



OPTICAL TWEEZERS

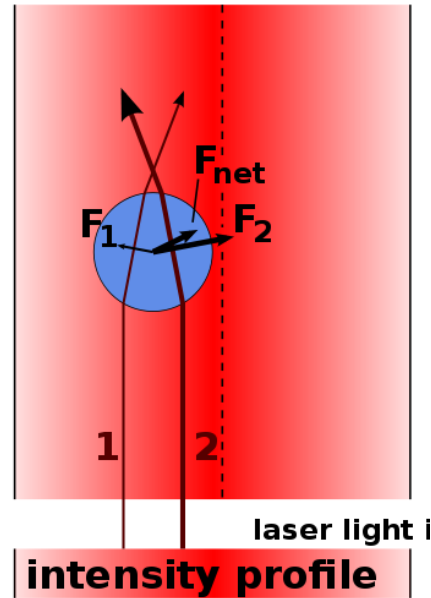
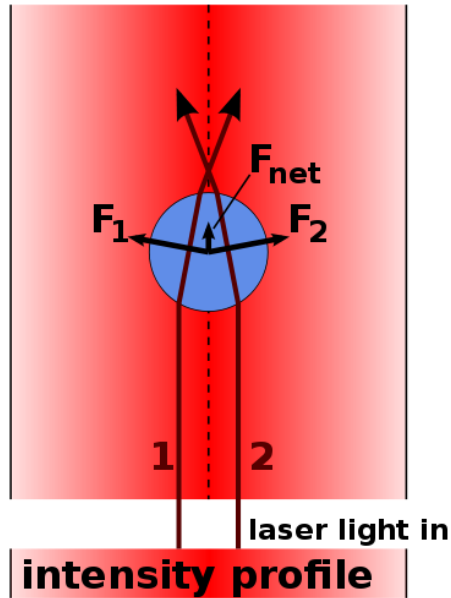
Christof Beer
10.06.2013

Gliederung

1. Funktionsweise der optischen Falle
2. Experimenteller Aufbau
3. Anwendungen
4. Overstretching B-DNA (Smith, Cui, Bustamante)
5. Zusammenfassung/Vergleich mit anderen Techniken

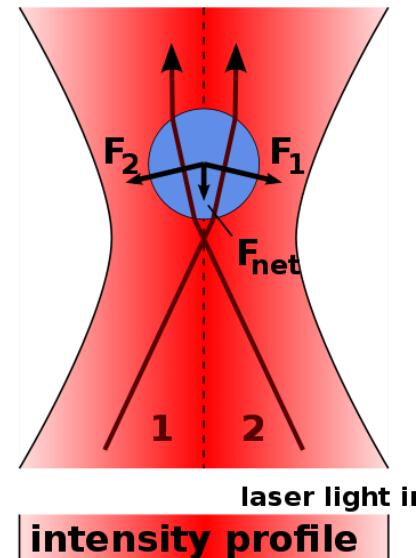
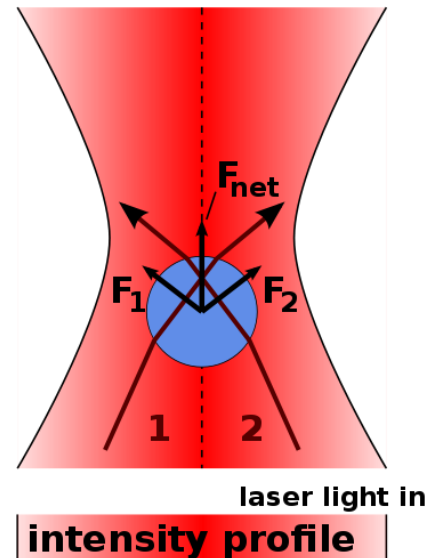
Funktionsweise der optischen Falle (geometrische Optik)

1. Radius des gefangenen Kügelchens (R) \gg Wellenlänge des Lasers (λ)



Nicht fokussierter Laser mit gaußförmigem Strahlprofil

Fokussierter Laser



Funktionsweise der optischen Falle (Dipolnäherung)

2. $R \ll \lambda \Rightarrow$ Kügelchen als punktförmiger Dipol

$$F_{scatt} = \frac{I_0 n \sigma}{c}$$

$$F_{grad} = \frac{2\pi\alpha}{cn^2} \nabla I_0$$

I_0 : Intensität des einfallenden Lichts

α : Polarisierbarkeit der Kugel

n : Brechungsindex des Mediums

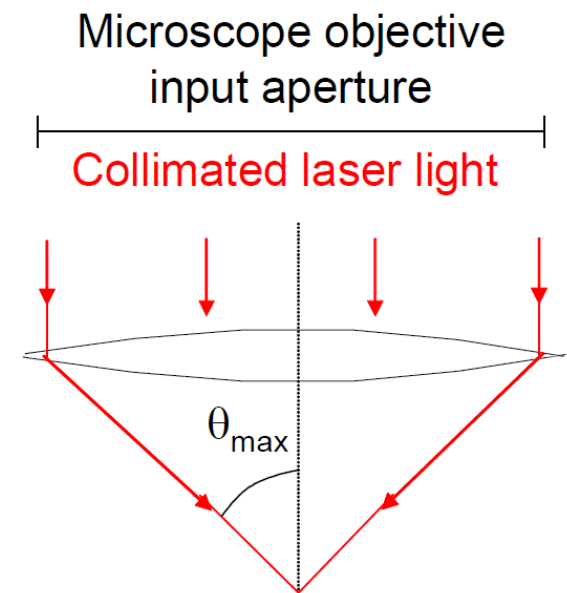
σ : Streuquerschnitt der Kugel

Für eine stabile optische Falle muss gelten:

$$F_{grad} > F_{scatt}$$

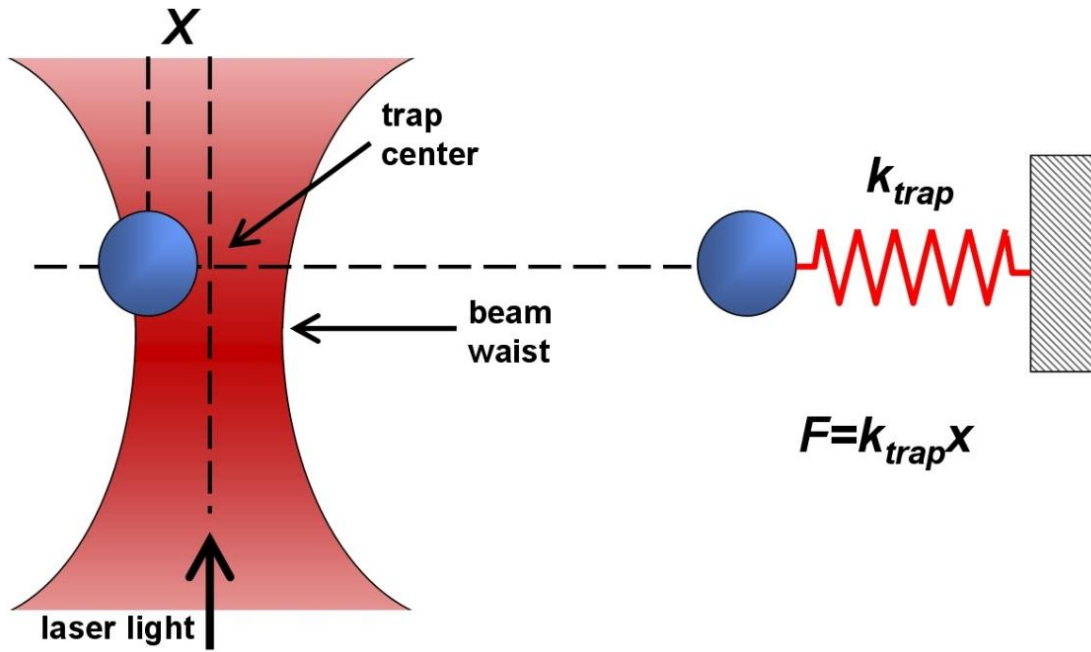
\Rightarrow Objektiv mit hoher Numerischer Apertur

$$NA = n \sin \theta_{max}$$



3. $R \sim \lambda$: komplexe elektromagnetische Theorie

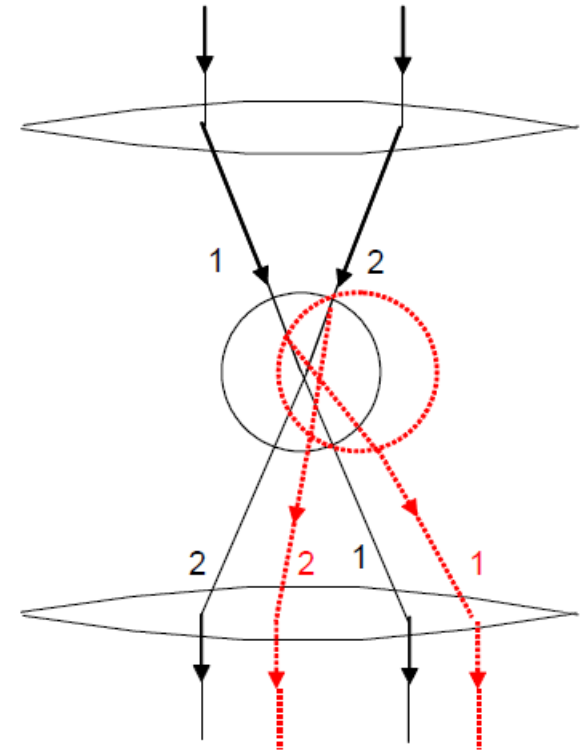
Kraftmessung



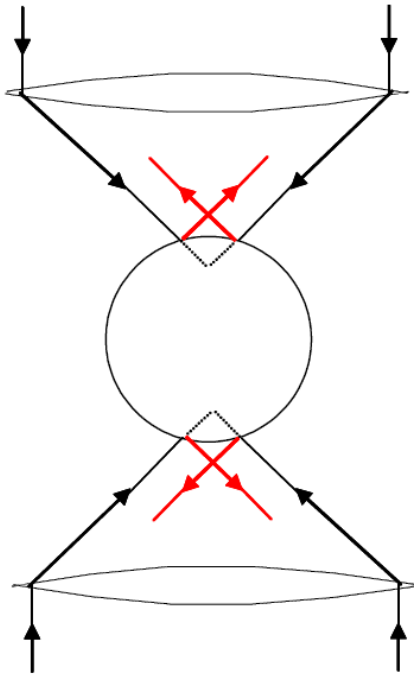
Optische Falle als Feder
(Hookesches Gesetz)

Kraftmessung durch Positionsmessung:

- Videokamera
- Quadrantenfotodiode
- Laser



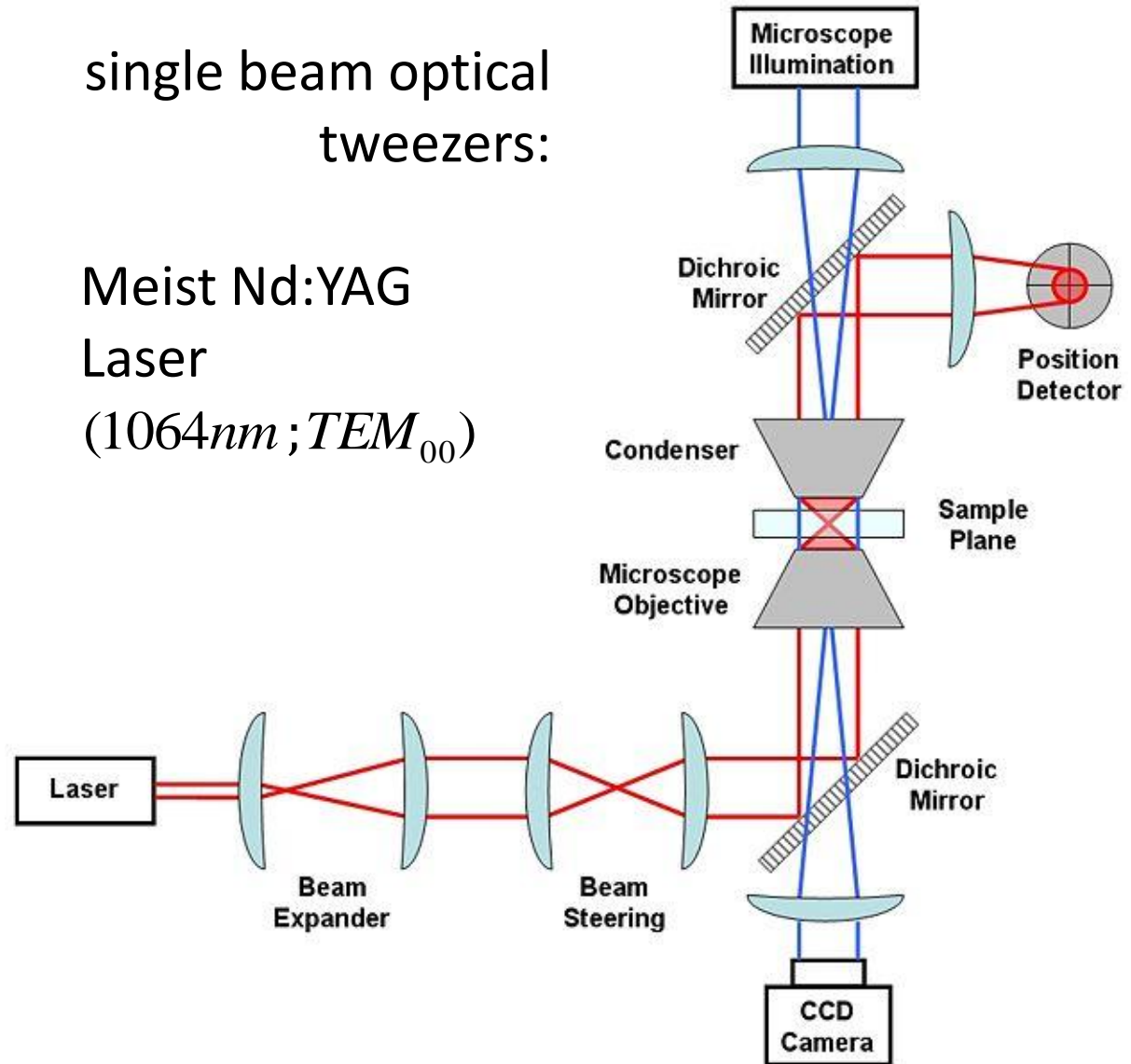
Experimenteller Aufbau



Prinzip: dual beam optical tweezers

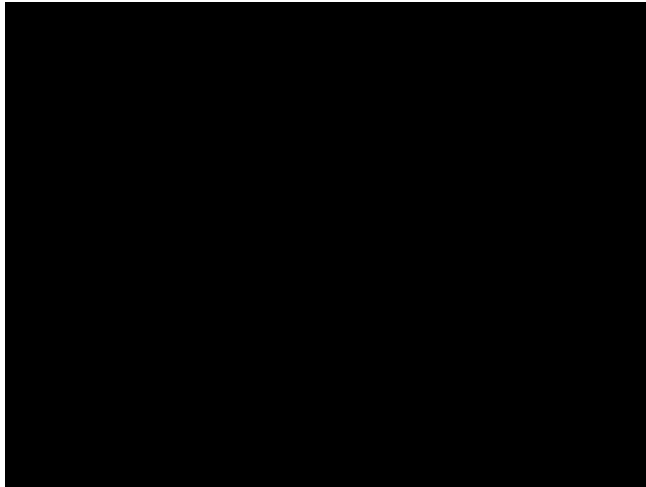
single beam optical tweezers:

Meist Nd:YAG Laser
(1064nm ; TEM_{00})

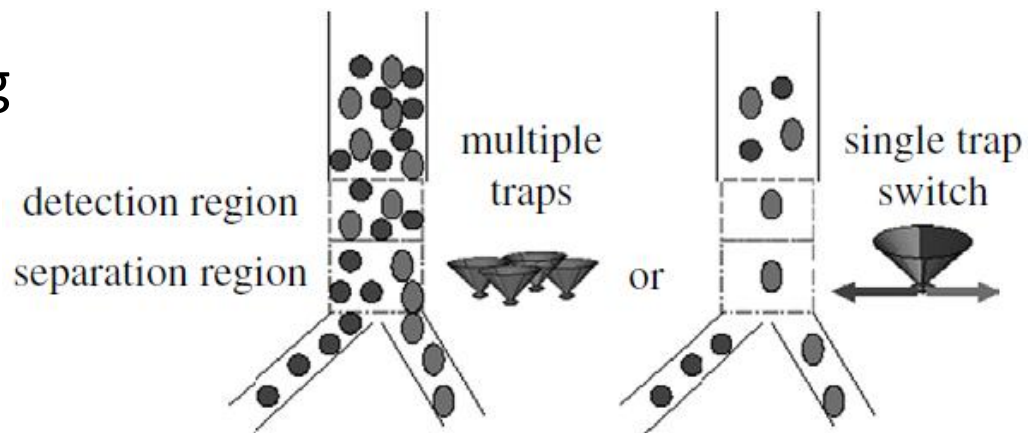


Anwendungen (aktive Zellmanipulation)

1. Positionierung/Transport von Zellen

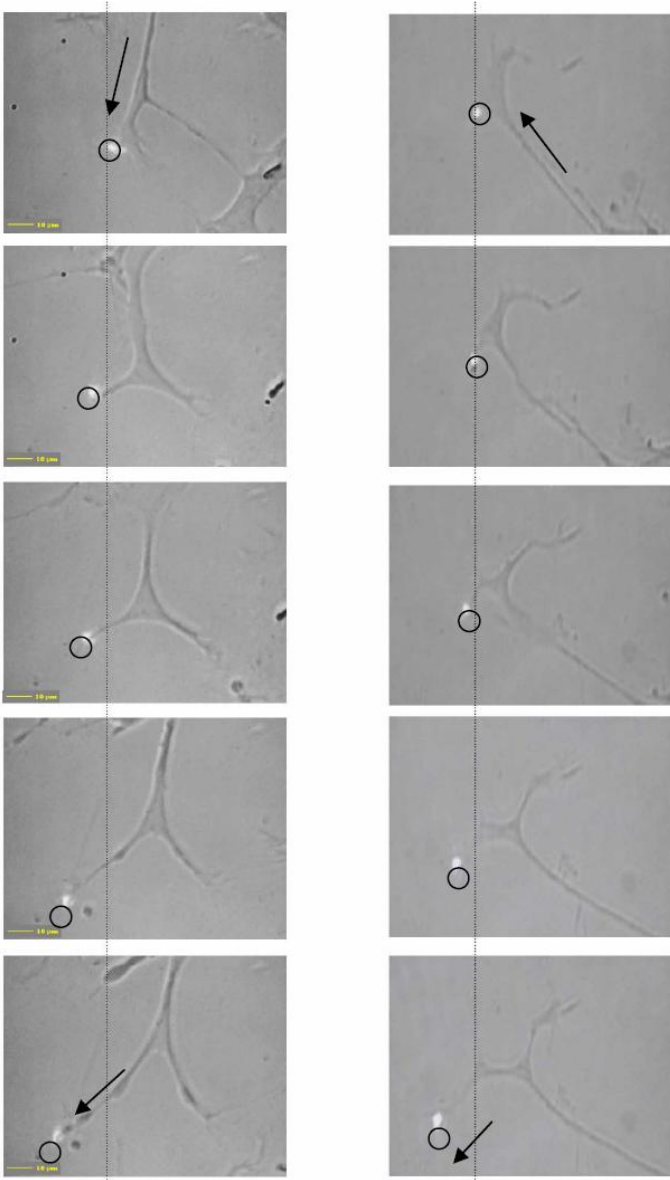


2. Cell sorting

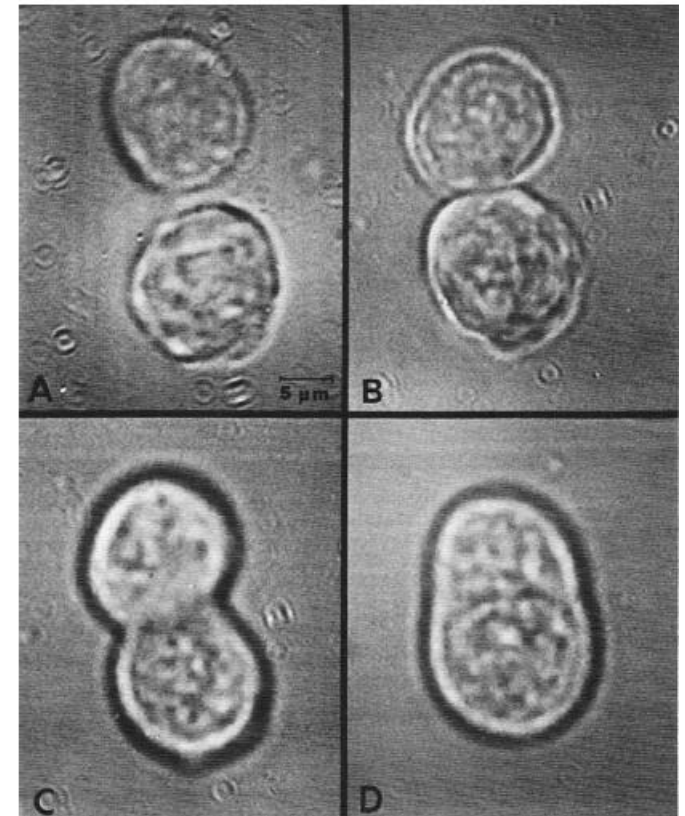


Anwendungen (aktive Zellmanipulation)

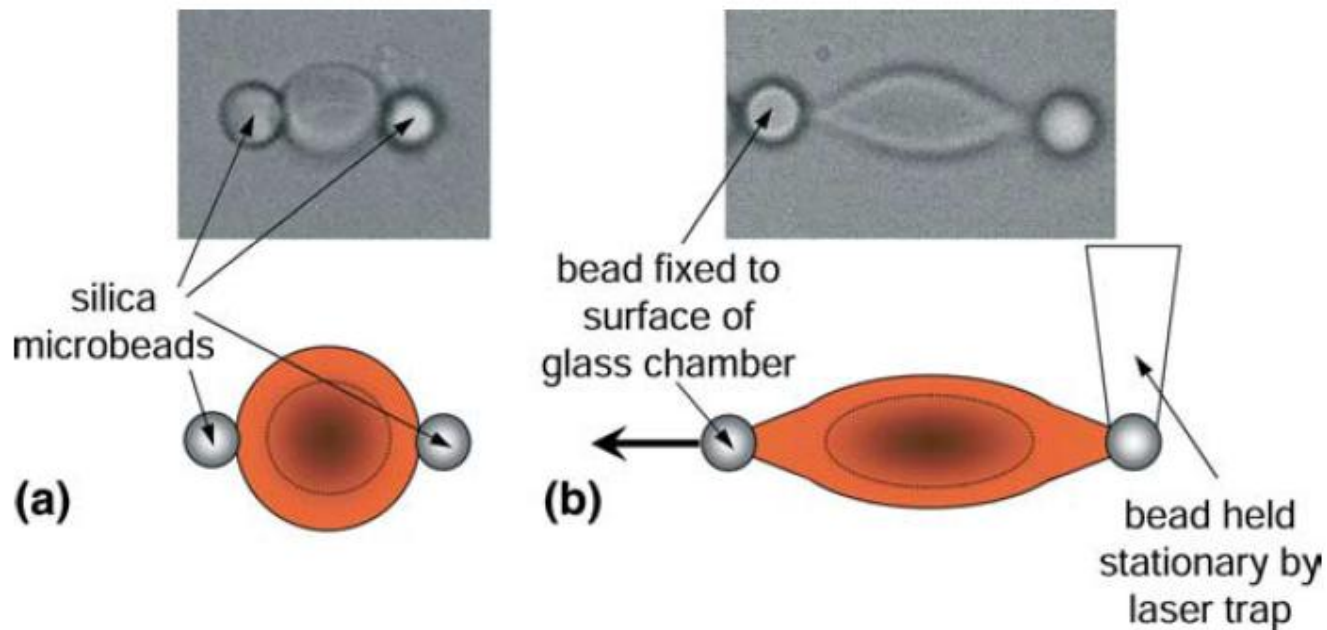
3. Optical guiding



4. Laserskalpel

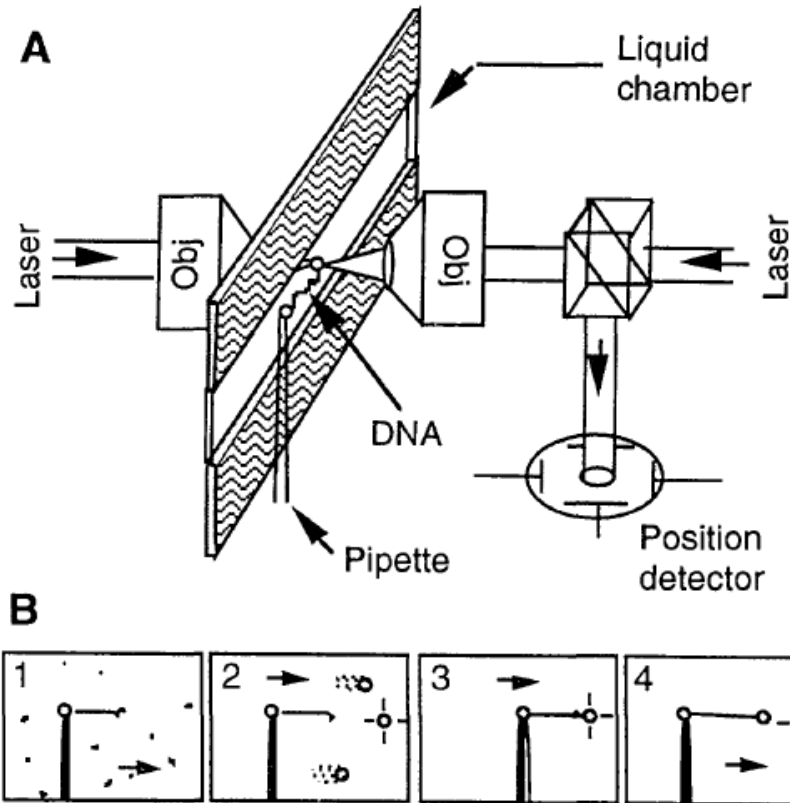


5. Messung der Deformierbarkeit/Elastizität von roten Blutzellen, unilamellaren Vesikeln, DNA, ...



Overstretching B-DNA: The Elastic Response of Individual Double-Stranded and Single-Stranded DNA Molecules

Smith, Cui, Bustamante



Versuchsaufbau:

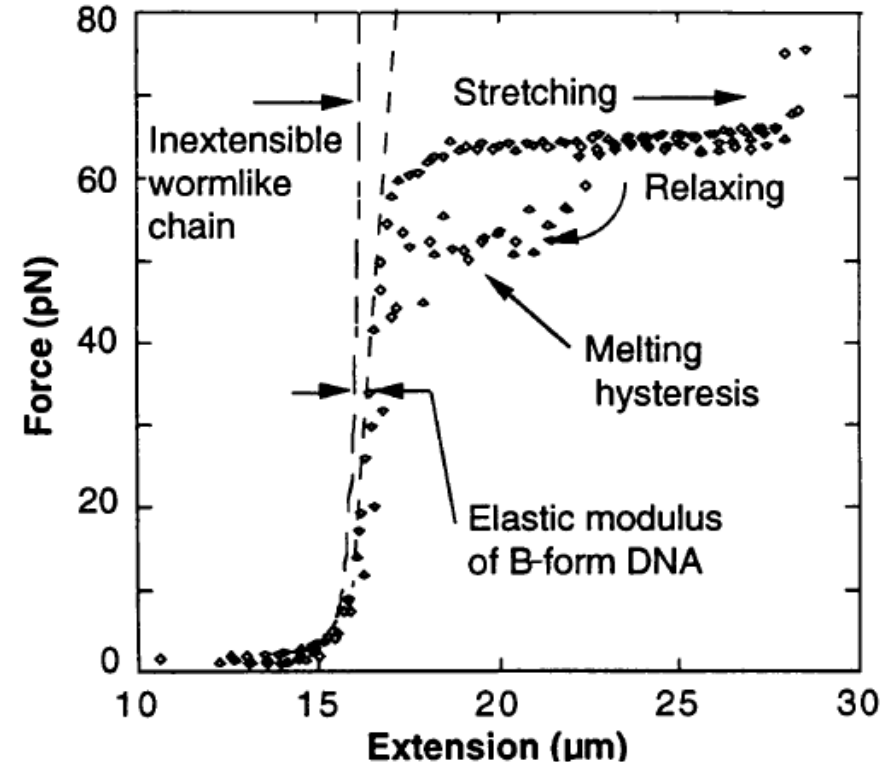
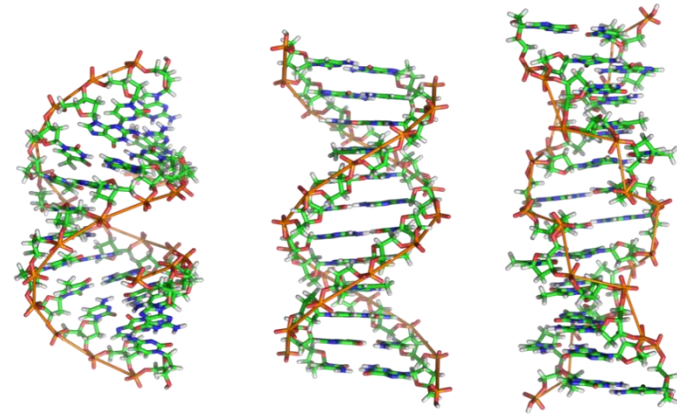
- (A) 2-Strahl optische Falle
- (B) Verknüpfen von Bead und DNA (Biotin-Streptavidin)

Messung von:

- Beadabstand
→ DNA-Ausdehnung
- Verschiebung Laserstrahl
→ Kraft auf Bead/DNA
⇒ F-Ex Kurve

Overstretching B-DNA

A-, B- und Z-DNA-Struktur:

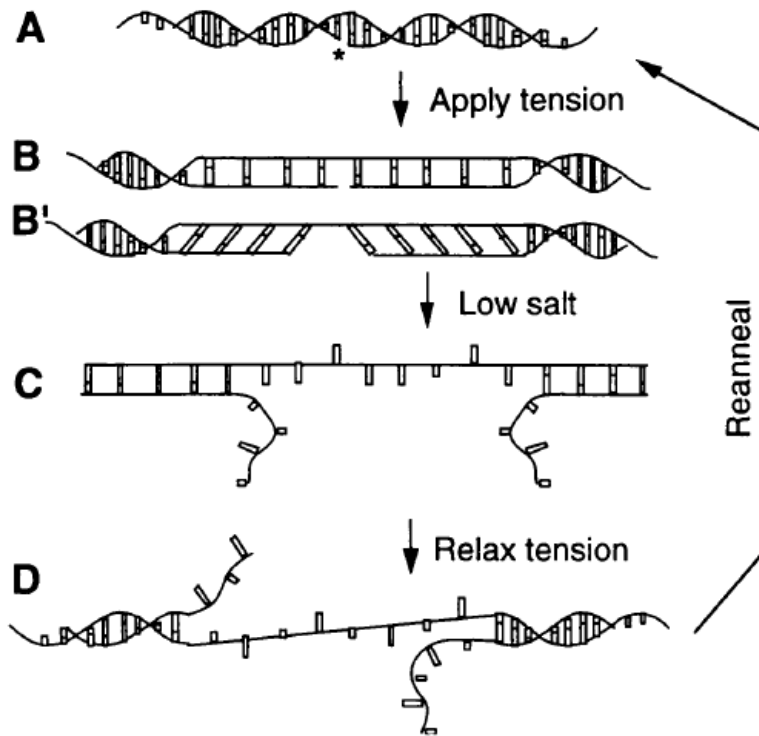


F-Ex Diagramm von λ -Phage ds-DNA in 150mM NaCl Pufferlösung

- Übergang bei hohen Dehnungskräften (ca. 65 pN)
- Schmäler Kraftbereich des Übergangs (ca. 2 pN)
- Hysterese während Entspannung

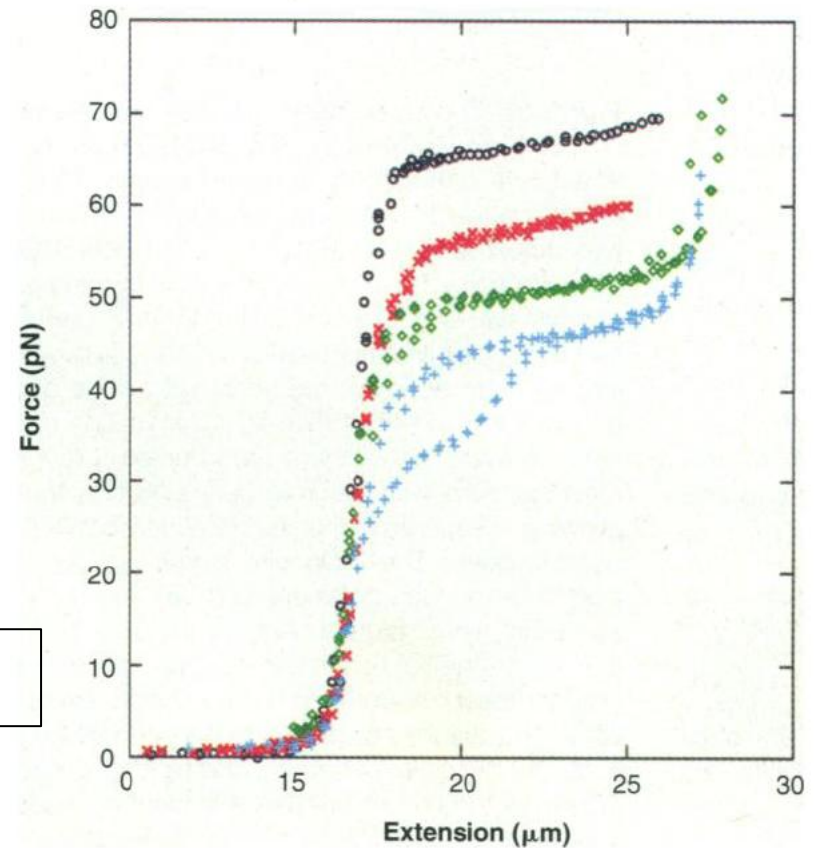
Overstretching B-DNA

Modell des Dehnung-Entspannungszyklus:



Existenz von ss-Regionen \Rightarrow Hysterese

Dehnung von querverknüpfter ds-DNA (mit Psoralen) in Puffer verschiedener Na^+ Konzentrationen

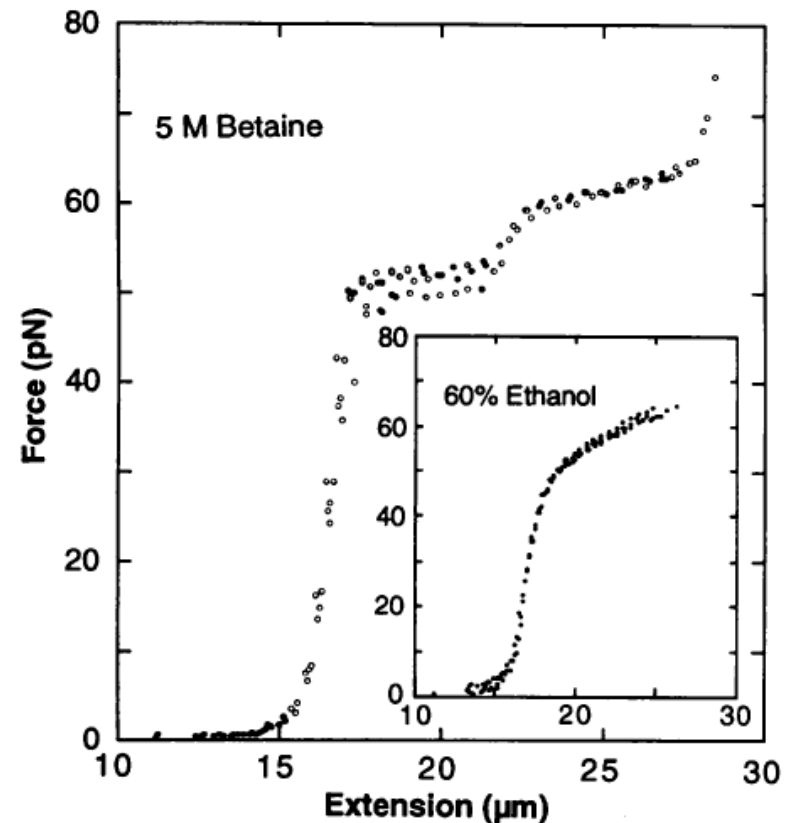


Overstretching B-DNA

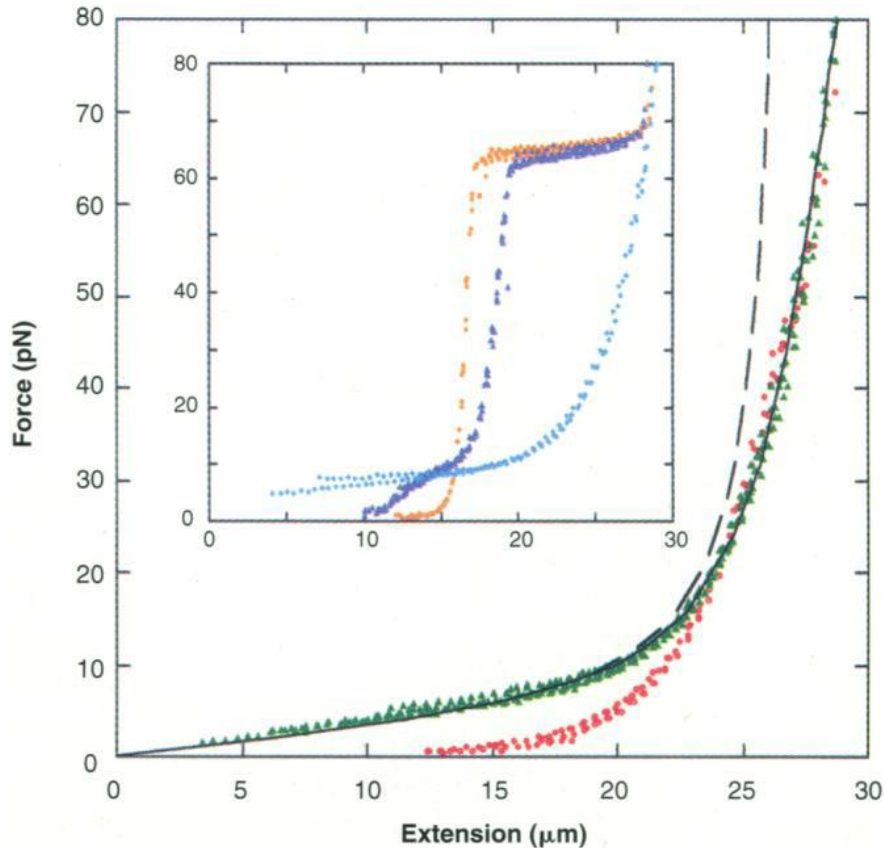
Gründe für hohe Kooperativität des Übergangs (schmalere Kraftbereich):

- Änderung des Hydrationszustands
- Änderung der ionischen Umgebung

F-Ex Kurven von λ -Phage ds-DNA in Puffer mit 5 M Betaine bzw. 60% Ethanol



Overstretching B-DNA



F-Ex Kurven von
 λ -Phage ss-DNA (rot, grün)

Einsatz:

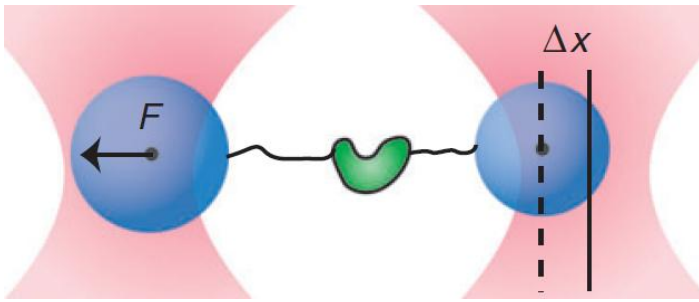
(orange) ds-DNA

(violett) ds/ss-DNA

(blau) ss-DNA

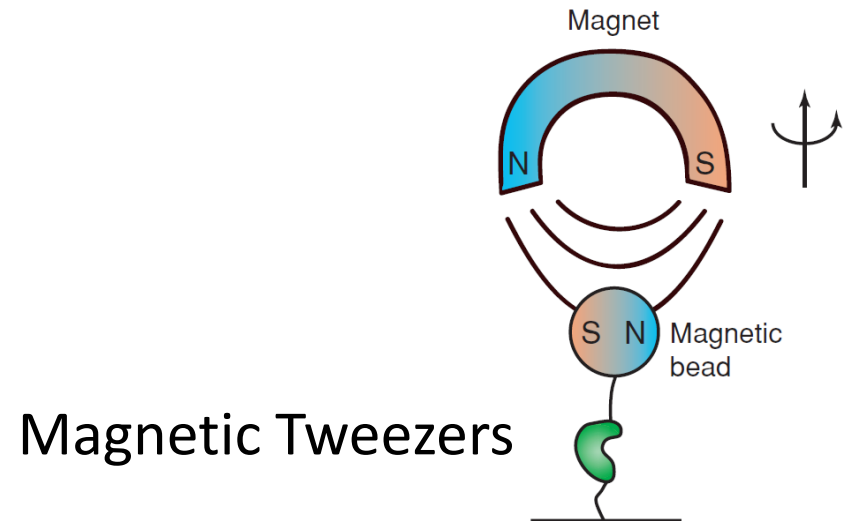
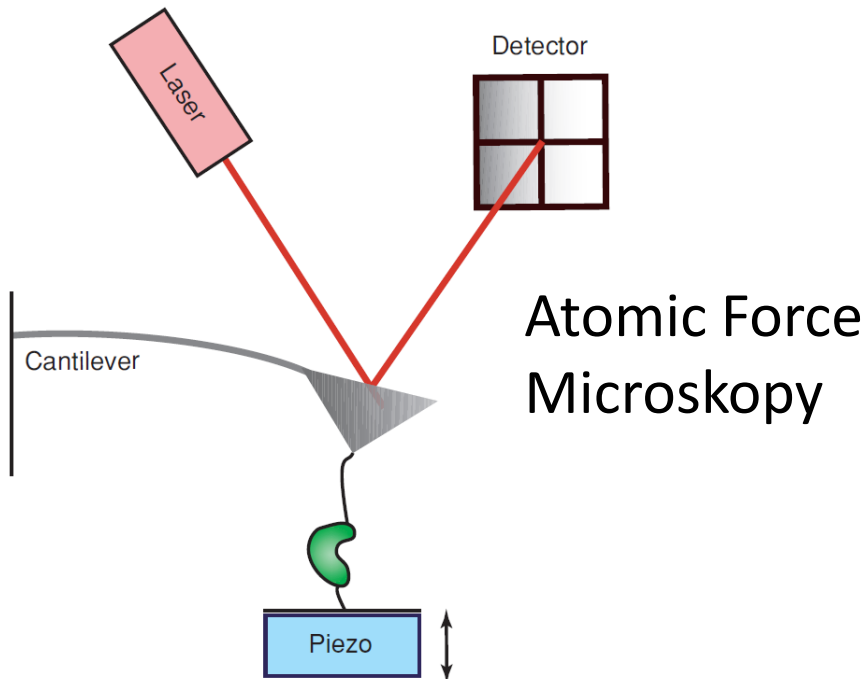
- ss-DNA zieht sich für geringe Ausdehnungen stärker zusammen als ds-DNA
- Selbes asymptotisches Verhalten bei hohen Kräften

Zusammenfassung/Vergleich mit anderen Techniken



Optical Tweezers:

- stark fokussierter Laser hält Bead im Fokus
- kontaktfreie Kraftmessung (0.1-100 pN)
- Auflösung Positionsmessung: ca. 1 Å



Magnetic Tweezers

Quellen

- Steven B. Smith, Yujia Cui and Carlos Bustamante; 1994
Overstretching B-DNA: The Elastic Response of Individual Double-Stranded and Single-Stranded DNA Molecules; *Science*
- A. Ashkin; 1970
Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure; *Phys. Rev. Lett.*
- Hu Zhang, Kuo-Kang Liu; 2008
Optical tweezers for single cells; *J. R. Soc. Interface*
- Keir C. Neuman, Steven M. Block; 2004
Optical trapping; *Rev. Sci. Instrum.*
- C.T. Lim et al. 2004
Large deformation of living cells using laser traps; *Acta Materialia*
- D. J. Stevenson et al. 2006
Optically guided neuronal growth at near infrared wavelengths; *OPTICS EXPRESS*