

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра нелинейной физики

Разработка оптического пинцета

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 411 группы
направления 03.03.01 «прикладные математика и физика»
факультета нелинейных процессов
Бариновой Софии Владимировны

Научный руководитель
Доцент, к.ф.-м.н.

И.В. Федосов

Заведующий кафедрой
Профессор, д.ф.-м.н.

Н.М. Рыскин

Саратов 2017 год

Введение

Оптические пинцеты широко применяются для работы с биологическими объектами. На сегодняшний день оптические пинцеты используются для исследования микротрубочек [1,2], поверхностного осаждения отдельных бактерий [3], динамики филоподий во время фагоцитоза [4], взаимодействия частиц, поглощения и диффузии вблизи липидного бислоя [5]. Кроме того, они используются в качестве инструмента для оказания помощи при соединении одиночных нейтронов лазерным импульсом [6], для создания и зондирования искусственных цитоскелетных сетей [7]. Оптическую ловушку можно использовать для осуществления измерений в естественных условиях (*in vivo*) [8, 9, 10, 3].

На сегодняшний день существуют разные схемы оптических пинцетов [11,12]. В данной работе была разработана и реализована инвертированная схема оптического пинцета на основе микроскопа МИМ-6. Был собран оптический пинцет, на котором был проведён ряд успешных экспериментов с латексными микросферами и эритроцитами крови лабораторной крысы.

Целью данной работы является разработка и юстировка оптического пинцета – оптической системы для трёхмерной манипуляции микроскопическими объектами посредством их захвата и удержания в градиентной оптической ловушке, формирующейся в области перетяжки сфокусированного лазерного пучка; а также изучение его работы в экспериментах с эритроцитами и латексными микросферами.

Выпускная квалификационная работа состоит из Введения, двух глав, Заключение и Списка литературы. В главе 1 представлены теоретические основы данной работы, рассмотрены принцип работы оптической ловушки, движение микрочастиц под действием давления света, метод измерения сил, действующих на частицу в ловушке и литературный обзор актуального применения оптического пинцета. В главе 2 подробно описан процесс сборки и

юстировки оптического пинцета, также представлены схема данного пинцета и результаты экспериментов с латексными микросферами и эритроцитами.

В Заключении сформулированы результаты и выводы.

Краткое содержание работы

В главе 1 представлены теоретические основы данной работы, рассмотрены принцип работы оптической ловушки, движение микрочастиц под действием давления света и метод измерения сил, действующих на частицу в ловушке. В разделе 1.1 поясняется принцип давления света на объекты и рассматривается импульс световой волны.

В разделе 1.2 подробно рассматривается движение микрочастиц в пучке лазерного излучения.

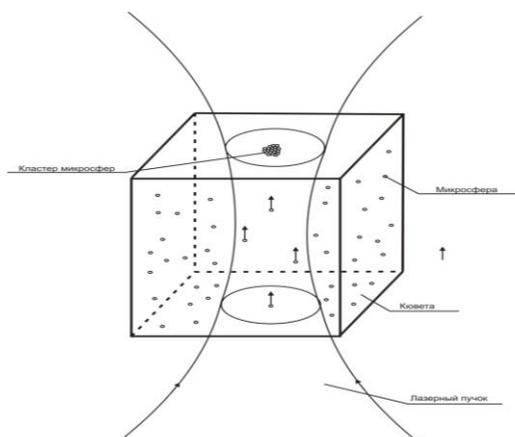


Рисунок 1 - Наблюдение движения латексных микросфер под действием силы давления света в лазерном пучке.

В разделе 1.3 описан принцип действия градиентной оптической ловушки - основной части оптического пинцета.

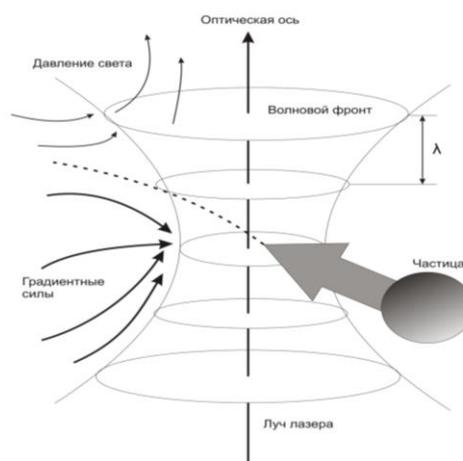


Рисунок 2 - Градиентная оптическая ловушка, использующая один лазерный пучок.

В разделе 1.4 рассматривается способ измерения малых сил и перемещений при помощи оптического пинцета. Жесткость оптической ловушки в настоящее время определяют различными методами, наиболее прямым из которых является измерение смещения частицы из положения равновесия под действием Стоксовской силы сопротивления, возникающей при движении столика с кюветой, содержащей жидкость, относительно оптической ловушки, удерживающей в этой жидкости частицу известного диаметра. [13]

В разделе 1.5 приведён литературный обзор на актуальные статьи о развитии оптических пинцетов, их методах сборки и применении оптических пинцетов в современных оптических исследованиях.

В главе 2 подробно описан процесс сборки и юстировки оптического пинцета, также представлены схема данного пинцета и результаты экспериментов с латексными микросферами и эритроцитами для 2D и 3D захватов.

В разделе 2.1 представлены материалы и методы. Представлена схема установки с описанием входящих в неё частей и описан принцип работы данного оптического пинцета.

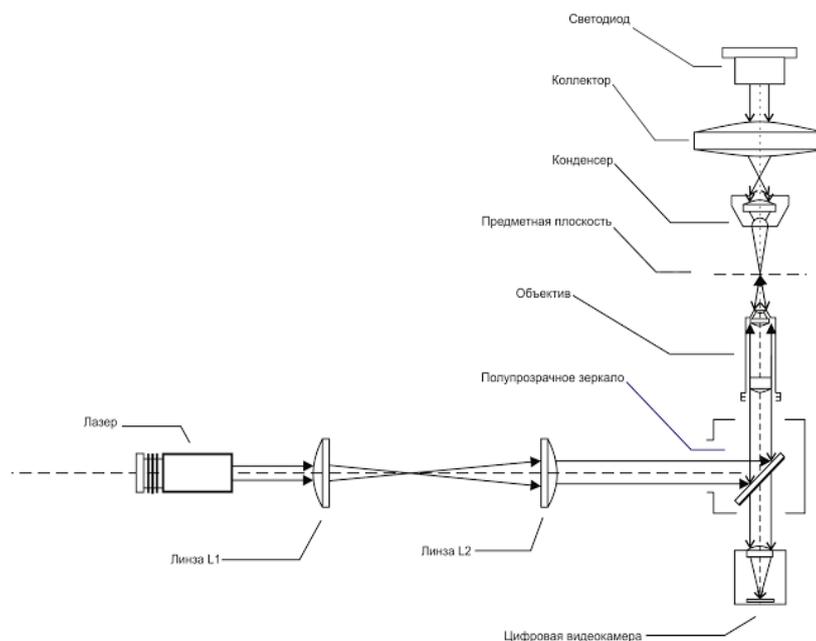


Рисунок 3 - Схема установки.

В подразделе 2.1.1 приводится внешний вид и устройства микроскопа МИМ-6, на основе которого собран данный оптический пинцет. Показано, что демонтировано из оригинального микроскопа МИМ-6 и что добавлено. В подразделе 2.1.2 подробно рассмотрено освещение по Келеру, как и из чего сделано. Освещение устроено следующим образом: пучок света белого светодиода направлен в коллектор и коллектором фокусируется в передней фокальной плоскости конденсора. Далее пучок проходит через конденсор и уже параллельным проходит сквозь отверстие в предметной плоскости микроскопа и входит в микрообъектив. Пучок фокусируется макрообъективом и формирует изображение на матрице CMOS-камеры. В подразделе 2.1.3 описаны процессы осуществления регистрации изображения, ввода лазерного пучка и управления перемещением оптической ловушки.

В разделе 2.2 представлены результаты и обсуждения. Собран действующий оптический пинцет, способный манипулировать микрообъектами. Эксперименты по манипулированию проводились над эритроцитами крови лабораторных крыс и над латексными микросферами.

В подразделе 2.2.1 подробно рассматривается эксперимент с латексными микросферами. Посредством оптического пинцета выложен “цветочек” из латексных микросфер (диаметр от 1 до 100 мкм) при 2D захвате и увеличении в 40 раз (Рисунок 4). В подразделе 2.2.2 наглядно демонстрируется процесс передвижения эритроцита крови и его деформация.

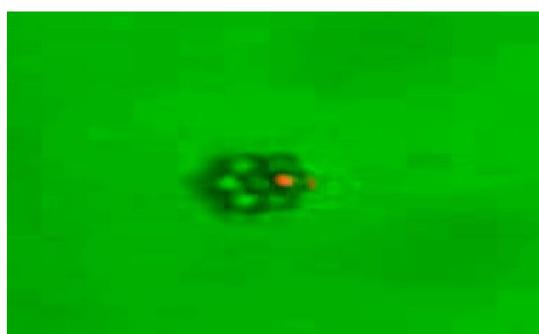


Рисунок 4 - “Цветочек” из латексных микросфер.



Рисунок 5а.

На следующей серии фотографий показано перемещение (Рисунок 5а-в) и деформация (Рисунок 5г-д) уединённого эритроцита (диаметр эритроцита 6,2—8,2 мкм, толщина: 2 мкм, объём: 76 -110 мкм) под действием лазерного излучения при 3D захвате и увеличении в 70 раз:

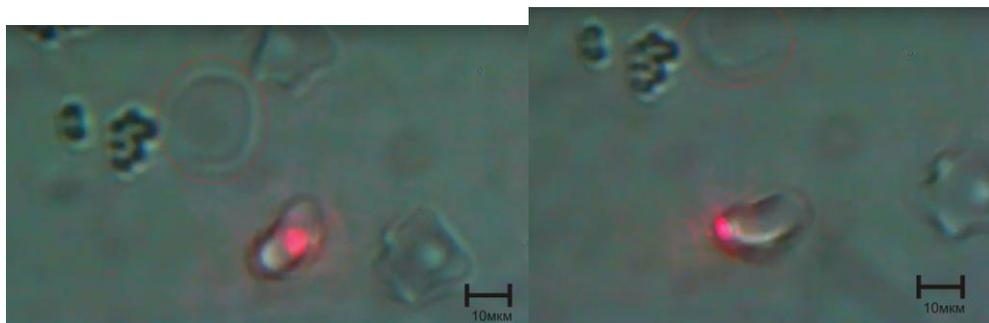


Рисунок 5б,в.

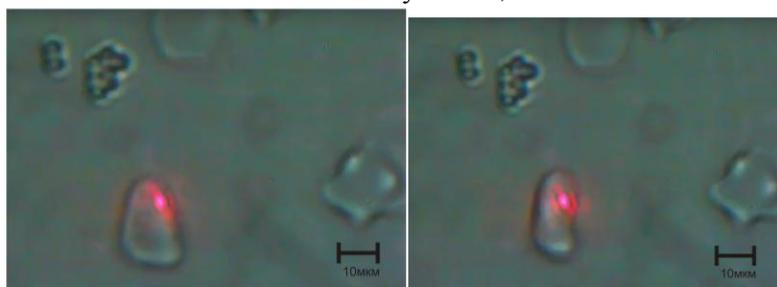


Рисунок 5г,д.



Рисунок 6 - Внешний вид установки (вид спереди).

Также показан внешний вид данной установки на рисунке 6. В рамках данной работы рассматривается схема простого, но полнофункционального оптического пинцета, предназначенного для захвата и трехмерного перемещения микроскопических объектов.

Заключение

Оптический пинцет имеет важное прикладное значение. Кроме того, он сам по себе является исключительно красивым физическим экспериментом, наглядно демонстрирующим механическое действие света.

Все поставленные цели были выполнены. Был изучен теоретически и выполнен на практике один из методов сборки и юстировки оптического пинцета. В ходе работы были изучены и опробованы разные методы реализации данной схемы и выбран оптимальный. Был осуществлён 2D и 3D захват для латексных микросфер и для эритроцитов крови лабораторной крысы для разных увеличений (в 8, 20, 40 и 70 раз). Также была осуществлена манипуляция двух видов: захват и перемещение микрочастицы по всей кювете и захват и выкладывание из нескольких частиц различных фигур.

Данный оптический пинцет является полностью рабочим.

Результаты данной работы были представлены на универсиаде «Ломоносов» в Московском Государственном Университете им. Ломоносова в 2016 и 2017 годах и высоко оценены жюри универсиады.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Lansky Z, Braun M, Lüdecke A et al. Diffusible crosslinkers generate directed forces in microtubule networks.//2015. Cell 160(6):1159–1168
2. M. D. Koch, N. Schneider, P. Nick, A. Rohrbach. Single microtubules and small networks become significantly stiffer on short time-scales upon mechanical stimulation.// Biological Physics 2017.
3. Friedrich L, Rohrbach A. Surface imaging beyond the diffraction limit with optically trapped spheres.// Nat Nanotechnol 2015 10(12):1064–1069
4. Kohler F, Rohrbach A. Surfing along filopodia: a particle transport revealed by molecular-scale fluctuation analyses.// Biophys J 2015 108(9):2114–2125
5. Jünger F, Kohler F, Meinel A et al. Measuring local viscosities near plasma membranes of living cells with photonic force microscopy.// Biophys J 2015 109(5):869–882
6. Katchinskiy N, Goetz HR, Dutta I et al. Novel method for neuronal nanosurgical connection. //Scientific Reports 6. 2016
7. Koch MD, Schneider N, Nick Petal. Frequency dependent transport of mechanical stimuli along single microtubules and small networks.// 2016. Submitted
8. Johansen P., Fenaroli F., Evensen L., Griffiths G., Koster G. Optical micromanipulation of nanoparticles and cells inside living zebrafish // Nature Communications. 2016. 7, article number: 10974.
9. Zhong M.C., Gong L., Zhou J.H., Wang Z.Q., Li Y.M. Optical trapping of red blood cells in living animals with a water immersion objective // Optics Letters. 2013. Vol.38, 23, p. 5134-5137
10. Zhong M.C., Gong L., Zhou J.H., Wang Z.Q., Li Y. M. Trapping red blood cells in living animals using optical tweezers // Nature Communications. 2012. 4, article number:1768
11. Matthias D. Koch, Joshua W. Shaevitz. Introduction to Optical Tweezers.//

Volume 1486 of the series Methods in Molecular Biology 2016 pp 3-24.

12. Giuseppe Pesce, Giorgio Volpe, Onofrio M. Maragó, Philip H. Jones, Sylvain Gigan, Antonio Sasso, and Giovanni Volpe. Step-by-step guide to the realization of advanced optical tweezers.// Journal of the Optical Society of America B, 2015. Vol. 32, Issue 5, pp. B84-B98
13. Под редакцией В.П. Рябухо и В.В. Тучина. Когерентно-оптические методы в измерительной технике и биофотонике. И.В. Федосов. Оптический пинцет. Саратов 2009. С. 45-77.