

Mikroszkopikus testek orientációja és forgása lézercsipeszben

Galajda Péter

Témavezető: Dr. Ormos Pál

MTA Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet

Szeged

2002.

Bevezető

A mikrotechnológia és az optikai mikromanipuláció dinamikus fejlődése és egyre szélesebb körben való térhódítása volt megfigyelhető az elmúlt két évtizedben. A folyamat jelenleg is tart, hajtóereje egyiknél a kis méretekből adódó különleges jellemzőkben rejlik, a másikonál a meglehetősen kényelmes nonkontakt manipuláció lehetősége és a konvencionális mikroszkópiával együtt való alkalmazhatóság biztosít gazdag jelent és ígéretes jövőt. A két technika együttes alkalmazása, kombinációja számtalan előnnyel járhat, kölcsönhatásuk pedig igen termékeny lehet mind a tudomány, mind az alkalmazások szempontjából. Munkánkkal ebben az irányban szerettünk volna néhány lépést tenni, elsősorban a biológiai és biofizikai vonatkozásokat szem előtt tartva.

A biológiai célú mikrotechnológiai kutatások meglehetősen sokrétűek. Nemcsak a tudományos munkát segítő, de a gyógyászatban, orvosi diagnosztikában alkalmazható eszközök, eljárások kifejlesztése is folyik. Az egyik legintenzívebben művelt, ugyanakkor talán a legkomplexebb irányzat az úgynevezett „laboratórium egy chipen” (lab-on-a-chip) technológia. Az összetett analitikai és diagnosztikai feladatokat ellátó, mikroméreteken megvalósított eszközöknek számtalan előnyük lehet. A legfőbbek ezek közül: kis mintamennyiségek szükségesek, egyes részecskék (sejtek, baktériumok, óriásmolekulák) tanulmányozására van lehetőség, valamint a vizsgálatok nagymértékben párhuzamosíthatók nagyszámú mikroméretű szerkezet együttes működtetésével.

Mikroszkopikus objektumok vizsgálatára rendkívül hatékony módszernek bizonyult az optikai mikromanipuláció. A lézercsipesz az optikai csapdázás

segítségével képes mikrorészecskéket térben rögzíteni, vagy irányítható módon mozgatni. A csapdát egy nagy numerikus apertúrával lefókuszált nyaláb képezi. A fókusz körül levő részecske és a nyaláb mechanikai kölcsönhatása nyomán olyan erők ébrednek, melyek a testet a fókuszpont irányába, az egyensúlyi pozíció felé igyekeznek mozdítani. Ebben áll az optikai csapdázás jelensége. Külső erők megváltoztathatják a csapdában levő részecske egyensúlyi helyzetét. E helyváltozás ismeretében a külső erő nagysága kiszámítható, ami alkalmassá teszi a lézercsipeszt a mintegy 1-100 pN nagyságú erők mérésére.

A mikrotechnológia és az optikai mikromanipuláció összekapcsolása ésszerűnek tűnhet. Ebben az irányban azonban meglehetősen kevés előrehaladás történt az elmúlt években.

A mozgó mikroszerkezetek működéséhez szükséges erők, forgatónyomatékok nagysága megfelelhet az optikai módszerekkel megvalósított meghajtás számára is. Munkánk részben ez utóbbi lehetőség kihasználásán alapul. Eredményeink ugyanakkor arra utalnak, hogy az optikai csipesz, mint eszköz, a korábbiaknál szélesebb körben lehet alkalmazható.

Kutatásaink az alábbi kérdésekre adhatnak választ:

Módszertani szempontból fontos probléma, hogy felhasználható-e a mikrorészecskék fotopolimerizációval való előállításának módszere különböző alakú testek lézercsapdában való viselkedésének tanulmányozására.

A csapdázott részecskék elhelyezkedésére vonatkozó megfigyeléseink alapján fogalmazódott meg a következő kérdés. Mi módon lehetséges a

lézercsipesszel a test pontos helyzetének, orientációjának rögzítése? Hogyan modellezhető a jelenség egyszerű módon?

Lehetséges-e az orientációs hatás felhasználásával mikroszkopikus forgatónyomatékokat mérni?

Megfigyeltük bizonyos részecskék forgását az optikai csapdában. Mi lehet a forgás oka? Mi módon hat a test alakja és mérete, valamint a csapdázó nyaláb teljesítménye a forgás különböző paramétereire? Mekkora a fény által kifejtett forgatónyomaték?

A fényel hajtott rotorok felhasználása szempontjából fontos lenne a forgásirány kontrollálásának lehetősége. Készíthető-e változtatható forgásirányú fényel hajtott propeller?

Lehetséges-e összetett mechanikus mikrogépeket készíteni a fotopolimerizációs eljárással? Alkalmazhatók-e a fény által megforgatott részecskék ezek meghajtására?

Módszerek

A kísérleteink során használt módszerek közül a mikroszkopikus alakzatoknak fotopolimerizációs eljárással való előállítása lehet a legfigyelemreméltóbb a széleskörű alkalmazhatóság okán.

A fotopolimerek olyan viszkózus folyadékok, melyeknek bizonyos összetevői fénnel való megvilágítás hatására polimerizációs reakciókban vesznek részt, és az anyag megszilárdul. Megfelelő hullámhosszú és teljesítményű lefókuszált nyalábbal történő megvilágítással elérhető, hogy a polimerizáció csak a fókusz körüli kis térfogatban menjen végbe. A fókuszpont alkalmas sebességgel való mozgatásakor a fotopolimer a fókusz által bejárt útvonal mentén megszilárdul, így lehetőség van tetszőleges háromdimenziós alakzatok előállítására. A folyékony halmazállapotban maradt rész alkalmas vegyszerekkel feloldható.

Munkánk során fotopolimerként kereskedelmi forgalomban kapható optikai ragasztót használtunk, melyet mikroszkóp objektívvel lefókuszált Ar-ion lézer 514 nm-es hullámhosszúságú nyalábjával kezeltünk. A kívánt alakzatot a minta számítógépes vezérléssel történő, szubmikronos felbontású mozgatásával rajzoltuk meg.

Az e módszerrel előállított néhány mikron méretű részecskék alkalmasak voltak a továbbiakban az optikai csipesszel történő vizsgálatokra.

Eredmények

1. Tanulmányoztuk a lineárisan poláros lézernyalábbal előállított optikai csipesz orientáló hatását. Kísérleteinkkel kimutattuk, hogy különböző elnyújtott testek olyan helyzetet vesznek fel, melyben a csapdázó nyaláb tengelyére merőleges irányban a legnagyobb kiterjedésük a polarizáció irányával párhuzamosan áll. A jelenség a csapdázott testek orientációjának kontrollálására biztosít lehetőséget, s jól használható különböző biológiai objektumok (például kloroplaszt, kromoszóma) manipulálására is. (I.)

2. Meghatároztuk, hogyan függ a csapda által a részecskére kifejtett forgatónyomaték a test és a polarizáció relatív helyzetétől. Kidolgoztuk az alkalmas mérési elvet és elrendezést: egy $\lambda/2$ lemezt egyenletes sebességgel forgattunk, mely a csapdázó nyaláb lineáris polarizációjának irányát is folyamatosan elfordította. A polarizációs irány forgását a test orientációja is követte, a közegellenállás miatt bizonyos fáziskéséssel. E fáziskésés a forgás sebességének növelésével egyre nagyobb volt. A közeg által kifejtett forgatónyomatékot egyszerű hidrodinamikai összefüggések segítségével kiszámítottuk a különböző forgási sebességekre, ez egyenletes forgás esetén megadta a fénynyaláb által kifejtett forgatónyomatékot. Így a forgatónyomaték és a relatív orientáció (fáziskésés) kapcsolatát jellemző adatsort kaptunk. (I.)

3. Egyszerű modellszámításokat végeztünk a jelenség mögötti fizikai folyamatok felderítésére. Modellünk a geometriai optika törvényeire épült, s a kölcsönhatások polarizációs viszonyoktól való függését a Fresnel-formulák alkalmazásával vettük figyelembe. Nagyszámú egyedi sugárra végzett számításokkal (raytracing) meghatároztuk a nyaláb által kifejtett forgatónyomatékot a polarizáció és a mérésekben szereplő részecske alakjának megfelelő modell-test különböző relatív helyzeteire. A számítási eredmények összhangban voltak a kísérletekből származó adatokkal. (I.)

Eredményeink új eljárások alapjait képezhetik, melyekkel lehetséges a csapdázott részecskékre ható mikroszkopikus forgatónyomatékok mérése, illetve a testre való meghatározott nagyságú és irányú forgatónyomaték kifejtése is. Ily módon valószínűleg óriás biomolekulák (például DNS) torziós tulajdonságai is feltérképezhetők.

4. Tanulmányoztuk különböző alakzatoknak az optikai csipeszben történő forgómozgását. Az általunk vizsgált testek esetén a forgás a fénynek a testtel való mechanikai kölcsönhatásából származott, s a test alakja nagymértékben befolyásolta a forgás jellemzőit. A hélix és a propeller alakú testek esetében az alakban fellelhető helicitás játszott kulcsszerepet, míg a Segner-kereket formáló részecskénél valószínűleg a fókuszált nyaláb sugarainak az optikai tengelyre merőleges irányban hordozott impulzusáramára vezethető vissza a forgás. A vizsgált esetekben a forgási frekvencia és a csapdázó lézer teljesítménye közt lineáris összefüggés volt megállapítható. Azonos teljesítmény mellett a propeller alakzat bizonyult a leghatékosabbnak, s a Segner-kerék volt a legkevésbé hatásos. (II., IV.)

5. Hélix alakú testekre vizsgáltuk a méretnek a forgási sebességre gyakorolt hatását. Közelítőleg inverz-négyzetes függést kaptunk, s ezt egyszerű gondolatmenettel sikerült megmagyarázni. (II.)

6. Egyszerű hidrodinamikai összefüggések segítségével megbecsültük a propeller alakú testre ható, a közegtől származó forgatónyomatékot az általunk tapasztalt legnagyobb forgási sebesség esetén. Ez nagyságrendileg 10^{-17} Nm-nek adódott, ekkora tehát a fény által kifejtett forgatónyomaték is. Eredményünk összhangban van a szakirodalomban fellelhető, hasonló méretű részecskék különböző módon indukált forgására vonatkozó adatokkal. Eredményeink arra utalnak, hogy e fény által hajtott mikrorotorok alkalmasak különböző gyakorlati célokra is. (IV.)

Az alkalmazások során fontos lehet a fényel hajtott rotor forgásirányának szabályozása is. A továbbiakban ezirányban végeztünk kutatásokat.

7. Olyan fény által hajtott rotort terveztünk, melynek meghajtását az erősen lefókuszált csapdázó nyaláb sugarainak az optikai tengelyre merőleges impulzusáram komponense biztosítja. Az ideális alakzatnak a 45° -os logaritmikus spirális vonalát követő karokból, s a hozzájuk kapcsolódó tengelyből álló alakzat bizonyult. A testet úgy alakítottuk ki, hogy a karok csapdázáskor a fókusz és az objektív közti tartományba kerüljenek. A test ekkor pozitív irányban forgott. Az objektív süllyesztésével a rotort a fedőlemez felületéhez nyomtuk, így az átkerült a fókusz másik oldalára. Elgondolásunk szerint ekkor a forgást előidéző impulzusáram komponens, így a test forgásának iránya is az ellentettjére változik. A kísérlet elvégzésekor valóban tapasztaltuk a forgásirány megváltozását. Megmértük a test forgásának sebességét az objektív pozíciójának függvényében. (III.)

8. A mérési adatokat modellszámítási eredményekkel hasonlítottuk össze. Geometriai optikán alapuló sugárkövetéssel kiszámítottuk a fény által a test felületéről való visszaverődéskor kifejtett forgatónyomaték relatív értékét (mely arányos a forgási sebességgel). Kvalitatív összehasonlítást végezve megállapítottuk, hogy a számítási eredmények meglehetősen jól adják vissza a mérési adatokat. A tapasztalt kisebb eltérések a kísérleti körülményeket és a kísérlet elvégzésének mechanizmusát figyelembe véve megmagyarázhatónak, és a számítási modellel összeegyeztethetőnek bizonyultak. (III.)

9. Kísérleteinkkel demonstráltuk, hogy a fénnel hajtott rotorok alkalmasak lehetnek egyszerűbb mechanikus mikroszerkezetek meghajtására is. Olyan fogaskerékszerű alakzatokat készítettünk, melyek egy, a mikroszkóp fedőlemezhez rögzített tengely körül szabadon elfordulhattak. Egy propeller alakú mikrorotort ragadtunk meg lézercsipesszel, s azt a fogaskerekekhez érintettük. A rotor forgása során meghajtotta a vele kapcsolatba kerülő fogaskerekeket. Különböző

konfigurációkat állítottunk össze, melyekben a fénnel hajtott rotor egy, vagy két fogaskerékkal került közvetlen kapcsolatba, illetve egy fogaskereket egy másik közvetítésével hajtott meg. A szerkezet minden esetben a várakozásnak megfelelően működött. (IV.)

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények:

- I. Galajda P., Ormos P., Orientation of flat particles in laser tweezers by linearly polarized light *kézirat* (2002)
- II. Galajda P., Ormos P., Rotation of microscopic propellers in laser tweezers *J. Opt. B-Quantum. S. O. 4* S78-S81 (2002)
- III. Galajda P., Ormos P., Rotors produced and driven in laser tweezers with reversed direction of rotation *Appl. Phys. Lett.* **80** 4653-4655 (2002)
- IV. Galajda P., Ormos P., Complex micromachines produced and driven by light *Appl. Phys. Lett.* **78** 249-251 (2001)

Egyéb közlemények:

Finzi L., Galajda P., Garab G., Labeling phosphorylated LHCII with microspheres for tracking studies and force measurements *J. Photoch. Photobio. B* **65** 1-4 (2001)

Kelemen L., Galajda P., Száraz S., Ormos P., Chloride Ion Binding to Bacteriorhodopsin at Low pH: An Infrared Spectroscopic Study *Biophys. J.* **76** 1951-1958 (1999)

Cordone L., Galajda P., Vitrano E., Gassmann A., Ostermann A., Parak F., A Reduction of Protein Specific Motions in CO-Ligated Myoglobin Embedded in Trehalose Glass *Eur. Biophys. J. Biophys.* **27** 173-176 (1998)