

На правах рукописи

Любин Евгений Валерьевич

ФОТОННО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ
МАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ, КЛЕТОК КРОВИ И
ВОЛНОВОДНЫХ МОД ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛОВ

01.04.21 – Лазерная физика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2014

Работа выполнена на кафедре квантовой электроники физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”.

Научный руководитель:

д. ф.-м. н., проф. Федянин Андрей Анатольевич

Официальные оппоненты:

д. ф.-м. н., проф. Лощенов Виктор Борисович,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей физики имени А.М. Прохорова
Российской академии наук, Москва

д. ф.-м. н., в. н. с. Хлебцов Борис Николаевич,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук, Саратов

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт спектроскопии Российской академии наук, Москва

Защита состоится 20 марта 2014 г. в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д501.001.31 в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, МГУ, дом 1, корпус нелинейной оптики, аудитория имени С.А. Ахманова.

С диссертацией можно ознакомиться в Отделе диссертаций Научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан “___” февраля 2014 г.

Отзывы и замечания по автореферату в двух экземплярах, заверенные печатью, просьба высылать по вышеуказанному адресу на имя ученого секретаря диссертационного совета.

Ученый секретарь диссертационного
совета Д501.001.31, к. ф.-м. н.

А.А.Коновко

Общая характеристика работы

Диссертационная работа посвящена развитию и применению лазерной методики оптического пинцета для диагностики взаимодействия магнитных микрочастиц, изучению механических свойств биологических клеток, сил парной агрегации эритроцитов, а также исследованию силового воздействия электромагнитного поля волноводной моды одномерного фотонного кристалла на пробную диэлектрическую микрочастицу вблизи поверхности этого кристалла.

Методы исследования вязких и упругих характеристик микрообъектов, а также сил взаимодействия между микрообъектами имеют важное практическое и фундаментальное значение для медицины, коллоидной химии, клеточной биологии и т. д. Один из таких методов основан на возможности жесткой фокусировки лазерного излучения. Пространственное неоднородное оптическое поле вблизи перетяжки сильно сфокусированного лазерного луча формирует эффективную пространственную потенциальную яму. Захват микрообъектов в такую потенциальную яму, а также управление захваченными микрообъектами, называется *методом оптического пинцета* [1,2]. Возможность управления положением микрообъектов позволяет применять этот метод для широкого круга задач, в том числе для искусственного упорядочения и сортировки микрочастиц, предоставляет уникальную возможность изучения свойств одиночных микрообъектов без влияния их взаимодействия с подложкой или зондом. Эту возможность используют, например, для исследования люминесцентных [3] и нелинейно-оптических [4] свойств одиночных микрочастиц, а также изучения поведения магнитных частиц в переменном магнитном поле [5]. Наибольшее распространение оптический пинцет получил в микробиологических приложениях, так как позволяет фиксировать и перемещать живые клетки в близкой к естественной для них среде. В частности, метод широко используется для изучения свойств эритроцитов. Оптический пинцет позволяет проводить количественное измерение сил взаимодействия фемтоньютонного масштаба между единичными микрообъектами, например, для изучения силового взаимодействия между биологическими клетками, определения упругих свойств клеточных мембран и отдельных макромолекул [6], измерения магнитного момента микрочастиц [7] и т.д. Применение метода оптического пинцета для измерения силовых взаимодействий получило название *фотонно-силовой микроскопии* [8].

В диссертационной работе метод оптического пинцета развит для измерения свойств магнитных микрочастиц. Суспензии магнитных микрочастиц имеют ряд практических приложений, например, они используются в магнитной гипертермии для уничтожения раковых опухолей [9]. Единичные магнитные частицы применяются в качестве локальных зондов свойств среды [10,11], а также в качестве инструмента, позволяющего осуществлять манипуляции с отдельными биологическими клетками и макромолекулами, например, для измерения модуля кручения ДНК [12]. В данной диссертационной работе приводятся результаты по измерению силы, действующей между магнитными частицами, исследуется статистика их теплового движения в ловушках, и предлагается метод по измерению

магнитных моментов микрочастиц на основе анализа движения пары взаимодействующих микрочастиц, локализованных в двух оптических ловушках.

Лазерная методика оптического пинцета также применена для изучения силового взаимодействия эритроцитов при их агрегации. Способность красных кровяных телец к агрегации является одним из важнейших компонентов в микроциркуляции крови, а значит и функционирования организма в целом. До сих пор исследование агрегации эритроцитов актуально из-за неоднозначности в трактовке ее причин и механизмов, а также из-за значимости этого процесса в развитии различных заболеваний, связанных с гемореологическими нарушениями. Возрастание степени агрегации и затруднение процесса дезагрегации клеток приводит к тому, что кровоток затрудняется, что ведет к ухудшению процесса снабжения тканей кислородом и является одной из причин развития ишемии и тромбоза, приводит к нарушению микроциркуляции крови. Поэтому изучение явления агрегации представляет не только фундаментальный, но и прикладной интерес в медицине. Помимо изучения сил агрегации эритроцитов в работе предложено совмещение фотонно-силовой микроскопии с анализом движения оптически захваченного одиночного эритроцита, как объекта с ярко выраженными вязкоупругими свойствами. Такой подход позволяет выделить колебания краев эритроцита, вызванные осцилляциями положения оптической ловушки, много меньшими характерной амплитуды их броуновского движения в ловушке. Определяя разность фаз между колебаниями противоположных краев клетки в зависимости от частоты вынуждающей силы со стороны оптических ловушек, можно количественно характеризовать вязко-упругие свойства отдельного эритроцита.

В последней части диссертационной работы методом фотонно-силовой микроскопии исследуется свойство электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла оказывать силовое воздействие на микрообъекты вблизи поверхности кристалла. Фотонные кристаллы — это структуры с периодическим изменением показателя преломления на масштабах, сравнимых с длиной волны электромагнитного излучения. Эти структуры интересны своими оптическими свойствами. Одним из таких свойств является возникновение при определенных условиях поверхностных электромагнитных волн, а также волноводных мод с существенной локализацией электромагнитного поля вблизи границы фотонного кристалла. Их характеризуют высокая степень пространственной локализации, направленность распространения, малая расходимость. Благодаря своим свойствам они могут получить применение в современных устройствах, таких, например, как компьютерные чипы или оптические сенсоры. Они могут быть использованы в литографии, а также, как средство эффективной передачи информации.

Целями работы являются изучение влияния магнитного взаимодействия между микрочастицами на статистику их броуновского движения в оптических ловушках, разработка метода измерения сил магнитного взаимодействия микрочастиц с помощью оптического пинцета, изучение вязко-упругих и агрегационных свойств одиночных эритроцитов методом двухлучевого оптического пинцета и изучение методом фотонно-силовой микроскопии свойств электромагнитного по-

ля волноводной моды фотонного кристалла.

Актуальность работы обусловлена как фундаментальным интересом к проблемам, связанным с управлением одиночными микрообъектами неоднородным лазерным излучением, так и интересом к исследованию магнитного взаимодействия микрочастиц в суспензиях магнитных жидкостей, развитию методов диагностики вязко-упругих характеристик клеток крови и применению фотонно-кристаллических структур в сенсорах. Обоснованность и достоверность экспериментальных результатов определяется использованием современного оборудования и многократным повторением экспериментов. Экспериментальные данные подтверждены теоретическими расчетами, основанными на адекватно выбранных физических моделях анализируемых процессов, а также не противоречат результатам других исследователей. Результаты экспериментальных и теоретических исследований неоднократно обсуждались на семинарах и докладывались на специализированных научных конференциях по проблемам, связанным с тематикой диссертационной работы. Представленные результаты опубликованы в международных и российских журналах, являются новыми и получены впервые.

Научная новизна результатов диссертации заключается в следующих положениях:

- Впервые экспериментально методом фотонно-силовой микроскопии измерены силы притяжения магнитных микрочастиц. Предложен новый метод определения величины и градиента силы взаимодействия между двумя магнитными микрочастицами на основе корреляционного анализа смещений этих частиц из оптических ловушек.
- Предложен новый метод диагностики вязко-упругих свойств эритроцитов. Метод основан на анализе фазового сдвига в осцилляциях краев клетки, захваченных одновременно в две оптические ловушки, положение одной из которых периодически меняется со временем. Впервые измерена средняя сила, необходимая для сдвига эритроцитов на заданное расстояние друг относительно друга в парном агрегате в аутологичной плазме крови.
- Впервые методом фотонно-силовой микроскопии экспериментально обнаружено силовое воздействие электромагнитного поля первой волноводной моды одномерного фотонного кристалла на пробную микрочастицу, расположенную в воде вблизи его границы.

Практическая значимость работы состоит в возможном использовании полученных результатов в задачах, связанных с управлением и характеристикой микрообъектов методом оптического пинцета; исследованием и применением магнитных жидкостей; развитием методов диагностики заболеваний, связанных с изменением реологических свойств крови; разработкой сенсоров на основе фотонных кристаллов; а также развитием методов управления движением микрочастиц электромагнитным полем вблизи границ разделов сред.

На защиту выносятся следующие основные положения:

- Силы взаимодействия магнитных микрочастиц могут быть измерены методом двухлучевого оптического (лазерного) пинцета. Корреляционная функция броуновских смещений двух магнитных частиц, локализованных в две оптические ловушки, зависит от силы магнитного взаимодействия микрочастиц.
- Притяжение между магнитными микрочастицами приводит к уменьшению значений корреляционной функции броуновских смещений вдоль оси, проходящей через центры частиц, а отталкивание – к возрастанию. Для системы из двух захваченных в оптические ловушки частиц отношение амплитуды смещений частицы в неподвижной ловушке к амплитуде смещений частицы в осциллирующей ловушке растет при увеличении градиента силы магнитного взаимодействия частиц, если частоты смещений осциллирующей ловушки меньше частоты отсечки, равной отношению жесткости оптической ловушки к коэффициенту вязкого трения частицы в среде.
- Сила сдвиговой дезагрегации красных кровяных телец и их вязко-упругие свойства могут быть определены методом двухлучевого оптического (лазерного) пинцета. Расстояние между центрами клеток в парном агрегате возрастает с увеличением сил, приложенных со стороны оптических ловушек и направленных на разъединение клеток.
- Тангенс фазовой задержки колебаний одного края эритроцита, удерживаемого за противоположные края в двух оптических ловушках, относительно другого края, испытывающего периодическое механическое воздействие вдоль линии, связывающей ловушки, пропорционален частоте этого воздействия в диапазоне от 0,1 до 1 кГц.
- Метод фотонно-силовой микроскопии применим для исследования электромагнитного поля в волноводной моде одномерного фотонного кристалла.
- Микрочастица, находящаяся вблизи поверхности фотонного кристалла, испытывает силовое воздействие со стороны электромагнитного поля волноводной моды, возбужденной лазерным излучением в схеме нарушенного полного отражения. При этом сила, действующая на пробную частицу, возрастает вблизи резонанса возбуждения волноводной моды фотонного кристалла, а также при приближении пробной частицы к поверхности фотонного кристалла.

Апробация работы проводилась на следующих международных конференциях: “4-th International Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics” (MSCMP) (Кишинев, Молдавия, 2008), “12th Joint MMM-INTERMAG Conference” (Чикаго, США, 2013), “19th International Conference on Advanced Laser Technologies” (ALT) (Золотые пески, Болгария, 2011), “SPIE Photonics Europe” (Брюссель, Бельгия, 2012), “International Conference on Lasers, Applications, and Technologies” (LAT) (Казань, Россия, 2010), “International

Conference on Coherent and Nonlinear Optics” (ICONO), (Москва, Россия, 2013), “Frontiers in Optics” (FiO), (Орландо, США, 2013).

Результаты диссертационной работы опубликованы в 4 статьях научных журналов из списка ВАК России.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы. Объем диссертации 145 страниц, включая список литературы, 48 рисунков. Список цитированной литературы содержит 133 наименования, включая публикации автора по теме диссертации.

Личный вклад. Все результаты диссертационной работы получены автором лично либо при его непосредственном участии.

Содержание работы

Глава 1. Обзор литературы: применение метода оптического пинцета для исследования физических явлений

Первая глава содержит обзор литературы, касающейся применений методики оптического пинцета для исследования физических явлений. Описан принцип действия оптического пинцета и методы его калибровки. Основное внимание уделено рассмотрению методов измерения сил в оптическом пинцете при изучении магнитных суспензий, клеток крови и поверхностно-активных сред.

Глава 2. Изучение силового взаимодействия магнитных микрочастиц методом оптического пинцета

Во второй главе описывается новая методика изучения парного взаимодействия магнитных микрочастиц в жидкости. Рассматривается фундаментальная задача о броуновском движении двух частиц, взаимодействующих силами магнитной природы, во внешнем потенциале лазерных ловушек. В главе рассмотрены корреляционные функции броуновских смещений пары частиц, локализованных оптическим пинцетом на заданном расстоянии друг от друга. Показано, что корреляции в движении микрочастиц существенным образом определяются градиентом силового, в частности магнитного, взаимодействия между частицами. Показано, что величина сил может быть определена с точностью до единиц фН , а магнитный момент микрочастиц с точностью до единиц $\text{фА}\cdot\text{м}^2$. Изучается влияние внешней периодической силы, приложенной к одной частице, на движение второй частицы.

Вывод теоретических выражений корреляционных функций броуновского движения взаимодействующих магнитных микрочастиц в оптическом пинцете проведен с помощью рассмотрения уравнения Ланжевена для коллективной и относительной мод движения микрочастиц в приближении Озеена для тензора подвижности сферических частиц в жидкости. Выкладки дали следующее выражение корреляционной функции смещений магнитных частиц из положения

равновесия $\Delta x_{1,2}$ вдоль оси Ox , соединяющей центры оптических ловушек:

$$g(\tau) = \frac{\langle \Delta x_1(t) \Delta x_2(t + \tau) \rangle}{\sqrt{\langle \Delta x_1^2 \rangle \langle \Delta x_2^2 \rangle}} = \frac{k - 2k'}{2(k - k')} e^{-\frac{k(1+\varepsilon)}{\gamma} \tau} - \frac{k}{2(k - k')} e^{-\frac{(k-2k')(1-\varepsilon)}{\gamma} \tau}, \quad (1)$$

где k — жесткость оптических ловушек, $k' = \frac{dF_m}{dr}(R)$ — есть величина проекции на ось Ox градиента силы магнитного взаимодействия микрочастиц F_m , расположенных на расстоянии R друг от друга, соответствующем положению равновесия частиц, $\varepsilon = 3a/2R$ и $\gamma = 6\pi\eta a$, a — радиус частиц, η — коэффициент динамической вязкости среды, $\langle \Delta x_{1,2}^2 \rangle$ — дисперсии смещений частиц вдоль оси Ox .

В экспериментальной части проводился захват двух микрочастиц в две оптические ловушки, расположенные на расстоянии 4.5–9 мкм друг от друга. Типичная фотография двух захваченных микрочастиц изображена на вставке рисунка 1.

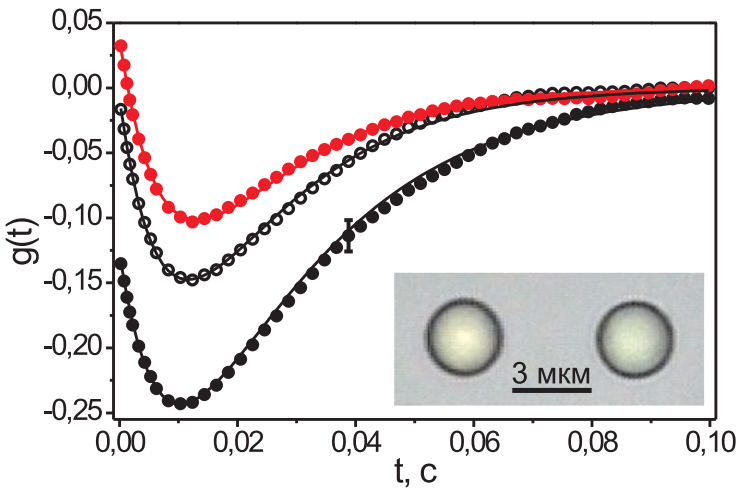


Рис. 1: Нормированные на среднегеометрическую дисперсию корреляционные функции смещения двух частиц в оптических ловушках. Черные и красные закрашенные точки относятся, соответственно, к случаям ориентации линий напряженности внешнего магнитного поля вдоль и перпендикулярно оси Ox , проведенной через центры оптических ловушек. Величина напряженности магнитного поля $H = 62 \text{ Э}$, расстояние между оптическими ловушками $L = 6 \text{ мкм}$. Черные открытые точки соответствуют измерениям в отсутствии внешнего магнитного поля. Линии — теоретическая аппроксимация значений выражением (1).

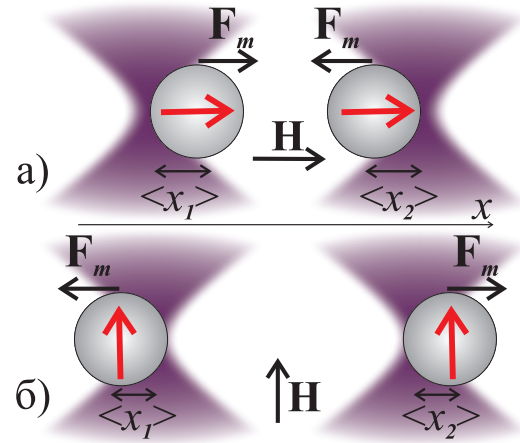


Рис. 2: Схематическое изображение двух магнитных частиц, захваченных в оптические ловушки в присутствии внешнего магнитного поля \mathbf{H} . а) Параллельная конфигурация — линии напряженности внешнего поля направлены вдоль оси Ox , соединяющей центры ловушек. б) Перпендикулярная конфигурация — линии напряженности ортогональны этой оси. Магнитные моменты частиц показаны стрелками внутри частиц, $\langle x_{1,2} \rangle$ — средние величины смещений частиц из центров оптических ловушек вследствие действия силы магнитного взаимодействия \mathbf{F}_m .

На рис.1 показаны типичные графики нормированной корреляционной функции броуновских смещений микрочастиц из положений равновесия вдоль оси Ox . Незакрашенные точки соответствуют корреляционной функции, полученной при измерении смещений в отсутствие внешнего магнитного поля. Наличие минимума при $t \approx 0.01$ с обусловлено гидродинамическим взаимодействием микрочастиц через жидкую среду. При наличии внешнего магнитного поля, создаваемого в области образца, корреляционная функция меняется. В случае, когда силовые линии магнитного поля направлены вдоль оси Ox , то есть вдоль прямой, проходящей через положения ловушек, наблюдается уменьшение значений корреляционной функции (закрашенные черные точки). Если же силовые линии направлены перпендикулярно оси Ox , корреляционная функция возрастает (красные точки). Данные наблюдения можно объяснить следующим образом. Во внешнем магнитном поле парамагнитные частицы приобретают наведенные магнитные моменты. Если вектор напряженности магнитного поля параллелен или перпендикулярен рассматриваемой оси Ox , то магнитные моменты становятся сонаправленными друг с другом и внешним полем (Рис. 2). В случае, когда два магнитных момента направлены вдоль соединяющей их линии, они испытывают притяжение, а когда перпендикулярно данной линии — отталкивание, причем чем ближе эти моменты, тем сильнее сила магнитного взаимодействия. Поэтому, если сила взаимодействия проявляется в притяжении, то при смещении первой частицы в ходе теплового движения в сторону возрастания координаты x_1 вторая частица будет стремиться в сторону убывания x_2 , и броуновское движение частиц становится антикоррелированным, то есть значения корреляционной функции убывают. В случае же отталкивания при смещении первой частицы в сторону возрастания координаты x_1 вторая частица будет стремиться в ту же сторону. И движение становится скоррелированным, то есть значения корреляционной функции возрастают. Полученные в эксперименте кросс-корреляционные функции были аппроксимированы зависимостью (1), используя градиент силы взаимодействия k' и эффективную жесткость оптических ловушек k как параметры аппроксимации. Среднее значение жесткости обеих оптических ловушек составило $k = (2, 0 \pm 0, 1) \cdot 10^{-6}$ Н/м.

С помощью данной калибровки определено среднее смещение частиц из центров оптических ловушек $\langle x_{1,2} \rangle$ под действием силы магнитного взаимодействия $F_m(R)$, а также величину этой силы из выражения $F_m(R) = k\langle x_2 \rangle = -k\langle x_1 \rangle$. На рисунке 3а показана зависимость силы магнитного взаимодействия микрочастиц от расстояния между ними при напряженности внешнего магнитного поля 62 Э. Как видно из графика, когда силовые линии внешнего магнитного поля направлены вдоль оси Ox , наблюдается притяжение парамагнитных микрочастиц. Если вектор напряженности внешнего магнитного поля ориентирован перпендикулярно этой оси, то наблюдается отталкивание. Если каждую частицу представить как магнитный дипольный момент M , силу их магнитного взаимодействия можно представить как [11, 13]:

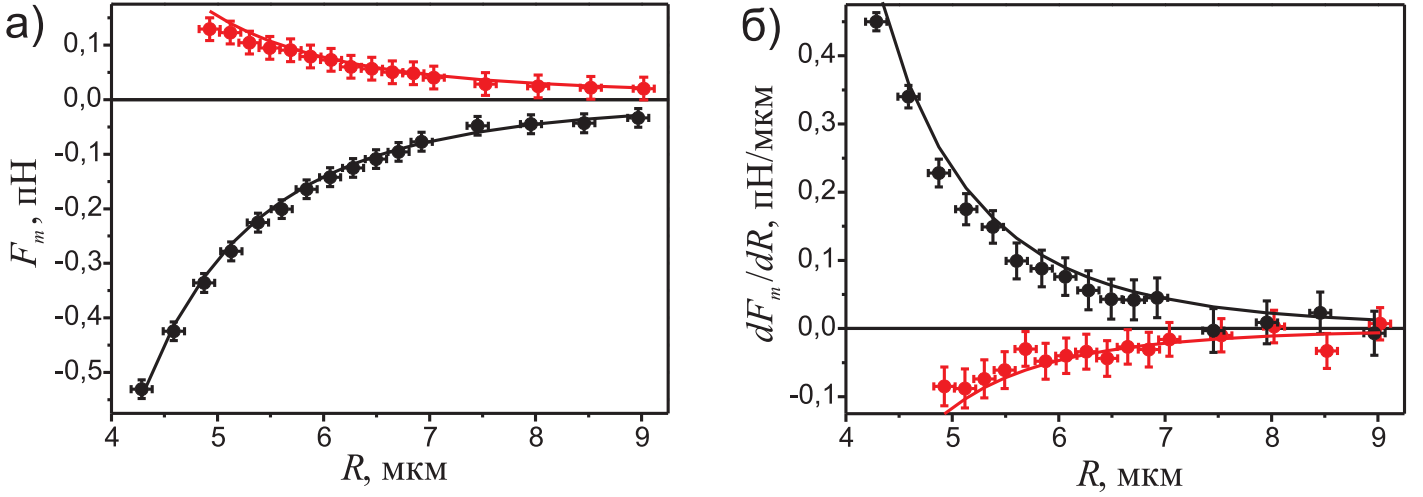


Рис. 3: а) Зависимость силы взаимодействия пары магнитных микрочастиц от расстояния между ними. б) Зависимость градиента этой силы от расстояния между частицами, полученная с помощью аппроксимации корреляционных функций смещений частиц из положений равновесия в оптических ловушках. Величина внешнего магнитного поля составляет $H = 62 \text{ Э}$. Черные точки соответствуют ориентации линий напряженности вдоль оси Ox , проведенной через центры ловушек, красные точки — перпендикулярно этой оси. Линии — аппроксимация полученных значений моделью дипольного взаимодействия (2).

$$F_m^{\parallel} = -\frac{6M^2}{R^4}, \quad F_m^{\perp} = \frac{3M^2}{R^4}, \quad (2)$$

где индекс \parallel указывает, что магнитные моменты ориентированы вдоль соединяющей их прямой, а индекс \perp — перпендикулярно этой прямой. Аппроксимация экспериментальных данных зависимостью (2) дала следующие значения для величины M : $(17,5 \pm 0,8) \cdot 10^{-15} \text{ Ам}^2$ в случае ориентации магнитных моментов вдоль оси Ox и $(17,4 \pm 1,1) \cdot 10^{-15} \text{ Ам}^2$ в случае ориентации перпендикулярно этой оси, т.е. магнитные моменты получились равными в обеих конфигурациях, следовательно, влияние взаимного намагничивания частиц пренебрежимо мало. Действительно, влияние взаимного намагничивания должно вносить поправки порядка α/R^3 к искомой величине, где $\alpha \approx M/H = (3,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-18} \text{ м}^3$ по крайней мере в 20 раз меньше величины R^3 .

Зависимость градиента силы магнитного взаимодействия k' от расстояния между частицами, полученная при аппроксимации корреляционных функций смещения микрочастиц выражением (1) показана точками на рисунке 3б. Сплошными линиями на графике показаны эти модельные зависимости градиента силы, соответствующие ранее найденным значениям магнитного момента частиц M . Как видно, эти модельные зависимости находятся в хорошем согласии с данными, полученными из анализа корреляционных функций. Следует отметить, что для описанного эксперимента ошибка определения градиента силы взаимодействия из анализа корреляционных функций составляет около 5%, что намного

точнее прямого дифференцирования значений этой силы, представленных на рисунке 3а, которое дает ошибку примерно в 25%.

Для определения свойств магнитных микрочастиц была измерена зависимость силы их парного взаимодействия от напряженности внешнего магнитного поля. Расстояние между ловушками равнялось $L = 6$ мкм. Измерения проводились, начиная с максимального значения 62 Э, в сторону уменьшения напряженности магнитного поля. Полученная зависимость представлена на рисунке 4.

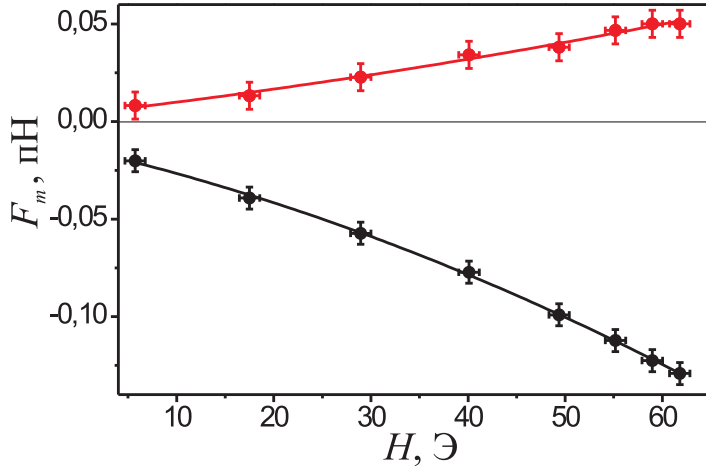
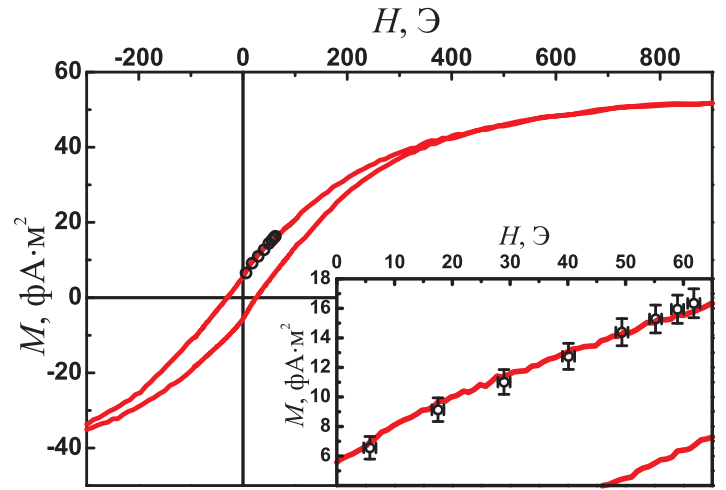


Рис. 4: Зависимость силы взаимодействия микрочастиц от величины внешнего магнитного поля, измеренная при ориентации линий напряженности поля вдоль оси Ox (черные точки) и перпендикулярно этой оси (красные точки). Линии — аппроксимация данных параболическим законом. Расстояние между центрами оптических ловушек $L = 6$ мкм.

Сплошными линиями показана аппроксимация экспериментальных данных функциями (2), в которых $M = M_0 + \beta H$, M_0 и β — параметры аппроксимации. Используя полученную зависимость силы взаимодействия от величины внешнего магнитного поля и формулу для этой силы в дипольном приближении (2), были рассчитаны величины магнитных моментов микрочастиц. Эти значения показаны на рисунке 5 точками. Для сравнения на этом же рисунке сплошными линиями показаны результаты, полученные с помощью вибрационного магнитометра для суспензии таких же микрочастиц. Зависимость магнитных моментов от напряженности внешнего магнитного поля имеет вид характерной для суперпарамагнитных материалов петли гистерезиса. На вставке рисунка показаны полученные значения магнитного момента в диапазоне полей, используемых в измерениях с помощью оптического пинцета. Согласие экспериментальных данных, полученных двумя способами, показывает возможность применения методики оптического пинцета для определения свойств магнитных суспензий с помощью прямого измерения сил парного взаимодействия микрочастиц.

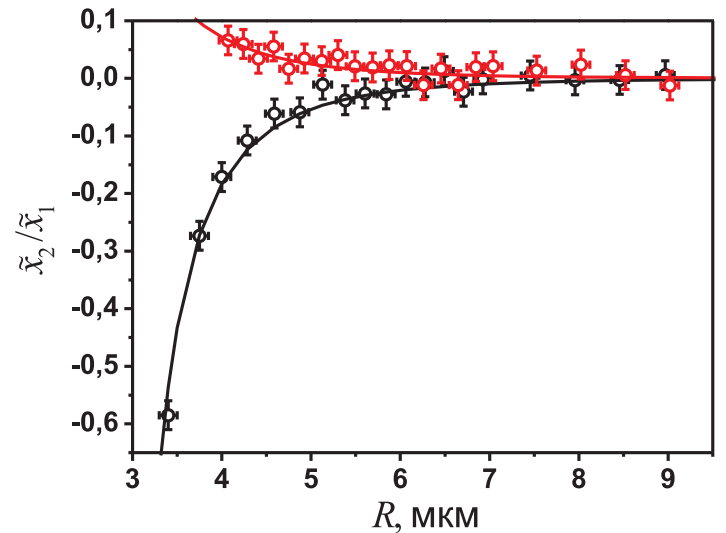
В качестве индикатора сил взаимодействия между частицами можно использовать не только броуновское движение частиц, но и отклик частиц на внешнее заданное возмущение. Так как силы взаимодействия между частицами зависят от расстояния между ними, то можно по заданному закону изменять это расстояние и измерять отклик системы на это воздействие. Если на первую частицу действует внешняя сила, вызванная смещением соответствующей ловушки по гармоническому закону $x_1^{trap} = \tilde{x}_1^{trap} \sin(\omega_0 t)$ с амплитудой \tilde{x}_1^{trap} существенно превышающей амплитуды спектральных компонент случайных броуновских сил на частоте ω_0 , тогда для малых частот $\omega_0 \ll k/\gamma$ можно получить $k/k' = 1 - \Delta x_1/\Delta x_2$. Таким образом, измерив отношение амплитуд смещений частиц при фиксированной ам-

Рис. 5: Зависимость магнитного момента микрочастиц от величины внешнего магнитного поля. Точками показаны значения, полученные с помощью метода оптического пинцета, сплошными линиями показаны данные, полученные с помощью вибрационного магнетометра. На вставке та же зависимость в увеличенном масштабе.



плитуде осцилляций первой ловушки, можно получить градиент силы магнитного взаимодействия. Величину самой силы можно определить по смещению среднего положения частицы в ловушке.

Рис. 6: Зависимости отношения спектральных амплитуд смещений частицы в неподвижной ловушке к амплитуде смещений в осциллирующей ловушке от среднего расстояния между частицами. Красные точки соответствуют случаю притяжения микрочастиц, черные — отталкиванию. Сплошные линии — аппроксимация зависимостей выражением (3).



Для иллюстрации данного утверждения был проведен следующий эксперимент. Координата первой ловушки в фокальной плоскости объектива, формирующего оптические ловушки, изменялась по синусоидальному закону с помощью АОД, амплитуда смещения ловушки ставилась равной $\tilde{x}_1^{trap} = 200$ нм, то есть намного меньше расстояния между частицами, но больше величины броуновских смещений частиц из оптических ловушек. Частота колебаний была выбрана равной $f_0 = \frac{\omega_0}{2\pi} = 1$ Гц, то есть намного меньше характерных релаксационных частот

оптических ловушек $\omega_k = \frac{k}{\gamma} \approx 70$ Гц. Для полученных данных о смещениях микрочастиц из центров оптических ловушек вычислялись спектральные амплитуды смещений для обеих частиц \tilde{x}_1 и \tilde{x}_2 . На рисунке 6 показаны зависимости отношения спектральных амплитуд \tilde{x}_2/\tilde{x}_1 от равновесного расстояния между частицами в случае создания в области образца внешнего магнитного поля $H = 62$ Э с линиями напряженности, направленными вдоль и перпендикулярно оси Ox . Как видно, величина измеренного отношения тем больше, чем ближе частицы, его знак определяется ориентацией внешнего магнитного поля. Отношение можно

аппроксимировать выражением:

$$\tilde{x}_2/\tilde{x}_1 = 1/(1 - k/k'). \quad (3)$$

Эта аппроксимация показана на графике сплошными линиями.

Глава 3. Применение оптического пинцета для определения силовых характеристик эритроцитов в аутологичной плазме крови

В данной главе методика оптического пинцета применяется для прямого измерения сил взаимодействия пиконьютонового диапазона между двумя эритроцитами в парном агрегате. Предлагается новый подход для определения вязко-упругих свойств клеток на основе метода активной микрореологии в оптическом пинцете.

Так как эритроцит имеет сравнительно большой размер (около 8 мкм) по сравнению с размером перетяжки каждой из ловушек (~ 1 мкм), то оптический захват происходит не в центре клетки, а за ее край, где имеется наибольший контраст показателя преломления по сравнению с окружающей средой. При этом плоскость эритроцитарного диска содержит ось распространения лазерного излучения. На рисунке 7а приведены микрофотографии, отражающие динамику захвата эритроцита, снятые с промежутком в 0,2 с. В оптической ловушке эритроцит практически не изменяет свою форму, а только разворачивается.

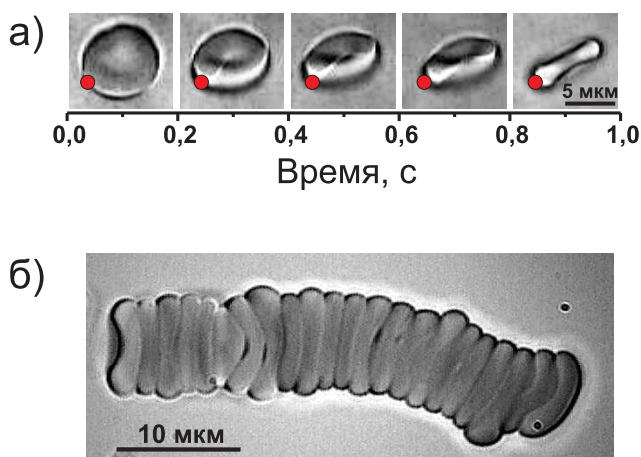
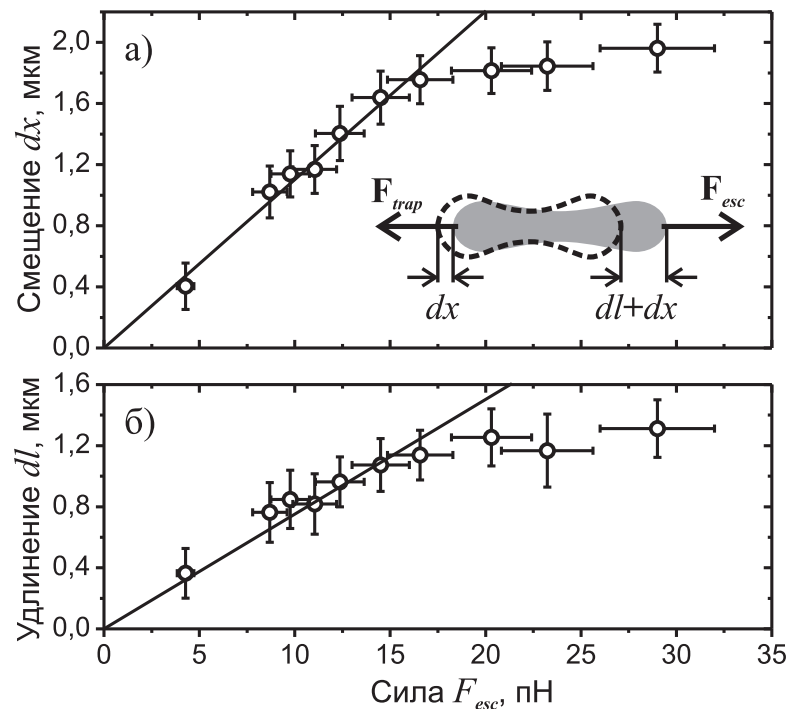


Рис. 7: Микрофотографии эритроцитов в установке оптического пинцета. а) Динамика захвата эритроцита в оптическую ловушку. Микрофотографии сняты с интервалом в 0,2 с. б) Искусственно собранный агрегат эритроцитов.

Для определения каких-либо количественных параметров необходимо знать силу захвата эритроцита в оптическую ловушку. Для этого был проведен следующий эксперимент. В одну ловушку оптического пинцета захватывали в плазме крови эритроцит на расстоянии 10 мкм от поверхности, а в другую — полистироловую микрочастицу диаметром 3 мкм, покрытую карбоксильными группами. Меняя расстояния между оптическими ловушками, эритроцит и частицу соединяли вместе. Через 1–2 минуты частица необратимо прикреплялась к эритроциту. Уравновешивали силу, развиваемую ловушками с краем эритроцита и с полистироловой микрочастицей. Максимальная сила захвата микрочастицы в свою очередь определялась по силе вязкого трения в среде с известным коэффициентом динамической вязкости. Зная максимальную силу оптического захвата края эритроцита, можно провести исследование эластичных свойств эритроцита.

На рисунке 8б представлена зависимость растяжения эритроцита при различных силах, прикладываемых к клетке, полученная с помощью обработки изображения растянутого эритроцита. Каждая точка получена усреднением по 10 экспериментальным реализациям. При силах до 15 пН это удлинение можно аппроксимировать линейным законом с коэффициентом пропорциональности $K = 13 \pm 2$ пН/мкм. Во время эксперимента также регистрировалось максимальное смещение края эритроцита из первой ловушки dx . Поэтому можно определить эффективную жесткость самой оптической ловушки, то есть силу действующую на край эритроцита при смещении его из центра ловушки на единицу смещения. Для малых смещений сила оказалась пропорциональна смещению с коэффициентом $k = 9 \pm 1$ пН/мкм. Таким образом, получена жесткость ловушек и коэффициент упругости самого эритроцита в стационарном режиме. Есть актуальная задача динамического измерения упругих характеристик клеток. Например, детектирования изменения этих характеристик во времени, при действии различных веществ. Для решения этой задачи удобно эритроцит рассматривать как колебательную систему. Из анализа отклика этой системы на внешнее периодическое воздействие можно определить эластичные свойства системы.

Рис. 8: а) Смещение края эритроцита из первой ловушки при действии на него со стороны второй ловушки силы F_{trap} . На вставке показана схема проводимого эксперимента, dx — смещение края эритроцита из первой ловушки, dl — удлинение эритроцита, F_{esc} — максимальная сила, развиваемая при выбранной мощности лазерного излучения второй ловушки. б) Зависимость растяжения эритроцита под действием силы со стороны ловушек F_{trap} . Сплошные линии соответствуют линейным аппроксимациям участков зависимости до 15 пН.



В эксперименте одиночный эритроцит в плазме крови захватывался одновременно двумя оптическими ловушками за противоположные края клетки, как это схематично показано на рисунке 9а. Мощность инфракрасных лазеров в образце была 20 мВт для каждой из ловушек, что достаточно для эффективного захвата, но в тоже время не оказывает существенного воздействия оптической ловушки на эритроцит, связанного с нагревом клетки [14]. Затем с помощью акустооптического дефлектора положение первой ловушки приводилось в периодическое движение по гармоническому закону вдоль линии, соединяющей центры ло-

вушек. Положение же второй ловушки оставалось постоянным. Амплитуда смещений первой ловушки была 100 нм, частота — в диапазоне от 50 Гц до 1 кГц. Это вызывало осцилляции клетки и, в частности, смещение ее краев. Лазеры с длинами волн излучения 670 и 635 нм и мощностью менее 0,2 мВт каждый были сфокусированы на края клеток, а рассеянное излучение собиралось на чувствительную поверхность квадрантных фотодиодов. В эксперименте оказалось, что края эритроцита создают контрастные изображения на соответствующих квадрантных фотодиодах, что дает возможность с хорошей точностью определять фазу их движения относительно периодического смещения положения ловушки.

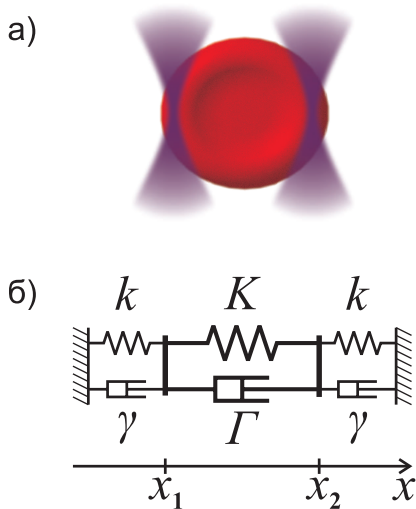


Рис. 9: а) Одиночный эритроцит, находящийся в двух независимых оптических ловушках; б) Феноменологическая механическая модель эритроцита в двух оптических ловушках, k — эффективная жесткость оптических ловушек, K — коэффициент эластичности эритроцита, γ и Γ — эффективные коэффициенты вязкости системы.

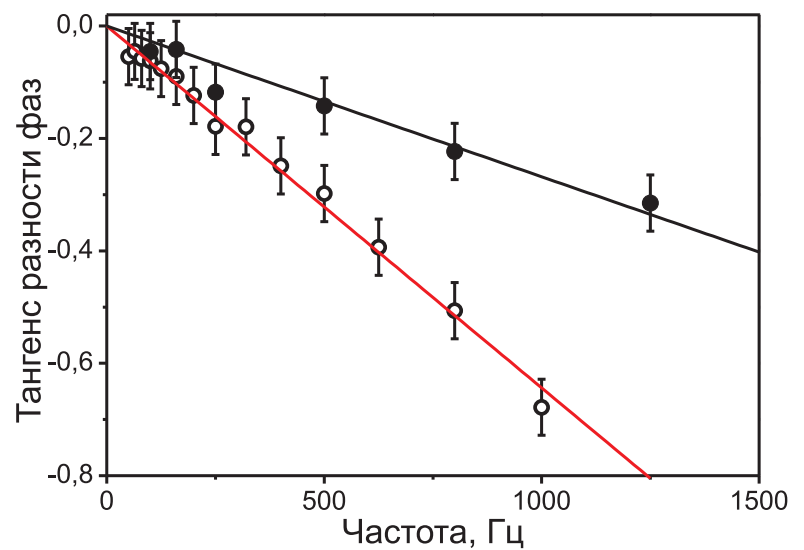


Рис. 10: Зависимость тангенса фазы колебаний края эритроцита в неподвижной ловушке относительно края в осциллирующей ловушке от частоты осцилляций. Не закрашенные точки соответствуют нормальным эритроцитам, а закрашенные относятся к эритроцитам, фиксированным глутаровым альдегидом. Сплошные линии — линейные аппроксимации соответствующих зависимостей

Фаза колебаний края эритроцита φ в неподвижной ловушке относительно колебаний в осциллирующей была измерена как функция от частоты колебаний ловушки ω . На рисунке 10 показаны типичные зависимости тангенса этой фазы. Экспериментальные результаты показывают, что тангенс относительной фазы колебаний краев эритроцита прямо пропорционален частоте осцилляций ловушки в диапазоне от 50 Гц до 1 кГц. При этом наклон этой прямой зависит от состояния мембраны эритроцита. В частности, для обычных эритроцитов в плазме крови, которым на графике (рис. 10) соответствуют незакрашенные точки, этот наклон равен $(-6,4 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$ с. Закрашенные же точки соответствуют клеткам, предварительно фиксированным путем добавления в образец 2,5% глутарового альде-

гида, который увеличивает жесткость клетки, связывая трансмембранные белки мембраны. Наклон прямой для зафиксированных эритроцитов оказался равным $(-2,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$ с.

Для объяснения линейной зависимости была рассмотрена феноменологическая механическая модель эритроцита, отраженная на рис. 9б. Жесткости оптических ловушек k и эритроцита K представлены пружинами. Поршнями в модели отражены эффективные коэффициенты вязкого трения γ и Γ модельной системы локализованного в две ловушки эритроцита. Показано, что в рассматриваемом диапазоне частот осцилляций второй ловушки эта модель дает следующее выражение для тангенса разности фаз колебаний краев эритроцита:

$$\tan \varphi = -\frac{\Gamma k - \gamma K}{k(k + K)}\omega = -\omega\tau. \quad (4)$$

Коэффициент пропорциональности τ определяет вязко-упругие характеристики захваченной в оптическом пинцете биологической клетки как сложной гидродинамической системы. Коэффициент τ имеет размерность времени, поэтому его можно рассматривать как некое время отклика, связанного с характерным временем распространения механического возмущения в клетке. Экспериментальные данные показывают, что для фиксированного глутаровым альдегидом эритроцита это время сокращается с 640 до 270 мкс, указывая на существенные изменения состояния клетки. Таким образом, величина τ может быть использована для контроля эффективной жесткости клетки.

Часть диссертационной работы посвящена определению агрегационных свойств эритроцитов. Для наблюдения процесса агрегации эритроцитов проводился следующий эксперимент. Два одиночных эритроцита захватывались в две оптические ловушки на некотором расстоянии друг от друга в аутологичной плазме. Затем, двигая одну из ловушек, эритроциты сближались до касания. После чего лазерные пучки выключались. Клетки агрегировали самостоятельно, образуя двойной агрегат. Если к полученному агрегату поднести еще одну клетку, то она также прилипнет, и образуется агрегат из трех клеток и т.д. На рисунке 7б показана микрофотография искусственно собранного методом оптического пинцета агрегата эритроцитов.

Измерения силового взаимодействия клеток проводились с использованием только искусственно полученных двойных агрегатов. Для реализации процесса дезагрегации ловушки подводились к краям агрегата и раздвигались в противоположные стороны со скоростью около 0,3 мкм/с, разъединяя эритроциты. При этом в процессе проведения экспериментов в зависимости от мощности лазерного излучения в оптических ловушках клетки удавалось либо растащить до конечной области соприкосновения эритроцитарных дисков, либо разделить. Обычно с увеличением мощности эритроциты из агрегатов удавалось сдвинуть друг относительно друга на все большее расстояние. В используемом диапазоне мощностей излучения в ловушках до 20 мВт из проведенных 85 экспериментальных реализаций только в 8 случаях (9%) наблюдалось разделение агрегата на две отдельные

клетки. В остальных случаях сил ловушек даже при 20 мВт не хватало для того, чтобы разделить эритроциты.

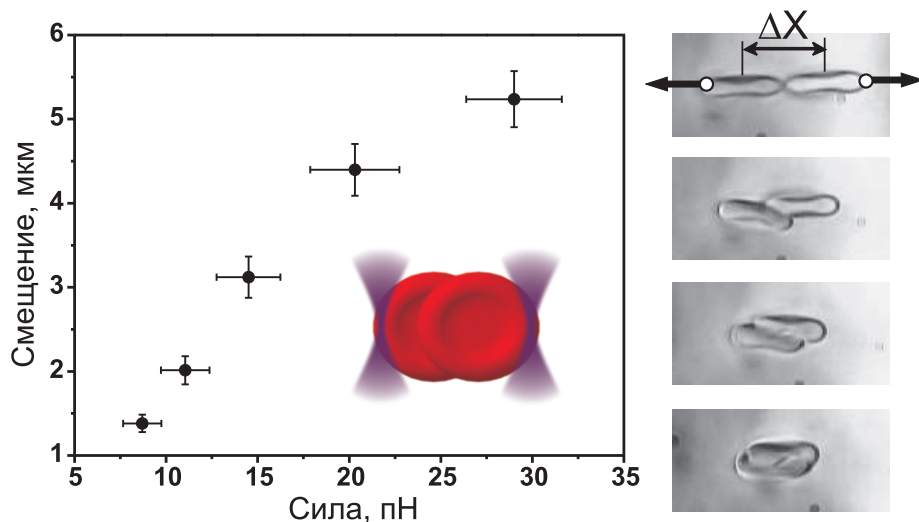


Рис. 11: Зависимость среднего максимально достижимого расстояния между центрами клеток от силы, приложенной со стороны оптических ловушек.

Важным экспериментальным наблюдением является тот факт, что средняя сила, необходимая для разделения (деагрегации) эритроцитов, возрастает с увеличением расстояния между центрами клеток. Более того, эта зависимость имеет пороговый характер, так, в 8 случаях, когда в эксперименте наблюдалось полное разделение эритроцитов из агрегата при достижении определенного значения мощности, деагрегация эритроцитов происходила без приложения больших сил, что указывает на наличие спадающей части зависимости.

Глава 4. Фотонно-силовая микроскопия электромагнитного поля волноводных мод одномерных фотонных кристаллов

Данная глава работы посвящена изучению силового воздействия на микрочастицу со стороны электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла. В эксперименте частица была локализована в воде оптической ловушкой вблизи поверхности фотонного кристалла, в котором возможно распространение волноводной моды электромагнитного излучения. При этом экспериментально замечено изменение среднего положения микрочастицы при возбуждении волноводной моды, что свидетельствует о силовом воздействии на частицу со стороны электромагнитного поля волноводной моды.

В данной работе в качестве образца фотонного кристалла исследовалась слоистая структура, выращенная на подложке методом термического напыления. Подложка представляла собой покровное стекло толщиной 0,1 мм. Образец изготовлен из расчета наличия в нем фотонной запрещенной зоны с центром на длине волны $\lambda_g = 750$ нм при нормальном падении излучения и состоит из 11 пар слоев оксида циркония и диоксида кремния с оптической толщиной $\lambda_g/4$ и

Результаты для зависимости среднего максимально достижимого расстояния между центрами клеток ΔX от силы, приложенной со стороны оптических ловушек, показаны на рисунке 11. На графике представлены данные, относящиеся только к клеткам, разделение которых на две независимые клетки не происходило даже при максимальной силе воздействия со стороны ловушек в 29 ± 3 пН. Важ-

одним дополнительным слоем оксида циркония на поверхности толщиной $\lambda_g/8$.

Для численного моделирования возбуждения волноводных мод в фотонном кристалле необходимо знание показателей преломления и геометрических толщин слоев. Для этого были проведены дополнительные исследования с использованием спектроскопической эллипсометрии на приборе Horiba Uvisel 2. В исследовании с помощью данного прибора были проведены измерения характеристик фотонного кристалла на подложке, а также подложки без фотонного кристалла в спектральном диапазоне от 350 до 2060 нм под углами падения оптического излучения 60 и 70 градусов. Далее производилась совместная аппроксимация данных этих измерений с помощью программного комплекса, прилагаемого к указанному прибору, используя модель чередующихся слоев и стандартные дисперсионные модели для покровного стекла, оксидов циркония и кремния, входящие в библиотеку ПО комплекса. Аппроксимация дала следующие значения. Коэффициенты преломления оксида циркония составляют $n = 1,95$, оксида кремния — $n = 1,45$ для длины волны 532 нм. Толщины первых 11 слоев оксида циркония 95 нм, оксида кремния 124 нм. Толщина дополнительного слоя оксида циркония составила 38 нм.

Для определения характеристик используемого образца фотонного кристалла были проведены численные расчеты на основе алгоритма, указанного в работе [15]. Этот алгоритм основывается на методике матриц распространения, которую широко используют в решении задач о распространении электромагнитного излучения в слоистых средах. Усиление локального поля вблизи нижней поверхности можно охарактеризовать параметром $L = E_{out}/E_{in}$, где E_{in} — электрическое поле падающей волны, E_{out} — поле волны на противоположной стороне фотонного кристалла.

Методом матриц распространения был проведен расчет коэффициентов отражения R и усиления L излучения, падающего из подложки на контактирующий с водой фотонный кристалл, при длине волны, равной $\lambda = 532$ нм. На графике зависимости коэффициента отражения R от угла падения виден минимум при угле падения $\theta = 71,6^\circ$ (рис. 12(а)), который соответствует максимуму в коэффициенте усиления $L \approx 2,1$ (рис. 12(б)). На рис. 12(в) показано распределение модуля амплитуды напряженности электрического поля в рассматриваемой структуре вдоль оси z при данном угле падения. Это распределение показывает, что в данной структуре существует волноводная мода с существенной локализацией электромагнитного поля вблизи поверхности фотонного кристалла, контактирующего с водой.

Также в работе получен спектр пропускания образца для нормально падающего излучения (см. рис. 13а). Спектр имеет характерный минимум в окрестности 750 нм, что подтверждает наличие фотонной запрещенной зоны, а следовательно и соответствующих четвертьволновых слоев в структуре. Наличие волноводной моды в рассматриваемой структуре было подтверждено спектроскопией в схеме нарушенного полного отражения в геометрии Кречманна (см. рис. 13б). Для этого был изготовлен образец, представляющий собой герметичную ячейку, со-

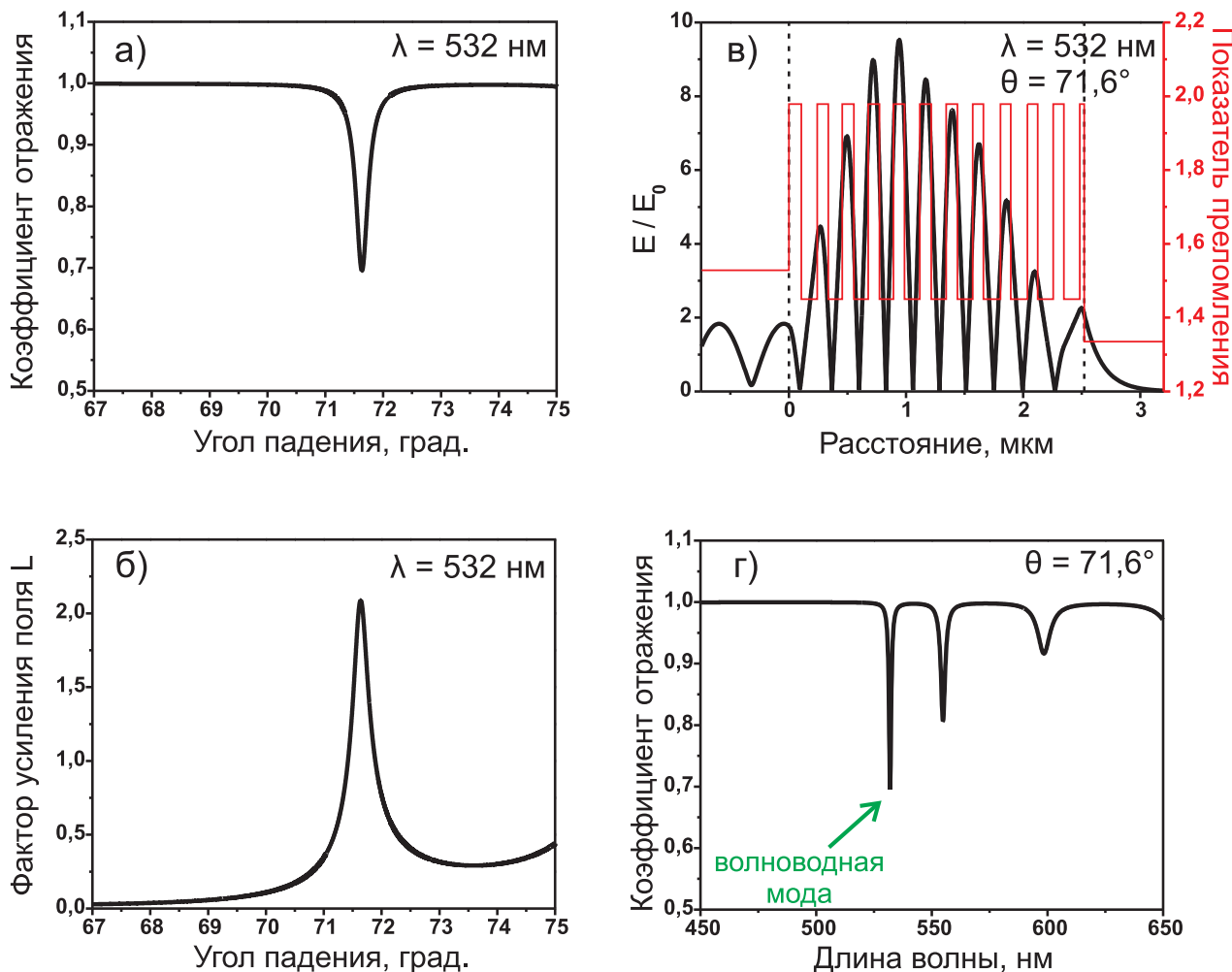


Рис. 12: Результаты расчета методом матриц распространения. Зависимость коэффициента отражения (а) и усиления локального поля вблизи нижней поверхности фотонного кристалла (б) от угла падения излучения с длиной волны в вакууме $\lambda = 532$ нм. в) Распределение модуля амплитуды напряженности электрического поля в фотонном кристалле вдоль оси z при возбуждении волноводной моды. г) Спектральная зависимость коэффициента отражения при угле падения из подложки на фотонный кристалл $\theta = 71,6^\circ$.

стоящую из образца фотонного кристалла и дополнительного покровного стекла с зазором из воды толщиной около 50 мкм. Для заведения излучения в образец использовалась специально изготовленная призма с основанием в виде равнобедренной трапеции. Угол при основании трапеции равен 55° . Показатель преломления призмы $n_d = 1,659$. Оптический контакт между призмой и подложкой фотонного кристалла осуществлялся с помощью иммерсионного масла. Спектр отражения содержит 2 характерных минимума, в окрестности 530 и 560 нм, которые согласуются с расчетами на рис. 12(г) и соответствуют первой и второй волноводным модам фотонного кристалла.

Для оценки величины градиентной силы, действующей на пробную полистироловую частицу в электромагнитном поле волноводной моды, использовано приближение Рэля в предположении, что микрочастица не возмущает оптическую ловушку, как это было сделано в работах [16, 17]. В этом приближении вычисле-

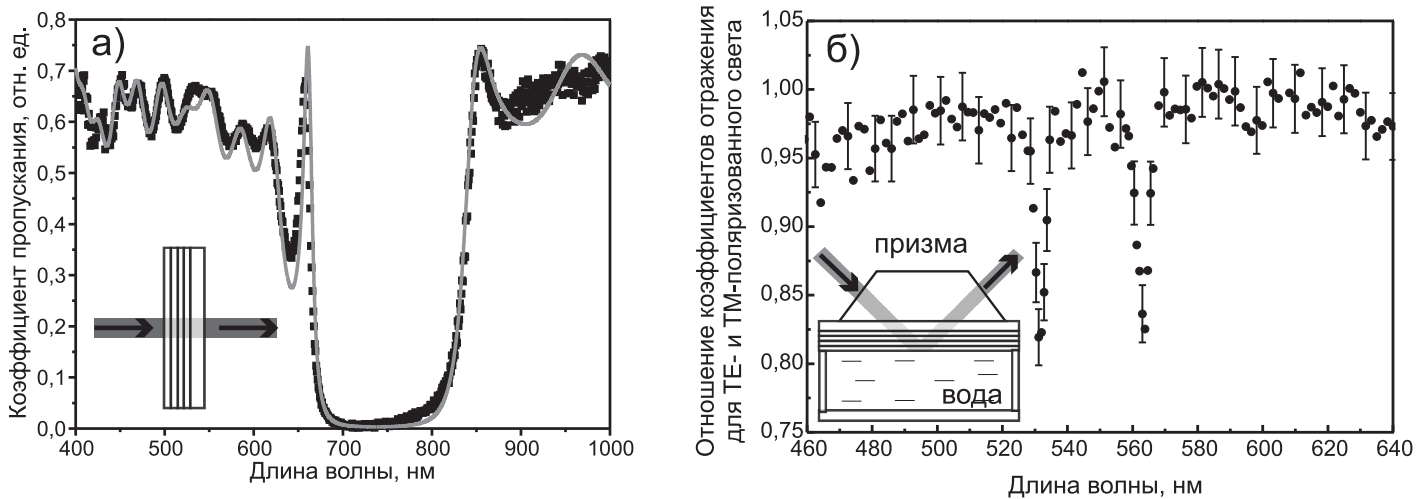


Рис. 13: а) Спектральная зависимость коэффициента пропускания образца фотонного кристалла для нормально падающего излучения. б) Спектральная зависимость отношения коэффициентов отражения ТЕ- и ТМ-поляризованного света от образца фотонного кристалла.

ния дают величину этой силы порядка 10 фН.

Экспериментальная установка для фотонно-силовой микроскопии электромагнитного поля вблизи поверхности раздела сред изображена на рис. 14. Эта установка представляет собой оптический пинцет, совмещенный с установкой для одновременной угловой спектроскопии фотонного кристалла.

Оптическая ловушка формируется при фокусировке инфракрасного лазерного излучения с длиной волны 975 нм внутри герметичной кюветы. Объектив с числовой апертурой 1,3 фокусирует излучение инфракрасного лазера в герметичной кювете, образованной покровным стеклом и фотонным кристаллом на подложке с зазором 10–20 мкм, заполненным водой с небольшим количеством 1-мкм частиц полистирола. Объектив располагается на трансляционном столике, совмещенном с подачей на основе обратного пьезоэффекта, что позволяет перемещать этот объектив и положение ловушки вдоль оптической оси. Рассеянное частицей излучение инфракрасного лазера собирается вторым объективом и направляется с помощью системы линз на чувствительную поверхность квадрантного фотодиода. Примененная оптическая схема совместно с высокоразрядным дифференциальным аналогово-цифровым преобразователем позволяет осуществлять контроль положения захваченной частицы внутри оптической ловушки с нанометровой точностью. Дополнительный светофильтр, пропускающий излучение в узком спектральном диапазоне 980 ± 10 нм, исключает влияние других источников излучения на регистрируемый квадрантным фотодиодом сигнал. Наблюдение за локализованной в оптической ловушке частицей осуществлялось с помощью видеокамеры, при этом освещение образца проводилось в геометрии “на просвет”. Для возбуждения волноводной моды в фотонном кристалле используется твердотельный Nd:АИГ лазер с длиной волны излучения 532 нм. Управляемый с компьютера механический затвор может блокировать излучение лазера. В открытом положении затвора излучение данного лазера с помощью асферической линзы

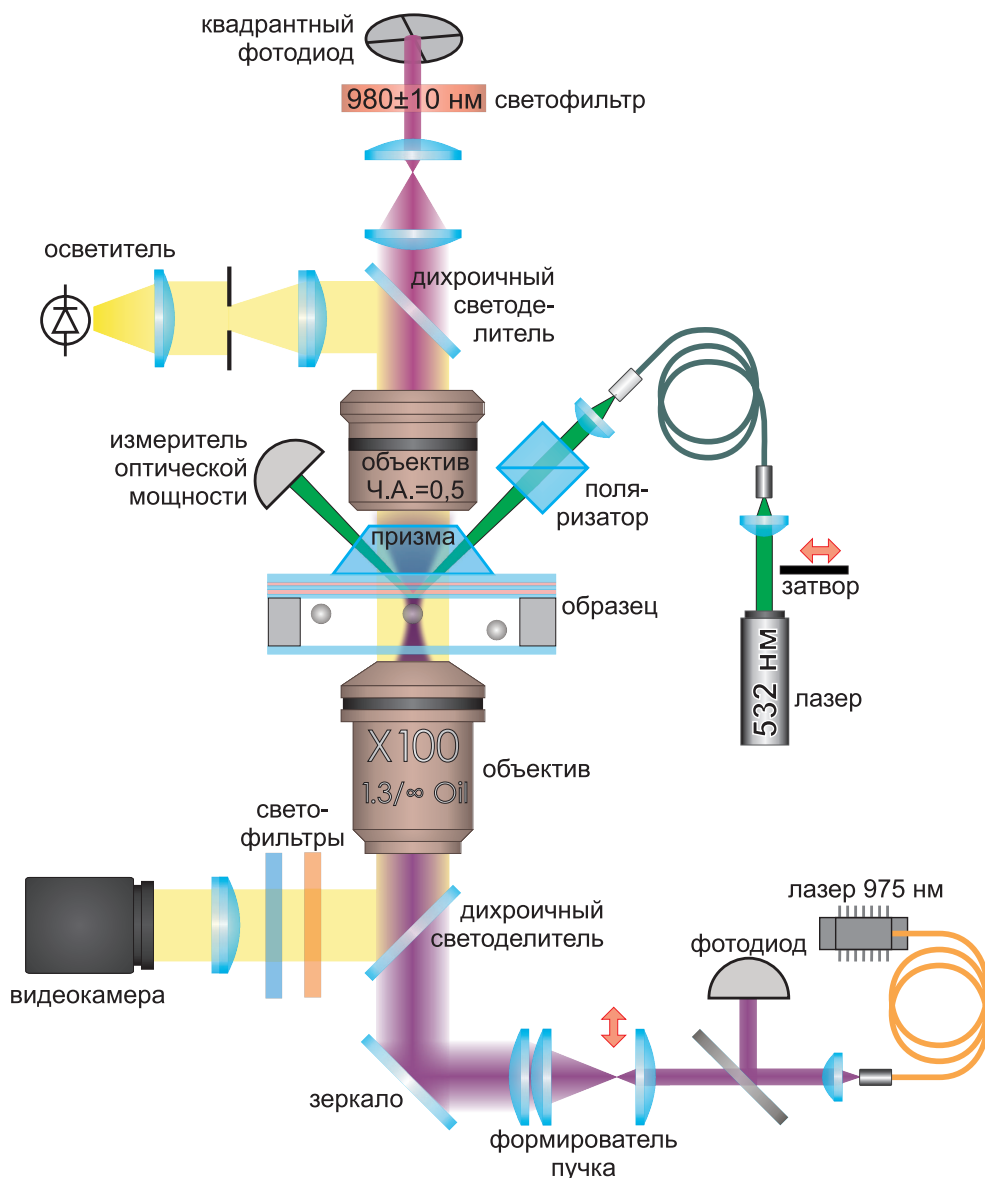
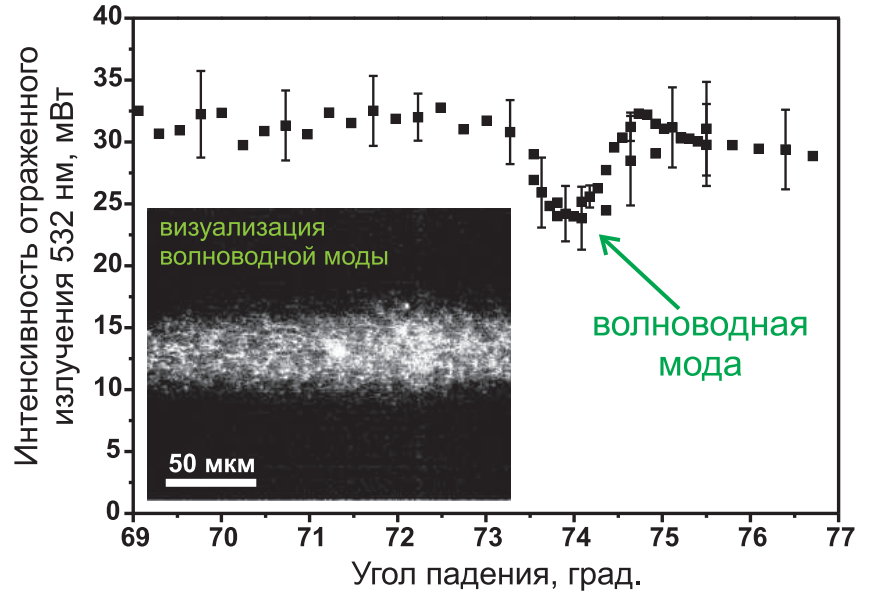


Рис. 14: Установка для фотонно-силовой микроскопии электромагнитного поля вблизи поверхности образца фотонного кристалла.

заводится в одномодовое сохраняющее поляризацию оптическое волокно. Второй конец оптического волокна установлен на поворотном плече вместе с асферической линзой и с лазерной призмой Глана. Линза направляет выходящее из волокна излучение на образец фотонного кристалла, а лазерная призма Глана позволяет установить заданную поляризацию падающего на фотонный кристалл излучения. Призма с основанием в виде трапеции позволяет эффективно возбуждать волноводную моду в геометрии нарушенного полного внутреннего отражения и оставляет возможность для освещения образца и регистрации рассеянного частицей излучения через верхнюю грань. Для проведения угловой спектроскопии отраженное от фотонного кристалла излучение лазера 532 нм регистрируется с помощью измерителя мощности. На рисунке 15 изображена зависимость мощности отраженного ТЕ-поляризованного излучения от угла падения на фотонный кристалл из подложки. Минимум при угле падения около 74° возникает из-за перекачки энергии падающего света в волноводную моду. На вставке показано полученное с видеокамеры изображение, соответствующее возбуждению волноводной моды в фотонном кристалле. Из-за рассеяния на шероховатостях и дефектах на изображении отчетливо виден след распространяющегося в фотонном кристалле

излучения волноводной моды.

Рис. 15: Зависимость мощности отраженного ТЕ-поляризованного излучения длиной волны 532 нм от угла падения этого излучения на фотонный кристалл из подложки. На вставке показано получаемое с видеокамеры изображение, соответствующее возбуждению волноводной моды в фотонном кристалле.



Эксперимент по фотонно-силовой микроскопии проводился следующим образом. В оптическую ловушку вблизи поверхности фотонного кристалла захватывалась микрочастица. Расстояние между частицей и фотонным кристаллом выставлялось с точностью 50 нм с помощью пьезоэлектрической подачи объектива. Затем область фотонного кристалла вблизи частицы освещалась через призму с помощью лазера 532 нм. Интенсивность оптического излучения в центре освещаемой области составляла около 1 кВт/см². Сигнал с квадрантного фотодиода, соответствующий смещениям микрочастицы, регистрировался аналогово-цифровым преобразователем и записывался в постоянную память компьютера с частотой дискретизации 50 кГц в течение 30 секунд. Затем излучение лазера 532 нм блокировалось затвором, и аналогично в течении 30 секунд производилась запись сигнала. Запись в присутствии и отсутствии излучения лазера 532 нм повторялась поочередно по 10-50 раз для каждого из рассмотренных расстояний от частицы до поверхности фотонного кристалла и при всех рассмотренных углах падения лазерного излучения. В эксперименте захваченные в ловушку оптического пинцета микрочастицы постоянно смещались в связи с броуновским движением. Эти смещения изменяли картину рассеяния частицами и вызывали изменения в сигнале с секций квадрантного фотодиода, при этом регистрируемое напряжение считалось линейно связанным с данным смещением частицы из центра оптической ловушки. Поэтому спектральная плотность мощности сигнала для каждой независимой декартовой координаты определялась [2]:

$$P_V(f) = \frac{S^2 D / (2\pi^2)}{f_c^2 + f^2}, \quad (5)$$

где $f_c = \frac{k}{2\pi\gamma}$ — частота отсечки, k — жесткость ловушки в данном направлении, γ — коэффициент вязкого трения, $D = k_B T / \gamma$ — коэффициент диффузии, S — коэффициент пропорциональности между сигналом с квадрантного фотодиода

и реальным смещением частицы из центра оптической ловушки, например, для смещений вдоль оси x можно записать $x = S_x V_x$.

Таким образом, аппроксимируя спектральную плотность мощности, рассчитанную по флуктуациям приходящего на детектор сигнала с помощью алгоритма быстрого преобразования Фурье, лоренцевой формой линии (5) для каждого направления были рассчитаны жесткость ловушки k и коэффициент S . Умножая найденную величину жесткости оптической ловушки k на среднюю величину смещения частицы при возбуждении волноводной моды, можно определить величину силового воздействия на частицу со стороны поля этой моды. На рисунке 16 показаны результаты измерения силы. Как видно из графиков, максимальное силовое воздействие на частицу происходит при угле падения лазерного излучения из подложки на фотонный кристалл около 74° , что соответствует резонансному возбуждению волноводной моды в схеме нарушенного полного внутреннего отражения. Серия измерений показывает, что при приближении пробной частицы к поверхности фотонного кристалла сила, действующая со стороны электромагнитного поля, также увеличивается, и в случае расположения частицы на расстоянии $0,25 \text{ мкм}$ от фотонного кристалла достигает величины около $0,03 \text{ пН}$.

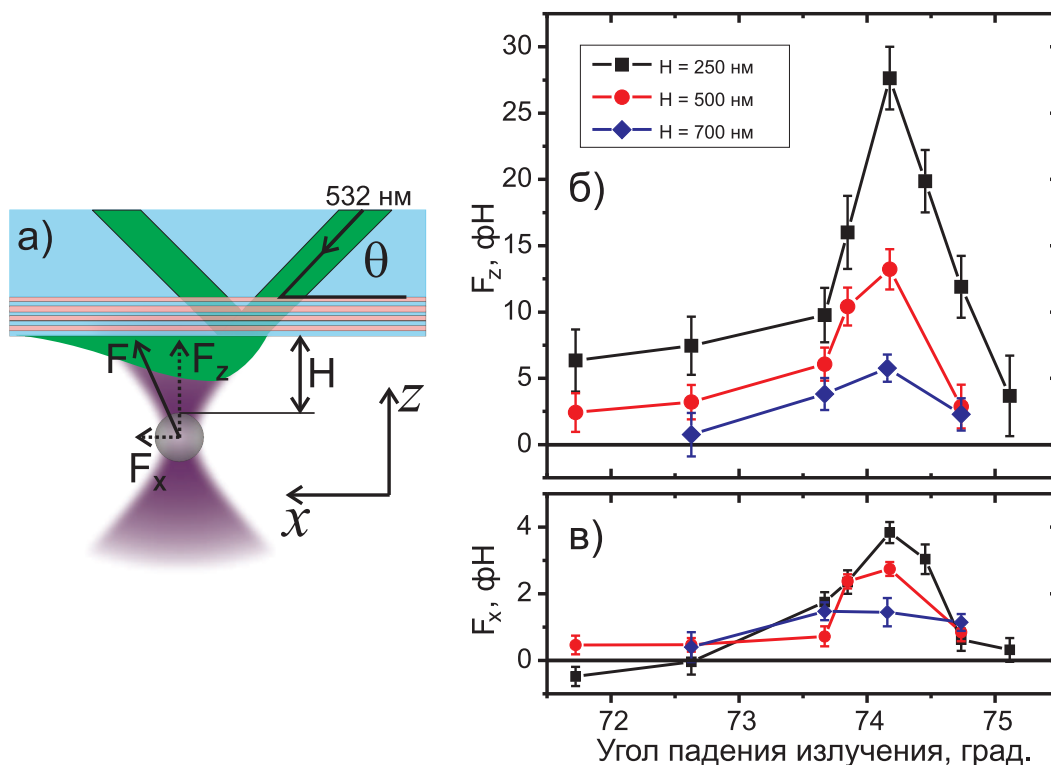


Рис. 16: Результаты измерения силы, действующей на частицу со стороны электромагнитного поля волноводной моды фотонного кристалла: а) иллюстрация эксперимента; б) зависимость нормальной составляющей силы (проекции на ось Oz); в) зависимость проекции силы на ось Ox .

Основные результаты и выводы

Основные результаты диссертационной работы могут быть сформулированы следующим образом.

- Создан экспериментальный комплекс оптического пинцета с двумя независимыми ловушками и возможностью создания магнитного поля в области оптических ловушек для исследования взаимодействия магнитных микрочастиц. Установка позволяет создавать внешнее магнитное поле напряженностью до 62 Э в области образца и осуществлять регистрацию малых смещений частиц с нанометровой точностью. Расстояние между ловушками можно устанавливать в диапазоне до 50 мкм .
- Экспериментально, численно и теоретически получена корреляционная функция броуновских смещений двух магнитных микрочастиц, расположенных на расстоянии друг от друга в двух оптических ловушках. Вид корреляционной функции зависит от силы магнитного взаимодействия между частицами. При наличии сил притяжения между частицами значения корреляционной функции увеличиваются, а при отталкивании — уменьшаются. С помощью аппроксимации функции кросс-корреляций теоретическими выражениями была получена зависимость градиента силы магнитного взаимодействия.
- Предложен метод определения величины и градиента силы взаимодействия между магнитными микрочастицами на основе корреляционного анализа смещений этих частиц из оптических ловушек. Измерена сила магнитного взаимодействия двух 3-мкм частиц из полистирола с вкраплениями наночастиц магнетита (2% по массе), расположенных на расстоянии от 4 до 9 мкм друг от друга, во внешнем магнитном поле напряженностью до 62 Э . Сила взаимодействия имеет разные знаки для параллельной и перпендикулярной ориентаций магнитного поля относительно прямой, проведенной через центры частиц. Величина этой силы монотонно растет при увеличении напряженности внешнего поля и сближении микрочастиц и имеет порядок $0,1 \text{ пН}$, что подтверждено результатами, полученными с помощью вибрационного магнитометра.
- Проведены экспериментальные исследования магнитного взаимодействия с применением метода активной микрореологии в присутствии магнитного поля напряженностью 62 Э , в параллельной и перпендикулярной ориентации внешнего магнитного поля относительно линии, соединяющей положения частиц. Внешнее механическое воздействие осуществлялось изменением координаты одной из ловушек по гармоническому закону с амплитудой 200 нм и частотой 1 Гц . Измерены амплитуды смещений частиц на частоте внешнего воздействия. Получено выражение для градиента силы магнитного взаимодействия от отношения амплитуд смещений частиц на частоте внешнего механического воздействия.

- Измерен модуль эластичности человеческого эритроцита в аутологичной плазме крови, захваченного за противоположные края в две оптические ловушки. Для растягивающих сил менее 15 пН этот модуль равен 13 ± 3 пН/мкм. Измерена средняя сила, необходимая для сдвига эритроцитов на заданное расстояние друг относительно друга в парном агрегате. Сила сдвиговой дезагрегации увеличивается с увеличением расстояния между центрами клеток, что говорит о пороговом характере процесса дезагрегации эритроцитов.
- Предложен метод для диагностики вязко-упругих свойств эритроцитов, основанный на анализе фазового сдвига в осцилляциях краев клетки, захваченных одновременно в две оптические ловушки, положение одной из которых периодически меняется со временем. Тангенс угла фазовой задержки колебаний края клетки в неподвижной ловушке относительно колебаний края в осциллирующей ловушке пропорционален частоте в диапазоне от 0,1 до 1 кГц.
- Создан экспериментальный комплекс для одновременного проведения угловой спектроскопии фотонного кристалла и фотонно-силовой микроскопии вблизи границы раздела фотонного кристалла с жидкостью. Проведена спектроскопия отражения фотонного кристалла, состоящего из 11 пар слоев диоксида кремния и диоксида циркония на стеклянной подложке при контакте кристалла с водой. Средняя оптическая толщина каждого слоя составляла около $750/4$ нм. В зависимости коэффициента отражения образца от частоты падающего на него излучения наблюдался минимум на длине волны 532 нм и угле падения 74° на фотонный кристалл из подложки, соответствующий возбуждению волноводной моды.
- Методом фотонно-силовой микроскопии обнаружено силовое воздействие на пробную диэлектрическую микрочастицу, расположенную в воде вблизи границы раздела с одномерным фотонным кристаллом, в котором присутствует электромагнитное поле, соответствующее первой волноводной моде с существенной локализацией электромагнитного излучения вблизи рассматриваемой границы раздела. Максимальное силовое воздействие на частицу наблюдается вблизи резонанса возбуждения волноводной моды фотонного кристалла в схеме Кречманна с интенсивностью падающего на фотонный кристалл излучения порядка 1 кВт/см². С уменьшением расстояния между пробной частицей и фотонным кристаллом наблюдается рост силового воздействия. Сила, действующая на частицу диаметром 1 мкм, расположенную на расстоянии около 0,25 мкм от фотонного кристалла, достигает величины порядка 0,03 пН.

Список цитируемой литературы

- [1] *Ashkin A., Dziedzic J. M., Bjorkholm J. E., Chu S.* Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles // *Opt. Lett.* — 1986. — v. 11, no. 5. — pp. 288–290.
- [2] *Neuman K. C., Block S. M.* Optical trapping. // *Rev. Sci. Instrum.* — 2004. — v. 75, no. 9. — pp. 2787–2809.
- [3] *Zhdanov A., Kreuzer M. P., Rao S., Fedyanin A., Ghenuche P., Quidant R., Petrov D.* Detection of plasmon-enhanced luminescence fields from an optically manipulated pair of partially metal covered dielectric spheres // *Opt. Lett.* — 2008. — v. 33, no. 23. — pp. 2749–2751.
- [4] *Vidal X., Fedyanin A. A., Molinos-Gómez A., Rao S., Martorell J., Petrov D.* Nonlinear optical response from single spheres coated by a nonlinear monolayer // *Opt. Lett.* — 2008. — v. 33, no. 7. — pp. 699–701.
- [5] *Romano G., Sacconi L., Capitanio M., Pavone F. S.* Force and torque measurements using magnetic micro beads for single molecule biophysics // *Opt. Commun.* — 2003. — v. 215, no. 4-6. — pp. 323–331.
- [6] *Cecconi C., Shank E. A., Marqusee S., Bustamante C.* DNA molecular handles for single-molecule protein-folding studies by optical tweezers. // *Methods Mol. Biol.* — 2011. — v. 749. — pp. 255–271.
- [7] *Helseth L. E.* Paramagnetic particles in an optical trap // *Opt. Commun.* — 2007. — v. 276, no. 2. — pp. 277–282.
- [8] *Florin E.-L., Pralle A., Heinrich Hörber J., Stelzer E. H.* Photonic Force Microscope Based on Optical Tweezers and Two-Photon Excitation for Biological Applications // *J. Struct. Biol.* — 1997. — v. 119, no. 2. — pp. 202–211.
- [9] *Laurent S., Dutz S., Häfeli U. O., Mahmoudi M.* Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles. // *Adv. Colloid Interface Sci.* — 2011. — v. 166, no. 1-2. — pp. 8–23.
- [10] *McNaughton B. H., Kehbein K. A., Anker J. N., Kopelman R.* Sudden breakdown in linear response of a rotationally driven magnetic microparticle and application to physical and chemical microsensing. // *J. Phys. Chem. B.* — 2006. — v. 110, no. 38. — pp. 18958–18964.
- [11] *Helseth L. E.* Paramagnetic particles as sensitive force detectors in liquids // *J. Phys. D. Appl. Phys.* — 2007. — v. 40, no. 10. — pp. 3030–3037.
- [12] *Neuman K. C., Nagy A.* Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy // *Nature Methods.* — 2008. — v. 5, no. 6. — pp. 491–506.

- [13] *Keaveny E. E., Maxey M. R.* Modeling the magnetic interactions between paramagnetic beads in magnetorheological fluids // *J. Comput. Phys.* — 2008. — v. 227, no. 22. — pp. 9554–9571.
- [14] *Peterman E. J. G., Gittes F., Schmidt C. F.* Laser-induced heating in optical traps. // *Biophys. J.* — 2003. — v. 84, no. 2 Pt 1. — pp. 1308–16.
- [15] *Bethune D. S.* Optical harmonic generation and mixing in multilayer media: analysis using optical transfer matrix techniques // *J. Opt. Soc. Am. B.* — 1989. — v. 6, no. 5. — pp. 910–916.
- [16] *Tlusty T., Meller A., Bar-Ziv R.* Optical gradient forces of strongly localized fields // *Phys. Rev. Lett.* — 1998. — v. 81, no. 8. — pp. 1738–1741.
- [17] *Mu W., Li Z., Luan L., Spalding G. C., Wang G., Ketterson J. B.* Force measurement on microspheres in an optical standing wave // *J. Opt. Soc. Am. B.* — 2008. — v. 25, no. 5. — pp. 763–767.

Содержание диссертации отражено в следующих статьях:

- [А] *Khokhlova M. D., Lyubin E. V., Zhdanov A. G., Rykova S. Yu., Sokolova I. A., Fedyanin A. A.* Normal and system lupus erythematosus red blood cell interactions studied by double trap optical tweezers: direct measurements of aggregation forces // *J. Biomed. Opt.* — 2012. — v. 17. — p. 025001.
- [Б] *Скрябина М. Н., Любин Е. В., Хохлова М. Д., Федянин А. А.* Диагностика парного взаимодействия магнитных микрочастиц методом оптического пинцета // *Письма в ЖЭТФ.* — 2012. — Т. 95. — С. 638–642.
- [В] *Lyubin E. V., Khokhlova M. D., Skryabina M. N., Fedyanin A. A.* Cellular viscoelasticity probed by active rheology in optical tweezers // *J. Biomed. Opt.* — 2012. — v. 17. — p. 101510.
- [Г] *Шилкин Д. А., Любин Е. В., Соболева И. В., Федянин А. А.* Управление положением ловушки вблизи отражающих поверхностей в оптическом пинцете // *Письма в ЖЭТФ.* — 2013. — Т. 98. — С. 720–724.