

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΟΠΤΙΚΗΣ & ΟΠΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιολογικές εφαρμογές στην Οπτική Παγίδευση

Μαρίνη Χριστίνα

Μπούρα Ελένη

Επιβλέπων καθηγητής: κ. Θανόπουλος Ιωάννης

Αίγιο, Οκτώβριος 2015

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία, εκπονήθηκε και ολοκληρώθηκε για το τμήμα της Οπτικής και Οπτομετρίας και το Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Ελλάδος. Μετά το δύσκολο αυτό έργο, νιώθουμε την ανάγκη να ευχαριστήσουμε όσους συνέβαλλαν σε αυτή τη προσπάθεια.

Αρχικά, ευχαριστούμε το Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Ελλάδος και συγκεκριμένα το τμήμα Οπτικής και Οπτομετρίας για όλες τις γνώσεις, θεωρητικές και πρακτικές, που μας παρείχαν στη τετραετή φοίτηση μας. Ακόμη, ευχαριστούμε τόσο τους καθηγητές όσο και το διοικητικό προσωπικό γενικότερα για τη στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Η πτυχιακή αυτή εργασία, έχει ιδιαίτερη σημασία για εμάς καθώς μας πρόσφερε νέες εμπειρίες και γνώσεις πάνω στο αντικείμενο που αγαπήσαμε. Πιστεύουμε ότι η συγκεκριμένη εργασία θα φανεί πολύ χρήσιμη στη κοινωνία και το επιστημονικό περιβάλλον, διότι συγκεντρώνει τις σημαντικότερες πληροφορίες πάνω στην οπτική παγίδευση.

Γενικά η εργασία αυτή, αναφέρεται στα Lasers και πώς αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως οπτικές παγίδες στο χώρο της βιολογίας. Αναφέρεται, η ιστορική εξέλιξη της οπτικής παγίδευσης αλλά και η κυριότερες βιολογικές-ιατρικές εφαρμογές της. Στόχος μας είναι με αυτή την εργασία, να δώσουμε μια πιο ολοκληρωμένη και συγκεντρωτική άποψη του θέματος. Έτσι, ελπίζουμε η εργασία αυτή να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο για όσους θέλουν να ασχοληθούν με το συγκεκριμένο θέμα και να αντλήσουν όσο το δυνατόν περισσότερες γνώσεις.

Επιπλέον, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε πάρα πολύ τον επιβλέποντα καθηγητή της πτυχιακής εργασίας μας, κ. Ιωάννη Θανόπουλο, έναν εξάίρετο καθηγητή και άνθρωπο. Τον ευχαριστούμε που μας έδωσε την δυνατότητα να συνεργαστούμε μαζί του σε αυτή τη πτυχιακή εργασία, έχοντας την διαρκή βοήθεια και καθοδήγηση του. Τον ευχαριστούμε ακόμη για τις γνώσεις και συμβουλές που μας έχει προσφέρει μέσα από τα μαθήματα και τις διδασκαλίες του τα προηγούμενα εξάμηνα έως και μέχρι την ολοκλήρωση της πτυχιακής εργασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο στις οικογένειες μας που μας έδωσαν τη δυνατότητα να σπουδάσουμε το αντικείμενο που επιλέξαμε και για τη συνεχή στήριξή τους σε κάθε μας βήμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, περιγράφεται η τεχνική της οπτικής παγίδευσης. Για την ακρίβεια, αναφέρεται το πώς ξεκίνησαν τα πρώτα Lasers και πώς αυτά εξελίχθηκαν έως ότου φτάσουν στην μορφή των οπτικών λαβίδων, την οποία και θα μελετήσουμε.

Αρχικά, στο πρώτο κεφάλαιο της εργασίας, αναφέρονται τα πρώτα Lasers που ανακαλύφθηκαν καθώς και η ιστορική τους εξέλιξη. Ακόμη, δίνονται πολλές πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο λειτουργίας τους και αναφέρονται διάφοροι τομείς όπου μπορούν να χρησιμοποιηθούν γενικά.

Στο ακόλουθο κεφάλαιο, γίνεται η εισαγωγή στο κυρίως θέμα της εργασίας. Σε πρώτο στάδιο, περιγράφονται αναλυτικά οι πρώτες εκείνες προσπάθειες που έγιναν για την παγίδευση ουδέτερων σωματιδίων. Εν συνεχεία, αναφέρονται οι σύγχρονες και μελέτες που έγιναν πάνω σε αυτήν την τεχνική. Έπειτα, ακολουθεί η θεωρητική ανάλυση της τεχνικής αυτής και επεξήγηση του τρόπου λειτουργίας της.

Τα χαρακτηριστικά που διαθέτει μια οπτική παγίδα, αναλύονται στο τρίτο κεφάλαιο. Η οπτική παγίδα, έχει τη δυνατότητα να συνδυαστεί και με μικροδέσμη Laser. Μετά την περιγραφή αυτού του συστήματος, ακολουθεί η ανάλυση της περιγραφής των πολλαπλών οπτικών παγίδων, η λειτουργία αλλά και η σημασία τους. Ακόμη, παρουσιάζεται μία ακόμη πολύ ενδιαφέρουσα μορφή της οπτικής παγίδας, γνωστή με την ονομασία <<οπτική παγίδα ίνας>>. Στο κείμενο, περιγράφεται η μορφή και η λειτουργία αυτής, καθώς επίσης και ο συνδυασμός της με μικροδέσμη Laser.

Στο τελικό και κύριο κεφάλαιο της εργασίας, γίνεται αναλυτική περιγραφή των κύριων εφαρμογών της οπτικής παγίδευσης. Αναφέρονται, όλες οι πρώτες χρήσεις της οπτικής παγίδας στο χώρο της βιολογίας και της ιατρικής και ιδέες που έχουν δοθεί από τα αποτελέσματα αυτών για επόμενες εφαρμογές και για την επίλυση διάφορων προβλημάτων.

Εν κατακλείδι, παρατίθενται τα κύρια συμπεράσματα που προκύπτουν από την όλη έρευνα και επόμενοι στόχοι των ερευνητών για τις οπτικές παγίδες και πώς μπορούν να τις εκμεταλλευτούν ακόμη περισσότερο ως τεχνική, για τη μελέτη των βιολογικών υλικών και την εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων.

ABSTRACT

This thesis, describes the technique of optical trapping. In fact, it refers to how start the first Lasers and how they evolved until reaching the form of optical tweezers, which is the subject we will study.

Initially, in the first chapter, reported the first Lasers that discovered and their historical development. Furthermore, given lots of information about how they work and mentioned several areas where they can be used generally.

The following chapter is the introduction to the main subject of the work. Firstly, described in detail those first efforts are made to capture neutral particles. Subsequently, indicating the latest studies made on this technique. Then, follows the theoretical analysis of this technique and explanation of its operation.

The characteristics that have an optical trap are analyzed in the third chapter. The optical trap has the ability to be combined with microarray Laser. After describing this system, followed by analysis of the description of multiple optical traps, the operation and their importance. Moreover, shown another very interesting form optical trap known as << fiber optical trap >>. The text describes the format and the operation thereof, as well as its combination with microarray Laser.

In the final and main part of the thesis, there is a detailed description of the main applications of optical trapping. Indicated, all starting uses of optical trap in the field of biology and medicine and ideas that have been given by their results for subsequent applications and to solve various problems.

In conclusion, they set out the main conclusions drawn from the whole research and next targets of the researchers for optical traps and how they can further exploit them as a technique for the study of biological materials and useful conclusions.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Τα Lasers γενικά

1.1: Ιστορική εξέλιξη των Lasers.....	10
1.2: Αρχές λειτουργίας των Lasers.....	11
1.3 Κατηγορίες Laser.....	12
1.4 Ασφάλεια συστημάτων Laser.....	15
1.5 Εφαρμογές Laser.....	17

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : Η Οπτική Παγίδευση

2.1: Οι πρώτες προσπάθειες για παγίδευση και ακινητοποίηση ουδέτερων σωματιδίων.....	24
2.2: Οι σύγχρονες εξελίξεις στη παγίδευση ατόμων.....	29
2.3: Τα πρώτα συστήματα πολλαπλών οπτικών παγίδων.....	32
2.4: Θεωρητική ανάλυση της οπτικής παγίδευσης σωματιδίων- Οπτικές δυνάμεις.....	33
2.5: Οι οπτικές παγίδες γενικά.....	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : Δυνατότητες συνδυασμού της οπτικής λαβίδας με άλλες τεχνικές

3.1: Γενικά χαρακτηριστικά μίας οπτικής παγίδας.....	38
3.2: Οπτική παγίδευση και μικροδέσμη Laser.....	40

3.3: Δράση της μικροδέσμης Laser σε μύκητες και φύκια.....	42
3.4: Πολλαπλές οπτικές λαβίδες.....	43
3.5: Ανάπτυξη οπτικής παγίδας ίνας.....	44
3.6: Παρατήρηση οπτικής παγίδας ίνας και μικροδέσμης Laser.....	45
3.7: Εξέταση οπτικής παγίδας ινών.....	46
3.8: Καλυπτρίδες χαλαζία.....	48
3.9: Οπτική παγίδα ινών Laser He-Ne και μικροδέσμη Er: YAG Laser- Ο συνδυασμός τους.....	49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : Η οπτική παγίδευση στο χώρο της βιολογίας και της ιατρικής

4.1: Οι πρώτες χρήσεις των Lasers στη Βιολογία και την Ιατρική.....	51
4.2: Ο συνδυασμός της οπτικής παγίδευσης με μικροδέσμη Laser και δυνατότητες.....	52
4.3: Εφαρμογές της μικροδέσμης Laser και της οπτικής παγίδευσης....	54
4.4: Εφαρμογή του συστήματος οπτικής παγίδας και μικροδέσμης Laser σε πολυμερικά μικροσωματίδια.....	58
4.5: Εφαρμογές σε μύκητες.....	61
4.6: Εφαρμογές οπτικής παγίδας ινών.....	64
4.7: Οπτική παγίδα ινών Laser He-Ne και μικροδέσμη Er: YAG Laser.....	67

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	74
--------------------------	-----------

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	76
--------------------------	-----------

Εισαγωγή

Το 1960 ανακαλύφθηκε το πρώτο Laser από τον Maiman, γνωστό ως Ruby Laser. Η χρήση των Lasers επεκτάθηκε σε διάφορους τομείς, όπως είναι οι φυσικές επιστήμες και η ιατρική (Lasik Laser κ.ά.). Αργότερα και συγκεκριμένα πριν από 30 περίπου χρόνια, ο Arthur Ashkin και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν ένα πείραμα. Από τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα Lasers μπορούν να χρησιμεύσουν και σε βιολογικές εφαρμογές. Για την διεξαγωγή του πειράματος αυτού, το οποίο έλαβε χώρα στα AT & T Bell Laboratories, χρησιμοποίησαν μια αυστηρά εστιασμένη δέσμη Laser μονοχρωματικού φωτός με στόχο να ‘παγιδεύσουν’ σε τρεις διαστάσεις μια διηλεκτρική σφαίρα που αιωρούνταν μέσα σε κάποιο υγρό. Η τεχνική αυτή λοιπόν, έγινε γνωστή ως <<οπτική παγίδευση>>.

Αναλυτικότερα, η οπτική παγίδα ή αλλιώς οπτική λαβίδα, είναι ουσιαστικά ένα μη επεμβατικό εργαλείο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιεί μία ή και περισσότερες δέσμες Laser. Έτσι, δημιουργούνται δυνάμεις της τάξεως των μερικών pN. Οι δυνάμεις αυτές μπορούν να κατευθύνουν ή/και να ακινητοποιήσουν μικροσκοπικά αντικείμενα, τόσο μικρά όσο ένα άτομο. Αυτές οι δυνάμεις πίεσης ακτινοβολίας, προέρχονται από μεταβολή της ορμής των φωτονίων. Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η πλήρης ονομασία της τεχνικής αυτής είναι ‘οπτική παγίδα δύναμης βαθμίδας μονής δέσμης’. Βέβαια, υπάρχει δυνατότητα να παραχθούν και διπλές οπτικές λαβίδες με απλή διαίρεση του Laser σε δύο επιμέρους δέσμες. Όμως, για να συμβεί αυτό βασική προϋπόθεση είναι τα δύο μονοπάτια φωτός να έχουν ξεχωριστούς x-y άξονες. Οι πολλαπλές οπτικές λαβίδες χρησιμεύουν πιο πολύ στις βιοϊατρικές μετρήσεις στους κβαντικούς υπολογισμούς καθώς και στις μη γραμμικές οπτικές μετρήσεις. Είναι πολύ καλύτερες από τη μονή δέσμη Laser λόγω ότι η μονή δέσμη Laser έχει το μειονέκτημα σε κάποιες εφαρμογές της βιολογίας και της ηλεκτρονικής. Θα αναφερθούμε σε παραδείγματα που έγιναν με πολλαπλές οπτικές λαβίδες σε κύτταρα μυοσίνης με νηματοειδή μορφή, θα μελετήσουμε τη σύσπαση μυών και την επιμήκυνση του μορίου του DNA. Επιπλέον, μια πολύ καλή και πρόσφατη εφαρμογή είναι η οπτική ολογραφία με το συνδυασμό της με τη φασματοσκοπία Raman. Επίσης θα αναφέρουμε ότι η οπτική παγίδα είναι πολύ καλή μέθοδος για τη μέτρηση των μηχανικών ιδιοτήτων της κυτταρικής μεμβράνης.

Θα μελετηθούν οι οπτικές παγίδες ινών και τη παρατήρηση τους με μικροδέσμη Laser και ότι χρησιμοποιήθηκαν σε κύτταρα μαγιάς. Επιπλέον θα εξεταστούν οι οπτικές παγίδες ίνες χρησιμοποιώντας ένα Laser He-Ne και χρησιμοποιήθηκαν στα κύτταρα μαγιάς, διότι αυτά δεν απορροφούν στο μήκος

κύματος. Για να παρατηρηθεί αυτό το φαινόμενο θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί κάποιος αντικειμενικός φακός. Θα αναφερθούμε στις καλυπτρίδες χαλαζία οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση της παγίδας όπου τοποθετείται στην έξοδο της ίνας, ωστόσο η καλυπτρίδα δεν είναι και τόσο σημαντική αλλά δημιουργεί ισχυρή συνιστώσα. Επιπροσθέτως η οπτική παγίδα ίνας με Laser He-Ne και με μικροδέσμη Laser Er:YAG θα παρατηρηθεί ο συνδυασμός τους μέσα από κάποια πειράματα που πραγματοποιήθηκαν.

Στην εργασία αυτή, θα αναφερθούμε εκτενέστερα στην οπτική παγίδευση, τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες αυτής καθώς επίσης και στις εφαρμογές της πάνω στη σύγχρονη βιολογία. Στην πραγματικότητα, η λειτουργία των οπτικών λαβίδων βασίζεται στο γεγονός ότι στο μέσον της καλά επικεντρωμένης δέσμης Laser παρατηρείται μία εξαιρετικά υψηλή διαβάθμιση του ηλεκτρικού πεδίου που παράγεται στο σημείο αυτό.

Η χρησιμότητα της έγκειται στη μέτρηση των δυνάμεων που ασκούνται στα παγιδευμένα σωματίδια αλλά και στη παγίδευση κυττάρων, βακτηρίων και ιών. Ακόμη η οπτική παγίδευση βρίσκει εφαρμογές στον διαχωρισμό και στη σύνταξη κυττάρων αλλά και στην ενδοκυτταρική χειρουργική. Είναι δυνατός επίσης ο συνδυασμός των οπτικών λαβίδων με άλλα εργαλεία Laser, όπως είναι το νυστέρι Laser. Με αυτό τον τρόπο δίνονται ακόμη περισσότερες δυνατότητες για τη χρήση της τεχνικής αυτής. Επιπλέον, σημαντική είναι η βοήθεια των οπτικών λαβίδων σε διάφορες ιατρικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί τα τελευταία χρόνια σχετικά με το DNA, τα ερυθροκύτταρα και την ανάπτυξη νευρικού συστήματος καθώς επίσης και για τα καρκινικά κύτταρα. Μέσα από την ομάδα του Ehrlicher θα δείξουμε για την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος στο ανθρώπινο σώμα. Επίσης η ίδια ομάδα αργότερα χρησιμοποιώντας οπτικές ίνες για να παγιδεύσουν σωματίδια ή ερυθροκύτταρα. Σε επόμενο στάδιο γίνεται επισήμανση ανάμεσα σε δύο οπτικές ίνες που παγίδευσαν ερυθροκύτταρα με σκοπό να δειχτεί η επιμήκυνση τους.

Μια άλλη εφαρμογή που θα αναφερθεί σε αυτή την εργασία, είναι ο συνδυασμός της οπτικής παγίδας με μικροδέσμη Laser σε πολυμερικά μικροσωματίδια. Θα χρησιμοποιηθεί ένα σύστημα αποτελούμενο από μικροδέσμη Laser Na και μια οπτική παγίδα ίνα He-Ne. Τα πολυμερικά μικροσωματίδια είναι πολύ χρήσιμα για την βιολογία και την ιατρική και επίσης η επεξεργασία τους και ο χειρισμός τους είναι πολύ εύκολος και πολύ οικονομικός.

Το επαναστατικό φαινόμενο της οπτικής παγίδευσης είναι το ότι μπορεί να επέμβει στα νανοσωματίδια και να ελέγξει την κινητικότητα τους, χωρίς όμως να προκαλείται η οποιαδήποτε βλάβη. Αυτό συμβαίνει, διότι υπάρχει δυνατότητα υψηλής εστίασης στο εσωτερικό του κυττάρου καθώς η ένταση

παίρνει μέγιστη τιμή εντός του κυττάρου και σχεδόν μηδενική στην κυτταρική μεμβράνη.

Οπότε, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η καλύτερη μελέτη των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων γύρω από νανοσωματίδια και τις δυνάμεις που ασκούνται λόγω αυτών των πεδίων στα παγιδευμένα σωματίδια. Φυσικά, θα δοθεί έμφαση μόνο σε εφαρμογές της σύγχρονης βιολογίας όπου χρησιμοποιούνται οι οπτικές λαβίδες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Τα Lasers γενικά.

1.1 Ιστορική εξέλιξη των Lasers.

Η λέξη LASER προέρχεται από τα αρχικά των λέξεων Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation που σημαίνει <<ενίσχυση φωτός με εξαναγκασμένη εκπομπή ακτινοβολίας>> δηλαδή έχουμε να κάνουμε με ένα ενισχυτή φωτός.

Το 1917 ο Einstein έδωσε την έννοια της εξαναγκασμένης εκπομπής. Ουσιαστικά, πρόκειται για μια δέσμη φωτός που εξαναγκάζει άτομα για να δώσουν εκπομπή φωτός το οποίο θα παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με το αρχικό φώς. Περίπου 43 χρόνια μετά, γύρω στο 1960 η έννοια αυτή οδήγησε στη δημιουργία μιας συσκευής ενίσχυσης του φωτός δηλαδή το LASER. Αργότερα το 1920-1950 οι επιστήμονες ήταν απασχολημένοι με τις νέες ανακαλύψεις της κβαντομηχανικής, της φυσικής των σωματιδίων και της πυρηνικής φυσικής με αποτέλεσμα η ιδέα της κατασκευής ενός LASER να έμενε παραμελημένη παρόλο που όχι μόνο η αρχή λειτουργίας ήταν γνωστή αλλά και η τεχνολογία της κατασκευής τους ήταν πολύ εύκολη.

Παλαιότερα κάποιοι κάνανε πειράματα με σωλήνες αίγλης έτσι ώστε να δημιουργήσει συνθήκες ενίσχυσης φωτός. Δεν παρατήρησε όμως, ότι η ακτινοβολία LASER είτε από έλλειψη οπτικού αντηχείου θα μετέτρεπε τον ενισχυτή φωτός, σε ταλαντωτή- πηγή φωτός και αυτό θα γινόταν είτε επειδή τα πειράματα έγιναν σε γυάλινους σωλήνες που είναι σκοτεινοί στο υπέρυθρο όπου είναι η περιοχή που συναντάμε τα πιο ισχυρά LASER αερίων.

Το 1960 πραγματοποιήθηκε ένα πολύ ισχυρό πείραμα στα εργαστήρια Hughes Aircraft στη Καλιφόρνια που κατέληξε στη κατασκευή του πρώτου LASER. Το πείραμα αυτό πολύ εύκολο, αποτελούνταν από ένα συνθετικό κρύσταλλο Ruby μήκους 2cm και διαμέτρου 9mm με γυαλισμένες οπτικά τις δύο έδρες του και επιστρωμένες με άργυρο, όπου τοποθετήθηκε μέσα σε ένα ελικοειδή σωλήνα φλας. Όταν το φλάς τέθηκε σε λειτουργία λούζοντας το κρύσταλλο με πολυχρωματικό φως βγήκε μια πολύ λεπτή ακτίνα από κόκκινο μονοχρωματικό φως βγήκε από το ένα άκρο του κρυστάλλου. Αυτή ήταν η πρώτη επιτυχία του πρώτου LASER από μια σειρά εντυπωσιακών συσκευών με μοναδικές ιδιότητες που δημιούργησαν ολόκληρες περιοχές έρευνας και τεχνολογίας.

Αυτή η δημιουργία του Ruby LASER από το T.H. Maiman ήταν πολύ χρήσιμη και αυτό αποδεικνύεται ότι μέσα στα επόμενα 10 χρόνια

εμφανίσθηκαν πάνω από 5.000 δημοσιεύσεις σε θέματα που αφορούσαν την ανάπτυξη των LASER στον διεθνή επιστημονικό τομέα [1].

1.2 Αρχές λειτουργίας των Lasers.

Τα LASER εκμεταλλεύονται τα άτομα για να αποθηκεύσουν και να εκπέμψουν το φως. Τα ηλεκτρόνια στα άτομα ενός μέσου LASER αντλούνται αρχικά από μια πηγή ενέργειας. Έπειτα παρακινούνται κρυφά από τα εξωτερικά φωτόνια για να εκπέμψουν την αποθηκευμένη ενέργεια υπό τη μορφή φωτονίων, οπού ήταν γνωστή ως υποκινημένη εκπομπή. Τα εκπεμπόμενα φωτόνια έχουν μια ιδιαίτερη συχνότητα των ατόμων σε συμφωνία με τα παρακινητικά φωτόνια. Τα συγκεκριμένα φωτόνια χτυπάνε στη συνέχεια με άλλα κινούμενα άτομα με σκοπό να απελευθερώσουν πιο πολλά φωτόνια. Επιπλέον, η ελαφριά ενίσχυση κατορθώνεται με τη κίνηση των φωτονίων που πηγαίνουν από εδώ και από εκεί μεταξύ δύο παράλληλων καθρεφτών που συμβάλλουν στις περαιτέρω υποκινημένες εκπομπές. Τέλος, το έντονο κατευθυντικό και μονοχρωματικό LASER φεύγει τελικά μέσω ενός από τους καθρέφτες ο οποίος ασημώνεται μερικώς.

Το LASER αποτελείται βασικά από μία κοιλότητα κυλινδρικής μορφής που είναι γνωστό ως σωλήνα LASER ουσία με τη μορφή στερεάς, υγρής ή αέρια, το υλικό του LASER και κλειδώνεται στα άκρα από δύο παράλληλα κάτοπτρα, οπού το ένα είναι ολικής (100%) και το άλλο μερικής (90%-98%) ανάκλασης.

Μέσα στο σωλήνα LASER βρίσκεται μια ουσία που αποτελείται από ενεργό υλικό δηλαδή αυτό που παίζει ρόλο στις διαδικασίες εκπομπής και από αδρανές υλικό που χρησιμοποιείται κυρίως για να συγκρατεί το ενεργό υλικό. Επιπλέον, στο εξωτερικό τμήμα του σωλήνα εγκαθίσταται μια διάταξη άντλησης του ενεργού υλικού, η οποία λειτουργεί ανάλογα με το τύπο του LASER, από κάποια χημική αντίδραση, από την οπτική άντληση του LASER ή από ηλεκτρική εκκένωση [1]

1.3 Κατηγορίες Lasers.

Αφού ανακαλύφθηκε το Ruby Laser από τον Maiman ο Javan και κάποιοι συνεργάτες του είχαν μεγάλη επιτυχία στην παραγωγή ακτινοβολίας LASER που ήταν από μείγμα αερίων He-Ne αυτό έγινε προς τέλος του 1962. Επίσης οι τρεις ανεξάρτητες ομάδες των M.I Matham, R.N Hall και T.N Quist επέτυχαν εκπομπή ακτινοβολίας LASER από ημιαγωγό. Αργότερα η έρευνα προχώρησε και πάρα πολλά άλλα υλικά δοκιμάστηκαν και καθιερώθηκαν σαν ενεργά μέσα συστημάτων LASER. Σαν ενεργά υλικά χρησιμοποιούνται σήμερα μοριακά ή ιονισμένα αέρια, ημιαγωγοί, διαλύματα χρωστικών κ.α.

Επίσης το μέγεθος και η μορφή των LASER ποικίλει δηλαδή μπορεί να είναι μικρά σαν τις πειραματικές μινιατούρες των LASER που έχουν στόχο να αποτελέσουν την καρδιά των οπτικών ολοκληρωμένων κυκλωμάτων τους μελλοντικούς δηλαδή συντρόφους των ηλεκτρονικών ολοκληρωμένων κυκλωμάτων. Υπάρχει περίπτωση, να είναι μέτριου μεγέθους με μήκος οπτικού αντηχείου περίπου 30cm, μπορεί όμως και να φθάσουν και σε μεγάλες διαστάσεις της τάξης των 10m μήκους.

Θα μπορούσαμε τώρα να κατατάξουμε τα LASER σε κάποιες κατηγορίες. Οι κατηγορίες αυτές είναι: στερεάς κατάστασης, αερίων, ημιαγωγών και υγρών.

1. LASER ΣΤΕΡΕΑΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Τα πιο κοινά LASER αποτελούνται από κρυστάλλους ή από γυαλί εντός των οποίων υπάρχουν μείγματα ιόντων μετάλλων τα οποία παίζουν το ρόλο του ενεργού υλικού [2].

Τα LASER στερεάς κατάστασης προσφέρουν την παραγωγή υψηλότερης δύναμης. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος που χρησιμοποιούνται είναι παλλόμενος έτσι ώστε να παραχθεί μια έκρηξη φωτός με πολύ σύντομη χρονική διάρκεια. Αυτές οι εκρήξεις που είναι τόσο σύντομες όπως 10-15 second που έχουν επιτευχθεί, είναι χρήσιμες στο να μελετηθούν φυσικά φαινόμενα πολύ συνοπτικής διάρκειας [1].

Η οπτική άντληση θα πραγματοποιηθεί από κάποιο άλλο LASER συνεχούς λειτουργίας [2].

Τα LASER στερεών κατατάσσονται στην κατηγορία μεταβλητής συχνότητας (δηλ. σάρωση μεγάλου φασματικού εύρους) και έχουν ως χαρακτηριστικό εκπρόσωπο το Ti:Sapphire LASER καθώς και τα LASER χρωματικών κέντρων [2].

2. LASER ΑΕΡΙΟΥ

Τα LASER αργού έχουν την ικανότητα να παράγουν μια σειρά γαλαζοπράσινων μηκών κύματος φωτός [1].

Χρησιμοποιούνται στη ψυχαγωγία (με LASER) και στην ιατρική, όπως στη χειρουργική επέμβαση ματιών. Το μέσο LASER ενός LASER αερίου υπάρχει περίπτωση να είναι καθαρό αέριο, ένα μίγμα αερίων ή ακόμα και ατμός μετάλλων και περιλαμβάνεται συνήθως σε ένα κυλινδρικό σωλήνα γυαλιού ή χαλαζία [1].

Συνήθως υπάρχουν δύο καθρέπτες που βρίσκονται έξω από τις άκρες του σωλήνα έτσι ώστε να διαμορφώσουν την κοιλότητα του LASER. Τα LASER αερίου αντλούνται από το υπεριώδες φως, τις δέσμες ηλεκτρονίων, το ηλεκτρικό ρεύμα.

Τα LASER ηλίου-νέου είναι πιο διαδεδομένα για τη σταθερότητα υψηλής συχνότητας, την αγνότητα χρώματος και την ελάχιστη ακτίνα που διαδίδεται, ενώ τα LASER διοξειδίου του άνθρακα είναι αποδοτικά και τα πιο ισχυρά LASER συνεχών κυμάτων (CW) [1].

3. LASER ΗΜΙΑΓΩΓΩΝ

Τα LASER ημιαγωγών αποτελούνται συνήθως από μια σύνδεση μεταξύ των στρωμάτων των ημιαγωγών με τις διαφορετικές ηλεκτρικές ιδιότητες τους [1].

Το αρσενίδιο του γαλλίου είναι ο πιο κοινός ημιαγωγός χρησιμοποιούμενος για αυτά. Τα LASER ημιαγωγών αντλούνται από την άμεση εφαρμογή του ηλεκτρικού ρεύματος πέρα από τη σύνδεση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν LASER συνεχών κυμάτων με άριστη αποδοτικότητα.

Τα LASER ημιαγωγών χρησιμοποιούνται κυρίως σε CD-PLAYER καθώς και σε εκτυπωτές LASER. Στη δεκαετία του 90' οι επιστήμονες ανέπτυξαν το μπλε και το ιώδη LASER. Επίσης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να κάνουν τον οικιακό φωτισμό 'να εξοικονομεί' ενέργεια.

4. ΥΓΡΑ LASER

Σε αυτή τη κατηγορία παίζουν σημαντικό ρόλο τα LASER χρωστικών ουσιών που βρίσκονται σε μορφή παλμικής και συνεχούς λειτουργίας.

Βρίσκονται, στη κατηγορία των LASER μεταβλητού μήκους κύματος και για αυτό χρησιμοποιούνται σε πολλά πεδία εφαρμογών π.χ. στη φασματοσκοπία.

Το ενεργό μέσο απαρτίζεται από κάποια μακρομόρια τα οποία διαλύονται μέσα σε υδατικά διαλύματα οπώς για παράδειγμα η μεθανόλη. Ως συστήματα μεγάλων και πολύπλοκων μορίων φανερώνουν ισχυρές ζώνες απορρόφησης τόσο στην υπεριώδη όσο και στην ορατή περιοχή καθώς επίσης εμφανίζουν ισχυρό φάσμα φθορισμού στην οπτική περιοχή [2].

5. LASER ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

Τα συγκεκριμένα LASER εμφανίσθηκαν το 1977 και χρησιμοποιούν ηλεκτρόνια ασύνδετα στα άτομα, αντλούν την ικανότητα από μια σειρά μαγνητών και πλέον σήμερα είναι τα πιο σημαντικά ερευνητικά όργανα.

Είναι σχεδόν ίδια με τα LASER χρωστικών ουσιών και θεωρητικά, ένας μικρός αριθμός θα μπορούσε να καλύψει όλο το φάσμα από τις υπέρυθρες ακτίνες στις ακτίνες X [1].

1.4 Ασφάλεια συστημάτων Lasers.

Οι χρήσεις των LASER σε ανοικτούς χώρους θα πρέπει να συνοδεύονται πάντα με μέτρα ασφάλειας και προφύλαξης κατά των ακτινών, έτσι ώστε να μειωθεί η πιθανότητα της έκθεσης ενός ατόμου σε επικίνδυνα επίπεδα οπτικής ακτινοβολίας LASER.

Η επικινδυνότητα των ακτινών LASER έχει να κάνει με την έκθεση των ματιών και του δέρματος σε υψηλή ακτινοβολία. Επειδή το μάτι είναι πιο ευαίσθητο από το δέρμα στο φως του LASER, θα πρέπει να προστατευτεί από όλα τα μήκη κύματος εκπομπής.

Αποτελεί κίνδυνο για το μάτι λόγω της έντονης εστίασης των ακτινών που προκαλεί ο κρυσταλλοειδής φακός. Μια παράλληλη δέσμη ορατού LASER μπορεί να εστιαστεί στον αμφιβληστροειδή σε πολύ μικρή επιφάνεια δημιουργώντας μεγάλη ενέργεια φωτισμού με αποτέλεσμα να προκληθεί έγκαυμα.

Τα περισσότερα είδη LASER έχουν μεγάλη λαμπρότητα με αποτέλεσμα να είναι επικίνδυνα όχι μόνο με την άμεση έκθεση τους, αλλά και με τις αντανακλάσεις που γίνονται σε λείες επιφάνειες. Υπάρχουν κάποιες εξαιρέσεις στα LASER μικρής ισχύος.

Λόγω ότι υπάρχει ποικιλία LASER είναι απαραίτητο να γίνουν διαχωρισμοί στους κανόνες ασφάλειας [2].

Όλες οι πηγές LASER έχουν κατηγοριοποιηθεί σε τέσσερις κατηγορίες:

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1

Σε αυτή τη κατηγορία τα LASER είναι ασφαλή και ανήκουν τα LASER χαμηλής ισχύος. Τα συστήματα αυτά δεν θεωρούνται επικίνδυνα για τον άνθρωπο.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2

Σε αυτή τη κατηγορία ανήκουν τα LASER ‘χαμηλής ισχύος’ ή ‘χαμηλού ρίσκου’ και είναι επικίνδυνα μόνο αν ο παρατηρητής υπερνικήσει τη φυσική αντίδραση αντιπάθειας στο λαμπερό φως και κοιτά επίμονα προς τη πηγή.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 3

Στη συγκεκριμένη κατηγορία θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα LASER είναι συσκευές ‘μέτριου κινδύνου’ ή ‘μέσης ισχύος’. Μπορεί να προκαλέσουν

βλάβη του ματιού εντός του χρονικού διαστήματος που λαμβάνει χώρα σε χρόνο 0.25 second. Δεν υπάρχουν σοβαρά δερματικά προβλήματα. Ανάλογα με την οπτική ισχύ διακρίνουμε δύο υποκατηγορίες.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 3Α

Σε αυτή τη κατηγορία τα LASER που είναι από μήκη κύματος από 400-700nm είναι ασφαλή χωρίς τη χρήση οπτικών οργάνων (π.χ. τηλεσκόπια)

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 3Β

Στη συγκεκριμένη κατηγορία μας δείχνει ότι η απευθείας παρατήρηση των ακτινών LASER είναι πάντα επικίνδυνη, σε αντίθεση με τις διάχυτες αντανακλάσεις που είναι βασικά ασφαλή.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 4

Τα LASER σε αυτή τη κατηγορία μπορούν να παράγουν επικίνδυνες και διάχυτες αντανακλάσεις. Μπορεί να προκαλέσουν εγκαύματα στο δέρμα και επίσης υπάρχει κίνδυνος πυρκαγιάς ή ανάφλεξη εύφλεκτων υλικών. Η χρήση τους απαιτεί ιδιαίτερα μεγάλη προσοχή [2].

1.5 Εφαρμογές των Lasers.

Από τότε που εφευρέθηκε το πρώτο LASER γύρω στο 1960 δημιουργήθηκαν εκατοντάδες τύποι που χρησιμοποιήθηκαν ή χρησιμοποιούνται σε ειδικές ή γενικές γραμμές. Όσο και αν προσπαθήσει κάποιος να συλλέξει το πλήρες φάσμα των εφαρμογών LASER θα υπολείπεται πάντα μερικών. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, το LASER έχει εξελιχθεί από μια πηγή μονοχρωματικής ακτινοβολίας σε ένα σπουδαίο εργαλείο για την επιστήμη, την τεχνολογία και την έρευνα [2].

Θα εξετάσουμε στη συνέχεια, μερικές από τις βασικότερες εφαρμογές που θα δώσουμε πιο πολύ προσοχή στις εφαρμογές που βρίσκονται μέσα στις δυνατότητες του ελληνικού χώρου καθώς και στην πολύ σημαντική εφαρμογή του ελέγχου θερμοπυρηνικών αντιδράσεων με χρήση LASER.

- ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΛΙΚΩΝ

Η οπτική ισχύς ενός LASER και η μεγάλη ενεργειακή του πυκνότητα το καθιστά αναντικατάστατο εργαλείο σε ένα ευρύ φάσμα βιομηχανικών εφαρμογών, όπου δίνεται έμφαση στην επεξεργασία των υλικών οποιασδήποτε σκληρότητας, πλαστικότητας. Επειδή μια δέσμη LASER είναι σχεδόν παράλληλη, μπορεί να εστιαστεί σε πολύ μικρή επιφάνεια προκαλώντας υψηλή ενεργειακή πυκνότητα.

Η ιδιότητα αυτή του LASER χρησιμοποιείται στη συγκόλληση υλικών τα οποία έχουν διαφορετικούς συντελεστές θερμικής αγωγιμότητας (π.χ. συνδυασμός ανοξείδωτου χάλυβα και χαλκού), όπου οι συμβατικές τεχνικές συγκόλλησης αποτυγχάνουν.

ΦΩΤΟΧΗΜΙΚΕΣ, ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Τα LASER παίζουν σημαντικό ρόλο στη χημεία και πιο πολύ στις φωτοχημικές αντιδράσεις. Είναι τα πιο κατάλληλα εργαλεία για τη μελέτη της δομής των μορίων και των χημικών αντιδράσεων. Μπορούν επίσης να ξεκινήσουν μια συγκεκριμένη χημική αντίδραση μέσα σε ένα μείγμα στο οποίο είναι δυνατές πολλές διαφορετικές αντιδράσεις.

Επιπροσθέτως, τα LASER χρησιμοποιούνται στη μελέτη φασμάτων αδρανών αερίων, σπάνιων γαιών καθώς και του σθένους χημικών αντιδράσεων.

Τα LASER μπορούν να φανούν χρήσιμα σε καυτηριάσεις, στη θερμοπηξία του αίματος και στη καταστροφή των καρκινογόνων ιστών λόγω το ότι συγκεντρώνουν μεγάλη ενέργεια σε μικρή επιφάνεια. Ο συνδυασμός LASER με τις οπτικές ίνες, επιτρέπει μεταφορά της ακτινοβολίας τους, για διάγνωση ή θεραπεία καθώς και σε δυσπρόσιτα σημεία του σώματος.

Τα LASER παίζουν σημαντικό ρόλο στην Ιατρική. Η πιο γνωστή εφαρμογή τους είναι στην οφθαλμολογική χειρουργική και πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση της αποκόλλησης του αμφιβληστροειδή από το χοριοειδή χιτώνα. Η θεραπεία στην περίπτωση αυτή συνιστάται στη συγκόλληση των χιτώνων που έχουν αποκολληθεί ή στην πήξη των αγγείων τους.

Σημαντική όμως προσφορά τους αποδίδεται και στις χειρουργικές επεμβάσεις, όπου οι ακτίνες LASER έχουν αντικαταστήσει το χειρουργικό νυστέρι. Στη δερματολογία τα LASER χρησιμοποιούνται για καυτηριάσεις στην επιφάνεια του δέρματος και στη αφαίρεση τατουάζ.

Ο κύριος ρόλος των LASER και των εφαρμογών τους στην Ιατρική προσανατολίζεται προς τη διάγνωση και την έγκαιρη πρόληψη.

Στη παρακάτω εικόνα βλέπουμε ένα μηχάνημα για τον τρόπο αφαίρεσης του τατουάζ.

Electro-optic Q-switch Nd:YAG Laser System

1064/532nm (1055nm)

7 Articulated arm

2000mj

1-10Hz



Εικόνα1.1:Μηχάνημα αφαίρεσης τατουάζ [3].



Εικόνα 1.2: Excimer Laser επέμβαση που γίνεται στα μάτια που χρησιμοποιείται για την εξάλειψη της μυωπίας, υπερμετροπίας και αστιγματισμού με μήκος κύματος 193nm [4].

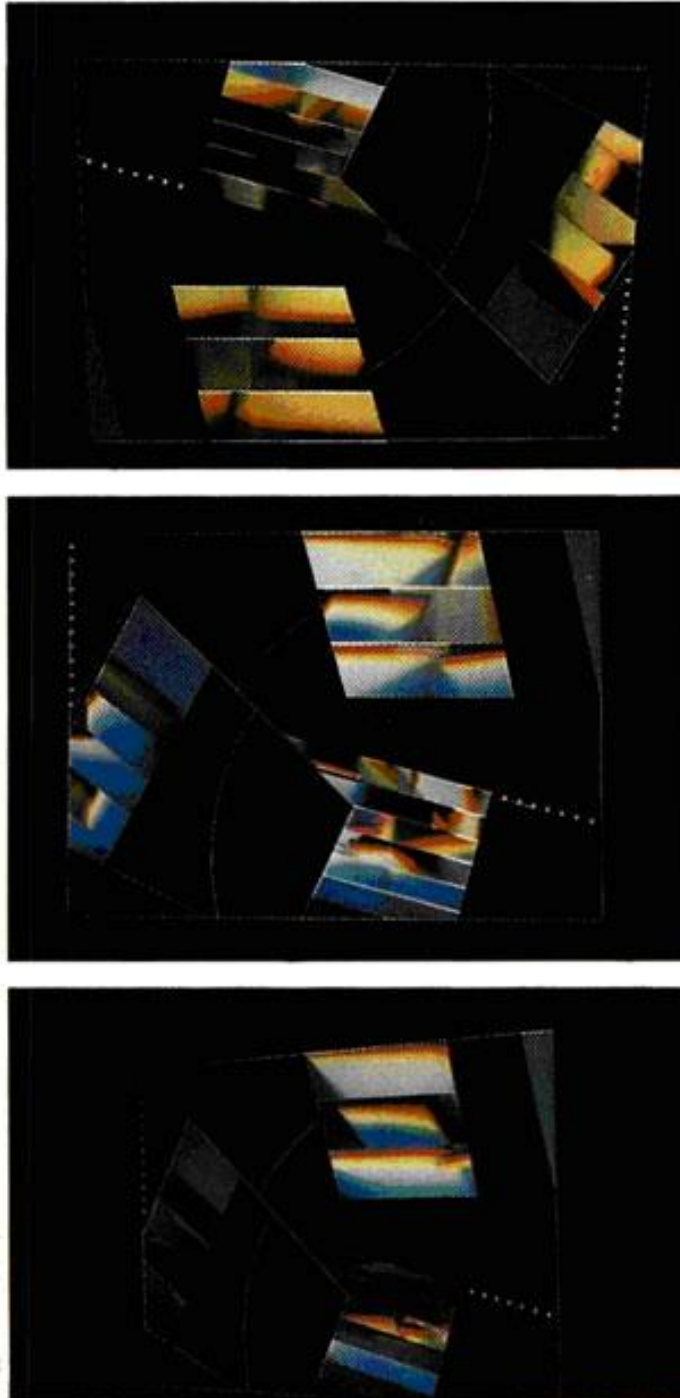
- ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ, ΜΙΚΡΟΓΡΑΦΙΑ, ΟΛΟΓΡΑΦΙΑ

Μεταξύ των εφαρμογών του LASER είναι και πολύ γρήγορη φωτογράφιση.

Στη φωτογράφιση μέσα από ένα μικροσκόπιο το LASER προσφέρει πολύ μεγαλύτερη μεγέθυνση και πιο καθαρή εικόνα χωρίς να υπάρχουν χρωματικά σφάλματα, πράγμα πολύ χρήσιμο για την περίπτωση βιολογικού υλικού όπου η σαφήνεια της εικόνας είναι μεγάλο πρόβλημα [1].

Η ολογραφία παρά το γεγονός ότι ανακαλύφθηκε πριν το LASER, μόνο μετά την ανακάλυψη του LASER αναπτύχθηκε πάρα πολύ, γιατί τότε μόνο η ανάγκη για χρήση πηγής μονοχρωματικού φωτός βρήκε την πλήρη λύση της. Η ολογραφία χαρακτηρίζεται σαν μία από τις πιο ενδιαφέρουσες περιοχές εφαρμογής των LASER, και μπορούμε να βλέπουμε φωτογραφίες τριών διαστάσεων δηλαδή μπορεί κάποιος να δει το πίσω μέρος, το εμπρόσθιο μέρος και τις πλευρές. Αυτό θα το δούμε και στη παρακάτω εικόνα [5].

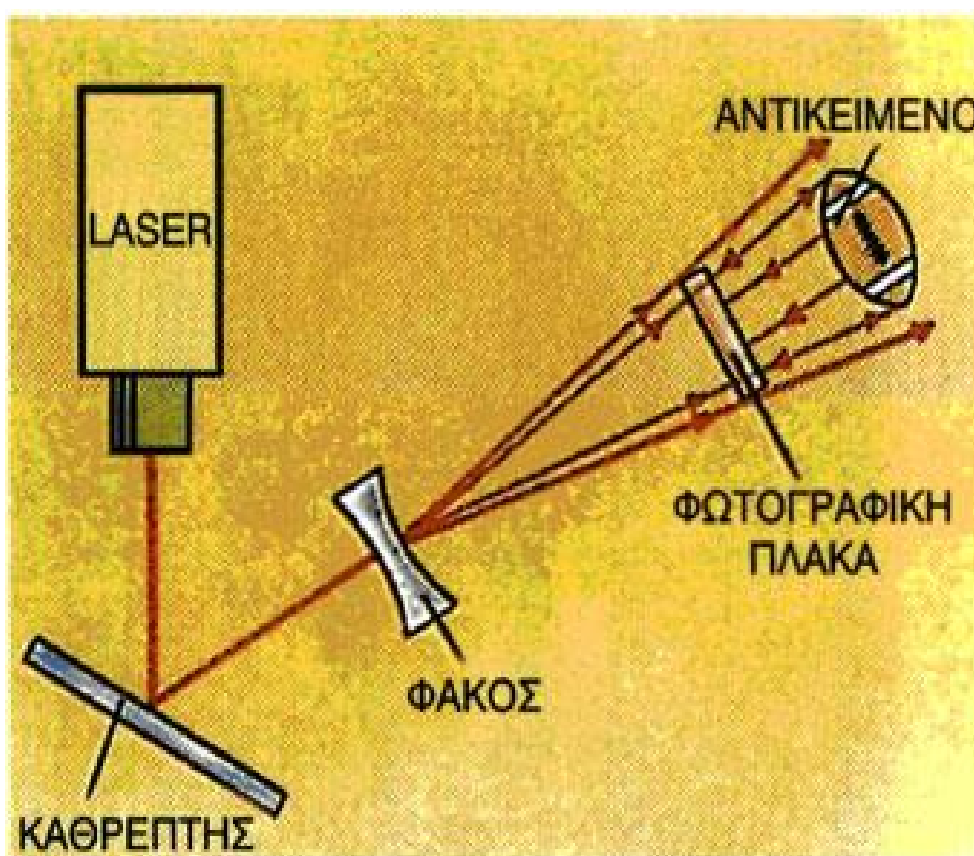
Έχει καταγραφεί στα εργατήρια ολογράφια του τμήματος Καλών Τεχνών του Κολλεγίου Saint Mary, Notre Dame, Indiana



Εικόνα 1.3: Η εικόνα αυτή μας δείχνει ένα απλό ολογράφημα όπως φαίνεται από πάνω, μετωπικά και από αριστερά [5].

Επιπλέον, υπάρχει και μία άλλη μέθοδος ολογραφίας που παράγονται ανακλαστικά ολογραφήματα. Χρησιμοποιείται μια δέσμη LASER που φωτίζει έναν καθρέφτη και μετά περνά μέσα από ένα κοίλο φακό. Στη συνέχεια το φως περνά μέσω της φωτογραφικής πλάκας και φθάνει στο πραγματικό αντικείμενο. Το φως που πέφτει στο αντικείμενο ανακλάται στη πλάκα. Η παρεμβολή συμβαίνει μέσα στη φωτογραφική εμουλσίνη (χημική επίστρωση) επάνω στη πλάκα [5].

Όπως διακρίνουμε στην εικόνα από κάτω, ένα άσπρο φως κατευθύνεται στην επιφάνεια υπό την ίδια γωνία, όπως η αρχική δέσμη του LASER αναφοράς. Η πηγή του φωτός είναι στην ίδια πλευρά της πλάκας όπως και ο παρατηρητής.



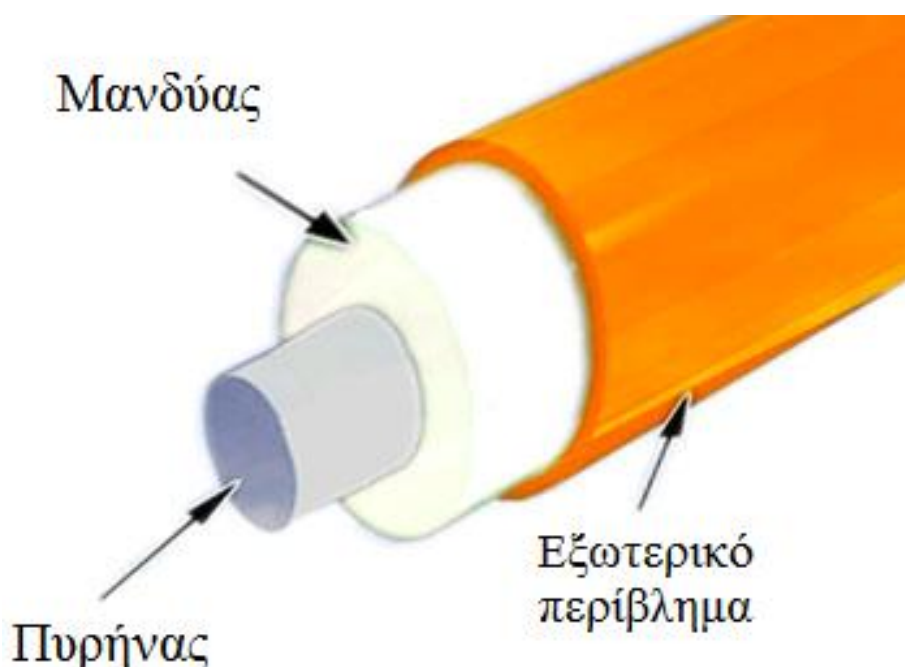
Εικόνα 1.4: Για να παραχθεί ένα ανακλαστικό ολογράφημα θα πρέπει οι δέσμες φωτός του LASER να ανακλώνται από το αντικείμενο και το σχήμα συμβολής να συμβολίζεται μέσα στη πλάκα [5].

ΟΠΤΙΚΕΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΕΣ

Είναι οι πιο σύγχρονες εφαρμογές των LASER, όπου ένα τμήμα του οπτικού συστήματος (δηλαδή η οπτική ίνα) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μεταφέρει μία πληροφορία σε μεγάλες αποστάσεις με ασφάλεια και χωρίς την εξάρτηση των καιρικών συνθηκών.

Τα καλώδια των οπτικών ινών παίζουν βασικό ρόλο για τη λειτουργία των οπτικών επικοινωνιών, γιατί έχουν τη δυνατότητα αποστολής φωτεινών ψηφιακών σημάτων υψηλής ποιότητας και χαμηλών απωλειών. Επιπροσθέτως, μεταφέρουν πιο πολλές πληροφορίες από τα χάλκινα καλώδια, καθιστώντας τα ικανά για τις σημερινές τεχνολογικές απαιτήσεις.

Τα φωτεινά σήματα μπορούν να διαμορφωθούν (π.χ. με πληροφορίες) είτε από διόδους LED είτε από LASER. Αυτά έχουν βασικό πλεονέκτημα της μονοχρωματικότητας, που επιτρέπει την ελάχιστη δυνατή αλλοίωση της μορφής των παλμών κατά μήκος της οπτικής ίνας [2].



Εικόνα 1.5 : Στην εικόνα μας δείχνει τη δομή δηλαδή ο πυρήνας είναι το τμήμα στο οποίο ταξιδεύουν τα κύματα, ο μανδύας είναι η επικάλυψη με μικρό δείκτη διάθλασης που κρατά το φως εντός του πυρήνα και τέλος το αδιαφανές περίβλημα που κάνει την οπτική ίνα πιο ανθεκτική σε μηχανικές καταπονήσεις [6].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : Η Οπτική Παγίδευση!

2.1 Οι πρώτες προσπάθειες για παγίδευση και ακινητοποίηση ουδέτερων σωματιδίων.

Πολλές φορές οι ερευνητές χρειάστηκε να διατηρήσουν κάποιο αντικείμενο σταθερό σε μια θέση ή να το κατευθύνουν προς ένα σημείο όπου επιθυμούσαν οι ίδιοι. Βέβαια, όταν το αντικείμενο μελέτης τους είναι τόσο μικρό όσο είναι για παράδειγμα ένα άτομο, τότε η διαδικασία αυτή γίνεται εξαιρετικά δύσκολη και περίπλοκη. Σύντομα, ανακαλύφθηκε ότι ασκώντας ηλεκτρικές και μαγνητικές δυνάμεις σε φορτισμένα σωματίδια είναι εφικτός ο έλεγχος τους, καθώς τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία ασκούν πολύ ισχυρές δυνάμεις σε αυτά. Επίσης, αν αυτές οι δυνάμεις ασκηθούν σε ατομική κλίμακα είναι δυνατόν να συγκρατήσουμε και ελέγχουμε ένα σωματίδιο- αντικείμενο που στο σύνολο του είναι ηλεκτρικά ουδέτερο.

Παρ' όλα αυτά, η διαχείριση των ουδέτερων αντικειμένων παρέμεινε δύσκολη καθώς όσες προσπάθειες κι αν είχαν γίνει έως τότε δεν είχαν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Μόλις τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές κατάφεραν να μετακινήσουν ουδέτερα σωματίδια σε επιθυμητές αποστάσεις. Οι πρώτες βιολογικές μελέτες, για την παγίδευση σωματιδίων, έγιναν πάνω σε βιολογικά υλικά με σχετικά μεγάλο μέγεθος [7].

Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη παγίδα ουδέτερων σωματιδίων δημιουργήθηκε το 1978 από τον Wolfgang Paul του πανεπιστημίου της Bonn [8]. Ο ίδιος μαζί με τους συνεργάτες του κατάφεραν να παγιδεύσουν νετρόνια σε μαγνητικό πεδίο. Περίπου επτά χρόνια αργότερα, βασιζόμενος στις ίδιες αρχές, ο William D. Phillips μαζί και με τη βοήθεια των συνεργατών του προχώρησαν στην παγίδευση ατόμων. Γρήγορα όμως, οι ερευνητές παρατήρησαν τις αδυναμίες της μεθόδου αυτής. Κύριο μειονέκτημα της μαγνητικής παγίδας, λοιπόν, ήταν ότι το σωματίδιο για να <<παγιδευτεί>> από τα μαγνητικά πεδία, έπρεπε να διαθέτει μια μικρή μαγνητική διπολική ροπή. Με άλλα λόγια, η παγίδευση ήταν δυνατή μόνο αν το σωματίδιο εμφάνιζε κάποιες μαγνητικές ιδιότητες όπως εκείνες ενός μικροσκοπικού μαγνήτη. Σε περίπτωση τώρα που το σωματίδιο εμφανίζει αυτές τις ιδιότητες, με την τοποθέτηση του σε ένα μαγνητικό πεδίο του οποίου η ένταση μεταβάλλεται ανά περιοχές, το σωματίδιο θα κινηθεί είτε προς την ισχυρότερη είτε προς την ασθενέστερη περιοχή του πεδίου. Αυτό βέβαια, εξαρτάται και από τον αρχικό προσανατολισμό που είχε το σωματίδιο.

Αρχικά, την ιδέα ότι τα άτομα μπορούν να παγιδευτούν από μια δέσμη φωτός, την είχε εκφράσει ο Vladilen S. Letokhov (1968). Όπως είχε αναφέρει όμως και ο ίδιος, βασική προϋπόθεση για να συμβεί αυτό είναι η ύπαρξη μιας διπολικής δύναμης. Η θεωρία αυτή ήρθε να γίνει πράξη περίπου μια δεκαετία αργότερα. Ο Arthur Ashkin, γνωστός για τις πρώτες πειραματικές κινήσεις στον τομέα αυτό, πρότεινε μια πιο πρακτική παγίδα η οποία ήταν βασισμένη σε

εστιασμένες δέσμες laser. Με τη βοήθεια και των συνεργατών του, στα εργαστήρια Bell της AT&T, ο Arthur Ashkin προχώρησε σε μια σειρά πειραμάτων τα οποία θα αναφερθούν αναλυτικά παρακάτω. Σε πρώτο στάδιο, ο Ashkin και οι συνεργάτες του, χρησιμοποίησαν τις οπτικές λαβίδες για να παγιδεύσουν βακτήρια. Έπειτα, προσπάθησαν να κατευθύνουν μεμονωμένα κύτταρα αλλά και να μετρήσουν τις δυνάμεις κίνησης των κυττάρων [7].

Προτού γίνει εκτενέστερη αναφορά στα πειράματα τούτα όμως, θα πρέπει να αναφερθούμε στον κύριο τρόπο λειτουργίας μιας παγίδας laser. Σκοπός και ανάγκη των ερευνητών ήταν να μπορέσουν να παγιδεύσουν και να κατευθύνουν σωματίδια τα οποία είναι ηλεκτρικά ουδέτερα. Με την τεχνική αυτή, η ψύξη ατμών σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (σχεδόν στον απόλυτο μηδέν), η ανάπτυξη νέων ατομικών ρολογιών καθώς και ο διαχωρισμός και χειρισμός μεμονωμένων μορίων D.N.A. θα ήταν μια εύκολη υπόθεση. Για να συμβεί αυτό, χρειάζεται η συμβολή μιας διπολικής δύναμης όπως προαναφέρθηκε. Καθώς λοιπόν, οι δέσμες φωτός laser πέφτουν στο άτομο, παρατηρείτε το φαινόμενο απορρόφησης και εκπομπής φωτονίων. Για κάθε φωτόνιο που απορροφά το άτομο, απελευθερώνει και ένα ακόμη. Όμως, με κάθε φωτόνιο που απορροφά, δέχεται και μια ώθηση κάποιας δύναμης προς την κατεύθυνση διάδοσης του φωτός. Η συνισταμένη των ωθήσεων που δέχεται το άτομο από τα φωτόνια ή αλλιώς τα κβάντα του φωτός, ονομάζεται σκεδάζουσα δύναμη. Η σκεδάζουσα δύναμη είναι και το κλειδί στην οπτική παγίδευση με χρήση laser.

Ο πρώτος που ανίχνευσε την σκεδάζουσα δύναμη ήταν ο Otto R. Frisch, ο οποίος την χρησιμοποίησε το 1933 για να εκτρέψει μια δέσμη ατόμων Νατρίου (Na). Για την Παρασκευή των ατόμων Na, εξάγνισε νάτριο μέσα σε ένα δοχείο, ενώ για τον σχηματισμό της δέσμης οδήγησε τα άτομα μέσα από μια τρύπα στο δοχείο κι έπειτα από μια σειρά σχισμών. Σε επόμενο στάδιο, ο Frisch έριξε πάνω στην δέσμη που είχε δημιουργηθεί φως από μια λάμπα νατρίου. Έτσι, αν και είναι γνωστό ότι κάθε άτομο Na απορροφά κατά μέσο όρο ένα μόλις φωτόνιο, ο Frisch κατάφερε να εκτρέψει την δέσμη. Παρ' όλα αυτά, η σκεδάζουσα δύναμη ήταν πολύ ασθενική για να παγιδεύσει τα άτομα και η απόκλιση της δέσμης που παρατηρήθηκε ήταν εξαιρετικά μικρή.

Αρκετές δεκαετίες αργότερα, οι ερευνητές αναγνώρισαν ότι ο ρυθμός σκέδασης των φωτονίων μπορούσε να αυξηθεί σε 10 εκατομμύρια φωτόνια ανά δευτερόλεπτο. Αυτό θα οδηγούσε στη δημιουργία μιας δύναμης 100.000 φορές μεγαλύτερη από την έλξη της βαρύτητας που προκαλεί η Γη στα άτομα. Το 1985, έτσι, δύο ανεξάρτητες ομάδες στο Εθνικό Γραφείο Σταθμών υπό την καθοδήγηση των Phillips και John Hall κατάφεραν και ακινητοποίησαν μια δέσμη ατόμων. Το αποτέλεσμα ήταν η θερμοκρασία των ατόμων να ελαττωθεί από 300° K 0,1° K. Έπειτα από αυτή την επιτυχημένη προσπάθεια οι ερευνητές ήλπιζαν ότι ο πρωταρχικός τους στόχος, δηλαδή όχι μόνο να ακινητοποιήσουν

αλλά και να παγιδεύσουν άτομα, θα γινόταν πραγματικότητα. Όσες προσπάθειες κι αν ακολούθησαν όμως, για να σχηματιστούν αρκετές δέσμες laser έτσι ώστε να μπορέσουν να συλλέξουν και να συγκεντρώσουν άτομα σε μια συγκεκριμένη περιοχή του χώρου, απέτυχαν. Ίσως, η αιτία της αποτυχίας να έγκειται στο ότι, όπως αναφέρει και το Οπτικό Θεώρημα Earnshaw, είναι αδύνατον να σχηματιστεί μια παγίδα ατόμων με φως, όποια διάταξη κι αν χρησιμοποιηθεί, αν η σκεδάζουσα δύναμη είναι ανάλογη προς την ένταση του φωτός [8]. Το πρόβλημα που προκύπτει τελικά είναι ότι οι δέσμες δεν μπορούν να διαταχθούν κατά τρόπο τέτοιο ώστε να προκαλούν δυνάμεις μόνο προς το εσωτερικό μιας περιοχής. Αυτό συμβαίνει διότι, καθώς το φως εισέρχεται σε μια περιοχή-παγίδα πρέπει και να εξέρχεται επανεκπεμπόμενο, και ως επακόλουθο να μεταφέρει δυνάμεις επί των σωματιδίων και της εξωτερικής περιοχής.

Εξίσου σημαντικό ρόλο στην παγίδευση σωματιδίων, παίζει και η παρουσία μιας δύναμης με διπολική ροπή. Μια ατομική παγίδα οπότε μπορεί να βασιστεί σε ένα τέτοιο είδος δύναμης, την οποία μπορεί το φως να ασκήσει σε ένα άτομο. Τι είναι όμως αυτή η διπολική ροπή και ποιος ο ρόλος της; Ο ίδιος ο Steven Chu σε ομιλία του παρέθεσε το εξής παράδειγμα: Αν μια γυάλινη ράβδος τριφτεί πάνω στο τρίγωνο μιας γάτας θα μετατραπεί σε ένα θετικά φορτισμένο αντικείμενο. Η ράβδος αυτή έτσι, παράγει ένα ηλεκτρικό φορτίο που πολώνει τα σωματίδια και τα έλκει προς αυτό [8]. Ως αποτέλεσμα, παρουσιάζεται μια ασύμμετρη κατανομή των φορτίων που αντιστοιχεί στη διπολική ροπή. Η μέση θέση των θετικών φορτίων στο σωματίδιο δηλαδή, βρίσκεται ελαφρώς πιο μακριά από τη ράβδο σε σχέση με τη μέση θέση των αρνητικών φορτίων. Επειδή τώρα, η ελκτική δύναμη του πεδίου στα αρνητικά φορτία του σωματιδίου είναι ισχυρότερη από την απωστική δύναμη του πεδίου των θετικών φορτίων, το σωματίδιο έλκεται προς περιοχές του πεδίου όπου το ηλεκτρικό πεδίο είναι ισχυρότερο. Αν αντίθετα, το φορτίο στη ράβδο ήταν αρνητικό, το ηλεκτρικό πεδίο θα επάγει μια διπολική ροπή αντίθετης πολικότητας και το σωματίδιο θα έλκεται και πάλι προς περιοχές όπου το ηλεκτρικό πεδίο θα είναι ισχυρότερο. Η δύναμη αυτή, είναι ανάλογη με τη δύναμη ενός μαγνητικού δίπολου που όπως αναφέρθηκε αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την παγίδευση ουδέτερων ατόμων και νετρονίων.

Όπως είναι κατανοητό λοιπόν, με τη παρουσία αυτής της διπολικής δύναμης τα άτομα μπορούν να παγιδευτούν σε ένα ηλεκτρικό πεδίο που έχει ένα τοπικό μέγιστο σε κάποιο σημείο του χώρου. Αυτό είναι εφικτό με τη χρήση κάποιας φωτεινής πηγής, διότι το φως αποτελείται από ένα ηλεκτρικό αλλά και από ένα μαγνητικό πεδίο τα οποία ταλαντώνονται σε πολύ γρήγορους ρυθμούς. Οπότε, μια εστιασμένη δέσμη laser μπορεί να παράγει ένα εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο με κάποιο τοπικό μέγιστο. Καθώς λοιπόν το πεδίο αυτό αλληλεπιδρά με το άτομο, η κατανομή των ηλεκτρονίων του ατόμου

φαίνεται να αλλάζει με αποτέλεσμα να επάγεται σε αυτό μια διπολική ροπή. Ως επακόλουθο το άτομο θα αρχίσει να έλκεται προς το τοπικό μέγιστο του πεδίου.

Βέβαια, το ηλεκτρικό πεδίο μεταβάλλεται συνεχώς και γρήγορα χωρίς όμως αυτό να αποτελεί ιδιαίτερο πρόβλημα. Το πεδίο αλλάζει πολικότητα όμως, ταυτόχρονα αλλάζει και η διπολική ροπή του ατόμου. Όσο ο ρυθμός που μεταβάλλεται το πεδίο παραμένει πιο αργός από τις φυσικές συχνότητες ταλάντωσης του ατόμου, η διπολική ροπή διατηρείται σε ευθυγράμμιση με το πεδίο. Το άτομο εξακολουθεί με αυτόν τον τρόπο να κινείται προς το τοπικό μέγιστο. Άρα, η διπολική δύναμη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για να περιορίσουμε άτομα σε μια συγκεκριμένη περιοχή. Γύρω στο 1978 έτσι, ο Arthur Ashkin θα έρθει για να προτείνει μια οπτική παγίδα βασισμένη σε εστιασμένες δέσμες laser που δυστυχώς όμως σύντομα εμφάνισε πρακτικά προβλήματα. Βασικό πρόβλημα ήταν το ότι τα άτομα, άσχετα από τη θερμοκρασία τους, έδειχναν αδύνατον να παγιδευτούν λόγω της ύπαρξης σκεδαζουσών δυνάμεων. Για την ακρίβεια, η σκεδάζουσα δύναμη για να ελαχιστοποιηθεί πρέπει το φως να είναι συντονισμένο σε κάποια συχνότητα αρκετά πιο κάτω από αυτήν στην οποία το άτομο απορροφά φωτόνια. Σε τέτοιες συχνότητες ωστόσο, οι δυνάμεις, που είναι υπεύθυνες για την παγίδευση ατόμων, μοιάζουν τόσο ασθενικές ώστε ακόμη κι αν τα άτομα βρίσκονται σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες, όπως για παράδειγμα στους 0,01 βαθμούς Kelvin, είναι αδύνατον να συγκρατηθούν στην παγίδα. Φυσικά τοποθετήθηκαν και ακόμη ψυχρότερα άτομα στην παγίδα, αλλά ακόμη και αυτά έπειτα από μερικά χιλιοστά του δευτερολέπτου πετάγονταν εκτός της παγίδας. Η σκεδάζουσα δύναμη άλλωστε είναι πάντα παρούσα γι' αυτό και αποτελεί τόσο μεγάλο εμπόδιο στην οπτική παγίδευση. Κι όμως, δεν ήταν μόνο αυτό πρόβλημα στο έργο των ερευνητών. Το εγχείρημα της κατασκευής μιας επιτυχημένης οπτικής παγίδας φάνταζε όλο και πιο δύσκολο καθώς ο όγκος της παγίδας έπρεπε να είναι της τάξεως των 0,001 κυβικών χιλιοστών. Αναπόφευκτη ήταν λοιπόν, μια ακόμη αποτυχημένη προσπάθεια.

Μερικά χρόνια αργότερα, το 1985, παρουσιάστηκε μία νέα μέθοδος οπτικής παγίδευσης. Ήδη, οι επιστήμονες είχαν κατορθώσει να ψύξουν άτομα, χρησιμοποιώντας τεχνικές laser, σε όλες τις διαστάσεις και σε ακόμη χαμηλότερες θερμοκρασίες από ότι οι ακινητοποιημένες ατομικές δέσμες. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι, η ιδέα αυτή ειπώθηκε για πρώτη φορά το 1975 από τον Theodore Honsch και τον Arthur Schawlow του πανεπιστημίου Stanford. Την ίδια μόλις χρονιά, οι David J. Wineland και Hans G. Dehmelt του πανεπιστημίου της Ουάσιγκτον κατασκεύασαν ένα παρόμοιο σχήμα για ψύξη παγιδευμένων ιόντων με χρήση lasers.

Πριν προχωρήσουν στις παραπάνω ενέργειες όμως, οι ερευνητές ότι ένα άτομο είναι δυνατόν να ψυχθεί εάν βομβαρδιστεί από δύο πλευρές με φως laser, σε συχνότητα ελαφρά μικρότερη από εκείνη που χρειάζεται για μέγιστη

απορρόφηση. Ανάλογα τώρα, με το αν το άτομο και το φως κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση ή προς αντίθετες οι ερευνητές παρατήρησαν πως το παγιδευμένο άτομο ακινητοποιείται και ως εκ τούτου η θερμοκρασία του ελαττώνεται. Αν δια παράδειγμα, το άτομο κινείται σε αντίθετη κατεύθυνση από αυτή της μιας δέσμης φωτός, το φως από το σύστημα αναφοράς του ατόμου παρουσιάζει αυξημένη συχνότητα. Έτσι, το φως που φθάνει στο άτομο έχει την απαιτούμενη συχνότητα για να απορροφηθεί. Με τη σειρά του τώρα, το φως που απορροφάται από το άτομο ασκεί σε αυτό μια σκεδάζουσα δύναμη η οποία επιβραδύνει το άτομο. Αν από την άλλη, τόσο το άτομο όσο και το φως κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση, τότε το άτομο έχει ακόμη μικρότερη πιθανότητα να απορροφήσει το φως. Αυτό βέβαια οφείλεται στο ότι, το φως ως προς το σύστημα αναφοράς του ατόμου έχει ακόμη πιο μικρή συχνότητα από πριν.

Άσχετα λοιπόν, με την κατεύθυνση που ακολουθούν το άτομο και το φως το αποτέλεσμα είναι ότι προκαλείται μία σκεδάζουσα δύναμη που είναι αντίθετη προς τη κίνηση του ατόμου [8]. Όπως, το άτομο κινείται έτσι σε αντίθετη κατεύθυνση, θα δεχτεί μία ακόμη σκεδάζουσα δύναμη που θα τείνει να το οδηγήσει προς τη μηδενική ταχύτητα και άρα, να το ακινητοποιήσει. Για να ψύξουν το άτομο και στις τρεις διευθύνσεις έτσι, οι ερευνητές περικύκλωσαν το άτομο με τρία ζεύγη από αντίθετες δέσμες φωτός, κάθε ζεύγος από τα οποία βρίσκεται σε έναν από τους τρεις ορθογώνιους άξονες x , y , z .

Αξίζει να αναφερθεί επίσης ότι, οι οπτικές παγίδες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως έναν μετατροπέα ισχύος. Οι Block et al, έκαναν τις πρώτες βαθμονομημένες μετρήσεις σε βακτήρια το 1989. Σκοπός ήταν η μελέτη της συμμόρφωσης του μαστιγίου του βακτηρίου. Οπότε, οι Block et al, χρησιμοποίησαν τις οπτικές λαβίδες για να αρπάξουν τα βακτήρια και να τα περιστρέψουν βίαια, ώστε να παρατηρήσουν και να βαθμονομήσουν τις ελαστικές δυνάμεις των μαστιγίων των βακτηρίων [7].

2.2 Οι σύγχρονες εξελίξεις στην παγίδευση ατόμων.

Το 1985 οι Arthur Ashkin, Leo Holberg, John Bjorkholm, Alex Cable και Steven Chu, στα AT&T Bell Labs, προχώρησαν στη ψύξη ατόμων Νατρίου σε θερμοκρασία 240 χιλιοστών του βαθμού Kelvin. Για τη δημιουργία της επιβραδύνουσας δέσμης των ατόμων, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν έναν συνδυασμό από δέσμες laser. Το συνδυασμό αυτόν, επειδή το φως δρα σαν μια δύναμη ιξώδους, τον ονόμασαν << **οπτικές μολάσες** >> [8].

Οι οπτικές μολάσες ωστόσο, δεν αποτελούν κάποιο είδος παγίδας. Κι όμως, με τη τεχνική αυτή τα άτομα περιορίστηκαν στο χώρο για χρόνο περίπου ίσο με 0,5 sec κι έπειτα προοδευτικά διέφυγαν έξω από τις οπτικές δέσμες. Το πιο σημαντικό είναι ότι, οι οπτικές μολάσες έλυσαν τα τρία κυριότερα προβλήματα στην κατασκευή μιας ατομικής παγίδας με laser. Αρχικά, ψύχοντας τα άτομα σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες, οι τυχαίες θερμικές κινήσεις τους ελαττώθηκαν κι έγινε έτσι ευκολότερη η παγίδευσή τους. Επίσης, εστιάζοντας τη δέσμη που προκαλούσε την παγίδευση στο κέντρο της οπτικής μολάσας, οι ερευνητές κατάφεραν να οδηγήσουν εύκολα τα άτομα στην παγίδα, διότι όπως αυτά τριγύριζαν γύρω από τη δέσμη, έφταναν βαθμιαία εκεί. Επιπλέον, με μια απλή εναλλαγή των ρόλων μεταξύ των δεσμών που παγιδεύουν και αυτών που ψύχουν, τα θερμικά αποτελέσματα του φωτός που παγίδευε έδειξαν να ελαττώνονται. Περίπου έναν χρόνο αργότερα όπου και τελειοποιήθηκαν οι οπτικές μολάσες, τα άτομα μπορούσαν πλέον να παγιδευτούν με τη χρήση του φωτός.

Όμως, όπως προαναφέρθηκε οι οπτικές μολάσες δεν μπορούν να θεωρηθούν είδος παγίδας ατόμων. Στην κατασκευή μιας επιτυχούς παγίδας παίζουν πολλά ρόλο. Στην τεχνική γεμίσματος, για παράδειγμα, που χρησιμοποιήθηκε στην πρώτη παγίδα έγινε σαφές ότι ο όγκος της παγίδας έπρεπε να είναι αρκετά μεγαλύτερος. Από την άλλη, μια παγίδα που θα χρησιμοποιούσε τη σκεδάζουσα δύναμη, θα είχε ανάγκη από πολύ μικρότερη ένταση φωτός. Αυτό σημαίνει ότι, οι περιορισμοί που θέτει το Οπτικό Θεώρημα Earnshaw έπρεπε οπωσδήποτε να λυθούν.

Μια πολύ καλή ιδέα, για την κατασκευή μιας τέτοιας παγίδας παρουσίασαν ο David Prichard του M.I.T και ο Carl E. Wieman του πανεπιστημίου του Colorado και τους συνεργάτες αυτών. Εκείνοι ανέφεραν λοιπόν ότι, αν στα άτομα εφαρμόζονταν ηλεκτρικά ή μαγνητικά πεδία χωρικά μεταβαλλόμενα, η σκεδάζουσα δύναμη από τη δέσμη laser δεν θα ήταν αναγκαστικά ανάλογη προς την ένταση του φωτός. Με βάση τη συγκεκριμένη ιδέα, ο Jean Dalibard της Ecole Normale Supérieure στο Παρίσι διατύπωσε έναν διαφορετικό τρόπο κατασκευής μιας μαγνητο-οπτικής παγίδας, η οποία χρησιμοποιούσε ένα ασθενές μαγνητικό πεδίο και κυκλικά πολωμένο φως. Την παγίδα αυτή κατασκεύασαν το 1987, στα AT&T Bell Labs, οι ομάδες του Prichard και του Ashkin. Τρία χρόνια αργότερα από αυτό, η ομάδα του Wieman

προχώρησε τη τεχνική αυτή κι απέδειξε ότι μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να παγιδεύει άτομα μέσα σε γυάλινες κυψέλες. Για να γίνει εφικτό αυτό όμως, χρειάζονταν πολύ ακριβά lasers- δίοδοι.

Σήμερα, η μαγνητοοπτική παγίδα είναι η πιο δημοφιλής καθώς εξαφάνισε την ανάγκη για πρόψυξη των ατόμων που ήταν απαραίτητη στα πρώτα πειράματα παγίδευσης ατόμων. Επιπλέον, το γεγονός ότι τα άτομα μπορούσαν πλέον να παγιδευτούν μέσα σε σφραγισμένες, γυάλινες κυψέλες έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να ασχοληθούν και με πιο σπάνια είδη ατόμων, όπως είναι για παράδειγμα τα ραδιοϊσότοπα [8].

Βέβαια, την ίδια περίοδο οι ερευνητές έκαναν σημαντική πρόοδο και στην ψύξη με χρήση laser. Για την ακρίβεια, ο Phillips μαζί και με τους συνεργάτες του παρατήρησαν ότι οι οπτικές μολάσσεις, κάτω από ορισμένες συνθήκες, μπορούν να ψύξουν άτομα σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες από το όριο που αναφέρει η σχετική θεωρία. Στηριζόμενοι σε αυτήν την νέα ανακάλυψη, ο Dalibard και ο Claude Cohen-Tannoudji από το College De France και την Ecole Normale καθώς και ο Ashkin και οι συνεργάτες του στο Stanford, δημιούργησαν μία νέα θεωρία από την αρχή σχετικά με την ψύξη με laser. Ο μηχανισμός που χρησιμοποιήθηκε, αφορούσε τη σχέση μεταξύ των ατόμων και των αλληλεπιδράσεων αυτών με το ηλεκτρικό και το μαγνητικό πεδίο του φωτός. Αν και η μέθοδος αυτή ήταν αρκετά περίπλοκη, ήταν και ξεχωριστή καθώς τα άτομα μπορούσαν επίσης να ψυχθούν σε θερμοκρασία με μέση ταχύτητα που αντιστοιχεί σε 3,5 αντικρούσεις φωτονίου.

Οι Cohen-Tannoudji, Alain Aspect, Ennio Arimondo, Robin Kaiser και Nathalie Van-steenkiste στην Ecole Normale, λίγο αργότερα, αποφάσισαν να πάνε τη θεωρία αυτή ακόμη πιο πέρα. Η ομάδα αυτή, προχώρησε στην επινόηση ενός νέου σχήματος το οποίο παρουσίαζε την ικανότητα να ψύχει άτομα ηλίου κάτω από τη ταχύτητα ανάκρουσης που προκαλείται από ένα μεμονωμένο φωτόνιο που σκεδάζεται. Έως τώρα, τα άτομα ηλίου έχουν ψυχθεί σε θερμοκρασία της τάξης των δύο μικροκέλβιν κατά μήκος κάποιας διεύθυνσης ενώ, οι έρευνες συνεχίζονται έτσι ώστε η τεχνική αυτή να επεκταθεί σε δύο και τρεις διαστάσεις.

Η λειτουργία της τεχνικής αυτής, μοιάζει αρκετά με εκείνη που χρησιμοποιήθηκε κατά την κατασκευή της πρώτης οπτικής παγίδας. Συλλαμβάνει δηλαδή, ένα άτομο με μία καλά καθορισμένη ταχύτητα. Πιο αναλυτικά, καθώς το άτομο σκεδάζει φωτόνια, η ταχύτητα αυτού αρχίζει να μεταβάλλεται με τυχαίο τρόπο. Σύμφωνα με το Γαλλικό πείραμα, γίνεται ανάκρουση του ατόμου σε μια ιδιαίτερη κβαντική κατάσταση. Αυτή η κβαντική κατάσταση αφορά σε έναν συνδυασμό δύο καταστάσεων με δύο διαφορετικές ταχύτητες, που και οι δύο όμως βρίσκονται κοντά στο μηδέν. Αν λοιπόν το άτομο βρεθεί σε αυτήν την κβαντική κατάσταση, έχει πολύ λιγότερες

πιθανότητες να σκεδάσει περισσότερα φωτόνια. Ως αποτέλεσμα, δεν μπορούν να σκεδαστούν νέα φωτόνια και άρα ούτε να αυξηθεί η ταχύτητα. Αν τελικά όμως το άτομο δεν βρεθεί σε αυτήν την κατάσταση, συνεχίζει να σκεδάζει φωτόνια έχοντας και άλλες ευκαιρίες να βρεθεί στην επιθυμητή κατάσταση με πολύ μικρή ταχύτητα. Ο εξής τρόπος, χρησιμοποιείται πλέον για την ψύξη ατόμων.

Φυσικά, οι ερευνητές εκμεταλλευόμενοι τις ικανότητες τόσο της ψύξης όσο και της παγίδευσης ατόμων, κατασκεύασαν και άλλες χρήσιμες εφαρμογές όπως είναι οι ατομικοί φακοί, διάφοροι καθρέφτες και περιθλαστικά διαφράγματα για την διαχείριση ατόμων. Ακόμη, οι ερευνητές στο Stanford και στο πανεπιστήμιο της Bonn, κατασκεύασαν τα <<ατομικά χωνιά>> όπως είναι γνωστά με τα οποία μπορεί να μετασχηματιστεί μια συλλογή θερμών ατόμων σε ένα ελεγχόμενο ρεύμα αποτελούμενο από ψυχρά άτομα. Επιπλέον, η ομάδα του Stanford κατασκεύασε ένα <<ατομικό τραμπολίνο>> όπου τα άτομα αναπηδούν σε ένα πέτασμα φωτός, το οποίο εκπορεύεται από μια γυάλινη επιφάνεια. Με μια καμπυλωτή γυάλινη επιφάνεια τώρα, υπάρχει δυνατότητα κατασκευής μιας ατομικής παγίδας βασισμένη στη βαρύτητα και το φως.

2.3 Τα πρώτα συστήματα πολλαπλών οπτικών παγίδων.

Είναι αλήθεια ότι, οι πολλαπλές οπτικές παγίδες έχουν πολλές παραπάνω δυνατότητες από μια οπτική παγίδα μονής δέσμης. Για το λόγο αυτό, έγιναν και αρκετές πειραματικές προσπάθειες για την εύρεση των κατάλληλων διατάξεων, για τη δημιουργία ενός συστήματος παγίδευσης αποτελούμενο από πολλές δέσμες φωτός. Η πρώτη προσπάθεια, έγινε από τον Chowdhury και τους συνεργάτες του κατά το έτος 1985. Η ομάδα αυτή, κατάφερε να παγιδεύσει σωματίδια σε κροσσούς συμβολής. Ακολούθως, το 1991 ο Misawa μαζί με την ομάδα του, προκειμένου να δημιουργήσουν πολλαπλές οπτικές παγίδες, κατασκεύασαν έναν διαμεριστή χρόνου κάνοντας χρήση ενός γαλβανόμετρου. Φυσικά, ακολούθησαν και άλλες σχετικές ενέργειες και πειράματα. Άλλα συστήματα πολλαπλών οπτικών παγίδων που παρουσιάστηκαν αργότερα, φαίνεται να βασίζονται στη λειτουργία τους κυρίως στη χρήση πιεζοηλεκτρικών κατόπτρων ή ακουστοοπτικών εκτροπέων [9].

Εν συνεχεία, ο Fourier άνοιξε το δρόμο για την ολογραφική παγίδα. Το 1995 συγκεκριμένα, πρότεινε τη χρήση ενός περιθλαστικού οπτικού στοιχείου, με σκοπό τη δημιουργία πολλών δεσμών φωτός από μία. Έπειτα από αυτό, το 1999 ο Tiziani οδηγήθηκε στη δημιουργία του πιο κοινού συστήματος πολλαπλών οπτικών παγίδων, κάνοντας μια αρχική εισαγωγή στους χωρικούς διαμορφωτές φωτός. Το μεγάλο πλεονέκτημα αυτού του συστήματος είναι ότι, είναι δυναμικά ρυθμιζόμενο, με έλεγχο από υπολογιστή και επίσης μπορεί να εφαρμοστεί σε συμβατικά οπτικά μικροσκόπια. Από την άλλη, πηγαίνοντας λίγα χρόνια πίσω στο 1993, ο Prentiss και η ομάδα του παγίδευσαν σωματίδια μεταξύ δύο αντικριστών οπτικών ινών. Έτσι, δημιουργήθηκε και η πρώτη οπτική παγίδα χωρίς την ανάγκη χρήσης μικροσκοπίου. Επιπλέον, οι Kawata και Tani ήρθαν λίγο μετά για να ολοκληρώσουν τις ανακαλύψεις στην παγίδευση, προσθέτοντας μία ακόμη καινοτομία στην λίστα. Χρησιμοποίησαν διαλανθάνον πεδίο το οποίο οδήγησε σε μία διαφορετική προσέγγιση του πεδίου βαθμίδας. Το καλό αυτής της τεχνικής είναι ότι διευκόλυνε κατά πολύ τη ταξινόμηση και τη μελέτη των βιολογικών κυττάρων.

Ωστόσο, αυτές είναι απλώς μερικές αναφορές στις πρωταρχικές ενέργειες που έγιναν πάνω στην οπτική παγίδευση. Στα κεφάλαια που ακολουθούν, θα μας δοθεί η δυνατότητα να επικεντρώσουμε σε όσα πειράματα έφεραν καιρικές αλλαγές στην οπτική παγίδευση και να αναλύσουμε περεταίρω τη λειτουργία τους.

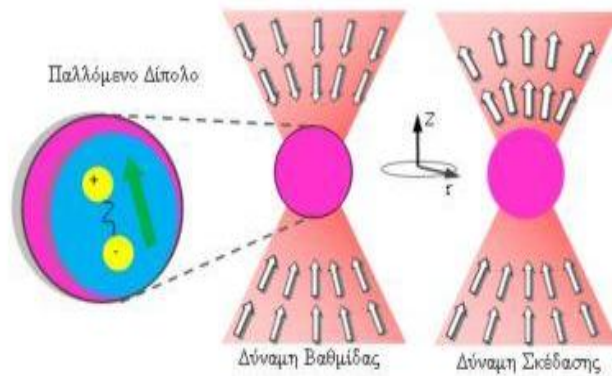
2.4 Θεωρητική ανάλυση της οπτικής παγίδευσης σωματιδίων - Οπτικές δυνάμεις.

Μία οπτική δύναμη, μπορεί να αναλυθεί σε δύο επιμέρους. Η μία είναι η δύναμη σκέδασης που ακολουθεί τη διεύθυνση διάδοσης του φωτός, ενώ η άλλη είναι η δύναμη βαθμίδας που κινείται στη διεύθυνση της χωρικής βαθμίδας του φωτός [9].

Η δύναμη σκέδασης είναι μη συντηρητική. Καθώς το φως προσπίπτει πάνω σε ένα διηλεκτρικό σωματίδιο προερχόμενο από μία διεύθυνση, αρχίζει να σκεδάζεται σε διάφορες κατευθύνσεις, ενώ υπάρχει πιθανότητα και κάποια φωτόνια να απορροφηθούν. Όταν, η σκέδαση είναι ισότροπη τότε οι συνιστώσες σκέδασης και βαθμίδας αλληλοαναιρούνται σε όλες τις διευθύνσεις, εκτός από τη διεύθυνση διάδοσης της ακτινοβολίας. Η δύναμη βαθμίδας από την άλλη, εμφανίζεται όταν υπάρχει απότομη βαθμίδα πεδίου (π.χ. στην εστία μιας δέσμης laser). Η δύναμη βαθμίδας δημιουργείται λόγω της συμβολής του πεδίου του σκεδαζόμενου φωτός με το πεδίο του προσπίπτοντος.

Όταν πρόκειται για μια οπτική παγίδα, η δέσμη laser δημιουργεί στο διηλεκτρικό σωματίδιο παλλόμενα δίπολα. Από την αλληλεπίδραση των δίπολων αυτών με το ανομοιογενές πεδίο στην εστία της δέσμης, δημιουργείται τελικά η δύναμη βαθμίδας που παγιδεύει το σωματίδιο. Η δύναμη που προκύπτει έτσι, είναι ανάλογη της πολωσιμότητας του διηλεκτρικού σωματιδίου και της έντασης του πεδίου βαθμίδας στην εστία. Η συνιστώσα της βαθμίδας είναι συντηρητική δύναμη. Όποτε, για να είναι σταθερή η παγίδα και στις τρεις διαστάσεις πρέπει η αξονική συνιστώσα βαθμίδας της οπτικής δύναμης, που τραβάει το σωματίδιο στην περιοχή της εστίασης της δέσμης, να υπερσχύει της συνιστώσας σκέδασης, η οποία σπρώχνει το σωματίδιο μακριά από την εστία.

Ως αποτέλεσμα της ισοροπίας μεταξύ των δυνάμεων σκέδασης και βαθμίδας, είναι η μετατόπιση της θέσης ισοροπίας του παγιδευμένου σωματιδίου λίγο πιο χαμηλά από την εστία του αντικειμενικού φακού (εικόνα 2.1). Ωστόσο, ο μηχανισμός δημιουργίας των δύο αυτών δυνάμεων εξαρτάται από τις διαστάσεις του σωματιδίου σε σχέση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που επιδρά.



Εικόνα 2.1: Στην παραπάνω εικόνα φαίνεται η διαδρομή που ακολουθούν οι δύο δυνάμεις. Η δύναμη βαθμίδας έχει τη διεύθυνση της χωρικής βαθμίδας του φωτός. Η δύναμη σκέδασης ακολουθεί τη διεύθυνση διάδοσης του φωτός [9].

Γενικά, οι οπτικές δυνάμεις είναι πολύ δύσκολο να μετρηθούν απευθείας. Υπάρχουν τέσσερις βασικές μέθοδοι προσδιορισμού των οπτικών δυνάμεων και είναι οι εξής: η μέθοδος διαφυγής, η μέθοδος ακαμψίας της παγίδας, η μέθοδος διηλεκτροφόρησης και η βαθμονόμηση με βάση τη θερμική κίνηση των σωματιδίων στο μέσο. Όμως, δεν θα χρειαστεί να αναλύσουμε τις μεθόδους αυτές καθώς δεν μας αφορά άμεσα οι μέτρηση των οπτικών δυνάμεων στην οπτική παγίδευση.

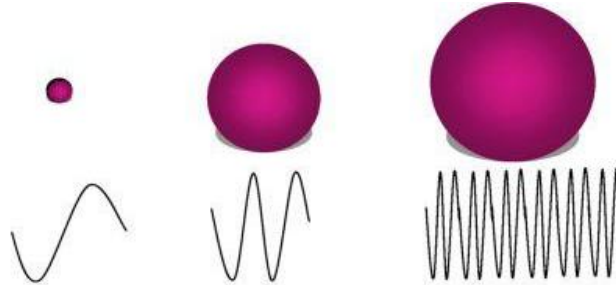
Η προσέγγιση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή μιας οπτικής παγίδας, εξαρτάται επίσης από το μέγεθος του σωματιδίου. Ανάλογα λοιπόν, υπάρχουν και τρεις περιοχές στις οποίες μπορεί πολύ εύκολα να υπολογιστεί η δύναμη σε ένα σφαιρικό σωματίδιο.

Η πρώτη από τις τρεις περιοχές, αναφέρεται σε εκείνα τα σωματίδια στόχου που η ακτίνα τους είναι πολύ πιο μεγάλη από το μήκος κύματος του φωτός στο περιβάλλον μέσο, δηλαδή $a \gg \lambda_{\text{eff}}$ (όπου a η ακτίνα του σωματιδίου). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, πραγματοποιείται σκέδαση Mie καθώς τηρούνται οι προϋποθέσεις. Οπότε, οι οπτικές δυνάμεις είναι πολύ εύκολο να μετρηθούν χρησιμοποιώντας γεωμετρική οπτική.

Από την άλλη, η δεύτερη περιοχή αναφέρεται σε σωματίδια με ακτίνα περίπου ίση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας ($a \sim \lambda_{\text{eff}}$). Για σωματίδια τέτοιου μεγέθους, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές θεωρητικές μελέτες με υπολογισμούς που βασίζονται στην ηλεκτρομαγνητική θεωρία κι έχουν δώσει μια πιο ακριβή προσέγγιση στις συνοριακές συνθήκες που περιγράφουν το φαινόμενο της οπτικής παγίδας στη περιοχή αυτή.

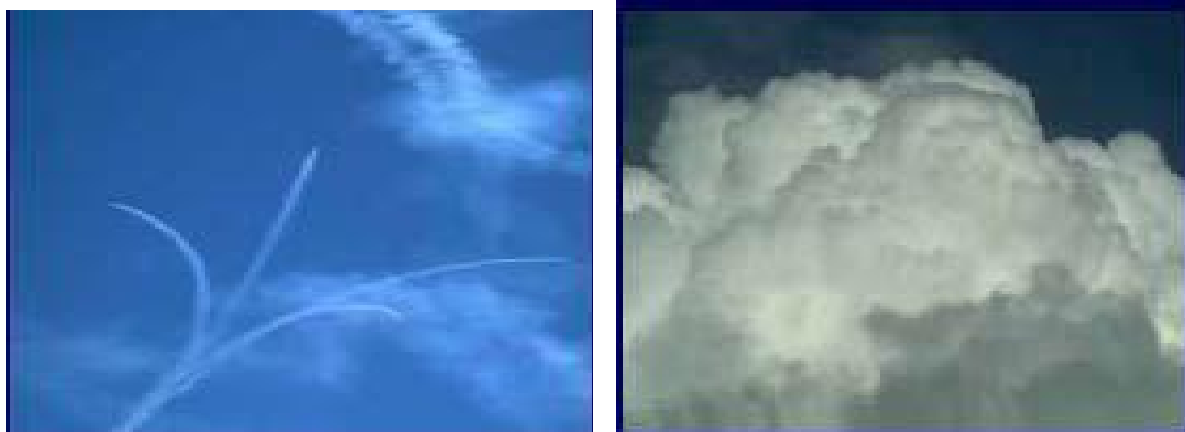
Τρίτη περιοχή τέλος, είναι εκείνη στην οποία η ακτίνα εμφανίζεται σημαντικά μικρότερη από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και ισχύει:

$a \ll \lambda_{\text{eff}}$. Άρα, ικανοποιούνται οι συνθήκες για σκέδαση Rayleigh και οι οπτικές δυνάμεις μπορούν να υπολογιστούν μέσω της ηλεκτροδυναμικής προσέγγισης. Οι τρεις αυτές περιοχές περιγράφονται και στην ακόλουθη εικόνα (εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2: Εδώ φαίνονται και οι τρεις διαφορετικές αυτές περιπτώσεις. Στη πρώτη απεικόνιση από τα αριστερά επικρατεί η σκέδαση Rayleigh, καθώς το μήκος κύματος είναι σημαντικά μεγαλύτερο από το σωματίδιο. Στην ενδιάμεση περιοχή τόσο το μήκος κύματος όσο και το σωματίδιο έχουν συγκριτικά ίδιες διαστάσεις. Στην Τρίτη περιοχή, το σωματίδιο είναι μεγαλύτερο από το μήκος κύματος οπότε κι επικρατεί η σκέδαση Mie [9].

Από κάτω, εμφανίζονται δύο πολύ χαρακτηριστικά παραδείγματα των δύο τύπων σκέδασης του φωτός, Rayleigh και Mie (εικόνα 2.3).



α)

β)

Εικόνα 2.3: α) Το μπλε χρώμα του ουρανού, οφείλεται στη σκέδαση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας κατά Rayleigh. β) Αντίθετα, τα σύννεφα έχουν λευκό χρώμα λόγω της σκέδασης Mie [10].

Για να οριστεί το μήκος κύματος της ακτινοβολίας του περιβάλλοντος μέσου όμως και να μπορέσει να συγκριθεί με την ακτίνα του σωματιδίου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο εξής τύπος: $\lambda_{\text{eff}} = \lambda_0 / n_m$, όπου λ_0 το μήκος κύματος της ακτινοβολίας στο κενό και όπου n_m ο δείκτης διάθλασης του περιβάλλοντος μέσου.

2.5 Οι οπτικές παγίδες γενικά.

Συνήθως, ως οπτικές παγίδες επιλέγονται lasers συνεχούς λειτουργίας και σε μέτριες εντάσεις. Ο Berns, ήταν από τους πρώτους που μίλησαν για τη χρήση και την ιστορία των οπτικών παγίδων [18]. Τα μήκη κύματος των lasers των οπτικών παγίδων μπορεί να διαφέρουν. Ωστόσο, οι τιμές τους κυμαίνονται από 0.6 έως 1.1 μm . Μέσα σε αυτό το εύρος μηκών κύματος, βρίσκεται και το οπτικό παράθυρο απορρόφησης για τα περισσότερα από τα βιολογικά υλικά. Οπότε, το δείγμα δεν διατρέχει κίνδυνο να αλλοιωθεί ή καταστραφεί από την ισχυρή απορρόφηση της ακτινοβολίας παγίδευσης ή από τα ανεπιθύμητα φωτοχημικά φαινόμενα. Για την σωστή επιλογή του κατάλληλου μήκους κύματος, καίρια σημασία έχει κι ο χρόνος που εκτίθεται το δείγμα στην ακτινοβολία. Για παράδειγμα, έπειτα από διάφορες μελέτες παρατηρήθηκε ότι αν κύτταρα εκτίθονταν για μεγάλο χρονικό διάστημα σε ακτινοβολία με μήκος κύματος $\lambda=1.06\mu\text{m}$, τότε μπορούσε να προκληθεί φωτοδυναμική βλάβη σε αυτά. Ακόμη, παρατηρήθηκε πως τα κύτταρα είναι λιγότερο ευαίσθητα σε ακτινοβολίες με μήκη κύματος 700nm και 820nm και πολύ ευαίσθητα στα 760nm.

Ένα απλό σύστημα οπτικής παγίδας σε ένα συμβατικό μικροσκόπιο, απαιτεί μία μονορυθμική δέσμη laser. Σκοπός είναι, η δέσμη αυτή να εισέλθει μέσα στο μικροσκόπιο χωρίς να επηρεάσει τη βασική του λειτουργία. Η πιο διαδεδομένη σήμερα, είναι η μονορυθμική δέσμη με γκαουσιανό προφίλ. Επιπλέον, θα χρειαστεί κι ένας αντικειμενικός φακός με αριθμητικό άνοιγμα συνήθως μεγαλύτερο του ενός, για να είναι δυνατή όσο γίνεται πιο μεγάλη εστίαση στο επίπεδο του δείγματος. Η μέγιστη εστίαση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί όμως, περιορίζεται εξαιτίας του φαινομένου της περίθλασης του φωτός που δημιουργείται.

Οι κατασκευαστές μικροσκοπίων, προχώρησαν στην κατασκευή αντικειμενικών φακών με διαπερατότητα στο ορατό μέρος του φάσματος. Έτσι, όλες οι αντανάκλαστικές επιφάνειες αποδίδουν άψογα στο ορατό, ενώ εξασθενούν σημαντικά στο υπέρυθρο όπου και ανήκουν τα μήκη κύματος που χρησιμοποιούνται ευρέως στον τομέα της οπτικής παγίδευσης σε βιολογικά δείγματα. Ένας καλός αντικειμενικός φακός, μπορεί να φτάσει σε διαπερατότητα 75% περίπου. Για αυτόν ακριβώς τον λόγο, η επιλογή του αντικειμενικού φακού είναι πολύ σημαντική, ώστε να δίνει τη μέγιστη δυνατή εστίαση. Βέβαια, δεν είναι η μόνη προϋπόθεση που πρέπει να τηρηθεί.

Εν κατακλείδι, το πιο κατάλληλο laser για την οπτική παγίδευση βιολογικών δομών είναι το laser στερεάς κατάστασης Nd:YAG με μήκος κύματος εκπομπής στα 1064nm. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το Nd:YLF με εκπομπή στα 1047 και 1053nm, με αρκετά υψηλή ισχύ για παγίδευση. Φυσικά, υπάρχουν κι άλλα συστήματα με υπέρυθρα δυαδικά lasers

με μήκη κύματος που κυμαίνονται από 780 nm έως και 1330 nm. Όμως, οι περιοχές εκπομπής που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι στα 820-860 nm.

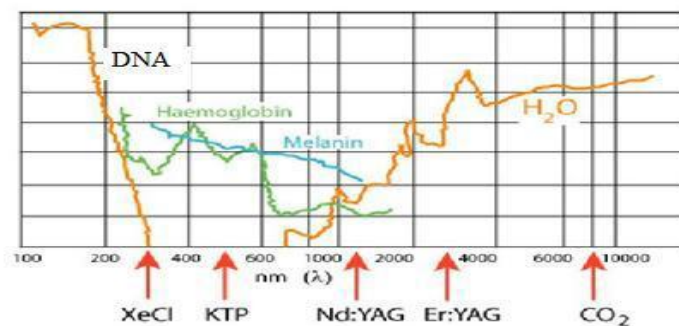
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Δυνατότητες συνδυασμού της οπτικής λαβίδας με άλλες τεχνικές!

3.1 Γενικά χαρακτηριστικά μιας οπτικής παγίδας.

Συνήθως τα Laser που χρησιμοποιούνται ως οπτικές παγίδες είναι συνεχούς λειτουργίας με μέτριες εντάσεις. Επιπλέον, τα μήκη κύματος κυμαίνονται από 0,6 μm έως 1,1 μm για το λόγο ότι εκεί βρίσκεται το οπτικό παράθυρο απορρόφησης για τα πιο πολλά βιολογικά υλικά, έτσι ώστε να αποφεύγεται η καταστροφή του δείγματος από την ισχυρή απορρόφησης της ακτινοβολίας παγίδευσης και τα ανεπιθύμητα φωτοχημικά φαινόμενα.

Για την οπτική παγίδευση βιολογικών εφαρμογών φαίνεται πως το πιο κατάλληλο Laser είναι το Laser στερεάς μορφής Nd:YAG που έχει μήκος κύματος εκπομπής 1064 nm καθώς και το κοντινό του Nd:YLF με μήκη κύματος στα 1047 έως 1053nm με πολύ καλή ισχύ για παγίδευση. Επιπροσθέτως, είναι κάποια εμπορικά συστήματα υπέρυθρων διοδικών Laser με μήκη κύματος από 780nm-1330nm όπου στην περιοχή των 820-860nm να είναι από τις τυπικές που χρησιμεύουν για την παγίδευση [9].

Επιπλέον, το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας κάθε φορά εξαρτάται από την εκάστοτε εφαρμογή. Πιο αναλυτικά, όπως θα δούμε και στο σχήμα 3.1 από το φάσμα απορρόφησης των βιολογικών δειγμάτων, φαίνεται ότι το DNA απορροφά πιο πολύ στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος που είναι περίπου στα 260nm. Η απορρόφηση στην ορατή περιοχή πραγματοποιείται αιμοσφαιρίνη και τη μελανίνη, ενώ στην υπέρυθρη μετά τα 800nm η απορρόφηση εξασθενεί πλήρως. Στην περιοχή του υπέρυθρου σημαντικό ρόλο παίζει το νερό, όπου παρουσιάζει υψηλή απορρόφηση σε όλη την περιοχή του υπέρυθρου με υψηλή κορυφή στα 3 μm .



Εικόνα 3.1.: Η εικόνα μας δείχνει το φάσμα απορρόφησης των βασικών χρωστικών ουσιών των βιολογικών υλικών. Το H₂O έχει ισχυρή απορρόφηση μετά τα 2 μm . Επίσης σημειώνονται κάποια μήκη κύματος Laser [9].

Η ισχύς της δέσμης του Laser θα πρέπει να είναι από μερικά m W έως 500 m W όπου η δέσμη θα πρέπει να εστιάζεται ισχυρά από αντικειμενικό φακό με διάμετρο 0,5-1,0 μm . Οι συγκεκριμένες συνθήκες επάγουν δυνάμεις μερικών Pn που είναι ικανές να παγιδεύσουν και να οδηγήσουν διάφορα βιομόρια και κύτταρα.

Για την επιλογή του κατάλληλου μήκους κύματος και τη βιωσιμότητα του βιολογικού δείγματος βασικό ρόλο παίζει ο χρόνος έκθεσης του δείγματος στην αντίστοιχη ακτινοβολία. Από κάποιες έρευνες που έγιναν έδειξαν ότι η έκθεση κυττάρων για μεγάλο χρόνο $\lambda=1,06 \mu\text{m}$, προκάλεσε φωτοδυναμική βλάβη στα κύτταρα, που πιθανότατα να προκλήθηκε από οπτική άντληση του μονομερούς οξυγόνου, μιας τοξικής ελεύθερης ρίζας. Επιπλέον, με κάποια πειράματα που έγιναν για τη μελέτη της χρωμοσωματικής αλλοίωσης που επιφέρει το Ti:sapphire Laser σε κύτταρα στην ώρα της μίτωσης, φάνηκε ότι τα κύτταρα είναι λιγότερο ευαίσθητα στην ακτινοβολία που κυμαίνεται από 700nm-820nm αλλά είναι πολύ ευαίσθητα στα 760nm [9].

3.2 Οπτική παγίδευση και μικροδέσμη Laser

Η μικροδέσμη Laser χρησιμεύει στην αποδόμηση, στην κοπή, στην τήξη του βιολογικού υλικού. Έτσι, μπορεί να ονομαστεί και ως οπτικό ψαλίδι. Μέσα από τις διαδικασίες αυτές, απαιτείται από το βιολογικό υλικό μια ισχυρή απορρόφηση της φωτεινής δέσμης. Επιπροσθέτως, δύο βασικά χαρακτηριστικά μιας πηγής φωτός ώστε να χρησιμοποιηθεί και σαν μικροδέσμη Laser είναι να έχει τουλάχιστον μια μικρή απόκλιση και να εστιάζει σε μικρή διάμετρο, ώστε η φωτεινή δέσμη να είναι παράλληλη.

Για το αποτέλεσμα μιας λεπτή εστίασης της δέσμης απαιτείται φακός με σχετικά μεγάλο αριθμητικό άνοιγμα αφού για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται αντικειμενικός φακός μικροσκοπίου του οποίου το αριθμητικό άνοιγμα να φτάνει μέχρι και $NA=1,3$. Παρ'όλα αυτά το μήκος κύματος ακτινοβολίας θα πρέπει να είναι μικρό. Η παραπάνω απαίτηση είναι αποτέλεσμα του γεγονότος ότι το υπεριώδες φως έχει καλύτερη σχέση αλληλεπίδρασης με βιολογικά υλικά όπως με κυτταρικές μεμβράνες σε σχέση με το φως στα μεγαλύτερα μήκη κύματος. Ταυτόχρονα, η ακτινοβολία με μήκη κύματος μικρότερη από 300 nm είναι γνωστό ότι μπορεί να βλάψει τα βιολογικά υλικά. Σε μια προσπάθεια συμβιβασμού και αποφυγής βλάβης του κυττάρου καλό θα ήταν για πρακτικούς λόγους να χρησιμοποιηθούν δέσμες με μήκη κύματος που θα κυμαίνονται από 320 εως 350 nm.

Από την εστίαση μιας παλμικής δέσμης Laser παίρνουμε μεγάλες εντάσεις. Οι δέσμες Laser οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως και μικροδέσμες Laser συχνά παράγουν παλμούς με διάρκεια ns. Κάθε παλμός δίνει και μία ενέργεια από mJ έως mJ [9].

Επιπροσθέτως, επειδή μας νοιάζει η ισχύς ανά μονάδα επιφάνειας εστιάζοντας τη δέσμη σε διαμέτρους μικρομέτρων ή ακόμη και πιο μικρές, θα μπορούσαμε να συγκεντρώσουμε μια δέσμη Laser της τάξης των 10-10 w/cm. Λόγω ότι υπάρχουν μεγάλες τιμές ισχύος ανά μονάδα επιφάνειας υπάρχουν και μεγάλες θερμοκρασίες, επομένως είναι λογικό ο καθένας να έχει την απορία του πως μπορεί μια μικροδέσμη Laser να σχετίζεται με τις δομές χωρίς να είναι η καταστροφή τους. Αυτό που γίνεται είναι ότι είναι τοπικό φαινόμενο θέρμανσης. Επιπλέον εκεί που εστιάζει το Laser η τιμή της έντασης της δέσμης θα μειωθεί στο 1/100 της κορυφής της σε αυτά τα μερικά ns που κρατάει ο παλμός του Laser. Όμως υπάρχει ένα ερώτημα στο γιατί προκαλεί ένα τόσο σύντομο αλλά πολύ έντονο θερμικό σοκ για κάποιο βιολογικό υλικό. Πειραματικά στοιχεία δεν υπάρχουν για το λόγο ότι είναι πολύ δύσκολο να μετρήσει κάποιος τόσο σύντομες διαδικασίες. Ωστόσο υπάρχουν όμως κάποια στοιχεία για πρωτεϊνικά μόρια από τα οποία βγαίνει το συμπέρασμα ότι αυτή η υψηλή θερμοκρασία θα είναι πολύ σύντομη ώστε να προκαλέσει κάποια βλάβη στο δείγμα. Όμως θα μπορέσει να προκληθεί κάποια βλάβη από το σκεδαζόμενο φως. Συγκεκριμένα τα πειράματά μας δείχνουν ότι η μικροδέσμη

Laser δουλεύει με πολύ καλή ακρίβεια και πιο συγκεκριμένα στη περίπτωση της μικροτομής των χρωμοσωμάτων, στην εξέταση του δείγματος με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία ή στην Μικροσκοπία Ατομικής Δυναμικής.

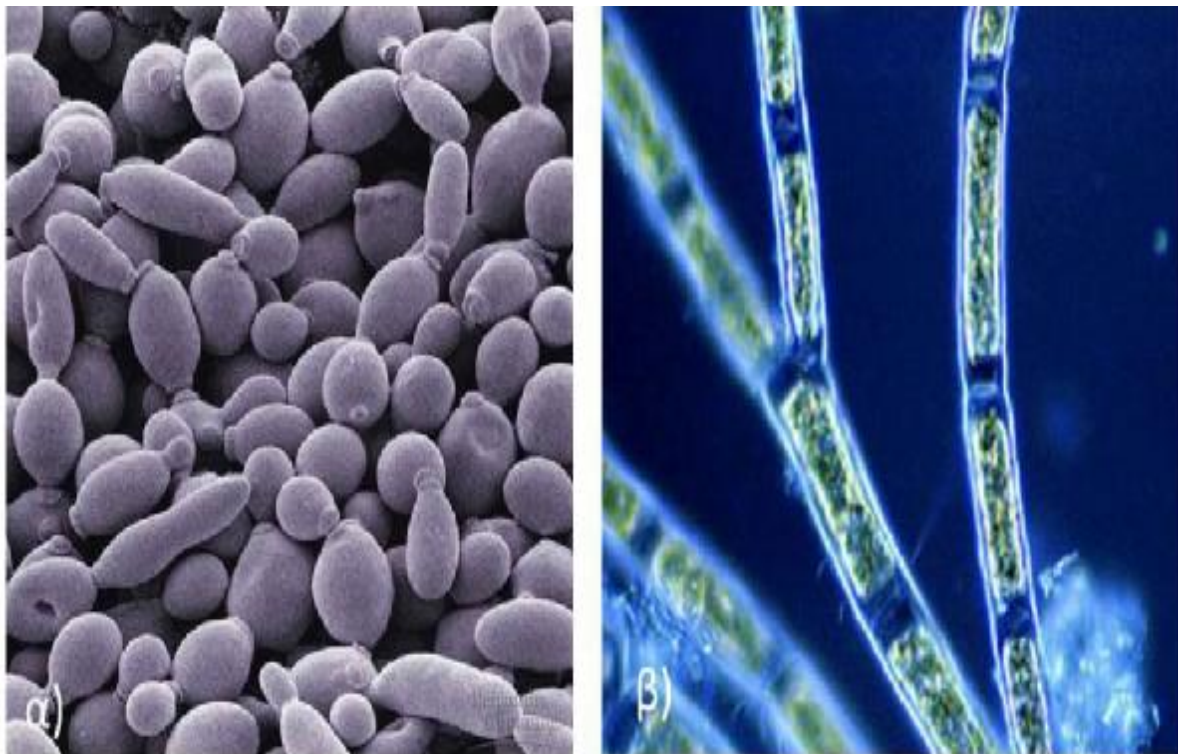
Για τον μικροχειρισμό μικροδομών με το φώς θα πρέπει να υπάρξει συνδυασμός της μικροδέσμης Laser με την οπτική παγίδα, δηλαδή τα αντικείμενα θα μπορούν να κρατηθούν σταθερά σε κάποια θέση ή θα μεταφέρονται με την οπτική παγίδα και αργότερα θα επεμβαίνουμε σε αυτά με τη μικροδέσμη Laser. Τέτοιοι συνδυασμοί έχουν πραγματοποιηθεί από πολλούς ερευνητές έτσι ώστε να αποφεύγεται κάθε μηχανική επαφή με το δείγμα, με αποτέλεσμα να ελλατώνεται ο κίνδυνος για βλάβη στο βιολογικό υλικό [9].

3.3 Δράση της μικροδέσμης Laser σε μύκητες και φύκια

Θα αναφερθούμε με λίγα λόγια σε κάποια πειράματα αποδόμησης τα οποία χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Στη πρώτη κατηγορία αναφέρονται τα κύτταρα μαγιάς όπου μπορούν να θεωρηθούν ως κατάλληλο μοντέλο ευκαρυωτικού κυττάρου. Είναι ευρύς γνωστό ότι η μελέτη τους δίνει κάποιες βασικές πληροφορίες που αφορούν τη δράση επικίνδυνων οργανισμών όπου προκαλούν κάποιες ασθένειες στον άνθρωπο. Επιπροσθέτως, δεύτερη κατηγορία αναφέρεται σ'ένα είδος φυκιού το οποίο ονομάζεται *ectarpus siliculosus*, όπου θεωρείται ένα οικολογικό μοντέλο για τη μελέτη της απορρόφησης του οξυγόνου που έχει προκληθεί από βαριά μέταλλα.

Για τα συγκεκριμένα πειράματα η διάταξη που έχει χρησιμοποιηθεί πρόκειται για ένα παλμικό Laser N2 ως μικροδέσμη Laser και ένα συνεχούς λειτουργίας Nd:YAG Laser που χρησιμοποιείται ως οπτική παγίδα.

Στην εικόνα 3.2^α μας δείχνει τη μακροσκοπία σάρωσης (SEM) κυττάρων μαγιάς ενώ στην εικόνα 3.2^β μας δείχνει τα φύκια *ectarpus siliculosus*. Τα φύκια εμπεριέχουν plurilocular σποράγγεια με διάμετρο 12,5 μm και μήκος 200μm.



Εικόνα 3.2: α) Η εικόνα (α) μας δείχνει τα κύτταρα μαγιάς και η β) μας δείχνει τα φύκια *ectacarpus siliculosus* τα οποία παρατηρήθηκαν από οπτικό μικροσκόπιο [9].

3.4 Πολλαπλές οπτικές λαβίδες

Η πιο γνωστή μορφή οπτικής παγίδας είναι η μονή δέσμη οπτικής παγίδας οπού χρησιμοποιείται για τη παγίδευση σωματιδίων που είναι μερικών μικρό- και νανο-διαστάσεων. Είναι σημαντικό εργαλείο για κάποιες εφαρμογές όπως είναι οι βιοϊατρικές μετρήσεις, οι κβαντικοί υπολογισμοί καθώς και οι μη γραμμικές οπτικές μετρήσεις. Επιπλέον, η παγίδευση ενός μόνο σωματιδίου από μια δέσμη Laser είναι μειονέκτημα για κάποιες εφαρμογές και πιο συγκεκριμένα στο τομέα της βιολογίας και της ηλεκτρονικής, όπου ο ταυτόχρονος μικροχειρισμός μικροσκοπικών σωματιδίων είναι πολύ χρήσιμο. Για το συγκεκριμένο λόγο, έχουν δημιουργηθεί πολλά συστήματα για τη ανάπτυξη πολλαπλών οπτικών παγίδων.

Κάποιες από αυτές τις διατάξεις είναι το Laser scanning, το φαινόμενο συμβολής. Σε αυτή τη περίπτωση αν υπάρχει συμβολή, θα δημιουργηθεί ένα πλήθος παγίδων είτε με απλή διαίρεση μιας δέσμης Laser σε δύο ή περισσότερες καθώς επίσης και το συνδυασμό τους πριν τον αντικειμενικό φακό ή με δύο ή περισσότερες δέσμες Laser που θα μπορούν να συνδυαστούν.

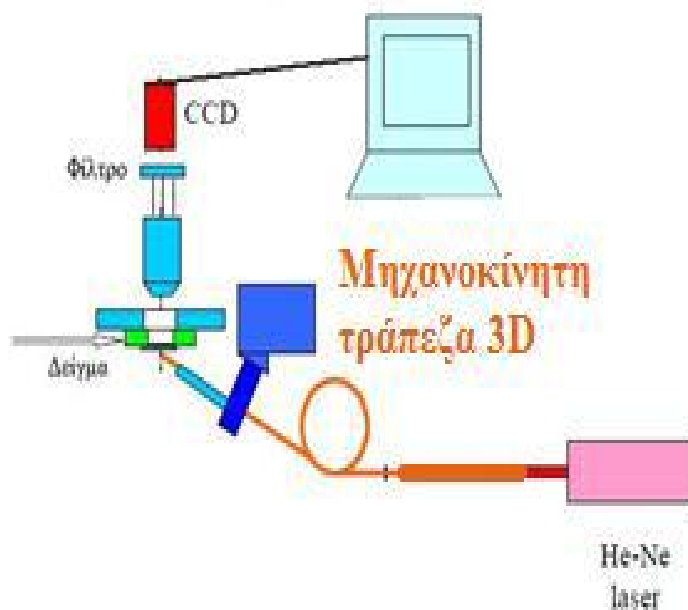
Θα αναφερθούμε σ'ένα παράδειγμα πολλαπλής οπτικής παγίδας που αποτελεί τη δημιουργία μιας διπλής οπτικής παγίδας έτσι ώστε να μελετηθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ ενός κυττάρου μυοσίνης με νηματοειδής μορφή ακτίνης. Στη συνέχεια κάποιοι ερευνητές δημιούργησαν ένα σύστημα πολλαπλών οπτικών παγίδων για να μελετήσουν ακριβώς την ίδια αλληλεπίδραση. Επιπροσθέτως, αναπτύχθηκαν πολλαπλές οπτικές παγίδες, με σκοπό να μελετηθεί η σύσπαση μυών, η επιμήκυνση του μορίου DNA καθώς και τη κατασκευή γραμμικών δομών για εφαρμογές μικροροής. Κάποιες πολλαπλές οπτικές παγίδες, δημιουργήθηκαν από μικροφακούς με σκοπό να παγιδεύουν και να περιστρέφουν μικροσκοπικά αντικείμενα σημαντική εφαρμογή για την επιμήκυνση και την περιστροφή πολυμερικών σωματιδίων. Επιπλέον, μια πρόσφατη εφαρμογή πολλαπλής οπτικής παγίδας, οπού δημιουργήθηκε με εφαρμογή της οπτικής ολογραφίας και με το συνδυασμό της με τη φασματοσκοπία Raman, είναι η ακινητοποίηση κυττάρων ανθρώπινων κυττάρων κερατίνης και η καταγραφή να γίνεται χωριστά των φασμάτων από το κυτταρόπλασμα και από την πυρηνική μεμβράνη [9].

Η οπτική παγίδα είναι μια πολύ καλή μέθοδος για τη μέτρηση των μηχανικών ιδιοτήτων της κυτταρικής μεμβράνης. Διάφορα κυτταρικά σωματίδια έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση οπτικών συστημάτων. Όμως η οπτική παγίδα έχει χρησιμοποιηθεί σε βιολογικές έρευνες, όμως η εφαρμογή της σε μύκητες και βακτηρίδια έχει παραμεληθεί σε αρκετά υψηλό βαθμό.

3.5 Ανάπτυξη οπτικής παγίδας ίνας

Ο οπτικός σχεδιασμός του συστήματος οπτικής παγίδας ινών αποδεσμεύει τις πειραματικές διατάξεις, αυτή τη πειραματική διάταξη θα την παρατηρήσουμε και στο παρακάτω σχήμα.

Αρχικά χρησιμοποιήθηκε ένα Laser παγίδευσης που ήταν συνεχούς λειτουργίας He-Ne το οποίο είχε μήκος κύματος εκπομπής $\lambda=632,8$ nm, οπού αποτελεί μια φθηνή και εύκολη λύση για κάποια συγκεκριμένα βιολογικά πειράματα και στη συνέχεια αντικαταστάθηκε μ'ένα Laser με συνεχούς λειτουργίας Nd:YAG Laser που είχε μήκος κύματος $\lambda=1,06$ μm . Η διάμετρος που έχει η δέσμη Laser του He-Ne είναι στα 2mm, ενώ η μέγιστη εκπεμπόμενη ισχύ της δέσμης είναι στα 8,2 mW. Η μεταφορά της δέσμης παγίδευσης στο μικροσκόπιο πραγματοποιήθηκε μέσω μιας οπτικής ίνας ορατού φάσματος, οπού στην είσοδο της βρισκόταν ένας υποδοχέας διαμαντιού. Κατά την έξοδο της ίνας η ισχύς μετρήθηκε γύρω στα 156 μw χρησιμοποιώντας το ισχυρόμετρο (Newport M815).Επιπλέον στην έξοδο της ίνας χρησιμοποιήθηκε καλυπτρίδα χαλαζία ώστε να κυματοδηγήσει τη δέσμη στο δείγμα. Η μεταφορά του άκρου της ίνας έγινε μηχανοκίνητα.



Εικόνα 3.3: Αναπαράσταση πειραματικής διάταξης οπτικής παγίδας ίνας. Χρησιμοποιείται Laser συνεχούς λειτουργίας He-Ne οπού καθοδηγήθηκε μέσω οπτικής ίνας ορατού στο δείγμα υπό γωνία 42° [9].

Στη συνέχεια ο θάλαμος του δείγματος και της ίνας σχημάτιζε γωνία 42° έτσι ώστε να εξασφαλιστεί παγίδευση. Για το δεύτερο σύστημα οπτικής παγίδας που αναπτύχθηκε η ισχύς της δέσμης του Laser ήταν 253 mW μετά την έξοδο από το Laser, αντίθετα κατά την έξοδο της ίνας ήταν περίπου 42,6 mW. Επιπλέον η ίνα που μετέφερε με μήκος κύματος $\lambda=1,06 \mu\text{m}$ στο μικροσκόπιο ήταν μια ίνα πυριτίας που είχε αριθμητικό άνοιγμα $0,37 \pm 0,2$ με μήκος 80 cm και είχε απώλειες 10 dB/m. Στο ένα άκρο της ίνας τοποθετήθηκε καλυπτρίδα χαλαζία και όλο το σύστημα μεταφέρθηκε μηχανοκίνητα στο δείγμα ενώ η γωνία που σχημάτιζε με το θάλαμο του δείγματος ήταν 38° . Στο μικροσκόπιο τοποθετήθηκε ένας διχρωϊκός καθρέπτης, οπύ ανακλά κατά 99,5% την ακτινοβολία σε $\lambda=632,8 \text{ nm}$ και σε $\lambda=2,9 \mu\text{m}$ για γωνία πρόσπτωσης 45° και είναι διαπερατός και σε άλλα μήκη κύματος. Επίσης χρησιμοποιήθηκε ένας καταδυτικός φακός που είχε αριθμητικό άνοιγμα 1,25 και μεγέθυνση 100x οπύ εισάγει καπύ στις 10% απώλειες στην ισχύ της δέσμης του Laser που δέχεται [9].

Η επεξεργασία και η παρατήρηση της εικόνας έγιναν μέσω κάποιου προγράμματος στον H/Y οπύ ήταν συνδεδεμένος με camera CCD.

3.6 Παρατήρηση οπτικής παγίδας ίνας και μικροδέσμης Laser

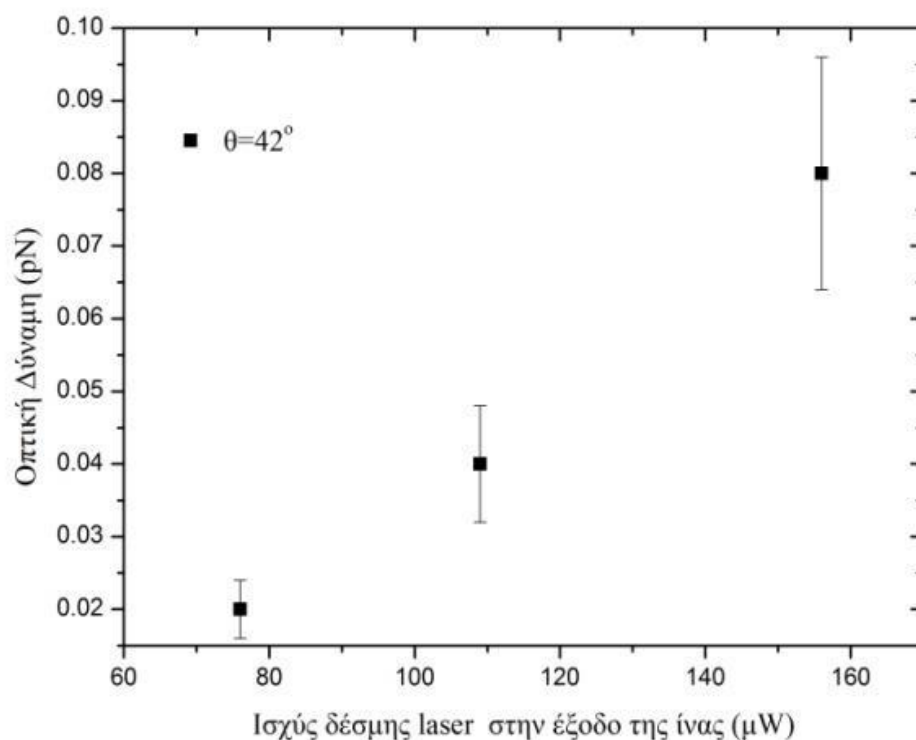
Οι παραπάνω διατάξεις (οπτικής παγίδας ίνας He-Ne και οπτικής παγίδας ίνας Nd:YAG Laser) πραγματοποιήθηκαν αρχικά σε κύτταρα μαγιάς και στη συνέχεια σε σφαίρες PMMA που είχαν διάμετρο από 1 έως 10 μm .

Η διάμετρος της δέσμης του Laser He-Ne μετρήθηκε με κάποιο λογισμικό πρόγραμμα του μικροσκοπίου. Το σημάδι του He-Ne Laser έχει κυκλική μορφή και η διάμετρος του είναι γύρω στα 5,2 μm , αντίθετα το σημάδι του Nd:YAG Laser έχει και αυτό κυκλική μορφή αλλά η διάμετρος του είναι κάπου στα 4,3 μm . Αν και δεν είναι πολύ ικανοποιητική η συνθήκη που απαιτείται για τη διάμετρο της κηλίδας του Laser μικρότερη από 0,7 μm ωστέ να υπάρξει επιτυχής παγίδα, η παρατήρηση όμως της οπτικής παγίδας ίνας είναι αποδεκτή.

3.7 Εξέταση οπτικής παγίδας ινών.

Ο σχηματισμός της οπτικής παγίδας ινών He-Ne Laser πραγματοποιήθηκε με επιτυχία σε κύτταρα μαγιάς τα οποία δεν απορροφούν στο μήκος κύματος της δέσμης. Τα συγκεκριμένα κύτταρα μαγιάς που χρησιμοποιούνται έχουν διάμετρο που κυμαίνεται από 3-8 μm μετρούμενη και είχαν απόκλιση 7% χρησιμοποιώντας τη βοήθεια του λογισμικού προγράμματος του μικροσκοπίου. Για την παρατήρηση του φαινομένου αυτού χρησιμοποιήθηκε ένας καταδυτικός αντικειμενικός φακός που είχε μεγέθυνση 100x.

Πολύ σημαντικό ρόλο σε τέτοιες πειραματικές διατάξεις, παίζει η καλυπτρίδα του χαλαζία για τη σταθεροποίηση της παγίδας όπου τοποθετήθηκε στην έξοδο της ίνας επικεντρώνοντας τη δέσμη με μια διάμετρο κηλίδας, στο επίπεδο του δείγματος. Η καλυπτρίδα δεν ήταν και τόσο σημαντική, αλλά δημιούργησε μια πολύ ισχυρή συνιστώσα βαθμίδας. Λόγω ότι υπήρχε χαμηλή ισχύς της δέσμης στην έξοδο της ίνας θα υπάρξει δυσκολία στην βαθμονόμηση της διάταξης μέσω διηλεκτροφόρησης και αυτό συμβαίνει για δύο πολύ βασικούς λόγους, ο πρώτος λόγος οφείλεται στο ότι δεν θα υπάρξει και πολύ πολυτέλεια στο να μεταβάλλει κάποιος την ισχύ της δέσμης Laser και ο δεύτερος λόγος είναι ότι λόγω ότι υπάρχουν χαμηλές τιμές ισχύος της δέσμης Laser η αβεβαιότητα για τη καταγραφή της τάσης είναι μεγάλη και οι μετρήσεις δεν θα είναι και πολύ αξιόπιστες. Παρ' όλα αυτά έγινε μια ενδεικτική βαθμονόμηση ώστε να υπάρξει μια ιδέα για την απόδοση της παγίδας μας αλλά υπάρχει μια αμφιβολία για τα αποτελέσματα. Οι μετρήσεις έγιναν σε κύτταρα μαγιάς που η διάμετρος τους κυμαίνονταν περίπου στα 3 μm και η μεγέθυνση του αντικειμενικού φακού του μικροσκοπίου ήταν 100x. Παρατηρήθηκε ότι στην έξοδο της ίνας για τιμή ισχύος της δέσμης Laser που είναι μικρότερη από 76 mW δεν παρατηρήθηκε παγίδα. Στην παρακάτω εικόνα θα δούμε τα πειραματικά σημεία [9].



Εικόνα 3.4: Η εικόνα μας δείχνει τη συνάρτηση ισχύος της δέσμης Laser He-Ne κατά την έξοδο της ίνας οπού χρησίμευσε για τη μεταφορά της δέσμης του Laser στο θάλαμο του δείγματος. Το συγκεκριμένο δείγμα ήταν κύτταρα μαγιάς και η ίνα σχημάτιζε γωνία 42° με το θάλαμο [9].

Από την κλίση της καμπύλης που φαίνεται στην εικόνα καθορίσαμε την αποδοτικότητα της παγίδας για την οπτική παγίδα ίνας με Laser He-Ne ότι είναι ίση με $Q=0,16\pm 0,02$. Φαίνεται ότι η αποδοτικότητα της παγίδας μας είναι μικρότερη από αυτή που προκύπτει σε μια απλή οπτική παγίδα. Αργότερα χρησιμοποιήθηκε το Laser Nd:YAG για να αυξηθεί η αποδοτικότητα της οπτικής παγίδας ινών.

3.8: Καλυπτρίδες χαλαζία.

Θα αναφέρουμε λίγα λόγια για τις καλυπτρίδες χαλαζία και για τη σημασία αυτών. Οι καλυπτρίδες χαλαζία ήρθαν για να λύσουν ένα από τα βασικά προβλήματα που εμφανίζεται στη χρήση οπτικών ινών και συγκεκριμένα στις βιοιατρικές εφαρμογές. Το πρόβλημα αυτό, είναι η λεγόμενη <<κατάσταση επαφής>>, όπου το ακτινοβολημένο υπόστρωμα αποδομείται μερικώς ή ολικώς. Οπότε, τα θραύσματα αποδόμησης υλικού αυτού καταστρέφουν την εσωτερική επιφάνεια στην έξοδο της οπτικής ίνας. Ακόμη υπάρχει περίπτωση ένα μέρος των θραυσμάτων να εισέλθουν στην έξοδο ενός κυματοδηγού και ως αποτέλεσμα να διακοπεί η κυματοδότηση της δέσμης. Έτσι, για την επίλυση του προβλήματος, η έξοδος της οπτικής ίνας σφραγίζεται από ειδικές καλυπτρίδες. Βασικό πλεονέκτημα της κάλυψης με καλυπτρίδες είναι η πρόληψη της εισόδου υπολειμμάτων αποδόμησης στις οπτικές ίνες αλλά και η δυνατότητα να τροποποιηθεί η χωρική κατανομή της ενέργειας της δέσμης που διαδίδεται, ανάλογα με την εκάστοτε εφαρμογή [9].

Άρα, οι καλυπτρίδες χαλαζία είναι η καλύτερη επιλογή για την όσο δυνατόν καλύτερη μετάδοση της ακτινοβολίας 2,94 μm . Αυτό συμβαίνει καθώς ο χαλαζίας έχει τον υψηλότερο συντελεστή διάδοσης για το συγκεκριμένο μήκος κύματος, υψηλή μηχανική αντοχή και είναι μη τοξικό υλικό συμβατό με τους ανθρώπινους ιστούς. Οι καλυπτρίδες χαλαζία έχουν διαφορετικό σχήμα στις άκρες τους όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα (εικόνα 3.5). Ανάλογα με τη γεωμετρία των εσωτερικών και εξωτερικών επιφανειών που έχει μια καλυπτρίδα χαλαζία, μπορεί να χαρακτηριστεί ως τρούλος (dome), σφαίρα(ball) ή επιπεδό-κυρτη (plano-convex).

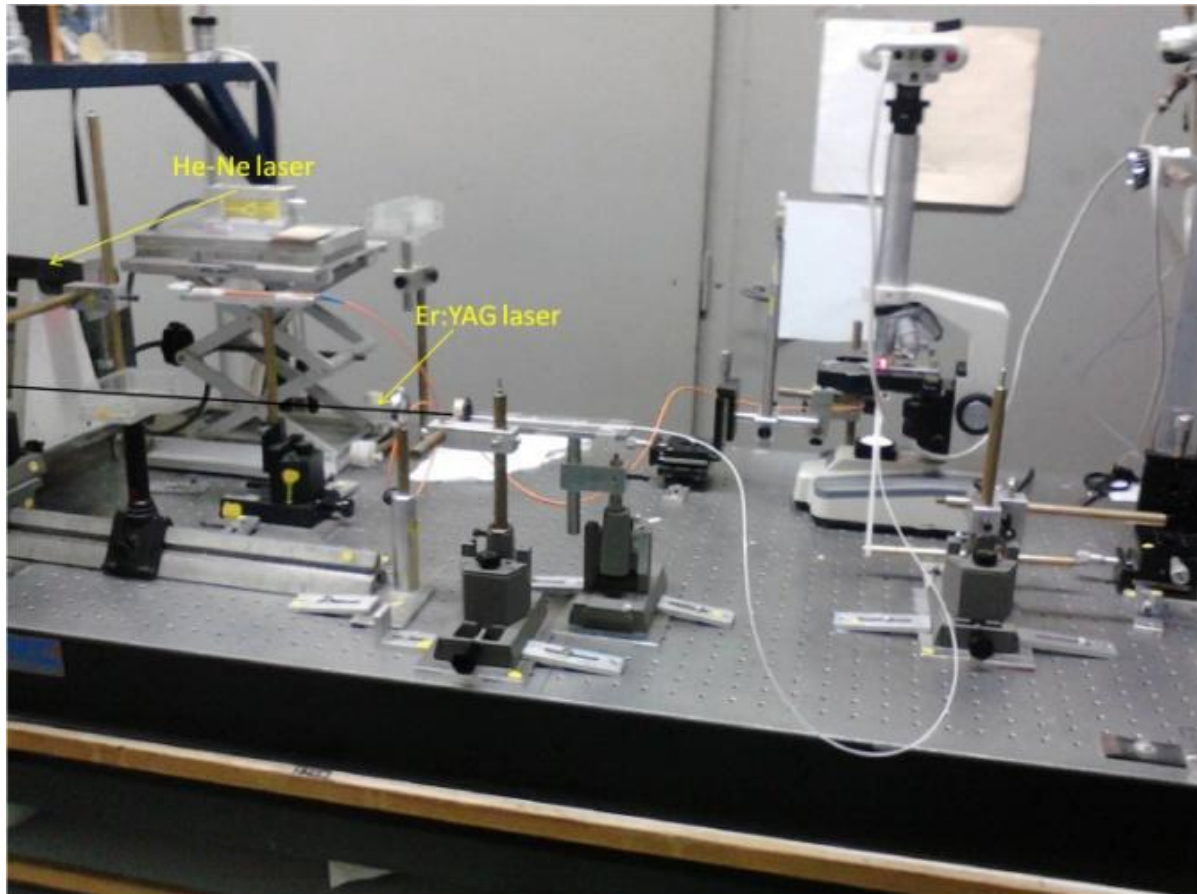


Εικόνα 3.5: Φωτογραφίες των τριών τύπων καλυπτρίδων χαλαζία, από οπτικό μικροσκόπιο. α) Τρούλος (dome), β) σφαιρική (ball) γεωμετρία και γ) επιπεδό-κυρτη γεωμετρία [9].

3.9: Οπτική παγίδα ινών Laser He-Ne και μικροδέσμη Er:YAG Laser- Ο συνδυασμός τους

Η ύπαρξη αυτού του συνδυασμού της οπτικής παγίδας με την επεμβατική δέσμη Er:YAG Laser ήταν σημαντική γιατί έτσι αναπτύχθηκε μια νέα οικονομική μέθοδος μελέτης του μικρόκοσμου και συνεπώς για την εισαγωγή μιας επεμβατικής δέσμης οπού δεν μπορεί να προκαλέσει δευτερεύουσες θερμικές βλάβες και επιδράσεις στα κύτταρα. Επιπλέον, στη περίπτωση που υπάρξει ακτινοβολία στα 3 μm , το πέρασμα της μέσα από τα συνήθη οπτικά μέρη του μικροσκοπίου θα είναι αδύνατον διότι επιτρέπουν συνήθως το πέρασμα ορατού. Για να μεταφερθεί η δέσμη Laser Er:YAG στο μικροσκόπιο πραγματοποιήθηκε μέσω οπτικής ίνας φθοριούχου γυαλιού που είχε διάμετρο πυρήνα 620 μm , για το λόγο ότι υπήρχε πολύ καλή ευθυγράμμιση και καλή ευελιξία στη χρήση του Laser σε κάποιες άλλες εφαρμογές. Χρησιμοποιώντας καλυπτρίδα χαλαζία επίπεδο-κυρτής γεωμετρίας εστίασαμε την εξερχόμενη ακτινοβολία της δέσμης από την οπτική ίνα, στο επίπεδο του δείγματος. Έτσι με αυτό τον τρόπο καταφέραμε να εξασφαλίσουμε το κατάλληλο μέγεθος κηλίδας της επεμβατικής δέσμης στο επίπεδο του δείγματος ώστε να πραγματοποιηθεί η μικροχειρουργική σε κύτταρα μαγιάς. Το συγκεκριμένο Laser Er:YAG χρησιμοποιήθηκε σε ελεύθερη λειτουργία, διότι ήταν πιο εύκολη η ευθυγράμμιση γιατί υπήρχε η δέσμη του τροχιοδεικτικού Laser οπού η συγκεκριμένη δεν υπάρχει όταν τοποθετούμε στη κοιλότητα το διακόπτη Q, του οποίου το πρίσμα εκτρέπει τη δέσμη του Laser οδηγού. Για να βρεθεί το αποτύπωμα της επεμβατικής δέσμης Laser στην έξοδο της ίνας, που άφησε σε φωτοευαίσθητο χαρτί, πραγματοποιήθηκε χάρη του λογισμικού προγράμματος που διαθέτει το μικροσκόπιο και είχε διάμετρο περίπου 10 μm . Η συγκεκριμένη μέτρηση μας δίνει μια ιδέα για το μέγεθος της δέσμης αλλά χωρίς να ήμαστε και πολύ βέβαιοι για την αληθινή διάσταση της δέσμης μετά τη καλυπτρίδα χαλαζία στο επίπεδο του δείγματος. Η καλυπτρίδα χαλαζία χρησιμοποιείται για να μεταφέρει ένα ποσοστό της ενέργειας της μικροδέσμης σε μια περιφερειακή κορυφή έτσι ώστε να δημιουργηθούν δυο αποτυπώματα στο επίπεδο του δείγματος διαφορετικής ενέργειας.

Στην παρκάτω εικόνα φαίνεται η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για το μικροχειρισμό των κυττάρων μαγιάς. Να επισημάνουμε ότι οι δύο αυτές δέσμες δηλαδή της οπτικής παγίδας και της μικροδέσμης Laser, θα εστιαστούν στο παγιδευμένο από τη δέσμη Laser He-Ne κύτταρο και δεν θα εστιαστούν σε κάποια άλλη περιοχή του δείγματος. Αυτή η διαδικασία δεν είναι και πολύ εύκολη ειδικά όταν η δέσμη που προσπαθούμε να ευθυγραμμίσουμε δεν είναι ορατή. Τη γωνία εισόδου της κάθε δέσμης τη ρυθμίζουμε με κάποιες μικρές μετακινήσεις των οπτικών ινών. Το συγκεκριμένο πείραμα που εκτελέστηκε πάνω σε κύτταρα μαγιάς, θα αναφερθεί αναλυτικότερα στο ακόλοθθο κεφάλαιο.

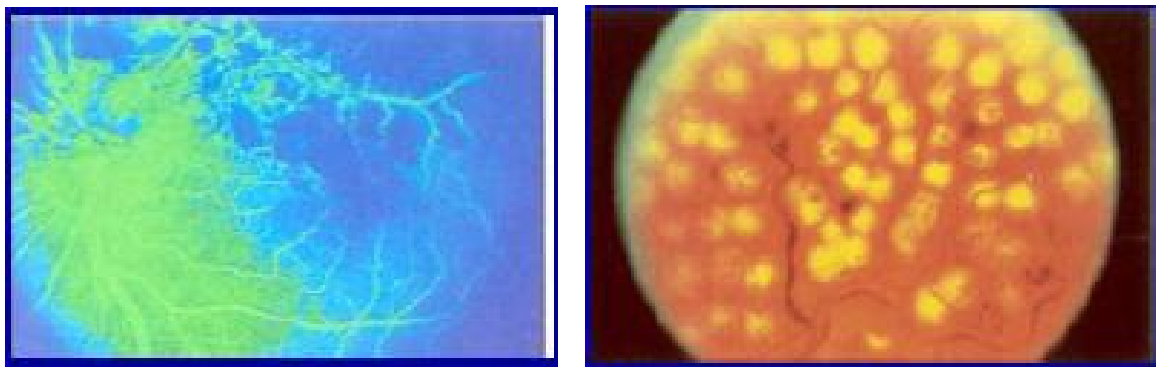


Εικόνα 3.6: Στην εικόνα φαίνεται ένα σύστημα οπτικής παγίδας ινών με μικροδέσμη Laser Er:YAG. Το Laser παγίδευσης (He-Ne) θα μπει στο επίπεδο του δείγματος μέσω οπτικής ίνας που θα έχει ορατό φάσμα και συγκεκριμένα (χρώμα πορτοκαλί) αντίθετα η μικροδέσμη κυματοδηγείται μέσω μιας ίνας φθοριούχου γυαλιού που θα έχει διάμετρο πυρήνα 100 μm . Για την έξοδο των δύο αυτών ινών υπάρχει κάλυψη με καλυπτρίδες χαλαζία που έχουν επίπεδο-κυρτής γεωμετρίας [9].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : Η Οπτική Παγίδευση στο χώρο της βιολογίας και της ιατρικής.

4.1: Οι πρώτες χρήσεις των Lasers στη Βιολογία και την Ιατρική.

Η τεχνική της οπτικής παγίδευσης έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πολλές εφαρμογές στη βιολογία και την ιατρική γενικότερα. Τα lasers βρίσκουν εφαρμογές στην νευρολογία, στη καρδιολογία, στην οφθαλμολογία αλλά επίσης και στα πεδία του γαστρεντερικού, ουρολογικού, γυναικολογικού, καθώς και σε ορθοπαιδικά θέματα [10]. Ωστόσο, τα lasers χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στον τομέα της οφθαλμολογίας. Οι πρώτες επεμβάσεις έγιναν στον περιφερικό αμφιβληστροειδή (φωτοπηξία) με laser αργού/κρυπτού [11]. Πληροφοριακά, αξίζει να αναφερθεί ότι, ανάλογα με τον λόγο και τον τρόπο που χρησιμοποιούνται τα lasers στη βιοτεχνολογία, διακρίνονται σε διαγνωστικές εφαρμογές και επεμβατικές εφαρμογές (μικροχειρισμός βιοδομών, νανοχειρουργική, φωτοδυναμική δράση κ.ά.). Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για βασική εργαστηριακή μελέτη, όπως είναι η μικροσκοπία, η κυτταρομετρία και η φθοριομετρία. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία θεραπευτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε ως <<οπτικό νυστέρι>> είτε ως πηγή διέγερσης φωτοβιοχημικών αντιδράσεων [12]. Από κάτω, βλέπουμε δύο στιγμιότυπα από ένα περιστατικό αιμορραγίας στον αμφιβληστροειδή. Στις εικόνες, φαίνεται το περιστατικό πριν και μετά την αντιμετώπιση του.



Εικόνα 4.1: Στην πρώτη απεικόνιση στα αριστερά βλέπουμε αιμορραγία στον αμφιβληστροειδή. Στην δεξιά απεικόνιση βλέπουμε την εικόνα του αμφιβληστροειδή αφού έχει δεχτεί θεραπεία φωτοπηξίας [11].

Αυτό ήταν ένα παράδειγμα από τις πρώτες χρήσεις των lasers σε βιολογικές δομές. Βέβαια, παρακάτω θα συζητήσουμε μόνο τις εφαρμογές εκείνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε η οπτική παγίδευση σωματιδίων.

4.2 Ο συνδυασμός της οπτικής παγίδευσης με μικροδέσμη laser και δυνατότητες.

Η οπτική παγίδευση όπως είναι φανερό έως τώρα, έχει πολλές δυνατότητες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Μια σημαντική χρήση της οπτικής παγίδας είναι, ο συνδυασμός της με μια μικροδέσμη laser. Η οπτική παγίδα δηλαδή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έναν πιο ολοκληρωμένο έλεγχο διάφορων μικροδομών. Καθώς τα μικροσώματα που βρίσκονται υπό μελέτη συγκρατούνται σε μια σταθερή θέση με τις οπτικές λαβίδες, οι ερευνητές μπορούν να επέμβουν σε αυτά με σχετική άνεση, χρησιμοποιώντας μικροδέσμες lasers. Επίσης, η οπτικές παγίδες έχουν την δυνατότητα να μετακινούν τα μικροσώματα σε διαφορετικές θέσεις, ανάλογα με τις ανάγκες και επιθυμίες των ερευνητών.

Για τον συνδυασμό όμως μικροδέσμης laser και οπτικών λαβίδων, υπάρχουν κάποιες προϋποθέσεις που πρέπει να τηρηθούν. Βέβαια, πριν αναλύσουμε τις προϋποθέσεις αυτές, καλό θα ήταν να επεξηγήσουμε τι ακριβώς είναι μια μικροδέσμη laser. Ουσιαστικά, η μικροδέσμη laser ή αλλιώς <<οπτικό ψαλίδι>> μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αποδομήσει, να κόψει ή και να <<λιώσει>> βιολογικό υλικό. Πληροφοριακά μπορούμε να αναφέρουμε ότι, το πρώτο σύστημα μικροδέσμης laser το παρουσίασε ο Bessis και αποτελείται από ένα παλμικό laser ρουβινίου στα 694,3nm και με διάρκεια παλμού στα 500μs. Για την αποδόμηση, τη διχοτόμηση ή τη τήξη κυττάρων έτσι, απαιτείται ισχυρή απορρόφηση του φωτός από το βιολογικό υλικό. Επιπλέον, μια μικροδέσμη laser για την επιτυχή χρήση της πρέπει να μπορεί να εστιάζει σε πολύ μικρή διάμετρο και να παρουσιάζει όσο το δυνατόν μικρότερη απόκλιση, δηλαδή η φωτεινή δέσμη πρέπει να είναι σχεδόν παράλληλη.

Συγκεκριμένα, για την επίτευξη μιας πολύ λεπτής εστίασης της δέσμης χρειάζεται κάποιος φακός με μεγάλο αριθμητικό άνοιγμα (NA). Για αυτόν ακριβώς το λόγο, επιλέγονται αντικειμενικοί φακοί, οι οποίοι μπορούν να έχουν αριθμητικό άνοιγμα έως και $NA=1,3$. Ακόμη, όπως έχει παρατηρηθεί το υπεριώδες (UV) φως αλληλεπιδρά με τα βιολογικά υλικά, όπως είναι για παράδειγμα οι κυτταρικές μεμβράνες, από ότι φως με μεγαλύτερα μήκη κύματος. Άρα, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας πρέπει να είναι όσο γίνεται πιο μικρό. Ωστόσο, οι υπεριώδεις ακτινοβολίες και ειδικά εκείνες με μήκη κύματος μικρότερα από 300nm, μπορούν να <<δηλητηριάσουν>> το βιολογικό υλικό. Για να υπάρξει λοιπόν, όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ακρίβεια αλλά και για την αποφυγή πρόκλησης βλαβών στα κύτταρα, χρησιμοποιούνται για πρακτικούς λόγους δέσμες με μήκη κύματος από 320 nm έως 350 nm [9].

Τώρα, εστιάζοντας μια παλμική δέσμη laser μπορούν να παρθούν πολύ μεγάλες εντάσεις. Οι μικροδέσμες laser συνήθως παράγουν παλμούς διάρκειας ns. Ο κάθε παλμός τώρα, μπορεί να δώσει μια ενέργεια από μJ μέχρι mJ και η ενέργεια παρέχεται σε διάρκεια μερικών ns. Οπότε ένα mJ ανά ns δίνει ισχύ ενός MW. Επίσης, εστιάζοντας τη δέσμη σε διάμετρο μικρομέτρων ή και ακόμα

μικρότερη, μπορούμε να συγκεντρώσουμε μια δέσμη φωτός σε πυκνότητες ισχύος από 10^6 έως 10^8 W/cm². Τόσο μεγάλες τιμές ισχύος ανά μονάδα επιφάνειας, οδηγούν σε πολύ μεγάλες θερμοκρασίες. Έτσι, γεννάται το ερώτημα πώς μια μικροδέσμη laser μπορεί να επέμβει σε κάποιο κύτταρο χωρίς όμως να το καταστρέψει. Κι όμως γίνεται, διότι το θερμικό αυτό φαινόμενο είναι τοπικό. Το κύμα θερμότητας είναι τόσο σύντομο που είναι αδύνατον να προκληθεί βλάβη στο δείγμα. Εντούτοις, βλάβη μπορεί να προκληθεί εξαιτίας της σκεδάζουσας ακτινοβολίας.

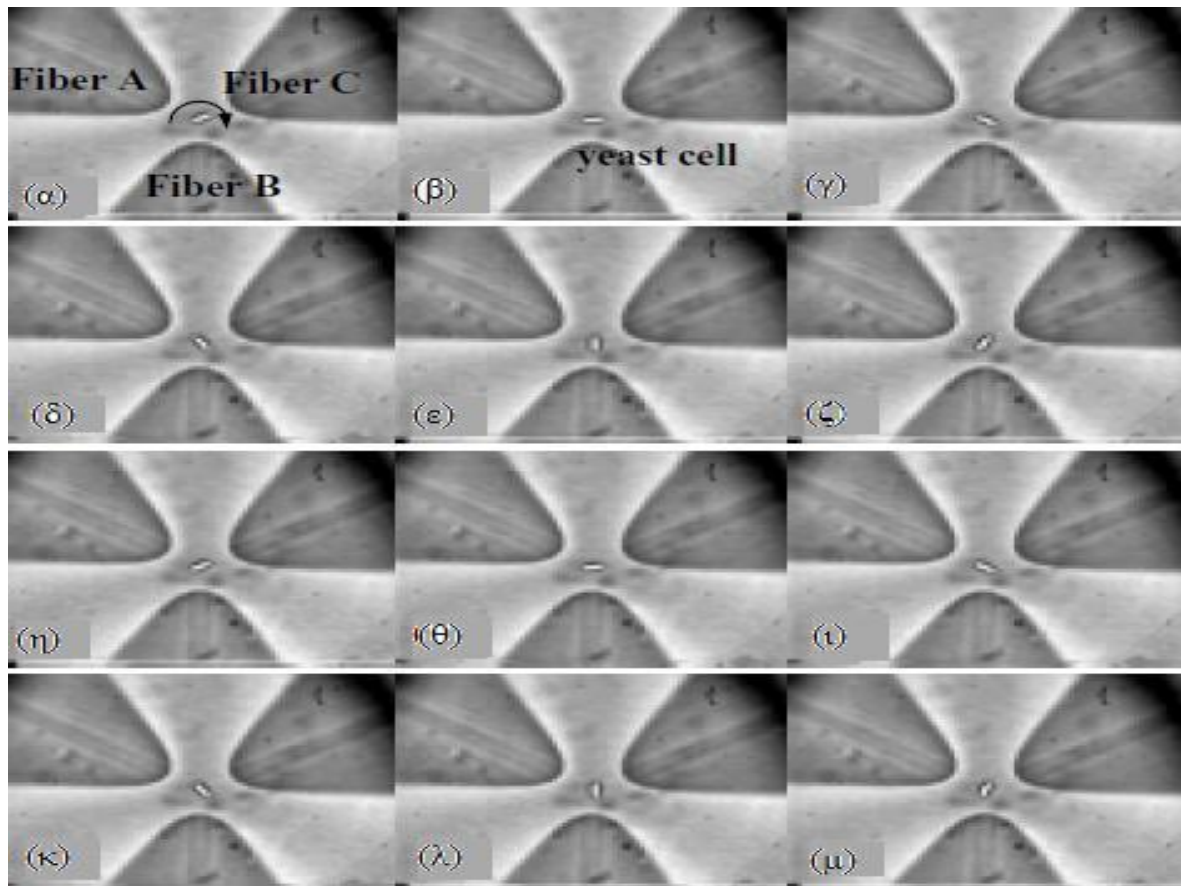
Σύμφωνα με όσα πειράματα έχουν γίνει έως τώρα, η μικροδέσμη laser φαίνεται εξαιρετικά ακριβής. Αυτό, μπορεί να το συμπεράνει κανείς και από την μελέτη της μικροτομής χρωμοσωμάτων. Η πρώτη μικροδέσμη laser που χρησιμοποιήθηκε για την προσεκτική αποδόμηση των χρωμοσωμάτων ήταν ένα παλμικό laser ιόντων αργού στα 514nm ή στα 488nm. Έγινε έλεγχος στα δείγματα για δευτερεύουσες βλάβες με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία ή Μικροσκοπία Ατομικής Δύναμης (AFM) και παρατηρήθηκε ότι αυτές ήταν πολύ μικρές. Το κύριο συμπέρασμα είναι ότι, ο συνδυασμός της οπτικής παγίδευσης με μικροδέσμες laser είναι ιδιαίτερα χρήσιμος σε βιολογικές εφαρμογές καθώς δίνει τη δυνατότητα στους ερευνητές να μην έχουν κανένα είδος μηχανικής επαφής με το δείγμα και άρα να μην το τραυματίσουν. Επίσης, είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι η τεχνική αυτή επιτρέπει πολύ ενδιαφέροντα πειράματα τόσο στο χώρο της κυτταρικής βιολογίας όσο και στο τομέα της μοριακής ιατρικής στο σύνολό του [9].

4.3 Εφαρμογές της μικροδέσμης laser και της οπτικής παγίδευσης.

Η τεχνική αυτή, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για τη σύμφυση δύο κυττάρων μαγιάς (2007). Έπειτα, ο συνδυασμός αυτός χρησιμοποιήθηκε εκτενέστερα για τον μικροχειρισμό χρωμοσωμάτων, την αλληλεπίδραση πρωταρχικών κυττάρων και για πολλές ακόμη ενδιαφέρουσες και σύγχρονες εφαρμογές που θα συζητήσουμε παρακάτω.

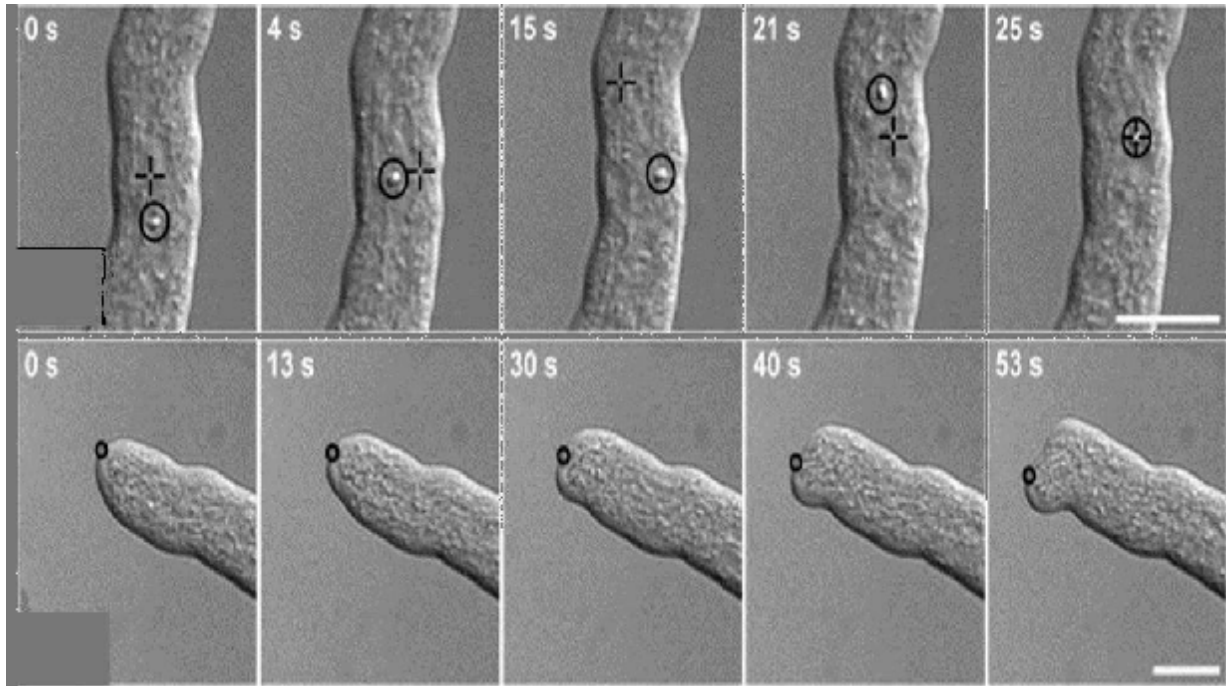
Αρχικά, μια πολύ ενδιαφέρουσα εφαρμογή είναι η προσπάθεια που έγινε από την ομάδα του Ehrlicher για την μελέτη του τρόπου ανάπτυξης του νευρικού συστήματος στο ανθρώπινο σώμα [9]. Για να γίνει αυτό, η δέσμη του φωτός εστιάζεται στο άκρο ενός νευρώνα και με αυτόν τον τρόπο καθορίζεται η πορεία ανάπτυξης των κυττάρων. Το έτος 2001, η ίδια ομάδα επιστημόνων χρησιμοποίησαν δύο οπτικές ίνες για την παγίδευση σωματιδίων ή ερυθροκυττάρων. Αυτό το κατάφεραν μεταβάλλοντας την ισχύ του laser για καθεμία οπτική ίνα, με αποτέλεσμα τα σωματίδια να κινούνται προς την περιοχή με την μικρότερη ισχύ. Σε επόμενο στάδιο, ανάμεσα σε δύο οπτικές ίνες παγίδευσαν ερυθροκύτταρα , με σκοπό τη μελέτη της επιμήκυνσής τους. Όπως είχαν παγιδεύσει τα ερυθροκύτταρα οπότε, άρχισαν σταδιακά να τα απομακρύνουν και κατέγραψαν την διαδικασία της επιμήκυνσης.

Λίγα χρόνια μετά, ο Taguchi χρησιμοποίησε την ίδια τεχνική για να μελετήσει τον τρόπο αναπαραγωγής κυττάρων μαγιάς. Το 2007 για την ακρίβεια, ο Taguchi παγίδευσε με οπτικές λαβίδες κύτταρα μαγιάς και έπειτα από το πέρασμα 60 λεπτών άρχισε να παρατηρεί την αναπαραγωγή αυτών [9]. Σε αυτό το σημείο, είναι φανερό για μια ακόμη φορά πόση σημασία παίζει η οπτική παγίδευση για την διευκόλυνση της δουλειάς των επιστημόνων. Μετά, ο Taguchi προχώρησε σε μία ακόμη εφαρμογή. Χρησιμοποίησε τρεις οπτικές ίνες, τις οποίες έθεσε σε μια κατάλληλη γεωμετρία και τις τροφοδοτούσε με κατάλληλη ισχύ ανά διαστήματα. Για την τροφοδότηση αυτών, χρειάστηκε ένα laser συνεχούς λειτουργίας. Αυτό που κατάφερε ήταν, η περιστροφή των κυττάρων μαγιάς όπως φαίνεται και στην εικόνα από κάτω.



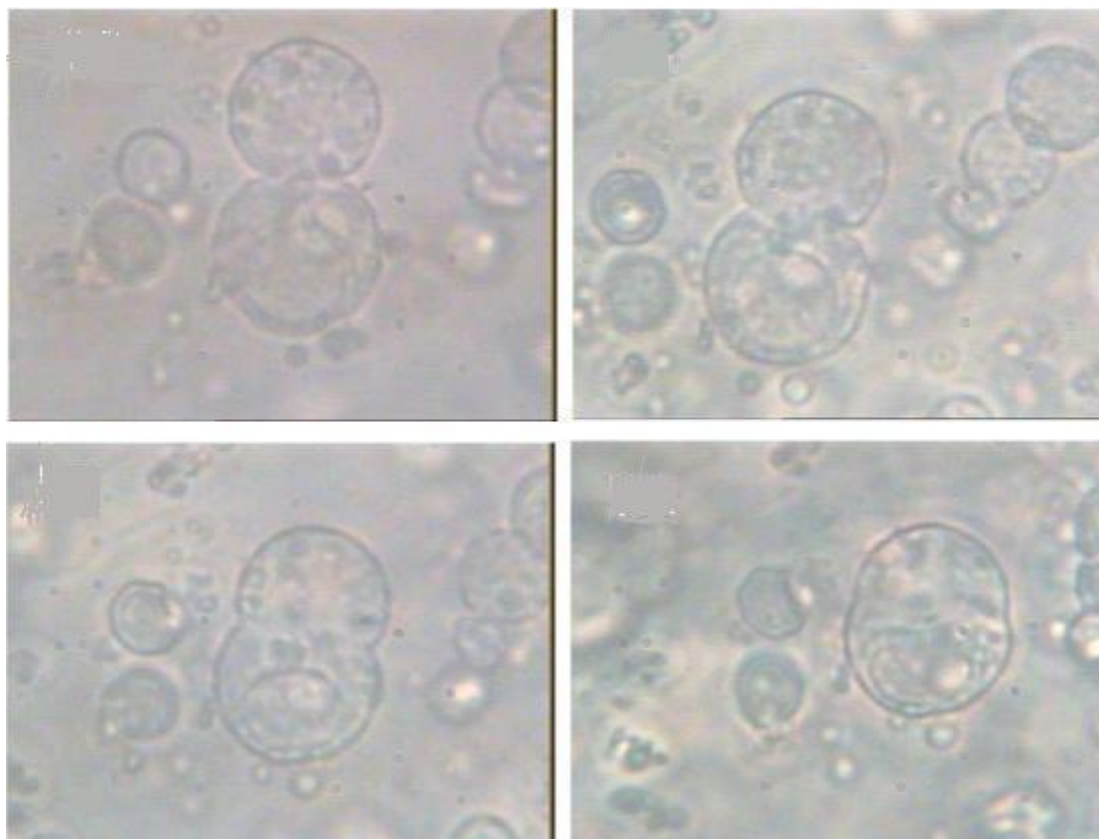
Εικόνα 4.2: Στο σχήμα παρατηρείται ένα κύτταρο μαγιάς και πώς αυτό περιστρέφεται διαδοχικά, ενώ η ισχύς της δέσμης laser μεταβάλλεται περιοδικά για κάθε μία από τις οπτικές ίνες. Οι οπτικές ίνες εισήλθαν στο επίπεδο του κυττάρου υπό γωνία 35 μοιρών και η κάθε μία με τη διπλανή της σχηματίζουν γωνία 120 μοιρών. Το κύτταρο μαγιάς όπως φαίνεται κινείται σύμφωνα με του δείκτες του ρολογιού [9].

Μια ακόμη πολύ ενδιαφέρουσα εφαρμογή που ακολούθησε, η μελέτη της επίδρασης της οπτικής παγίδας σε μύκητες. Ο Wright λοιπόν μαζί και με την ομάδα του, το έτος 2007, μελέτησαν πως επιδρά μία δέσμη laser πάνω σε *Neurospora crassa* και σε *Spitzenkorper*. Αφού παγίδευσαν ένα σωματίδιο πάνω στην επιφάνεια του κυττάρου, το μετατόπισαν με χρήση οπτικών δυνάμεων όπως φαίνεται και στην εικόνα 4.3(α). Επίσης, παρατήρησαν τον τρόπο αναπαραγωγής του *Spitzenkorper* στο σημείο εκείνο που επιδρούσαν οι οπτικές δυνάμεις και είναι και αυτό εμφανές στην εικόνα 4.3(β).



Εικόνα 4.3: (α) Στην πρώτη εικόνα φαίνεται ένα παγιδευμένο σωματίδιο σε ένα κύτταρο *Neurospora crassa* και πως αυτό μετακινείται σταδιακά με την επίδραση οπτικών δυνάμεων. Το σωματίδιο βρίσκεται εντός του κύκλου ο οποίος δείχνει τη θέση της οπτικής παγίδας, ενώ ο σταυρός απεικονίζει τη θέση μετατόπισης του σωματιδίου. Τόσο στην πρώτη όσο και στη δεύτερη εικόνα πάνω αριστερά υπάρχει ο χρόνος σε δευτερόλεπτα. (β) Στη δεύτερη εικόνα παρατηρείται η αναπαραγωγή ενός κυττάρου *Spitzenkörper* ενώ επιδρούν σε αυτό οπτικές δυνάμεις [9].

Ένα έτος αργότερα, το 2008, έγινε προσπάθεια σύμφυσης δύο κυττάρων *Rhodozoma* με παλμούς διάρκειας μερικών fs. Τα δύο παγιδευμένα κύτταρα *Rhodozoma* δεχόμενα την επίδραση ενός παλμού laser, ήρθαν αρχικά σε επαφή και σε επόμενο στάδιο άρχισε η σύμφυση τους και η δημιουργία ενός μεγάλου και ενιαίου κυττάρου όπως φαίνεται από κάτω (εικόνα 4.4).



Εικόνα 4.4: Από πάνω βλέπουμε τη διαδικασία κυτταρικής σύμφυσης (cell fusion trap) σε δύο κύτταρα *Rhodospirillum rubrum*. Τα κύτταρα αυτά ακτινοβολήθηκαν από femtosecond laser [5].

Ακολούθησαν και άλλες πρωτότυπες εφαρμογές. Ο Lucio για παράδειγμα, μέτρησε τον όγκο ενός κυττάρου και πώς αυτός μπορεί να αλλάξει αν πάνω στο κύτταρο επιδράσουν οπτικές δυνάμεις. Ακόμη, η οπτική παγίδευση εφαρμόστηκε και στη μελέτη της κίνησης των λεμφοκυττάρων καθώς επίσης και στον διαχωρισμό νεκρών από ζωντανά κύτταρα. Για τον διαχωρισμό κυττάρων να αναφέρουμε ότι, εκτός από την παγίδευση των κυττάρων πρέπει να γίνει χρήση και φασματοσκοπίας Raman. Όμως, ακόμη και για τη ταξινόμηση διάφορων κυττάρων απαιτείται η χρήση μιας απλής οπτικής παγίδας [9].

4.4: Εφαρμογή του συστήματος οπτικής παγίδας και μικροδέσμης laser σε πολυμερικά μικροσωματίδια.

Εκτός από τις παραπάνω εφαρμογές όπου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική αυτή, θα συζητήσουμε και άλλη μια πολύ ενδιαφέρουσα περίπτωση. Ένα σύστημα αποτελούμενο από μια μικροδέσμη laser Na και μια οπτική παγίδα He-Ne, χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη μικροσφαιριδίων PMMA [9]. Το PMMA ή αλλιώς poly-methyl-meth-acrylate ως υλικό, έχει πολλές και εξαιρετικές ιδιότητες και για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιείται σε πολλούς τομείς της ιατρικής και βιολογίας. Πρώτον, ο χειρισμός και η επεξεργασία του είναι πολύ εύκολες ως διαδικασίες και έχει χαμηλό κόστος. Επιπρόσθετα, έχει σχετικά χαμηλή πυκνότητα σε σύγκριση με άλλα παρόμοια υλικά, περίπου $1,150-1,190 \text{ kg/m}^3$ και είναι συμβατό με τους περισσότερους ανθρώπινους ιστούς. Ακόμη, παρουσιάζει υψηλή αντοχή και έχει την ικανότητα να διαδίδει το ορατό φάσμα κατά 92%. Δεν επιτρέπει στην υπεριώδη ακτινοβολία κάτω από 300nm να περάσει, ενώ επιτρέπει την διέλευση υπέρυθρης ακτινοβολίας πάνω από 2800 nm.

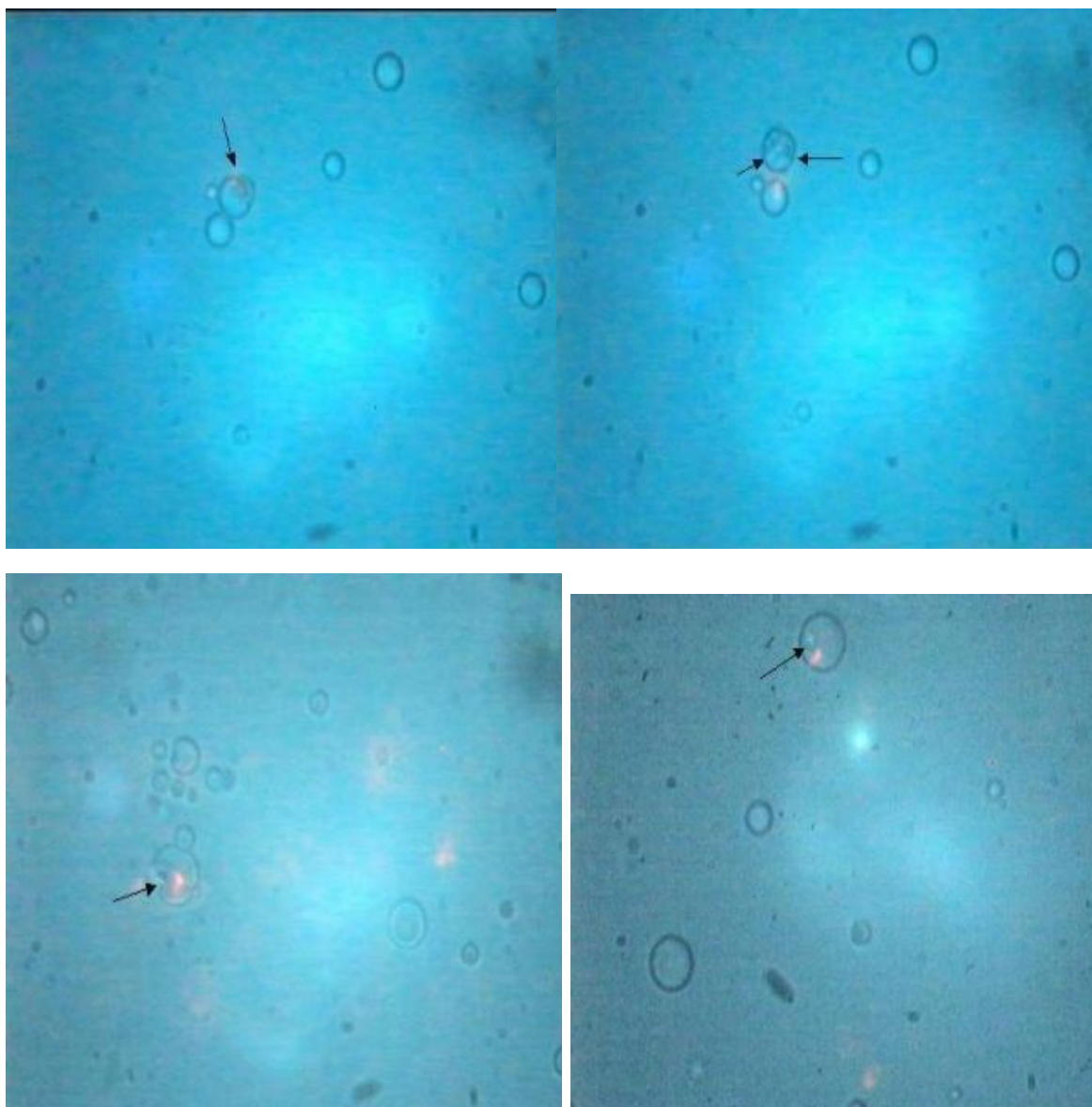
Γενικά, στη ιατρική το PMMA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντικατάσταση του οφθαλμικού φακού, στην αισθητική χειρουργική και για την μείωση των ρυτίδων και διάφορων μόνιμων ουλών. Για την τελευταία περίπτωση, μικροσφαιρίδια PMMA εισάγονται στην επιδερμίδα αιωρούμενα μέσα σε συγκεκριμένο βιολογικό υλικό. Για αυτούς τους λόγους λοιπόν, απαιτείται περαιτέρω μελέτη του PMMA και των δυνατοτήτων του και η οπτική παγίδευση έρχεται να διευκολύνει κατά πολύ την δουλειά των ερευνητών.

Για την μελέτη του PMMA, χρησιμοποιήθηκαν σφαιρίδια PMMA τα οποία είχαν διάμετρο από 1 έως και 10 μm και αιωρούνταν μέσα σε διαφορετικούς δείκτες διάθλασης. Το σύστημα με το οποίο μελετήθηκαν οι ιδιότητες των πολυμερικών σωματιδίων PMMA περιγράφεται παραπάνω. Αφού τα σφαιρίδια αραιώθηκαν σε διάλυμα αποσταγμένου νερού, το δείγμα τοποθετήθηκε σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα, πάνω στο κενό που είχε δημιουργηθεί από ένα λεπτό στρώμα αυτοκόλλητης ταινίας για να διαχωρίζεται επιπλέον από το πλακίδιο. Έπειτα, καλύφθηκε με μια καλυπτρίδα με πάχος 0,13-0,17 mm. Το πάχος της αυτοκόλλητης ταινίας είναι 40 μm και χρησιμοποιήθηκε για να μην κολλάνε τα σωματίδια σε κάποιες από τις επιφάνειες του πλακιδίου ή της καλυπτρίδας και να διευκολυνθεί η κίνηση τους μέσα στο μέσο αραιώσης. Για την αραιώση, χρησιμοποιήθηκαν 20ml από το δείγμα και 20ml αποσταγμένου νερού [9].

Σε επόμενο βήμα, πάνω στην καλυπτρίδα τοποθετήθηκε μία σταγόνα κεδρέλαιου με δείκτη διάθλασης 1,404 και ο αντικειμενικός φακός καταδύθηκε σε αυτό. Οι αλλοιώσεις στην επιφάνεια των σφαιριδίων παρατηρήθηκαν μέσω CCD κάμερας, η οποία συνδέεται με υπολογιστή. Χρειάστηκε, πολύ

προσεκτική οπτική ευθυγράμμιση των δύο δεσμών laser, δηλαδή της οπτικής παγίδας και της μικροδέσμης laser. Ακολούθησε μια σειρά από πειράματα, τα οποία έδειξαν ότι η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί αλλοιώσεις στην επιφάνεια των πολυμερικών μικροσωματιδίων. Οι αλλοιώσεις αυτές, εξαρτώνται από τον αριθμό των ακτινοβολήσεων και το προφίλ της μικροδέσμης αλλά και από την βέλτιστη οπτική ευθυγράμμιση της οπτικής παγίδας σε σχέση με τη μικροδέσμη laser. Αποτελεσματική παγίδευση και αποδόμηση έγινε μόνο για τα μικροσφαιρίδια PMMA που είχαν διάμετρο ε έως 8μm. Αυτό έγινε καθώς, τέθηκαν περιορισμοί από την ισχύ της οπτικής παγίδας αλλά και από την βέλτιστη εστίαση της μικροδέσμης laser.

Στην εικόνα από κάτω, μπορεί κανείς να δει μερικά αντιπροσωπευτικά στιγμιότυπα στα οποία φαίνονται οι μορφολογικές αλλαγές ενός παγιδευμένου μικροσφαιριδίου. Το μικροσφαιρίδιο ακτινοβολήθηκε με παλμικό laser, με μήκος κύματος 337nm και με διάρκεια παλμού 7ns. Ανάλογα με τον αριθμό των παλμών ακτινοβολήσης, στις τρεις πρώτες εικόνες που περιγράφονται παρακάτω, παρατηρείται είτε πλήρης είτε μερική καταστροφή των παγιδευμένων σωματιδίων. Από την άλλη, στην τελευταία εικόνα, δημιουργήθηκε μια <<τρύπα>> στην επιφάνεια του σωματιδίου έπειτα από την ακτινοβολή που δέχθηκε. Ωστόσο, αν η ενέργεια ισχύς της μικροδέσμης laser ελεγχθεί πολύ προσεκτικά τότε οι μικροτομές στην επιφάνεια των σωματιδίων PMMA μπορούν πολύ εύκολα να ελεγχθούν και να αποφθεχθούν.



Εικόνα 4.5: Στα από πάνω στιγμιότυπα παρουσιάζεται η ακτινοβόληση ενός παγιδευμένου σωματιδίου PMMA. Το λευκό φως προέρχεται από το σύστημα φωτισμού του μικροσκοπίου και το έντονο κόκκινο στο laser της οπτικής παγίδας. Συγκεκριμένα, στην πάνω αριστερά εικόνα, φαίνεται ένα παγιδευμένο σωματίδιο με διάμετρο 3,5 μm αφού ακτινοβολήθηκε από μικροδέσμη laser N₂, μήκους κύματος $\lambda=337$ nm, με παλμούς ενέργειας 30 μJ και διάρκειας 7 ns. Στην πάνω δεξιά εικόνα, βλέπουμε το σωματίδιο εφόσον έχει δεχτεί περισσότερους παλμούς και οι αλλοιώσεις στην επιφάνεια του φαίνονται καθαρά. Στην κάτω αριστερή εικόνα, αναπαριστάται ένα άλλο παγιδευμένο σωματίδιο με διάμετρο 6,0 μm. Το σωματίδιο έχει υποστεί μερική καταστροφή μετά από ακτινοβόληση με ενέργεια 95 μJ. Στην κάτω δεξιά εικόνα, φαίνεται ένα ακόμη παγιδευμένο σωματίδιο PMMA με διάμετρο 4,5 μm. Έχει υποστεί προσεκτική ακτινοβόληση με πυκνότητα ενέργειας 18 Jcm⁻² [9].

Έπειτα από το πέρας της πειραματικής διαδικασίας, οι ερευνητές οδηγήθηκαν σε μία παρατήρηση. Η ακτινοβολήση που δεχόταν κάθε ένα από τα μικροσωματίδια, είχε ως αποτέλεσμα τη μικρή μετατόπιση τους. Τα σωματίδια δηλαδή, μετατοπίζονταν ελαφρώς από το σημείο παγίδευσης κατά μήκος του άξονα της δέσμης της οπτικής παγίδας. Παρ' όλα αυτά, όπως διαπιστώθηκε, μετά την παύση της ακτινοβολήσης τα μικροσφαιρίδια επανερχόντουσαν στην αρχική θέση παγίδευσης [9].

4.5:Εφαρμογές σε μύκητες.

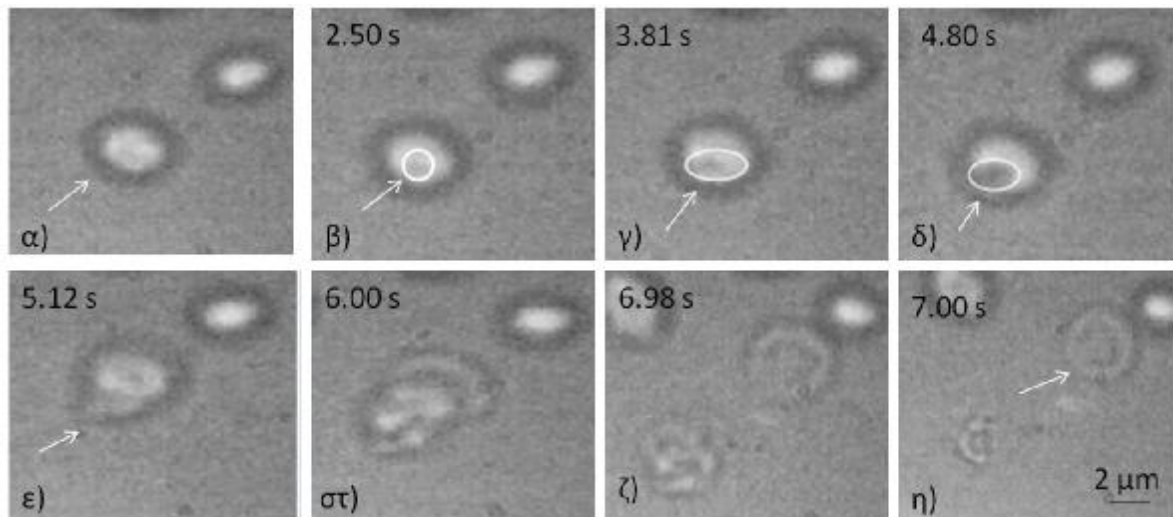
Ακολούθησαν και άλλα προσεκτικά πειράματα πάνω σε μύκητες (2007). Το κύτταρο που επιλέχθηκε ήταν κύτταρο μαγιάς. Γενικά, τα κύτταρα μαγιάς θεωρούνται ιδανικό μοντέλο ευκαρυωτικού κυττάρου και μπορούν να προσφέρουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με πολλούς επικίνδυνους οργανισμούς, οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες στο ανθρώπινο οργανισμό.

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκε ως μικροδέσμη laser ένα παλμικό laser N_2 και ως οπτική παγίδα ένα Nd:YAG laser συνεχούς λειτουργίας. Παρακάτω, θα αναλύσουμε τις πειραματικές μέσω απεικονίσεων με στιγμιότυπα από τα στάδια των πειραμάτων [9].

Σχετικά με τα πειράματα που έγιναν στα κύτταρα μαγιάς, στην παρακάτω ομάδα εικόνων φαίνονται όλα τα στάδια για την αποδόμηση της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων. Στο πρώτο στιγμιότυπο, είναι εμφανές το κύτταρο πριν δεχθεί ακτινοβολήση από το laser N_2 . Στην δεύτερη εικόνα, βλέπουμε το ίδιο κύτταρο αφού έχει δεχθεί ακτινοβολία ενός παλμού, χρονικής διάρκειας 7ns και ενέργειας περίπου 4,16μJ. Ο λευκός κύκλος, προσδιορίζει το σημείο της αλλοίωσης στη κυτταρική μεμβράνη. Στις εικόνες γ-ε, το κύτταρο έχει δεχθεί περισσότερους παλμούς, συνολικά περίπου 12 παλμούς ακτινοβολήσης. Είναι ξεκάθαρο ότι, η κυτταρική μεμβράνη έχει αρχίσει πλέον να λύεται με αποτέλεσμα το υποκυτταρικό υγρό να βρίσκει διέξοδο στο περιβάλλοντα μέσο. Στις επόμενες δύο απεικονίσεις, το κύτταρο δέχεται όλο και περισσότερους παλμούς. Έτσι, το υποκυτταρικό υγρό αρχίζει να αλλοιώνεται σιγά-σιγά, ενώ το κύτταρο φαίνεται να διαφεύγει σταδιακά από την οπτική παγίδα. Τέλος, στην εικόνα η) φαίνεται το κύτταρο ενώ έχει ήδη δεχθεί ακόμη περισσότερους παλμούς και η κυτταρική μεμβράνη έχει διαφύγει πλέον από την οπτική παγίδα. Ακόμη, εξαιτίας του φαινομένου της ώσμωσης το κυτταρόπλασμα έχει συρρικνωθεί.

Τα κύτταρα μαγιάς, μπορούν να αναπαραχθούν με την επίδραση οπτικών δυνάμεων. Αν επιδράσει σε αυτά, δηλαδή, ακτινοβολία laser συνεχούς λειτουργίας με μήκος κύματος 1,06μm και με ισχύ 5-80mW, τότε τα κύτταρα

μαγιάς αναπτύσσονται σταδιακά [9]. Η διαδικασία της αναπαραγωγής τους, είναι γνωστή ως επώαση. Στην εικόνα 4.6η, φαίνεται μια πιθανή αναδόμηση της μεμβράνης του κυττάρου, η οποία μπορεί να προήλθε από τις οπτικές δυνάμεις που έδρασαν πάνω στο κύτταρο όταν απομακρύνθηκε η μικροδέσμη laser. Αυτή η αναδόμηση μπορεί να φανεί σε περίπτωση που το laser πριν από τον αντικειμενικό φακό, έχει ισχύ μικρότερη από 92mW. Στο πείραμα αυτό, η ισχύς της οπτικής παγίδας πριν από τον αντικειμενικό φακό είναι 85mW.



Εικόνα 4.6: Στιγμιότυπα από διαφορετικά στάδια της ακτινοβόλησης κυττάρου μαγιάς από μικροδέσμη laser N2. α) Το παγιδευμένο κύτταρο πριν ακτινοβοληθεί. β) Το κύτταρο τη χρονική στιγμή που δέχεται ακτινοβόληση ενός παλμού. Εντός του κύκλου διαφαίνεται μικρή αλλοίωση στην κυτταρική μεμβράνη. γ-ε) Το κύτταρο ενώ έχει δεχθεί περισσότερους παλμούς ακτινοβολίας. Έχει αρχίσει η καταστροφή της μεμβράνης του κυττάρου και το υποκυτταρικό υγρό διαφεύγει στον περιβάλλοντα χώρο. στ-ζ) Το κύτταρο συνεχίζει να δέχεται ολοένα και περισσότερους παλμούς ακτινοβόλησης και ως συνέπεια αρχίζει να διαφεύγει σταδιακά από την οπτική παγίδα. Ταυτόχρονα, παρατηρείται καταστροφή του υποκυτταρικού υγρού. η) Πιθανή αναδόμηση του κυττάρου, λόγω των επιδράσεων σε αυτό οπτικών δυνάμεων [9].

Εν συνεχεία, υπολογίστηκε και η επίδραση της παλμικής και συνεχούς ακτινοβολίας στην επιφάνεια των κυττάρων μαγιάς. Το κατώφλι αποδόμησης της κυτταρικής μεμβράνης που προκαλούσε η μικροδέσμη laser, μετρήθηκε για δύο διαφορετικές τιμές ισχύος της οπτικής παγίδας.

Όπως φάνηκε, όσο η ισχύς του laser οπτικής παγίδευσης αυξάνεται, τόσο μειώνεται το κατώφλι αποδόμησης. Για την ακρίβεια, για ισχύ οπτικής παγίδας περίπου 200 mW, το κατώφλι αποδόμησης ήταν ίσο με $0,32 \cdot 10^4 \text{ Jcm}^{-2}$ που αντιστοιχεί σε ενέργεια της μικροδέσμης laser ίση με 2,71μJ. Για ισχύ οπτικής παγίδας ίση με 50 mW τώρα, το κατώφλι αποδόμησης βρέθηκε ίσο με $1,2 \cdot 10^4 \text{ Jcm}^{-2}$. Αυτό, αντιστοιχεί σε ενέργεια μικροδέσμης laser 10,2 μJ.

Έπειτα από αυτές τις παρατηρήσεις, οι ερευνητές οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι, όσοι ασχολούνται με εφαρμογές τις οπτικής παγίδευσης πρέπει να είναι πολύ προσεκτικοί όσον αφορά το χρόνο έκθεσης του δείγματος στις οπτικές δυνάμεις αλλά και με την ισχύ του laser παγίδευσης. Διεθνώς, για εφαρμογές της οπτικής παγίδευσης το μήκος κύματος που χρησιμοποιείται είναι ίσο με 1,06μm. Η επιλογή αυτού του μήκους κύματος δεν ήταν τυχαία καθώς τα βιολογικά υλικά είναι διαφανή για μήκη κύματος κοντά στα 1,0 μm. Έτσι, ο συντελεστής απορρόφησης είναι εξαιρετικά χαμηλός και οι αλλοιώσεις του δείγματος ελαχιστοποιούνται. Πληροφορικά, να αναφέρουμε ότι οι φωτο-αλλοιώσεις είναι ελάχιστες σε μήκη κύματος 830nm και 970nm και μέγιστες στα 870nm και στα 930nm. Οι αλλοιώσεις που μπορούν να προκληθούν από ακτινοβολία μήκους κύματος 1.06μm, μελετήθηκαν και σε κύτταρα *escherichia coli* [9].

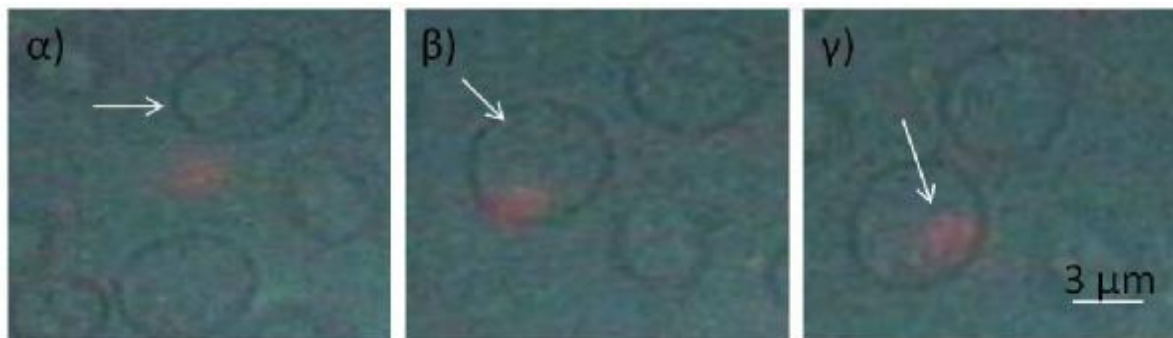
Είναι φανερό ότι η οπτική παγίδευση σε συνδυασμό με μικροδέσμη laser, χρησιμοποιήθηκαν εκτενώς ως τεχνική τόσο για τον μικροχειρισμό όσο και για τον χαρακτηρισμό βιολογικών υλικών. Να υπενθυμίσουμε ότι, πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι μπορεί να επεμβαίνει στα δείγματα χωρίς όμως να έρχεται σε επαφή με αυτά και άρα αποκλείεται η πρόκληση βλάβης.

4.6: Εφαρμογές οπτικής παγίδας ινών.

Ο συνδυασμός οπτικής παγίδας και μικροδέσμης laser με τη χρήση οπτικών ινών, είναι πολύ διαδεδομένος τα τελευταία χρόνια ως εφαρμογή ειδικά στο χώρο της βιολογίας. Το 1993 για παράδειγμα, παρατηρήθηκε η παγίδευση σωματιδίων, τα οποία προερχόντουσαν από το οπτικό πεδίο της δέσμης laser δύο ομοαξονικών οπτικών ινών [9]. Το υπό μελέτη δείγμα, τοποθετήθηκε μετά σε μια σχισμή. Στα άκρα της σχισμής αυτής, τοποθετήθηκαν δύο οπτικές ίνες, με τα άκρα τους αντικριστά το ένα με το άλλο. Αυτό έγινε με σκοπό, από τη μικρή απόκλιση της δέσμης που εισάγουν οι οπτικές ίνες, να δημιουργηθεί η οπτική παγίδα. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιήθηκε ξανά λίγα χρόνια μετά, για να μελετηθεί η επιμήκυνση των ερυθροκυττάρων. Οι Taguchi et al, το 1999, χρησιμοποίησαν μία οπτική ίνα, την οποία έθεσαν σε σημείο τέτοιο ώστε να σχηματίζει γωνία 35 μοιρών με το θάλαμο του δείγματος. Στο άκρο της οπτικής ίνας, υπήρχε ένας ημισφαιρικός μικροφακός, με ακτίνα καμπυλότητας 4μm. Μόλις λοιπόν, η οπτική ίνα ήρθε σε γωνία 35 μοιρών με τον θάλαμο του δείγματος, δημιουργήθηκε η οπτική παγίδα. Η ίδια ομάδα ερευνητών, χρησιμοποίησε και πάλι την τεχνική αυτή για την θεωρητική και πειραματική μελέτη της αιώρησης μικροσφαιριδίων με διάμετρο 6μm. Αυτό που έκανε η ομάδα ήταν να εισάγει στον θάλαμο του δείγματος δύο οπτικές ίνες υπό γωνία 35 μοιρών. Αρχικά στόχος ήταν να παγιδεύσουν το σωματίδιο που βρισκόταν στον πάτο του θαλάμου. Μετά, το μετατόπισαν κατά τον άξονα z. Παρακάτω, θα μιλήσουμε εκτενέστερα σχετικά με εφαρμογές όπου χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός αυτός. Γενικά, να αναφέρουμε ότι η διάταξη οπτικής παγίδας ίνας και μικροδέσμης laser δοκιμάστηκε σε σφαιρίδια PMMA καθώς επίσης και σε κύτταρα μαγιάς.

Η πρώτη εφαρμογή της τεχνικής αυτής έγινε σε κύτταρα μαγιάς, καθώς αυτά δεν απορροφούν το μήκος κύματος της δέσμης. Χρησιμοποιήθηκε οπτική παγίδα ίνας He-Ne laser και η διαδικασία ήταν επιτυχής. Τα κύτταρα που μελετήθηκαν ήταν διαμέτρου από 3 έως και 8 μm. Οι μετρήσεις έγιναν με τη βοήθεια λογισμικού προγράμματος του μικροσκοπίου και η πιθανότητα απόκλισης είναι 7%. Για την παρατήρηση και μελέτη της εφαρμογής αυτής, επιλέχθηκε ένας καταδυτικός αντικειμενικός φακός με μεγέθυνση 100x [9].

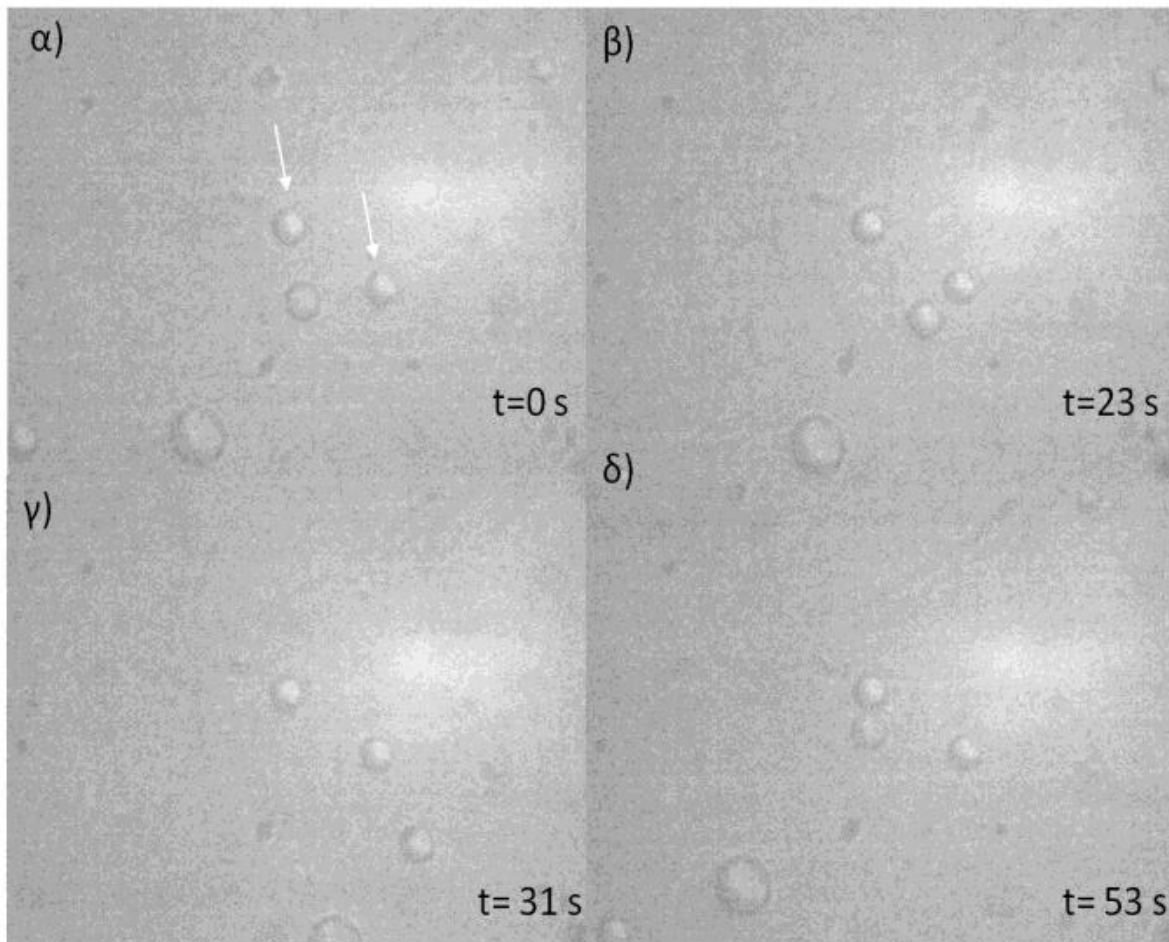
Στο σχήμα 4.7 από κάτω, είναι εμφανές ένα κύτταρο μαγιάς με διάμετρο 5 μm που αρχικά είναι ελεύθερο. Καθώς επιδρούν σε αυτό οι οπτικές δυνάμεις από την οπτική παγίδα ινών, το αναγκάζουν να μετακινηθεί προς τη θέση του laser παγίδευσης (εικόνα 4.7 α). Στη συνέχεια αφού το κύτταρο έχει παγιδευτεί (εικόνα 4.7 β), παρατηρείται σταδιακή μετακίνηση αυτού σε άλλη περιοχή του δείγματος, καθώς μετακινείται και η αντικειμενοφόρος πλάκα (εικόνα 4.7 γ). Το μπλέ χρώμα της εικόνας, οφείλεται στο φίλτρο που χρησιμοποιήθηκε για την αποκοπή του μήκους κύματος 632,8 nm, ενώ η κόκκινη κηλίδα αντιπροσωπεύει τη θέση του laser παγίδευσης.



Εικόνα 4.7: Στιγμιότυπα από ένα κύτταρο μαγιάς διαμέτρου 5 μm . α) Το αρχικά ελεύθερο κύτταρο μαγιάς, μετακινείται προς τη θέση του laser παγίδευσης, λόγω των οπτικών δυνάμεων που επιδρούν σε αυτό. β) Το κύτταρο μαγιάς ενώ είναι πλέον παγιδευμένο. γ) Μετακίνηση του κυττάρου σε διαφορετική περιοχή καθώς μετακινούμε την αντικειμενοφόρο πλάκα. Η κόκκινη κηλίδα ορίζει τη θέση του laser παγίδευσης και το μπλε χρώμα είναι αποτέλεσμα χρήσης φίλτρου αποκοπής του laser [9].

Παρόλα αυτά, έπειτα από μερικές μετρήσεις ισχύος που έγιναν διαπιστώθηκε ότι, η αποδοτικότητα της οπτικής παγίδας ιών He-Ne laser είναι μικρότερη από την αντίστοιχη μιας απλής οπτικής παγίδας. Βέβαια, αν και η τιμή ισχύος της δέσμης του laser παγίδευσης στην έξοδο της ίνας είναι μικρή, η παγίδευση ήταν σχεδόν σταθερή σε δύο διαστάσεις. Συγκεκριμένα αυτό συνέβη όταν, η οπτική ίνα και ο θάλαμος του δείγματος σχημάτιζαν γωνία ίση με 42 μοίρες. Στη σταθερότητα της παγίδας, καθοριστικό ρόλο έπαιξε η καλυπτρίδα χαλαζία που χρησιμοποιήθηκε. Η καλυπτρίδα τοποθετήθηκε στην έξοδο της ίνας, εστιάζοντας έτσι τη δέσμη με μία διάμετρο κηλίδας πάνω στο επίπεδο του δείγματος.

Έπειτα από την ολοκλήρωση της μελέτης αυτής της διαδικασίας, το laser He-Ne αντικαταστήθηκε από το laser Nd:YAG, με σκοπό την αύξηση της αποδοτικότητας της οπτικής παγίδας ιών. Αυτός ο τύπος laser χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην παγίδευση σωματιδίων PMMA, τα οποία είχαν διάμετρο περίπου 2,5 μm . Όπως φαίνεται και στην εικόνα 4.8, παγιδευμένα είναι δύο σωματίδια PMMA, η θέση των οποίων καθορίζεται από δύο λευκά βέλη. Ανάμεσα στα δύο παγιδευμένα σωματίδια μετακινείται σταδιακά ένα άλλο ελεύθερο σωματίδιο με ίδια διάμετρο. Η διαφορά σε αυτήν την περίπτωση είναι ότι παρατηρούμε δύο παγιδευμένα σωματίδια ταυτόχρονα. Αυτό οφείλεται στη μορφολογία της δέσμης laser, αφού χρησιμοποιήθηκε καλυπτρίδα χαλαζία. Δηλαδή, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, η χωρική κατανομή της ενέργειας της δέσμης laser στην έξοδο της καλυπτρίδας χαλαζία παρουσίαζε δύο κορυφές. Η πρώτη εξ αυτών, η κύρια κορυφή δηλαδή, συγκέντρωνε το μεγαλύτερο ποσοστό της ενέργειας, ενώ ένα σχετικά μικρό ποσοστό ενέργειας συγκεντρωνόταν σε μία περιφερειακή κορυφή [9].



Εικόνα 4.8: Με τα λευκά βέλη φαίνονται τα δύο παγιδευμένα σωματίδια PMMA. Από την πρώτη έως και την τελευταία εικόνα παρατηρείται η αργή μετακίνηση ενός ελεύθερου σωματιδίου ανάμεσα από τα δύο παγιδευμένα. Η δέσμη εισήλθε στο θάλαμο υπό γωνία 38° και η ισχύς αυτής, στην έξοδο της ίνας, μετρήθηκε 42,6 mW [9].

Με το σύστημα οπτικής παγίδας ιών Nd:YAG laser, δίνεται το προνόμιο της διπλής ταυτόχρονης παγίδευσης σωματιδίων. Αντίθετα, με το σύστημα οπτικής παγίδας ιών He-Ne laser, δεν παρατηρήθηκε διπλή παγίδευση εξαιτίας της πολύ χαμηλής ισχύος της δέσμης laser στην έξοδο της ίνας. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι, κινώντας ελάχιστα την αντικειμενοφόρο πλάκα τα σωματίδια άρχισαν να διαφεύγουν από την παγίδα.

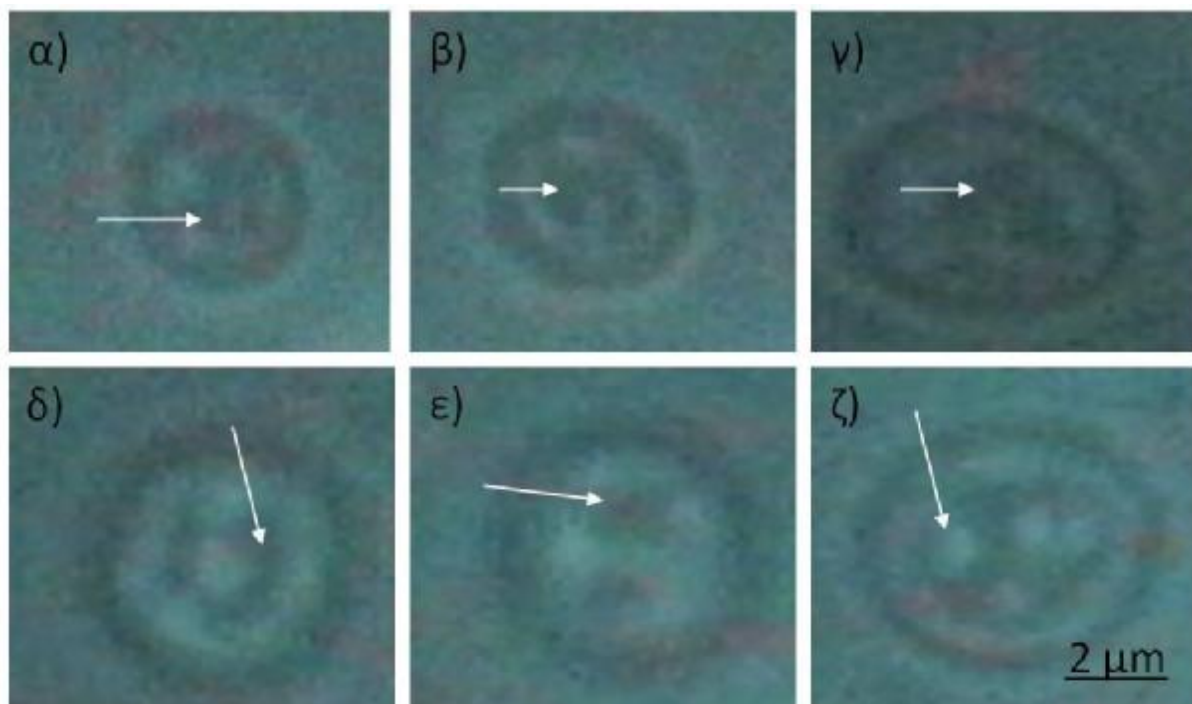
Από την άλλη όμως, η ύπαρξη διπλής οπτικής παγίδας καθιστά δύσκολη τη βαθμονόμηση της διάταξης. Αυτό οφείλεται στο ότι ο προσδιορισμός του ποσοστού ισχύος που κατανέμεται σε κάθε μία από τις δύο παγίδες, είναι εξαιρετικά δύσκολος. Για αυτόν ακριβώς το λόγο, δεν έγινε και καμία προσπάθεια βαθμονόμησης του συστήματος οπτικής παγίδας ιών Nd:YAG.

4.7: Οπτική παγίδα ιών laser He-Ne και μικροδέσμη Er:YAG laser.

Αφού μελετήθηκαν τα δύο συστήματα οπτικής παγίδας ιών, επιλέχθηκε η οπτική παγίδα ιών laser He-Ne για να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με μικροδέσμη laser. Αυτός ο νέος συνδυασμός, κρίθηκε σκόπιμος για την ανάπτυξη μιας νέας οικονομικής μεθόδου μελέτης του μικρόκοσμου. Η μικροδέσμη Er:YAG laser, επιλέχθηκε διότι είναι μία επεμβατική δέσμη η οποία δεν προκαλεί δευτερεύουσες θερμικές βλάβες ούτε άλλες επιδράσεις στα κύτταρα. Αν η ακτινοβολία είναι στα 3μm, τότε η διέλευση της μέσα από τα οπτικά μέρη του μικροσκοπίου είναι αδύνατη, καθώς επιτρέπεται η διέλευση μόνο του ορατού μέρους του φάσματος. Για την μεταφορά της μικροδέσμης laser Er:YAG στο μικροσκόπιο, χρησιμοποιήθηκε φθοριούχο γυαλί με διάμετρο πυρήνα 620 μm. Το φθοριούχο γυαλί, παρουσιάζει μεγάλη ευκολία στην ευθυγράμμιση και μεγάλη ευελιξία για την χρήση του laser και σε διάφορες άλλες εφαρμογές. Στη συνέχεια, έγινε εστίαση της εξερχόμενης ακτινοβολίας της δέσμης από την οπτική ίνα με τη χρήση καλυπτρίδας χαλαζία, στο επίπεδο του δείγματος. Η καλυπτρίδα χαλαζία ήταν επιπεδό-κυρτής γεωμετρίας. Αυτό έγινε σε μια προσπάθεια η κηλίδα της επεμβατικής δέσμης να έχει κατάλληλο μέγεθος, ώστε να είναι δυνατή η μικροχειρουργική επέμβαση σε κύτταρα μαγιάς. Το Er:YAG laser, χρησιμοποιήθηκε σε ελεύθερη λειτουργία διότι έτσι ήταν ευκολότερη η ευθυγράμμιση. Έπειτα, με τη βοήθεια του λογισμικού προγράμματος του μικροσκοπίου μετρήθηκε το ίχνος της επεμβατικής δέσμης στην έξοδο της ίνας που άφησε σε φωτοευαίσθητο χαρτί. Έτσι, το ίχνος της δέσμης βρέθηκε να έχει διάμετρο περίπου ίση με 10μm. Αυτή είναι μια ένδειξη για το μέγεθος της δέσμης, χωρίς όμως να μπορούμε να είμαστε απόλυτα σίγουροι για την διάσταση της δέσμης μετά την καλυπτρίδα χαλαζία [9].

Στην εικόνα 4.9, είναι εμφανείς μερικά πολύ αντιπροσωπευτικά στιγμιότυπα από την επίδραση της μικροδέσμης laser πάνω σε ένα παγιδευμένο κύτταρο μαγιάς. Το κύτταρο μαγιάς που μελετήθηκε είχε διάμετρο 5,5 μm. Η μικροδέσμη laser εισήλθε στο θάλαμο του δείγματος υπό γωνία 42 μοιρών και η ενέργειά της στην έξοδο της ίνας ήταν 130 μJ. Στο στιγμιότυπο 4.10α, παρατηρείται το κύτταρο αφού έχει δεχτεί ακτινοβολία περίπου 10 παλμών, χρονικής διάρκειας 80 μs και με ενέργεια 130 μJ/παλμό. Το λευκό βέλος, δείχνει το σημείο εκείνο όπου παρατηρήθηκε μια αλλοίωση στην κυτταρική μεμβράνη, η οποία όμως δεν φαίνεται ιδιαίτερα. Στα υπόλοιπα στιγμιότυπα, το κύτταρο μαγιάς φαίνεται να παραμένει παγιδευμένο από τις οπτικές δυνάμεις, αν και έχει δεχτεί μεγαλύτερο αριθμό παλμών ακτινοβολίας. Οι αλλοιώσεις στην μεμβράνη του κυττάρου έχουν αρχίσει πλέον να γίνονται εμφανής οπτικά. Όμως, δεν παρατηρήθηκε πλήρης καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης. Ίσως, αυτό να οφείλεται στο γεγονός ότι η ενέργεια κατανεμήθηκε σε δύο

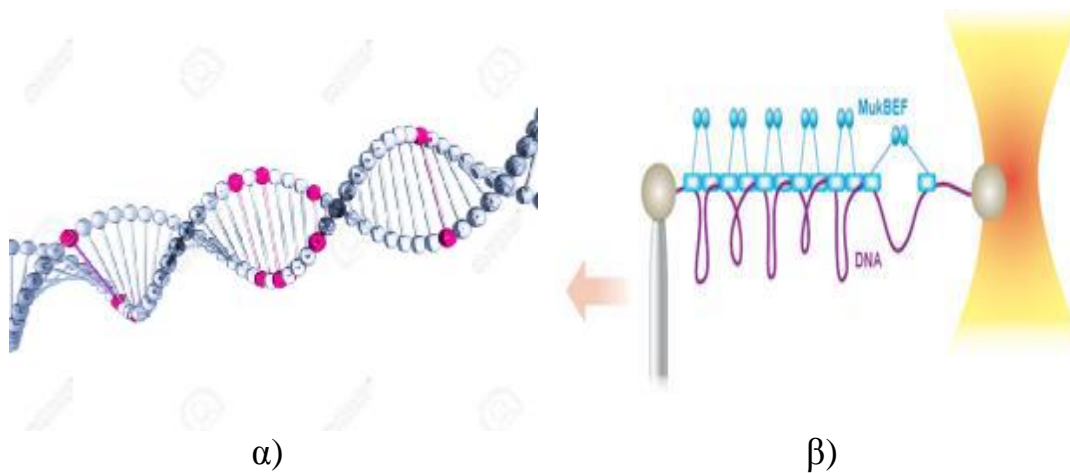
κορυφές, με αποτέλεσμα τη μείωση της αποδοτικότητας της μικροδέσμης laser. Επίσης, να αναφέρουμε ότι τόσο η δέσμη της οπτικής παγίδας όσο και η μικροδέσμη laser εισήλθαν στο επίπεδο του δείγματος από τη κάτω μεριά. Η παρατήρηση του πειράματος, ωστόσο, έγινε από την επάνω μεριά κι αυτό μπορεί να σημαίνει ότι μερικά αποτελέσματα δεν ήταν εμφανή. Ακόμη, η παρατήρηση έγινε λίγο ακόμη πιο δύσκολη εξαιτίας της διακριτικής ικανότητας που έχει ένα απλό μικροσκόπιο και μάλιστα χωρίς τη χρήση κατάλληλης χρώσης [9].



Εικόνα 4.9: Στιγμιότυπα από την ακτινοβολία κυττάρου μαγιάς διαμέτρου 5,5 μm με laser Er:YAG. Στις εικόνες υποδεικνύονται τα σημεία όπου παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις, με τα λευκά βέλη. α) Ακτινοβολία του κυττάρου με 10 παλμούς. β) Ακτινοβολία 20 παλμών. γ) Ακτινοβολία 45 παλμών. δ) Ακτινοβολία 52 παλμών. ε) Ακτινοβολία 80 παλμών και ζ) 100 παλμοί ενέργειας 130 μJ /παλμό [9].

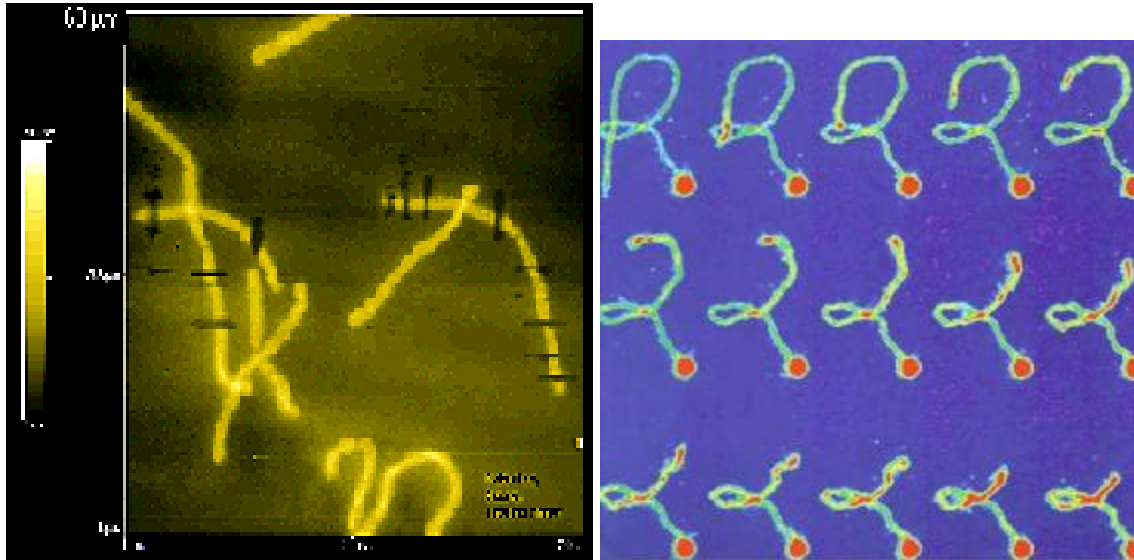
Παρακάτω, θα παρακολουθήσουμε μια σειρά από εικόνες όπου περιγράφονται άλλες εφαρμογές στις οποίες έχει χρησιμοποιηθεί η οπτική παγίδευση.

Μια ακόμη πολύ σημαντική εφαρμογή, στην οποία συνέβαλε η οπτική παγίδευση είναι η μελέτη του D.N.A. Οι οπτικές λαβίδες, έδωσαν στους επιστήμονες την ευκαιρία να εξερευνήσουν βαθύτερα την φυσική που κρύβεται πίσω από το D.N.A. Για το <<ξετύλιγμα>> του μορίου του D.N.A, γίνεται προσκόλληση με χημικές διαδικασίες μιας διηλεκτρικής μικροσφαίρας στο ένα άκρο του μορίου. Το άλλο άκρο του D.N.A παραμένει σταθερό, καθώς κρατιέται από ένα πλακίδιο. Έτσι, εφόσον το σφαιρίδιο στο άκρο του μορίου έχει παγιδευτεί από την οπτική λαβίδα, γίνεται σταδιακή μετακίνηση της δέσμης laser. Αποτέλεσμα είναι, το μακρομόριο του D.N.A να αρχίσει να ξετυλίγεται [13].



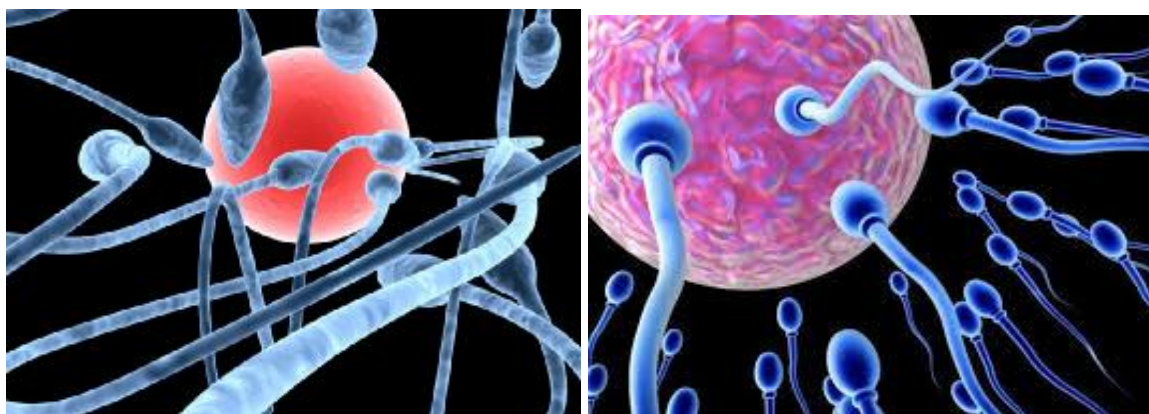
Εικόνα 4.10: Στην εικόνα 4.10α, βλέπουμε την αρχική μορφή ενός μορίου D.N.A. που όπως φαίνεται αποτελείται από μια διπλή έλικα [14]. Στην εικόνα 4.10β, γίνεται σταδιακή μετακίνηση της οπτικά παγιδευμένης σφαίρας, με πρόσδεση σφαιρών πολυστυρενίου στο άκρο του μορίου D.N.A. Σκοπός ήταν το ξετύλιγμα του D.N.A. [11].

Επίσης, οι οπτικές παγίδες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μελέτη των χρωμοσωμάτων. Το κατάλληλο μέρος του χρωμοσώματος που βρίσκεται υπό μελέτη, αφού παγιδευτεί, απομονώνεται και μετακινείται με σκοπό είτε να εξερευνηθεί, είτε να αποκοπεί. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων, έχει οδηγήσει στην ολοκληρωτική εξάλειψη ορισμένων ασθενειών [13].



Εικόνα 4.11: Απεικονίσεις χρωμοσωμάτων τα οποία είτε αποκόπτονται, είτε μετακινούνται με χρήση οπτικών λαβίδων [11].

Ακόμη, οι οπτικές λαβίδες βοήθησαν στη μελέτη των δυνάμεων <<κολυμβήσεως>> των σπερματοζωαρίων. Οι οπτικές λαβίδες, δεσμεύουν με τη δέσμη τους το σπερματοζωάριο και το απομονώνουν. Έπειτα, αφού βαθμονομηθεί το σύστημα αυτό, η ισχύς της δέσμης αρχίζει να ελαττώνεται. Με αυτόν τον τρόπο ανιχνεύεται η δύναμη του σπερματοζωαρίου, όταν αυτό καταφέρει να δραπετεύσει από την οπτική παγίδα. Οι έρευνες που έχουν γίνει έως τώρα, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα σπερματοζωάρια που κινούνται σε ακανόνιστη, ζιγκ-ζακ τροχιά δείχνουν δυνατότερα από εκείνα που κινούνται σε ευθεία τροχιά. Από κάτω, στην εικόνα 4.12, αναπαριστώνται και οι δύο τύποι κολυμβήσεως των σπερματοζωαρίων. Τα έως τώρα αποτελέσματα των ερευνών, δίνουν πολλές ελπίδες για την εξάλειψη του προβλήματος της υπογονιμότητας και η τεχνητή γονιμοποίηση χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο [13].



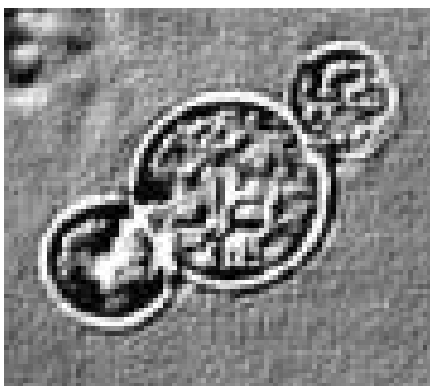
Εικόνα 4.12: Στην αριστερή εικόνα βλέπουμε σπερματοζώαρια κινούμενα σε άτακτη ζιγκ-ζακ τροχιά. Στην δεξιά εικόνα, τα σπερματοζώαρια κινούνται σε ευθεία τροχιά [15].

Ακολούθησε, η μελέτη των ερυθροκυττάρων. Η οπτική παγίδευση βοήθησε ιδιαίτερος, στην μελέτη κυρίως της ελαστικότητας των ερυθροκυττάρων. Η ελαστικότητα των ερυθροκυττάρων, είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα που συμβάλει στην εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού. Η οπτική παγίδευση, έδωσε τη λύση λοιπόν στη μελέτη των ερυθροκυττάρων, καθώς όλες οι μέθοδοι που είχαν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως παρουσίαζαν μεγάλη δυσκολία στο να κρατήσουν τα ερυθροκύτταρα σταθερά. Για την οπτική παγίδευση των ερυθροκυττάρων, χρειάζονται τρεις δέσμες. Οι δύο δέσμες, συγκρατούν από τις άκρες το ερυθροκύτταρο, ενώ η Τρίτη το σπρώχνει προς τα άνω και κεντρικά. Μετά, κλείνουν ταυτόχρονα και οι τρεις δέσμες και οι ερευνητές καταγράφουν την ακολουθία και τον χρόνο που χρειάζεται για να χαλαρώσει το ερυθροκύτταρο [13].



Εικόνα 4.13: Τυπική μορφή ερυθροκυττάρων σε θηλαστικά. (a) Όψη από την επιφανειακή, άνω πλευρά, (b) Όψη από την πλάγια πλευρά (προφίλ), (c) Σφαιρική μορφή που λαμβάνουν σε υποτονικό περιβάλλον (π.χ. απεσταγμένο νερό), (d) με πολλαπλές προβολές που λαμβάνουν σε υπερτονικό περιβάλλον (π.χ. υδατικό διάλυμα πλούσιο σε άλας). Οι μορφές (c) και (d) υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν απαντώνται στο σώμα [16].

Επιπρόσθετα, οι οπτικές λαβίδες διευκόλυναν κατά πολύ την μελέτη του τρόπου επίθεσης του οργανισμού σε καρκινικά κύτταρα. Πιο αναλυτικά, το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου, έχει κύτταρα τα οποία ανιχνεύουν και επιτίθενται σε καρκινικά κύτταρα με σκοπό την ολοκληρωτική καταστροφή τους. Τα κύτταρα αυτά, είναι γνωστά με τον όρο κύτταρα- δολοφόνοι ή αλλιώς Natural killer cells. Στην εικόνα από κάτω, φαίνεται ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα κυττάρων δολοφόνων ,τα οποία έχουν επιτεθεί σε ένα καρκινικό κύτταρο. Για την τοποθέτηση των κυττάρων- δολοφόνων δίπλα στο καρκινικό κύτταρο, χρησιμοποιήθηκαν οπτικές λαβίδες για την παγίδευση και την μετακίνηση τους [13].



Εικόνα 4.10: Στην εικόνα 4.10α, βλέπουμε δύο κύτταρα <<δολοφόνους>> τα οποία έχουν προσκολληθεί από τα πλάγια σε ένα καρκινικό κύτταρο, με τη χρήση διπλής οπτικής παγίδας [17].

Ακόμη, οι Tskhourebova et al. χρησιμοποίησαν οπτικές λαβίδες για να <<τραβήξουν>> μια μεγάλη πρωτεΐνη που καλείται Τιτίνη. Η Τιτίνη, είναι μια πρωτεΐνη η οποία αποτελείται από περίπου 9000 κατάλοιπα αμινοξέων και βοηθά στη διατήρηση της μυϊκής δομής αλλά και στη χαλάρωση των μυών. Η ομάδα των ερευνητών, κράτησαν το ένα άκρο της Τιτίνης με οπτική λαβίδα και το άλλο άκρο της πρωτεΐνης, τοποθετήθηκε στη καλυπτρίδα του μικροσκοπίου. Έτσι, <<τράβηξαν>> την πρωτεΐνη με δύναμη περίπου ίση με 100pN. Μετά το πέρας μερικών δευτερολέπτων, οι μεμονωμένοι τομείς της πρωτεΐνης ξεδιπλώθηκαν απότομα για να χαλαρώσουν την ένταση σταδιακά. Μελέτες σαν κι αυτήν, μπορούν να δώσουν πολλές χρήσιμες πληροφορίες για το μηχανισμό αναδίπλωσης των πρωτεϊνών κι έτσι οι ερευνητές να έχουν την δυνατότητα να κατανοήσουν τα νέα γονιδιακά δεδομένα [12].

Επακολούθησαν κι άλλες μελέτες, σχετικά με τη σύγκρουση δύο τύπων μορίων κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, είναι η μελέτη της προσκόλλησης του ιού της γρίπης πάνω σε ένα ερυθροκύτταρο. Ο συγκεκριμένος τρόπος μελέτης είναι γνωστός ως <<OPTOCOL>> [13]. Επιπρόσθετα, οι οπτικές λαβίδες χρησιμοποιήθηκαν επιτυχώς και στον τομέα της νανοχειρουργικής. Η πρώτη εφαρμογή, έγινε το 1991. Ο Steubing μαζί με την ομάδα του, έφεραν δύο κύτταρα σε επαφή με τη χρήση οπτικών παγίδων. Αφού τα κύτταρα είχαν παγιδευτεί, με μια μικροδεσμη laser υπεριώδους ακτινοβολίας, έκοψαν το κοινό τοίχωμα των δύο κυττάρων. Έπειτα από τέτοιες εφαρμογές, αποτέλεσμα ήταν η δημιουργία υβριδικών κυττάρων [18].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο σημείο αυτό, θα γίνει μια μικρή ανακεφαλαίωση των κεφαλαίων που προηγήθηκαν και των πιο σημαντικών σημείων αυτών. Τα Lasers, ανακαλύφθηκαν σχετικά πρόσφατα. Ωστόσο, παρουσιάζονταν συνεχώς νέες πληροφορίες πάνω στο αντικείμενο και η έως τώρα εξέλιξη του κινείται με γοργούς ρυθμούς.

Οι επιστήμονες, χρησιμοποίησαν διάφορες μεθόδους για να παγιδεύσουν σωματίδια. Όμως, καμία από αυτές δεν πληρούσε πλήρως τις αναγκαίες προϋποθέσεις. Ψάχνοντας λοιπόν, για μια τεχνική που να ικανοποιεί τις επιθυμίες τους, οι ερευνητές οδηγήθηκαν στην ανακάλυψη της οπτικής παγίδευσης. Πρόκειται για μια καινοτόμα εφαρμογή, που άλλαξε τον τρόπο μελέτης των βιολογικών δειγμάτων. Ακολούθησαν πολλά πειράματα, για να συλλέξουν οι επιστημονικές ομάδες όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο λειτουργίας των οπτικών παγίδων αλλά και τις δυνατότητες που έχουν. Μέχρι στιγμής, οι οπτικές παγίδες έχουν χρησιμοποιηθεί σε αρκετές εφαρμογές που σχετίζονται με τον τομέα της βιολογίας και της ιατρικής, με μεγάλη επιτυχία. Η τεχνική αυτή, φαίνεται να ενδιαφέρει πολύ τους επιστήμονες καθώς διευκολύνει κατά πολύ τη μελέτη αλλά και το χειρισμό των βιολογικών υλικών, χωρίς να επιδρά σε αυτά με οποιονδήποτε τρόπο.

Να υπενθυμίσουμε ότι το κύριο θετικό στοιχείο της οπτικής παγίδευσης είναι ότι, μπορεί να επέμβει στο βιολογικό υλικό χωρίς να έρχεται άμεσα σε επαφή με αυτό. Οπότε, είναι απόλυτα ασφαλές και δεν προκαλεί κανενός είδους βλάβη στα μικροσωματίδια. Επιπρόσθετα, η οπτικά παγίδα μπορεί να λάβει και άλλες μορφές για την ταυτόχρονη παγίδευση περισσότερων από ένα σωματίδια ή ακόμα και να συνδυαστεί με άλλα <<εργαλεία>>, όπως είναι για παράδειγμα μια μικροδέσμη Laser. Δίνεται έτσι, μια νέα υπόσταση στην τεχνικά της οπτικής παγίδευσης, κάνοντας την πιο εύχρηστη και προσθέτοντας ακόμη πιο πολλές ικανότητες.

Έως σήμερα, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές εφαρμογές με χρήση οπτικών λαβίδων. Έχει κατορθωθεί, η μελέτη του νευρικού συστήματος του ανθρώπινου σώματος, των ερυθροκυττάρων, του D.N.A., των χρωμοσωμάτων, των σπερματοζωαρίων και των λεμφοκυττάρων. Επιπλέον, έχουν μελετηθεί και διάφορα άλλα κύτταρα, όπως είναι για παράδειγμα τα κύτταρα μαγιάς ή τα πολυμερικά σωματίδια PMMA, αλλά και πώς αυτά μπορούν να ταξινομηθούν με τη χρήση μιας απλής οπτικής παγίδας. Έχουν ακόμη γίνει και διάφορα πειράματα, για την μελέτη σύγκρουσης δύο μορίων κάτω από ελεγχόμενες κινήσεις. Έχει μελετηθεί ο τρόπος σύμφυσης δύο κυττάρων αλλά και ο τρόπος αντίδρασης των κυττάρων- δολοφόνων του οργανισμού, όταν αυτά έρθουν σε

επαφή με κάποιο καρκινικό κύτταρο. Τέλος, μπορούν να γίνουν μετρήσεις του όγκου των κυττάρων με την οπτική παγίδευση.

Οι έρευνες, δεν έχουν σταματήσει φυσικά. Μέχρι στιγμής, έχουν επιλυθεί πολλά προβλήματα και στη διαδικασία των πειραματικών εφαρμογών αλλά και σε διάφορα ιατρικά θέματα που έχουν ως βάση τους τη βιολογία και τον τρόπο λειτουργίας του ανθρώπινου οργανισμού. Οι ερευνητές, ευελπιστούν ότι, σύντομα θα βρουν και νέα χαρακτηριστικά και δυνατότητες των οπτικών παγίδων. Ίσως, έτσι οι οπτικές παγίδες μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν και για άλλες εφαρμογές, δίνοντας περισσότερες πληροφορίες ώστε να επιλυθούν διάφορα ζητήματα που ταλανίζουν την επιστημονική κοινότητα.

Συμπερασματικά λοιπόν, η οπτική παγίδευση είναι μια επαναστατική μέθοδος παγίδευσης των βιολογικών υλικών, που ξεχωρίζει λόγω των ιδιοτήτων της. Δεν χρησιμοποιείται πολλά χρόνια όμως, τα μέχρι τώρα δείγματα από τις έρευνες και τα πειράματα που έχουν γίνει είναι πολύ θετικά και οι επιστήμονες και βιολόγοι είναι ιδιαίτερα αισιόδοξοι. Οι οπτικές παγίδες, έχουν βοηθήσει πολύ στη μελέτη του μικρόκοσμου και χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο. Έτσι, όσοι ασχολούνται με τον χώρο της βιολογίας αναμένουν νέες ανακαλύψεις σχετικά με αυτή τη τεχνική, για να μπορέσουν να δώσουν κι άλλες απαντήσεις στα ερωτήματα που κρίβονται πίσω από τον <<τεράστιο>> κόσμο του μικρόκοσμου και της βιολογίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Στασινοπούλου Β., Ταμπαθάνη Ν., Χριστογιάννη Μ., Το Laser και οι εφαρμογές του, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2005.

<file:///C:/Users/Owner/Downloads/3new.pdf>

[2] Ζευγώλης Δ., Εφαρμοσμένη Οπτική: Με θέματα Οπτικοηλεκτρονικής και Laser, Β' Έκδοση, Εκδοτικός οίκος Τζιόλα, 2007.

[3] <http://greek.ipl-laser-machine.com/sale-1682076-7-mirror-articulated-arm-q-switch-nd-yag-laser-tattoo-removal-birth-mark-removal-acne-removal.html>

[4] https://www.google.gr/search?q=Excimer+Laser&biw=1366&bih=705&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMI8o7zzZrsxwIVBA YsCh3TdQBD

[5] Διαδραστικά Σχολικά βιβλία: Αρχές Οπτικών Συστημάτων, 10 Σεπτέμβρη 2015.

<http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-B110/93/737,2750/>

[6] <http://euroguard.gr/fiber-optics>

[7] Molloy J.E., Padgett M.J., Lights,action: optical tweezers, Contemporary Physics, 2002, volume 43, number 4, p.241-258.

<https://www.crcpress.com/Optical-Tweezers-Methods-and-Applications/Padgett-Molloy-McGloin/9781420074123>

[8] Chu S., Επιστημονικά Βιβλία, Εκδόσεις Κάτοπτρο.

<http://reocities.com/grphysics/laser1.html>

<http://reocities.com/grphysics/laser2.html>

<http://reocities.com/grphysics/laser3.html>

<http://reocities.com/grphysics/laser5.html>

[9] Κοτσιφάκη Δ., Οπτική Παγίδα και Μικροχειρισμός διηλεκτρικών σωματιδίων και βιολογικών δειγμάτων χρησιμοποιώντας δέσμη Laser, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Διδακτορική Εργασία, Αθήνα 2012.
<http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/27748#page/1/mode/2up>

[10] Μακροπούλου Μ., Παπαγιάννης Α., Εφαρμογές των Lasers στη βιοϊατρική και το περιβάλλον, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2008-9.

http://www.physics.ntua.gr/~mmakro/index_files/LaserBiophysics-2008_SEMFE_enotita1.pdf

[11] Μακροπούλου Μ., Εφαρμογές των Lasers στη βιοϊατρική: Εισαγωγή και βασικές αλληλεπιδράσεις της ακτινοβολίας με βιοδομές, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2013.

http://helios-eie.ekt.gr/EIE/bitstream/10442/13424/1/LaserBiophysics-MAKROPOULOU2013_%CE%95I%CE%95.pdf

[12] Μακροπούλου Μ., Εφαρμογές των Lasers στη βιοϊατρική έρευνα, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2008-9.

http://www.physics.ntua.gr/~mmakro/index_files/Laser_SEMFE_research_2008.pdf

[13] Στυλιανού Α., Οπτική Παγίδευση με δέσμη Laser II, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σεμινάριο Φυσικής, Αθήνα 2006.

<http://slideplayer.gr/slide/1922892/>

[14]https://www.google.gr/search?q=%CE%B1%CE%BB%CF%85%CF%83%CE%B9%CE%B4%CE%B1+dna&biw=1366&bih=705&source=lnms&tbn=isch&sa=X&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMI9ZaPwaHsxwIVggoaCh3xgAiB

[15]https://www.google.gr/search?q=spermatozwaria&biw=1366&bih=705&tbm=isch&imgil=42u2dO5XPqeE7M%253A%253BAjT8LK1CkMLCmM%253Bhttp%25253A%25252F%25252Fgeekarena.gr%25252Fova-sperm%25252F2014%25252F&source=iu&pf=m&fir=42u2dO5XPqeE7M%253A%252CAjT8LK1CkMLCmM%252C&usg=__xajmG-AYVRvfOHutAjHEeUtx_2Y%3D&ved=0CDcQyjdqFQoTCIissbuj7McCFUfYLAodbEQOOw&ei=7F3xVYiGKMewswHsiLnYAw#imgrc=42u2dO5XPqeE7M%3A&usg=__xajmG-AYVRvfOHutAjHEeUtx_2Y%3D

[16]https://www.google.gr/search?q=%CE%B5%CF%81%CF%85%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%BA%CF%85%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%B1&biw=1366&bih=705&source=lnms&tbm=isch&sa=X&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMInsKtiqTsxwIVw5bbCh20JQjS#tbn=isch&q=%CE%B5%CF%81%CF%85%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%BA%CF%85%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%B1+thulastikwn&imgrc=IVzfn-Bsai7BgM%3A

[17]https://www.google.gr/search?q=%CE%B5%CF%81%CF%85%CE%B8%CF%81%CE%BF%CE%BA%CF%85%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%B1&biw=1366&bih=705&source=lnms&tbm=isch&sa=X&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMInsKtiqTsxwIVw5bbCh20JQjS#tbn=isch&q=natural+killers+cells

[18] Stevenson D.J., Gunn- Moore F., Dholakia K., Light forces the pace: optical manipulation for biophotonics, Journal of Biomedical Optics 15(4), 041503, July/August 2010.

<http://www.st-andrews.ac.uk/~photon/manipulation/index.php/research/optical-trapping>