

利用近紅外光鉗捕抓紅血球及精蟲之研究

陳雄¹、許芳文²、艾群¹

¹國立嘉義大學 生物機電工程學系

²國立嘉義大學 應用物理學系

摘要

本實驗的目標是利用自行架設的光纖光鉗系統觀察當細胞或微粒移動時光功率變化的情形，實驗架設為利用波長 830 nm 二極體雷射，經過 20 倍物鏡，把雷射光耦合進單模光纖中。再將光纖導入自行製造的微流道當中，且在流道兩端加上電極，利用外加偏壓控制微粒與細胞的流向，藉由長工作距離顯微鏡組配合 CCD 攝影機，利用近紅外二極體雷射對生物破壞性較小的特性，建立一套光鉗系統，並對生物細胞作穩定的捕捉。在此取紅血球以及精蟲等樣本作為觀察的對象。

關鍵詞：光鉗、紅血球、精蟲

1. 緒論

過去吾人曾使用波長為 532 nm 的綠光雷射來做光鉗實驗，因為是在可見光的範圍內，因而有對光較方便的優點。而今擬改用波長為 830 nm (不可見光) 的近紅外二極體雷射，目的在於降低對生物粒子的破壞。水是各種生物體內含量較多的成分，使用波長容易被水分吸收的雷射光，生物粒子容易因內部水分吸收能量而提高溫度，使其遭到破壞。由近紅外雷射的特性發現其較綠光雷射不易讓水吸收，因此相比之下對生物粒子的破壞也較小。

今日雷射光鉗已廣泛的應用在生物方面的研究，故本實驗先利用紅血球及精蟲等做初步的捕捉試驗。初步的目的，是希望能夠確定我們自組的雷射光鉗在注入有活體生物粒子的自製流道上可做穩定的捕捉，接著再進一步對捕捉的目標作推移並觀察。

此實驗若能確實達到應用近紅外雷射光鉗於活體生物粒子的捕捉、控制，在醫學工程

方面就能夠建立一定的研究基礎，並得以在未來有更廣泛的發展。

2. 實驗設備與方法

1748 年尤拉即已指出光壓的存在，人們可以從光的電磁理論或光的量子理論推算出光壓的大小，由於光壓非常微小，約 10^{-12} Newton 之數量級，要觀察光壓，一般是觀察光對懸掛在真空中薄片的壓力。而所謂『光學鉗住(Optical Trap)』就是利用光壓對微小物體施力，進而嵌住操控。本研究中，吾人將嘗試著研製出能具有最佳捕捉力與良好成像的光鉗系統平台，以便往後能運用在生物細胞的分類、篩檢與驅動切位酵素切割 DNA，以利 DNA 的序列分析操作使用...等分子手術的應用，也讓各領域的研究探討，從牛頓時代巨觀的研究範圍，一直演進到量子力學微觀的研究範圍，為肉眼看不到的世界開啟另一扇窗。

2.1 原理概述

對於雷射光鉗的原理，至今，並沒有一套完整的理論可以提供於計算雷射光束在微小粒子內的光動量轉移，目前被提出的理論主要可分為兩種：『幾何光學模型(Ray-Optics Model;RO Model)』與『電磁波模型(Electromagnetics Model;EM Model)』

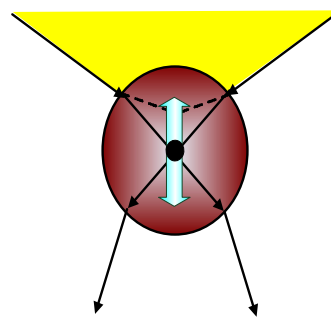
電磁波模型，主要是根據 Maxwell 電磁波理論與微粒偏極化之原理，適用在微粒直徑較光波波長小之情況，這種微粒一般稱之為 Rayleigh Particle。

幾何光學模型，是以幾何光學與光子動量之轉移為基礎，適用在微粒直徑較光波波長大的情況，這種微粒一般稱為 Mie Particle。此模型也是我們主要要探討的。

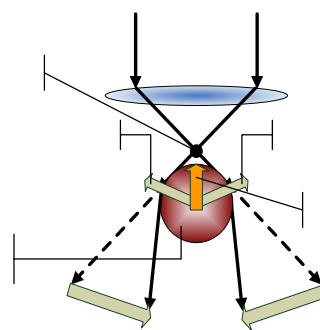
在幾何光學理論中，吾人知道當一道光束由一介質進到另一介質時，會產生行進方向的偏折，當光子的動量方向改變時，會有橫向的動量轉移給微粒，光束將對微粒施一橫向力，由於在光束軸心的微粒，光束強度較大，因此轉移的動量較多，對物體的吸引力較大，反之，距離光束軸心較遠的微粒，轉移的動量較小，所以吸引力較小。

光鉗的工作機制，雷射聚焦在微粒中，當聚焦的光束光子進入微粒前跟進入微粒後，因經過不同折射率的介質所造成的折射，使光子的運動方向及動量有著很明顯的改變。這表示光子施予微粒一作用力。依牛頓第三運動定律，此時微粒對光子施予一大小相同方向相反之反作用力。此反作用力合力之方向將朝向雷射聚焦焦點處，亦即為 F_{trap} 。若 F_{trap} 與微粒受的重力 mg 產生淨力平衡，則可將微粒鉗住在空中。如圖1所示。(a)圖為雷射光聚焦在微粒內物體的受力情形，(b)圖為雷射光聚焦在微粒

外物體的受力情形。



(a) 雷射光聚焦在微粒內物體的受力情形



(b) 雷射光聚焦在微粒外物體的受力情形

圖 1 光學鑷子的工作機制

首先架設好一套自組式光鉗系統(圖2、3)。將雷射光經過半波片、擴束透鏡組、極化分光鏡等調整之後，最後經反射鏡轉成鉛垂方向射入油物鏡，將焦點聚在水平式樣本台上；接著使用LED白光光源在樣本上方作照明光源，並使用CCD Camera在反方向來接收成像，再連接到電腦來對樣本作同步觀察。校準好雷射水平、光路之後，再利用三軸平移台來移動油物鏡的位置，移動的同時使用光功率計來測量輸出功率。目的在於確認雷射光能均勻進入油物鏡，而達到最大的輸出效果。入射光功率約 30 mW。B調整水平時，可從得到的影像畫面做調整，直到不會因水平移動時失焦。調整的同時，儘量讓雷射焦點於畫面的中心位置移動以便觀察。

而在樣本製作方面，由於實驗中需要製作多量樣本來因應容易乾掉的問題，因此使用雙面膠在玻片上做簡單的微流道（圖4），來注入含生物粒子之溶液。我們取用犬的血液、人類淋巴球白血病活體癌細胞及人類的精液等材料作觀察，目的是想確認此光鉗系統對於不同的生物粒子均有穩定的捕捉能力。

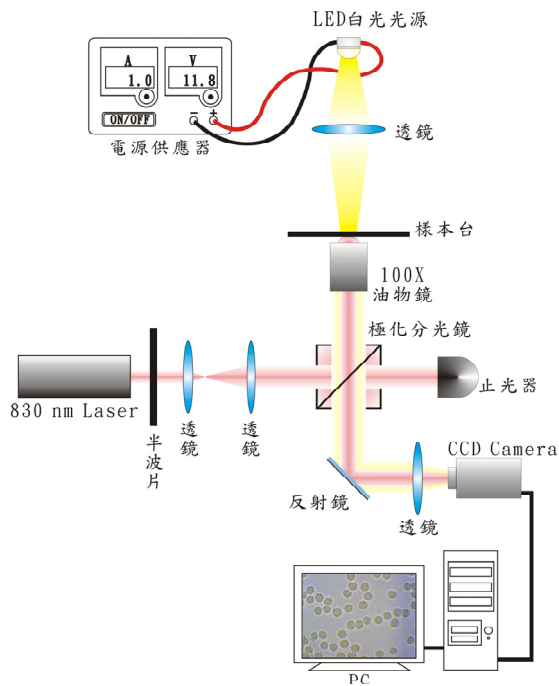


圖2 光鉗實驗系統架構圖



圖3 光鉗實驗系統實體圖

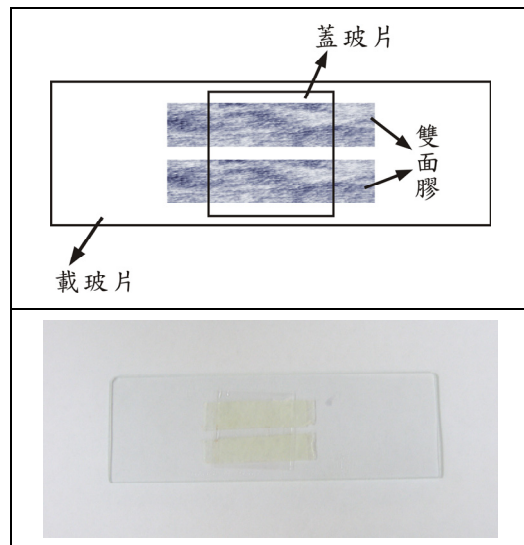


圖4 流道示意圖（上）；流道實體圖（下）

3. 結果與討論

以下為波長 830 nm 的近紅外雷射光鉗分別捕捉紅血球及精蟲時所拍攝到的情形：

3.1 捕捉紅血球：

將稀釋後的血液（純血液 + 0.85~0.89% 生理食鹽水）注入簡易的微流道樣本片上，接著放置於系統的樣本台。調整焦距讓 CCD 收到清晰的像。接著打開雷射光路，並且微調焦距以捕捉血球。

圖4為紅血球受光鉗推動的情形，可看出血球A和血球B的相對位置發生改變。圖5 (a)→(b)為雷射光鉗住血球A後產生繞射環；圖4 (b)→(c)為穩定鉗住血球A後轉動樣本架三軸平移台，使光鉗對血球A產生相對推移。血球B為背景物，當血球B和血球A發生相對位置的改變時，即可確認血球A有被移動。

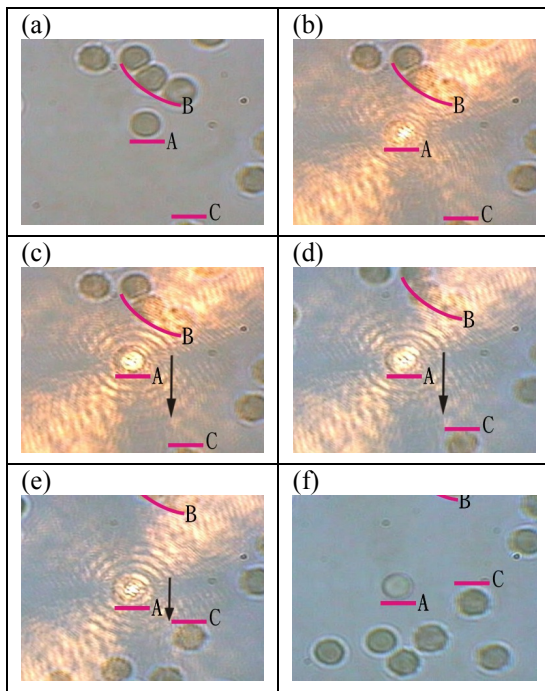


圖5 紅血球受光鉗推動的情形

3.2 紅血球發現的翻轉現象 (捕捉) :

圖6 (a)→(j)為光鉗捕捉紅血球時，產生翻轉瞬間的過程，從圖6(a)、(j)可看出血球從原本圓盤狀受鉗住力影響而翻轉成長條桿狀。

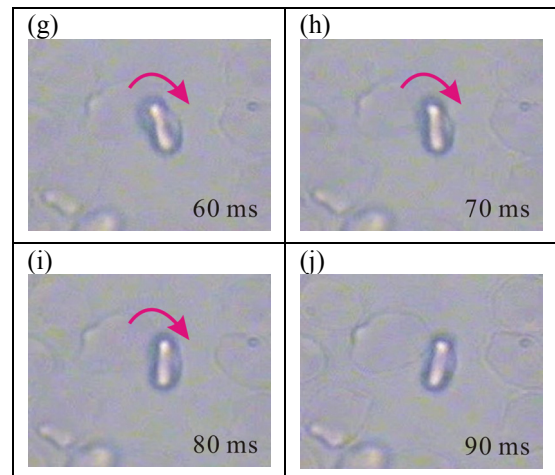
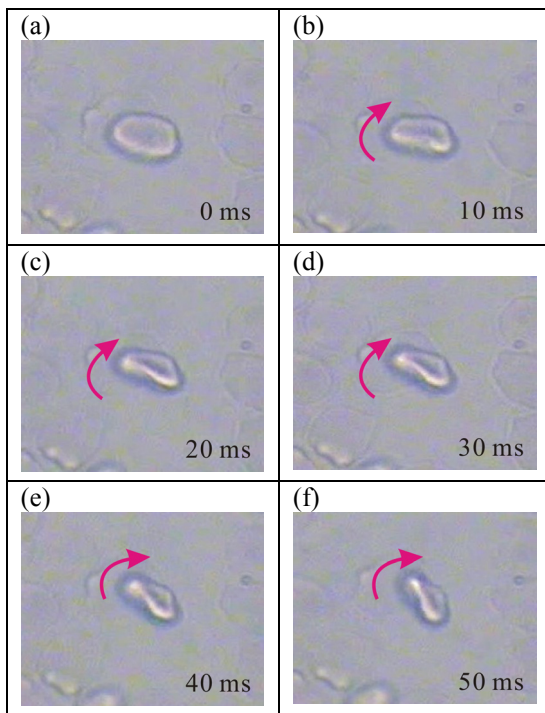
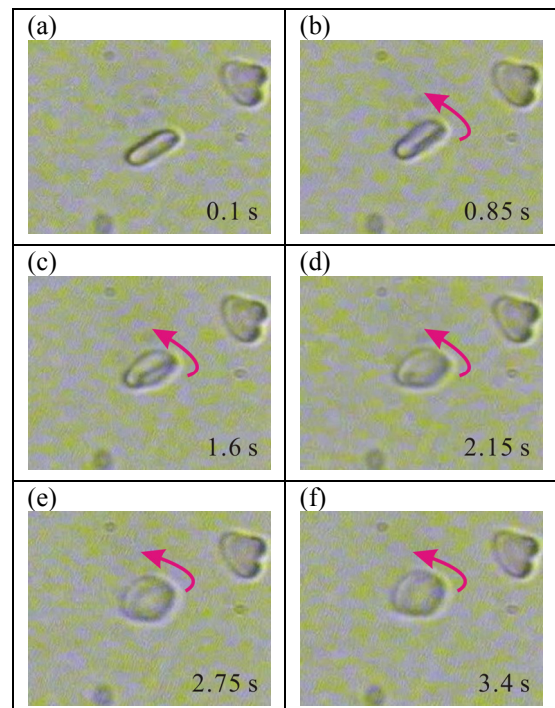


圖6 紅血球受光鉗捕捉而翻轉的情形

3.3 紅血球發現的翻轉現象 (釋放) :

圖7 (a)→(h)為光鉗捕捉紅血球後，將雷射光路切斷而產生的回覆過程。針對關閉雷射而回覆的翻轉分析，目的在於對照開啟雷射光源後，紅血球瞬間受到捕捉而翻轉成桿狀，關閉雷射而翻轉回復成圓盤狀。



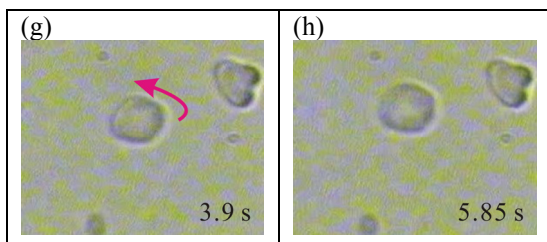


圖7 關閉雷射光源後紅血球翻轉的回覆情形

3.4 捕捉精蟲：

對精蟲此種活體細胞做捕捉，和紅血球及懸浮型癌細胞的差異在於：血球和癌細胞在液體中的運動狀態多為布朗運動；而活的精蟲會任意的在液體中游動。因此，必須確認本光鉗系統具有的鉗住力能夠克服其游動力。另外，精蟲的頭尾外型，與近球體狀的血球和癌細胞不同，其鉗住效果亦有所不同。實驗中我們發現，在做捕捉精蟲的過程時需要針對精蟲的頭部做捕捉，才有較佳的鉗住效果。

圖8為利用此套光鉗系統在捕捉精蟲（光鉗焦點打在精蟲頭部）時所做的推移情形。由圖8 (b)→(f)可看出精蟲A與其他背景物 (B、C、D、E) 發生相對位置的改變，由此實驗結果得知，此套雷射光鉗對於精蟲能夠做到穩定的捕捉，並可隨意移動之。

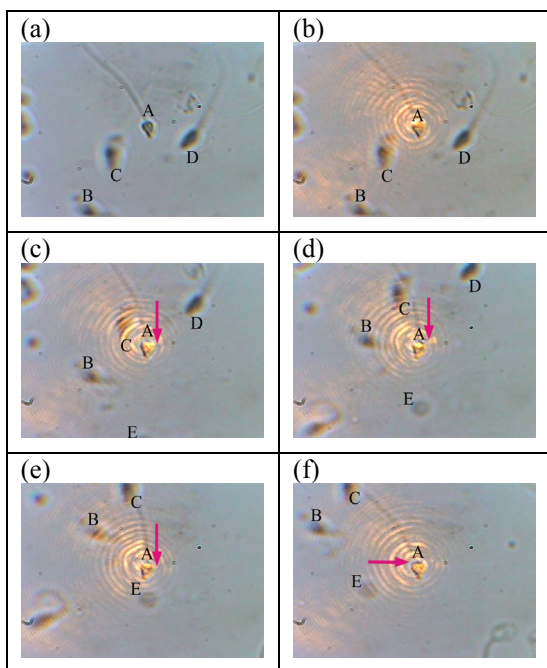


圖8 精蟲受光鉗推動的情形

4. 結論

由多次試驗、觀察結果發現，此光鉗系統對於一般生物醫學方面常見的活體微粒都能夠做到穩定的捕捉，並可隨意移動之。假使未來能有特殊設計的微流道之輔助，就可以對微粒做篩選分類或操縱。而由此近紅外波段雷射光的特性得知，細胞不會在被雷射光鉗住時因溫度的上升而遭到破壞。因此能夠達到低破壞、高穩定的捕捉條件，確立了日後繼續利用此光鉗系統研究活體細胞等微小生物粒子的基石。