

## КОЛЛЕКТИВНОЕ ДВИЖЕНИЕ ЧАСТИЦ В СУСПЕНЗИИ, ИНДУЦИРОВАННОЕ ИМПУЛЬСНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ В СХЕМЕ ЛАЗЕРНОГО ПРОЕКЦИОННОГО МИКРОСКОПА

Р.В. Амбарцумян, С.Д. Захаров, К.И. Земсков, М.А. Казарян, Н.П. Коротков, Г.Г. Петраш

*Обнаружено светоиндуцированное гидродинамическое движение супензии в схеме лазерного проекционного микроскопа с обратной связью. Скорость движения определяется концентрацией взвешенных частиц и их оптическими свойствами.*

Использование лазерного проекционного микроскопа (ЛПМ) /1,2/ для изучения динамического поведения биообъектов от целых органов (таких как сердце лягушки /3/) до отдельных клеток (например, эритроциты /4/) дает существенные преимущества перед его оптическим прототипом благодаря совмещению в ЛПМ функций микроскопа и усилителя яркости. Дополнительным преимуществом ЛПМ является возможность воздействия на объекты его собственного лазерного излучения и одновременного наблюдения реакции на это воздействие. В частности, путем введения в ЛПМ обратной связи /5/ можно увеличивать освещенность объектов и наблюдать процессы, зависящие от мощности лазерного излучения.

Учитывая специфику ЛПМ на парах металлов (импульсно-периодический режим, наносекундные импульсы, высокая средняя мощность, оптическая связь с объектом), можно ожидать, что объекты (клетки, частицы) будут оказывать влияние на формирование поля в ЛПМ, и что свет будет оказывать возмущающее действие на состояние движения объектов. О том, что с помощью света можно удерживать клетки в супензии от оседания в поле тяжести сообщалось в /6/. Ниже показано, что свет может вынуждать клетки двигаться, причем при определенных условиях это движение носит коллективный и упорядоченный циклический характер.

Схема экспериментальной установки приведена на рис. 1. Излучение сверхсветимости активной среды на парах меди 1 проходило через светофильтр 2, поглощающий инфракрасное излучение от нагретой трубы, и фокусировалось микрообъективом 3 на объект 4. Отраженные и рассеянные пучки света снова проходили через объектив 3. После однопроходного усиления в активной среде 1 излучение, прошедшее через полупрозрачное зеркало обратной связи 5, в качестве которого использовалась стеклянная плоскопараллельная пластина, направлялось зеркалами 6–8 на экран 10, где наблюдалось усиленное по яркости, увеличенное изображение объекта. Излучение, отраженное зеркалом 5, снова усиливалось в активной среде, формируя на объекте распределение интенсивности, имеющее вид концентрических колец с наиболее ярким центральным пятном /5/. В некоторых экспериментах за объектом располагалось плоское зеркало, введенное в схему для увеличения мощности лазерного пучка.

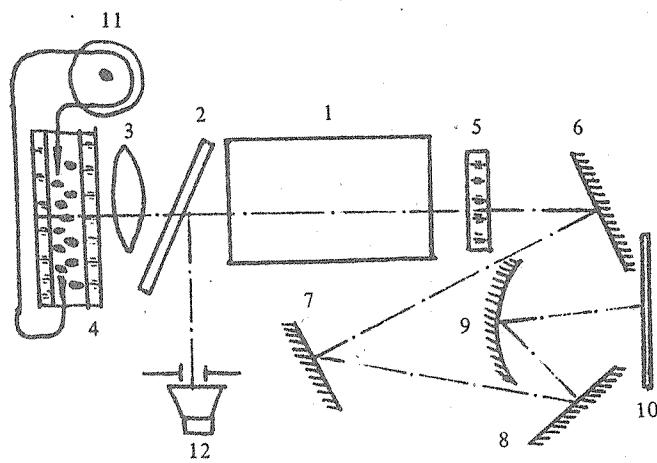


Рис. 1. Схема экспериментальной установки.

В работе использовался усилитель на парах меди УЛ-102. Возбуждение осуществлялось генератором на базе тиатрона ТГИ-2000/35 с частотой повторения импульсов 8 кГц. Эксперименты проводились на двух длинах волн 510 и 578 нм. Применялся стандартный микрообъектив с числовой апертурой 0,2. Средние мощности световых пучков на входе в микрообъектив системы измерялись фотоприемником ФД-24К (12). Объектом наблюдения служили красные клетки крови (эритроциты, диаметр  $\sim 5,5$  мкм, масса  $\sim 10^{-10}$  г) в физиологическом растворе и частицы латекса (диаметр  $\sim 15$  мкм) в водно-спиртовом растворе, взвешенные в тонкой кювете между кварцевыми пластинами. Толщина зазора кюветы составляла 110 мкм. Концентрация частиц варьировалась от  $2 \cdot 10^4$  до  $5 \cdot 10^5$   $\text{мм}^{-3}$  для эритроцитов, а для частиц латекса она составляла  $\sim 10^3$   $\text{мм}^{-3}$ . Часть экспериментов была сделана на покоящихся частицах, часть – на клетках и латексе, протекающих через зазор при прокачке перистальтическим насосом 11.

Обнаружено, что в первоначально покоящейся суспензии эритроцитов (оседание со скоростью  $\lesssim 15$  мкм/с) при включении резонатора клетки, исходно хаотически распределенные вблизи центра, начинают затягиваться в область центрального светового пятна. Клетки разрушаются в центре и образуются конгломераты, размер которых может в 5–10 раз превышать размеры отдельных клеток. Спустя некоторое время ( $\sim 20$  с) после начала образования конгломератов в среде резко инициируется движение всех частиц, находящихся в освещенной области. В плоскости экрана наблюдения можно выделить ось, относительно которой движение частиц симметрично. Движение носит строго упорядоченный циклический характер. Проходя через центр, частицы разрушаются, и продукты разрушения также оказываются вовлечеными в циклическое движение. На рис. 2 даны фотографии покоящихся частиц до включения резонатора (а) и траектории циклического движения в резонаторе (б). Во время движения конгломераты в центре растут и их размер может увеличиваться до двадцати размеров отдельных клеток. Отраженный от конгломератов свет попадает в микрообъектив и усиливается затем активной средой. Это приводило к увеличению яркости центрального пятна и росту средней мощности на входе в объектив системы. Клетки, проходя через центр, могли выбивать конгломераты из центра либо частично разрушать их. При этом отдельные части конгломератов с большой скоростью выбрасывались из центра. После выбрасывания всего конгломерата движение прекращалось и вновь инициировалось после накопления очередного конгломерата. В некоторых случаях происходило прилипание конгломерата к поверхности кварцевого стекла. При этом налетающие клетки уже не могли выбить его из центра и конгломерат вырастал до размера освещенной поверхности (диаметр  $\sim 380$  мкм).

Во время одного цикла движения положение оси симметрии не менялось, однако отмечено изменение направления движения частиц (реверс) за время  $\lesssim 0,1$  с. Расположение оси симметрии может меняться после остановки движения клеток и продуктов разрушения и начала нового цикла движения. В состояния движения вовлечены не только частицы, но и окружающая их жидкость. Об этом свидетельствуют одинаковые скорости при проходе через выделенную точку на экране как целых клеток, так и продуктов их разрушения. Скорость движения увеличивается от периферийных зон к центру. Она также растет с увеличением концентрации частиц. По следам движения на фотографиях, сделанных с экрана, оценена средняя скорость движения между периферийной зоной и центром. Для эритроцитов в физ растворе при концентрации  $10^5$   $\text{мм}^{-3}$  она достигает 1 см/с.

Затягивание клеток носит пороговый характер по мощности. По измерениям средней мощности на входе в микрообъектив системы и величине диаметра освещенной поверхности оценена средняя пороговая мощность, при которой инициируется захват клеток крови. Эта мощность составила  $\sim 100$  мВт, что дает для использованного в работе микрообъектива плотность мощности на объекте  $\sim 25$  Вт/см<sup>2</sup>. При длительности светового импульса 20 нс и частоте повторения 8 кГц средняя по сечению пучка плотность мощности в импульсе составляла  $\sim 2,5 \cdot 10^5$  Вт/см<sup>2</sup>. Однако, учитывая неоднородность распределения интенсивности на объекте (яркое пятно в центре), плотность мощности в импульсе в центральном световом пятне может быть значительно выше.

Часть экспериментов проводилась на движущихся частицах при прокачке перистальтическим насосом. При скоростях прокачки суспензии через зазор  $\sim 30$  см/с происходило периодически чередующееся прилипание и накопление разрушенных клеток в области центрального светового пятна и образование длинных цепочек из разрушенных клеток, выстраивающихся в направлении прокачки суспензии. При

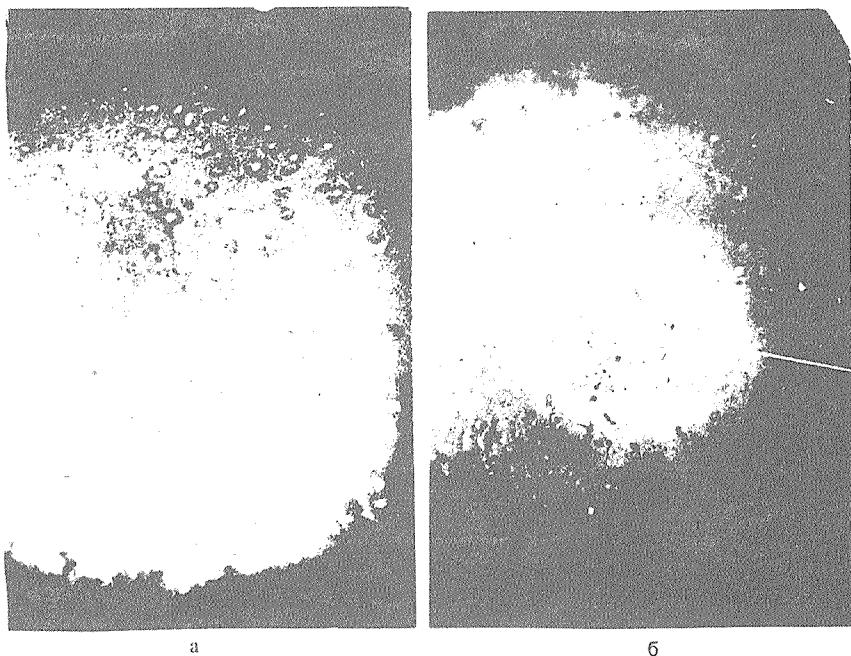


Рис. 2. Фотографии с экрана лазерного проекционного микроскопа: а) суспензия эритроцитов в покое; размер отдельной клетки около 6 мкм; б) циклическое движение суспензии. Выдержка 1/250 с; увеличение на а) и б) одинаковое.

достижении некоторой длины цепочки происходил отрыв и начинался новый цикл образования цепочек. Эта длина для указанной скорости прокачки составляла  $\sim 30-40$  мкм.

Наблюдения на частицах латекса выявили некоторые отличия их поведения по сравнению с суспензией эритроцитов. При достижимых в схеме мощностях не происходило коллективного движения частиц в покоящейся жидкости и образования цепочек в проточном варианте. Однако наблюдалось затягивание в область центрального светового пятна и дальнейшее удержание частиц латекса, расположенных вблизи центра. При этом образовывались большие конгломераты, которые могли вращаться относительно своей оси в центральном световом пятне и частично разрушаться. Установлено, что это также приводило к образованию дополнительной обратной связи и увеличению средней мощности на входе в объектив системы.

Были проведены дополнительные эксперименты, в которых активная среда на парах меди помещалась в плоскопараллельный резонатор, а выходное излучение фокусировалось внутрь кюветы. В такой схеме с независимым источником поведение эритроцитов в суспензии было аналогичным случаю внутрирезонаторного расположения кюветы: частицы двигались от краев освещенной зоны к центру, накапливались и разрушались там.

Таким образом, обнаружено индуцированное лазерным излучением гидродинамическое движение суспензии, скорость которого определяется концентрацией взвешенных частиц и их оптическими свойствами. Природа такого своеобразного светогидродинамического эффекта, по-видимому, отличается от простого удержания биочастиц в световой ловушке [6], теория которого рассмотрена в [7,8].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Земсков К.И. и др. Квантовая электроника, 3, № 1, 35 (1976).
2. Бункин Ф.В. и др. ДАН СССР, 243, № 6, 1568 (1978).
3. Захаров С.Д. и др. Тезисы докладов I Всесоюзного биологического съезда, М., 1982, т. IV, с. 109.
4. Амбарцумян Р.В. и др. Краткие сообщения по физике ФИАН, № 10, 44 (1984).
5. Земсков К.И. и др. Квантовая электроника, 13, № 10, 2096 (1986).
6. Ashkin A., Dziedzic J.M., Yamane T. Nature, 330, 769 (1987).
7. Аскарьян Г.А. УФН, 110, в.1, 115 (1973).
8. Ashkin A. et al. Opt. Lett., 11, № 5, 288 (1986).

Поступила в редакцию 19 апреля 1988 г.