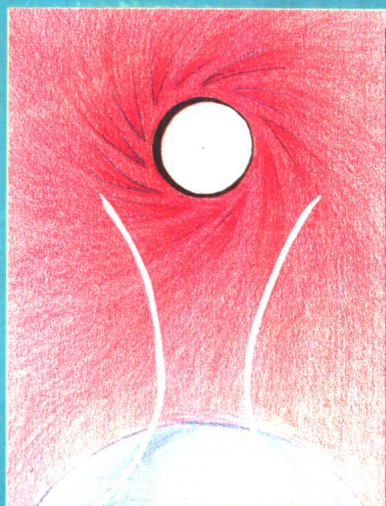


OPTICAL TWEEZERS



生命科学新技术
光镊原理、技术和应用

李银妹 编译

楼立人 鲁润龙 审校

中国科学技术大学出版社

生命科学新技术——

光镊原理、技术和应用

李银妹 编 译

楼立人 鲁润龙 审

中国科学技术大学出版社

1996. 合肥

华西医科大学图书馆

图书在版编目(CIP)数据

生命科学新技术——光镊原理、技术和应用/李银妹 编译.

—合肥:中国科学技术大学出版社,1996年5月

ISBN 7-312-00722-8

I. 生命科学新技术——光镊……

II. 李银妹

III. ①光镊 ②原理 ③技术 ④应用

IV. Q

中国科学技术大学出版社出版发行

(安徽省合肥市金寨路96号邮编:230026)

中国科学技术大学印刷厂印刷

全国新华书店经销

开本:850×1168/32 印张:7.25 字数:192千

1996年5月第1版 1996年5月第1次印刷

印数:1-2000册

ISBN 7-312-00722-8/Q·12 定价:15.00元

***The ability to move organelles
from their normal positions opens
doors to sophisticated studies of cell
function***

Ashkin. A

Science News Vol. **137**

March 10, 1990

序

人类历史发展至今,特别是近几百年来科学技术的进步,上至天文、下至地理,宏至广宇、微至夸克,已发现了许多事物的客观存在及其运动规律。越来越多地出现巧夺天工似的科技创作。人类已进入现代科学文明社会;然而,相比之下,在所有的科学发展领域内,人类对自然界中的生命现象的认识,特别是对生命本质的认识,还知之甚微。生命科学落后于其它学科。正如诺贝尔化学奖(1960)获得者 John Cowdery Kendrew 所指出,生物学研究中的特殊困难,根本在于生物的复杂性。除生物以外的其它领域都可以在复杂现象中分析出简单的原理;而唯独在生物学中,复杂性本身就是生物学现象固有的一种状态和特征。细胞是生命的结构和功能的基本单元,一切生物问题的答案最终都要追踪到细胞中去寻找。然而在生命科学体系中,细胞生物学的诞生迟于分子生物学,又不及分子生物学近年来的发展迅速,这固然是由于细胞相对来说是一个比较复杂的体系,更重要的是到目前为止还没有十分令人满意的实验方法和技术手段可供我们研究这样的生命基本单元。本书作者所介绍的正是用于细胞这样一个生命的特殊形式,生命的基本结构和生命的最重要层次的研究技术——激光光镊。

光镊是一种奇特的物理现象,当微小的粒子落入一个非均匀光场中,它将趋于特定的平衡位置。光镊可以在

保持处在生长环境中的细胞仍可与外界沟通的情况下,对目标细胞进行非接触式的捕获与固定,以及对它进行精确的操作。这种新型的单细胞操作技术克服了以往单细胞操作中细胞难以被固定和易产生机械损伤这两个致命的弱点,在对生命科学的研究中,几乎所有的单细胞操作中都可以用光镊替代传统的实验技术。1986年世界上第一次用这种光镊实现对生物粒子的远距离非接触捕获,从此打开了研究活细胞的方便之门。生命科学的研究从此便跃上一个新的台阶。

光镊是物理学发展中最新的一项实验技术,已经在多个领域得到了重要应用。就生命科学而言,初步研究已表明,光镊的特点使其在普通生物学、细胞生物学、分子遗传学、免疫学、生物光谱、细胞工程、基因工程等方面具有广泛的应用前景。例如,在细胞融合技术中,光镊的优势在于:针对预选的细胞使其紧密接触实现融合,因此没有不期望的融合物生成。该方法比起用化学等方法使细胞接触具有精确的选择性,也使对细胞的损伤降至最低限度。免疫系统具备克隆特性,必需要求单细胞技术以获取细胞的个体行为。在这个方面与传统的技术(玻璃针)相比,光镊这种非损伤技术有着明显的优势。在NK免疫细胞研究中,不同的NK亚型怎样攻击肿瘤细胞,有何异同点,以前尚无人研究,这显然是在细胞的分选、提取、捕获以及跟踪上的困难所致,现在有了光镊将不再是件难事了。光镊还能有效地收集染色体片段。这种非机械操作法在绝对无菌的条件下进行,将意味着它为所有与基因组测序相关的研究提供了一个行之有效的根本手段。与

此同时,光镊技术减轻了传统显微操作本身的乏味、繁琐和复杂程度,因而能使实验者注意力集中于实验过程中的细胞生态现象,这对研究一个动态演变过程是极为重要的。目前还没有其它实验技术比光镊如此使人得心应手。然而这仅仅是光镊在执行其使命时赋予我们的副产品。由此可见,光镊的发明带来了生物个体微处理操作的革命性进步。光镊所具有的特点必将在回答生命的本质、细胞为什么是活的等生命科学问题上肩负起它无可推卸的历史使命。

光镊技术的研究是一项初露端倪的交叉学科领域,在生命科学领域具有重要地位。1989年中国科学技术大学光镊研究小组在国内率先开展这项工作。目前该技术已引起我国专家学者高度重视。1993年10月,北京“第五届全国激光生物学学术讨论会”纪要中建议今后应在主要粮食作物的遗传转化及各种细胞的功能方面,大力开展工作,期望在较短的时间内取得具有突破性意义的研究成果。光镊技术及其应用研究已得到国家科委、国家自然科学基金委等研究部门的重视和支持,并列入了研究计划。

几年来本书作者结合自己的工作,跟踪国外研究成果,编译此书,这无疑是一件非常适时和有意义的工作。《生命科学新技术——光镊原理、技术和应用》是目前国内外第一部介绍光镊的书籍,它的问世必将会有助于我国学者对光镊技术应用领域的了解并投入到与其相关的研究中去。

科学技术发展到20世纪之末,理论科学与应用科学

的关系发生了巨大变化,二者之间的距离已逐渐缩短。人类进入了一个新的技术革命的时代。这场变革将影响着包括生命科学在内的各个领域。即将来到的 21 世纪已被誉为“生命科学”的世纪。面临这科学技术日新月异,迅猛发展而又充满挑战的时代,我们应随时捕捉历史的机遇,倾心竭力地去开辟一个又一个新的科研领域,并去占领科研的新阵地。作者奉献此书,表达了对我国科学事业迅速发展的切切之情,一定会在不远的将来得到满意的回报。

南京医科大学 朱思明

1995 年 3 月 10 日

前 言

光镊——一个由光学梯度力形成的光学阱,如同一把无形的镊子可以捕获微小的生命。它是激光发明以来,继激光刀(激光微束)之后在生命科学中得到重要应用的又一新的物理手段。细胞是生命结构和功能的基本单元,光镊用于微米范围内操纵微粒的特点正好符合细胞、亚细胞层次的研究。在 20 世纪末各种新技术争妍斗艳的角逐中,光镊以它能动态地研究活细胞的独特的功能,显示出耀人眼目的灿烂之光。

生命在于运动。生命最本质的特性是具有活性。它表现为生物的新陈代谢、生长发育、繁殖、遗传与变异、运动与感应等运动过程。对于生命的了解,莫过于在活的生命状态中研究这一系列的运动演变,才能揭示生命的本质。然而,生命是离不开水的,而水的存在又给研究方法带来了困难。以往,包括电子显微镜所观察到的细胞精细结构,都是经过各种化学处理致死的干样品,它已破坏了细胞的生命状态。自从 1945 年(薛定谔)提出生命是什么以来,人们一直在探索观察与研究活细胞的方法。

70 年代末的低温电镜技术与冰冻切片技术相结合,在研究含水生物材料的结构方面作出了努力。90 年代末扫描隧道显微镜与原子力显微镜为观察含水 DNA 分子提供了可能。正在发展着的共聚焦显微镜和软 X 射线显微镜以及各种离子的荧光探针法和 ESR, NMR, Raman 光谱法都从不同角度开拓了对活细胞的研究。但是这些方法都还没有解决:在保持细胞正常生命活动的条件下束缚和控制细胞的技术。实际上这一技术是所有活细胞研究,无论是上述方法,还是今后可能发展的新方法首先要解决的问题。在微米尺度上活细胞研究的进一步发展,期待着新思想、新技术、新方法的出现。

在这 20 世纪末,迈向 21 世纪的仟年之交的重要历史时刻,一项新技术带着对人类的美好祝福叩响了生命科学的大门。它就是基于光的力学效应和激光技术的“光学镊子”。光镊恰是我们所期望的一种无损伤地操作活细胞、细胞器的有效手段。它产生的皮牛量级的力正好适合于生物微米量级结构的研究。

光镊是美国贝尔实验室科学家 Arthur Ashkin 于 1986 年首先用于生命科学的激光技术。它的发现使显微活体的研究看到了希望。光镊的鬼斧神工对于生命科学,正如 Arthur Ashkin 所说的那样,光镊“将细胞器从它们正常位置移去的能力,为我们打开了精确研究细胞功能的大门”。

一位专门研究激光刀解剖生物的科学家,美国贝克曼研究室的 Mischael W. Berns 毫不迟疑地举起了光镊,来进行他期待已久而无法实现的种种细胞手术。他感叹“现在激光箱里多了一把镊子,使用起来方便多了”。普林斯顿大学的 Steven M. Block、阿姆斯特丹大学的 Koen Visscher,还有荷兰的 Tom C. Bakker Schut 德国的 Karlotto Greulich 和日本的 Hiroshi Masuhava 等学者也都迅速地开展了对光镊的研究。

目前,利用光镊已实现对微米量级的活细胞、细胞器的固定、悬浮、分选、操纵,对染色体的捕捉,微胶囊的定位以及用于细胞融合、克服鞭毛旋转力矩和研究细胞骨架等;更使人震惊的是,仅几年的发展就已深入到观察个别分子运动,使人类第一次辨认出动力原驱动蛋白分子的分步运动状态。1984 年发现驱动蛋白的生物学家罗纳德 D. 伐尔赞誉 Steven M. Block 这项研究成果是项了不起的成就。光镊为科学家们探索梦寐以求的那神秘的生命推动力的本原拉开了壮观而神圣的序幕。

笔者有幸于 1989 年开始参与了对光镊的研究。对于光镊区别于其它技术所特有的功效和它必将为人类所作的贡献,以及单光束三维空间陷阱技术上的简洁之美,如同生物粒子被光阱力吸引一样笔者也被深深地吸引着。诚然,没有一项工作比探索生命的奥

秘、了解人的本质和解除人类自身疾病更令人神往了。

用激光捕获法解决了对单细胞的操作,这在生物技术上是一个划时代的突破。一项新技术的诞生必将引发一系列学科的多方面的革命。光镊在生命科学中的应用潜力和前景是美好的。然而光镊的研究在国内还刚刚起步,为促进我国该领域的发展,笔者萌发了编译此书的初衷。该领域是年轻和开放的,在编译此书时,仅书中提及的少数研究室真正开展着对光镊的研究,发表的论文也极有限。然而,现在正是提供这个朝气蓬勃的学科的启发式陈述的好机会。此书的编译期待着我国学者,尤其是青年学者投入开垦这块处女地的行列,为我国该领域的研究去播撒一片绿洲。

全书分上下两篇。上篇定性地阐述光镊的原理和技术,介绍了目前国际上对于光镊研究的总体概况。主要为读者了解光镊这项新技术以及为将使用光镊的学者研究后半部分的学术论文提供必要的基础知识。原理部分,以简明形象的描述,使技术的使用者以少许时间就能熟悉光镊的特性与功能。技术部分,围绕光镊及与光镊结合运用的其它技术,提供研究者以基本的思路和方法。读者可以在此基础上开发出适合于自己的研究设备。应用部分,与本书下篇中的译文互补,重点介绍译文以外的研究和应用成果。书的下篇为本书的重点。这部分译文是从检索到的几十篇文献中挑选出具有代表性的 15 篇论文(理论:3 篇、技术:6 篇、应用:6 篇,这种分类仅仅是为了编排方便,不尽合理。)侧重于技术和应用。其中相当部分是原作者自荐的论文,它较好地反映了目前国际上的研究水平和最新的成果。相信这部分内容会诱发读者丰富的想象,从而开拓更广泛的应用。

全书知识内容不仅属于物理和生物范畴,还涉及生化、医学、电子等学科领域,体现了交叉学科的研究特点,然而也为编译工作带来了许多困难。欣慰的是,负责审校工作的中国科学技术大学楼立人和鲁润龙两位教授,他们对笔者编译此书以及此书的意义以充分的理解和肯定,对审校工作极其认真负责。从书的内容到结构

等各方面给笔者以具体的指导和帮助,使笔者受益匪浅。也使本书大为生色。在此谨向楼立人和鲁润龙两位教授表示衷心的感谢。

科学是没有国界的。本书在资料收集中还得到了国外学者的友好帮助。光镊的发明者 A. Ashkin 和当今国际上光镊的主要研究学者 Michael W. Berns, Koen Visscher, Tom C. Bakker Schut 和 H. Masuhaya 等先生来信,对把他们的研究作品介绍给中国学者表示极大的兴趣。他们寄来资料,推荐他们最出色的工作和介绍最新工作成果,因而丰富了本书的内容。Steven M. Block 来信热情洋溢地说“……‘利用光镊测量细菌鞭毛的顺度’可以向你的读者奉献更多。我们还将光镊方面做更多有趣的工作。特别重要的是我们最近用光学陷阱和干涉仪组合系统做的研究工作表明,驱动蛋白是以 8nm 步长作分布运动的。我冒昧地随信寄上一些复印件,希望对你的努力尝试有所帮助。如果你决定采用其中任意一篇,我将非常感激。当你编辑的书完稿后,请送一本或数本给我”。笔者感激所有这些外国学者友好热诚的支持和帮助。

本书源于对边缘学科的研究,所涉及的内容是一个崭新的极具生命力的新领域。它得到了中国科学技术大学卞祖和副校长的积极推荐和中国科学技术大学出版社的大力扶持。从本书的酝酿直至完稿,还得到许多朋友的鼓励和帮助。在此向各级组织和朋友们表示深深的谢意。

南京医科大学医学生理学教授兼中国科学技术大学生物医学工程学教授朱思明先生对光镊技术的研究和发展极为关注,不仅鼓励笔者致力于光镊这项技术的研究,还百忙中亲自为本书写序,前辈的关怀和提携,无疑是对笔者最大的鞭策。

限于笔者的能力和学识,书中定有不少欠妥和错误之处,恳请前辈、朋友和读者给予批评指正。

李银妹

1994 年 11 月 20 日

内 容 简 介

光镊是基于光的力学效应的一项新的物理工具,它如同一把无形的机械镊子,可实现对活体细胞及细胞器的无损伤的捕获与操作。光镊是目前研究单个活体细胞最独特而有效的工具。光镊的发明正适合了生命科学深入到细胞、亚细胞层次的研究趋势,也为生物工程技术提供了一种最新的手段。对光镊的初步应用已展示其在生命科学领域中无限美好的应用前景。

本书是我国有关光镊的第一部专业书籍。全书分上、下两篇:上篇定性地阐述了光学镊子的基本原理和技术,并且对这一新技术在生命科学中的应用作了概略的介绍,以期为研究者提供基本的思路和方法,也为读者研究下篇中的科技译文提供必要的基本知识;下篇是本书的重点,选择了国外学者在该领域的代表性研究论文,包括对光镊技术本身的一些深入探讨,光镊技术在生命科学领域中的重要应用和已取得的研究成果。这些文章将有助于读者深入了解光镊技术的独特性质和它潜在的应用前景。

本书适合于生物、物理、医学以及相关的边缘学科的研究人员参考。也可用作高等院校激光生物学、激光技术及应用和生物技术的教学参考书。对生命科学新技术感兴趣者也可将此书作为对光镊这一新技术的入门读物。

目 录

序	朱思明 (I)
前言	(V)

上篇 光镊原理和技术

第一章 光镊概述与原理	(3)
一、光镊与光阱	(3)
二、光辐射压力	(4)
三、梯度力	(8)
四、二维光学势阱	(10)
五、单光束梯度力光阱	(12)
六、阱力与束缚条件	(15)
第二章 光镊装置的基本构造	(19)
一、捕获光	(21)
二、捕获聚焦镜	(23)
三、操作阱台	(24)
四、样品和样品室	(25)
五、显微动态监测	(26)
六、光耦合器	(27)
第三章 光镊与其它技术的组合运用	(29)
一、激光解剖刀	(29)
二、激光扫描共焦显微镜	(32)
三、小珠——中介手柄	(34)
四、多光阱组合运用	(35)
五、扫描光阱与微粒排布	(36)
六、双光束干涉微位移测量术 (光阱干涉仪)	(39)

第四章 应用研究与展望	(40)
一、分选	(40)
二、细胞染色体	(41)
三、细胞骨架	(44)
四、分子动力原的研究	(46)
五、细胞周期及其调控研究	(48)
六、结束语	(49)

下 篇 光镊原理、技术应用论文译文

第五章 光镊原理	(55)
一、单光束梯度力光学阱捕获电介质粒子的实验观察 A. Ashkin(55)	
二、辐射压力作用下液滴的光学悬浮	A. Ashkin(63)
三、几何光学模型下的光阱稳定性的理论计算和实验研究 Tom C. Bakker Schut(69)	
第六章 光镊技术	(84)
一、一种半导体激光光镊	Robert S. Afzal(84)
二、红外激光捕获与操纵单细胞	A. Ashkin(99)
三、共焦显微镜与单光束光阱的组合在生物学 中的应用	Koen Visscher(106)
四、光学陷阱干涉量度法直接观察驱动蛋白 的分步运动	Karel Svoboda(118)
五、激光扫描显微操作实现微粒的图案排布 和流动控制	Keiji Sasaki(136)
六、水中单个胶乳粒子的激光捕获、光谱学 和消融作用	Hiroaki Misawa(142)

第七章 光镊技术的应用	(146)
一、利用光学陷阱分选单种酵母细胞	
.....	Jos A. Grimbergen(146)
二、光镊引导的激光细胞融合——激光细胞融合阱	
.....	Rosemarie Wiegand Steubing(159)
三、用光阱研究纺锤体里染色体的运动	
.....	Michael W. Berns(168)
四、用光镊对 PTK ₂ 细胞中有丝分裂染色体的显微操作	
.....	Hong Liang(176)
五、利用光镊测量细菌鞭毛的顺度	
.....	Steven M. Block(183)
六、光镊在免疫学和分子遗传学中的应用	
.....	S. Seeger(194)
索引	(206)

上 篇

光 镊 原 理 和 技 术