

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03823510.2

H05H 3/04
G02B 27/42
G02B 21/32
G02B 27/10
C12N 15/88

[43] 公开日 2005 年 10 月 19 日

[11] 公开号 CN 1685773A

[22] 申请日 2003.7.31 [21] 申请号 03823510.2

[30] 优先权

[32] 2002. 8. 1 [33] US [31] 10/210,519

[86] 国际申请 PCT/US2003/023991 2003.7.31

[87] 国际公布 WO2004/014112 英 2004.2.12

[85] 进入国家阶段日期 2005.3.31

[71] 申请人 芝加哥大学

地址 美国伊利诺斯州

[72] 发明人 D·G·格里尔 E·R·杜费斯尼

[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

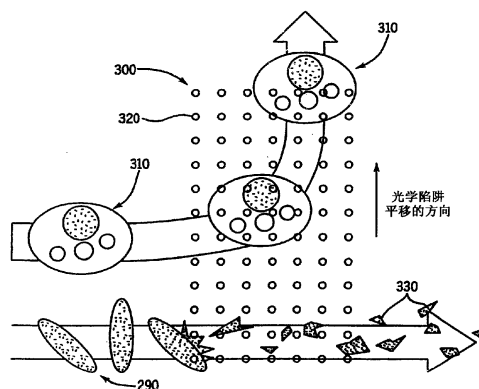
代理人 赵蓉民

权利要求书 3 页 说明书 15 页 附图 7 页

[54] 发明名称 以全息光学陷阱制造、筛分和融合材料的装置和方法

[57] 摘要

公开了用来操纵、影响小电介质颗粒或其它材料间的相互作用、并以光化学方式对其转化和/或筛分的装置和方法。所述装置和方法涉及使用一或多个衍射光学元件，其各自接收单条激光束并形成多条激光束。这些激光束通过望远镜透镜系统且随后通过物镜元件工作，从而产生光学陷阱阵列，以操纵、影响小电介质颗粒或其它材料间的相互作用、并以光化学方式对其转化和/或筛分。本发明的一个目的是提供改进的方法和系统以用光学陷阱将外部物质融入到活细胞中。本发明的另一目的是提供改进的方法和系统以将光非吸收颗粒从光吸收颗粒中筛分出来。本发明还有一目的是提供用空间分辨光化学法来完成异质结构制造的改进的方法和系统。



ISSN 1008-4274

- 1.一种使用至少一个光学陷阱来将外部物质融入到具有细胞外表面和细胞膜的活细胞中的方法，所述方法包括：
- 提供一衍射光学元件，用以接收一条激光束并形成多条独立激光束；
- 5 提供一聚焦元件，其位于所述衍射光学元件的下游，所述衍射光学元件与所述聚焦元件相配合，分别会聚每条所述激光束而形成一聚焦光斑或焦点区，以使用对应于每个颗粒的其中一条所述独立激光束，为每个所述颗粒确定用以在所述光斑内形成独立的光学陷阱的工具；
- 将要转移的所述外部物质封装在一脂质体内；
- 10 使用一光学手术刀来消融足够大的所述细胞外表面，以露出用于随后的脂质体融合的所述细胞膜的一区域；
- 使用光学将所述脂质体移动到所述细胞外表面附近；
- 使用投射到脂质体-膜界面的激光脉冲，通过化学融合、电学融合、或光学融合中的至少一种，将所述脂质体融合到所述细胞上；
- 15 提供用来穿破膜-脂质体界面的额外的激光脉冲；及
- 并将脂质体内容物用至少一个陷阱转移到细胞内。
2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述外部物质对细胞不是内生的。
3. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述外部物质包含亲水物质。
- 20 4. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述外部物质包含核酸分子，该核酸分子选自 RNA、DNA、PNA、嵌合体分子、和表达因子。
5. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述外部物质选自蛋白质、多肽、肽、氨基酸、荷尔蒙、多糖、染料、或药剂。
6. 根据权利要求 1 所述的方法，进一步包括在外部物质融入到所
- 25 述活细胞期间，记录一个或多个显微镜图像。

7. 根据权利要求 1 所述的方法，进一步包括控制所述激光束的强度，以将多光子的产生减到最低，而使得对细胞的损害最小。

8. 一种使用一个或多个光学陷阱从吸收颗粒中筛分出非吸收颗粒的方法，所述方法包括：

5 提供一衍射光学元件，用以接收一条激光束并形成多条独立激光束；

提供一聚焦元件，其位于所述衍射光学元件的下游，所述衍射光学元件与所述聚焦元件相配合，分别会聚每条所述激光束而形成一实质聚焦光斑，以使用对应于每个颗粒的其中一条所述激光束，为每个
10 所述颗粒在所述光斑内形成一独立的光学陷阱；

使吸收颗粒和非吸收颗粒通过所述光学陷阱，由此令光的吸收非特定地平整所述吸收颗粒，而将其缩小为较小碎片；

分离所述小碎片，而在所述光学陷阱中留下未受损害的所述非吸收颗粒；及

15 将所述非吸收颗粒从所述光学陷阱中除去。

9. 一种通过光化学法在材料上产生多个空间分辨结构的方法，其使用以下至少其中之一：多个全息光学陷阱及与一光学陷阱配合的照射斑点，所述方法包括：

提供一衍射光学元件，用以接收一条激光束并形成多条独立的激
20 光束；

提供一聚焦元件，其位于所述衍射光学元件的下游，所述衍射光学元件与所述聚焦元件配合，分别会聚每条所述激光束以形成用于处理至少一个颗粒的独立光学陷阱；

提供一执行程序的计算机，以控制在一个三维可进入空间内放置
25 所述光学陷阱，并对该光学陷阱的光学特性提供独立的调整；及

调节所述独立激光束的强度以完成所述材料的预定光化学变化，从而有助于在与所述光学陷阱的衍射限焦斑体积及一照射斑点有关的空间内的受控光化反应；并且

使用其中一个所述光学陷阱，来操纵所述光学陷阱和照射斑点的
30 至少其中之一的位置和强度，以选择性地在多个区域内引发光化学变

化，由此制造多个以光化学方式确定的模式的复制品。

10. 根据权利要求 9 所述的方法，进一步包括在三维空间中以用户规定的模式为多个所述光学陷阱确定多种功能。

以全息光学陷阱制造、筛分和融合材料的装置和方法

本发明中涉及空间分辨光化学法（spatially resolved photochemistry）的这一部分是在美国政府资助下，利用全息光学陷阱
5 完成的，此资助系由国家科学基金以资助号 DMR-9730189、及国家科学基金的 MRSEC 计划以资助号 DMR-9880595 来提供。本发明中涉及使用光学陷阱（optical traps）以从吸收颗粒中筛分出非吸收颗粒的这一部分是在美国政府资助下完成的，此资助系由由国家科学基金以资助号 DMR-9730189 来提供。

10

本发明一般涉及以高聚焦光束、利用强照度和强度梯度（intensity gradients）来操作和调整细小电介质颗粒其它物质的方法和装置。特别是，本发明涉及这样的方法和装置：其通过由衍射光学元件如全息图（hologram）或衍射光栅所引导的聚焦光束，产生光学陷阱或陷阱及多种
15 种可供选择的光的强度模式中的任何一种，以将颗粒材料或其它受影响的材料汇集或导引到一种期望的空间模式，以用于无数用途中的一种用途。更特别的是，本发明涉及操纵、影响小电介质颗粒或其它物质之间的相互作用、并以光化学方式来对其进行转化和/或筛分的方法。

20 公知的是，可使用由单束光得到的光梯度力（optical gradient forces）来形成一个光学陷阱（也就是陷阱），以改变浸入到液体介质中的小电介质颗粒的位置，其中液体介质的折射率小于颗粒的折射率。光学陷阱技术已得到推广，从而使得反射、吸收和低介电常数颗粒的操纵也变为可能。同样，美国第 6055106 号专利（2000 年 4 月 25 日颁发）
25 公开了用多个陷阱来操纵多个颗粒。然而，本发明的有关光学陷阱的各种应用以前并不为人所知。

最初由 A.Ashkin 等人所描述的光学陷阱现已成为一种常规方法，用于陷获、移动及在不同情况下操纵物质的介观体积（mesoscopic

volumes)。参见 A.Ashkin 等人的“Observation of single-beam gradient forces optical trap for dielectric particles (对于介电颗粒的单束梯度力光学陷阱的观察)”, Optics Letters 11, 288-290(1986)。他们操作的核心是将陷获光的吸收减小到最低以避免损坏被陷获的物质。光学手术刀的作用原理正相反, 是使用高聚焦光束的能量来切入柔软物质。本专利申请则公开并要求保护一种新颖的混合系统, 其中聚焦激光束对不均匀试样中的一些非吸收颗粒 (nonabsorbing particles) 起到光学陷阱的作用, 并同时对其它颗粒起到光学手术刀的作用。

本发明的光学陷阱技术的另一种应用涉及通过破坏细胞膜而不导致其完全损坏, 且使物质通过破坏处移动, 而将一些外部物质引入到活细胞中。为此已开发出了许多方法, 包括用来转染短尺寸 DNA 的病毒载体、基因注射器 (gene gun) 及其用来转移较大片段的变体、及用来完成跨膜扩散 (transmembrane diffusion) 的电穿孔, 但看来还没有哪种适合用来转移物理意义上大的物质, 特别是在那些物质本身脆弱的情况下。本说明书所描述的本发明的方法和装置便解决了这个问题及其它问题。

此外, 可用全息光学陷阱来实现空间分辨光化学法, 在以化学方式分辨小结构方面, 空间分辨光化学法相对于与之竞争的技术具有多个优点。例如, 用光学陷阱实现的空间分辨光化学法便于产生三维结构, 其特征从尺寸上构成了从光波长到宏观尺度的一小部分范围。虽然诸如浸蘸笔纳米平版印刷术 (dip-pen nanolithography) 和微接触印刷术 (microcontact printing) 这类技术提供了更高的空间分辨率, 但是它们不能修正三维构造。已知有很多种光化反应, 且其中任一种均可修正空间分辨光加工 (spatially-resolved photo-fabrication)。因此, 空间分辨光化学法比大多数微米及纳米加工法具备更高的适用性。用全息光学陷阱来实现空间分辨光化学法, 通过大幅提高其效率从而增强了此基本方法的实用性。

因此, 本发明的一个目的是提供一种改进的方法和系统, 其使用一个和/或多个装置来同时建立多个光学陷阱, 举例来说, 上述一个和/或多个装置诸如是同时作用于一单个试样上的多个全息光学陷阱工具, 以及同时作用于一单体试样的多个光学陷阱和多个强度区域。

本发明的一个附加目的是，提供一种新的方法和装置，其使用全息图来产生光梯度场，从而控制多种颗粒或其它光学介质。

本发明更进一步的目的是，提供一种用来建立多个光学陷阱的改进的方法和系统，用于多种涉及小颗粒操纵的商业应用，例如光子电路(photonic circuit)的制造、纳米复合材料(nanocomposite material)的应用、电子部件的制造、光电子器件(opto-electronic devices)、化学和生物传感器阵列、全息数据存储介质(holographic data storage matrices)的组装、组合化学(combinatorial chemistry)应用的简易化、胶体自组装(colloidal self-assembly)的开发、及生物材料的操纵。

10 本发明的一个更进一步的目的是，提供一种改进的方法和系统，其使用光学陷阱来将外部物质融入到活细胞中。

本发明还有一个目的是，提供一种改进的方法和系统，其从光吸收颗粒(optically absorbing particles)中筛分出光非吸收颗粒(optically nonabsorbing particles)。

15 本发明还有一个目的是，提供一种改进的方法和系统，其使用空间分辨光化学法来完成异质结构(heterogeneous structures)的制造。

本发明还有一个目的是，提供一种改进的方法和系统，用来对不同颗粒的筛分应用，建立在时间上和空间上均变化的光梯度场(optical gradient fields)的形态。

20 本发明还有更进一步的目的是，提供一种新的方法和系统，其使用与一个或多个衍射光学元件相协作的一条或多条激光束，来建造可选择的光学陷阱的时变的和/或特定的空间阵列，以操纵电介质金属材料和其它材料。

25 本发明另外还有更进一步的目的是，提供一种改进的方法和系统，其使用单输入激光束、衍射光学元件、及会聚透镜来形成静态或动态的光学陷阱，此光学陷阱与其它这样形成的光学陷阱相协作，可被用来操纵、影响细小电介质颗粒或其它材料的相互作用，以光化学方式改变和/或筛分细小电介质颗粒或其它材料。

30 本发明此外还有更进一步的目的是，提供一种改进的方法和系统，其以一光束扫描系统来利用入射到衍射光学元件的激光束，从而使光学陷阱阵列的扫描得以用于多种商业用途。

本发明此外的另一目的是，提供一种新的方法和装置，其使用激光束、衍射光学元件和会聚光学系统来构造光学陷阱的布局，以在相对于物镜焦面的可选择位置上，形成该陷阱的布局。

5 本发明的另一个目的是，提供一种新的方法和装置，其使用入射到一衍射光学元件的激光束，来产生光学陷阱的三维排列。

本发明的另一目的是，提供一种新的方法，其使用一种时间相关可寻址相移介质（如液晶相移阵列或其它相位介质）作为衍射光学元件，来产生多个独立受控的光学陷阱。

10 本发明的更进一步的目的是，提供一种新的方法，用来形成用于微观粒子分离的时间相关的光梯度场。

本发明还有另一个目的是，提供一种新的方法，用来操纵包括蛋白质的结晶在内的多个生物目标或完成其它相变。

15 根据以下对优选实施例的描述，并结合下边所描述的附图，本发明的其它目的、特征、优点将是显而易见的，在附图中，同一元件自始至终由同一编号表示。

附图说明

图 1 说明用于单个光学陷阱的现有技术方法和系统；

图 2 说明用于单个可控光学陷阱的现有技术方法和系统；

图 3 说明使用衍射光学元件的方法和系统；

20 图 4 说明另一种方法和系统，其中使用了相对于输入光束倾斜的光学元件；

图 5 说明一种可持续平移的光学陷阱阵列，其中使用了衍射光学元件；

25 图 6 说明一种方法和系统，其中使用光学陷阱阵列来操纵颗粒，同时还形成用于观察上述光学陷阱阵列的图像；

图 7A 说明一种 4×4 阵列光学陷阱的图像，其使用了图 6 中的光学系统；而图 7B 说明一微米直径硅球的图像，上述硅球在陷获照射刚刚熄灭之后、但在这些球分散开之前，被图 7A 中的光学陷阱悬浮于水中；

30 图 8A 说明在将材料转移到细胞时的第一步骤，其中材料被密封在为光学陷阱所束缚的脂质体(liposome)中；图 8B 说明被融合到细胞膜

上的脂质体；而图 8C 则是脂质体中的材料通过脂质体-细胞结合中的裂口而被转移；

图 9 为一个操作流程图，展示了从吸收颗粒中对非吸收颗粒的分离。非吸收试样被光学陷阱阵列所偏转。吸收试样则被分裂成小碎片而且不发生偏转。

具体实施方式

本发明展示了对 Grier 等人在美国第 6055106 号专利中所公开和要求的保护的“Apparatus for Applying Optical Gradient Force(用于施加光梯度力的装置)”的多种应用。以下利用术语光学陷阱、光学陷阱及光梯度力陷阱来涵盖上述装置。图 1 和 2 通过介绍展示了几种现有技术的方法和系统。下面首先将回顾这些系统，然后将要根据图 3 到图 7A 和 7B 中的光学陷阱实施例，来描述本发明的方法。在图 1 所示的现有技术光学陷阱系统 10 中，光梯度力是由于使用单束光 12 而产生的，用以可控制地操纵散布于介质 16 中的小电介质颗粒 14，其中介质 16 的折射率小于颗粒 14 的折射率。光梯度力的性质是众所周知的，从而同样可以理解的是，此原理已被推广，而能够用来操纵反射、吸收以及低介电常数颗粒。完成

光学陷阱系统 10 是借助使用光束 12（如激光束）来加以运用的，此光束能够施加为取得光学陷获效应所需的必要的力，上述光学陷获效应是要用来操纵颗粒的。用来产生传统形式的光学陷阱 10 的方法是，通过一会聚光学元件（如物镜 20）的后孔 24 的中心，来投射一条或多条光束，每条光束具有一指定的平行度。如图 1 所示，光束 12 具有宽度“W”、且具有相对于光轴 22 的入射角 ϕ 。光束 12 从物镜 20 的后孔 24 输入，并从前孔 26 输出，大体上会聚于处在成像空间 32 的焦面 30 上的焦点 28，其中焦点 28 与光学陷阱 33 相对应。通常，任意被投射到衍射限焦斑、且拥有足够高的轴向强度梯度以克服轴向辐射压从而可靠地陷获颗粒的光束均可构成光学陷阱系统 10 的基础。

产生这样的焦点，需要有一个聚焦元件，其具有足够大的数值孔径(numerical aperture)以及充分校正过的相差。一般来说，用于形成陷阱的最小数值孔径约为 0.9 到 1.0。

在光束 12 为平行激光束且其轴与光轴 22 重合的情况下，光束 12 进入物镜 20 的后孔 24 并被投射到成像空间 32 中的一焦点上，该焦点位于物镜的焦面 30 的中心点。当光束 12 的轴相对于光轴 22 以角度 ϕ 位移时，光束的轴 31 与光轴 22 在后孔 12 的中心点 B 处重合。这个位移可使光学陷阱穿过视场平移，平移量取决于物镜 20 的角度变化。角位移 ϕ 与光束 12 的可变会聚点这两个变量可以被利用，在成像空间 32 内的一个选定位置形成光学陷阱。如果多条光束 12 是以不同角度 ϕ 和不同平行度被施加到后孔 24 的，则可在不同位置布置多个光学陷阱 33。

为在三维空间中进行光学陷获 (optical trapping)，作用在待陷获颗粒上的光梯度力必须大于由光的散射和吸收所产生的其它辐射压。通常这要求在后孔 24 处，光束 12 的波阵面具有适合的形状。例如，对一个高斯 TEM₀₀ 输入激光束来说，光束直径 W 应该与入射光孔 24 的直径大体相同。对更一般的光束轮廓如拉盖尔-高斯模式而言，可比条件可被列成公式。

在图 2 所示的另一种原有技术系统中，光学陷阱系统 10 可穿过物镜 20 的视场来平移光学陷阱 33。望远镜 34 是由透镜 L1 和 L2 组成的，这些透镜确定了点 A，在图 1 的现有技术系统中，点 A 对于点 B 来说是在光学上共轭的。在图 2 的系统中，光束 12 穿过点 A 也穿过点 B，因而满足了作为光学陷阱系统 10 而工作的基本需求。平行度是通过使透镜 L1 和 L2 定位来保证的，如图 2 所示，它们的焦距和其它光学特性是经过选择的，为的是优化望远镜 34 的性能的传递 (transfer)。特别是，可以选择望远镜 34 的放大倍数，以优化在物镜 20 的后孔 24 的平面上的光束 12 的角位移及其宽度 W。如前所述，一般来说，可利用多个光束 12 来形成若干相关的光学陷阱。这样的多个光束 12 可以由多条独立的输入光束，或是由传统的反射和/或折射光学元件所操纵的单一一条光束来产生。

在一种光学陷阱的布局中，如图 3 所示，可形成任意的光学陷阱阵列。衍射光学元件 40 大体上被放置在平面 42 中，该平面与物镜 20 的后孔 24 共轭。请注意，虽然为简明起见只显示了单一一条衍射输出光束 44，但是应理解，衍射光学元件 40 能够产生了多条这样的光束

44. 入射到衍射光学元件 40 的输入光束 12 被分裂成输出光束 44 的结构，其特点是具有衍射光学元件 40 的特性，这些输出光束每条均从点 A 发射出去。所以由于此前所述的下游光学元件的顺序，输出光束 44 同样穿过点 B。在某些情况下，当需要以彼此间特定的空间关系来产生多个目标，其中每个目标处于一特定的方向时，就必须在一定时标上形成多个目标，上述一定时标快于目标发生相对运动的时标。除了其它因子外，这一时标是介质的粘度的函数。在这种情况下，能够同时产生多个目标的装置便可能提供有利条件而优于顺序产生目标的装置。

10 图 3 所示的衍射光学元件 40 与输入光束 12 正交，但也可有许多其它布置。例如在图 4 中，光束 12 是以相对于光轴 22 的斜角 β 抵达衍射光学元件 40 的，而不是与之正交。在这一实施例中，从点 A 射出的衍射光束 44 将在成像空间 32（见图 1）的焦面 52 中形成光学陷阱 50。在光学陷阱系统 10 的此种配置下，输入光束 12 的未衍射部分 54 15 可从光学陷阱系统 10 中除去。因而这种布局能够处理较少的背景光，并且提高形成光学陷阱的效率和有效性。

衍射光学元件 40 可包括计算机产生的全息图，这些全息图将输入光束 12 分裂成预先选择的所需结构。将这些全息图与图 3 和图 4 中的其它光学元件相结合，便可以产生任意的阵列，在这些阵列中衍射光学元件 40 被用来分别形成每条衍射光束的波阵面。因此，光学陷阱 50 20 不仅可分布在物镜 20 的焦面 52 上，还可分布到焦面 52 之外而形成光学陷阱 50 的三维空间排列。

在图 3 和图 4 的光学陷阱系统 10 中，还包括聚焦光学元件，例如用来会聚衍射光束 44 以形成光学陷阱 50 的物镜 20（或其它功能相同的光学器件如菲涅耳透镜）。此外，望远镜 34，或其它等效的传递光学系统，产生了与先前的后孔 24 的中心点 B 共轭的点 A。衍射光学元件 40 被置于包含点 A 的平面上。

在另一实施例中，光学陷阱 50 的任意阵列可以不利用望远镜 34 来产生。在这类实施例中，衍射光学元件 40 可直接被放置于包含点 B 30 的平面上。在本发明的另一形式中，其中一个透镜可被放置在全息图自身中，而不是在望远镜 34 中。

在光学陷阱系统 10 中，可使用静态的或时间相关的衍射光学元件 40。对于动态的或称时间相关的方案而言，可产生光学陷阱 50 的随时间变化的阵列，这些阵列可成为利用此特征的系统的一部分。此外，这些动态光学元件 40 可被用来有效地移动颗粒和具有彼此间光学特性各异的其它材料。例如，衍射光学元件 40 可以是一液晶空间光调制器，其对于入射激光束的波阵面，进行计算机产生的相位调制的编码。在另一实施例中，也可以用空间光调制器与相环配合以取代上述衍射光学元件。

在图 5 所示的另一实施例中，可构造一个系统以实现光学陷阱 50 的持续平移。设置一平衡环底座上的反射镜 60，而使其旋转中心位于点 A。光束 12 入射到反射镜 60 的表面且它的轴经过点 A，并将被投射到后孔 24。反射镜 60 的倾斜导致光束 12 相对于反射镜 60 的入射角而变化，并且这一特征可被用于平移所产生的光学陷阱 50。第二望远镜 62 是由透镜 L3 和 L4 构成的，并且它产生了一个与点 A 共轭的点 A'。位于点 A' 的衍射光学元件 40 现在产生了衍射束 64 的结构，每条衍射束 64 都穿过点 A，从而形成光学陷阱系统 10 的阵列之中的一个陷阱 50。

在图 5 所示实施例的工作过程中，反射镜 60 将整个陷阱阵列作为一个整体来平移。这种方法有效地使光学陷阱阵列与固定的基底精确对齐，以通过小振幅快速振动位移量来动态地加固光学陷阱 50，并用于任何需要整体平移能力的应用。

光学陷阱 50 的阵列也可通过移动试样台或通过调整望远镜 34 来进行相对于试样台的垂直平移。此外，上述光学陷阱阵列还可通过移动试样台来进行相对于试样的横向平移。这一特征对于超出物镜的视场范围之外的移动来说将是特别有效的。

在图 6 所示的另一种实施例中，光学系统被设置成能够看到被光学陷阱 10 所捕获的颗粒的图像。二色分光镜 70，或其它等效的光学分光器，被插入于物镜 20 与光学陷阱系统 10 的光学系列部件 (train) 之间。在所示实施例中，分光镜 70 选择性地反射被用来形成光学陷阱阵列的光波长，而透射其它波长。因此，被用来形成光学陷阱 50 的光束 12 是以高效率透射到后孔 24 的，而被用来形成图像的光束 66 则能够

通过而到达成像光学系统。

以下描述本发明的将外来物质融入到活细胞中的方法的另一实施例。最近已确定，光学陷阱装置可有利地通过光学陷获、以光学方式引入的膜融合（membrane fusion）和光学切削的结合使用，而被用来将外来物质如人造染色体融入到活细胞中。作为非限定性的示例，所述方法包括如下步骤：将所要转移的材料封装到例如一种脂质体中，将上述脂质体融合到细胞膜上，并且穿破结合点以进行转移。上述第一个步骤可利用任何已知的可行的封装技术。一旦封装完成，脂质体便可由光学陷阱来陷获，并朝向目标细胞移动。因为取决于材料对光的灵敏度，所以若干个独立的光学陷阱可能优于一个光学陷阱，在此情况下全息光学陷阱优于其它技术，如扫描光学陷阱。

与按顺序处理多个陷获点、且因此而是分时的扫描光学陷阱不同，全息光学陷阱连续地照射其每个陷阱。对一个扫描光学陷阱而言，要想取得与一连续照射陷阱相同的陷获力，它就必须提供至少相同的时间平均强度。这意味着扫描陷阱必须有一个较高的峰值强度，此峰值强度是根据一个至少与陷获区域的数量成比例的系数确定的。此较高峰值强度增加了在被陷获材料中的光致损害（optical-induced damage）的机会。此损害可能由于至少三种机理产生：（1）单光子吸收引起局部升温，（2）单光子吸收引起光化学转变，与（3）多光子吸收引起光化学转变。事件（1）和（2）可通过选择仅被陷获材料和周围流体介质微弱吸收的光的波长来减少。事件（3）是个更为普遍的问题，且可通过使用波长较长的光来减少一部分。多光子吸收是本说明书的光化聚合部分的核心机理，其发生速率与强度的乘方成比例（就是说对双光子吸收为 I^2 ）。通过减小陷获光束的峰值强度，此过程的速率便被快速减小到可接收的程度。因此，低强度而连续照射的全息光学陷阱优于分时的扫描陷阱。此外，与任何扫描陷阱技术相比，全息光学陷阱方法适于在一广延目标的空间内分布更多的独立陷阱。特别是，全息光学陷阱能够在在一个目标的三维轮廓线范围内分布陷阱，而不同于仅局限在单一平面内的扫描陷阱。

在一个目标的多个位置上分布陷获力，则进一步使全息光学陷阱能够将施加到目标的任意一点的最大强度和最大力降到最低。这可被

看作类似于一个钉床，任何处于其中的人都会招致伤害，但是将载荷在多个钉子上加以分散，便将局部力减小到造成伤害阈值以下。

因此，全息光学陷阱具有优于扫描陷阱和单个传统光学陷阱的本质上的优点。如果细胞本身是运动的，则可用全息光学陷阱将其固定于某一位置和方向。对一些应用而言，举例来说，当材料必须被转移到细胞的某一特定部分同时经过其它部分时，光学陷阱操纵提供了有利条件。可用单独一组全息光学陷阱将细胞和脂质体同时固定住。

如图 8C 所示，细胞 200 具有不能渗透的壁 210，例如就像一个植物细胞。可用一把光学手术刀切去足够多的壁 210，直至露出细胞膜 215 的一部分，以进行随后的脂质体融合。用于这种切割或称消融的激光非常可能会工作于比用来固定和移动脂质体 220 及细胞 200 的波长更短的波长上。与通常不希望出现材料损害的陷获不同，切割需要在聚焦光和材料之间发生强烈的相互作用。因此，上述减小损害的条件也为优化所期望的损害提供了指导。特别是，较短波长的光与较长波长光相比，每个光子携带有更多能量。因此，每个光子吸收更有可能传递足够的能量来破坏化学键，并且重组细胞壁 210 和细胞膜 215 中的高分子。所有这些转化的速率在光波长较短时都是增加的。

一旦露出了细胞膜 215 的适当部分，便可将脂质体 220 移动到其附近，再次使用光学陷阱力（参见图 8A）。可通过蛋白质或掺入到脂质体的外表面内的其它生化剂的作用而以化学方式，或通过一个或多个照射在脂质体-膜界面上的光脉冲而以光学方式，来完成融合(参见图 8A)。

融合可以继续进行从而以一个步骤来完成转移，否则可能需要进一步的化学处理和额外的光脉冲以破坏膜-脂质体界面。一旦此界面被破坏，脂质体的内含物（材料 240）便可通过扩散而转移到细胞 200 的内部 230，否则也可借助于一个或多个光学陷阱而将其移动到细胞 200 之内。此外，举例来说，对于人造染色体，材料 240 可通过利用光学陷阱而被直接放置在细胞核 250 中，以穿透细胞膜 215 和细胞质来转移物质，然后切割核膜以完成直接进入胞核 250 的转移。

一旦转移结束，便可将细胞 200 固定在适当位置以便在采集之前对其进一步观察。固定和采集均可便利地借助光学陷阱的操纵来进行，

特别是当上述整个过程发生在一个封闭的微流系统中的情况下。

从试样选择到细胞采集，整个处理都可使用传统的用于观察的光学显微镜来完成。实际上，用来产生供这一处理用的光学陷阱及手术刀

5 用全息光学陷阱或相关操纵技术完成，则整个处理也可以是自动化的，而使用数字式记录的显微镜图像来拟定光学陷阱的模式及其运动的程序。

要引入到细胞 200 内的物质或称材料 240 可以是任意物质，并且优选对于要被引入其内的细胞 200 不是内生的 (endogenous)。优选的是，上述物质是正常情况下不能穿越细胞膜的物质。要引入到细胞 200

10 内的物质优选是亲水物质，然而上述物质也可以是疏水的。任何生物分子或任何大分子，例如分子的复合物，均被引入到细胞 200 内。材料 240 一般具有 100 道尔顿或更大的分子量。在一个更为优选的实施例中，材料 240 是核酸分子，如 DNA、RNA、PNA (例如 cDNA、基因组 DNA、质粒(plasmid)、染色体、寡核苷酸、核苷酸序列或核酶)

15 或嵌合分子或其碎片，或表达载体。此外，材料 240 可以是任何生物活性分子，如蛋白质、多肽、肽、氨基酸、荷尔蒙、多糖、染料 (dye)，或是药剂，如药物 (drug)。

虽然这段讨论集中于使用单个脂质体的内含物来改变单个细胞的各种方法，但相同的手段可被用于将多个脂质体融合到单个细胞上，

20 和被用于同时处理多个细胞。

在本发明的另一种形式中，提供了一种系统和方法以从吸收颗粒 290 中筛分出非吸收颗粒 310 (参见图 9)。已发现光学陷阱或陷阱阵列 300 可以有利地由聚焦激光束形成，此激光束对试样中的一些非吸收颗粒 310 起到光学陷阱的作用，而对其它颗粒则起到光学手术刀的作用。

25 然而不是像传统的光学手术刀那样精确地切割吸收颗粒 290，光的吸收被用来非特定地平整 (obliterate) 吸收颗粒 290，以将它们缩小为非常小的碎片 330。然后，这些小碎片便可从遗留在光学陷阱 320 内的未受损害的非吸收颗粒中被分离出来。

30 这种方法的一个应用实例为在血样中搜寻癌细胞的问题。一般在测试可以开始之前，必须将试样中数量巨大的红血球从候选癌细胞中

分离出来。来自光学陷阱的光在可见波长范围内工作，例如波长为532nm，它会被红血球强烈吸收，并因此而可被用于通过局部升温来破坏红血球。然而，其它无色素（unpigmented）的细胞则可用同一可见光光学陷阱来陷获，并受到处理以进行下一步测试。例如，假设可见光光学陷阱的阵列被排列成其特征空间明显小于红血球的尺寸。在外
5 部介导（mediated）液体流的驱动下穿过此光学陷阱阵列的细胞混合物将会遇到这些光学陷阱。强吸收细胞将被缩小为许多小得多的碎块，例如通过其与光交互作用而产生的膜碎片。这些较小碎块与光的交互作用相对较弱且其一小部分可被阵列中的一些陷阱陷获。然而更可能
10 DSH，它们会被液体流冲走。弱吸收细胞则将会遇到一个或多个阵列中的光学陷阱、一次或多次陷获、一个或多个陷获力，而不是受到光的损害。

与被损坏细胞的碎片相比，完整细胞会拥有易受光学陷阱影响的更大且数量更多的区域，且因此将易于被光学陷阱的阵列所陷获。位于光学陷阱阵列中的细胞可通过移动这些光学陷阱本身，例如利用本
15 专利申请受让人的一个较早申请的技术特征（见 Grier 等人的美国专利申请序列号 09/875812；其美国专利申请公开号为 US 2002-0185592 A1，出版于 2002 年 12 月 12 日），通过移动试样容器以将被陷获细胞输送到该试样容器内的采集区，或通过周期性关闭陷阱并用液体流将细胞
20 导引到采集区，而输送以便采集。通过以上任何方法，均可将不吸收光的细胞从吸收光的细胞中分离采集出来。

此方法可从筛分细胞推广至筛分任意的对至少一个特定光波长吸收系数相差很大的其它材料。这种操纵的优点包括排斥非期望的吸收材料的优良保真度，及执行其它有效筛分步骤的能力。这些相同的优
25 点将出现在对上述消融颗粒筛分法的其它应用中。

在光学消融颗粒筛分的优选实施例中，非吸收颗粒的分离可以用多个以全息光学陷阱技术产生的光学陷阱来实现。针对被平整吸收颗粒而进行的陷获颗粒分离可以利用过去公开的有效陷阱操纵、光学蠕动（optical peristalsis）、流动中的被动横向缺陷（passive lateral defection）
30 等技术来完成。此分离也可在微流装置中完成，其中一条管道用于冲洗去除由于吸收颗粒的平整所带来的废物，而其它管道用于采集选定

的非吸收颗粒。

在过去使用光学陷阱时，要特别注意选择不会对所要陷获的材料造成损害的光的波长。在本发明中，目的是选择一个波长，该波长能够被混合试样中的不希望有的亚群（subpopulation）强烈吸收，而仅被
5 要回收的亚群微弱吸收。用传统方法来进行弱吸收亚群的回收，而在此情况下的分离则是通过不希望有的那部分的被动破坏来实施的，而不是主动选择来实施的。这也可成为一个预处理步骤，用于其它分析方法如流式细胞法（flow cytometry）。

作为非限定性的实例，此方法可被用于通过血液筛选来进行癌症
10 的早期检测。已知几种癌症在其早期阶段并不形成界定清楚的肿瘤，但却有不正常细胞的某些特定部分会脱落到血流中。实际上，对这些细胞的检测将显示出病人已患早期癌症的迹象。这样的检测在需要发现完整的肿瘤或其代谢产物的其它方法之前，即能够提供至少一种试验性的诊断。因此，此方法将会提供早期的且更有效的治疗。这可与
15 传统的用来将较稠的、承载血色素的红血球从血液中所携带的其它细胞中分离出来的离心法相比较。然而，离心法经常将较轻的细胞与较重的细胞夹杂在一起，因此使检测变得非常困难。

使用本发明的方法，可使血样流过一光学陷阱阵列，此光学陷阱阵列所具有的波长和强度将会破坏红血球的细胞结构，而保持非红血
20 球如白血球和可能的癌细胞完好。实际上，红细胞将被缩小成因过小而不能陷获的碎片。相反，未受破坏的细胞却可以被光学陷阱所陷获，并且举例来说通过顺序地更新陷阱模式，而被输送到一采集点，以备后面的分析之用。

而在本发明的其它实施例中，涉及一种实施空间分辨光化学法的方法。光可以为光化反应提供激活能，并且在一个光子不能携带足够的能量来启动光化反应的情况下，如果能同时吸收两个或更多个光子而使得所有被吸收光子的总能量超过反应的激活临界值，则光化反应
25 仍然能够进行。多光子吸收过程进行的速率非线性地取决于可用光的强度，其中双光子吸收发生的速率与光的强度的平方 I^2 成比例。对于强度的这种非线性关系可被用于仅在一较大试样的选定空间内启动光
30 化反应，并以空间分辨方式来继续此反应。上述反应只发生于照射足

够强的区域，而不发生于其它区域。

光学陷阱是高度聚焦的光束，并因此而为通过光化学来产生空间分辨结构提供了一种理想方法。光学陷阱中的焦点是照射区中光照强度最高的区域。将这个焦点区的强度调节到接近对应于光化学变化
5 (photochemical transformation) 的一定适当速率的临界值，有利于在一定空间内的受控光化反应，该空间对光学陷阱的衍射限焦斑体积是可比的。另一方面，光学陷阱一般被用来陷获和操纵小体积物质，在此应用中，它们被用于以预期的方式转化物质。在本技术领域，单个光学陷阱已被用来产生局部强光照射，以启动和传播双光子光化反
10 应，从而制造直径小至 10 微米的光化聚合装置。在过去的传统方法中，确定光化学模式需要使单个光学陷阱平移穿过液态前体，或使液体平移经过单个光学陷阱。无论在哪种情况下，用空间分辨光化学来产生结构的过程都涉及顺序地照射目标空间。

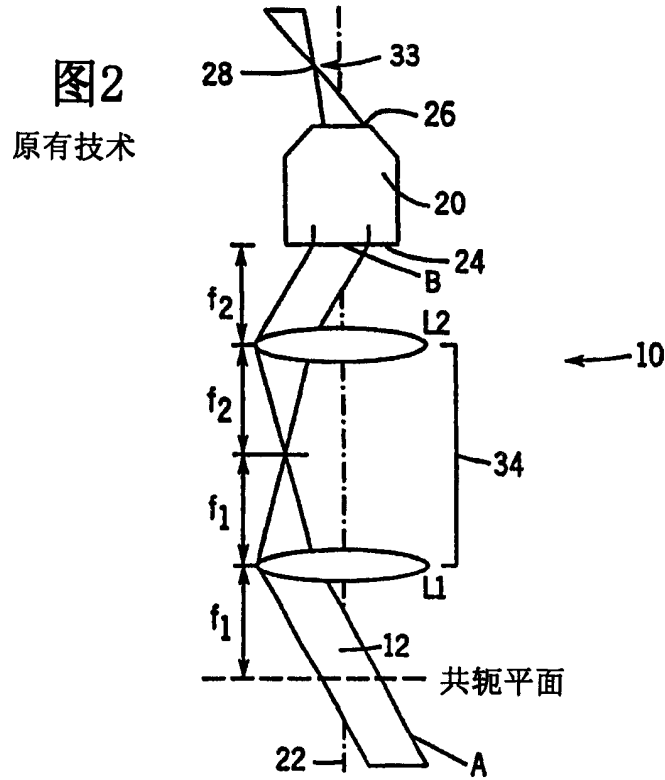
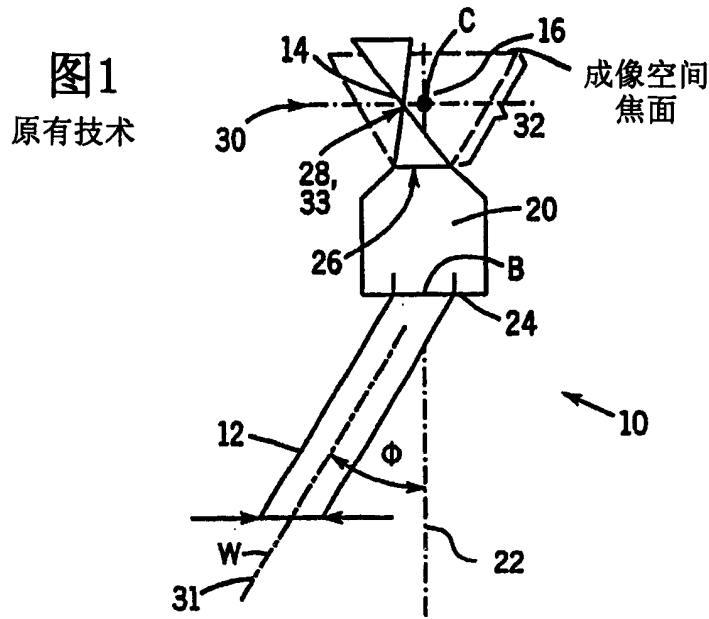
与过去的方法不同，本发明使用多个全息光学陷阱，同时在多个
15 位置实施空间分辨光化学法，从而产生由异质或同质材料构成的结构。例如，按照过去的方法，人们可使用多条光束来同时形成同一结构的多个复制品，因此能够同时制造多个完全相同的结构。另外，人们可使用多个光束同时制造单独一个结构的不同方面，因此能够大大加快其制造速度。最后，可用独立的光束围绕一外部空间周围产生外部结
20 构，并同时制造内部空间结构（即在围绕该空间独立产生的外壳之内的结构）。所有这类技术的共同之处在于，所产生的结构是由同质材料如凝胶构成的。在本发明中，与现有技术不同，光学陷阱的操纵与由此产生的化学变化的独特结合也能够产生单个或多个异质结构。例如，在形成了一定目标的情况下，可用特定的光学陷阱将其固定在适当位
25 置，同时用同样聚焦的光束来产生由通过光化学方式所转化的材料构成的相互连接，从而产生异质结构。

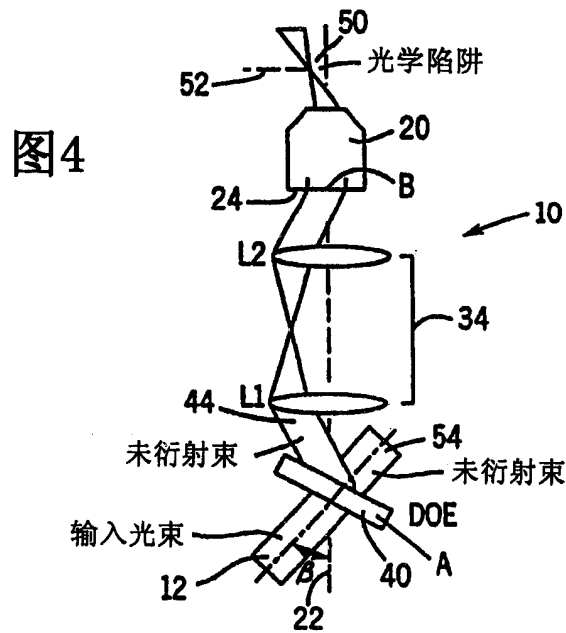
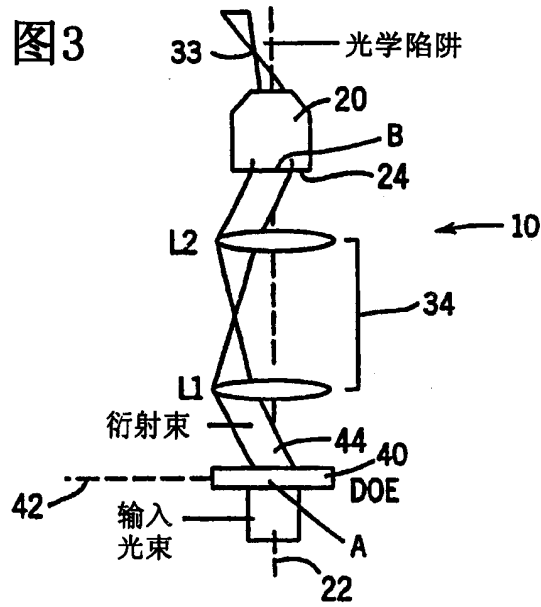
而且，与传统光学陷阱不同，全息光学陷阱使用计算机产生的衍射光学元件，以便在三维空间中，以任何用户规定的模式来确定多个光学陷阱。在这样一种陷获模式中，每个焦点均可被用来引发光化学
30 变化。计算机算法能够在一个三维的可进入空间内的任何位置放置一个或多个光学陷阱，并且允许独立地调整这些陷各自阱的特性。通过

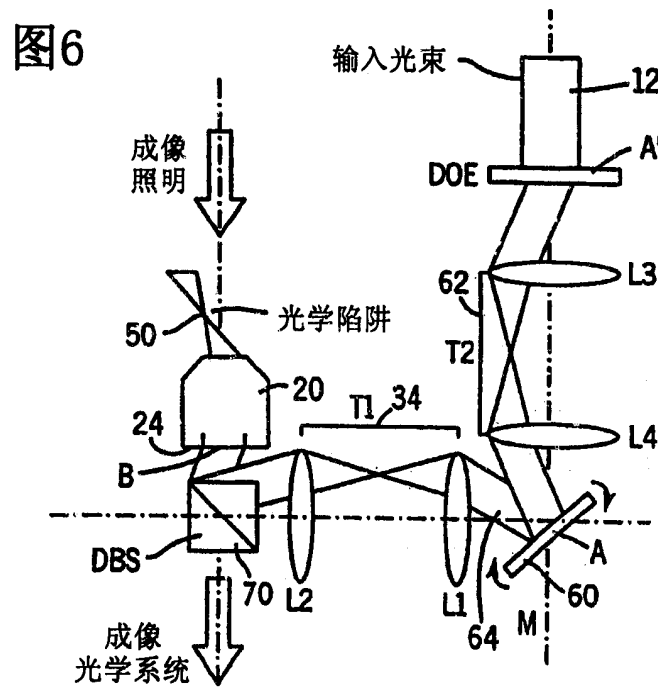
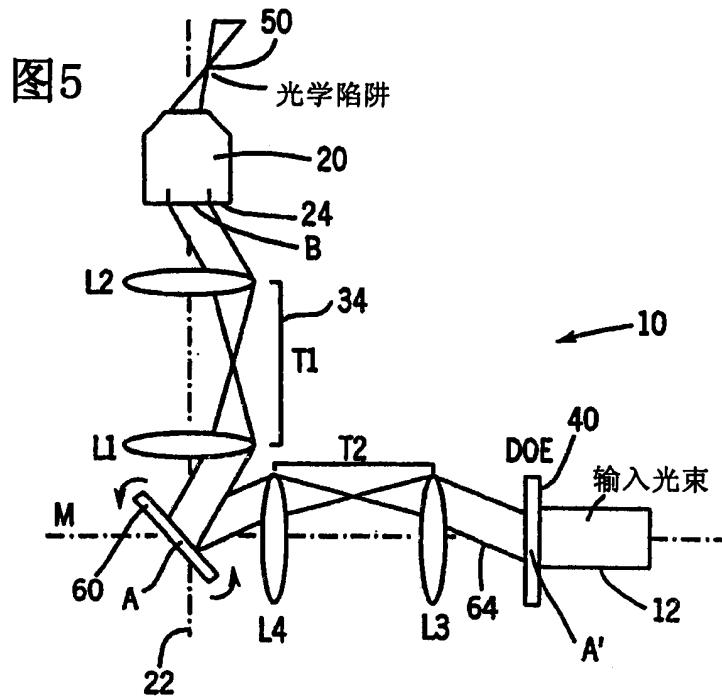
计算和投射一个新的全息图，即可以实现在由原来的陷阱移动得到的位置上，或在陷阱特性略微不同的情况下，用陷阱产生新的布局。因此，可以通过前体溶液（precursor solution）来操纵陷阱的固定排列，从而制造以光化学方式确定的模式的多个复制品，虽然可能需要一系列小步骤来产生大的变化。相反，在一个全息光学陷阱阵列中的个别陷阱可通过计算和投射一系列计算机产生的衍射模式而被独立地移动，其中每种模式中的每个陷阱的位置均按需更新。这样就会使得多个陷阱能够同时在多个区域内引发光化学变化，还会有助于高效寻址一个或多个光化学方式限定的结构的多个部分。在此类应用中，全息光学陷阱技术的优点包括极大地提高了生产率以及局部调整启动和生长传播速率的机会，从而优化了制成品中的可能取决于形成过程的上述方面的材料特性。

在本发明的方法中，全息光学陷阱是借助光化聚合 Norland Type 73 紫外固化粘合剂和 Norland Type 88 紫外固化粘合剂、使用由倍频 Nd:YVO₄ 激光器获得的 532nm 波长的光，而得到利用的。光学陷阱已经被用于由包含紫外线受激光引发剂（UV-excited photoinitiator）及无辐射抑制剂的前体溶液，来光化聚合聚丙烯酰胺。

尽管展示和描述了本发明的优选实施例，对本领域技术人员显而易见的是，在不偏离本发明在所附权利要求书中限定的较宽范围的情况下，尚可做出很多变化和修改。







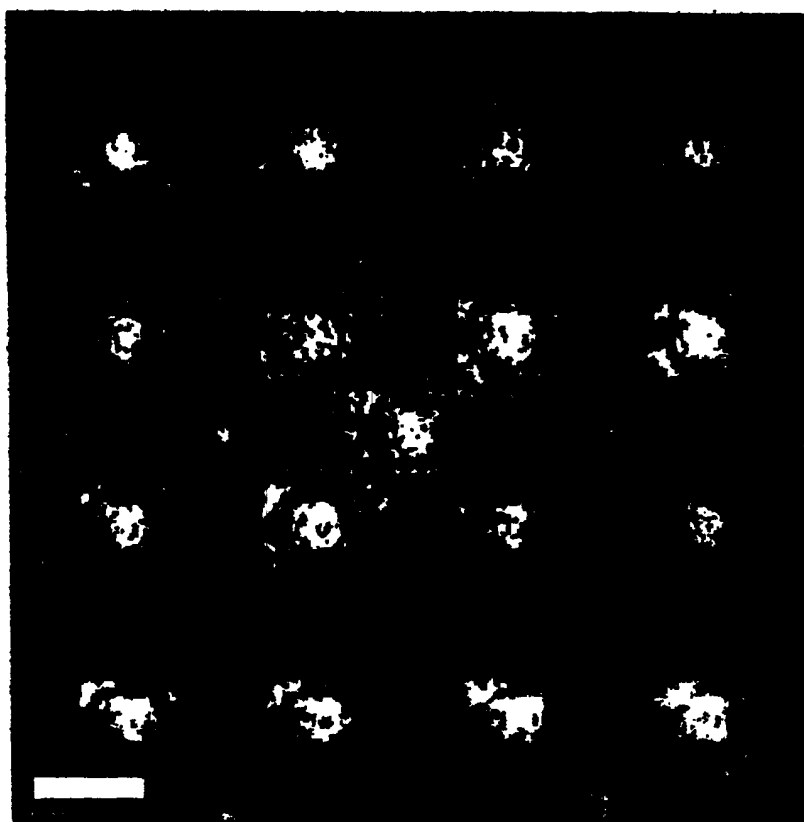


图7A

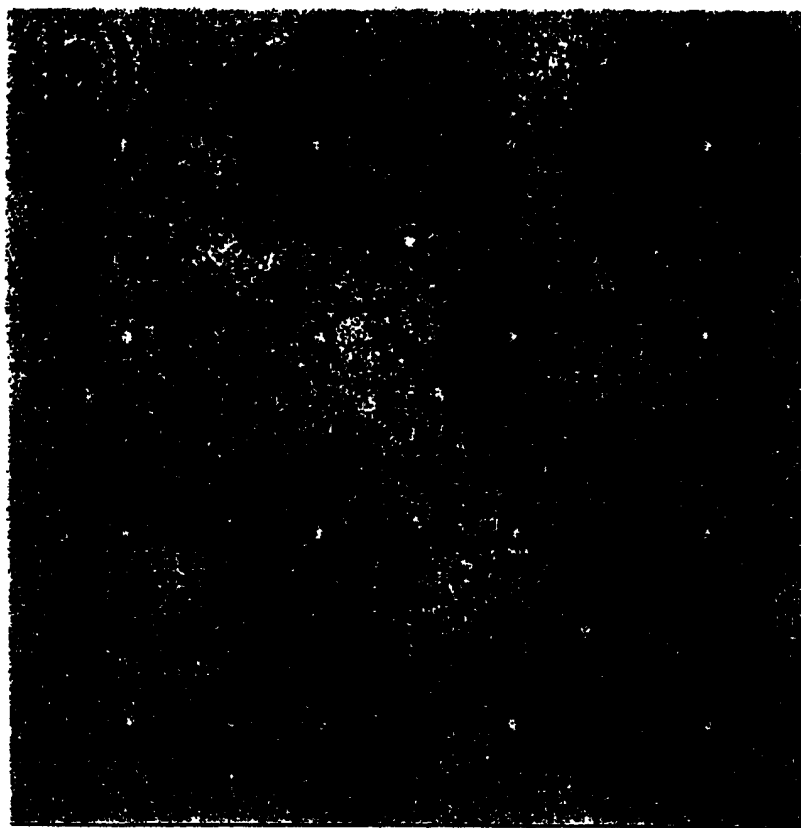


图7B

