

國立交通大學

光電工程研究所

博士論文

雷射鑷夾單一粒子追蹤系統之設計與分析

Design and Analysis of an Optical-Tweezers-Based
Single Particle Tracking System



研究生：張宜仁

指導教授：祁 甦 教授

徐 琅 教授

中華民國九十五年十月

雷射鑷夾單一粒子追蹤系統之設計與分析
Design and Analysis of an Optical-Tweezers-Based
Single Particle Tracking System

研究生：張宜仁

Student : Yi-Ren Chang

指導教授：祁 姓

Advisor : Sien Chi

徐 琅

Long Hsu

國立交通大學
光電工程研究所
博士論文



Submitted to Institute of Electro-Optical Engineering
College of Electrical Engineering and Computer Science
National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Philosophy

in

Electro-Optical Engineering

October 2006

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十五年十月

雷射鐳夾單一粒子追蹤系統之設計與分析

學生：張宜仁

指導教授：祁 姓
徐 琅

國立交通大學光電工程研究所 博士班

摘 要

自雷射鐳夾與以其為基礎之單一粒子追蹤的觀念被提出以來，業已成為最廣為使用於顯微鏡下對微小粒子進行操控與追蹤的方法，尤以細胞與分子生物的應用最為重要。

雖雷射鐳夾已在生物實驗中有多方應用，但目前仍無適當的雷射鐳夾捕捉理論適用生物系統中。因此，我們提出利用徑向對稱的多層微粒子來模擬類似生物細胞等非均質的微粒子，以之計算其所受雷射鐳夾的捕捉力，並對過去的理论進行修正與擴充。同時，藉由實驗量測雷射鐳夾對肺上皮細胞捕捉力，亦驗證了我們的理論模型。而在對細胞的捕捉力預測上，相較於過去的理论，我們的延伸模型可以減少超過 20% 的誤差。

另外，我們亦設計了一套具有離焦探測雷射光束的單一粒子追蹤系統，並針對在不同尺寸的微粒子下，探測雷射光束的離焦距離與偵測位移訊號之間的關係進行探討。我們不僅經由實驗的方式與散射理論模型，證明利用偵測離焦探測雷射光束之散射光斑，可以減少微粒子在不同方向位移之位移訊號耦合的現象，進而突破可追蹤之微粒子尺寸的限制。同時，我們也推測出最佳化的離焦距離與微粒子尺寸的關係。經由實驗證實，相較於沒有離焦偵測的情況，最佳化的離焦距離在追蹤上，微粒子追蹤之空間解析度、可量測的範圍與正確性，都會有明顯的提升。

Design and Analysis of an Optical-Tweezers-Based
Single Particle Tracking System

Student : Yi-Ren Chang

Advisors : Dr. Sien Chi
Dr. Long Hsu

Institute of Electro-Optical Engineering
National Chiao Tung University

ABSTRACT

Since the combination of optical tweezers with single particle tracking were proposed, it has become the most famous method applied in many research fields to manipulate and track the micro-particles in a microscope, especially in cellular and molecular biology.

Although optical tweezers have been widely applied in the biological researches, there has not been a sophisticated model for their optical force for biological cells and organelles. Therefore, we extended the current model of optical tweezers to predict the optical force upon a non-uniform biological sample which is simulated as a spherically symmetric sphere. According to the comparison between the theoretical predictions of optical force on a lung epithelial cell and the experimental results, a 20% of reduction of prediction error will be obtained by using our extended model.

We also designed a single particle tracking system with an off-focused probe laser beam, and studied the variations of position signals for different sizes of the tracked particles due to the focal offset between the probe laser beam and the trap laser beam. This study shows that the signal coupling between the trapped bead displacements in different axes may be significantly decreased via detecting the scattered pattern of the probe laser beam with a focal offset. Consequently, the limitation of the compatible size of the tracked particle can be improved. In this work, the relationship between the optimized focal offset and the tracked particle size is obtained theoretically and experimentally. It is confirmed that the spatial resolution, the tracking range, and the precision of the tracking can be improved with a probe laser beam at an optimized focal offset.

致 謝

似乎，沒有人會再懷疑改變方向的樵夫，現在是真正的捕魚人了。

這是一條似乎很長、又看不清楚終點的路，而當我們急急忙忙的向前行走，終點就這麼映入眼前。有人用這種方式形容人生，卻也很適合描述攻讀博士學位的過程。所幸，這段路程，並不孤單。

感謝徐琅老師多年來的信任和關心，在研究上，一直願意讓我選擇有興趣的方向，在生活上，也給我許多提點。而從祁姓老師的學者風範，讓我看到從事學術工作的模範。至於團隊裡的張晃猷老師、彭慧玲老師、劉承賢老師、游萃蓉老師、黃光榮老師，在每一次的討論與建議中，總讓我從不同領域的角度去觀察問題，使我有更寬廣的視野。還有實驗是裡的伙伴們，禾千學長、博睿學長、博真、益志、佳翰、勝陽、愛堂、哲良、豐榮，還有已經畢業的東銘、家傑、玉堂、怡君，因為你們的存在，使我在這段期間的生活裡總是充滿樂趣。

最重要的則是一直陪伴著我的家人，爸媽和兩個妹妹。感謝你們總是寬容地承受我的任性，沒有你們的支持與關懷，不會有今天的成果。如果我有任何一點值得自豪的，那便是能夠一直擁有你們在我的身邊。

僅將這篇論文，獻給每一位幫助與鼓勵我的人們。

目 錄

中文摘要	i
英文摘要	ii
致謝	iii
目錄	iv
表目錄	v
圖目錄	vi
一	緒論.....	1
二	雷射鐳夾對徑向對稱微粒子之捕捉力分析.....	3
2-1	雷射鐳夾捕捉力之來源.....	3
2-2	雷射鐳夾對徑向對稱微粒子之幾何光學捕捉力模型.....	4
2-2-1	單一光線之光學力.....	4
2-2-2	微小折射率變化近似.....	8
2-2-3	聚焦光線之光學力.....	9
2-2-4	數值模擬結果與討論.....	10
2-3	雷射鐳夾對徑向對稱微粒子之電場感應捕捉力模型.....	13
2-3-1	均勻電場下微粒子的感應偶極矩.....	14
2-3-2	微小折射率變化近似.....	16
2-3-3	聚焦高斯光場的光學力.....	17
2-3-4	數值模擬結果與討論.....	19
2-4	雷射鐳夾對徑向對稱微粒子之捕捉力量測.....	21
2-4-1	水流黏滯力量測法.....	21
2-4-2	雷射鐳夾系統架設與實驗方法.....	22
2-4-3	雷射鐳夾對肺上皮細胞的捕捉力量測.....	23
三、	探測光束式單一粒子追蹤系統.....	25
3-1	單一粒子追蹤系統之介紹.....	25
3-1-1	單一粒子追蹤系統的基本概念.....	25
3-1-2	單一粒子追蹤系統的應用.....	27
3-2	捕捉光束式單一粒子追蹤系統的限制.....	29
3-2-1	微粒子尺寸與位移訊號量測線性範圍的關係.....	30
3-2-2	位移訊號與不同方向位移的耦合.....	31
3-3	探測光束式單一粒子追蹤系統之架設.....	33
3-4	探測光束離焦距離對追蹤偵測訊號影響之量測.....	36
3-4-1	量測方法.....	36
3-4-2	量測結果.....	38
3-5	聚焦光束之散射理論.....	41
3-5-1	延伸的米氏散射理論與散射光斑.....	41
3-5-2	散射光斑與位移訊號.....	43
3-5-3	球差對入射光場之影響.....	48
3-6	探針雷射光束離焦距離的最佳化與粒子追蹤效能.....	51
3-6-1	探針雷射光束離焦距離的最佳化.....	51
3-6-2	最佳化的探測雷射光束離焦距離與追蹤效能.....	53
四、	結論與展望.....	56

參考文獻	58
附錄一	捕捉雷射光源偏振與幾何光學光線反射率.....	60
附錄二	光場行進方向偏折與對應之偏振函數及座標轉換矩陣.....	62
附錄三	米氏散射理論.....	64
C-1	均質微粒子的散射.....	64
C-2	徑向對稱之多層微粒子的散射.....	66
附錄四	功率頻譜密度分析法與雷射鐳夾之光彈性係數.....	69



表 目 錄

表 2.1	雷射鑷夾對幾何光學範疇肺上皮細胞的光彈性係數模擬.....	13
表 2.2	雷射鑷夾對瑞利範疇類細胞的光彈性係數模擬.....	21



圖 目 錄

圖 2.1	單一光束與幾何光學範疇多層微粒子之入射與散射示意圖.....	5
圖 2.2	任意介面間入射與散射光子通量之示意圖.....	6
圖 2.3	聚焦光束與幾何光學範疇多層微粒子之入射示意圖.....	9
圖 2.4	捕捉力與肺上皮細胞位移模擬場圖.....	11
圖 2.5	捕捉力與肺上皮細胞位移模擬關係圖.....	12
圖 2.6	均勻電場下的瑞利範疇多層球體示意圖.....	14
圖 2.7	聚焦雷射光束下的瑞利範疇多層球體示意圖.....	17
圖 2.8	捕捉力與類細胞位移模擬場圖.....	19
圖 2.9	捕捉力與類細胞位移模擬關係圖.....	20
圖 2.10	雷射鑷夾系統架構圖.....	22
圖 2.11	雷射鑷夾對肺上皮細胞捕捉力與位移關係圖.....	23
圖 3.1	散射光斑偵測單一粒子追蹤概念圖.....	26
圖 3.2	雷射鑷夾捕捉之微粒子布朗運動位移的紀錄圖.....	27
圖 3.3	細菌線毛彈性係數與楊式係數量測概念圖.....	28
圖 3.4	不同尺寸微粒子之前向與後向散射光斑圖.....	30
圖 3.5	散射光斑對位移訊號量測影響示意圖.....	30
圖 3.6	不同尺寸微粒子之位移與位移訊號關係圖.....	32
圖 3.7	探測光束式單一粒子追蹤系統示意圖.....	33
圖 3.8	探測雷射光束光路設計圖.....	34
圖 3.9	探測光束式單一粒子追蹤系統架設圖.....	35
圖 3.10	探測光束離焦距離對追蹤偵測訊號的關係量測之概念圖.....	38
圖 3.11	微粒子位移與前向散射位移訊號關係圖.....	39
圖 3.12	微粒子位移與背向散射位移訊號關係圖.....	40
圖 3.13	延伸的米氏散射理論概念圖.....	41
圖 3.14	探測雷射光束與微粒子位置圖.....	42
圖 3.15	微粒子位移與前向散射位移訊號模擬關係圖.....	44
圖 3.16	微粒子位移與背向散射位移訊號模擬關係圖.....	46
圖 3.17	球差對雷射光束聚焦影響之示意圖.....	48
圖 3.18	入射光球差對微粒子位移與位移訊號之影響.....	50
圖 3.19	微粒子尺寸與最佳探測光束雷射光束離焦距離關係圖.....	52
圖 3.20	最佳化探測雷射光束離焦距離與追蹤效能.....	54
圖 3.21	不同尺寸微粒子之光彈力係數量測.....	54
圖 B.1	透鏡偏折光場之行進與偏振方向示意圖.....	62
圖 C.1	入射光場與散射光場之方向與偏振方向示意圖.....	65
圖 D.1	位移訊號功率頻譜密度分析圖.....	71