



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107603940 B

(45) 授权公告日 2020.10.27

(21) 申请号 201710801361.X

(22) 申请日 2017.09.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107603940 A

(43) 申请公布日 2018.01.19

(73) 专利权人 中国科学技术大学
地址 230026 安徽省合肥市包河区金寨路
96号

(72) 发明人 王浩威 李银妹 呼新尧

(74) 专利代理机构 北京凯特来知识产权代理有
限公司 11260

代理人 郑立明 郑哲

(51) Int.Cl.
G12N 5/00 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2010273681 A1,2010.10.28

TW 200912373 A,2009.03.16

US 7068874 B2,2006.06.27

CN 104698532 A,2015.06.10

US 2002109923 A1,2002.08.15

CN 101294878 A,2008.10.29

CN 1557115 A,2004.12.22

WO 2010063478 A1,2010.06.10

李银妹等.“光镊技术的研究现状”.《中国激光》.2015,第42卷(第1期),第9-28页.

Singh,Brijesh Kumar.“Controlled modulation of laser beam and dynamic patterning of colloidal particles using optical tweezers”.《Journal of Modern Optics》.2015,第63卷(第3期),第269-275页.

审查员 杨松林

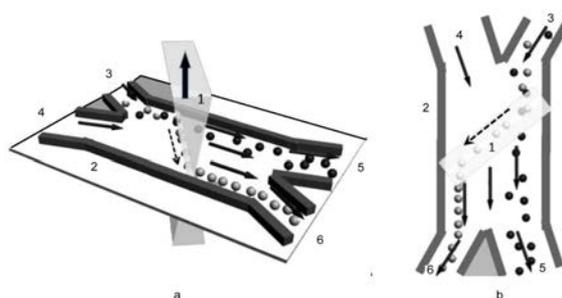
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

利用楔形光镊光场分选微粒的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法,包括:将激光会聚成尖端为楔形的形状,从而在微流道样品池中形成楔形光镊光场;所述微流道样品池具有一个或多个入口;微米尺度的微粒从微流道样品池的入口进入微流道样品池后,不同的微粒混合形成稳恒流场,并跟随流场进入楔形光镊光场,不同的微粒由于折射率或形状不同,在不同光学梯度力和流场的共同作用下沿着不同轨迹运动,从而从不同出口流出。该方法可以极大的提高微粒的分选效率。



1. 一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法,其特征在于,包括:

将激光会聚成尖端为楔形的形状,从而在微流道样品池中形成楔形光镊光场;所述微流道样品池具有一个或多个入口;

微米尺度的微粒从微流道样品池的入口进入微流道样品池后,不同的微粒混合形成稳恒流场,并跟随流场进入楔形光镊光场,不同的微粒由于折射率或形状不同,在不同光学梯度力和流场的共同作用下沿着不同轨迹运动,从而从不同出口流出;

所述将激光会聚成尖端为楔形的形状包括:

基于柱透镜法将激光会聚成尖端为楔形的形状,相关结构包括:激光器、两个望远镜系统、物镜、柱面透镜以及三个反射镜;其中,激光器出射的激光依次经过第一望远镜系统与第一反射镜被反射至第二反射镜,再经过第二反射镜反射后依次经过柱面透镜、第二望远镜系统与第三反射镜被反射至物镜,从而将激光会聚成尖端为楔形的形状;所述柱面透镜的位置和焦距控制光学楔形长度,柱面透镜的角度决定楔形焦线在微流道样品池中的方向;

或者,基于多光镊模拟法将激光会聚成尖端为楔形的形状,相关结构包括:激光器、四个透镜、四个反射镜、物镜以及空间光调制器;其中激光器出射的激光依次通过第一与第二透镜将光束扩束以匹配空间光调制器口径,扩束后的光束经过第一反射镜反射至空间光调制器,经空间光调制器衍射后依次通过第三透镜与第二反射镜后被反射至第三反射镜,再被第三反射镜反射后经第四透镜射入第四反射镜,最终被第四反射镜反射至物镜,从而将激光会聚成尖端为楔形的形状;楔形焦线的长度,形状和方向由输入空间光调制器的相位图决定。

利用楔形光镊光场分选微粒的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及光学操控及生物医学技术领域,尤其涉及一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法。

背景技术

[0002] 生物医学以及生命科学研究中需要在大量细胞中分选出特定种类的细胞。之前的分选方法,通常是先利用密度梯度离心法对样品进行初步富集,而后用免疫密度离心,免疫磁珠分选,流式细胞分选等方法对细胞进行精确筛选。

[0003] 其中免疫梯度离心和免疫磁珠分选法不能用于在大批细胞中分选极微量的目标细胞。因此,目前的主流分选技术还是采用流式细胞仪通过对细胞进行免疫荧光染色的方法进行细胞分选。

[0004] 在流式细胞仪中待分选细胞经过荧光染色后随溶液进入毛细喷嘴,通过喷嘴以后的细胞在束流中被排成一行,在鞘流包裹下依次通过检测窗口。通过检测窗口后含有细胞的束流被超声打碎成包含单个细胞的微小液滴。通过检测窗口的细胞如果是被荧光染色的目标细胞,仪器会使对应液滴带上微量的电荷,目标细胞在电场作用下改变运动轨迹而被收集。

[0005] 流式细胞仪技术成熟,但装置结构复杂,分选时束流的流速,鞘流的流量都需要精细调节,应用不够方便。由于需要对细胞进行免疫荧光标记,所以目标细胞可能在标记过程中死亡或丢失。

[0006] 具有梯度的光场能够对微粒产生力的作用并改变其运动轨迹,可以方便的用于操纵和分选包括生物细胞在内的各种微粒。基于这种光力学效应的光镊技术已经在科学研究中有了广泛的应用。梯度光场对微粒的作用效果取决于微粒大小、密度、折射率、形状以及光场梯度本身,因此可以在不进行荧光染色的情况下利用细胞形态、大小和折射率等物理性质分辨目标细胞,在应用上具有一定优势。

[0007] 微流道技术是一种受到长期关注并在持续发展的新兴技术。它通过将流体限制在微小的管腔中间流动创造出一个稳定、可控,而且能够与外界进行快速的物质和热量交换的微环境。微流道技术方便连续处理大量细胞,进行单细胞水平研究与分析,是生物学分析中非常有用的技术。

[0008] 由于微流道系统的尺寸微小,内部的雷诺数很低,流场通常为稳定的层流,各层之间的组分之间混合的速度很慢。鉴于微粒的层间运动只能依赖缓慢的扩散运动,因此利用微操作手段将微粒移动到不同的层位就可以达到分离的目的。

[0009] 采用光镊技术与微流道结合分选细胞具有特别的优势。微流道可以构建在单一的芯片上,有利于缩小设备体积。在分选过程中流场缓冲液和样品溶液的进样速度调节精度要求不高,分选更加方便。另外光镊技术利用光-力学效应对微粒进行分选,不需要对样品进行免疫标记,也极大的方便了实验操作。

[0010] 目前已有研究者将光的力学效应(或光镊技术)与微流道相结合的实验,主要应用

于在微流道中对单个生物粒子进行操控或者检测(Probst,Christopher,et al.,Journal of microbiological methods 95.3 2013:470-476.,Burger,Robert,et al.,Lab on a Chip 15.2 2015:378-381.)。2003年Dholakia等采用激光点阵产生的力学效果实现了对微小粒子的分选(MacDonald,M.P.,G.C.Spalding,and Kishan Dholakia.,Nature 426.6965,2003:421.)。另外2011年也有文献提出使用单光镊在微流道中对细胞等微小粒子进行辨别和分选(Wang,Xiaolin,et al.,Lab on a Chip 11.21,2011:3656-3662.)。

[0011] 上述采用光力学效应在微流道中分选细胞的技术均存在一些局限性,因此多年以来没有明显的进展。具体来说,采用激光点阵的方式激光功率被分散在整个点阵上,因此对单个粒子的作用力较小,分选速度因此难以提高。文献中利用这一技术得到的分选速度为每秒分选25个粒子。这对动辄需要处理几百万甚至几十亿个细胞的生物学检测来说是一个不利因素。采用单光镊对微小粒子进行分选同样难以达到很高的分选速度。虽然单光镊将所有激光功率聚焦在一个粒子上,可以获得非常明显的力学效果。但采用这一技术一次只能处理一个生物粒子,同样无法达到很高的分选效率。

发明内容

[0012] 本发明的目的是提供一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法,可以提高微粒的分选效率。

[0013] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0014] 一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法,包括:

[0015] 将激光会聚成尖端为楔形的形状,从而在微流道样品池中形成楔形光镊光场;所述微流道样品池具有至少两个入口;

[0016] 微米尺度的微粒从微流道样品池的各个入口进入微流道样品池后,不同的微粒混合形成稳恒流场,并跟随流场进入楔形光镊光场,不同的微粒由于折射率或形状不同,在不同光学梯度力和流场的共同作用下沿着不同轨迹运动,从而从不同出口流出。

[0017] 由上述本发明提供的技术方案可以看出,通过光学方法在空间构建楔形光学通道,待分选微粒连续通过通道实现分选,可以实现连续、自动分选,分选效率高;同时,利用光的力学效应对微粒进行分选,分选效果取决于微粒的折射率等物理性质,与传统通过荧光强度和微粒外观的分选依据有原理上的不同,因此用传统方法难以区分的微粒,采用本发明方法可以进行有效分选。此外,利用激光在非接触的情况下对目标微粒进行分选,因为没有机械接触,对生物细胞的影响小,有利于保持生物活性;并且,在没有机械接触的情况下实现分选,最大限度的避免了样品微粒与流道之间的相互作用,避免了样品中的微粒相互粘连或堵塞。

附图说明

[0018] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域的普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他附图。

[0019] 图1为本发明实施例提供的一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法的示意图;

[0020] 图2为本发明实施例提供的利用柱面透镜构建楔形光镊光场的光路图；

[0021] 图3为本发明实施例提供的利用空间调制器构建楔形光镊光场的光路图。

具体实施方式

[0022] 下面结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明的保护范围。

[0023] 本发明实施例提供一种利用楔形光镊光场分选微粒的方法,包括:

[0024] 将激光会聚成尖端为楔形的形状,从而在微流道样品池中形成楔形光镊光场;所述微流道样品池具有一个或多个入口;

[0025] 微米尺度的微粒从微流道样品池的入口进入微流道样品池后,不同的微粒混合形成稳恒流场,并跟随流场进入楔形光镊光场,不同的微粒由于折射率或形状不同,在不同光学梯度力和流场的共同作用下沿着不同轨迹运动,从而从不同出口流出。

[0026] 如图1所示为上述方案的示意图,其中图1a为立体图,图1b为俯视图。通过一定的方式将激光会聚成一个尖端楔形或者类似的形状,从而在微流道样品池2中形成楔形光镊光场1。示例性的,可以根据实际需要会聚一个尖端为5-10微米长的楔形或者类似的形状。

[0027] 微流道样品池2具有两个入口,分别为图1中的3与4;具有两个出口,分别为图1中的5与6。实箭头为流场方向;虚箭头为微粒在光场中的流向;深色圆球和浅色圆球分别代表不同性质的微球。

[0028] 含有不同微粒(深色和浅色)的混合液从入口3进入微流道,入口4为不含微粒的溶液。从入口3和4分别注入的流体进入样品室自然混合形成稳恒流场。微粒在流场带动下进入楔形光镊光场1,被汇聚的楔形梯度光场所控制。因为光学与不同微粒的性质产生不同的相互作用原因,使得深色微粒基本不受光场作用,保持原有运动方向径直通过光场从出口5流出,浅色微粒在光场和流场的共同作用下沿虚线箭头方向运动,然后从出口6流出。即能够被稳定捕获的微粒在流体和光学楔形的共同作用下被传送到楔形尾部脱离,不能够被稳定捕获的微粒在进入光学楔形的位置脱离,这样就达到了分选不同性质微粒的目的。

[0029] 本领域技术人员可以理解,图1所示的微流道样品池入口与出口数量仅为举例,用户可以根据实际需要改变入口与出口数量。

[0030] 本发明实施例所述的楔形光镊光场,可以使用柱透镜法或者多光镊模拟法来构建。下面针对这两种构建方式分别进行介绍。

[0031] 1、基于柱透镜法将激光会聚成尖端为楔形的形状。

[0032] 如图2所示,相关结构包括:激光器C1、两个望远镜系统(L1~L2)、物镜P1、柱面透镜(Lc)以及三个反射镜(M1~M3);其中,激光器C1出射的激光依次经过第一望远镜系统L1与第一反射镜M1被反射至第二反射镜M2,再经过第二反射镜M2反射后依次经过柱面透镜Lc、第二望远镜系统L2与第三反射镜M3被反射至物镜P1,从而将激光会聚成尖端为楔形的形状;所述柱面透镜Lc的位置和焦距控制光学楔形长度,柱面透镜Lc的角度决定楔形焦线在微流道样品池中的方向。

[0033] 2、基于多光镊模拟法将激光会聚成尖端为楔形的形状。

[0034] 如图3所示,相关结构包括:激光器C2、四个透镜(L3~L6)、四个反射镜(M4~M7)、物镜P2以及空间光调制器SLM;其中激光器C2出射的激光依次通过第一与第二透镜(L3~L4)将光束扩束以匹配空间光调制器SLM口径,扩束后的光束经过第一反射镜M4反射至空间光调制器SLM,经空间光调制器SLM衍射后依次通过第三透镜L5与第二反射镜M5后被反射至第三反射镜M6,再被第三反射镜M6反射后经第四透镜L6射入第四反射镜M7,最终被第四反射镜M7反射至物镜P2,从而将激光会聚成尖端为楔形的形状。在上述光路中,光束通过SLM衍射后经物镜的会聚在微流道样品池内构成多个激光焦点,将这些焦点按照一定规则紧密排列成楔形的形状,从而在微流道样品池中形成楔形光镊光场。楔形焦线的长度,形状和方向由输入空间光调制器的相位图决定。示例性的,可以将适当的干涉图(相位图)加载到空间光调制器上对激光波前进行调制,最终在微流道样品池内得到任意曲线形状的光学楔形。

[0035] 本发明实施例上述方案,可以通过光学方法在空间构建楔形光学通道,待分选微粒连续通过通道实现分选,可以实现连续、自动分选,分选效率高;同时,利用光的力学效应对微粒进行分选,分选效果取决于微粒的折射率等物理性质,与传统通过荧光强度和微粒外观的分选依据有原理上的不同,因此用传统方法难以区分的微粒,采用本发明方法可以进行有效分选。此外,利用激光在非接触的情况下对目标微粒进行分选,因为没有机械接触,对生物细胞的影响小,有利于保持生物活性;并且,在没有机械接触的情况下实现分选,最大限度的避免了样品微粒与流道之间的相互作用,避免了样品中的微粒相互粘连或堵塞。

[0036] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明披露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应该以权利要求书的保护范围为准。

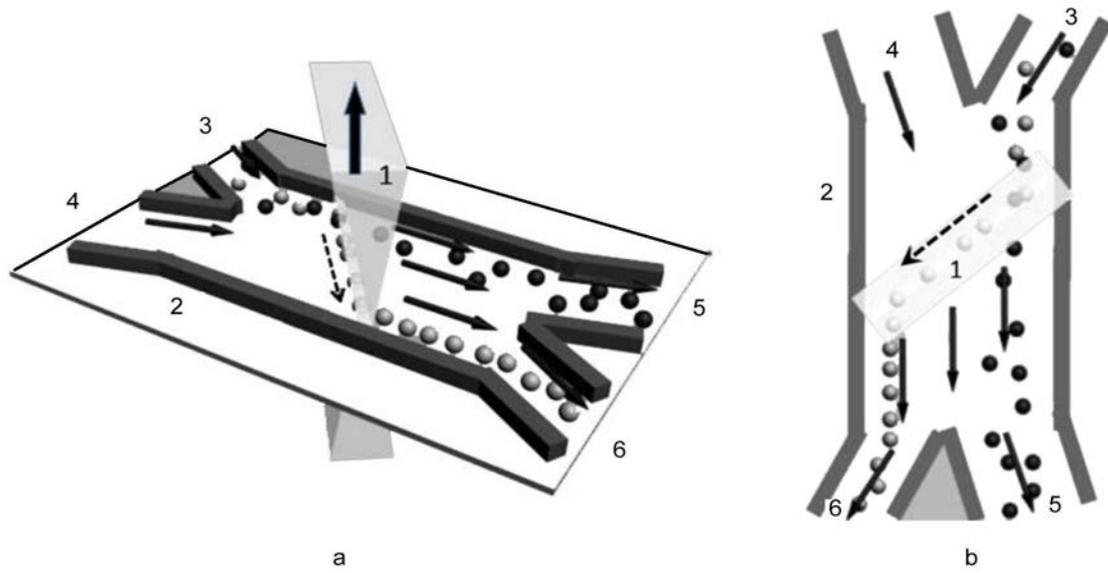


图1

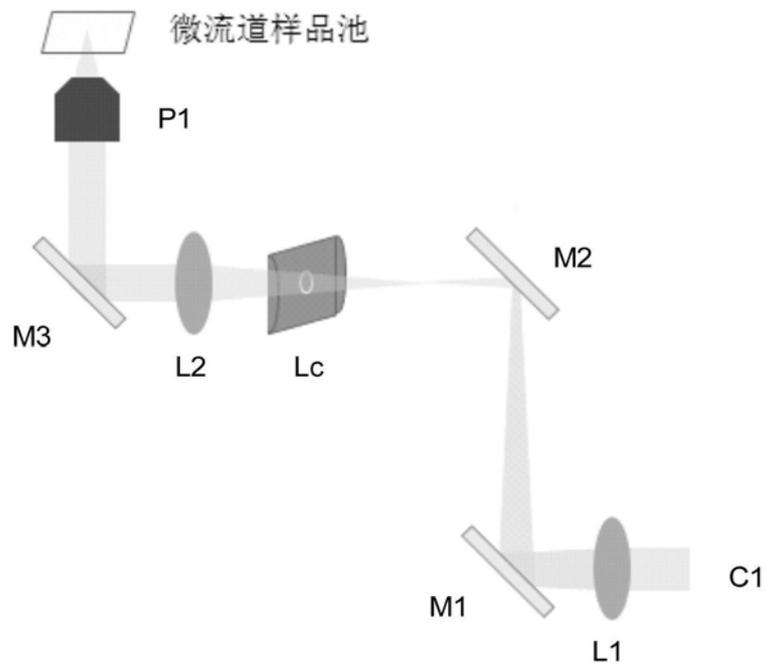


图2

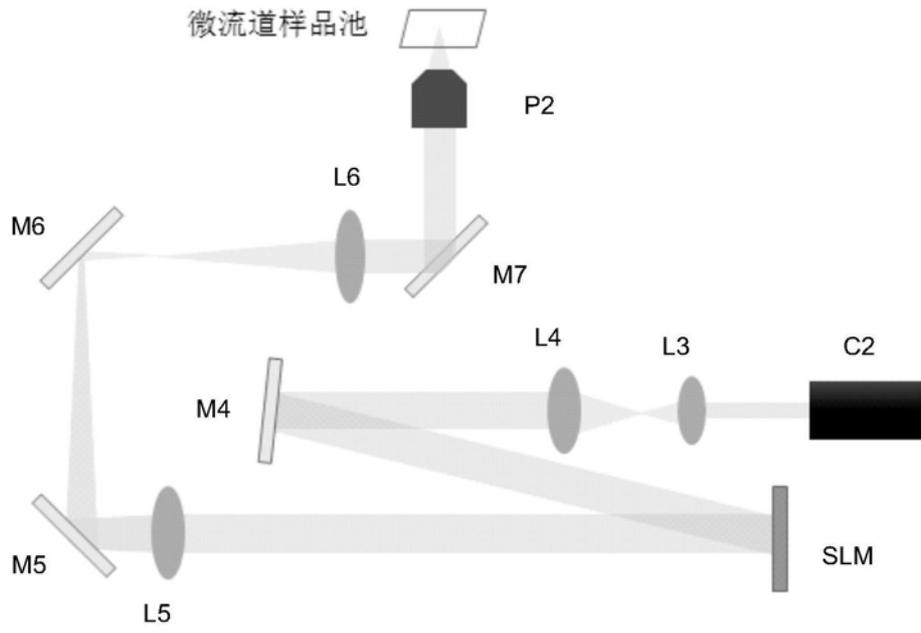


图3