

第一章 緒論

自 1986 年 A. Ashikin 等人提出利用單光束聚焦之雷射光可以捕捉微小粒子的觀念^[1]以來，雷射鑷夾 (optical tweezers) 已經成為最廣為使用於顯微鏡下對微小粒子進行操控的方法。其中，利用雷射鑷夾這種技術，其所能操控的微粒子尺寸大約是數十奈米 (nano-meter) 至數十微米 (micro-meter)，而其捕捉力大小則大約在數個至數十個皮牛頓 (pico-Newton)。由於這樣的尺度恰好與細胞生物和分子生物學的尺度接近，雷射鑷夾同時也成為了研究這兩個生物領域的新工具。

目前雷射鑷夾在生物研究的應用中，主要可以分為二類：一類是利用雷射鑷夾的捕捉功能，直接捕捉操控生物細胞或是細胞內的胞器，藉以將之篩選或安置在所指定的位置。^[2-4] 另一類則是利用操控可於表面黏覆細胞或生物分子的玻璃珠、乳膠珠，而得以量測細胞間或是分子間的微小作用力。甚至藉由即時的量測，也可以對細胞與分子間作用的動力學進行觀察。^[5,6] 簡言之，雷射鑷夾對生物研究，確實提供了可以直接量測對許多過去傳統生物研究裡無法量測之現象的能力。然而，由目前的研究成果裡顯示，雷射鑷夾雖然已在這兩類的應用中發揮了前所未有的功能，但仍有一些重要的課題需要解決。

其中，在第一類的應用當中，主要的問題在於雷射鑷夾雷射焦點的產生熱是否會對所捕捉的細胞或分子產生傷害。另外，雷射鑷夾對不同細胞的捕捉力並不相同，亦會造成量測上的困難。關於雷射產生熱與溫度提升，一般來說，可採用樣品較不吸收的波長或是調整雷射功率來避免。同時，也已經有研究表示，經由適當波長的選擇，不僅可以降低熱的產生，對於溫度上升的現象也可以提供精確的描述與校正。^[7,8] 但對於不同細胞捕捉力的描述與預測上，即便目前的已有許多用以描述雷射鑷夾對微小粒子之捕捉力的理論^[9-12]，卻都以均勻介質的微粒子作為捕捉對象進行計算與預測。至於專為細胞等非均勻介質的微粒子的理論，則仍然缺乏。

而在第二類的應用當中，為了對被捕捉的微粒子有較高的空間解析度，也發展出了利用觀察聚焦雷射被捕捉微粒子散射的光斑，以偵測的微粒子追蹤技術。這項單一粒子追蹤 (single particle tracking) 技術的概念，最早則是於 1996 年由 Stezler 等人提出利用捕捉雷射光束被捕捉微粒子產生的散射光與未被散射的光進行干涉，而得到突破繞射極限的空間解析度。同時將他們的設計命名為光子力顯微鏡 (photonic force microscope, PFM)。^[13] 而由於若要從捕捉雷射光束的散射光斑得到精確的微粒子位移，僅適用在當捕捉微粒子尺寸的較波長小許多的情形。為了適應不同尺寸的捕捉微粒子，便有了額外引入另一道離焦探測雷

射光束的設計。^[14] 而如何得到適當的探測雷射光束光路設計與安排，以對於不同大小的微粒子都可以得到精確的空間追蹤解析，則會是目前此一方面應用的重要課題，同時也是現有文獻中比較缺乏的部分。

因此，在本論文中，我們便對雷射鐳夾在前述兩種應用中，重要也欠缺的課題進行研究。其中，我們利用現有、也經常作為瞭解雷射鐳夾捕捉力來源的幾何光學模型與電磁波模型，建立了適合細胞使用的雷射鐳夾捕捉力模型，並且利用實驗驗證延伸模型的正確性。另外，對於離焦探測雷射光束的研究上，我們不僅提出適當的偵測光束光路設計與安排，同時藉由實驗與散射模型的建立，對探測光束如何能提升追蹤微粒子時的空間解析度，與如何得到最佳的操作條件進行討論。同時，希望藉由本論文，除了可以為利用雷射鐳夾進行生物研究的讀者，不論是在捕捉與操縱細胞或其他生物樣品時，或是以雷射鐳夾為基礎，架設單一粒子追蹤系統進行分子間動力學研究時，提供一些參考與依據。也可以對雷射鐳夾在生物上的應用有興趣的讀者，達到拋磚引玉之效。

在本論文的第二章中，我們將主要討論目前雷射鐳夾的捕捉力模型，與如何藉由多層的微粒子與引入微小折射率改變條件，以模擬一個生物細胞。同時，在此模擬之下，計算出被雷射鐳夾捕捉的生物細胞所受到的捕捉力。並且藉由實驗量測肺上皮細胞受雷射鐳夾捕捉力的情形，與模型的預測進行比較。在第三章中，我們則針對以雷射鐳夾為基礎的單一粒子追蹤系統進行討論。其中，我們不僅對追蹤的原理與目前的應用有所介紹，並對具備離焦探測雷射光束的單一粒子追蹤系統，其系統光路設計進行說明。另外，也經由實驗與理論模型方式的討論，對於離焦距離與微粒子位移偵測的關係，提供最佳化的依據。而且，由實驗證明，最佳化離焦距離下的效能與正確性的確實有明顯的提升。最後，則以本篇論文中所完成的工作與未來可預期的研究目標做為本文的總結。