

2011 年,伊利诺伊大学(UIUC)的研究人员结合时分复用光镊和单分子荧光技术测量 DNA 链的结合几率等^[55],该成果发表在 Nature Methods 上。如图 4.1 所示,中间的图为时分复用光阱在拉伸双链 DNA 时,光束的工作位置动态示意图,左图为在不同的光阱切换频率下小球的位置稳定性示意图,右图为时分复用光阱和单分子荧光光束的时序分布示意图。从图 4.1 左图可以看出,当光阱的切换频率越大,小球在光阱中越稳定,但考虑单分子荧光探测等因素,光阱的切换频率又不可能无限地大,这就需要选择一个合适的光阱切换频率,即保证光阱的切换频率在现有的电子元件的工作范围能够探测单分子荧光,又要满足光阱的稳

定性需求。本章的工作主要围绕光阱的切换频率和光阱的稳定性而展开。

4.1.2 时分复用光阱中粒子的运动规律

在光镊中，激光和被捕获的粒子之间的相互作用可近似为一个简谐势。被捕获粒子的运动方程有 Langevin 方程描述^[170],

$$m\ddot{x}(t) + \gamma\dot{x}(t) + kx(t) = (2k_B T \gamma)^{1/2} \xi(t) \quad (4.1)$$

其中， k 是光阱的刚度， m 是小球的质量， $x(t)$ 是小球在 t 时刻的位置， γ 是液体的粘滞力， $k_B T$ 是热能， $\xi(t)$ 是满足下式的随机高斯过程，

$$\langle \xi(t) \rangle = 0 \quad (4.2a)$$

$$\langle \xi(t) \xi(t') \rangle = \delta(t - t') \quad (4.2b)$$

在不考虑样品池界面影响的情况下，粘滞力可由 Stokes' 定律给出，

$$f_{\text{fric}} = 6\pi\eta a v \quad (4.3)$$

其中， η 是液体的粘滞系数， v 是粒子在光阱中运动的瞬时速度， a 为被捕获的圆球形粒子的半径。

对某一个时分复用光阱而言，在一个周期内收到激光照射的时间设为 a ，激光移开的时间为 b ，则光阱的切换周期和占空比可分别写为 $T=a+b$ 和 $D=a/b$ ，如图 4.2 所示。激光在移开特定光阱的时间里，可以在别的位置重新形成光阱，待一个周期结束后，又重复上述过程。通过时分复用技术，可以利用同一束激光在多个位置形成准连续的光阱。

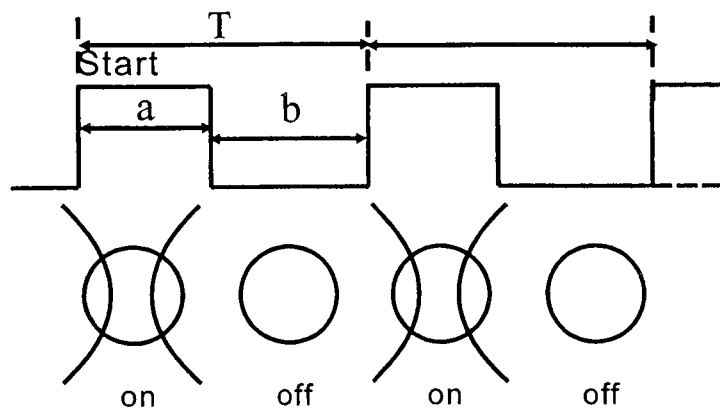


图 4.2 时分复用光阱工作示意图

图 4.2 中的时序图也可以用来反映光阱的瞬时刚度的变化。对于时分复用光

阱, 式(4.1)中的瞬时光阱刚度随时间变化关系可以表示成如下形式,

$$k = \begin{cases} k_0, & \text{laser on} \\ 0, & \text{laser off} \end{cases} \quad (4.4)$$

上式中, k_0 为激光连续照射某个位置时形成的光阱的瞬时刚度, 它由捕获平面上激光的分布和强度、粒子直径、粒子和周围介质的折射率等因素决定。对于式(4.1)描述的运动方程, 具有(4.4)表示的刚度, 通常不具有解析解。为求解运动方程, 这里采用傅里叶分析, 对(4.4)表达式进行傅里叶分解,

$$k(t) = \frac{k_0}{2} + \frac{2k_0}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{2n+1} \cos[(2n+1)\omega t] \quad (4.5)$$

考虑在水溶液中的聚苯乙烯小球体系为过阻尼体系, 方程(4.1)中第一项, 即惯性项可以忽略, 将式(4.5)带入式(4.1)中, 整理得^[170]

$$t_{\text{trap}} \frac{d}{dt} \langle x^2(t) \rangle + 2 \left\{ \frac{1}{2} + \frac{2}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{2n+1} \cos[(2n+1)\omega t] \right\} \langle x^2(t) \rangle = \frac{2k_B T}{k_0} \quad (4.6)$$

这里 $t_{\text{trap}} = \gamma/k_0 = 1.6\text{ms}$ 是粒子向光阱中心漂移的平均特征时间。为求解上述方程, 先对 $\langle x^2(t) \rangle$ 进行傅里叶展开,

$$\langle x^2(t) \rangle = \sum_{n=-\infty}^{\infty} e^{in\omega t} c_n \quad (4.7)$$

c_0 是时间的平均。将上述展开式带入式(4.6), 可得到一系列的差分方程组。展开系数 c_n 可以通过解差分方程组来求出。

事实上求解差分方程组(4.6)并非易事, 它是一个无穷多维的差分方程组。也就是说由 Langevin 方程描述的时分复用光阱中粒子的动力学问题是没有解析解的, 因此, 我们试图通过计算机数值模拟的办法来研究时分复用光阱中粒子以及所形成的等效光学势阱的物理特性。

4.2 时分复用光阱有效刚度的数值模拟

被时分复用光阱捕获的小球以及光阱系统, 小球的实时位置和速度等信息是这个系统的输入状态^[171]。探测器如四象限探测器或高速相机等对小球的位置信息的记录则属于这个系统对探测的响应, 即输出状态^[171]。本节拟打算利用离散化的运动差分方程, 对不同直径聚苯乙烯小球在不同占空比的时分复用光阱中输

入状态信息进行 Monte-Carlo 模拟，再通过数值方法模拟采样探测器记录系统的输出状态。通过对输出状态的分析，可以反演光阱的稳定性等物理特性。

4.2.1 实现算法

事实上，在用计算机对微分方程进行数值计算时，常将微分方程转化成计算机能够处理的差分方程形式。辅以一定的初始条件，计算机就可以根据差分方程一步一步给出差分方程的数值解。本节中需要对时分复用光阱中粒子的运动方程(4.1)进行相应的转化。时分复用光阱中粒子运动的微分方程可以写为如下的差分方程的形式，

$$\begin{cases} x_n = x_{n-1} + v_{n-1}\Delta t \\ v_n = v_{n-1} - kx_{n-1}\Delta t / m + \sqrt{12\pi k_B T \eta a \Delta t / m^2} \\ \quad \times \sqrt{-2\log(u)} \cos(2\pi v) - v_{n-1}(6\pi\eta a / m)\Delta t \end{cases} \quad (4.8)$$

其中，方程(4.1)中的惯性项在低雷诺系数情况下可以忽略，方程右边的随机力项由 Monte Carlo 算法来实现。其中 u 和 v 为在[0,1]之间均匀分布的随机数。其余变量的物理意义和第 4.1.2 节相同。模拟过程中，小球的初始位置在光阱中心，速度选取为零。对于时分复用光阱，其瞬时的刚度采用图 4.2 形式。

模拟中，液相环境的温度为 $T=298\text{K}$ ，水的粘滞系数 $\eta=0.894 \times 10^{-3}\text{kg/m}\cdot\text{s}$ 。聚苯乙烯小球的密度 $\rho=1.05 \times 10^3\text{kg/m}^3$ 。光阱处于开态时对应的瞬时光阱刚度为 $18\text{pN}/\mu\text{m}$ ，关态时光阱的瞬时刚度为零。数值计算时，差分方程中的时间步采用 10ns ，模拟探测器测量的积分时间选为 0.1ms ，总的测量时间为 1s 。这样，每组数据有 10000 个数据点。

对于连续激光形成的光阱，其刚度可以通过被束缚微粒在光阱中作受限布朗运动的噪声信号由能量均分原理来求得。对于时分复用光阱，其捕获粒子的稳定性，类似地可以定义如下的有效刚度，

$$k_{\text{eff}} = \frac{k_B T}{\langle x^2 \rangle} \quad (4.9)$$

将模拟得到的随机布朗运动的随机位移信号带入上式即可给出时分复用光阱的有效刚度。

4.2.2 模拟结果

对直径分别为 $2\ \mu\text{m}$ 和 $3\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球进行模拟。时分复用光阱的激光处于开态时的瞬时光阱刚度为 $18\text{pN}/\mu\text{m}$ 。光阱的切换频率在 $0\sim 4\text{kHz}$ 之间变化,模拟给出的光阱有效刚度随光阱切换频率的变化关系如图 4.3 所示。其中(a)图为 $2\ \mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球, (b)图为 $3\ \mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球, 图中的 D 标明占空比分别为 3:1, 1:1 和 1:3 情况下的结果。容易发现, 对捕获特定大小的小球, 如 $2\ \mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球, 在同一光阱切换频率下, 时分复用光阱的有效刚度随着光阱的占空比的增大而增大。

由 4.1.2 节的介绍, 时分复用光阱的有效刚度随光阱切换频率的变化关系没有一个解析的表达式。图 4.3(a)的插图给出占空比为 1:3 的时分复用光阱在较低的光阱切换频率范围内, 光阱的有效刚度随着光阱切换频率的变化关系。其结果表明, 在较低的频率范围, 如 100Hz 以下, 二者呈现较好的线性关系。

在较宽的频率范围内, 随着光阱切换频率的增大, 光阱的有效刚度逐渐趋于饱和值。为了给出一个经验的关系式来描述二者之间的关系, 我们采用 Box-Lucas 模型^[172]来对模拟的有效刚度数据进行拟合。

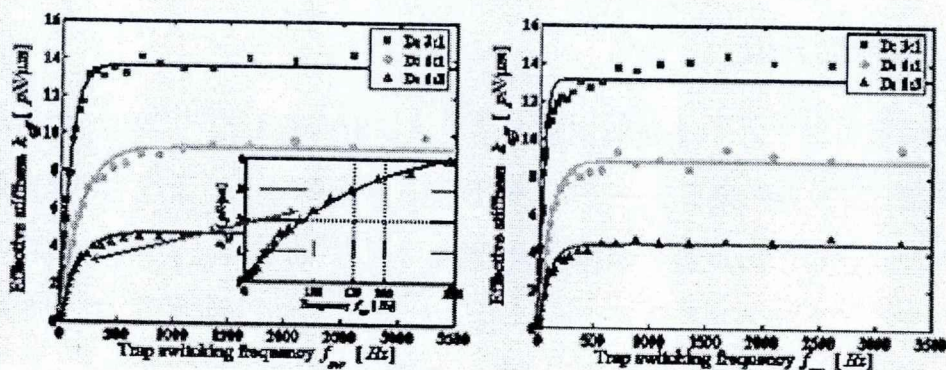


图 4.3 时分复用光阱有效刚度随光阱切换频率的变化关系 (a)直径为 $2\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球; (b)直径为 $3\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球

Box-Lucas 模型^[172]起初是用来描述连续化学反应的中间产物的。在我们的模型中它可以写为 $k_{\text{eff}}=k_0(1-\exp(-f_{\text{sw}}/f_{\text{ch}}))$ 。其中 k_0 和 f_{ch} 分别是稳定刚度和光阱切换的特征频率。对 $2\ \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯在占空比为 1:3 的时分复用光阱中的二值分别为 $k_0=(4.41\pm 0.06)(\text{pN}/\mu\text{m})$ 和 $f_{\text{ch}}=(95\pm 5)(\text{Hz})$ 。拟合的相关系数为 $R^2=0.9839$, 这表明所采用的模型能够较好地拟合有效刚度随光阱切换频率的变化关系。对不同占

空比的时分复用光阱, 聚苯乙烯小球采用 $2\mu\text{m}$ 和 $3\mu\text{m}$ 情况下, 时分复用光阱的 k_0 和 f_{ch} 值如表 4.1 所示。

表 4.1 时分复用光阱参数表

Diameter	$2\mu\text{m}$		$3\mu\text{m}$	
	k_0 ($\text{pN}/\mu\text{m}$)	f_{ch} (Hz)	k_0 ($\text{pN}/\mu\text{m}$)	f_{ch} (Hz)
Duty ratio				
3:1	13.65 ± 0.12	78 ± 3	13.14 ± 0.19	36 ± 2
1:1	9.30 ± 0.10	169 ± 7	8.82 ± 0.09	102 ± 4
1:3	4.74 ± 0.05	156 ± 6	4.41 ± 0.06	95 ± 5

由上述表格中的数据可以看出, 对 $2\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球, 光阱切换的特征频率随占空比的增大而减小; 对 $3\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球, 光阱切换的特征频率和占空比之间没有明显的递增或递减趋势。对 $2\mu\text{m}$ 和 $3\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球, 时分复用光阱的有效刚度的稳定值随占空比的增大而增大, 一个定性的解释是, 光阱的切换频率很高时, 光阱的有效刚度受制于激光的平均功率。占空比大的时分复用光镊, 每个光阱的平均功率大, 因而光阱有效刚度的稳定值偏大。

4.2.3 飞秒激光分析

本节的讨论限于在多个重复周期的情况下研究时分复用光阱中粒子捕获的稳定性问题。所采用的模型是一个简化的模型, 并没有考虑胶体粒子和界面等的相互作用, 胶体粒子间是否有链接物如 DNA 等^[173]。对于时分复用多光阱而言, 还存在多个粒子之间的相互作用^[45]以及粒子和界面的相互作用^[174], 这需进一步分析, 如时分复用双光阱中捕获的粒子间的碰撞^[77, 78]。当激光的脉冲重复率达到很高时, 单个脉冲作用于光阱的时间也变的很短, 这就是超短的脉冲情况。事实上, 超短脉冲光镊中使用的如飞秒激光^[175, 176]、超紫外(XUV)阿秒激光^[177, 178]等, 其中的粒子动力学行为是时分复用光镊的一个特殊情况。

对于飞秒激光光镊中粒子的动力学行为可以作同样的处理。由 4.2.2 节的讨论易见, 在高重复率的飞秒激光情况下, 典型的脉冲重复率为几十 MHz 量级^[179], 光阱的稳定性基本不随着脉冲的重复率以及脉冲宽度的变化而变化。这和圣·安德鲁斯大学的 Kishan 小组的实验结果相吻合^[180], 他们采用一个原位的脉冲压缩

系统, 得到脉冲持续时间为 12fs-500fs 的高重复率激光, 进一步捕获微米级的介电小球, 测量得到的光阱刚度没有差异。这个结论验证了我们的模拟结论在向飞秒高重复率激光推广时是正确的。

同时要注意的是, 对低重复率的飞秒脉冲激光, 光阱中粒子的稳定性和脉冲的重复率有关。脉冲的重复率越大, 每个光阱感受到的激光的平均功率也越大, 光阱的有效刚度较大; 反之若脉冲的重复率小, 光阱中承受的平均激光功率小, 光阱的有效刚度就随之减小。当脉冲的重复率很小时, 光阱甚至不能稳定俘获微纳粒子。

以上的分析是针对最常见的高斯光束展开的。对于更一般的情况, 光镊光源具有一定的空间强度或偏振分布, 如横向高阶模^[181]、拉盖尔-高斯光束^[47]、贝塞尔光^[141, 182, 183]、艾里光束^[184]、径向偏振光^[185, 186]等, 此时光阱中粒子所受梯度力并不是线性, 这中情况可以通过从头算^[187]的办法来计算被捕获的粒子在不同位置的受力, 再根据郎之万方程的离散形式计算小球在光阱中的布朗运动位置信号, 进而给出光阱的稳定性参数。

4.3 时分复用双光阱稳定性的实验研究

为了验证时分复用光阱有效刚度随光阱切换频率变化关系, 我们在钛宝石单光镊的基础上, 采用旋转玻片法实现了时分复用多光阱^[48]。光阱切换频率的改变通过改变旋转玻片的转速来实现, 采用快速 CMOS 相机动态记录处于时分复用双光阱中粒子的影像, 通过图像相关运算处理以及能量均分原理可以计算出在不同光阱切换频率下, 不同占空比时分复用光阱的有效刚度。之后, 在带荧光探测的高精度的激光双光镊上, 还采用声光衍射器件在较大的切换频率范围对光阱的有效刚度随切换频率变化关系进行研究。

4.3.1 旋转玻片时分复用双光镊实验装置

为实现时分复用多光阱, 我们设计加工了一个 8 孔的转盘, 其上的每个孔都可以独自地装载平板玻璃圆片。图 4.4 为在转盘的对称位置添加厚度均为 4mm 的 K9 玻璃圆片实现占空比分别为 3:1 和 1:3 的时分复用双光阱的示意图, 其中左上图, 对应转盘的工作状态图, 右上图为用所述装置实现的双光阱的示意图,

下图为激光在每个光阱位置时的时序图。

实验中,转盘由一台直流电机带动,并以一定的角度置入光路中。当加载有玻片的两个孔切换到光路中时,激光束发生偏转,光阱的位置偏移到 B 处并形成占空比为 1:3 的光阱;当玻片移开光路时,激光束将回到位置 A,在 A 处形成占空比为 3:1 的光阱。在直流电机的供电电路中,我们并联一个可调谐的变阻器,以通过改变加载在电机两端的电压来改变电机的转动速度。随着电机转动速度的不同,所产生的激光光阱的切换频率也会有变化,为实时监测光阱的切换频率,我们还采用一个薄玻片对激光束进行取样,通过示波器来监测激光的调制频率并换算成光阱的切换频率。有关倾斜玻片工作原理的详细介绍,如玻片厚度和倾角对光阱横向偏移量的影响等,可在文献^[48]中找到详细的论述,本节的目的在于用旋转玻片时分复用光阱来研究不同占空比下,光阱稳定性随光阱切换频率的变化关系。

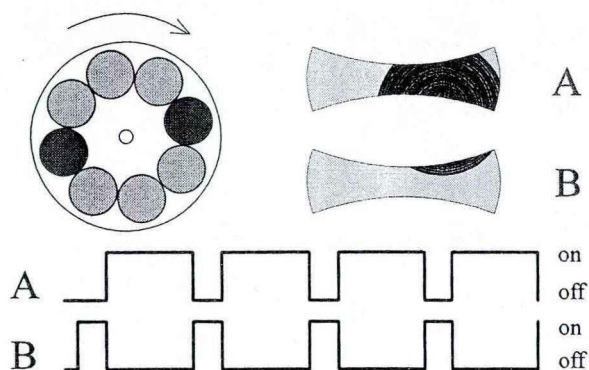


图 4.4 旋转玻片法实现时分复用双光阱。左上图为旋转玻片的示意图,由上图为生成光阱的示意图,下图为两个光阱的开关状态时序图

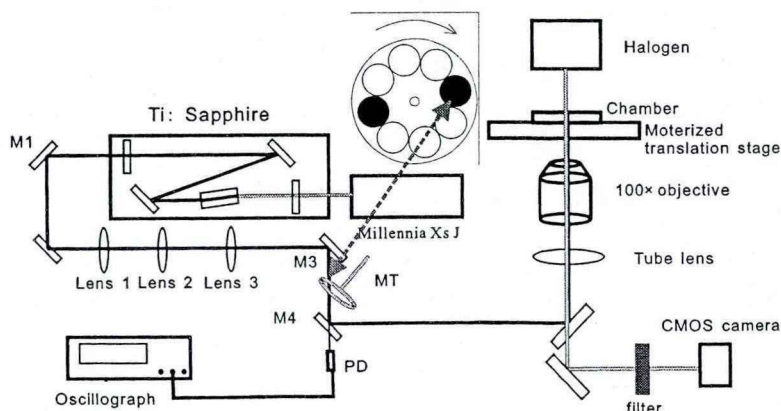


图 4.5 基于钛宝石激光器的旋转玻片法形成时分复用双光阱实验装置原理图

旋转玻片时分复用双光阱稳定性是在钛宝石单光镊^[45]的基础上测量的。光源

为腔内倍频的 YAG 泵浦的波长为 780nm 最大功率为 2W 的钛宝石激光器 (Spectra-Physics), 激光经扩束聚焦后, 进入显微镜(Olympus IX 70), 经显微镜的 100×物镜聚焦后形成光阱。在激光束进入显微镜前的汇聚处倾斜放置 8 孔的旋转转盘, 转盘通过直流电机带动发生旋转。其中转盘在对称的位置放上两个厚为 4mm 的平板 K9 玻璃圆片, 当玻璃圆片切换到光路中时, 经显微镜聚焦的激光焦点的位置发生平移形成新的光阱; 当玻璃原片离开光路时, 光阱位置又回到原先的地方。转盘的转速通过串联在电机电路中的电位器来连续改变。光阱的相对距离通过调整玻片的倾斜角在一定范围内连续改变^[48]。

在转盘的对称位置放置两个玻片后形成的双光阱的占空比分别为 3:1 和 1:3。对于双光阱, 若同时标定他们的稳定性, 需要采用快速相机拍摄他们的运动图像, 再经过图像处理给出位移信号序列。根据能量均分原理可以获得稳定性信息。实验中, 光阱的切换频率是通过测量激光经玻片调制后的脉冲波形来推算的。实验中, 我们采用一个硅光探测器置于反射镜 M4 后面, 实时监测激光脉冲, 通过示波器显示、处理并输出波形, 如图 4.6 所示。其中图 4.6(a)为示波器显示的连续激光经转盘斩波后的波形, 图 4.6(b)为对应的信号的傅里叶变换的结果。在示波器(DS05012A, Agilent)上可以实时显示频谱上的第一个峰的位置^[188], 即图 4.6(b)横坐标上的 F 标示的地方, 对应的频率为 323Hz, 考虑玻片的结构, 光阱切换频率应为 81Hz。

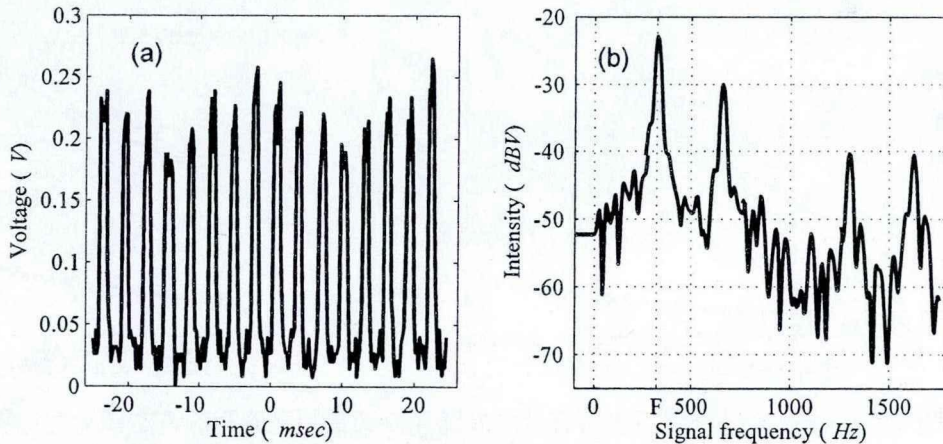


图 4.6 经偏转后的激光光阱中激光功率的时序图 and 对应频谱

转盘的转动是通过额定电压为 24V 的直流电机带动的, 其最大的转速可以达到 5000rpm。实际上, 考虑后面测量系统的限制以及转盘的高速旋转引起的震动, 实验中的光阱切换频率在 70Hz 以下。光阱切换频率的变化是通过接在电路

中的可变电阻器调节电机的转速来实现。转盘的倾斜角 42° ，对应所形成的时分复用双光阱中心的距离约为 $6\mu\text{m}$ 。

对单个粒子的定位，常用的方法是用四象限探测器，可以达到较高的采集速度。而对多个粒子的并行标定，需要采用快速的相机来实现。龚玺等^[149]的理论模拟表明，影响测量的是探测器的带宽或是积分时间，对相机而言就是曝光时间。光阱中小球的位置是通过快速 CMOS 相机(Falcon 1.4M100, Dalsa)来实现的。事实上，加拿大 Simon Fraser 大学的学者研究表明^[148]可以用高速相机在低采样带宽下用功率谱来标定光阱的刚度。考虑数据处理速度，我们这里拟采用能量均分原理来标定光阱的有效刚度。

通过观察显微镜中的显微标尺，可以标定高速相机中每个像元实际代表的空间尺度。实验中在奥林巴斯 IX-70 显微镜上，用数值孔径为 1.3 放大倍数为 100 倍的油浸物镜标定的结果为 $65\text{nm}/\text{pixel}$ 。改变光阱切换频率，拍摄 1000 幅两个小球在时分复用双光阱中运动的动态图像，再经相关算法处理得到每个小球的位置随时间的变化关系。由(4.9)式，可以求出每个光阱的有效刚度。改变电机转速，即可得到不同光阱切换频率下的数据。

4.3.2 时分复用双光镊有效刚度实验结果

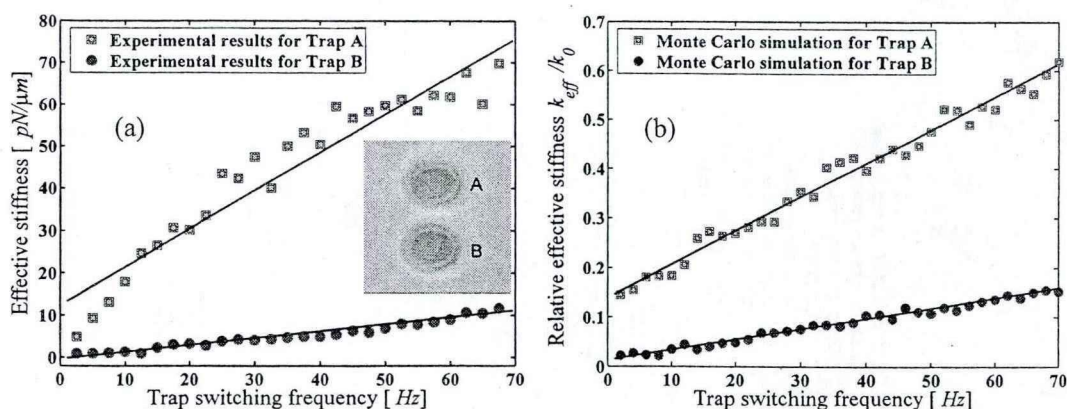


图 4.7 旋转玻片时分复用光阱有效刚度随光阱切换频率的影响，右图为对应频段的数值模拟结果

实验中自钛宝石激光器输出的波长为 780nm 的连续激光的功率为 260mW 。改变光阱的切换频率，光阱 A 和 B 的有效刚度随之变化，变化关系如图 4.7(a) 所示，其中的插图采集到的双光阱捕获两个 $3\mu\text{m}$ 聚苯乙烯小球的典型图片。

由实验结果可以看出,对占空比为 1:3 的时分复用光阱 B,其有效刚度随光阱切换频率的变化关系为较好的线性;而对占空比为 3:1 的光阱 A,其有效刚度随光阱切换频率的增大而增大,但不严格满足线性关系。

为对上述实验现象进行解释,我们又结合具体的实验参数,如温度、被捕获粒子的物理特性等对上述关系进行了模拟,模拟算法参见 4.2.1 节。模拟中采用的参数为:液相环境的温度为 $T=293\text{K}$,对应该温度下水的粘滞系数 $\eta=1.005\times 10^{-3}\text{kg/m}\cdot\text{s}$ 。聚苯乙烯小球的密度 $\rho=1.05\times 10^{-3}\text{kg/m}^3$ 。光阱开态时的瞬时光阱刚度为 $18\text{pN}/\mu\text{m}$,关态时光阱的瞬时刚度为零,差分方程中的时间步采用 10ns ,探测器测量每个点数据的积分时间选取 0.1ms ,总测量时间仍取 1s 。每组数据有 10000 个数据点。模拟的结果如图 4.7(b)所示,从模拟的结果来看,光阱有效刚度随光阱切换频率的变化,在实验所在的频率段应成良好的线性关系。这和光阱 B 的实验结果吻合较好,而对光阱 A 的实验结果却并没有真实反映二者之间在低频段所应满足的关系。其原因需要结合我们的装置本身以及测量系统等多种因素来分析。

4.3.3 旋转玻片法时分复用光阱稳定性分析

从图 4.7(b)的模拟结果可以看出,在实验测量的频域段,对 3:1 和 1:3 两种时分复用光阱,其有效刚度随光阱的切换频率的变化为很好的线性关系。而图 4.7(a)中的实验结果中,1:3 的光阱与理论模拟的结果吻合较好,3:1 的光阱二者关系看似是一条逐渐趋于饱和的曲线,和理论预测不完全符合。

在实验装置中,我们对 3:1 的光阱的分析是简化的模型,事实上,光阱经过相邻的没有玻片的窗口时,相邻窗口间的铝板会挡住一部分光,这一方面导致激光的切换频率加大,另一方面导致激光占据光阱的时间变短。但对实验中的 3:1 的光阱的分析又不能简单的认为是激光切换频率的加大或是占空比的缩短,而是二者同时作用的结果。为模型的简单起见,我们仍采用占空比为 3:1 这个数字,从实验拟合的结果来看,仍认为 3:1 的光阱的有效刚度随光阱切换频率的变化关系为线性,只是线性度不是特别的好。

旋转玻片法的不足之处是光阱的切换频率变化范围以及占空比的调节空间有限,以本节中的 8 孔转盘为例,若间隔装上四个同等厚度的玻片,电机转速达

到 4000rpm 时, 光阱的切换频率约为 267Hz。本节的实验装置中的光阱占空比仅有 3:1 和 1:3 两种。此外, 对二者尤其是占空比的改变不是很方便。一个改进办法是利用声光衍射器件或压电转镜, 通过计算机控制和 FPGA 编程等技术^[189]相结合可以实时动态地改变光阱的切换频率和占空比。在辅以适当的测试技术, 时分复用光阱在生物大分子力学特性的测量^[25]、胶体流变学以及细胞膜的流变学^[161]等领域将会大有作为。

4.3.4 宽频段有效刚度随切换频率的变化关系

旋转玻片法实验的时分复用光镊受电机转速的限制, 光阱的切换频率较低, 且随着电机转速的增大, 由此所产生的振动噪声也随之变大。采用声光调制器可以很快速地切换光阱的位置, 且切换速度可达几百 kHz。本节在高精度的激光双光镊上, 采用快速电子设备将一束光通过声光衍射器在时间上分成两束, 形成占空比相同的两个时分复用光阱, 捕获光的波长为 1064nm。采用 830nm 的半导体激光器所发出的激光作为探测光束, 探测光经偏振分束以后分别探测两个光阱中小球的布朗运动位移, 通过两个位置敏感探测器(PSD)来记录布朗运动信号。PSD 的采样频率为 80kHz, 经过功率谱分析可以得到每个光阱的有效刚度(图 4.8(a) 对应切换频率为 40kHz, 刚度为 0.109pN/nm)。实验测定的有效刚度随光阱采样频率的变化关系如图 4.8 所示。

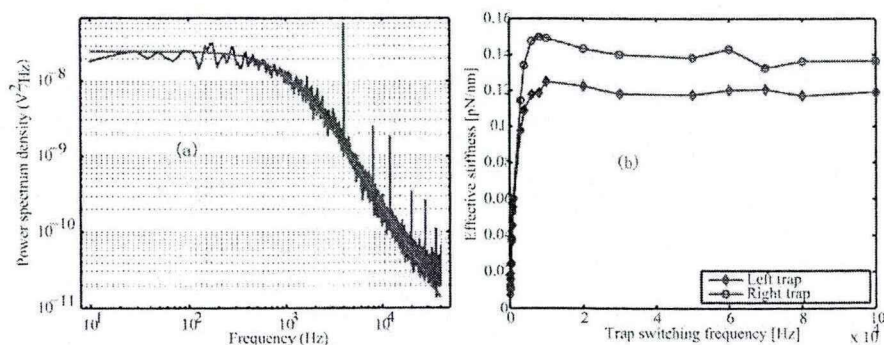


图 4.8 时分复用双光阱有效刚度随光阱切换频率的变化关系

比较上图的实验结果和之前的理论模拟结果可以发现, 实验和理论吻合很好。这表明, 一方面, 我们采用的理论模拟的方法是正确的, 可以借鉴用 Monte Carlo 模拟的办法来模拟相关的光镊中粒子动力学问题; 另一方面, 所采用的实

验方法正确,数据可靠,可以通过该实验方法实现的时分复用光阱做相关的单分子实验,如单分子荧光探测。

4.4 振荡光镊中胶体粒子的动力学模拟

作为时间调制光阱的一种特殊形式,振荡光阱在单分子生物物理以及胶体分散体系中也发挥着独特的作用^[52, 69, 167]。振荡光阱的主要特点是光阱的中心在以一定的角频率发生移动,这样导致被捕获的小球也随着作相应的移动,但随着光阱移动频率的变化,小球的移动相对与光阱中心的移动有一个延迟相位本节通过蒙特卡洛模拟对处于振荡光镊中的纳米粒子的动力学过程数值研究。

4.4.1 振荡光镊

振荡光镊(Oscillatory Optical Tweezers)的原理^[52, 69]如图 4.9 所示。和基本的单光束梯度力光阱相比,粒子在振荡光阱中同样受到周围液体的粘滞阻力,和激光束对粒子的梯度力和散射力,所不同的是,振荡光镊的光阱位置随时间发生余弦变化。

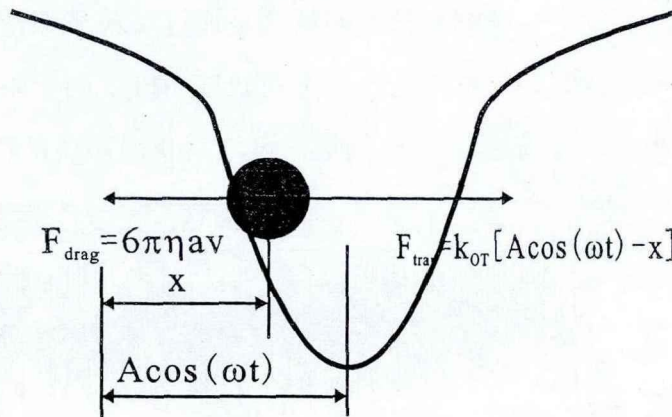


图 4.9 振荡光阱中粒子的受力分析

在 Langevin 方程式(4.1)中,在方程左侧的第三项中添加光阱中心振荡项,即可以得到粒子在振荡光阱中运动的动力学方程,

$$m\ddot{x}(t) + \gamma\dot{x}(t) + k_{OT}[x(t) - A\cos(\omega t)] = (2k_B T\gamma)^{1/2}\xi(t) \quad (1.10)$$

其中 $k_B = 1.38 \times 10^{-23} \text{ m}^2\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\text{K}^{-1}$ 为波尔兹曼常数,由 Stokes 定律可以写出摩擦系数为 $\gamma = 6\pi\eta R$ 。 k_{OT} 和 $k_{OT} x$ 分别是单光束梯度力光阱的刚度和粒子在其中

所受的光阱力。 A 和 ω 分别是光阱中心振荡的振幅和频率。其实单光镊的光阱刚度在一定范围内可以认为是线性的, 当粒子距离光阱中心较远时, 光阱的刚度随粒子离开光阱的距离的变化会发生非线性变化, 也就是说粒子距离光阱中心较远时, 光阱为一非谐势^[190], 其刚度 k_{OT} 也不是一个恒定的值。本节有关振荡光镊的讨论中, 光阱的振荡振幅取较小的值, 确保在振荡过程中, 粒子仍处于光阱的线性区。

4.4.2 模拟过程

和时分复用光阱^[50] 或跳跃光阱^[167]类似, 纳米粒子在振荡光阱中的运动状态可以通过粒子在光阱中的运动方程进行模拟, 将 Langevin 方程写成差分形式^[68],

$$\begin{cases} x_n = x_{n-1} + v_{n-1}\Delta t \\ v_n = v_{n-1} - k_{OT}[x_{n-1} - A\cos(\omega n\Delta t)]\Delta t / m + \sqrt{12\pi k_B T \eta a \Delta t / m^2} \\ \quad \times \sqrt{-2\log(u)} \cos(2\pi v) - v_{n-1}(6\pi \eta a / m)\Delta t \end{cases} \quad (4.11)$$

其中 n 表示时间步长的基数, x_n 和 v_n 分别表示小球在某时刻输入状态^[171]的位移和速度, u 和 v 是在(0,1)之间均匀分布的随机数^[50], k_{OT} 是对应单光束梯度力光阱的刚度。实际上, 对纳米粒子的研究是通过粒子系统的输出状态的观察和分析来实现的。实验上系统的输出状态是通过相机或四象限探测器对粒子位置进行测量来给出的。本文模拟实验测量的过程来获得系统的输出状态。

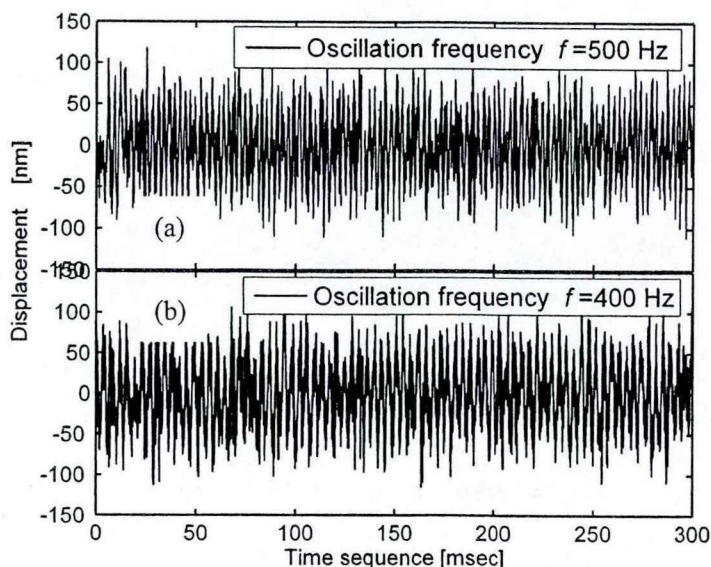


图 4.10 振荡光阱中半径为 100nm 的聚苯乙烯小球的布朗运动位移信号。
图中对应的光阱中心振荡频率分别为(a) 500Hz, (b) 400Hz

模拟过程中, 纳米粒子所处的液相环境温度选取 303 K, 液体的粘滞系数为 $0.8 \times 10^{-3} \text{ kg/m}\cdot\text{s}$ 。聚苯乙烯小球的密度为 $1.05 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ 。初始时刻, 小球的位置在光阱中心, 其速度设为零。本节的模拟中, 如无特别说明, 小球的半径采用 100nm, 光阱中心振荡的幅度为 50nm。图 4.10 为典型的两幅典型的布朗运动信号, 对应的光阱中心振荡频率为(a) 500 Hz 和(b) 400 Hz。

由上图易见, 振荡光阱中粒子的布朗运动信号和传统的单光束光镊中粒子的运动信号类似, 均为受限的布朗运动。为从布朗运动信号中获取诸如粒子随光阱中心运动信息, 我们对直径为 200nm 的聚苯乙烯小球在不同频率振荡的光阱中布朗运动信号进行模拟锁相放大处理; 为研究光阱中心振荡对小球布朗运动的影响, 又对信号进行了功率谱分析。

4.4.3 结果

在振荡光镊中, 由于光阱中心的位置在发生余弦振荡, 被捕获的纳米粒子在运动过程中, 势必会随着光阱中心的运动而相应地做余弦振荡。然而, 纳米粒子本身在光阱中作剧烈的受限布朗运动, 由光阱中心振荡引起的纳米粒子余弦振荡的信号被淹没在布朗运动中。为探测纳米粒子随光阱的振荡复位移, 需采用锁相放大器, 这里我们采用数值计算的办法模拟锁相放大器, 对模拟的受限布朗运动的信号进行处理。处理过程如图 4.11 所示, 其中右边的图为模拟锁相放大器处理的纳米粒子复位移的振幅和相位随光阱振荡频率的变化关系。由图可以看出在光阱振荡频率较小时相位的迟滞较小, 当光阱振荡频率很大时, 会产生半周期的延迟, 而且在高频部分纳米粒子的运动的振幅会变小。

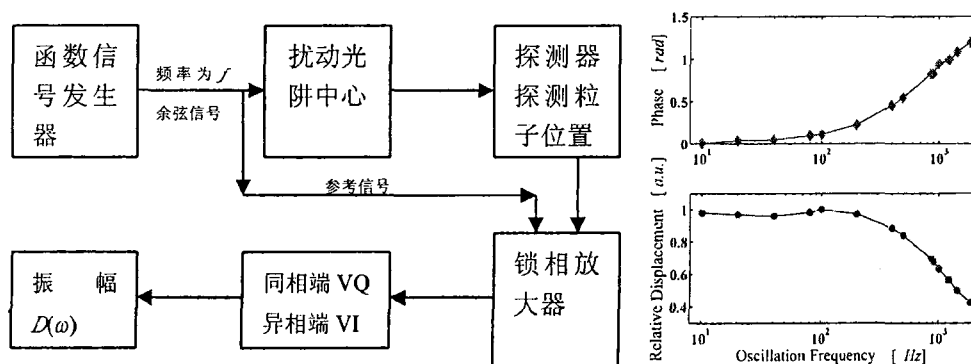


图 4.11 锁相放大测量振荡光阱中纳米粒子运动复位移原理图及结果

对振荡光阱中半径为 100nm 的聚苯乙烯小球模拟的光阱信号求解功率谱, 如图 4.12 中左图所示。图中三条功率谱曲线自下而上对应光阱中心的振荡频率分别为 400Hz、600Hz 和 1000Hz。在每条功率谱曲线上, 均出现一个尖峰。对出现尖峰位置的频率进行测量发现, 尖峰所在位置刚好为光阱中心振荡频率处。这并不是偶然的现象, 它反映了纳米粒子在振荡光阱中受限布朗运动与光阱的振荡发生谐振效应。这两者间的谐振导致粒子布朗运动的功率谱中, 在光阱振荡频率处产生一个谐振信号。

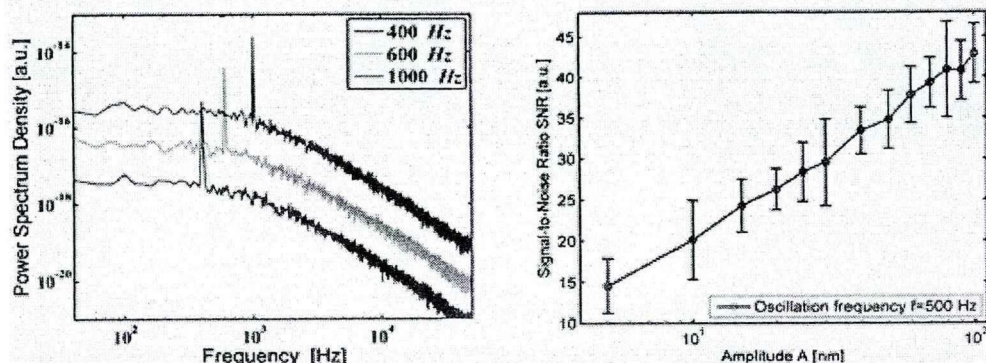


图 4.12 振荡光阱中纳米粒子布朗运动的功率谱。左图中三条功率谱曲线所对应的光阱中心振荡频率分别为 400Hz, 600Hz 和 1000Hz, 右图为信噪比随振荡幅度的变化关系

事实上, 纳米粒子在振荡光阱中布朗运动的功率谱图中的谐振峰的高度反映了谐振信号和布朗运动随机噪声信号之间的信噪比 SNR

$$\text{SNR} = 10 \lg \frac{S(\omega)}{S'(\omega)} \quad (4.12)$$

其中 $S'(\omega)$ 表示在光阱中心没有振荡情况下谐振频率 ω 处的功率谱密度, $S(\omega)$ 则为纳米粒子在振荡光阱中谐振频率 ω 处的功率谱密度。

在同一谐振频率下, 改变光阱中心振荡的幅度, 发现在一定的幅度范围内, 谐振信号的信噪比随振荡幅度的对数变化呈线性, 如图 4.12 中右图所示。

4.4.4 讨论与小结

根据 Wiener-Khintchine 定理, 涨落的功率谱可以定义为相关函数的傅里叶变换

$$\left| \text{fft}(\langle x(t)x(t+\tau) \rangle) \right|^2 = \frac{8\pi k_B T}{\gamma(\omega^2 + \omega_c^2)} + A\delta(\omega - \omega_0) + \dots \quad (4.13)$$

上式中略去了有关 A 的高阶项, 在 A 较小时, 处于振动势阱中的纳米粒子在光阱振荡过程中基本处于光阱的线性区, 这样在功率谱密度的谐振频率处会出现一个尖峰, 且尖峰的高度随光阱中心振荡幅度的增大而增大。

$$m\ddot{x}(t) + \gamma\dot{x}(t) + k_{OT}[x(t) - A\cos(\omega t)] = (2k_B T\gamma)^{1/2} \xi(t) \quad (4.14)$$

上式两端作傅里叶变换

$$\begin{aligned} m(j\omega)^2 X(\omega) + j\omega\gamma X(\omega) + k_{OT}X(\omega) \\ = (2k_B T\gamma)^{1/2} + k_{OT}A\pi[\delta(\omega - \omega_0) + \delta(\omega + \omega_0)] \end{aligned} \quad (4.15)$$

式(4.15)中 ω_0 为光阱中心的振荡圆频率, 即 Langevin 方程中的 ω 。上式中, 考虑 $\omega > 0$, 整理可得

$$X(\omega) = \frac{(2k_B T\gamma)^{1/2} + k_{OT}A\pi\delta(\omega - \omega_0)}{k_{OT} - m\omega^2 + j\omega\gamma} \quad (4.16)$$

式(4.16)两端取模方即可得功率谱

$$\begin{aligned} S(\omega) &= |X(\omega)|^2 \\ &= \frac{2k_B T\gamma + k_{OT}^2 A^2 \pi^2 \delta^2(\omega - \omega_0) + 2k_{OT} A \pi (2k_B T\gamma)^{1/2} \delta(\omega - \omega_0)}{(k_{OT} - m\omega^2)^2 + (\omega\gamma)^2} \end{aligned} \quad (4.17)$$

在 $\omega = \omega_0$ 处, 信号和噪声分别为

$$S = \frac{2k_B T\gamma + k_{OT}^2 A^2 \pi^2 + 2k_{OT} A \pi (2k_B T\gamma)^{1/2}}{(k_{OT} - m\omega_0^2)^2 + (\omega_0\gamma)^2} \quad (4.18)$$

$$N = \frac{2k_B T\gamma}{(k_{OT} - m\omega_0^2)^2 + (\omega_0\gamma)^2} \quad (4.19)$$

由信噪比的定义可得, 在 $\omega = \omega_0$ 处信噪比为

$$SNR = 10 \lg \left(\frac{S}{N} \right) = 10 \lg \left(\frac{2k_B T\gamma + k_{OT}^2 A^2 \pi^2 + 2k_{OT} A \pi (2k_B T\gamma)^{1/2}}{2k_B T\gamma} \right) \quad (4.20)$$

将模拟的参数带入上式, 数值计算易见, 谐振频率处信噪比和光阱中心振荡幅度的对数成正相关, 即 $SNR \sim \lg A$ 。这和模拟的结果吻合较好。

从振荡光阱中纳米小球运动位移信号的功率谱中共振频率处观察到谐振, 这是一个参量共振过程, 其潜在的意义是可以通过类似的方法检测系统中其他影响频率的参数的微小变化, 如被捕获微粒的折射率、形状和质量以及周围液体的粘滞系数、温度, 光阱的刚度等^[156]。

4.5 本章小结

本章工作主要围绕新型调制光阱稳定性的研究而展开的, 该项目得到 2009 年度中国科学技术大学研究生创新研究基金的支持。项目的内容主要有两个方面: 理论方面, 我们通过 Monte Carlo 模拟计算了微纳米粒子在新型调制光阱, 如时分复用光阱、振荡光镊等作用下的受限布朗运动信号, 并对结果进行分析; 实验方面, 我们研究了不同占空比的时分复用双光阱在不同光阱切换频率下的有效刚度, 并对实验结果进行了详细的解释。

实验上常用的测量光阱中小球布朗运动的探测器^[191]是四象限探测器和 CCD (或高速 CMOS) 相机, 对于时分复用多光阱的并行标定, 只能用高速的 CMOS 相机。当光阱切换频率达到数千赫兹后 (典型值按 2000Hz 算), 根据采样定理, 位移信号的采集频率至少要大于两倍的光阱切换频率 (典型值按 4000Hz)。对于时分复用多光阱, 需要采用基于快速相机的并行标定技术, 而目前的商业 CMOS 高速摄影相机, 在满幅时采集率只能达到 1000 帧每秒, 不足以真实记录在时分复用光阱作用下的小球的布朗运动信号。虽然在缩小采集图像范围的情况下能有限地提高相机每秒钟采集的图像帧数, 但曝光时间实际上是没有缩短的, 仍满足不了记录高频布朗运动信号的需求, 且在缩小图像范围限制了记录光阱的个数。在提高相机帧速的同时还会带来诸如设备庞大, 价格昂贵等问题。

就现有的实验技术手段, 在几十赫兹到几千赫兹范围内测量出时分复用光阱的有效刚度是不现实的。计算机模拟则不受相机采样率的限制, 原则上可以计算出任意大小切换频率下时分复用光阱的有效刚度。计算机模拟是探索自然规律的一个很好的工具。纯理论难以以一个清晰的图景描述一些复杂的现象, 如本章中的有效刚度随光阱切换频率的变化关系。而实验往往由于许多主客观条件的限制, 不能实现或多次重复实现, 如原子弹爆炸等, 计算机模拟则是一个寻找和优化实验条件, 探索变量之间规律较好的方法。

本章研究工作的意义在于, 充分了解各种新型调制光阱本身的物理特性, 为进一步利用这些新兴技术在生物大分子力学特性测量、生物物理现象的微观阐释, 非平衡统计力学研究以及微纳流变学在粒子层次的研究中提供一把利剑。同时也为各种杂化光镊技术的研究, 以及选取合适的光镊技术来推进交叉学科的发展提供一定的技术支撑。

第5章 高精度激光双光镊与单分子生物物理应用

随着技术的发展,人们已经能够对生物大分子进行静态的单分子成像,如成像原子力显微镜和冷冻电镜能够清晰地分辨出染色质纤维中的核小体个数,共振拉曼等可以测量蛋白质的构象变化等。受上述实验手段的限制,单分子的动态信息往往被掩盖,很难被生物学家发现。在生命科学越来越精细化的今天,除了需要对单分子进行高精度的成像以外,人们更迫切需要有能够对单分子的动力学特性进行同时测量和表征的手段。

传统的高精度激光光镊测量一维受力和伸长信息^[192, 193],不能够对单分子进行可视化。采用单分子荧光技术又很难将马达蛋白的构象态和步进运动联系起来。在复杂的蛋白质折叠过程中,还需要对 DNA 凝聚中的构象变化和协同蛋白的可视化结合^[194]。这些需要结合单分子荧光和高精度激光光镊,也是国际上单分子生物物理发展的一个最新趋势。如组蛋白和 DNA 复合物结构方面,常见的粗快方法可以解析 Holliday 结识别蛋白的结构^[195],但这些基于结晶的粗快手段所需样品量大,得到的是一个系综的静态实验结果。在单分子层次研究急需高精度的激光光镊来剖析核小体中组蛋白和 DNA 相互作用的机理^[196]。

美国一些主流实验室在单分子生物物理研究中已经做过一系列非常杰出的工作,如 ATP 水解过程中,解旋酶-DNA 复合物的结构跃迁研究需要在单分子层次对 DNA 伸长量进行纳米级的定位^[197]、单分子层次理解分子伴侣的协同性^[198]、噬菌体 DNA 组装纳米马达^[199]、染色质结构^[200],蛋白质折叠^[74],分子间构象动力学变化的单分子研究^[193],RNA 发卡结构的折叠动力学研究^[5],ATP 诱导的解旋酶滑动研究^[201],单个 Myosin 分子纳米尺度步进运动以及皮米力的测量^[202],外核酶解聚 DNA 的机理^[203]等。

国内光镊仪器多停留在如何研究光阱的捕获力、捕获效率等研究层面,在胶体相互作用测量等对探测精度要求不是很高的场合有较多的研究^[45, 76],有少量报道在微观蛋白结合力测量上采用光镊技术^[204]。国外单分子生物物理研究所使用的多是实验室自己组装的高精度光镊仪器,如 Michelle Wang 组^[205],耶鲁大学张永力组^[206, 207],UIUC 的 T Ha 组^[55, 192],很少有使用商品化的光镊在单分子领域

做出杰出成果的报道。

事实上,单分子生物物理实验的特点对实验技术提出很高的挑战,如何在长时间保证光镊系统的稳定性,又如何持续地保持高精度的测量,这些都依赖于光镊系统的高精度、高集成化和高稳定性。本章将主要围绕国际学术界顶级高精度激光光镊的搭建而展开,并通过不同抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响来展示高精度光镊在单分子生物物理领域如何应用。

5.1 新型高精度激光双光镊的研究背景

在耶鲁大学细胞生物学系张永力教授实验室已经有一台基于加州伯克利分校 Carlos Bustamante 实验室最新光镊设计的高精度激光双光镊系统^[208]。该系统精度在一个碱基对(base pair, 1bp=0.34nm),它在染色体重组、蛋白质折叠、蛋白质和 DNA 相互作用等相关实验中表现的很出色^[74, 196, 207]。在单分子生物物理实验中,需要在测量单分子机械力学特性的同时,检测单分子如 DNA 发卡在动态变化过程中的荧光变化和成像情况,进一步揭示单分子动态过程的机理;同时为了更精确地测量发卡结构变化的大小,需要添加恒力反馈装置来实现恒力光镊。为此,我们拟搭建新型带荧光探测的高精度激光双光镊。这个光镊系统的主要特点有,共聚焦显微单分子荧光探测,包括宽场或共聚焦单分子荧光成像和共聚焦单分子荧光计数,恒力光镊以及变力光镊等。

5.1.1 恒力实验

在被动操控模式,激光光镊的位移信号并不能直接反应生物大分子的轮廓长度的变化。为得到轮廓长度的变化,需要对位移信号进行一系列的弹性修正^[54]。Steven Block 等报道了一种在非线性区工作的光阱,可以直接测量出单分子折叠过程中的轮廓长度变化^[54]。这个技术的关键是在双光阱中将一个光阱的刚度减弱,在光阱的非线性区约有大于 50nm 的范围内,力保持恒定,其变化范围小于 5%。

5.1.2 单分子荧光成像和共聚焦荧光相关谱

光镊技术在单分子生物物理研究中,多数情况下是不需要看到单个分子的。

由于光学衍射极限的限制,在传统的光镊实验中并没有采集单分子的影像。事实上可以通过荧光标记,让某个单分子发出微弱的荧光,或通过添加小的荧光分子,让这些荧光分子吸附在特定的单个分子上进行可视化。通过这些荧光信息,可以感触分子间的动态变化信息,如结合几率。在结合光镊技术就可以测量出在不同的负载力的作用下,分子间的结合几率,结合位点等信息。进一步可以计算出不同力作用下势能面的变化信息。

5.1.3 单分子荧光

激光光镊在测量蛋白质折叠态、马达蛋白步进运动等方面具有探测精度高等优势^[5, 10, 20],而常见的单分子荧光技术,如单分子荧光定位(SML, single molecule localization)^[209-211]、单分子荧光共振能量转移(smFRET)等又能够对单分子进行荧光成像定位^[212]。许多单分子问题,如马达构象态和步进运动如何联系,核小体折叠动态过程中某个特定单体如何运动^[200],需要将这些技术结合起来才能够给出比较客观的答案。在小RNA(microRNA)折叠的单分子实验中^[213],也需要结合高精度的激光光镊和单分子荧光技术,在测量折叠动态过程的同时还可以看到某个特定位置的动态变化。正是这些新应用需求的推动,我们设计的新光镊上添加单分子荧光等功能^[206]。单分子荧光技术的一个重要的标准是在荧光通道上能够准确地区分一个荧光分子所发荧光。

5.2 高精度激光光镊系统介绍

耶鲁大学高精度激光双光镊在地下室搭建,所采用的地基由地底通过混凝土等浇筑而成。室内采用声学隔振、机械隔离等措施降低噪声水平,并采取一系列有效措施消除仪器噪声,如固定光纤、降低风扇噪音的影响等。

5.2.1 光路原理

带荧光探测的高精度激光双光镊原理图如图 5.1 所示。1064nm 激光作为捕获光,经偏振分束后,其中一束经声光衍射器(AOD)调制,合束后经望远镜系统 T1 扩束,再由偏振分束分成两束,其中的一束加入压电转镜。AOD 主要用来实现恒力光镊和单分子荧光测量。探测光采用 830nm 的激光器经光学变换后与捕

获光重叠。光路中加星号的地方互为共轭面。单分子荧光采用 532nm 的激光经一定的几何变换以后耦合到显微镜物镜。两路捕获光、两路探测光以及荧光激发光经调节后在进入显微镜物镜前光束中心重合。荧光信号经第一个物镜搜集及一系列光路系统转换后由增强型相机(EMCCD)或者雪崩光电二极管(APD)采集。宽场荧光成像模式下 EMCCD 工作, 单分子荧光探测模式下 APD 工作。

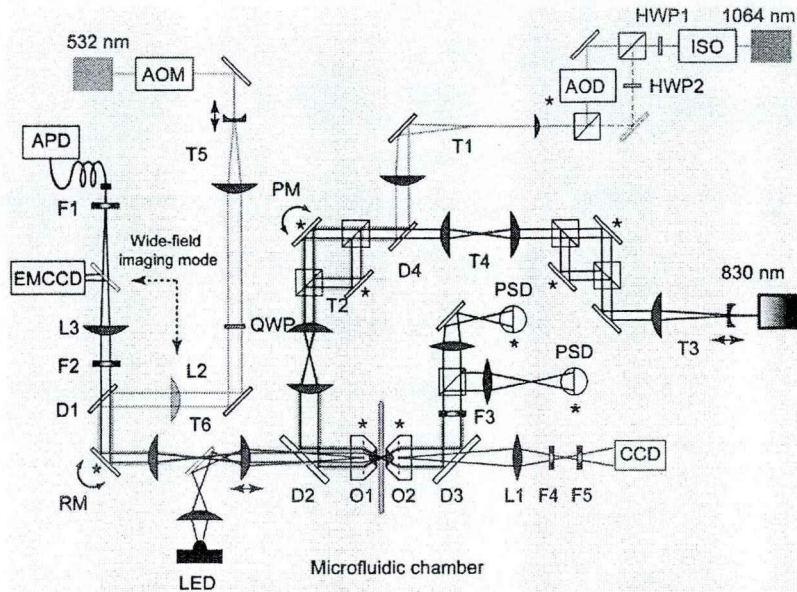


图 5.1 带荧光探测的高精度激光双光镊原理图^[206]

5.2.2 位置探测和图像标定

高精度激光双光镊采用两个位置敏感探测器(PSD, Position Sensitive Detector, Pacific Silicon Sensor Corp. DL400-7PCBA)分别对每个光镊中微球的位移进行探测。PSD 的理论噪声在 $15\text{nV}/(\text{Hz})^{1/2}$, -3db 带宽为 200kHz, 足够探测单分子动力学过程。实际的位移探测精度典型地可达到 $0.08\text{nm}/(\text{Hz})^{1/2}$ 。

在高精度的激光双光镊中, 光阱的移动量是通过转镜的角度来控制的, 因而需要对这一关系进行标定。在实验过程中还可以通过声光调制器对固定光阱的位置进行微调, 因而需要标定光阱位移随声光调制器中射频频率的变化关系。这些都是通过图像标定来实现的。

5.2.3 样品池和微流道设计

在单分子生物物理实验中, 我们采用微流道样品池, 有效地防止实验过程中

闲杂粒子的干扰, 确保能够对单个生物大分子的动态信号进行长时间的采集。实验中, 两种具有不同表面修饰的微米小球从不同的通道流过, 经几十微米的毛细管流入主通道。这个设计的好处可以很方便地区分不同的小球。主通道流入实验用的缓冲液, 最常见的如 PBS 缓冲液。根据实验需要还可以添加另外一个毛细管通道给主通道送入特定的分子, 如蛋白质, 或 ATP 等。改变蛋白质或 ATP 的浓度就可以研究浓度对单分子个体行为的影响。

5.2.4 精度标定

在单分子生物物理实验中, 如蛋白质折叠、蛋白质-DNA 相互作用以及分子马达动力学研究, 采用双光镊的一个最基本的实验就是需要形成系链(tether)。因而光镊的控制精度需要通过系链来标定, 这也是衡量光镊的一个很重要的指标。光镊的控制精度主要由控制系链拉伸的压电转镜的精度以及压电转镜后望远镜和显微镜物镜的指标给出。在我们的系统中, 压电转镜的精度可以达到亚埃量级, 但由于小球在光镊中布朗运动的影响, 光镊的控制精度要比这个量级大约一个量级, 达到一个碱基对长度的精度(base pair)(1bp=0.34nm)。

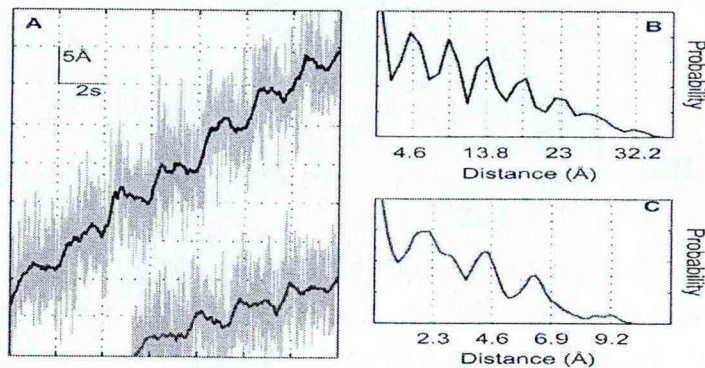


图 5.2 高精度激光双光镊精度测试结果^[206] (A)为 DNA 长度的随时间变化关系, 上面曲线为步长为 2bp 的结果, 下面曲线为 1bp 步长的结果; (B)为 2bp 步长的成对比较统计图; (C)为 1bp 步长的成对比较统计图

图 5.2(A)中两曲线分别为测量步长分别为 2bp 和 1bp 增大的结果。(B)和(C)的成对比较统计图表明光镊系统可以清晰分辨 2bp 和 1bp 位移变化。由于 DNA 柔性的缘故, 图中两峰之间的实际间隔略小于 2bp 和 1bp。

5.2.5 恒力区的标定

在高精度的激光双光镊中,我们采用与 Steven Block 教授组类似的方法实现恒力光钳^[54]。其基本的原理是将双光镊的一个光阱的刚度调节到约是原来的约1/5(对900nm的聚苯乙烯小球约降低到强光阱的1/3,这个数字和Block组报道的一致),另外一个光阱的刚度不变,两个光阱的刚度分别约为 $\sim 0.04\text{pN/nm}$, $\sim 0.2\text{pN/nm}$ 。这样在拉伸系链的时候,就可以将弱光阱中的聚苯乙烯小球拉出光阱的线性区,在离光阱中心约0.55个小球半径附近^[54],有一段恒力的区域,在这段区域,小球的位置变化但受力保持恒定,而此时由于受力恒定,在强光阱中的小球在光阱中的相对位置基本保持恒定。这样就可以实现主动的全光学的力钳,其优点是没有采用反馈电路,不存在反馈带宽的影响。在反馈模式中,由于采用压电转镜或是压电平台来控制,往往会受到控制回路的磁滞效应的影响,导致测量不准确。

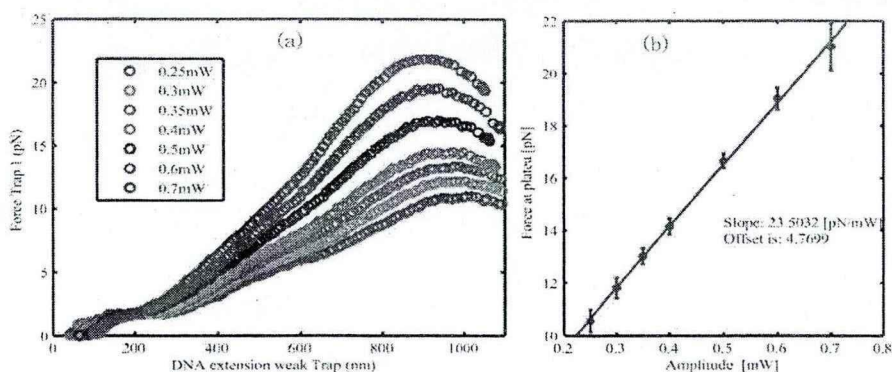


图5.3弱阱中微球受力与小球位置的变化关系。(a)自下而上对应弱阱中的激光功率增大,可以发现在线性区边缘有一段接近平台的区域;(b)图(a)中平台上的力随激光功率的变换关系,结果表明平台上的力的大小跟激光功率成正比。

实验中,改变一个光阱中激光的功率使之成为较弱的光阱,增大双光阱之间的间距,将小球拉出弱光阱的线性区。在弱阱线性区边缘出现一个平台,该平台上力的大小波动范围约在5%以内,如图5.3(a)所示。改变弱光阱的激光功率,线性区边缘平台上的力也随之增大。对平台上力的大小与激光相对功率的变化关系进行标定,结果如图5.3(b)所示。由结果容易发现,通过改变弱阱中激光的功率可以有效地增加恒力光阱力的大小。

5.3 抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响

DNA 和 RNA 是自然界基因密码的最基本的建筑单元^[1, 214]。单链 DNA 和 RNA 中往往会有互补的碱基段^[213]，这个互补的碱基段可以相互配对形成一个主干部分，互补段之间的部分由于没有配对形成一个环，这样的结构称为 DNA 或 RNA 发卡^[2, 37, 215]。基本的 DNA 发卡是由一个环和两段互补的碱基对形成的主干部分组成，复杂的发卡结构可能包含多个环和主干部分(riboswitch)^[213]。DNA 发卡的动力学研究是光镊研究单分子的一个基本的实验，通过采集 DNA 折叠过程中 DNA 链的伸长信号，可以计算出折叠过程中所需要的能量以及折叠态和去折叠态之间的伸长量变化，它是研究发卡、蛋白质折叠动力学以及蛋白质 DNA 相互作用的基础。加州伯克利分校的 Carlos Bustamante 组最先对 RNA 发卡在力的作用下的折叠/去折叠动力学进行研究^[1]，我国理论物理研究所的欧阳钟灿教授研究组^[216]随后对 Carlos 组所研究的 RNA 折叠动力学从理论上进行了 Monte Carlo 模拟，得到与 Carlos 组实验吻合很好的结果，得到国际同行的广泛认可。通过激光双光镊，很容易测量出发卡结构的折叠动力学信息以及折叠过程中能量的势景图(Energy landscape)，并且可以通过加载不同大小的力来对势景图进行调控^[215]。本节工作一方面检验新的光镊系统的性能，另一方面研究不同的抑制剂对 DNA 折叠动力学的影响。

5.3.1 DNA 发卡实验原理

Block 组的 Woodside 等曾对不同主干长度、不同环长度、不同 GC 碱基的比例且具有随机主干序列的一系列 DNA 发卡的折叠/去折叠动力学进行过详细的研究^[214]。我们实验中采用的为 20R55/T4 发卡，如图 5.4 左图所示，其中 20 表示主干上的碱基对数，R 表示随机序列，55 表示发卡中 GC 碱基的比例为 55%，T4 为发卡环上的序列。DNA 发卡结构 20R55/T4 的完整序列为：TTTGAGTCAACGTCTGGATCCTGTTTTTCAGGATCCAGACGTTGACTCTT。自然状态，DNA 发卡处于图 5.4 左图所示的折叠态 $|f\rangle$ ，加载一个较高的力后发卡处于图 5.4 右上图的去折叠态 $|u\rangle$ 。我们设计一系列长度和位置不同的寡聚物小分子抑制剂，它们可以和 DNA 发卡上不同的位置的碱基互补配对，当有抑制剂分子与发卡结合后处于钳态 $|c\rangle$ (clamped state)。其中 DNA 发卡处于折叠态的末端距

为 5.9nm, 处于完全打开时对应的轮廓长度为 32.5nm, 若有小分子抑制剂结合到 DNA 单链上, 末端距变为 $(32.5-0.31n)$ nm, 其中 n 为小分子抑制剂的碱基数目。利用高精度的双光镊可以测量 DNA 发卡的伸长量以及受力大小, 进而可以给出各个态之间转变的动力学信息以及势垒的高度。

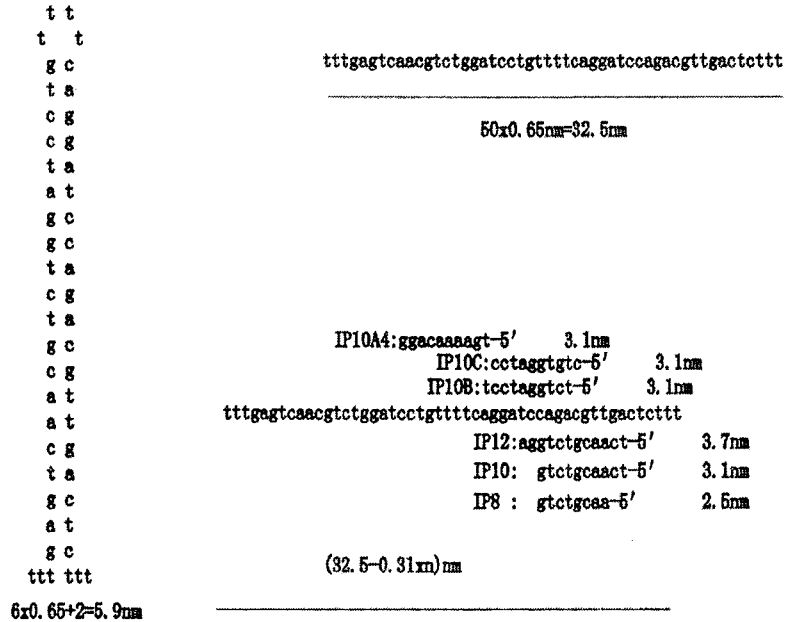


图 5.4 DNA 发卡 20R55/T4 三态跃迁示意图

抑制剂序列: IP12(3'-AGGTCTGCAACT-5'), IP10(3'-GTCTGCAACT-5'), IP8(3'-GTCTGCAA-5'), IP6(3'-GTCTGC-5'), IP10A4(3'-GGACAAAAGT-5'), IP10C(3'-CCTAGGTGTA-5'), IP10B(3'-TCCTAGGTCT-5')。实验中抑制剂通过 oxygen scavenging 缓冲液(13U/ml Glucose oxidase, 55.5mM Glucose, 47U/ml Catalyse, 3ml PBS)加载到测试通道, 典型的抑制剂浓度为 800nM。对 IP10, IP8, 我们还研究了不同浓度的抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响。

5.3.2 DNA 发卡变力模式实验结果

图 5.5(a)为 DNA 发卡 20R55/T4 在没有抑制剂情况下增加力实验(Force ramp)。当加载在 DNA 发卡上的力接近 12pN 时, 出现折叠/去折叠跃迁的动态过程。再将力降低到跳跃区, 实时记录不同力下伸长量的动态转变曲线, 图 5.5(b)为光阱距离保持恒定时记录下的一组伸长量信号。

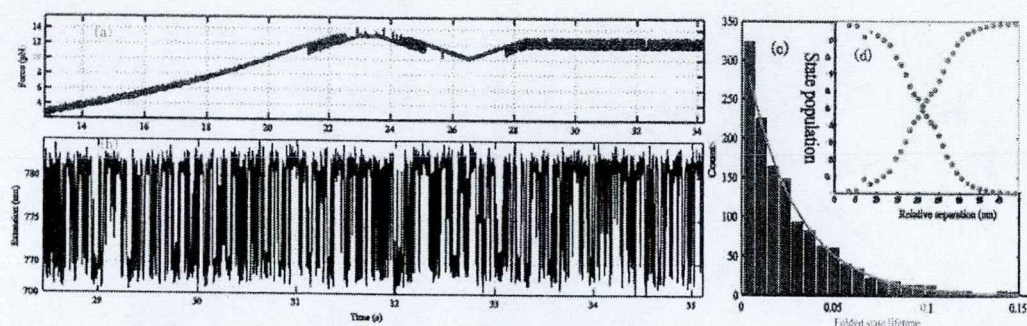


图 5.5 DNA 发卡在变力模式下实验结果。(a)直到加载在 DNA 发卡上的力接近 12pN 时,会出现折叠态和去折叠态的转变;(b)为典型的折叠态/去折叠态平衡过程中伸长量的动态变化曲线,所加力约为 12pN;(c)对应的折叠态停留时间的统计直方图;(d)为折叠态和去折叠态的几率随光阱相对位置的变化关系。

为了研究 DNA 发卡的折叠动力学,我们采用二态的隐马尔科夫算法对采集到的 DNA 伸长的时序信号进行分析。经隐马尔科夫(HMM, Hidden Markov Model)算法,可以拟合出伸长信号对应的理想曲线,进而统计出在折叠态上所处的时间,通过折叠态上停留时间的统计直方图能够拟合出在折叠态上的寿命,如图 5.5(c)所示。图 5.5(d)为对应的 DNA 发卡的在折叠态和去折叠态上的分布几率随光阱相对位置的变化关系,易见二者均服从波尔兹曼分布。

5.3.3 恒力模式 DNA 发卡的实验结果

实验分别在变力模式和恒力模式研究 DNA 发卡折叠动力学过程。当弱光阱中的小球处于光阱中心附近时,光镊工作在变力模式,逐渐将小球拉向光阱线性区边缘,光镊切换到恒力模式。实验测量了若光阱中小球离光阱中心不同位置的伸长量跃迁信号,统计折叠态与去折叠态之间伸长量的变化以及信噪比,如图 5.6(a)所示。图 5.6(a)中箭头所指位置的伸长量以及力的统计直方图分布分别如图 5.6(b)和(c)所示。当弱光阱中小球距光阱中心的平均距离为 110nm 附近时,伸长量与力的统计图均表现为两个峰,此时,光镊工作在变力模式;当小球离弱光阱中心约 330nm 处时,伸长量分布为双峰,而力的分布呈现高斯分布,此时为恒力模式。从图 5.6(a)中的信噪比曲线的比较发现,变力模式下具有较大的信噪比,典型值为 $SNR=9$;而恒力模式下信噪比 SNR 约为 5,这表明变力模式比恒力模式具有更高的信噪比。

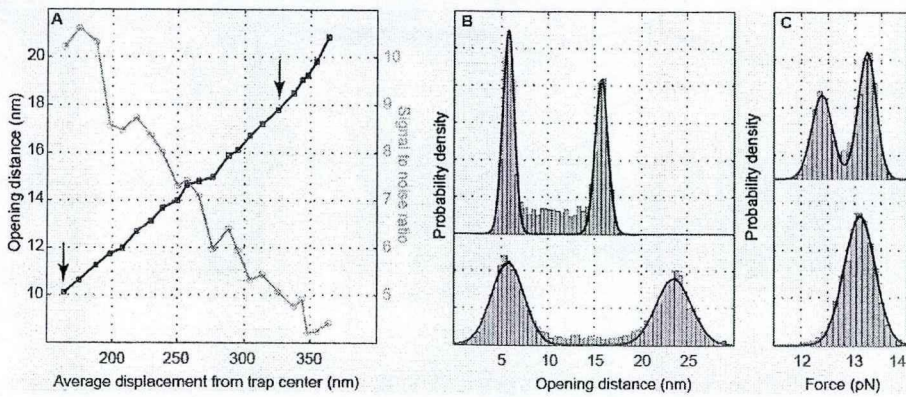


图 5.6 恒力模式和主动模式下 DNA 发卡伸长量的开环大小、信噪比(a), 伸长量(b)和力(c)的统计直方图比较

在恒力模式下, 由于弱光阱在非线性的恒力区域的局域刚度为零, 因而所测量的伸长量变化即为轮廓长度的变化。我们所测的轮廓长度的变化典型值为 18nm, 这和 Block 组的报道一致^[214]。在恒力模式下, 力的半高全宽为 0.70pN, 主动模式下半高全宽为 0.16pN, 可以看出恒力模式下力的分布要比主动模式下宽很多, 伸长的分布也有类似结论。这是因为弱光阱的存在, 导致光阱中的粒子布朗运动较剧烈。理论上 DNA 发卡 20R55/T4 的折叠/去折叠开环的大小约为 $32.5\text{nm}-5.9\text{nm}=26.6\text{nm}$, 由于将 DNA 分子完全拉伸到轮廓长度需要较大的力, 而折叠/去折叠的跃迁发生在约 14pN, 我们的实验结果最大值约为 23nm, Block 组报道的最大值约为 25nm^[54], 这些都跟理论值很接近。

5.3.4 抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响

为研究抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响, 我们采用三种抑制剂, 分别为 IP8, IP10, IP12, 研究 DNA 折叠/去折叠过程中伸长量的动态变化过程。图 5.7(a) 为在抑制剂 IP10 浓度为 800nM 时折叠/去折叠过程的末端距变化信号。从图中可以看出, 在有抑制剂存在时, 伸长量变化信号出现明显的间隔较大的间隙, 这对应抑制剂 IP10 在 DNA 发卡打开后结合到 DNA 发卡上。图 5.7(b) 为浓度为 800nM 的抑制剂 IP8 对 DNA 发卡折叠动力学的影响曲线。比较图(a)和(b)发现, IP8 伸长量上出现的间隙时间比 IP10 上的要短, 这表明 DNA 核苷酸片段较短时, 抑制剂在 DNA 发卡上粘连的时间也较短。我们还研究了 IP12 对 DNA 折叠的影响。实验发现, 当 IP12 粘连到 DNA 上时, DNA 折叠/去折叠的动态过程受到钳制, 且抑制剂不会脱离 DNA 发卡, 直到将加载在 DNA 上的力降低到一个较低的值,

IP12 才会脱离 DNA 发卡。

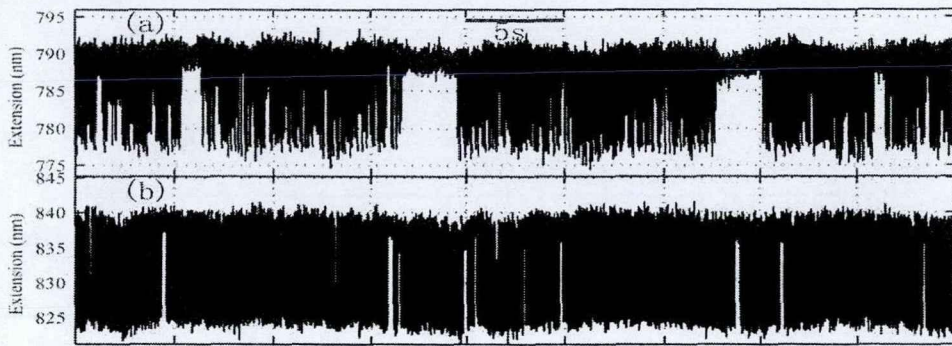


图 5.7 不同长度抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响 (a)长度为 10 个核苷酸的 IP10; (b)长度为 8 个核苷酸的 IP8。

我们采用 10 个核苷酸长度, 不同位置的抑制剂对 DNA 折叠动力学进行研究, 所用抑制剂分别为 IP10A4, IP10B, IP10C。所采集的典型的伸长量信号如图 5.8 所示。其中 IP10A4 与 DNA 发卡粘连的时间较短, IP10B 与发卡粘连的时间较长, IP10C 与 DNA 粘连的时间典型地有 1 分钟。其中, IP10A4 接近 DNA 发卡的环(loop), IP10B 离环稍远, IP10C 离环最远, IP10B 和 IP10C 位置相差一个核苷酸。这表明, 同样长度的抑制剂, 离 DNA 发卡上环的位置越远, 对发卡折叠过程的钳制能力越强。

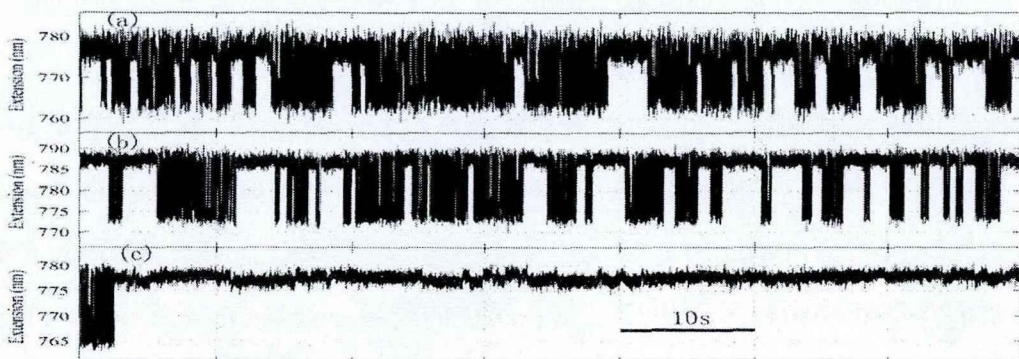


图 5.8 不同位置抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学的影响 (a) IP10A4; (b) IP10B; (c) IP10C。

我们还设计了离 DNA 环更远的抑制剂 IP10D, 其序列为 AGAGTCAACG。抑制剂浓度同样采用 800nM。在约 13pN 处, 观察到和 IP8 以及 IP10 类似的三重态跃迁结果(图 5.9(a))。很有意思的是, 在 10pN 左右, 我们也观察到伸长信号出现三个态(图 5.9(b)), 进一步分析表明 DNA 发卡折叠过程中, 在 10pN 左右, DNA 发卡受 IP10D 的抑制作用, 出现半打开态。图 5.9(c)和(d)分别对应于 13pN

和 10pN 左右 DNA 发卡折叠动态过程中出现的三重态的构象示意图。

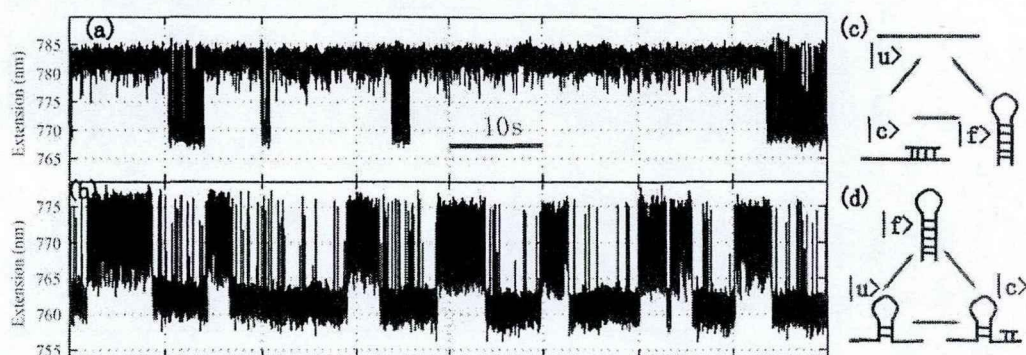


图 5.9 抑制剂 IP10D 对 DNA 发卡折叠动力学的影响 (a)13pN; (b) 10pN;(c)和(d)为对应的 DNA 构象示意图。

从上述实验结果不难发现,抑制剂 IP10D 不仅可以在 13pN 附近粘连到 DNA 发卡上形成三重态跃迁结果。在较低的力与抑制剂共同作用下, DNA 发卡还会出现半打开态 $|u\rangle$ 、折叠态 $|f\rangle$ 和半打开后抑制剂钳制态 $|c\rangle$ 三个态之间的动态跃迁。

5.3.5 小结

互补短链 DNA 小分子抑制剂可以在 DNA 发卡打开后粘连到 DNA 发卡结构上,形成钳制态。不同序列、不同长度、不同位置抑制剂对发卡折叠动力学影响也不一样。较长的抑制剂在 DNA 发卡上粘连时间较长,短的抑制剂粘连时间较短,这是由于抑制剂粘连和 DNA 折叠这两个过程之间竞争所需要克服的能垒高度不同所造成的。离 DNA 环较近的抑制剂粘连时间相对离环远的抑制剂较短,这表明离环近的抑制剂比较容易从与发卡粘连的三重态上解离。离 DNA 环较远的抑制剂在不同的力作用下出现三重态跃迁的结果,这与 DNA 发卡自身的结构有关。上述一系列实验帮助我们理解 DNA 发卡折叠动力学机理。

5.4 荧光探测模块

光镊技术已经很成功地和多项光电技术结合形成杂化的光镊技术。用的较多的有全内反射荧光技术、声光衍射时分复用技术、全息光镊、荧光光谱、拉曼光谱等。在我们搭建的高精度激光光镊中,我们瞄准蛋白质折叠和蛋白质 DNA 相互作用等交叉学科前沿领域的一些有意义的课题,将扫描共聚焦荧光相关光谱技

术融入高精度激光光镊。可以实现对单分子荧光微弱信号进行检测。

5.4.1 宽场荧光成像

在我们的光镊系统中,设计了宽场荧光成像功能,激发光采用 532nm 的激光。宽场荧光显微镜采用科勒照明,荧光图像的采集由 EMCCD 相机完成。该功能作为激光共聚焦显微镜的一个很好的补充。测试时,我们在 λ DNA 两端标记地高辛,每端各连接一个表面修饰有抗地高辛的直径为 $2\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球。图 5.10 为两个 $2\mu\text{m}$ 直径的聚苯乙烯小球和一段长约为 $14\mu\text{m}$ (48502bp) λ DNA 连接形成系链。缓冲液中加入不同浓度的 POPO 染料,染料附着在 DNA 上使得 DNA 在宽场荧光显微镜下清晰可辨。

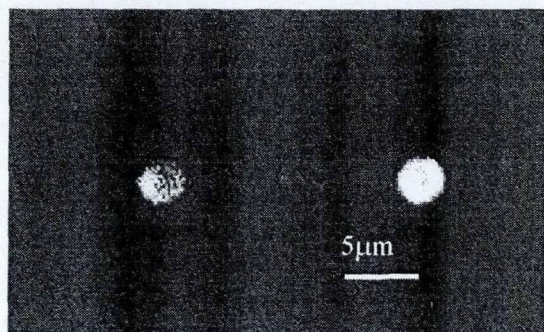


图 5.10 宽场荧光成像,其中两个微球之间连接的是 λ DNA,缓冲液中加入 POPO 染料后,在宽场荧光模式下可以看到 DNA 的影像。

5.4.2 单分子荧光探测

在单分子荧光探测中,需要采用一定的体系来探测荧光信号,并设计实验来验证所采集的信号是单个分子的荧光。如采用粗快的办法,在荧光激发体积内放置一个荧光分子,采用荧光相关光谱等技术探测荧光染料分子的荧光发射信号。

在抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学影响实验中,我们观察到当抑制剂和 DNA 发卡结合后,折叠过程受到抑制,在伸长量的信号上表现为一个间隙。这是一个很好的信号表明有单个分子结合到 DNA 发卡上。我们采用同样的体系来验证单分子荧光探测功能,在原有的 IP10 抑制剂上合成一个 Cy3 染料分子。重复类似的实验发现,当伸长曲线上出现间隙时,荧光通道上的信号同步地得到增强,这表明我们的系统是可以对单个荧光分子进行探测。

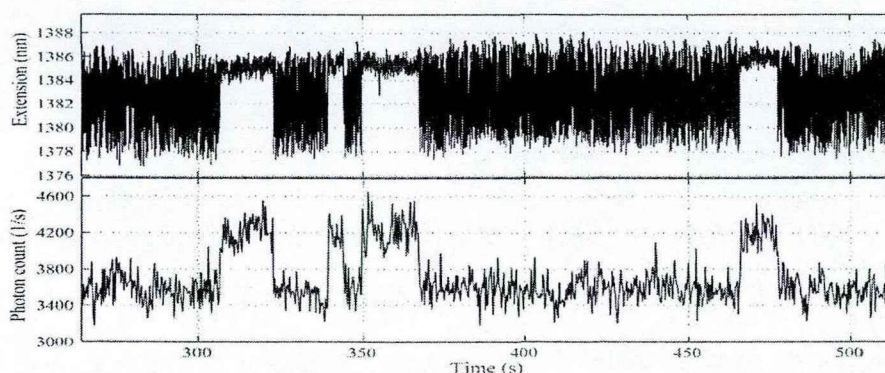


图 5.11 单分子荧光探测。上图为 DNA 发卡在抑制剂 IP10Cy3 作用下伸长量的动态变化，图中的间隙表明折叠/去折叠过程受抑制剂抑制；下图为荧光信号，对应有抑制剂粘连到 DNA 发卡上时荧光信号增强。

图 5.11 中的上图为 DNA 发卡折叠/去折叠动态过程在 IP10Cy3 抑制剂的影响下伸长量的变化结果。在约 310s, 340s, 350s 和 470s 附近出现三个折叠/去折叠停止的信号，这对应抑制剂结合到 DNA 发卡上。由于抑制剂上标有一个荧光分子，在荧光通道上对应位置出现一个荧光增强信号，见图 5.11 下图。

5.4.3 讨论与小结

在单分子荧光探测部分，我们在实验装置中采用高灵敏度的雪崩光电二极管对单个荧光分子所发出的荧光信号进行探测，实现单分子分辨的荧光信号灵敏度。在宽场荧光成像方面，通过染料对 DNA 大分子进行荧光染色，可以清晰对 DNA 进行荧光成像。这些为高精度的激光光镊提供更多的更能，有望在染色质高级结构、核小体拉伸、蛋白质折叠、Holiday 结以及分子伴侣等研究中得到广泛的应用。

5.5 本章小结

本章对带荧光探测的高精度激光双光镊进行介绍，通过一系列测试表明，所研制的仪器具有 1bp 的高精度，能够分辨单个分子的荧光信号。从功能上，该仪器实现恒力、变力、单分子荧光探测以及宽场荧光显微等功能。利用该仪器研究不同序列、不同长度、不同位置的小分子抑制剂对 DNA 发卡折叠动力学。我们发现在小分子抑制剂的作用下，DNA 发卡折叠动态过程中会出现钳制态，且钳制态的寿命随抑制剂序列、位置、长度的不同而变化。

第6章 离子束刻蚀相位片实现拉盖尔高斯光束

光镊技术的发展使得人们在纳米尺度操纵并移动微米或纳米级小球成为可能；而先进的微纳加工工艺使得微米纳米尺度的精细加工成为现实。借助于这两项技术，最早的全息阵列光镊在实验室诞生了。先进的微纳加工工艺可以制作出全息光镊所需的满足不同需求的相位片。这些先进的加工工艺主要有离子束刻蚀、电子束刻蚀、紫外光刻等。根据不同的需求，可以选择不同的加工方法，或他们的组合，加工出廉价的满足不同需求的全息相位片。由先进加工工艺制作的相位片已经在全息涡旋光镊，全息阵列光镊的实验研究中发挥着重要的作用。早期的全息阵列光镊就是通过微纳加工技术制作相位型全息片来实现的。

微纳加工工艺刻蚀的对象主要有玻璃、金属膜、光刻胶等。对玻璃一般的刻蚀深度较大，典型的深度在微米量级，若采用激光直写，如海德堡的激光直写设备，由于光子能够透过玻璃，因而很难加工出所需要的元件。而对金属膜、光刻胶如 PMMA 等可以采用激光直写设备加工。对相位调制元件，玻璃和光刻胶是较理想的材料，玻璃具有比光刻胶更稳定的优点。

本章的工作是围绕静态全息光镊的关键元件的制作而展开的。通过叠加 LG 光束的相位片的制作介绍制作静态全息光镊的衍射光学元件的主要流程选择，并通过离子束刻蚀法制作静态全息片来论证所选方法的合理性。本章的方法可以通过精心设计并加工好的掩模板来重复多次刻蚀玻璃形成静态全息片，这有利于静态全息片的商品化生产，在静态全息光镊的商品化推广方面具有较重要的意义。此外了解微纳加工技术，在光镊的系列实验中具有重要的价值，如可以采用微纳加工技术制作微流道样品池等，这也是本章目的之一。

6.1 相位片制作的常见工艺

由于玻璃和高分子材料的折射率一般都大于空气中同种波长光的折射率，若在玻璃或高分子材料的表面能够形成一层浮雕结构就构成一个可以对光束空间整形的相位片。相位片的加工常用的技术有紫外光刻、电子束和离子束刻蚀等。在光刻时常用紫外光照射光刻胶将预先设计好的图形印在光刻胶上。光刻胶又分

正胶和负胶。典型的正胶如一元的 PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)和二元的 DQN 胶(DQ: diazoquinoneester, 20%~50%; N: phenolic novolak resin)。PMMA 在深紫外光照时会断键, 其最敏感波长为 220nm, 对 240nm 以上波长的光不敏感。PMMA 树脂自身对深紫外(DUV)敏感性较差或较慢, 因而需要 $250\text{mJ}/\text{cm}^2$ 以上的曝光量。早期的 DUV PMMA 通常需要数十分钟的曝光时间。通过添加光敏化剂可以增加 PMMA 的 UV 光谱吸收率, 已经使曝光量放宽到 $150\text{mJ}/\text{cm}^2$, PMMA 也可以用于电子束、离子束和 X 光曝光。

6.1.1 激光直写技术

激光直写技术(Laser Direct Write), 是将所生成的计算机图形经一定的控制系统, 控制写入激光的方向, 将图形直接写在特定的基片上。通常基片上涂有对所波长激光有相应的光刻胶。其特点是可以根据电脑设计的图形有选择地对掩模板上的光刻胶进行曝光。目前激光直写多用商用的二氧化碳激光器, 其激光功率可以达到几十瓦, 此外激光商用的激光切割机也可用来在不同的材料上通过数字加工等几十刻写图形, 其功率高达几千瓦, 这些商用仪器能够满足精度、强度等不同需求的激光直写场合。根据直写的材料软硬度的不同, 激光直写技术常用的激光器还有 He-Cd 气体激光器、Nd:YAG 固体激光器、XeF 和 KrF 等准分子激光器。

现代激光直写技术可以通过对激光强度、激光聚焦光斑位置、停留时间等进行控制, 可以在基片表面直接写入多台阶、连续相位浮雕结构。与传统光刻技术相比, 现代激光直写技术不需要掩模板制作过程, 节省时间和耗材, 且具有较高的加工精度和衍射效率。

6.1.2 离子束刻蚀技术

离子束刻蚀属于纯物理的刻蚀方法, 它采用离子束对基片表面进行轰击, 表面上未被掩模板覆盖部分的材料被溅射出, 从而达到选择刻蚀的目的。由于采用离子束, 相比激光束而言, 衍射效应比较小, 因而可以达到较高的空间分辨率。这在电子工业的芯片制造等领域有着很成熟而广泛的应用, 如加工集成电路芯片等。离子束刻蚀可以对大部分材料进行刻蚀, 如金属、氧化物、混合材料、半导体、绝缘体、超导体等。本文所采用的全息片主要是采用离子束刻蚀的办法加工

的,所用设备为中国科学技术大学国家同步辐射实验室自行研制的大型离子束刻蚀机。

6.1.3 紫外光刻

紫外光刻采用紫外光束在一定的光刻胶上刻蚀特定的图形,通常紫外光刻需要制作一块带有设定图形的掩模板。紫外光刻在集成电路制造中是一个常见的技术,随着技术的不断进步,集成电路制造一直按照摩尔定律向前发展,技术上,2010年紫外光刻可以达到45nm的节点。随着集成电路精细度要求的提高,光刻工艺将逐渐进入32nm的技术节点,这需要采用极紫外光刻技术。极紫外光刻技术的一个挑战是,随着光束波长的减小,对非球面镜的加工、镀膜以及面型检测等手段的要求也随之提高。

6.1.4 电子束刻蚀

电子束刻蚀采用数字控制的电子束在基片上进行直接刻写的技术,和紫外光刻等技术相比,电子束刻蚀可以不用掩模板,将所需图形输入计算机后,通过数字控制可以直接在光刻胶上写特定的图案。这一技术的另一个优势是,通过控制电子束的强度和刻蚀时间,可以刻蚀成不同深度的图案。其他技术,如离子束刻蚀,只能刻蚀成有限台阶的图案,且需要采用定位精度要求比较高的套刻工艺。

6.1.5 同步辐射刻蚀

同步辐射可以产生波长较短的X射线,这在生物大分子如蛋白质或DNA和蛋白质的复合物的晶体结构测量、燃烧科学、新材料和新能源、物理化学等交叉学科有着广泛的应用。中国科学技术大学建立有国家同步辐射实验室,该实验室的同步辐射光源为第二代同步辐射光源。在上海还建有第三代同步辐射光源。这新光源所产生的同步辐射光以其优越的特性在科研和工业界有着广泛的应用。如上海光源的电子束能量可以达到3.5GeV。所产生的X射线由于其波长比较短,根据光的衍射原理,短波长的激光衍射的焦斑相对长波长激光要小很多,一个重要的应用就是同步辐射刻蚀,可以刻蚀出比传统紫外光,如He-Cd的365nm激光所刻蚀的元件精度高。

6.2 相位片的制作流程

本章所设计的相位片的制作大致可以分为四个步骤：掩模板设计、光刻掩模制备、图形转移到光刻胶上和离子束刻蚀等。掩模板的设计是根据实际研究工作的需要，通过衍射光学、二元光学等原理通过计算机辅助设计技术来设计的；光刻掩模的制备采用激光直写技术在苏打玻璃的镀铬层上刻蚀事先设计的图案；图形转移是将苏打玻璃上的图案转移到 K9 玻璃上的光刻胶上；离子束刻蚀在中国科学技术大学研制的大型离子束刻蚀机上刻蚀 K9 玻璃，进而得到印有事先设定图案的浮雕结构的相位片。下面将着重介绍激光直写掩模板制作以及离子束刻蚀的过程。

6.2.1 相位片的设计

相位片的设计不仅需要从几何光学或衍射光学理论出发计算相位片的空间分布。还要结合实际的加工工艺将设计结果转化为合适的图形格式。本章主要设计和加工生成的 LG 光的相位片。与普通高斯光束聚焦后形成单一焦点不同的是，具有螺旋波前的光束经透镜聚焦后形成一个中空圆环。它携有轨道角动量，且能够通过传递给被照明的粒子而引起特定粒子的旋转。这样的螺旋模构成也称为光学旋涡^[217]，它可以用傍轴 Helmholtz 方程的本征解 Laguerre-Gaussian 方程来表达。这些本征模的径向依赖关系为^[218]

$$u_p^l(r, z) = (-1)^p \left(\frac{\sqrt{2}r}{\omega} \right)^l L_p^l \left(\frac{2r^2}{\omega^2} \right) \exp \left(-\frac{r^2}{\omega^2} \right) \quad (6.1)$$

其中 $L_p^l(x)$ 是径向指数为 p 的广义 Laguerre 多项式， ω 是 z 处光束半径。螺旋模 $\psi_l(\vec{r})$ 的主要特征^[218]是其横向相位分布正比于与光轴所夹的极角 θ ：

$$\psi_l(\vec{r}) = u_p^l(r, z) e^{-ikz} e^{il\theta} \quad (6.2)$$

这里 $\vec{k} = k\hat{z}$ 是沿 z 轴传播的光波波矢，整数旋转指标 l 称为拓扑指数，它决定着光学螺旋的角向分布特征。光学涡旋可以由高斯光束通过附加如公式(6.3)的相位调制^[219]的相位片来实现：

$$\varphi_l(\vec{\rho}) = l\varphi \quad (6.3)$$

其中 φ 是相位片平面的极角坐标。用 $a(\varphi)$ 表示相位片图样的振幅随相位 $\varphi_l(\bar{\rho})$ 的分布函数。如果采用计算机控制的电子束曝光技术,可以刻蚀上述角向连续变化的相位分布衍射光学元件,商业上也有类似对产品出售。考虑我们拟采用离子束刻蚀,且需要光刻掩模板,实验中对 $a(\varphi)$ 做二值化处理得到二元相位片掩模图分布函数如下:

$$a(\varphi) = \begin{cases} 1 & \text{mod}(\varphi_l(\bar{\rho}), 2\pi) \leq \pi \\ 0 & \text{others} \end{cases} \quad (6.4)$$

其中, $\text{mod}(a, b)$ 表示 a 对 b 取余的函数。当 $l=20$ 时,由式(6.4)描述的掩模图如图(6.1)所示。

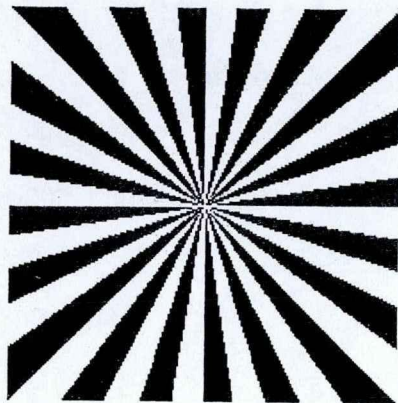


图 6.1 二元位相片掩模图,产生拓扑荷 $l=20$ 的叠加 LG 光

将上述设计对掩模板转化为 CIF、GDSII 或 DWG 等格式的图片,经激光直写设备在 100nm 厚的铬层上加工掩模板。再用掩模刻蚀石英玻璃,刻蚀的深度满足元件对光进行 0 和 π 弧度的调制。

6.2.2 激光直写技术制作光刻掩模板

掩膜版的加工交由深圳清溢精密光电有限公司的激光直写设备(Heidelberg, German)上完成。根据实验需要设计不同的全息相位片,并转化成 GDSII 或者 CIF 格式,以便于激光直写设备读取。刻蚀的激光采用波长为 413nm 的 Kr 离子激光。光束的偏转通过两个声光调制器(acousto-optic modulator, AOM)来实现。光束偏转位置由计算机加载预先设定的相位图来控制。刻写前在大小为 3"的苏打玻璃基片上涂上铬膜,铬膜的厚度为 100nm。铬膜表面涂覆正型光致抗蚀剂,通过控制 Kr 离子激光器出射的紫外光束即可将设定的图形写在光刻胶上,并使

得特定部分的光刻胶发生曝光。

光刻胶上曝光部分的抗蚀剂发生分解反应并在显影液中被溶解除去，而未曝光部分被保留而形成抗蚀保护层，再经等离子蚀刻(Plasmon Etching)等后续处理形成铬膜掩模图案。其中铬版上的有铬区域对应相位片的相对相移为 π 弧度，无铬区域对应相移0弧度。加工一块掩模板需要45—60min。

6.2.3 离子束刻蚀加工相位片

为获得相位型的光栅，需通过离子束刻蚀将铬版上的图形转移到石英玻璃上。我们采用JGS1石英玻璃，购自上海金声光学元件有限公司，其平行度小于 $10''$ ，平整度小于 $\lambda/5$ 。对波长为633nm的激光，折射率为 $n=1.458$ 。获得 π 弧度的相移需要刻蚀的深度为 $\lambda/(2n-2)=692\text{nm}$ 。

离子束刻蚀的过程如图6.2所示，首先在清洁的石英基片上涂上RZJ-306型正性瑞红光刻胶，采用KW-4A型台式匀胶机以500rpm的低速旋转9秒，使得胶布满样品；再以2500rpm的高速旋转30秒，使胶均匀涂布。涂敷光刻胶的厚度约840nm。将铬掩模版放到光刻胶层上，采用高压汞灯的I线(波长为365nm)进行紫外曝光。再将基片放入5%的NaOH溶液清洗，根据正胶特性，曝光部分融解，得到光刻胶图形。用KZ-400大型离子束刻蚀机(中国科学技术大学国家同步辐射实验室研制)，工作气体为 CHF_3 ，刻蚀带有光刻胶掩模图形的石英基片。刻蚀到需要的深度后，取出样品，用丙酮溶液洗去剩余的光刻胶。

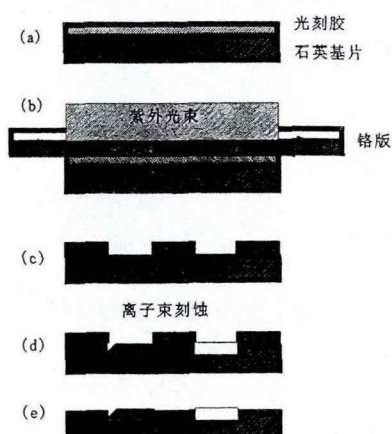


图6.2 反应离子刻蚀流程图 (a) 涂光刻胶并作前烘处理 (b) 紫外曝光 (c) 显影及坚膜(后烘) (d) 离子束刻蚀 (e) 去除剩余的光刻胶

6.3 相位片实现叠加拉盖尔高斯光束的实验研究

为验证所加工的相位片对高斯光束的调制性能,需要对相位片进行测试,实验中,我们采用扩束的 HeNe 激光照射到相位片上,测量了不同直径的光斑经调制后光场的空间分布和相位片的衍射效率。实验发现,基模高斯光束经二元相位片调制后的夫琅禾费衍射花样为拓扑荷相反的两束 LG 光的叠加场。

6.3.1 相位片的测试

相位片的加工过程中,需要不断测试其刻蚀深度。这是通过在刻蚀相位片的同时,刻蚀一块陪片,每次测量陪片的刻蚀深度再反馈给刻蚀机并决定是否需要再刻蚀以及刻蚀的深度。这样所加工的相位片在刻蚀机上的位置始终不会变化,不存在对准的问题。相位片加工结束后,可以通过原子力显微镜(AFM)等对其形貌进行测量。一般情况下,可以通过 Alpha-Step 500 型台阶仪测量相位片的刻蚀深度。经测量,我们在合肥国家同步辐射实验室大型离子刻蚀机上加工的石英玻璃的刻蚀深度为 778nm,深度误差约为 12%。为对相位片的实际性能进行测试,需要搭建相位片测试光路,并用相机去观察准直光束经相位片调制以后的实际效果,如光场的分布、衍射效率等。

6.3.2 实验装置

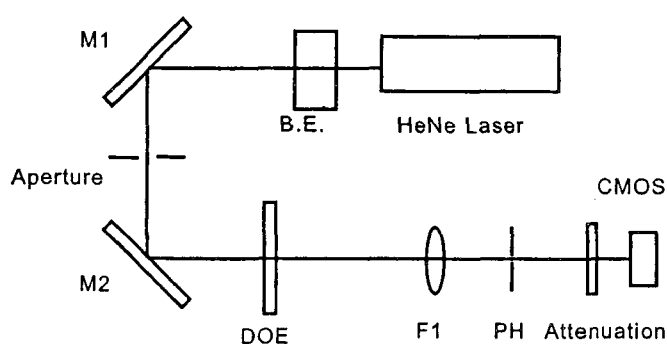


图 6.3 相位片测试光路图。M1、M2 为反射镜, B.E. 为 10 倍扩束镜, DOE 为相位片, F1 为凸透镜, PH 为小孔光阑。

对相位片的形貌等测试合格后需要测试其对光束调制的能力,如衍射光场分布、衍射效率等。利用二元相位片生成 LG 光束测试的实验装置如图 6.3 所示。采用 He-Ne 激光产生的波长为 633nm 的基模高斯光束作为光源,激光束经扩束

后光斑直径约为 1cm, 经孔径光阑改变光斑的大小后直接照射到相位片上, 调节相位片的位置使得相位片的相位奇点处于光束中心。最后由 CMOS 相机记录经透镜聚焦的夫琅禾费衍射光场分布^[111]。

实验中所采用的相位片的衍射光场中拓扑指数相反的谐波分量同时出现, 衍射光场分布为 $l=20$ 和 $l=-20$ 的两个 LG 模的叠加态。与单一拓扑荷 LG 光垂直于传播方向所形成的封闭环不同的是, 拓扑荷相反的两束 LG 光的叠加光场在圆环上出现亮暗相间的分布, 如图 6.4 所示。图 6.4(a) 为 $l=20$ 和 $l=-20$ 两束 LG 光横向的叠加光场分布的模拟结果, 图 6.4(b) 为采用直径为 4mm 的光阑测量得到的相位板的零级衍射光场分布^[111]。

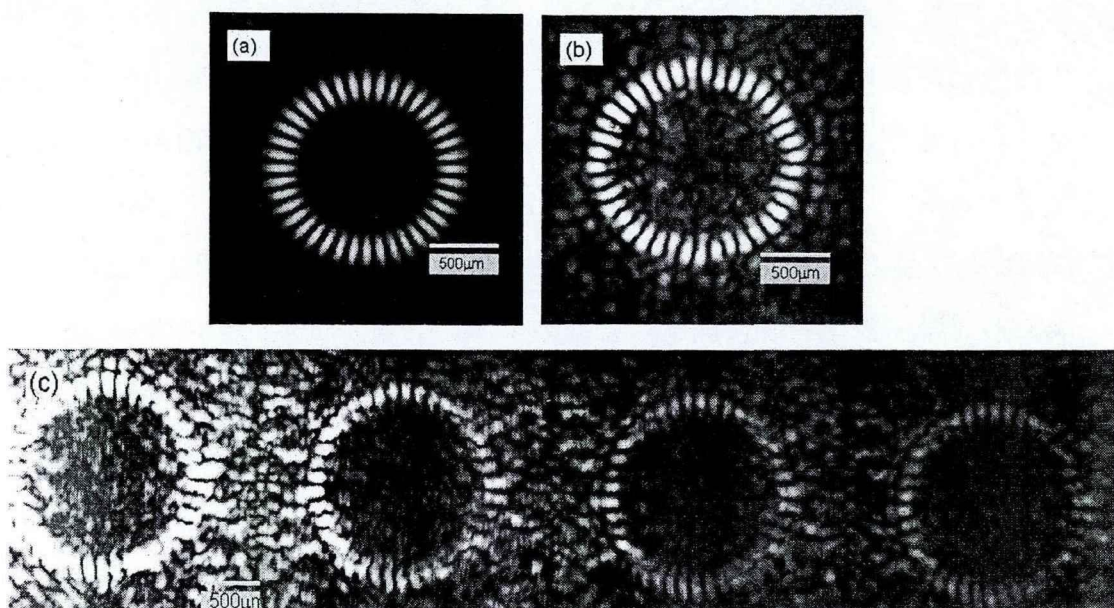


图 6.4 由相位片产生的叠加 LG 光 图(a)为拓扑荷相反的 LG 光叠加场数值计算结果; 图(b)为相位板零级衍射光场分布的实验结果; 图(c)为从左到右依次为相位板的+1 级到+4 级衍射光场。

实验中我们还观测到, 在零级衍射环外侧还存在高级的衍射环。高级衍射环仍为相反拓扑荷两束 LG 光的叠加态。高级衍射环发生在相互正交的两个方向, 对此的一个解释是, 相位片刻蚀由一系列边长为 $10\mu\text{m}$ 的方形单元组成的, 这些方形单元对光的衍射结果是会出现正交的十字, 再叠加上市位的调制信息即出现实验中所观察到的现象。图 6.4(c) 中从左到右依次为+1 级到+4 级衍射环。实验测量零级衍射效率可达 70%, 可见衍射光场能量主要集中在零级。

6.3.3 光阑大小对衍射结果的影响

改变孔径光阑的大小,即改变入射到相位板上光束的直径,衍射光场也会发生相应的变化。当孔径光阑直径小于 3.5mm 时,衍射光场不能出现清晰的圆环,其原因是由于相位板分辨率制约,调制的精度较差导致衍射环不清晰;入射光的直径在 4mm~5mm 之间时,出现一个亮暗间隔的圆环;再增大光阑的直径,零级衍射光场中出现两套或多套亮暗间隔的圆环。光阑孔径分别为 4.8mm、5.9mm、6.8mm 以及 8.9mm 时,相位板的零级衍射光场如图 6.5 所示。由图易见当入射激光孔径增大时,相位片的衍射光场由一个圆环分布变为多个圆环分布,对应于高级 p 指数的反向拓扑荷的叠加 LG 光分量。孔径大时光场为不同径向指数 LG 光的叠加,角动量分布并没有发生变化^[111]。

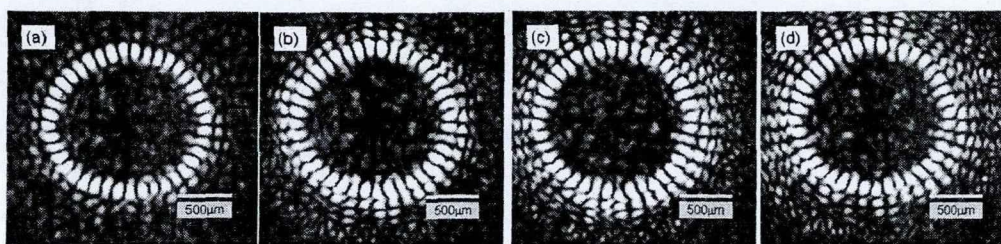


图 6.5 入射光孔径分别为(a) 4.8mm (b) 5.9mm (c) 6.8mm (d) 8.9mm 时相位板零级衍射光场分布

为了得到 $p=0$, $l=20$ 和 $l=-20$ 的叠加态,需要选择合适的光阑大小,确保能够产生叠加态,且能有较高的纯度。此外,光阑中心以及相位图的中心需要调节的和激光束中心严格对准,这能够保证所生成叠加态的纯度。

6.4 结果分析

事实上,涡旋光束是轨道角动量的本征态,针对实验中出现的现象,我们通过角向傅里叶展开原理,将入射光场用轨道角动量的本征态来展开,再经所设计的相位片调制后,得到所测光场的理想轨道角动量的谱分布。根据获得的谱分布既可以从理论上解释并模拟出衍射光场强度的空间分布图。

6.4.1 讨论

实验中采用直径为 4mm 的准直光束照射相位片时,零级衍射圆环上有 40

个波纹(corrugation), 定性的解释是相位片在角向有 40 个 $0 \rightarrow \pi$ 或 $\pi \rightarrow 0$ 的相位突变。零级衍射光场的角动量分布可以通过空间光调制器产生不同拓扑荷的叉形光栅将涡旋分量转化为平面波并经单模光纤耦合来测量^[220]; 对具有一个角动量子数的单态, 还可通过三角形光阑衍射的办法来测量^[221]。这里我们采用角向傅里叶分析从理论上对本章实验所得光场的角动量谱进行分析。事实上, 方位角 φ 和轨道角动量子数 l 互为傅里叶变换, 二者存在如下变换关系^[222]:

$$A_l = \frac{1}{2\pi} \int_{-\pi}^{\pi} d\varphi \psi(\varphi) \exp(-il\varphi) \quad (6.5)$$

$$\psi(\varphi) = \sum_{l=-\infty}^{\infty} A_l \exp(il\varphi) \quad (6.6)$$

公式(6.6)表示光束用螺旋模谐波基 $\exp(il\varphi)$ 展开。实验所用的相位片改变光波的轨道角动量(OAM, Orbital Angular Momentum)谱分布, 产生新的边频带, 但根据角动量守恒定律, 光束的平均角动量或净角动量不发生变化。

实验中所用相位分布的相位片 M 的透过率一般形式可写为

$$M(\varphi) = \begin{cases} e^{i\varphi} & n\alpha \leq \varphi < n\alpha + \beta \\ 1 & \text{else} \end{cases} \quad (6.7)$$

其中 $n=0, 1, \dots, (N-1)$, $\beta < \alpha$, 采用螺旋谐波 $\psi_0(\varphi) = \psi_0 \exp(il_0\varphi)$ 正入射时, 衍射光场在角动量本征态上的展开系数为:

$$A_l = \frac{1}{2\pi} \int_{-\pi}^{\pi} d\varphi M(\varphi) \exp(-il\varphi) \psi_0 \exp(il_0\varphi) \quad (6.8)$$

考虑本章所用相位片的几何关系, $\beta = \alpha/2 = \pi/20$, $N=20$, 将式(6.7)中 $M(\varphi)$ 代入式(6.8)得,

$$A_{l+l_0} = \frac{\psi_0}{2\pi} \beta \sin \frac{l\beta}{2} e^{-il\beta/2} \frac{\sin(lN\beta)}{\sin(l\beta)} e^{-il(N-1)\beta} (e^{i\pi} + e^{-i\beta}) \quad (6.9)$$

式(6.9)即为实验所用相位片的衍射光场在轨道角动量本征态基上的展开系数, 其模方即为衍射光场在对应角动量态上的几率分布。

对扩束的基模高斯光束, 入射光束的初始角动量 $l_0=0$, 代入式(6.9), 可以计算得到基模高斯光束经相位片调制后衍射光场在各本征态上的分布系数, 如图 6.6 所示^[111]。

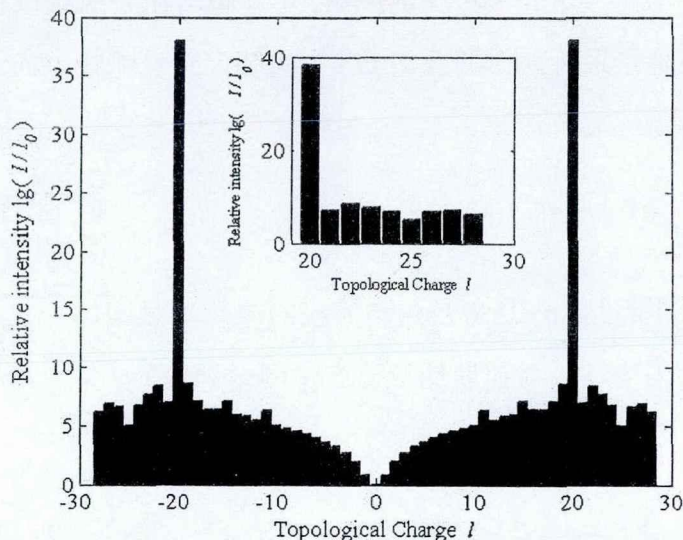


图 6.6 相位片零级衍射光场在各轨道角动量本征态上的几率分布

由图 6.6 所示, 在相位片的衍射光场中, 对应于轨道角动量为 $l=+20$ 与 $l=-20$ 的两个谐波分量占主要成分。由放大的插图易见, 衍射光场中 $l=+20$ 模分量的强度比边频带其他分量的强度至少大 30 个数量级, 因而用准直的激光束去照射相位片时, 由于探测器动态响应范围和灵敏度的限制, 衍射光场中观察不到 $l \neq 20$ 的谐波分量。由于轨道角动量为相反的两个谐波分量在衍射光场中占有优势, 考虑具有相反螺旋度 l 和 $-l$ 的两束 LG 光, 可写出相位片衍射光场的分布^[223]:

$$\psi(\vec{r}, z) = 2u_p^l(\vec{r}, z) \cos(l\varphi) e^{-ikz} \quad (6.10)$$

图 6.4(a) 即为(10) 式描述的相位片衍射光场的横向分布。

当入射光孔径大小较大时会出现 $p>0$ 的高阶衍射分量, 衍射图案角向为拓扑荷相反的两束 LG 光的叠加态, 径向为 $p=0$ 与 $p>0$ 光的线性叠加。实验表明对孔径在 6mm 到 10mm 之间时, $p=0$ 阶衍射明显强于 $p>0$ 的高阶衍射分量, 该结果也可由傅立叶光学的分析得到。当入射孔径较小时, 由于受相位片的分辨率的限制, 零级衍射光场中并没有出现环形, 若需要在较细的入射光下工作, 则需要制作精度更高的相位片。对我们制作的相位片, 入射光孔径在 3.5mm 到 5mm 之间时, 能够出现单一的 $p=0$ 阶衍射环。

6.4.2 光学捕获分析

上述采用离子束刻蚀相位片生成的叠加 LG 光束, 在激光捕获细胞、胶体颗

粒甚至是原子冷却定领域有着广泛的应用。本节拟对激光捕获进行一个半定量的分析。对上述实验结果所获得的叠加 LG 光的强度沿着弧线方向 s 的分布可以作如下建模^[224]

$$I_l(s) = \frac{P}{2\pi\lambda R_l}(1 + \alpha \cos qs) \quad (6.11)$$

其中 α 是调制深度, $q=2l/R_l$ 是角向波纹的波数。对 $l>l_0$, q 近似不依赖于 l 。

这样调制的强度将会对捕获的粒子产生两个切向的力。一个是由于角动量的传递

$$F_l(s) = A_0 \frac{P}{R_l}(1 + \alpha \cos qs) \quad (6.12)$$

其中假设每个光子的局域角动量通量为 $l\hbar$ 。因子 A_0 包括粒子散射截面的几何因子。另一个力是由于粒子对局域强度梯度相应的光学梯度力

$$F_g(s) = -\varepsilon A_0 \frac{2\pi\lambda}{q} \frac{\partial I_l(s)}{\partial s} = \varepsilon A_0 \frac{P}{R_l} \alpha \sin qs \quad (6.13)$$

其中 ε 设定梯度力的相对强度。组合上述两式子, 得到切向的光阱力

$$F(s) = A_0 \frac{P}{R_l}(1 - \eta \cos qs) \quad (6.14)$$

上式中省略了一个不相关的相位角, $\eta = \alpha(1 + \varepsilon^2)^{1/2}$, 如果 α 远小于单位量, ε 和 η 都可能会很大。这样, 在特定的功率下减小 l 就可以相对热能尺度 $k_B T$ 增大调制深度。这样调制势可以有效地增加对粒子的拖拽力。

6.5 本章小结

本章的主要工作的目的是为全息光镊设备的搭建打下基础。通过离子束刻蚀技术制作二元的相位片, 我们对利用空间光调制器搭建全息光镊设备有了更具体、更接近实际的认识。为全息光镊设备的选型、整套设备的搭建奠定良好的基础。同时通过本章的工作, 我们不仅对离子束刻蚀技术, 而且对其他的先进加工工艺有了初步的了解, 为在新兴调制光阱以及相关的应用, 如生物大分子力学特性、蛋白质折叠等实验中, 需要设计并通过一定的加工方法制作特定的样品池, 本章的工作基础将确保微流道样品池的加工能够符合各种实验的需求。

第7章 数字微镜实现涡旋光束的实验研究

全息光镊的实现依赖于高精度的空间光调制器,作为空间光调制器之一的数字微镜器件(Digital Micromirror Device, DMD)以其价格低廉易于操作等优点,在高清数字电视和激光投影等领域有着重要的应用。本章围绕 DMD 实现涡旋光束展开,探讨 DMD 在全息光镊中应用的可能性,这在实验室还没有高精度的液晶空间光调制器前,对全息光镊的论证以及后续采用液晶空间光调制器实现阵列光镊和涡旋光镊奠定良好的基础。数字微镜,顾名思义,是以数字信号直接控制每个微小的反射镜片的精密器件,其中每个微小镜片的边长约为 $14\mu\text{m}$ 。该器件由 70 多万个这样的微小镜片组成,每个镜片都可以独立寻址。每个镜片根据所处状态,可以将每份的细微光束反射到目标区域或者反射到热沉处,实现目标区域光束强度的调制。因而 DMD 对光束调制是振幅型的。

本章拟通过对 DMD 工作原理的介绍探索用 DMD 将光束整形成具有新型特性的光束,如厄米-拉盖尔-高斯光束^[225]、贝塞尔光束^[226-228]、厄米-高斯光束、爱里(Airy)光束^[99, 184]等。鉴于拉盖尔-高斯光束^[47]是这一系列光束中比较特殊的一种,也具有重要的应用前景。如 2007 年,华盛顿大学的 Robert 等^[229]人利用计算全息片产生涡旋光束实现基于液滴的微流变学研究,他们采用涡旋光束来捕获两个载有飞升量级体积反应物的液滴,并控制它们的位置进而通过液滴的融合实现无污染的微观化学反应。本章以 DMD 实现拉盖尔-高斯光束为例来探索如何使用好这个器件,进一步研究生成光场的空间和偏振特性等,给出一般情况下使用 DMD 所需要注意的一些问题。

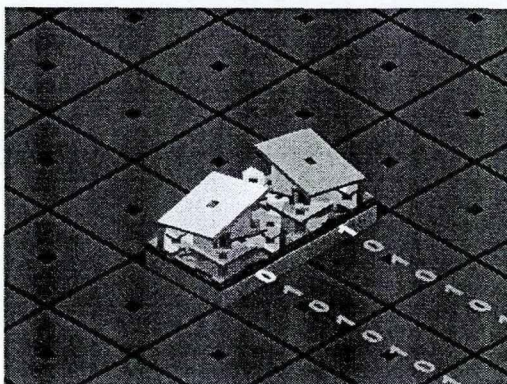
7.1 数字微镜器件简介

数字微镜器件(DMD)由德州仪器(Texas Instruments)的 Larry J. Hornbeck 在 1987 年发明。它由一系列的微小反射镜组成,通过数字电压信号控制微镜片执行机械运动来实现对光束进行调制。DMD 主要用于投影等场合,由于微电子器件加工工艺的逐渐成熟,DMD 器件的性能也在不断的改进。目前 DMD 器件已经广泛用于数字光学处理(Digital Light Processing)投影系统、高清晰电视

(HDTV)、微型显示、光刻数字掩模、投影光刻、数字全息合成等领域,也有一些报道采用数字微镜实现全息光镊。

7.1.1 DMD 的工作原理

DMD 器件的一块芯片上集成有七十多万个微小的反射镜组成微小反射镜阵列。每个微镜都可以由计算机独立寻址并加电压信号。加载不同的电压,微镜有三个不同的工作状态,即开态、平态和关态,对应的电压为正脉冲、零电压和负脉冲电压。器件不通电时处于平态,通电后根据寻址电压的不同处于开态或关态。图 7.1 为 DMD 上典型的两个微镜的工作原理示意图。



7.1 DMD 独立微镜工作示意图

数字微镜处于开态或关态时,和平态的夹角分别为 $+12^\circ$ 或 -12° ,对应将入射激光反射到目的工作区域或吸收体(absorber, heat sink)。DMD 可以用来投射数字图像或者录像^[110]。它的工作光谱范围也很广,在 350nm-2000nm 范围内都可以工作。且能够承受很高的照射功率,在典型的工作光谱范围内,如 400nm-800nm 波长范围, DMD 最高可承受的功率密度达到 $25\text{W}/\text{cm}^2$ 。在红外范围,波长大于 800nm 时,可承受的功率也可达到 $10\text{W}/\text{cm}^2$ 。

目前关于数字微镜器件的认识有两种^[230],一是认为数字微镜是一个二维的反射型空间光调制器,忽略像素间衍射光波的相位差异;二是认为数字微镜器件是光栅常数为微镜间距,闪耀角为微镜偏转角的闪耀光栅,在闪耀状态,约 88% 的衍射激光能量集中于某一单独的衍射级上。我们的实验中发现,采用 13mW 的 HeNe 激光入射时,经 DMD 调制后的零级激光光强约为 6mW,因而第二种认识是有一定的局限性。正确认识 DMD 的工作原理,有助于我们熟练地运用 DMD

器件。本节从脉宽调制实现激光强度调制以及 DMD 如何实现相位调制的角度来揭示 DMD 的工作原理。

7.1.2 DMD 应用领域

DMD 以其独特的性能和设计的灵活性,在很多领域得到广泛的应用。如高清数字电视、微透镜阵列的加工^[231]、多孔径共焦成像^[232, 233]、可变光纤衰减器^[234]、光学神经网络^[235]、光谱仪器^[236]、显微镜断层成像的波前校正^[108]以及人眼视网膜波前校正或激光在大气中传输的波前校正^[97]等。

在激光刻蚀方面, DMD 可以作为一个可擦写的数字式掩模,在光刻胶上刻写不同的图案。2009 年,复旦大学的戴海涛^[99]等采用 DMD 在分散聚合物的液晶上刻蚀二元图案,采用电学调制技术用改性的液晶来调制激光束实现 Airy 光束,其中 DMD 所起的作用为可编程的全息刻蚀掩模板,相比于传统的基于固定基板的掩模, DMD 掩模具有易改写、成本低廉等优点。国防科技大学的研究人员采用双 DMD 实现光学矢量矩阵乘法器系统^[237],他们发现通过矩形阵列编码 DMD 并减小 DMD 之间的距离可以有效地降低衍射的影响,这一发现推进了 DMD 在矢量矩阵乘法器系统中的应用以及为光学矢量矩阵乘法器的实用化铺平道路。本节采用 DMD 对光束进行整形,将常见的高斯光束整形成 LG 光^[47]。

7.1.3 DMD 通过脉宽调制实现光强调制

视频信号通过 DMD 的控制电路转换为脉宽调制的模式,再控制 DMD 一个刷新周期内控制每个微镜处于开态或关态的时间。激光束经上述处于开和关态不断切换的微镜阵列反射后,强度大小以及分布均得到调制,这就是 DMD 所独有的脉宽调制原理, DMD 上每个微镜都可以独立控制。和传统液晶空间光调制器相比, DMD 是振幅型的空间光调制器。

采用脉宽调制, DMD 可以实现对光强度的准连续调制。实验上我们通过用示波器测试经 DMD 调制的光强脉冲来观测脉宽调制过程。自 DMD 反射的光经一个透镜(焦距 $f=32\text{cm}$)聚焦后,在透镜焦点附近放置一个硅光电池将光脉冲信号转换成电信号,再将电信号传给示波器(*DS 05012A, Agilent*)进行记录。这里我们在 DMD 上投射均一灰度的图形,并假设在测量脉宽调制时, DMD 上所有微镜

的开关是同步的。在微镜上投射灰度分别为 1、50、150 和 210 的均一图后，所采集到的脉宽调制波形如图 7.2 所示。

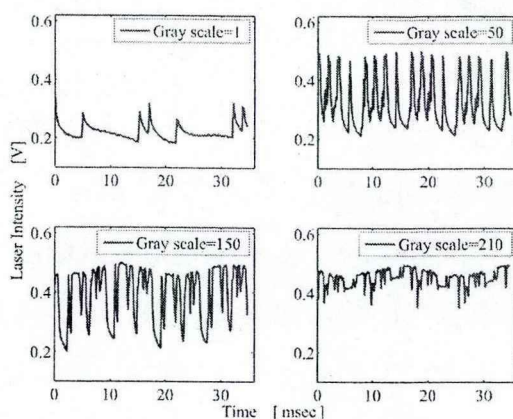


图 7.2 典型的脉宽调制图形。对应的 DMD 上均一灰度图的灰度值分别为(a)1、(b)50、(c)150、(d)210

由图 7.2 的实验结果可以看出，准直的高斯光束经灰度值大的图形调制后，所采集到的光点信号的脉冲占空比也相应的变大。这表明 DMD 对激光强度的调制是通过加载在微镜上电压脉冲的占空比来实现的，即脉宽调制。改变加载电压脉冲的宽度就可以获得所需的调制光强。

在前面的分析中，我们假设投射均一图形后，DMD 上每个微镜的工作脉冲是同步的。如果这些微镜工作时不同步则会导致相邻微镜反射的光束抖动过大，影响输出激光的强度分布。实验中对自不同灰度图像投射到 DMD 上后反射的光脉冲在相同时间内积分，发现积分强度和输入灰度图的灰度值成线性关系。这表明本节的测量可以真实反映 DMD 工作时器件对激光强度的调制是通过脉宽调制实现的。

在本章的实验中，影响强度调制准确度和稳定性的主要因素是 DMD 和入射激光夹角的准确程度。实验发现入射角偏离 24° 时，每个微镜单元的细微抖动会对实验结果产生较大的影响，因而本实验的难点之一是入射激光对每个微小反射镜的入射角的准确调节。

7.1.4 DMD 的固有相位调制

从前面的介绍中可以知道，DMD 是通过脉宽调制来实现对光束强度的调制。

事实上, DMD 在调制光束强度的同时, 对光束的相位也有调制^[230]。DMD 对光束相位的调制的分析比较复杂, 为更好地理解 DMD 对光束相位的调制, 这里引入 DMD 的主对角线和副对角线方向两个概念。主副对角线方向分别定义为沿着微镜旋转方向和垂直于微镜旋转的方向。

(1) n 个开态在同一主对角线

如图 7.3 所示, 根据 DMD 的工作原理和基本结构可知 n 个同一主对角线上的微镜同时处于开态时, 它们构成同一个反射平面, 在相干的单色平面光波的照射下, 采用 24° 入射, 各反射面之间没有引入附加的相位差。因而, 这 n 个开态反射镜对光束的相位没有调制。

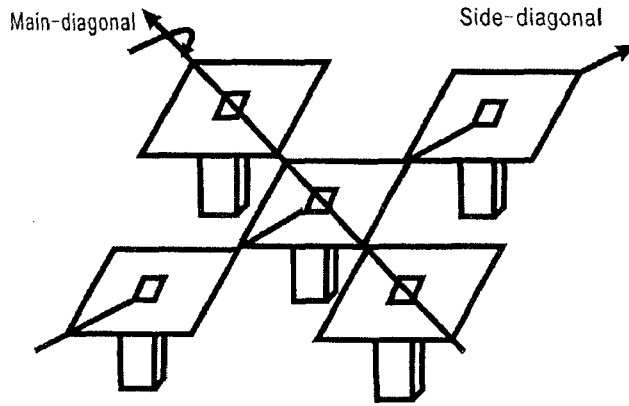


图 7.3 DMD 主副对角线

以中间反射面元的中心为坐标原点, ξ 轴和 η 轴平行于反射面的两边, 并假设光波复振幅为 1, 那么 n 个开态镜面反射光场的复振幅分布为:

$$u(\xi, \eta) = \sum_{m=-\frac{n}{2}}^{\frac{n}{2}} f(\xi, \eta) \times \delta(\xi + md, \eta + md) = \sum_{m=-\frac{n}{2}}^{\frac{n}{2}} \text{rect}\left(\frac{\xi + md}{\omega_0}\right) \text{rect}\left(\frac{\eta + md}{\omega_0}\right) \quad (7.1)$$

其中, d 为相邻镜面的中心距离, ω_0 为微镜面边长, $f(\xi, \eta)$ 为坐标原点处单个镜面的反射光场的复振幅分布, 上式中假定其振幅为 1, $u(\xi, \eta)$ 表示经 DMD 反射光场的复振幅分布。那么 n 个镜面的夫琅禾费衍射光场分布为:

$$U_F(x, y) = F\{u(\xi, \eta)\} = \omega_0^2 \text{sinc}\left(\frac{\omega_0 x}{\lambda z}\right) \text{sinc}\left(\frac{\omega_0 y}{\lambda z}\right) \sum_{m=-\frac{n}{2}}^{\frac{n}{2}} \exp\left[\frac{j2\pi}{\lambda z}(mdx + mdy)\right] \quad (7.2)$$

上式中等式左边 $U_F(x, y)$ 为 $u(\xi, \eta)$ 的傅里叶变换, 即对应其夫琅禾费衍射场分布。由(7.2)可直接得到对应的光强:

$$I(x, y) = |U_F(x, y)|^2 = \frac{\omega_0^2}{\lambda z} \operatorname{sinc}^2\left(\frac{\omega_0 x}{\lambda z}\right) \operatorname{sinc}^2\left(\frac{\omega_0 y}{\lambda z}\right) \frac{\sin^2\left[n\pi \frac{d}{\lambda z}(x+y)\right]}{\sin^2\left[\pi \frac{d}{\lambda z}(x+y)\right]} \quad (7.3)$$

(2) N 个开态在同一副对角线上

如图 7.4 所示, 各开态反射镜并非在同一平面内而是两两异面, 其衍射特性与反射式闪耀光栅相似。设 n_0 是 DMD 平面的法线, d 为相邻微镜面的中心距离, $\gamma=10^\circ$, 入射光线、反射光线与 n_0 的夹角分别 θ_i 、 θ_0 度。

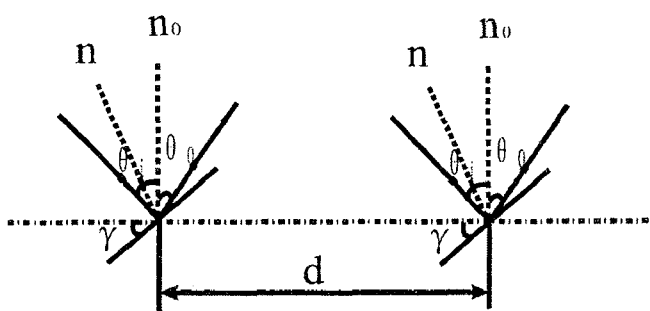


图 7.4 副对角阵列两相邻开态镜面

反射光波在同一个反射镜边缘产生的最大相位差 $\delta = \omega(\sin \theta_i - \sin \theta_0)$, ω 为微镜面的对角线的长度, 即 $\omega = \sqrt{2}\omega_0$; 相邻两反射镜引入的相位差 $\delta' = d_0[\sin(\theta_i + \gamma) - \sin(\theta_0 - \gamma)]$, 由光栅衍射理论可知夫琅禾费衍射光强分布为:

$$I = I_0 \frac{\sin^2 \alpha}{\alpha^2} \frac{\sin^2(N\beta)}{\sin^2 \beta} \quad (7.4)$$

其中, $\alpha = \frac{\delta}{2}$, $\beta = \frac{\delta'}{2}$ 。 I_0 为一常数项因子, 从式(7.4)可以看出光强受到两个因子的调制, 它与闪耀光栅衍射场的光强分布具有相同的形式。

(3) 相邻 M 行 N 列个开态反射镜构成的矩形阵列

这一矩形阵列并不等同于一个矩形反射镜, 必须考虑 DMD 的微观结构性质, 其衍射特性近似于一个二维光栅, 通过实验发现这一近似与实验结果符合得很好。首先以矩形中心为原点, x 轴、y 轴分别平行于矩形的两边建立坐标系, 入射光波复振幅为 $f(x, y)$, 入射角为 θ_i , 经 DMD 反射后得到的光场分布及对应的

傅里叶变换分别为 $f'(x, y)$, $F'(\xi, \eta)$ 。可以得到以下关系式:

$$f'(x, y) = f(x, y) \exp[-j2\pi \frac{\sin \theta_i}{\lambda} (x + y)].$$

$$\sum_{m=-\frac{M}{2}}^{\frac{M}{2}} \sum_{n=-\frac{N}{2}}^{\frac{N}{2}} \delta(x - md, y - nd) * \left(\text{rect} \frac{x}{\omega_0} \text{rect} \frac{y}{\omega_0} \right) \quad (7.5)$$

$$F'(\xi, \eta) = \sum_{m=-\frac{M}{2}}^{\frac{M}{2}} \sum_{n=-\frac{N}{2}}^{\frac{N}{2}} \left\{ F\left(\xi - \frac{\sin \theta_i}{\lambda} - \frac{m}{d}, \eta - \frac{\sin \theta_i}{\lambda} - \frac{n}{d}\right) \cdot \text{sinc}\left[\left(\xi - \frac{\sin \theta_i}{\lambda}\right)d\right] \text{sinc}\left[\left(\eta - \frac{\sin \theta_i}{\lambda}\right)d\right] \right\} \quad (7.6)$$

由以上分析可得知无论 n 个镜面在主对角线上还是在副对角线上, 其反射光强的分布并不均匀, 光能量有向中心或某一级次会聚的趋势, 即投影在 DMD 某一行上的光, 并不是均匀的, 这会影响 DMD 的调制精度, 甚至会产生错误的结果。从式(7.6)可以看出, $M \times N$ 个镜面的反射光强受到 sinc 函数的调制。

7.2 DMD 实现拉盖尔高斯光束的实验研究

在正确认识 DMD 的工作原理后, 本节着重介绍如何用 DMD 来调制高斯激光光场实现 LG 光束。主要内容有, DMD 的使用与控制方法、实验装置介绍、DMD 的校正与正确使用、实验结果等几个部分。

7.2.1 DMD 的控制与使用方法

实验所用德州仪器的 DMD 的分辨率为 1024×768 , 每个微镜的边长为 $13.68 \mu\text{m}$, 对应像素大小为 $14.46 \mu\text{m}$ 。DMD 安装在一块控制电路板上(上海理歌电子科技有限公司), 用户基于 Visual C++ 6.0 设计的人机交互控制软件通过通用串行总线(USB)加载控制信号到 DMD 上, 获取 DMD 的当前参数或修改控制参数, 如 DMD 分辨率、显示区域、加载图像位置等。事先设定好的图像是通过 VGA 接口自计算机输入 DMD 中。实验中, 处于开态微镜将该份光束反射后投射到光路系统中, DMD 上对应的像元呈现白色; 黑色像元对应微镜上的关态, 将微光束光反射到热沉上。原则上, 经 DMD 反射的光强度调制是通过加载在 DMD 上电压信号在一个刷新周期内的脉冲宽度调制^[238]来实现的。因此探测到的激光信

号强度是正比于在一个刷新周期内微镜处于开态的时间。

由于光束的调制是通过计算机加载事先设计的图形到 DMD 上, 通过 DMD 的调制来实现光束的整形。因而, 正确使用 DMD 在本实验中显得尤为重要。实验中 DMD 的使用方法可简要描述如下:

1、连线。USB 控制线、VGA Cable 两线一端连接到控制板上对应的插槽中; 两线的另一端分别接到电脑上 USB 插槽和电脑上的 VGA 输出端。接通 DMD 电源线, 打开 DMD 器件外的防尘布。对一般的笔记本电脑, 这一步比较容易实现; 对台式电脑, 需要显卡带有双 VGA 接口。

2、使用。在电脑中双击 USBinstall.exe, 再打开控制软件获取仪器状态参数, 如分辨率、显示位置等, 若能够读取状态参数表明控制信号连接正常。如需重新设置参数, 可在控制软件中设置, 如修改 DMD 显示的分辨率等。

3、计算机设成双显示器模式。这在笔记本电脑和台式电脑上略有区别, 对笔记本电脑, 可利用机箱上备用的接投影仪的 VGA 接口, 将电脑切换到幻灯片播放模式即可; 对台式电脑可在显卡处设置, 方法可参见液晶空间光调制器的设置方法。

4、将计算机的分辨率设置成和 DMD 一致。方法是在桌面右击->属性->设置, 再修改分辨率。对特定的显卡, 如 Nvidia 显卡, 也可以在显卡驱动软件中设置。

实验中需要注意的地方有, 严禁对着 DMD 吹气, 实验完毕时, 要将 DMD 用防尘布盖上, 并切断电源。在高精度的光学科研实验中, 还可以用红外遥控来控制 DMD。

7.2.2 实验装置

实验装置如图 7.5 所示, 激光光源采用连续运行的功率为 13mW 的 HeNe 激光, 波长为 632.8nm, 经扩束以后光斑的直径约为 10mm。自激光器出射的激光为垂直偏振的, 经四分之一玻片后转化为圆偏振。由金属膜反射镜调整角度以 24° 入射到 DMD 上, 入射到 DMD 前经起偏器将偏振态调整为水平或垂直。其中 DMD 上微镜器件的状态由第一台计算机实时控制。准直激光经 DMD 调制后, 再由焦距为 32cm 的透镜 L 汇聚以及小孔光阑滤波后由探测器接收信号。实验中探测器为功率计探头、硅光电池和 CCD 相机(敏通 1881, 中国深圳), 分别用来

测量出射场的功率、脉冲波形和横向光场分布。脉冲波形通过示波器来读取，横向激光光场分布通过 CCD 采集后经第二台计算机记录。

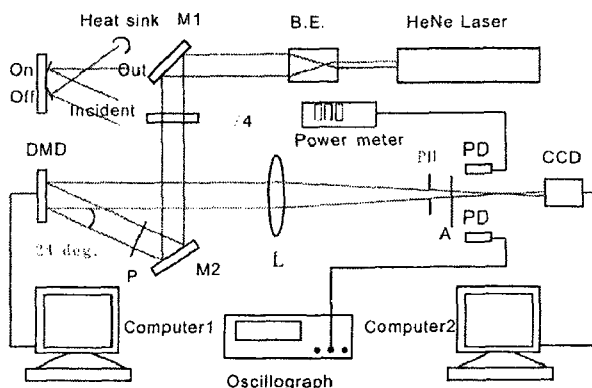


图 7.5 数字微镜器件实现涡旋光束的实验装置

图 7.5 左上角的插图示意每个独立的微反射镜的工作过程。其中入射光相对于 DMD 外表面夹角为 24° ，当微镜处于开态时，可以确保光线的入射角为 12° ，同时满足出射光线垂直于 DMD 外表面；当微镜处于关闭状态时，出射光线与 DMD 外表面成 48° ，且被放在相应位置的热沉吸收。

7.2.3 DMD 工作曲线的校正

一般地，对于一个投影系统，输入的电压信号和输出的光强并不成线性的关系。通常输入与输出的变化关系定义为伽马曲线。在 DMD 中，激光强度的调制是通过脉宽调制来实现的，脉冲宽度是通过计算机加载在 DMD 上的图形来决定。我们研究了 DMD 上加载均一的灰度图后，出射激光的强度随加载图灰度的变化关系。检测到的激光强度 P 与输入图像的灰度 g 之间的关系可表为

$$P = Tf(g) \quad (7.7)$$

其中 T 是传递系数，它由光路系统中的损耗等决定。为使得输出激光强度和加载图像的灰度间呈现线性变化关系，引入校正函数 $C=C(g)$ 对伽马曲线进行校正。校正后的伽马曲线可表示为

$$P_{corr} = Tf(C(g)) = ag + b \quad (7.8)$$

其中， a 和 b 为两个待定常数。校正函数可以通过未校正的伽马曲线获得。校正函数改变每个输入图像灰度对应的脉冲宽度。事实上，校正过程可以通过直接改变输入图像灰度分布来实现。

测量 DMD 的伽马曲线前, 将 8bit 的灰度 g 从 0 到 255 共 256 幅图依次放到一个 PowerPoint 文件中。幻灯片通过视频图像阵列卡(video graphics array card, VGA)加载到 DMD 上。通过切换幻灯片来实现 DMD 对不同灰度等级的调制。经调制的激光由一个透镜($f=32\text{cm}$)聚焦后照射到激光功率计的探头上, 功率计记录 0 到 255 间不同灰度下激光的功率。图 7.6(a)为校正前实验测得的伽马曲线, 可见校正前伽马曲线为非线性的。

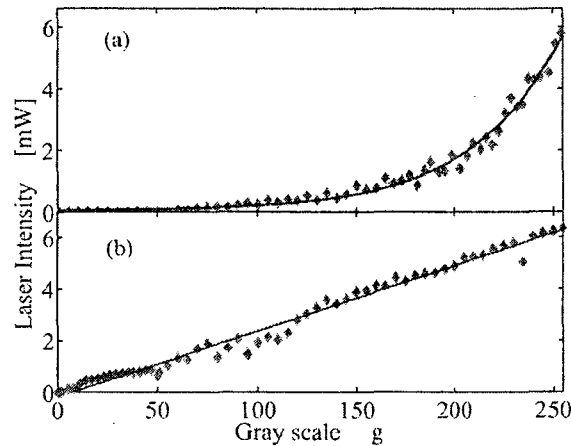


图 7.6 输出激光强度和输入图像灰度之间的关系
(a)校正前的伽马曲线 (b)校正后的伽马曲线

由图 7.6(a)中实验数据可得输出光强和输入灰度之间是非线性的, 二者之间满足如下经验关系: $P=0.019 \times \exp(g/44.6)+0.045(\text{mW})$ 。通过经验的关系, 可以算出伽马曲线的校正函数。经校正以后, 再计算一组均一灰度图的校正图。同样将灰度图导入 ppt 文件, 在放映幻灯片的同时记录调制后激光的强度。校正后的伽马曲线如图 7.6(b)所示。易见校正后伽马曲线为一条直线, 拟合参数为 $P=0.025g-0.186$, 其中 $a=0.025\text{mW/每单位灰度}$, $b=-0.186\text{mW}$ 。同时也表明了实验中所采用的校正过程可以使器件在线性状态运行。

7.2.4 涡旋光束的实验结果

实验上, LG 光可以通过叉形光栅的衍射来产生。我们将拓扑荷为 l 的涡旋相位因子 $\exp(il\phi)$ 和平面波 $\exp(-ik_x x - ik_z z)$ 在 $z=0$ 平面干涉, 通过计算机模拟产生叉形光栅。干涉图形在横向的分布可由下式表示

$$I = |\exp(il\phi) + \exp(-ik_x x)|^2 = 2 + 2\cos(l\phi + k_x x) \quad (7.9)$$

对具有如上式分布透过率函数的相位片, 高斯光束透过相位片图案后, 紧贴全息图后面的光场分布^[219]为

$$E_T = IA_0 \exp\left(-\frac{r^2}{\omega^2}\right) \quad (7.10)$$

其中 A_0 为高斯光束中心的振幅, ω 是光斑的大小。

$$E_T = 2A_0 \exp\left(-\frac{r^2}{\omega^2}\right) + A_0 \exp\left(-\frac{r^2}{\omega^2}\right)e^{i(k_x x - l\theta)} + A_0 \exp\left(-\frac{r^2}{\omega^2}\right)e^{i(-k_x x + l\theta)} \quad (7.11)$$

式(7.11)可见衍射光场由三部分构成。一为沿着光轴方向传播的零级衍射光束, 还有两级为共轭的包含相反拓扑荷的相位奇点光束。早期也可以通过二值化的全息图来获得 LG 光^[219], 采用可编程的空间光调制器后, 投射正弦分布的光栅也很容易。我们通过计算机绘制具有式(7.9)分布的透过率函数, 再经 VGA 数据线传送给 DMD。准直的激光束照到 DMD 上后即可产生 LG 光。实验中采用的光栅周期为 $100\mu\text{m}$, 对应 10lines/mm 。

通过式(7.9)模拟的叉形光栅分布图如图 7.7 中的第一行所示, 其中从左到右对应的拓扑荷分别为 $l=1, 2, 3$ 。采用 7.3.3 节的校正函数 $C(g)$ 对叉形光栅进行校正, 得到校正后的光栅分布如图 7.7 中的第二行所示。

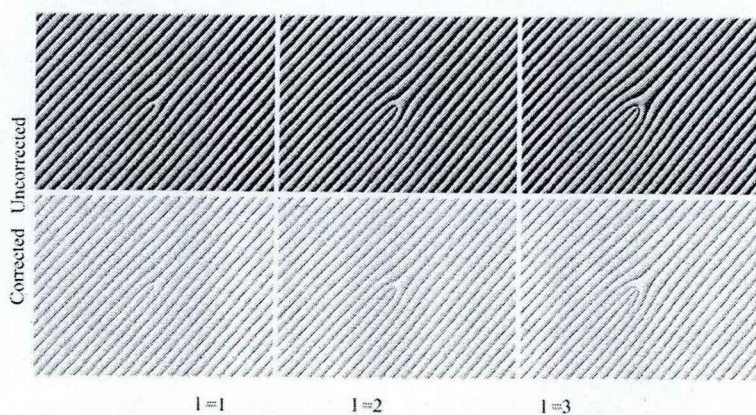


图 7.7 校正前后的光栅示意图。从左到右分别对应拓扑荷 $l=1, 2, 3$;

第一行对应于未经校正的光栅图, 第二行对应校正后的分布。

实验测得的 LG 光的横向光场分布如图 7.8 所示。第一行的结果为 DMD 上加载的光栅没有经过校正得到的衍射光场分布; 第二行对应的为光栅经校正后测得的 LG 光场的分布图。从左到右对应的拓扑荷分别为 $l=1, 2, 3$ 。由图易见, 不同的拓扑荷的叉形光栅产生的 LG 光的半径不一样大, 拓扑荷大的叉产生的

LG 光束的半径也相应地大。

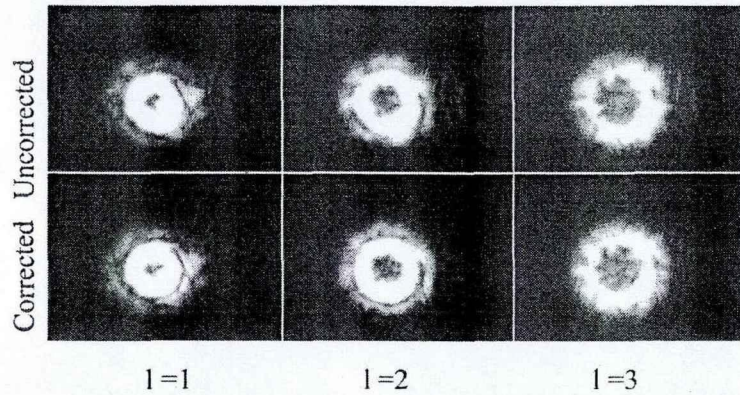


图 7.8 LG 横向光场分布。从左到右分别对应拓扑荷 $l=1, 2, 3$;

第一行、第二行分别对应于未经校正的叉形光栅、校正后光栅衍射结果,。

为验证校正前后的能量变化,我们对加载不同拓扑荷的叉形光栅后形成的 LG 光的 +1 级衍射能量进行了测量,结果如图 7.9 所示。测量过程中采用一个小孔放在聚焦透镜的焦点附近,限制 0 级衍射和高级衍射光斑,确保只有 +1 级衍射光斑进入激光功率计探头。实验结果表明,对不同拓扑荷的叉形光栅,校正后的 +1 级衍射能量高于校正前的衍射能量。对校正后的光栅, +1 级衍射能量随拓扑荷的增大而减小。这与采用傅里叶变换对叉形光栅的 +1 级衍射光斑能量分析所得的理论结果一致。

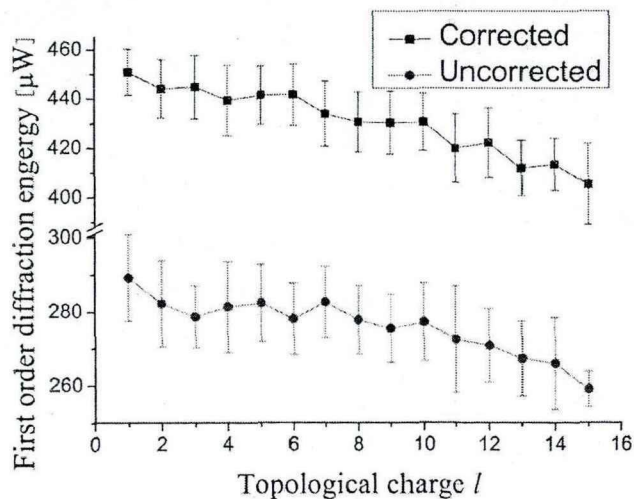


图 7.9 LG 光场能量随拓扑荷的变化关系。圆点表示光栅未经校正的情形;

方块点表示光栅经校正后产生的 LG 光的能量。

实验结果显示,通过对叉形光栅进行校正,可以产生衍射能量较高的 LG 光,表明校正过程有效地提高了所生成的 LG 光的衍射效率。对校正后的叉形光栅,所测量得到的衍射光的能量随着拓扑荷的增大而减小,这是因为所采用固定半径的小孔,激光能量分布半径的增大导致部分能量被小孔截止,这个实验结果也说明了随着拓扑荷的增加, LG 光光强横向分布图的半径增大。

7.3 DMD 实现涡旋光束偏振态研究

前面的分析可知,通过脉宽调制可以实现数字微镜对光束强度的整形。而一般描述一束激光有四个要素,即激光的振幅、相位、频率和偏振。数字微镜在对激光强度调制的同时,对激光的相位、频率和偏振是否有调制?事实上数字微镜可以认为是一个无色散的元件,因而对激光的频率的调制可以忽略。对相位的调制,可以通过光栅的衍射来分析,即在主对角线上每个微镜间反射的光束不产生相位差,在副对角线上的每个相邻的反射镜之间产生固有的相位差,对任意两个微镜间反射光束的相位差异,可类似分析,但较复杂。一般情况下可不分析 DMD 对光束相位的调制。本节拟通过对线偏振入射的准直高斯光束经 DMD 调制后偏振态的测量来研究 DMD 对光束偏振态调控的固有特性,并从微镜表面镀膜的物理特性来对实验现象进行解释。

7.3.1 实验结果

线性偏振的激光束经投射在 DMD 上的叉形光栅衍射后,产生 LG 光,其偏振态和初始的入射激光的偏振态是不一样的。在图 7.5 中,偏振片 P 的方向可以旋转以确保入射光为 p 偏振的。出射光的偏振态通过测量位于检偏器 A 后面的激光能量来测得。对拓扑荷为 $l=1$ 的 LG 光,其偏振态的极坐标图如图 7.10 (a) 所示,其偏振态可以计算为 (DOP) $\beta_1=(I_{\max}-I_{\min})/(I_{\max}+I_{\min})=(100-30)/(100+30)=0.54$ 。图 7.10(a)的结果反映了激光的偏振度变差,且偏振的方向发生旋转,约旋转 90° 。入射光为 s 偏振时出射光的偏振态如图 7.10(b)所示,对应的偏振度为 $\beta_2=(I_{\max}-I_{\min})/(I_{\max}+I_{\min})=(71-23)/(71+23)=0.51$,出射光的偏振方向相对于入射光也旋转约 90° 。

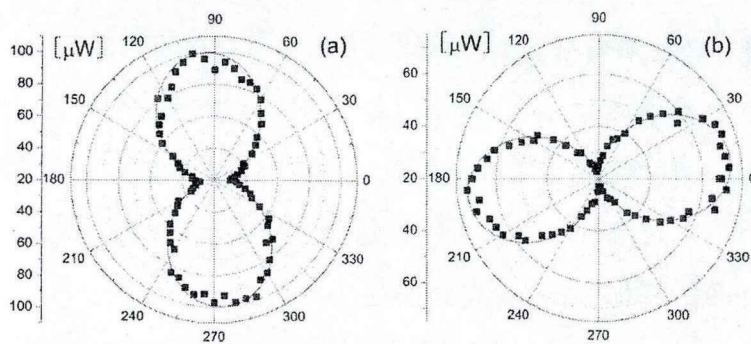


图 7.10 LG 光场偏振态的测量。(a)入射线偏振激光的偏振方向沿水平方向 (b)入射线偏振激光的偏振方向沿竖直方向。

经 DMD 调制后, 出射光的偏振态的变化不仅是在 LG 光的产生实验中有这样的结果。实验中, 我们还对 DMD 上加载均一的灰度图进行类似的实验, 其结果也是一致的。为说明经 DMD 调制后激光的偏振方向的旋转以及偏振度的变小, 以及后续实验中更好地认识和利用调制后激光的偏振态, 需要从 DMD 的物理特性出发对经 DMD 调制前后激光的偏振态进行分析。

7.3.2 理论分析

事实上, 为增大 DMD 的反射率, 所有的微镜表明镀有一层铝膜。因而偏振态的变化可由光在金属表面的折射定律来分析。激光由空气中照射到铝膜表面, 再经铝膜反射, 这里假设第一层介质是介电的, 折射的介质是铝膜, 其复折射率可表示为 $\hat{n} = n + ki$ 。光的折射定律表明, 入射光的 p 偏振和 s 偏振的振幅分量 $A_{//}$, A_{\perp} 和反射光的对应分量 $R_{//}$, R_{\perp} 之间的关系由下式表示^[239]:

$$R_{//} = \frac{\tan(\theta_i - \theta_t)}{\tan(\theta_i + \theta_t)} A_{//} \quad (7.12)$$

$$R_{\perp} = -\frac{\sin(\theta_i - \theta_t)}{\sin(\theta_i + \theta_t)} A_{\perp} \quad (7.13)$$

其中 θ_i 和 θ_t 分别表示入射角和折射角, 入射角和反射角间由 $\sin \theta_i = \hat{n} \sin \theta_t$ 关联。因 \hat{n} 是复数, θ_t 和 $R_{//}/A_{//}$ 以及 R_{\perp}/A_{\perp} 都是复数。设 $\phi_{//}$ 和 ϕ_{\perp} 为相位的变化, $\rho_{//}$ 和 ρ_{\perp} 为反射系数的绝对值^[239],

$$r_{//} = \frac{R_{//}}{A_{//}} = \rho_{//} e^{i\phi_{//}} \quad (7.14)$$

$$r_{\perp} = \frac{R_{\perp}}{A_{\perp}} = \rho_{\perp} e^{i\phi_{\perp}} \quad (7.15)$$

假设入射光是线偏振的，且方位角为 α_i

$$\tan \alpha_i = \frac{A_{\perp}}{A_{//}} \quad (7.16)$$

并设反射光的方位角为 α_r 。则有^[239]

$$\tan \alpha_r = \frac{R_{\perp}}{R_{//}} = -\frac{\cos(\theta_i - \theta_t)}{\cos(\theta_i + \theta_t)} \tan \alpha_i = P e^{-i\Delta} \tan \alpha_i \quad (7.17)$$

其中， $P = \rho_{\perp} / \rho_{//}$ ， $\Delta = \phi_{//} - \phi_{\perp}$

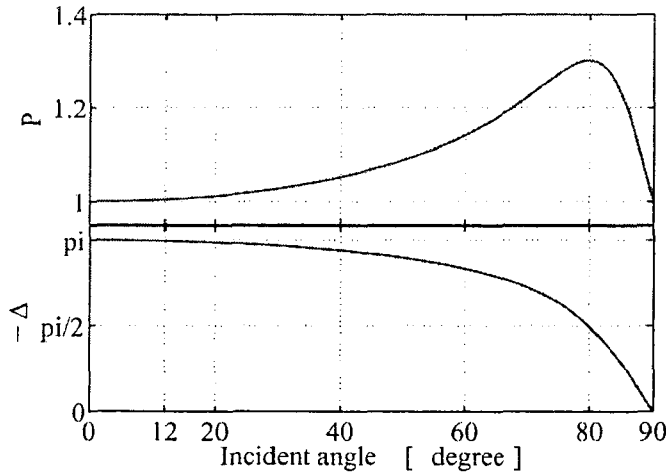


图 7.11 P 和 $-\Delta$ 随入射角的变化关系。

1953 年 Schulz 等^[240, 241]测量了在铝和空气表面不同波长光的折射率 n 和吸收系数 k ，在 633nm 处折射率和吸收系数可以从他们的实验结果中拟合得到。拟合结果表明铝的复折射率为 $\hat{n} = n + ki = 1.44 + 5.23i$ 。根据式(7.16)和式(7.17)，可求出 P 和 $-\Delta$ 随激光入射角的变化关系，如图 7.11 所示。实验中，DMD 处于开态时，激光的实际入射角为 $\theta_i = 12^\circ$ ，此时 $P \approx 1.0043$ ， $-\Delta = 3.13 \text{ rad}$ ，这表明， s 偏振和 p 偏振激光的反射率基本相同，但二者之间有附加 $\pi \text{ rad}$ 的相位差。这是对 LG 光的偏振方向相对于入射激光偏转约 90° 的一个最合理的解释。

7.3.3 偏振度较低的可能解释

在图 7.10 所示的两种情况中,入射光的偏振度 $\beta > 0.91$ 。实验测得经校正后两种情况下的 LG 的偏振度分别为 $\beta_1 = 0.54$ 和 $\beta_2 = 0.51$,这表明输出光的偏振度比照射到 DMD 上的激光的偏振度低很多。一个合理的解释是 DMD 在工作时,微镜处于不断的切换状态,微镜在切换过程中,入射光的入射角度相对于微镜是变化的,根据公式(7.14)和(7.15),复反射系数也随之变化。由不同复反射系数调制的光经 DMD 以后会相互干涉,导致偏振度的变小。

另外,输出光比输入光的强度小很多,这导致噪声在信号中的比例提高。这意味着输出光的信噪比降低,输出激光的偏振度也随之下降。在我们的实验中,DMD 后、探测器前还有一个聚焦透镜,聚焦透镜的引入也会使得激光的偏振度发生变化。

7.4 本章小结

本章工作主要围绕利用数字微镜器件实现拉盖尔-高斯光束来展开的。如何利用好数字微镜器件是建立在对该器件正确认识的基础上的。数字微镜器件作为一种振幅型的空间光调制器,是通过加载在每个微镜像元上的电压信号的占空比来调制输出光的强度的。在器件的使用过程中,我们发现输出的光强和输入的信号占空比之间并不是线性的变化关系,这会对激光的能量造成很大的损失,且所调制的光强并不完全反映所需的光强的分布。为了使得调制后的光强分布充分反映目标场且提高能量的利用率,需要一套合适的方法对加载在微镜上的信号进行校正。实验上通过测量校正前的伽马曲线,再有针对性地对伽马曲线进行校正,使得输出激光功率和输入信号脉冲的占空比成线性变化关系。

在对数字微镜器件调制曲线校正后,我们以拉盖尔-高斯光束的生成为例来实现数字微镜器件对光束的整形。本工作的意义在于,探索数字微镜器件在光束整形方面的应用,以及进一步利用整形后的光束来做全息光镊打下良好的基础。

第8章 总结与展望

在单分子生物物理、复杂流体和软物质等领域中,多数研究都属于交叉学科。这些研究需要理论、和实验的密切配合。理论上,一方面预测可能产生的实验结果;另一方面,对所获得的实验数据进行分析、解释。实验上不仅依赖于理论的指导,更需要利用诸如计算机、光电子、软件、生物化学、生物物理等多学科的交叉融合来获得对人类有用的实验数据。本文目的是通过交叉学科中的几个基本的例子来阐释与新型调制光镊相关的基本理论以及实验技术,并通过单分子生物物理、软物质等领域的几个例子的介绍来探索新型调制光镊在这些应用领域如何发挥作用。完成的主要工作有,

一、在全息光镊理论方面,在适应相加(adaptive additive)算法的基础上,设计了一种优化的全息光镊相位片计算算法,改算法的优点是将高斯分布的光场带入理想阵列光阱中每个光阱中。对不同理想光点范围以及束腰半径等对设计光场衍射效率以及光场相对理想光场均匀度等的分析表明,和传统的基于均匀分布理想光斑设计出的阵列光镊相比,该算法设计出的阵列光镊具有较大的梯度力^[242]。

二、全息光镊实验方面主要工作有,(1)、采用优化的相位片算法计算的相位片,成功地将单模高斯光束变成多种多样的阵列光镊,如3x3形阵列、六角结构等,进而实现聚苯乙烯小球在这些阵列光镊中的捕获^[242]。(2)、成功实现涡旋光阱旋转微观粒子,如酵母细胞等,不仅可旋转单个酵母细胞,还可以同时旋转多个酵母细胞,并且可以控制酵母细胞的旋转方向^[46]。(3)、采用高性能计算机实现阵列光阱中,典型地如阵列四光阱,多个聚苯乙烯小球图像的并行处理,大大缩短计算机图像处理的时间,实现全息阵列光阱的快速并行标定,这为全息阵列光阱的进一步应用打下良好的基础^[151]。(4)、设计并制备不同组分的 α 相 ZrP 纳米碟,并用激光光镊纳米碟进行微操控实验。通过 X 射线衍射和 SEM 等对所制备的样品进行结构和物性的表征。在全息光镊设备上成功捕获单个纳米碟并进行操控,实现多个纳米碟的并行操控^[243]。(5)、采用泽尼克多项式对基于透镜-光栅(GL)算法所生成全息相位片进行校正,有效地提高所生成的阵列光阱的刚度^[244]。

三、在光镊的捕获理论方面，我们设计了一套基于蒙特卡洛的算法，有效地对在时分复用光阱中的小球的布朗运动进行模拟，通过能量均分原理可以求解出时分复用多光阱的有效刚度^[50]。实验上，我们通过旋转玻片和声光衍射器等分别在低切换频率段和高切换频率段对光阱有效刚度随切换频率变化关系进行了测量^[188]，并得出与理论模拟吻合较好的实验结果^[49]。此外我们还对振荡光阱中粒子的动力学行为进行了理论模拟研究，并将相关的理论研究成果整理在 Intech 出版社出版的“Applications of Monte Carlo Methods in Science and Engineering”一书中加以专题介绍^[68]。

四、在单分子生物物理方面，通过全程参与耶鲁大学的下一代带荧光探测的高精度激光双光镊的搭建，对高精度激光双光镊的各个环节有了较深入的理解。包括光学设计、光电子、数据与信号采集测量、微流控等。在设备功能方面，成功实现高精度的激光双光镊、恒力模式、变力模式、单分子荧光、宽场荧光显微成像^[206]。所参与搭建的光镊能够清晰分辨单个分子的荧光，实现伸长量一个碱基对的位移精度。应用方面，设计了一系列不同长度、不同序列、不同位置的互补单链 DNA 片段，并详细研究了这些互补单链 DNA 片段对 DNA 发卡折叠/去折叠动力学过程的影响，得到很好的三重态跃迁的数据。通过隐马尔科夫算法对 DNA 折叠过程中的跃迁曲线进行拟合，得到反映平衡常数，每个态的寿命以及跃迁几率等信息，进一步可以做出折叠过程中的自由能曲线。

五、全息光镊的早期工作中，我还探索了用离子束刻蚀的相位片以及数字微镜器件生成涡旋光束。我们将计算机生成的图形通过激光直写技术加工成铬板掩膜，再用离子束刻蚀技术加工全息相位片，获得纯相位型的衍射光学元件，成功实现将高斯光束转化为叠加的 LG 光束^[111]。数字微镜器件方面，通过对数字微镜性能的测试，学会正确使用 DMD，并成功地获得 LG 光^[47]。这些工作为后续全息光镊的成功搭建奠定良好的实验和理论基础。

后续工作将围绕全息光镊的应用深入地展开。在第 3.6.4 节，我提出并设计软物质综合测量系统^[154]，将高精度、超快速探测的单光镊和全息光镊结合，有望实现布朗运动的超快弛豫过程的测量、宽频流变学的测量、活体细胞的光致旋转、胶体多个粒子相互作用的并行测量等多功能复杂性能的测试。有理由相信实验室在未来几年内将会在该软物质综合测量系统上做出一系列高水平的工作。

参考文献

- [1] Liphardt J, Onoa B, Smith SB *et al.* Reversible Unfolding of Single RNA Molecules by Mechanical Force[J]. *Science*. 2001, 292(5517): 733-737.
- [2] Chen G, Chang K-Y, Chou M-Y *et al.* Triplex structures in an RNA pseudoknot enhance mechanical stability and increase efficiency of -1 ribosomal frameshifting[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009, 106(31): 12706-12711.
- [3] Anthony PC, Perez CF, Garcia-Garcia C *et al.* Folding energy landscape of the thiamine pyrophosphate riboswitch aptamer[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012.
- [4] Greenleaf WJ, Frieda KL, Foster DAN *et al.* Direct Observation of Hierarchical Folding in Single Riboswitch Aptamers[J]. *Science*. 2008, 319(5863): 630-633.
- [5] Qu X, Wen J-D, Lancaster L *et al.* The ribosome uses two active mechanisms to unwind messenger RNA during translation[J]. *Nature*. 2011, 475(7354): 118-121.
- [6] 郝柏林. 生物领域是数理和计算机科学的广阔用武之地[J]. *科技导报*. 2010, 28(11): 3.
- [7] Saha A, Wittmeyer J, Cairns BR. Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006, 7(6): 437-447.
- [8] Wang MD, Yin H, Landick R *et al.* Stretching DNA with optical tweezers[J]. *Biophysical journal*. 1997, 72(3): 1335-1346.
- [9] Zwanzig R, Szabo A, Bagchi B. Levinthal's paradox[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992, 89(1): 20-22.
- [10] Onuchic JN, Luthey-Schulten Z, Wolynes PG. Theory of protein folding: The Energy Landscape Perspective[J]. *Annual Review of Physical Chemistry*. 1997, 48(1): 545-600.
- [11] Onuchic JN, Wolynes PG. Theory of protein folding[J]. *Current Opinion in Structural Biology*. 2004, 14(1): 70-75.
- [12] 舒咬根, 欧阳钟灿. 生物分子马达[J]. *物理学报*. 2007, 36(10): 735-741.
- [13] Sarangapani KK, Yago T, Klopocki AG *et al.* Low force decelerates L-selectin dissociation from P-selectin glycoprotein ligand-1 and endoglycan[J]. *Journal of Biological Chemistry*. 2004, 279(3): 2291-2298.
- [14] Long M, Zhao H, Huang KS *et al.* Kinetic measurements of cell surface E-selectin/carbohydrate ligand interactions[J]. *Annals of Biomedical Engineering*. 2001, 29(11): 935-946.
- [15] Ribeck N, Saleh OA. Multiplexed single-molecule measurements with magnetic tweezers[J]. *Review of Scientific Instruments*. 2008, 79(9): 094301
- [16] Knöner G, Rolfe BE, Campbell JH *et al.* Mechanics of cellular adhesion to artificial artery templates[J]. *Biophysical Journal*. 2006, 91: 3085-3096.
- [17] Stout AL. Detection and characterization of individual intermolecular bonds using optical tweezers[J]. *Biophysical Journal*. 2001, 80(6): 2976-2986.
- [18] Mitri FG. Radiation force of acoustical tweezers on a sphere: The case of a

- high-order Bessel beam of quasi-standing waves of variable half-cone angles[J]. *Applied Acoustics*. 2010, 71(5): 470-472.
- [19] Evans E, Leung A, Hammer D *et al*. Chemically distinct transition states govern rapid dissociation of single L-selectin bonds under force[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001, 98(7): 3784-3789.
- [20] Neuman KC, Nagy A. Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy[J]. *Nature Methods*. 2008, 5(6): 491-505.
- [21] Weisel JW, Shuman H, Litvinov RI. Protein-protein unbinding induced by force: single-molecule studies[J]. *Current Opinion in Structural Biology*. 2003, 13(2): 227-235.
- [22] Moffitt JR, Chemla YR, Smith SB *et al*. Recent Advances in Optical Tweezers[J]. *Annual Review of Biochemistry*. 2008, 77(1): 205-228.
- [23] Cui Y, Bustamante C. Pulling a single chromatin fiber reveals the forces that maintain its higher-order structure[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000, 97(1): 127-132.
- [24] Abbondanzieri EA, Greenleaf WJ, Shaevitz JW *et al*. Direct observation of base-pair stepping by RNA polymerase[J]. *Nature*. 2005, 438(7067): 460-465.
- [25] Dame RT, Noom MC, Wuite GJL. Bacterial chromatin organization by H-NS protein unravelled using dual DNA manipulation[J]. *Nature*. 2006, 444(16): 387-390.
- [26] 郝柏林. 基因组测序永无止境的根本原因[J]. *科学*. 2011, 63(5): 5-10.
- [27] Woodside MT, Behnke-Parks WM, Larizadeh K *et al*. Nanomechanical measurements of the sequence-dependent folding landscapes of single nucleic acid hairpins[J]. 2006, 103(16): 6190-6195.
- [28] 郝柏林. 布朗运动理论一百年[J]. *物理*. 2011, 40(1): 1-7.
- [29] Watanabe TM, Iwane AH, Tanaka H *et al*. Mechanical Characterization of One-Headed Myosin-V Using Optical Tweezers[J]. *PLoS ONE*. 2010, 5(8): e12224.
- [30] Dominguez-Espinosa G, Synytska A, Drechsler A *et al*. Optical tweezers to measure the interaction between poly(acrylic acid) brushes[J]. *Polymer*. 2008, 49(22): 4802-4807.
- [31] Mossa A, Huguet JM, Ritort F. Investigating the thermodynamics of small biosystems with optical tweezers[J]. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*. 2010, 42(3): 666-671.
- [32] Wu JG, Li YM, Lu D *et al*. Probing membrane elasticity of red blood cell with osmotic pressures using single optical tweezers[J]. *Cryo Lett*. 2009, 30(2): 89-95.
- [33] Kruithof M, Chien F-T, Routh A *et al*. Single-molecule force spectroscopy reveals a highly compliant helical folding for the 30-nm chromatin fiber[J]. *Nat Struct Mol Biol*. 2009, 16(5): 534-540.
- [34] Mauritz J, Esposito A, Tiffert T *et al*. Biophotonic techniques for the study of malaria-infected red blood cells[J]. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 2010, 48(10): 1055-1063.
- [35] Fuhrmanek A, Sortais YRP, Grangier P *et al*. Measurement of the atom number distribution in an optical tweezer using single-photon counting[J]. *Physical Review A*.

2010, 82(2): 023623.

[36] Li T, Kheifets S, Medellin D *et al.* Measurement of the Instantaneous Velocity of a Brownian Particle[J]. *Science*. 2010, 328(5986): 1673-1675.

[37] Collin D, Ritort F, Jarzynski C *et al.* Verification of the Crooks fluctuation theorem and recovery of RNA folding free energies[J]. *Nature*. 2005, 437(7056): 231-234.

[38] Ritort F. Fluctuations in open systems[J]. *Physics*. 2009, 2(43).

[39] Mossa A, Lorenzo Sd, Huguet JM *et al.* Measurement of work in single-molecule pulling experiments[J]. *The Journal of Chemical Physics*. 2009, 130: 234116.

[40] Campisi M, Talkner P, Hänggi P. Fluctuation Theorem for Arbitrary Open Quantum Systems[J]. *Physical Review Letters*. 2009, 102(21): 210401.

[41] Li T, Kheifets S, Raizen MG. Millikelvin cooling of an optically trapped microsphere in vacuum[J]. *Nat Phys*. 2011, 7(7): 527-530.

[42] Huang R, Chavez I, Taute KM *et al.* Direct observation of the full transition from ballistic to diffusive Brownian motion in a liquid[J]. *Nat Phys*. 2011, 7(7): 576-580.

[43] SchneiderCh, EnderleinM, HuberT *et al.* Optical trapping of an ion[J]. *Nat Photon*. 2010, 4(11): 772-775.

[44] Kaz DM, McGorty R, Mani M *et al.* Physical ageing of the contact line on colloidal particles at liquid interfaces[J]. *Nat Mater*. 2011, advance online publication.

[45] Meng B-H, Wu J-G, Li Y-M *et al.* Aging process of the bond between colloidal particles measured using laser tweezers[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Eng. Aspects*. 2008, 322: 253-255.

[46] 高红芳, 任煜轩, 刘伟伟 *et al.* 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.

[47] Ren Y-X, Li M, Huang K *et al.* Experimental generation of Laguerre-Gaussian beam using digital micromirror device[J]. *Appl. Opt*. 2010, 49(10): 1838-1844.

[48] 吴建光, 任煜轩, 王自强 *et al.* 旋转玻片法实现分时复用多光阱[J]. *中国激光*. 2009, 36(10): 2751-2756.

[49] Ren Y-X, Wu J-G, Chen M *et al.* Stability of novel time-sharing dual optical tweezers using a rotating tilt glass plate[J]. *Chinese Physics Letters*. 2010, 27(2): 028703.

[50] Ren Y-X, Wu J-G, Zhong M-C *et al.* Monte Carlo simulation of effective stiffness of time-sharing optical tweezers[J]. *Chinese Optics Letters*. 2010, 8(2): 170-172.

[51] Hough LA, Ou-Yang HD. Viscoelasticity of aqueous telechelic poly(ethylene oxide) solutions: Relaxation and structure[J]. *Physical Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)*. 2006, 73(3): 031802-031808.

[52] Wei M-T, Zaorski A, Yalcin HC *et al.* A comparative study of living cell micromechanical properties by oscillatory optical tweezers[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(12): 8594-8603.

[53] Moffitt JR, Chemla YR, Izhaky D *et al.* Differential detection of dual traps improves the spatial resolution of optical tweezers[J]. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences. 2006, 103(24): 9006-9011.
- [54] Greenleaf WJ, Woodside MT, Abbondanzieri EA *et al.* Passive All-Optical Force Clamp for High-Resolution Laser Trapping[J]. Physical Review Letters. 2005, 95(20): 208102.
- [55] Comstock MJ, Ha T, Chemla YR. Ultrahigh-resolution optical trap with single-fluorophore sensitivity[J]. Nat Meth. 2011, 8(4): 335-340.
- [56] Jauffred L, Richardson AC, Oddershede LB. Three-Dimensional Optical Control of Individual Quantum Dots[J]. Nano Lett. 2008, 8(10): 3376-3380.
- [57] Selhuber-Unkel C, Zins I, Schubert O *et al.* Quantitative Optical Trapping of Single Gold Nanorods[J]. Nano Lett. 2008, 8(9): 2998-3003.
- [58] Yang AHJ, Moore SD, Schmidt BS *et al.* Optical manipulation of nanoparticles and biomolecules in sub-wavelength slot waveguides[J]. Nature. 2009, 457(7225): 71-75.
- [59] Wiederhecker GS, Chen L, Gondarenko A *et al.* Controlling photonic structures using optical forces[J]. Nature. 2009, 462(7273): 633-636.
- [60] Ohlinger A, Deak A, Lutich AA *et al.* Optically Trapped Gold Nanoparticle Enables Listening at the Microscale[J]. Physical Review Letters. 2012, 108(1): 018101.
- [61] Grier DG. A revolution in optical manipulation[J]. Nature. 2003, 424: 810-816.
- [62] Block SM, Goldstein LSB, Schnapp BJ. Bead movement by single kinesin molecules studied with optical tweezers[J]. Nature. 1990, 348(6299): 348-352.
- [63] Ashikin A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure[J]. Phys. Rev. Lett. 1970, 24(4): 156-159.
- [64] Ashkin A, Dziedzic JM, Bjorkholm JE *et al.* Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles[J]. Opt. Lett. 1986, 11(5): 288-290.
- [65] Ashkin A. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime[J]. Biophys. J. 1992, 61: 569-582.
- [66] Kaputa DS, Kuzmin AN, Kachynski AV *et al.* Dynamics of multiple trapping by a single-beam laser tweezer[J]. Appl. Opt. 2005, 44(19): 3963-3968.
- [67] Mio C, Gong T, Terray A *et al.* Design of a scanning laser optical trap for multiparticle manipulation[J]. Rev. Sci. Instrum. 2000, 71(5): 2196-2200.
- [68] Ren Y-X, Wu J-G, Li Y-M. Application of Monte Carlo Simulation in Optical Tweezers. In: Mordechai S, ed. Applications of Monte Carlo Method in Science and Engineering. Rijeka: Intech; 2011:21-34.
- [69] Ou-Yang HD. Design and Applications of Oscillating Optical Tweezers for Direct Measurements of Colloidal Forces. In: Colloid-Polymer Interactions: From Fundamentals to Practice. New York: John Wiley and Sons; 1999.
- [70] 欧阳钟灿. 软物质[J]. 创新科技. 2007, (5): 44-45.
- [71] 陆坤权, 刘寄星. 软物质物理--物理学的新学科[J]. 物理. 2009, 38(7): 453-461.
- [72] Lee H, Ferrer JM, Nakamura F *et al.* Passive and active microrheology for cross-linked F-actin networks in vitro[J]. Acta Biomaterialia. 2010, 6(4): 1207-1218.
- [73] Zhang X, Halvorsen K, Zhang C-Z *et al.* Mechanoenzymatic Cleavage of the Ultralarge Vascular Protein von Willebrand Factor[J]. Science. 2009, 324(5932):

1330-1334.

- [74] Gao Y, Sirinakis G, Zhang Y. Highly Anisotropic Stability and Folding Kinetics of a Single Coiled Coil Protein under Mechanical Tension[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(32): 12749-12757.
- [75] Xu S, Sun Z. Progress in coagulation rate measurements of colloidal dispersions[J]. *Soft Matter*. 2011, 7: 11298-11308.
- [76] Xu SH, Lou LR, Li YM *et al.* On the aggregation kinetics of two particles trapped in an optical tweezers[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2005, 255: 159-163.
- [77] Xu S-H, Li Y-M, Lou L-R *et al.* Computer simulation of the collision frequency of two particles in optical tweezers[J]. *Chin. Phys.* 2005, 14(02): 382-385.
- [78] Xu SH, Sun ZW. Computer simulation on the collision-sticking dynamics of two colloidal particles in an optical trap[J]. *J. Chem. Phys.* 2007, 126: 144903.
- [79] Neuman KC, Block SM. Optical trapping[J]. *Review of Scientific Instruments*. 2004, 75(9): 2787-2809.
- [80] 吴建光, 陈晨, 朱敏生 *et al.* 光镊技术研究小鼠细胞膜力学特性. In: 中国遗传学会第十届全国激光生物学学术会议; 2009; 武汉; 2009. p. 20.
- [81] Harris J, McConnell G. Optical trapping and manipulation of live T cells with a low numerical aperture lens[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(18): 14036-14043.
- [82] Pitzek M, Steiger R, Thalhammer G *et al.* Optical mirror trap with a large field of view[J]. *Opt. Express*. 2009, 17(22): 19414-19423.
- [83] Ojala H, Korsback A, Wallin AE *et al.* Optical position clamping with predictive control[J]. *Applied Physics Letters*. 2009, 95(18): 181104-181103.
- [84] Jiang H, Powers TR. Curvature-Driven Lipid Sorting in a Membrane Tubule[J]. *Physical Review Letters*. 2008, 101(1): 018103.
- [85] Evans EA, Waugh R, Melnik L. Elastic area compressibility modulus of red cell membrane[J]. *Biophysical Journal*. 1976, 16(6): 585-595.
- [86] Bo L, Waugh RE. Determination of bilayer membrane bending stiffness by tether formation from giant, thin-walled vesicles[J]. *Biophysical Journal*. 1989, 55(3): 509-517.
- [87] Derényi I, Jülicher F, Prost J. Formation and Interaction of Membrane Tubes[J]. *Physical Review Letters*. 2002, 88(23): 238101.
- [88] Cuvelier D, Derényi I, Bassereau P *et al.* Coalescence of Membrane Tethers: Experiments, Theory, and Applications[J]. *Biophysical Journal*. 2005, 88(4): 2714-2726.
- [89] Ho JS, Baumgärtner A. Simulations of Fluid Self-Avoiding Membranes[J]. *EPL (Europhysics Letters)*. 1990, 12(4): 295.
- [90] Roux A, Cappello G, Cartaud J *et al.* A minimal system allowing tubulation with molecular motors pulling on giant liposomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002, 99(8): 5394-5399.
- [91] Nambiar R, McConnell RE, Tyska MJ. Control of cell membrane tension by myosin-I[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009, 106(29): 11972-11977.
- [92] Bosanac L, Aabo T, Bendix PM *et al.* Efficient Optical Trapping and

- Visualization of Silver Nanoparticles[J]. *Nano Lett.* 2008, 8(5): 1486-1491.
- [93] Moffitt JR, Chemla YR, Smith SB *et al.* Recent Advances in Optical Tweezers[J]. *Annu. Rev. Biochem.* 2008, 77: 19.11-19.24.
- [94] Izdebskaya YV, Shvedov VG, Desyatnikov AS *et al.* Counterpropagating nematics in bias-free liquid crystals[J]. *Opt. Express.* 2010, 18(4): 3258-3263.
- [95] Lin T-H, Huang Y, Zhou Y *et al.* Photo-patterning micro-mirror devices using azo dye-doped cholesteric liquid crystals[J]. *Opt. Express.* 2006, 14(10): 4479-4485.
- [96] Hu Y, Zhang P, Lou C *et al.* Optimal control of the ballistic motion of Airy beams[J]. *Opt. Lett.* 2010, 35(13): 2260-2262.
- [97] Ota T, Kawata S, Sugiura T *et al.* Dynamic axial-position control of a laser-trapped particle by wave-front modification[J]. *Opt. Lett.* 2003, 28(6): 465-467.
- [98] Liesener J, Reicherter M, Tiziani HJ. Determination and compensation of aberrations using SLMs[J]. *Optics Communications.* 2004, 233(1-3): 161-166.
- [99] Dai HT, Sun XW, Luo D *et al.* Airy beams generated by a binary phase element made of polymer-dispersed liquid crystals[J]. *Opt. Express.* 2009, 17(22): 19365-19370.
- [100] Wang H-T, Wang X-L, Li Y *et al.* A new type of vector fields with hybrid states of polarization[J]. *Opt. Express.* 2010, 18(10): 10786-10795.
- [101] Dufresne ER, Grier DG. Optical tweezer arrays and optical substrates created with diffractive optics[J]. *Rev. Sci. Instrum.* 1998, 69(5): 1974-1977.
- [102] Dufresne ER, Spalding GC, Dearing MT *et al.* Computer-generated holographic optical tweezer arrays[J]. *Rev. Sci. Instrum.* 2001, 72(3): 1810-1816.
- [103] Reicherter M, Haist T, Wagemann EU *et al.* Optical particle trapping with computer-generated holograms written on a liquid-crystal display[J]. *Opt. Lett.* 1999, 24(9): 608-610.
- [104] Gibson G, Carberry DM, Whyte G *et al.* Holographic assembly workstation for optical manipulation[J]. *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* 2008, 10: 044009.
- [105] Melville H, Milne GF, Spalding GC *et al.* Optical trapping of three-dimensional structures using dynamic holograms[J]. *Opt. Express.* 2003, 11(26): 3562-3567.
- [106] Bowman RW, *et al.* iTweezers: optical micromanipulation controlled by an Apple iPad[J]. *Journal of Optics.* 2011, 13(4): 044002.
- [107] Kurokawa K, Tamada D, Makita S *et al.* Adaptive optics retinal scanner for one-micrometer light source[J]. *Opt. Express.* 2010, 18(2): 1406-1418.
- [108] Shaw M, Hall S, Knox S *et al.* Characterization of deformable mirrors for spherical aberration correction in optical sectioning microscopy[J]. *Opt. Express.* 2010, 18(7): 6900-6913.
- [109] 任煜轩, 周金华, 吴建光 *et al.* 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.
- [110] Chang C-M, Shieh H-PD. Design of illumination and projection optics for projectors with single digital micromirror devices[J]. *Appl. Opt.* 2000, 39(19): 3202-3208.
- [111] 任煜轩, 吴建光, 周小为 *et al.* 相位片角向衍射产生拉盖尔高斯光束的实

- 验研究[J]. 物理学报. 2010, 59(6): 3930-3935.
- [112] Gennes PGd, Prost J, eds. The Physics of Liquid Crystals. 2nd ed: Oxford University Press; 1993.
- [113] Lydon J. Chromonic mesophases[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2004, 8(6): 480-490.
- [114] Vieweg N, Jansen C, Shakfa MK *et al.* Molecular properties of liquid crystals in the terahertz frequency range[J]. Opt. Express. 2010, 18(6): 6097-6107.
- [115] Thurston RN, Berreman DW. Equilibrium and stability of liquid-crystal configurations in an electric field[J]. Journal of Applied Physics. 1981, 52(1): 508-509.
- [116] Osten S. SLM pluto-vis specifications. In: Ren Y, ed. Hefei: Private communication; 2010.
- [117] Davis JA, Moreno I, Tsai P. Polarization Eigenstates for Twisted-Nematic Liquid-Crystal Displays[J]. Appl. Opt. 1998, 37(5): 937-945.
- [118] Guo C-S, Yue S-J, Wang X-L *et al.* Polarization-selective diffractive optical elements with a twisted-nematic liquid-crystal display[J]. Appl. Opt. 2010, 49(7): 1069-1074.
- [119] 葛爱明, 隋展, 徐克口. 反射型 LCOS 器件纯相位调制特性的研究[J]. 物理学报. 2003, 52(10): 2481-2485.
- [120] Cizmar T, Mazilu M, Dholakia K. In situ wavefront correction and its application to micromanipulation[J]. Nat Photon. 2010, 4(6): 388-394.
- [121] Gerchberg RW, Saxton WO. A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures[J]. Optik. 1972, 35: 237-246.
- [122] Deng X-G, Li Y-P, Qiu Y *et al.* Phase-Mixture Algorithm Applied to Design of Pure Phase Elements[J]. Chinese Journal of Lasers. 1995, B4(5): 447-454.
- [123] 杨国桢, 顾本源. 用振幅-相位型全息透镜实现光学变换的一般理论[J]. 物理学报. 1981, 30(3): 414-417.
- [124] Seldowitz MA, Allebach JP, Sweeney DW. Synthesis of digital holograms by direct binary search[J]. Appl. Opt. 1987, 26(14): 2788-2798.
- [125] Georgiou A, Wilkinson TD, Collings N *et al.* An algorithm for computing spot-generating holograms[J]. J. Opt. A: Pure Appl. Opt. 2008, 10(015306).
- [126] Kirkpatrick S, Gelatt CP, Vecchi MP. Optimization by simulated annealing[J]. Science. 1983, 220(4598): 671-680.
- [127] Bennett AP, Shapiro JL. Analysis of genetic algorithms using statistical mechanics[J]. Phys. Rev. Lett. 1994, 72(9): 1305-1309.
- [128] Leach J, Wulff K, Sinclair G *et al.* Interactive approach to optical tweezers control[J]. Appl. Opt. 2006, 45(5): 897-903.
- [129] Sun B, Roichman Y, Grier DG. Theory of holographic optical trapping[J]. Opt. Express. 2008, 16(20): 15765-15776.
- [130] Montes-Usategui M, Pleguezuelos E, Andilla J *et al.* Fast generation of holographic optical tweezers by random mask encoding of Fourier components[J]. Opt. Express. 2006, 14(6): 2101-2107.
- [131] Haist T, Schönleber M, Tiziani HJ. Computer-generated holograms from 3D-objects written on twisted-nematic liquid crystal displays[J]. Opt. Commun. 1997,

140: 299-308.

- [132] He H, Friese MEJ, Heckenberg NR *et al.* Direct observation of transfer of angular momentum to absorptive particles from a laser beam with a phase singularity[J]. *Phys. Rev. Lett.* 1995, 75(5): 826-829.
- [133] Paterson L, MacDonald MP, Arlt J *et al.* Controlled rotation of optically trapped microscopic particles[J]. *Science*. 2001, 292: 912-914.
- [134] van der Horst A, Forde NR. Calibration of dynamic holographic optical tweezers for force measurements on biomaterials[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(25): 20987-21003.
- [135] Farré A, Shayegan M, López-Quesada C *et al.* Positional stability of holographic optical traps[J]. *Opt. Express*. 2011, 19(22): 21370-21384.
- [136] Fazal FM, Block SM. Optical tweezers study life under tension[J]. *Nat Photon*. 2011, 5(6): 318-321.
- [137] Merrill JW, Sainis SK, Blawdziewicz J *et al.* Many-body force and mobility measurements in colloidal systems[J]. *Soft Matter*. 2010, 6(10): 2187-2192.
- [138] Brown AT, Kotar J, Cicuta P. Active rheology of phospholipid vesicles[J]. *Physical Review E*. 2011, 84(2): 021930.
- [139] Tassieri M, Gibson GM, Evans RML *et al.* Measuring storage and loss moduli using optical tweezers: Broadband microrheology[J]. *Physical Review E*. 2010, 81(2): 026308.
- [140] 周炳琨, 高以智, 陈倜嵘 *et al.*, eds. 激光原理. 第6版 ed. 北京: 国防工业出版社; 2009.
- [141] Volke-Sepulveda K, Garcés-Chávez V, Chávez-Cerda S *et al.* Orbital angular momentum of a high-order Bessel light beam[J]. *J. Opt. B: Quantum Semiclass. Opt.* . 2002, 4 S82-S89.
- [142] Allen L, Beijersbergen MW, Spreeuw RJC *et al.* Orbital angular momentum of light and the transformation of Laguerre-Gaussian laser modes[J]. *Phys. Rev. A*. 1992, 45(11): 8185-8189.
- [143] 蔡田, 张晓波, 叶芳伟 *et al.* 产生拉盖尔-高斯模的全息光栅实验研究[J]. *光学学报 Acta Optica Sinica*. 2005, 25(11): 1457-1460.
- [144] Friese MEJ, Enger J, Rubinsztein-Dunlop H *et al.* Optical angular-momentum transfer to trapped absorbing particles[J]. *Physical Review A*. 1996, 54(2): 1593.
- [145] Keen S, Leach J, Gibson G *et al.* Comparison of a high-speed camera and a quadrant detector for measuring displacements in optical tweezers[J]. *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* 2007, 9: S264-S266.
- [146] Gibson GM, Leach J, Keen S *et al.* Measuring the accuracy of particle position and force in optical tweezers using high-speed video microscopy[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(19): 14561-14570.
- [147] Saunter CD. Quantifying Subpixel Accuracy: An Experimental Method for Measuring Accuracy in Image-Correlation-Based, Single-Particle Tracking[J]. *Biophysical Journal*. 2010, 98(8): 1566-1570.
- [148] van der Horst A, Forde NR. Power spectral analysis for optical trap stiffness calibration from high-speed camera position detection with limited bandwidth[J]. *Opt. Express*. 2010, 18(8): 7670-7677.

- [149] Gong Z, Chen HT, Xu SH *et al.* Monte-Carlo simulation of optical trap stiffness measurement[J]. *Opt. Commun.* 2006, 263: 229-234.
- [150] Wong WP, Halvorsen K. The effect of integration time on fluctuation measurements: calibrating an optical trap in the presence of motion blur[J]. *Opt. Express.* 2006, 14(25): 12517-12531.
- [151] Gao H-F, Ren Y-X, Gong L *et al.* Parallel calibration of multiple trap stiffness in holographic optical tweezers[J]. *Chinese Physics Letters.* 2012, submitted.
- [152] Zhong M-C, Zhou J-H, Ren Y-X *et al.* Rotation of birefringent particles in optical tweezers with spherical aberration[J]. *Appl. Opt.* 2009, 48(22): 4397-4402.
- [153] Sun L, Boo WJ, Sue H-J *et al.* Preparation of [small alpha]-zirconium phosphate nanoplatelets with wide variations in aspect ratios[J]. *New Journal of Chemistry.* 2007, 31(1): 39-43.
- [154] 任煜轩, 龚雷, 高红芳 *et al.*, inventors; 基于新型杂化光镊的软物质综合测量系统. 中国. 2011 12.6.
- [155] McCann LI, Dykman M, Golding B. Thermally activated transitions in a bistable three-dimensional optical trap[J]. *Nature.* 1999, 402: 785-787.
- [156] Joykuty J, Mathur V, Venkataraman V *et al.* Direct Measurement of the Oscillation Frequency in an Optical-Tweezers Trap by Parametric Excitation[J]. *Physical Review Letters.* 2005, 95(19): 193902.
- [157] Kubo R. Brownian Motion and Nonequilibrium Statistical Mechanics[J]. *Science.* 1986, 233(4761): 330-334.
- [158] Wang GM, Sevick EM, Mittag E *et al.* Experimental Demonstration of Violations of the Second Law of Thermodynamics for Small Systems and Short Time Scales[J]. *Physical Review Letters.* 2002, 89(5): 050601.
- [159] Li T, Kheifets S, Medellin D *et al.* Measurement of the Instantaneous Velocity of a Brownian Particle[J]. *Science.* 2010: 1189403.
- [160] Li T, Kheifets S, Raizen MG. Millikelvin cooling of an optically trapped microsphere in vacuum[J]. *Nat Phys.* 2011, advance online publication.
- [161] Helfer E, Harlepp S, Bourdieu L *et al.* Microrheology of Biopolymer-Membrane Complexes[J]. *Physical Review Letters.* 2000, 85(2): 457.
- [162] Jeney S, Lukic B, Kraus JA *et al.* Anisotropic Memory Effects in Confined Colloidal Diffusion[J]. *Physical Review Letters.* 2008, 100(24): 240604.
- [163] Franosch T, Jeney S. Persistent correlation of constrained colloidal motion[J]. *Physical Review E.* 2009, 79(3): 031402.
- [164] Eduardo de Oliveira Rodrigues J, Dickman R. Asymmetric exclusion process in a system of interacting Brownian particles[J]. *Physical Review E.* 2010, 81(6): 061108.
- [165] Huang R, Chavez I, Taute KM *et al.* Direct observation of the full transition from ballistic to diffusive Brownian motion in a liquid[J]. *Nat Phys.* 2011, advance online publication.
- [166] Sasaki K, Koshioka M, Misawa H *et al.* Pattern formation and flow control of fine particles by laser-scanning micromanipulation[J]. *Opt. Lett.* 1991, 16(9): 1463-1465.
- [167] Liao G-B, Bareil PB, Sheng Y *et al.* One-dimensional jumping optical

- tweezers for optical stretching of bi-concave human red blood cells[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(3): 1996-2004.
- [168] Ito S, Toitani N, Yamauchi H *et al.* Evaluation of radiation force acting on macromolecules by combination of Brownian dynamics simulation with fluorescence correlation spectroscopy[J]. *Physical Review E*. 2010, 81(6): 061402.
- [169] Yuan X, Zhang Y, Cao R *et al.* Dynamic steering beams for efficient force measurement in optical manipulation[J]. *Chin. Opt. Lett.* 2011, 9(3): 031201.
- [170] Deng Y, Bechhoefer J, Forde MR. Brownian motion in a modulated optical trap[J]. *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* 2007, 9: S256-S263.
- [171] Seol Y, Visscher K, Walton DB. Suppression of Noise in a Noisy Optical Trap[J]. *Physical Review Letters*. 2004, 93(16): 160602.
- [172] Box GEP, Lucas HL. Design of experiments in non-linear situations[J]. *Biometrika*. 1959, 46: 77-90.
- [173] Biebricher A, Wende W, Escudé C *et al.* Tracking of Single Quantum Dot Labeled EcoRV Sliding along DNA Manipulated by Double Optical Tweezers[J]. *Biophysical Journal*. 2009, 96(8): L50-L52.
- [174] Lin B, Yu J, Rice SA. Direct measurements of constrained Brownian motion of an isolated sphere between two walls[J]. *Physical Review E*. 2000, 62(3): 3909.
- [175] Zhou M, Yang H, Di J *et al.* Manipulation on human red blood cells with femtosecond optical tweezers[J]. *Chin. Opt. Lett.* 2008, 6(12): 919-921.
- [176] Moh KJ, Yuan X-C, Tang DY *et al.* Generation of femtosecond optical vortices using a single refractive optical element[J]. *Appl. Phys. Lett.* 2006, 88: 091103.
- [177] Zhang Z, Peng L-Y, Gong Q *et al.* Momentum space analysis of multiphoton double ionization of helium by intense attosecond xuv pulses[J]. *Opt. Express*. 2010, 18(9): 8976-8989.
- [178] Chen J, Itakura R, Nakajima T. Characterization of attosecond XUV pulses utilizing a broadband UV~VUV pumping[J]. *Opt. Express*. 2010, 18(3): 2020-2035.
- [179] Tirilapur UK, Konig K. Cell biology: Targeted transfection by femtosecond laser[J]. *Nature*. 2002, 418(6895): 290-291.
- [180] Shane JC, Mazilu M, Lee WM *et al.* Effect of pulse temporal shape on optical trapping and impulse transfer using ultrashort pulsed lasers[J]. *Opt. Express*. 2010, 18(7): 7554-7568.
- [181] Kozawa Y, Sato S. Demonstration and selection of a single-transverse higher-order-mode beam with radial polarization[J]. *J. Opt. Soc. Am. A*. 2010, 27(3): 399-403.
- [182] Arlt J, Garces-Chavez V, Sibbett W *et al.* Optical micromanipulation using a Bessel light beam[J]. *Opt. Commun.* 2001, 197: 239-245.
- [183] Leach J, Gibson GM, Padgett MJ *et al.* Generation of achromatic Bessel beams using a compensated spatial light modulator[J]. *Opt. Express*. 2006, 14(12): 5581-5587.
- [184] Morris JE, Mazilu M, Baumgartl J *et al.* Propagation characteristics of Airy beams: dependence upon spatial coherence and wavelength[J]. *Opt. Express*. 2009, 17(15): 13236-13245.

- [185] Wang F, Xiao M, Sun K *et al.* Generation of radially and azimuthally polarized light by optical transmission through concentric circular nanoslits in Ag films[J]. *Opt. Express*. 2010, 18(1): 63-71.
- [186] Zhang Y, Ding B, Suyama T. Trapping two types of particles using a double-ring-shaped radially polarized beam[J]. *Physical Review A*. 2010, 81(Copyright (C) 2010 The American Physical Society): 023831.
- [187] Quy HQ, Luu MV, Hai HD *et al.* Simulation of stabilizing process of dielectric nanoparticle in optical trap using counter-propagating pulsed laser beams[J]. *Chin. Opt. Lett.* 2010, 8(3): 332-334.
- [188] Ren Y, Chen M, Wu J *et al.* Effective stiffness of rotating-glass-plate time-sharing multiple optical tweezers. In: *Optical trapping and microscopic imaging*. Shanghai: SPIE; 2009:750703.
- [189] Song Q, Wen C, Zhang Y *et al.* Calibration of optical tweezers based on acousto-optic deflector and field programmable gate array[J]. *Chin. Opt. Lett.* 2008, 6(8): 600-602.
- [190] Richardson AC, Reihani SNS, Oddershede LB. Non-harmonic potential of a single beam optical trap[J]. *Opt. Express*. 2008, 16(20): 15709-15717.
- [191] Rohrbach A. Stiffness of optical traps: quantitative agreement between experiment and electromagnetic theory[J]. *Phys. Rev. Lett.* 2005, 95: 168102.
- [192] Zhou R, Schlierf M, Ha T. Force-Fluorescence Spectroscopy at the Single-Molecule Level. In: Nils GW, ed. *Methods in Enzymology*: Academic Press; 2010:405-426.
- [193] Zhou R, Kunzelmann S, Webb MR *et al.* Detecting Intramolecular Conformational Dynamics of Single Molecules in Short Distance Range with Subnanometer Sensitivity[J]. *Nano Letters*. 2011, 11(12): 5482-5488.
- [194] Zhou R, Kozlov Alexander G, Roy R *et al.* SSB Functions as a Sliding Platform that Migrates on DNA via Reptation[J]. *Cell*. 2011, 146(2): 222-232.
- [195] Hu H, Liu Y, Wang M *et al.* Structure of a CENP-A-histone H4 heterodimer in complex with chaperone HJURP[J]. *Genes & Development*. 2011, 25(9): 901-906.
- [196] Sirinakis G, Clapier CR, Gao Y *et al.* The RSC chromatin remodelling ATPase translocates DNA with high force and small step size[J]. *EMBO J*. 2011, 30(12): 2364-2372.
- [197] Balci H, Arslan S, Myong S *et al.* Single-Molecule Nanopositioning: Structural Transitions of a Helicase-DNA Complex during ATP Hydrolysis[J]. *Biophysical Journal*. 2011, 101(4): 976-984.
- [198] Ha T, Myong S. A single-molecule view of chaperonin cooperativity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011, 108(41): 16865-16866.
- [199] Casjens SR. The DNA-packaging nanomotor of tailed bacteriophages[J]. *Nat Rev Micro*. 2011, 9(9): 647-657.
- [200] Killian JL, Li M, Sheinin MY *et al.* Recent advances in single molecule studies of nucleosomes[J]. *Current Opinion in Structural Biology*. 2012, 22(1): 80-87.
- [201] Sun B, Johnson DS, Patel G *et al.* ATP-induced helicase slippage reveals highly coordinated subunits[J]. *Nature*. 2011, 478(7367): 132-135.
- [202] Finer JT, Simmons RM, Spudich JA. Single myosin molecule mechanics:

- piconewton forces and nanometre steps[J]. *Nature*. 1994, 368(6467): 113-119.
- [203] Lee G, Yoo J, Leslie BJ *et al.* Single-molecule analysis reveals three phases of DNA degradation by an exonuclease[J]. *Nat Chem Biol*. 2011, 7(6): 367-374.
- [204] Guo H, Xu C, Liu C *et al.* Mechanism and Dynamics of Breakage of Fluorescent Microtubules[J]. *Biophysical Journal*. 2006, 90(6): 2093-2098.
- [205] Baumann CG, Bloomfield VA, Smith SB *et al.* Stretching of Single Collapsed DNA Molecules[J]. *Biophysical Journal*. 2000, 78(4): 1965-1978.
- [206] Sirinakis G, Ren Y, Gao Y *et al.* High-resolution optical tweezers with passive force clamp, combined with single-molecule fluorescence detection[J]. *Biophysical Journal*. 2012, submitted.
- [207] Xi Z, Gao Y, Sirinakis G *et al.* Single-molecule observation of helix staggering, sliding, and coiled coil misfolding[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012, Accepted.
- [208] Moffitt JR, Chemla YR, Izhaky D *et al.* Differential detection of dual traps improves the spatial resolution of optical tweezers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006, 103(24): 9006-9011.
- [209] Willig KI, Rizzoli SO, Westphal V *et al.* STED microscopy reveals that synaptotagmin remains clustered after synaptic vesicle exocytosis[J]. *Nature*. 2006, 440(7086): 935-939.
- [210] Willig KI, Harke B, Medda R *et al.* STED microscopy with continuous wave beams[J]. *Nat Meth*. 2007, 4(11): 915-918.
- [211] Huang B, Jones SA, Brandenburg B *et al.* Whole-cell 3D STORM reveals interactions between cellular structures with nanometer-scale resolution[J]. *Nat Meth*. 2008, 5(12): 1047-1052.
- [212] Kim H, Tang G-Q, Patel SS *et al.* Opening-closing dynamics of the mitochondrial transcription pre-initiation complex[J]. *Nucleic Acids Research*. 2012, 40(1): 371-380.
- [213] Wang W, Wang L, Zou Y *et al.* Cooperation of Escherichia coli Hfq hexamers in DsrA binding[J]. *Genes & Development*. 2011, 25(19): 2106-2117.
- [214] Woodside MT, Behnke-Parks WM, Larizadeh K *et al.* Nanomechanical measurements of the sequence-dependent folding landscapes of single nucleic acid hairpins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006, 103(16): 6190-6195.
- [215] Woodside MT, Anthony PC, Behnke-Parks WM *et al.* Direct Measurement of the Full, Sequence-Dependent Folding Landscape of a Nucleic Acid[J]. *Science*. 2006, 314(5801): 1001-1004.
- [216] Liu F, Ou-Yang Z-c. Monte Carlo Simulation for Single RNA Unfolding by Force[J]. *Biophysical Journal*. 2005, 88(1): 76-84.
- [217] He H, Heckenberg NR, Rubinsztein-Dunlop H. Optical Particle Trapping with Higher-order Doughnut Beams Produced Using High Efficiency Computer Generated Holograms[J]. *Journal of Modern Optics*. 1995, 42(1): 217 - 223.
- [218] Curtis JE, Koss BA, Grier DG. Dynamic holographic optical tweezers[J]. *Opt. Commun*. 2002, 207: 169-175.
- [219] Heckenberg NR, McDuff R, Smith CP *et al.* Laser beams with phase

- singularities[J]. *Opt. and Quantum Electron.* 1992, 24: S951-S962.
- [220] Mair A, Vaziri A, Weihs G *et al.* Entanglement of the orbital angular momentum states of photons[J]. *Nature.* 2001, 412(6844): 313-316.
- [221] Hickmann JM, Fonseca EJS, Soares WC *et al.* Unveiling a Truncated Optical Lattice Associated with a Triangular Aperture Using Light's Orbital Angular Momentum[J]. *Physical Review Letters.* 2010, 105(5): 053904.
- [222] Jack B, Padgett MJ, Franke-Arnold S. Angular diffraction[J]. *New J. Phys.* 2008, 10(103013).
- [223] Haroutyunyan HL, Nienhuis G. Diffraction by circular optical lattices[J]. *Phys. Rev. A.* 2004, 70: 063408.
- [224] Curtis JE, Grier DG. Structure of Optical Vortices[J]. *Phys. Rev. Lett.* 2003, 90(13): 133901.
- [225] Syouji A, Kurihara K, Otomo A *et al.* Diffraction-grating-type phase converters for conversion of Hermite-Laguerre-Gaussian mode into Gaussian mode[J]. *Appl. Opt.* 2010, 49(9): 1513-1517.
- [226] McGloin D, Garcés-Chávez V, Dholakia K. Interfering Bessel beams for optical micromanipulation[J]. *Opt. Lett.* 2003, 28(8): 657-659.
- [227] Cizmár T, Dholakia K. Tunable Bessel light modes: engineering the axial propagation[J]. *Opt. Express.* 2009, 17(18): 15558-15570.
- [228] Paterson L, Papagiakoumou E, Milne G *et al.* Light-induced cell separation in a tailored optical landscape[J]. *Applied Physics Letters.* 2005, 87(12): 123901-123903.
- [229] Lorenz RM, Edgar JS, Jeffries GDM *et al.* Vortex-trap-induced fusion of femtoliter-volume aqueous droplets[J]. *Anal. Chem.* 2007, 79(1): 224-228.
- [230] 王大鹏, 韦穗. 数字微镜器件的相位调制性质[J]. *光学学报.* 2007, 27(7): 1255-1260.
- [231] Lu Y, Chen S. Direct write of microlens array using digital projection photopolymerization[J]. *Appl. Phys. Lett.* 2008, 92: 041109.
- [232] Krohne I, Pfeifer T, Bitte F *et al.* New method for confocal microscopy and its endoscopic application[J]. *Proc. of SPIE.* 2003, 5143: 281-288.
- [233] Liang M, Stehr RL, Krause AW. Confocal pattern period in multiple-aperture confocal imaging systems with coherent illumination[J]. *Opt. Lett.* 1997, 22(11): 751-753.
- [234] Riza NA, Ghauri FN. Super-resolution variable fiber optic attenuator instrument using digital micromirror device (DMDTM)[J]. *Rev. Sci. Instrum.* 2005, 76: 095102.
- [235] Collins DR, Sampell JB, Hornbeck LJ *et al.* Deformable mirror device spatial light modulators and their applicability to optical neural networks[J]. *Appl. Opt.* 1989, 28(22): 4900-4907.
- [236] Wagner EP, Smith BW, Madden S *et al.* Construction and evaluation of a visible spectrometer using digital micromirror spatial light modulator[J]. *Appl. Spectroscopy.* 1995, 49(11): 1715-1719.
- [237] 聂永名, 胡文华, 李修建 *et al.* 数字微镜器件在光学矢量矩阵乘法器中的特性及应用分析[J]. *光学与光电技术.* 2009, 7(1): 12-16.

- [238] Adeyemi AA, Barakat N, Darcie TE. Application of digital micro-mirror devices to digital optical microscope dynamic range enhancement[J]. Opt. Express. 2009, 17(3): 1831-1843.
- [239] Born M, Wolf E. Principles of Optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
- [240] Schulz LG. The optical constants of silver, gold, copper, and aluminum. I. the absorption coefficient k [J]. Journal of the Optical Society of America. 1954, 44(5): 357-362.
- [241] Schulz LG, Tangherlini FR. Optical constants of silver, gold, copper, and aluminum. II. The index of refraction n [J]. Journal of the Optical Society of America. 1954, 44(5): 362-368.
- [242] Ren Y-X, Gong L, Huang K *et al.* Optimized computer-generated holograms for optical micromanipulation with ideal array Gaussian beam[J]. Chinese Physics Letters. 2012, (In preparation).
- [243] Ren Y, Liu W, Li Z *et al.* Micromanipulation of ZrP nanoplatelets with holographic optical tweezers[J]. Nanotechnology. 2012, (In preparation).
- [244] 刘伟伟, 任煜轩, 高红芳 *et al.* 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) Accepted.

缩写词索引

- AFM, Atomic Force Microscope, 原子力显微镜
AOD, Acousto Optic Deflector, 声光衍射器
AOM, Acousto Optic Modulator, 声光调制器
APD, Avalanche PhotoDiode, 雪崩光电二极管
CCD, Charge Coupled Device, 电荷耦合器件
CCW, Counter-ClockWise, 反时针
CGH, Computer-Generated Hologram, 计算全息图
CMOS, Complementary Metal Oxide Semiconductor, 互补金属氧化物半导体
CPU, Central Processing Unit, 中央处理器
CW, ClockWise, 顺时针
DMD, Digital Micromirror Device, 数字微镜器件
DNA, DeoxyriboNucleic Acids, 脱氧核糖核酸
DOE, Diffractive Optical Element, 衍射光学元件
DVI, Digital Visual Interface, 数字显示接口
EMCCD, Electron Multiplying Charge Coupled Device, 电子增强电荷耦合器
FRET, Förster Resonance Energy Transfer, Fluorescence resonance energy transfer 荧光共振能量转移
GPU, Graphic Processing Unit, 图形处理单元
GS, Gerchberg-Saxton 算法
HDTV, High-Definition TeleVision, 高清数字电视
HMM, Hidden Markov Model, 隐马尔科夫模型
LabView, National Instrument® Corp. 软件
LED, Laser Emitting Diode, 激光发射二极管
LG, Laguerre Gaussian, 拉盖尔-高斯
Linux/unix, 一款免费开源计算机操作系统
MatLab, Math Laboratory, MatLab® corp. 软件
MOSFET, Metal-Oxide-Semiconductor field-effect transistor, 金属-氧化层-半导体-场效应晶体管
NPN, transistor, 三极管
OD, Optical Density, 光密度 $OD = \lg(1/T)$, T 为透过率
PAN, Parallel Aligned Nematic, 平行排列的向列型液晶
PBS, phosphate buffered saline, 生物化学中常用的一种缓冲液
PBS, polarization beam splitter, 偏振分束器
PMA, Phase Mixture Algorithm, 相位混合算法
PMMA, , 聚甲基丙烯酸甲酯
PSD, Position Sensitive Detector, 位置敏感探测器
PSD, Power Spectrum Density, 功率谱密度
OAM, Orbital Angular Momentum, 轨道角动量
QD, Quantum Dot, 量子点
QPD, Quadrant PhotoDiode, 四象限光电二极管

RF, Radio Frequency, 射频频率
 RNA, RiboNucleic Acids, 核糖核酸
 SEM, Scanning Electron Microscope, 扫描电子显微镜
 SLM, Spatial Light Modulator, 空间光调制器
 STED, Stimulated Emission Depletion Microscopy, 受激损耗显微镜
 STM, Scanning Tunneling Microscope, 扫描隧道显微镜
 TMV, Tobacco Mosaic Virus, 烟草花叶病毒
 TSOT, Time-Sharing Optical Tweezers, 时分复用光镊
 TTL, Transistor-Transistor Logic, 晶体管-晶体光逻辑电路
 USB, Universal Serial Bus, 通用串行总线
 VGA, Video Graphics Array, 视频图形阵列
 XRD, X ray diffractometer, X 射线衍射仪

常用物理量及单位换算

光密度 $OD = \lg(1/T)$

RF 功率衰减率 $= 10 \lg(P_{out}/P_{in})$ (dB)

光强衰减 $= 10 \lg(P_{out}/P_{in})$ (dB) (适用光纤传输损耗, 中性密度衰减片等)

粒子体积 $V = (3.14/6) \times D^3 \times 10^{-12}$ cm³/particle

粒子数目 $N = (6W/3.14PD^3) \times 10^{12}$ particles

粒子总表面积 $A = (6W/PD) \times 10^4$ cm²

其中 W 高分子的重量(g); P 高分子的密度(聚苯乙烯=1.05); D 粒子直径(μm)

聚苯乙烯折射率: 1.59

力单位: 1N=10⁹nN; 1nN=10³pN; 1pN=10³fN

长度单位: 1μm=10⁻⁶m; 1nm=10⁻⁹m; 1pm=10⁻¹²m; 1fm=10⁻¹⁵m;

浓度单位: 1mM=10⁻³M; 1μM=10⁻⁶M; 1nM=10⁻⁹M; 1pM=10⁻¹²M;

体积单位: 1ml=10⁻³l; 1μl=10⁻⁶l;

频率单位: 1kHz=10³Hz; 1MHz=10⁶Hz; 1GHz=10⁹Hz;

磁盘空间单位: 1Byte=8bits; 1kB=1024B; 1MB=1024kB; 1GB=1024MB;

电流单位: 1A=1000mA; 1mA=1000μA; 1μA=1000nA;

电容单位: 1F=10⁶μF; 1μF=10³nF; 1nF=10³pF;

电压单位: 1kV=1000V; 1V=1000mV; 1mV=1000μV

电阻单位: 1kΩ=1000Ω;

能量单位: $k_B T = 4.1$ pN nm

时间单位: 1 sec=1000 msec

角度单位: 1 rad =1000 mrad

致 谢

在论文收笔之时，感谢我的博士论文导师郭光灿院士和李银妹教授。导师们严谨的工作思路、实事求是的治学态度、对科研的敬业精神、诲人不倦的道德品格时刻感染、激励和启发我整个博士论文工作。从我 2007 年进入激光生物实验室做激光光镊捕获细胞和旋转碳酸钙微粒的教学实验开始，通过对光镊技术进行一系列的调研，迅速确定并开始着手建设全息光镊的方向，虽然经历许多曲折和坎坷，最终还是成功搭建了全息光镊装置以及后来的软物质综合测量系统，其中无不倾注着导师们的亲切指导和关怀。

特别感谢美国耶鲁大学医学院的张永力教授将我带进单分子生物物理这一国际前沿的交叉学科领域。自 2010 年 9 月我进张老师组，他就强调做科研要注意每个细节，并亲自传授光镊的布局以及其中关键部分的精巧设计。张老师思维敏捷，亲自参与科研实践，每次跟他讨论问题都很有收获。他还亲自处理实验数据等，并传授单分子生物物理实验数据处理方法和高性能计算技巧。记得他做微针拉伸仪控制器，很早就来实验室工作。其他组员来实验室时，他都已工作了一段时间。在随后的一年学习中，我全程参与了下一代带荧光探测高精度激光双光镊搭建的整个过程，成功实现恒力光镊、激光共聚焦单分子荧光、单分子影像等与高精度激光双光镊的杂化，并用高精度激光双光镊完成了 DNA 发卡在不同抑制剂作用下折叠和去折叠的单分子实验。纸上得来终觉浅，绝知此事要躬行。张老师实验室自由的学术氛围为单分子生物物理学习提供了良好环境。

感谢吴建光博士，国内工作前期，我跟吴建光学习简单的基于商业显微镜的单光镊的搭建，并在原有钛宝石单光镊的基础上搭建时分复用光镊，这些为我后续的全息光镊工作积累了一定的经验。George Sirinakis 博士是我在耶鲁大学的合作伙伴，高精度激光双光镊完整的实验方法是在跟他一起搭建第二台光镊时学习的，George 对仪器各个环节的掌握很清楚，具有非常丰富的现代光镊搭建经验，和他一起，我们成功在新光镊设备上实现了恒力力钳、荧光共聚焦、荧光显微成像、以及单分子荧光实验等。Ying Gao 和 Zhiqun Xi 二位博士制备单分子实验样品，花费了他们大量的宝贵时间。Smitha Varghese 博士，教我脂质体的制备、拉

制微针以及磷脂双分子膜弹性测量实验。从与 Sawako Sugimura 和 Sylvain Zorman 博士的讨论中对 DNA 和 IHF 蛋白相互作用单分子实验以及生化样品的设计有了一定的了解。

感谢国家同步辐射实验室的付少军教授、周小为博士等，在微纳加工、全息相位片设计等方面给以帮助；感谢姚焜副教授在全息光镊的搭建过程中从设计、原理方面提供长期指导，甚至亲自做实验，作为退休多年的科大老教师这种对科学执着的精神是值得所有年轻同学和老师学习的，她是老一辈科大人的朴素、踏实、认真的缩影；感谢美国 Lehigh 大学教授、我校兼职教授张晓晖博士在选定单分子生物物理研究方向给予许多帮助和指导；感谢中科院物理研究所的李兆霖研究员，在时分复用光阱方面提出宝贵意见；感谢热科学与能源工程系的何立群副教授在纳米碟的制备和表征方面提供帮助；感谢王自强老师在机械设计方面的帮助，使得全息光镊工作得以顺利进行；感谢孙晴参与全息光镊项目，从不定期的讨论和实验中，彼此得到进步与提高；感谢李会民、张运动二位博士在高性能计算方面给以指导和帮助；感谢周金华、钟敏成、黄昆、薛国胜、高红芳、刘伟伟、龚雷等同学部分或全程参与到我的科研工作中，减轻我的工作压力。

感谢中国国家留学基金委提供在耶鲁大学的生活和学习的资助。感谢中科大研究生院提供研究生创新基金开展时分复用光镊的实验和相关理论研究。感谢耶鲁大学的高性能计算中心给我接触高性能计算的机会，以及中国科学技术大学高性能计算中心使得我们全息光镊实验数据的处理变得更加便捷。

相逢是缘，读博期间，有幸结识祖国各地、世界各地的朋友，使我在两地的生活更加便捷并充满乐趣。无论是合肥还是纽黑文，在我最需要帮助的时候总是有朋友无私地伸出援助之手。从辞别老朋友、结识新朋友，又辞别新朋友以新的视角回到原来的工作环境，我在这样一个交替变化的过程中不断地成长、提升自己、丰富人生。这里虽未逐列姓名，却是我人生经历中的一笔宝贵财富。

感谢我的父母多年来一直省吃俭用，用手上的老茧、脸上的皱纹和头上的白发供我和妹妹念书。离别的思绪总是千丝万缕，是离愁，别是一番滋味在心头，也是国内单分子生物物理发展的必然结果。衷心祝愿辛勤的园丁们身体健康，祝愿实验室的师弟师妹们学有所成，祝愿母校更加繁荣昌盛。

任煜轩 二零一二年三月十五日

攻读博士学位期间发表论文

1. **Yu-Xuan Ren**, Jian-Guang Wu, Yin-Mei Li. Application of Monte Carlo Simulation in Optical Tweezers. In: Mordechai S, ed. Applications of Monte Carlo Method in Science and Engineering. Rijeka: Intech; 2011:21-34. (**Book Chapter**)
2. **Yu-Xuan Ren**, Ming Li, Kun Huang, Jian-Guang Wu, Hong-Fang Gao, Zi-Qiang Wang and Yin-Mei Li. Experimental generation of Laguerre-Gaussian beam using digital micromirror device. **Applied Optics** 2010, 49(10):1838-1844
3. **Yu-Xuan Ren**, Jian-Guang Wu, Min-Cheng Zhong and Yin-Mei Li. Monte Carlo simulation of effective stiffness of time-sharing optical tweezers. **Chinese Optics Letters** 2010, 8(2): 170-172
4. **Yu-Xuan Ren**, Jian-Guang Wu, Man Chen, Huang Li and Yin-Mei Li. Stability of novel time-sharing dual optical tweezers using rotating tilt glass plate. **Chinese Physics Letters** 2010, 27(2): 028703
5. **Yu-Xuan Ren**, Man Chen, Jian-Guang Wu, Yin-Mei Li. Effective stiffness of rotating-glass-plate time-sharing multiple optical tweezers. **Proc. SPIE** in Optical trapping and microscopic imaging. Shanghai, 2009:750703.
6. **Yu-Xuan Ren**, Min-Cheng Zhong, Jian-Guang Wu, Zi-Qiang Wang, Yin-Mei Li. Experimental investigation on how sampling frequency affects the measured stiffness of an optical trap. **Proc. IEEE (SOPO 2009)**
7. Min-Cheng Zhong, Jin-Hua Zhou, **Yu-Xuan Ren**, Yin-Mei Li and Zi-Qiang Wang. Rotation of birefringent particles in optical tweezers with spherical aberration. **Applied Optics**, 2009, 48(22): 4397-4402
- 8.任煜轩, 吴建光, 周小为, 付绍军, 孙晴, 王自强, 李银妹, 相位片角向衍射产生拉盖尔高斯光束的实验研究, **物理学报**, 2010,59(6):3930-3935.
- 9.任煜轩, 周金华, 吴建光, 李银妹, 全息光镊—光镊家族中极具活力的成员, **激光与光电子学进展**, 2008, 45(11) :35-41.
- 10.高红芳, 任煜轩, 刘伟伟, 李银妹. 酵母细胞在涡旋光阱中的旋转动力学

研究. 中国激光 2011, 38(4):404002

11.孙晴, 任煜轩, 姚焜, 李银妹, 卢荣德. 阵列光镊衍射元件优化设计的快速算法. 中国激光 2011, 38(1):109003

12.吴建光, 任煜轩, 王自强, 周程, 李银妹, 旋转玻片法实现分时复用多光阱, 中国激光,2009, 36(10): 2751-2756

13.陈冠雄, 周金华, 任煜轩, 李银妹, 操控金属粒子的光镊技术, 激光与光电子学进展,2009, 46(6): 32-38

14.刘伟伟, 任煜轩, 高红芳, 孙晴, 王自强, 李银妹, 泽尼克多项式校正全息阵列光镊像差的实验研究, 物理学报, 2012,61(18), 接受发表.

15.**Yu-Xuan Ren**, et al. Optimized computer-generated holograms for optical micro- manipulation with ideal array Gaussian beam. 2012, In preparation.

16.George Sirinakis, **Yu-Xuan Ren**, Ying Gao, Zhiqun Xi and Yongli Zhang. Combined versatile high-resolution optical tweezers and single-molecule fluorescence microscopy. **Biophysical Journal** 2012, submitted

17.Hong-Fang Gao, **Yu-Xuan Ren**, Lei Gong, Guosheng Xue and Yinmei Li. Parallel calibration of holographic array optical tweezers with high performance computing. **Chin Phys Lett.** 2012, submitted

专利申请

1. 任煜轩, 龚雷, 高红芳, 刘伟伟, 李银妹, 基于新型杂化光镊的软物质综合测量装置, 发明专利, 申请号: 201110401399.0。

国际会议口头报告

1. **Yu-Xuan Ren**. A force-triggered molecular switch revealed by high-resolution dual-trap optical tweezers with single-molecule fluorescence detection. **International Biophysics Congress**. Beijing, China, 2011.10.

2. **Yu-Xuan Ren**. Effective stiffness of rotating-glass-plate time-sharing multiple optical tweezers. **Proc. SPIE**. Shanghai, 2009.

3. **Yu-Xuan Ren**. Experimental investigation on how sampling frequency affects the measured stiffness of an optical trap. **Proc. IEEE**. Wuhan, (SOPO 2009)