

УДК 681: 57.086.15

© П. Б. Крайкинский, Л. Н. Галль

ОПТИЧЕСКИЕ ТВИЗЕРЫ — НОВЫЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОЛОГИИ

Оптические твизеры используются для измерения небольших значений сил и перемещений движущихся объектов. Оптические твизеры могут быть использованы в биологии для манипулирования клетками, органеллами, биомолекулами, при этом манипулирование не приводит к видимым повреждениям объектов. В этой работе представлен обзор развития техники лазерных твизеров и их различных применений в биологии.

ВВЕДЕНИЕ

Межмолекулярные силы определяют не только физические свойства твердых тел, жидкостей, газов, но также играют важную роль в самоорганизации биологических объектов [1]. Природу биомолекулярных взаимодействий, участвующих в организации живых организмов, определяет набор слабых, нековалентных межмолекулярных сил [2]. Так, динамику цитоскелета клетки, а следовательно, и изменения формы, ориентации и направления движения клетки можно описать, если известны все межмолекулярные силы. Знание сил, возникающих между молекулами и биомолекулярными образованиями в клетке, позволяет раскрыть природу таких процессов, как деление, изменение формы и ориентации, рост, передвижение, самоорганизация клетки, процессов транскрипции и трансляции ДНК, а также процессов, связанных с переносом органелл и молекул внутри клетки. В настоящее время активно разрабатываются динамические методы для определения межмолекулярных взаимодействий. Так, с помощью атомно-силовой спектроскопии [3], оптического твизера [4], микроигл [5] за последние десятилетия проведен ряд уникальных работ по определению межмолекулярных сил.

В этом обзоре будут рассмотрены возможности, преимущества, а также устройство, принцип работы и методы калибровки оптического твизера. Оптический твизер позволяет не только получать количественные и качественные характеристики межмолекулярных взаимодействий описанных выше процессов, но и управлять этими процессами.

Оптическое манипулирование микронными и субмикронными частицами и даже отдельными атомами стало возможным с 1970 г., когда впервые был проведен такого рода эксперимент [6]. Но применение оптических методов для исследования биологических объектов началось лишь в 1987 г. [7]. Оптические твизеры использовались в экспериментах с бактериями, вирусами, клетками [8, 9],

органеллами [10] и ДНК [11]. С помощью оптического твизера можно изучать межклеточные взаимодействия, взаимодействия типа клетка—поверхность, антиген—антитело, рецептор—лиганд [12, 13].

В работе [14] авторы используют твизер в комбинации с импульсным лазером, который выполняет функции скальпеля и используется для разделения клеток и их органелл. Так, в [14] с помощью ультрафиолетового лазера разделяются участки хромосом с целью последующего манипулирования отдельными генами. В комбинации с оптическим скальпелем твизер также используется для изучения слияния клеток. Оптическим скальпелем удаляются части внешних стенок двух клеток, и с помощью твизера осуществляется их контакт [15]. Использование твизера в комбинации с оптическим скальпелем для манипулирования хромосомами во время деления клетки позволяет получить дополнительную информацию о процессах митоза [16].

Одним из важных преимуществ оптических твизеров является то, что они позволяют изучать биомеханическую природу отдельных молекулярных моторов. Так, в эукариотической клетке движение и перенос молекул осуществляются не только посредством диффузионных механизмов, но и с помощью специальных молекул. Специальные белки двигаются по нитям и трубочкам, которые составляют цитоскелет клетки, доставляя прикрепленные к ним молекулы и транспортные пузырьки к различным частям клетки. Эти специальные белки называются "белки-переносчики". Мембрана практически непроницаема для полярных веществ и крупных молекул без белков-переносчиков, поэтому их роль в процессах обмена веществ между клетками и органеллами внутри клетки трудно переоценить. Изучение таких белков-переносчиков также возможно благодаря оптическим твизерам. Один из первых экспериментов был направлен на изучение вращательных моторов, участвующих в механических движениях

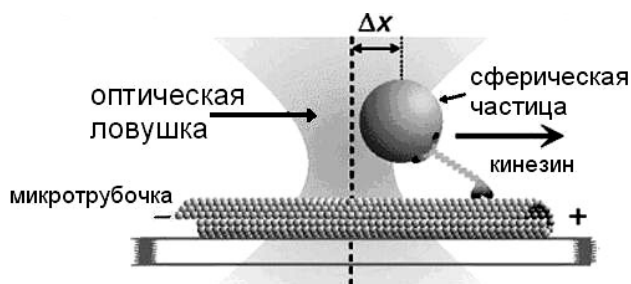


Рис. 1. Схема эксперимента по изучению взаимодействия молекулярного мотора — молекулы кинезина с микротрубочкой. Молекула кинезина, закрепленная на сферической частице, которая может быть захвачена в оптическую ловушку, с помощью твизера помещается на микротрубочку, где она активируется АТФ. Δx — смещение сферической частицы относительно центра оптической ловушки. Было показано, что молекула кинезина создает силы в пределах 5–7 пН и передвигается с шагом 8 нм [17, 18]

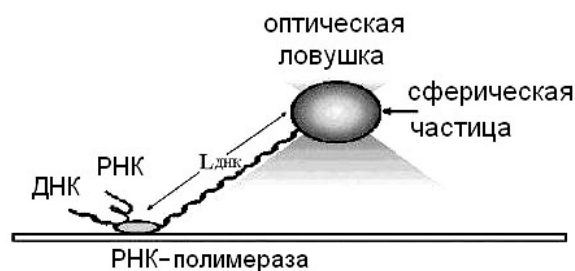


Рис. 2. Закрепленная рецептор-лигандной связью с поверхностью РНК-полимеразы транскрибирует ДНК, при этом происходит уменьшение длины цепочки ДНК $L_{\text{ДНК}}$. В этом эксперименте с использованием оптического твизера было показано [20], что РНК-полимераза при транскрипции воздействует на ДНК с силой 21–27 пН

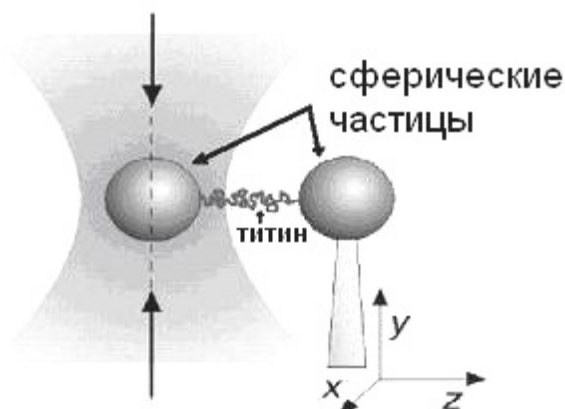


Рис. 3. Схема эксперимента [21], в котором определяются минимальное и максимальное значения сил, при которых белок, в данном эксперименте титин, принимает развернутую и свернутую формы

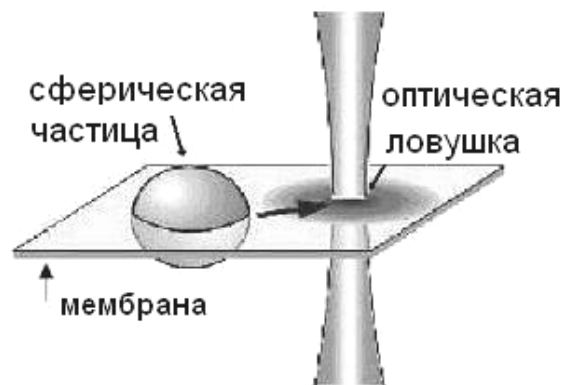


Рис. 4. Схематическое изображение эксперимента по определению коэффициента вязкости искусственной мембраны, состоящей из двух липидных слоев [22]. Расстояние между сферической частицей и оптической ловушкой сокращается по экспоненциальному закону от времени, в аргумент экспоненты входит коэффициент вязкости мембраны

бактерий [9]. Механическое взаимодействие молекулярных моторов с клеточными микротрубочками и филаментами генерирует силы, ответственные за движение клетки, сокращение мышечной ткани, передвижение органелл внутри клетки. В работах [17, 18] изучается взаимодействие молекулярного мотора — молекулы кинезина — с микротрубочкой при наличии АТФ. В этих работах кинезин, закрепленный на сферической час-

тице, которая может быть захвачена в оптическую ловушку, с помощью твизера помещается на микротрубочку, где он активируется АТФ. Схематически эксперимент изображен на рис. 1. Было показано, что молекула кинезина создает силы в пределах 5–7 пН и передвигается с шагом 8 нм. Используя подобные методы, Ашкин в работе [19] измерил силу, создаваемую несколькими молекулярными моторами — молекулами динеина, за-

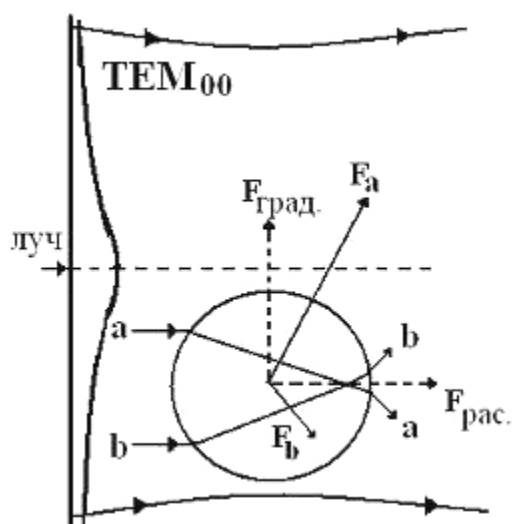
крепленными на митохондриях и двигающимися вдоль микротрубочки. Основные усилия были и остаются направленными на изучение линейных двигательных белков, которые двигаются вдоль полимера. Например, РНК-полимераза — молекулярный мотор, участвующий в транскрипции ДНК. В работе [20] авторы показали, что РНК-полимераза при транскрипции воздействует на ДНК с силой 21–27 пН (см. рис. 2).

Оптические твизеры используются не только для исследования межмолекулярных сил, но также для изучения эластических свойств отдельных полимеров и белков, сворачивания—разворачивания белка, вязких свойств мембран [21, 22]. В работе [21] изучаются процессы сворачивания—разворачивания белка титина, в этом эксперименте были найдены значения сил, при которых белок сохраняет свернутую форму или разворачивается. Схема этого эксперимента показана на рис. 3. В эксперименте, показанном на рис. 4, определяется коэффициент вязкости искусственной мембраны, состоящей из двух липидных слоев [22].

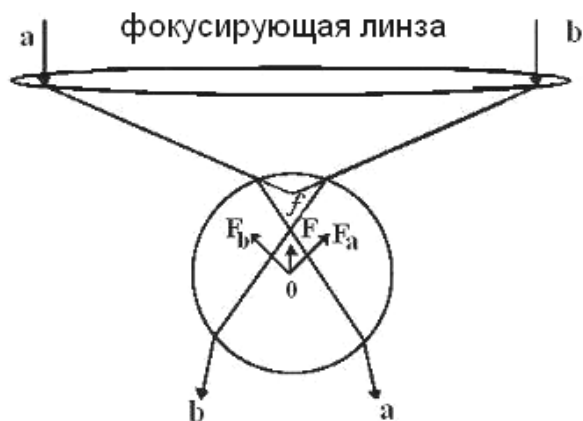
ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ ОПТИЧЕСКОГО ТВИЗЕРА

Оптические твизеры позволяют создавать силы

в диапазоне 0.01–200 пН, что дает возможность манипулировать частицами микронного и субмикронного размеров. Принцип действия оптического твизера основан на световом давлении. Абсорбируясь или рассеиваясь на частицах, свет передает импульс от фотона к частице. Сила может возникать в результате преломления луча — градиентная сила $F_{\text{град.}}$, действующая в направлении интенсивности света. Так же в результате рассеяния света на частице возникает сила $F_{\text{рас.}}$, пропорциональная интенсивности света и действующая в направлении распространения света (рис. 5, а). В результате действия этих сил частица может совершать движение или находиться в покое. В случае, когда частица находится в покое, под действием светового пучка образуется потенциальная яма, в которой находится частица; эта потенциальная яма называется оптической ловушкой. Для удержания частицы в оптической ловушке необходимо, чтобы величина градиентной силы превышала величину силы, создаваемой рассеянием света. В противном случае частица будет двигаться в направлении от источника света вдоль оптического пути. Одно из преимуществ оптического твизера над другими методами — это степень контроля величины создаваемой силы. Величина силы может изменяться в широком диапазоне, определяемом изменением мощности лазера.



а



б

Рис. 5. Геометрия распространения лучей через сферическую частицу и направления возникающих сил. а: $F_{\text{град.}}$, $F_{\text{рас.}}$ — градиентная и рассеивающая силы; F_a , F_b — силы, возникающие вследствие прохождения лучей а и б. б: в данной геометрии суммарная сила F действует в направлении фокуса f [4]

Оптическая сила F , возникающая вследствие светового давления, приложенного к диэлектрической частице, находящейся в фокусе светового пучка, может быть определена, если известны мощность светового пучка P , коэффициент преломления среды $n_{\text{ср}}$ и безразмерный коэффициент полезного действия Q .

$$F = Q \frac{n_{\text{ср}} P}{c}, \quad (1)$$

где $c = 2998 \cdot 10^8$ м/с — скорость света в вакууме.

Коэффициент Q определяет долю "полезной" мощности и зависит от численной апертуры объектива, длины волны света, поляризации света, структуры мод лазера, относительного коэффициента преломления и геометрии частицы, к которой приложена световая сила [17]. В работе [23] приводится расчет потерь мощности вследствие нагрева частицы и окружающей частицу жидкости. В теоретических моделях, которые описывают силы, создаваемые оптическим твизером, рассматриваются диэлектрические частицы сферической формы, такие как микросферы из полистирола или латекса [17, 24]. Так как влияние оптической силы находится в зависимости от формы частицы, то приложение таких теоретических моделей к биологическим объектам, например клетке, форма которых значительно отклоняется от сферической, может привести к неточным результатам. Таким образом, для нахождения сил, определяющих взаимодействие биологических систем, необходимо проводить эмпирические исследования. Безразмерный коэффициент Q может быть определен различными калибровочными методами [17, 25, 26]. Тем не менее всегда существует возможность усовершенствования теоретических моделей [17]. Все доступные теоретические модели включают зависимость исследуемой частицы от ее размера. Для описания случая, когда размер диэлектрической частицы больше, чем длина волны лазера, используются геометрическая оптика и корпускулярная теория света. Представление луча света как потока частиц, фотонов позволяет использовать закон сохранения импульса для описания сил, действующих на частицу. Таким образом, фотон — частица с энергией E и импульсом p , направление которого совпадает с направлением распространения света, взаимодействуя с диэлектрической частицей, передает ей часть импульса. Импульс и энергия фотона определяются длиной волны, или частотой света ν :

$$E = h\nu, \quad p = \frac{E}{c}, \quad (2)$$

где $h = 6.6256 \pm 0.0005 \cdot 10^{-34}$ Дж·с — константа Планка.

Изменение импульса фотона происходит вследствие отражения и преломления света на поверхности диэлектрической частицы, коэффициент преломления которой больше, чем коэффициент преломления окружающей частицу среды. Закон сохранения импульса требует, чтобы изменение импульса фотона было равно и противоположно по знаку изменению импульса частицы. Кроме того, второй закон Ньютона устанавливает прямую зависимость между скоростью изменения импульса и силой. Таким образом, результирующая сила от преломленного луча света действует в направлении увеличения интенсивности света, то есть направлена к фокусу пучка, тогда как сила, возникающая вследствие отражения света, действует в направлении распространения света [17, 24]. Рассмотрение пучка света, состоящего из индивидуальных лучей, позволяет определить силу F как векторную сумму сил преломленных лучей, при этом оптическая ловушка образуется в фокусе этих лучей в фокальной точке f . Под воздействием преломленных лучей смещение диэлектрической сферической частицы происходит в направлении фокуса. Так, на рис. 5, б суммарная сила, действующая на сферическую частицу, образована суммой сил от двух лучей (**a** и **b**). Возникающие силы от преломленных лучей **a** и **b** действуют в направлении изменения импульсов, суммарная сила направлена в сторону фокуса f .

Предположим, что одиночный луч мощностью P действует под углом θ к нормали частицы и, следовательно, действует с импульсом $n_{\text{ср}} P/c$, $n_{\text{ср}}$ — коэффициент преломления среды [24]. Суммарная оптическая сила, действующая на сферу, является суммой сил отдельных лучей PR и бесконечного числа преломленных лучей, которые уменьшили мощность, PT^2 , PT^2R , PT^2R^n , ..., где величины R и T — коэффициенты отражения и преломления на поверхности. Итоговая оптическая сила включает в себя градиентную силу и силу, возникающую вследствие рассеяния света на частице [24].

$$F_{\text{рас.}} = \frac{n_{\text{ср}} P}{c} \times \left\{ 1 + R \cos 2\theta - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2\varphi) + R \cos 2\theta]}{1 + R^2 + 2R \cos 2\varphi} \right\}, \quad (3)$$

$$F_{\text{град.}} = \frac{n_{\text{ср}} P}{c} \times \left\{ R \sin 2\theta \frac{T^2 [\sin(2\theta - 2\varphi) + R \sin 2\theta]}{1 + R^2 + 2R \cos 2\varphi} \right\}, \quad (4)$$

где θ — угол падения луча; φ — угол преломления; R — коэффициент отражения, который опре-

деляется отношением мощности отраженного луча к мощности падающего луча; T — коэффициент преломления, или отношение мощности преломленного к мощности падающего луча.

Абсолютная величина суммарной силы, действующей на сферическую диэлектрическую частицу, выражается следующей формулой:

$$F = (F_{\text{рас.}}^2 + F_{\text{град.}}^2)^{1/2}. \quad (5)$$

УСТРОЙСТВО ОПТИЧЕСКОГО ТВИЗЕРА

В этом разделе будет рассмотрено несколько различных вариантов оптического твизера. Традиционно все оптические твизеры в основе своей базируются на модели, предложенной [27]. Однако обычно в установку вводятся дополнительные элементы, которые повышают удобство эксплуатации. Так, с помощью пьезоэлектрической платформы, на которой закрепляется образец, становится возможным управлять оптической ловушкой вдоль x , y , z осей координат, при этом позиционно-чувствительный детектор позволяет определить смещение частицы относительно центра оптической ловушки. Также с помощью дополнительных технических решений возможна организация нескольких оптических ловушек, что представляет интерес в экспериментах с изучением перехода частицы из одной потенциальной ямы оптической ловушки в другую. Так, в качестве технического решения, которое позволит увеличить число оптических ловушек, может быть выбран простой, но дорогостоящий способ — это увеличение числа источников света. Альтернативным вариантом является установка с одним источником света, в которой дополнительно установлены разделители луча, расщепляющие луч на две компоненты. Такая система представляет собой оптический твизер с двумя управляемыми оптическими ловушками [28].

Акустооптический модулятор может быть также использован для создания твизера с одним источником света, но с несколькими оптическими ловушками [26, 29]. В таком случае луч света от источника распределяется во времени между различными позициями в плоскости образца. При этом свет должен проходить достаточно быстро между позициями, создавая индивидуальные оптические ловушки [26]. Оптические твизеры могут использоваться в комбинации с другими экспериментальными методиками, например флуоресцентной микроскопией [30], атомно-силовой микроскопией [31].

Для изучения биологических объектов чаще всего является достаточным использование твизера с одной оптической ловушкой. Например, изучение взаимодействий молекулярных моторов

с филаментами [20] клеток и органелл [7, 8, 10], ДНК [11], взаимодействия рецептор—лиганд [12, 13]. Таким образом, основным требованием к оптическому твизеру является наличие оптической ловушки, образованной плотно сфокусированным лазерным лучом, и возможности управления ловушкой в направлениях координатных осей x , y , z .

Для того чтобы создать эффективную трехразмерную оптическую ловушку, необходимо наличие резкого градиента интенсивности. Так, исследуемая диэлектрическая частица будет находиться в пределах оптической ловушки, только если величина градиентной силы будет больше, чем сила, возникающая вследствие рассеяния света на частице. Такой градиент интенсивности достигается с использованием объектива с большой численной апертурой в диапазоне 1.00–1.40 (что соответствует углам выше 140°) [24].

На рис. 6 показаны варианты оптических твизеров, предложенных и описываемых в [26, 32]. В системе по [32] используются телескопические линзы для расширения лазерного луча, что необходимо для переполнения "зрачка" объектива. Перемещение оптического фокуса в плоскости образца происходит благодаря наличию пьезоэлектрической панели, на которой закреплен образец. В работе [26] диаметр луча увеличивается с помощью микрообъектива и используются 1:1 телескопы для управления оптической ловушкой в x , y , z направлениях. Также в экспериментальную установку были введены два разделителя луча для создания управляемого твизера с двумя оптическими ловушками. Выбор длины волны лазера является важной задачей при конструировании твизера, если предполагается использовать оптический твизер для исследования биологических объектов. Например, необходимо брать во внимание то, что такой биологический пигмент, как гемоглобин, поглощает свет в видимом диапазоне. Этот эффект менее значим в диапазоне частот, близком к инфракрасному, выше 800 нм. За пределами 800 нм свет поглощается водой в большей степени, чем биоматериалами [17]. В вышеописанных твизерах в качестве источника света используется Nd:YAG-лазер с длиной волны $\lambda = 1064$ нм.

КАЛИБРОВКА ТВИЗЕРА

Как правило, в экспериментах с применением оптического твизера осуществляется захват в оптическую ловушку не самого объекта исследования, а частицы сферической формы, с которой химически связан исследуемый объект. Использование сферических частиц упрощает калибровку твизера и визуализацию эксперимента. Исследуемый образец представляет собой водный раствор

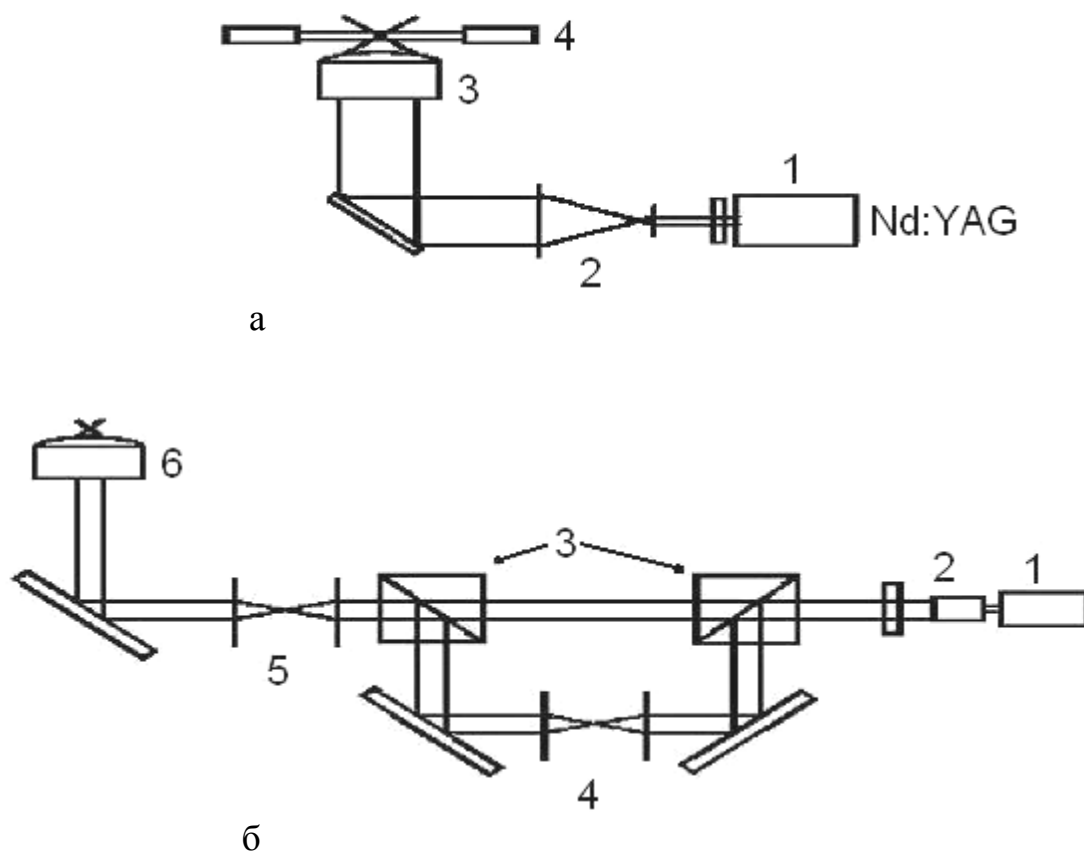


Рис. 6. Схематические изображения оптических твизеров.

а — твизер по [32]: 1 — лазер; 2 — телескоп, расширяющий луч; 3 — объектив; 4 — управляемая, передвигающаяся в направлениях x , y , z панель, на которой закрепляется образец.

б — твизер по [26]: 1 — лазер; 2 — микрообъектив, расширяющий луч; 3 — разделители луча для создания управляемого твизера с двумя оптическими ловушками; 4, 5 — 1:1 телескопы для управления оптической ловушкой в x , y , z направлениях; 6 — объектив

с исследуемыми частицами, находящийся в плоской прямоугольной замкнутой прозрачной емкости. Емкость закрепляется на подвижной панели, перемещение которой позволяет осуществить захват частицы.

Для того чтобы узнать силу, с которой частица удерживается в ловушке, необходимо откалибровать твизер. Существует множество методов калибровки, как правило, основанных на измерении силы либо смещения частицы относительно центра ловушки [33]. Измерение смещения требует наличия соответствующего датчика [26].

Наиболее простой и популярный метод калиб-

ровки — это измерение значения силы, при котором частица покидает оптическую ловушку. Минимальное значение этой силы называется критической силой [17, 25, 26]. В этом методе калибровки к частице прикладывается сила, создаваемая потоком жидкости. Сила, создаваемая оптической ловушкой, действует в направлении, противоположном действию гидродинамической силы. Гидродинамическая сила может быть создана перемещением подвижной панели, на которой закреплен образец, с заданной скоростью. Используя уравнение Стокса для сферической частицы, силу можно выразить следующей формулой [34]

$$F = 6\pi\eta r v, \quad (6)$$

где η — вязкость жидкости, в которой находится сферическая частица; r — радиус сферической частицы; v — скорость частицы. Для частицы с диаметром $2r = 1$ мкм в воде $6\pi\eta r = 8 \cdot 10^{-9}$ кг/с [33].

Таким образом, можно откалибровать твизер для разных значений мощности лазера. Каждому значению мощности соответствует определенное значение силы, с которой частица удерживается в ловушке. Приравнявая (1) и (6), можно найти безразмерный коэффициент полезного действия Q для данного твизера. Калибровка оптического твизера является весьма сложной и важной задачей. Как было отмечено выше, существует много различных методов калибровки оптического твизера [17, 25, 26], тем не менее идет постоянный поиск новых, более совершенных методов калибровки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выше кратко был рассмотрен ряд задач, которые успешно решаются при помощи оптического твизера. Оптический твизер позволяет не только решать многие исследовательские задачи, но может быть также использован для управления биопроцессами и манипулирования биологическими объектами. Для манипулирования биологическими объектами оптический твизер может быть использован в комбинации с оптическим скальпелем — мощным импульсным лазером, который используется для разделения объектов. Оптический твизер также используется в комбинации с другими спектроскопическими методами. Развитие этого нового метода исследований, несомненно, позволит решить множество исследовательских и прикладных задач биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Israelachvili J.N.* Intermolecular and Surface Forces: With Applications to Colloidal and Biological Systems (2nd edition). Academic Press Inc., London, 1991.
2. *Leckband D., Israelachvili J.N.* Intermolecular forces in biology // *Quarterly Rev. Biophys.* 2001. V. 34. P. 105–267.
3. *Binnig G., Quate C.F., Gerber C.* Atomic force microscope // *Phys. Rev. Lett.* 1986. V. 56. P. 930–933.
4. *Ashkin A.* Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. P. 4853–4860.
5. *Rahman A., Tseng Y., Wirtz D.* Micromechanical coupling between cell surface receptors and RGD peptides // *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2002.

- V. 296. P. 771–778.
6. *Ashkin A.* Acceleration and trapping of particles by radiation pressure // *Phys. Rev. Lett.* 1970. V. 24. P. 156–159.
7. *Ashkin A., Dziedzic J.M.* Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria // *Science.* 1987. V. 235. P. 1517–1520.
8. *Ashkin A., Dziedzic J.M., Yamane T.* Optical trapping and manipulation of single cells using infrared-laser beams // *Nature.* 1987. V. 330. P. 769–771.
9. *Block S. M., Blair D.F., Berg H.C.* Compliance of bacterial flagella measured with optical tweezers // *Nature.* 1986. V. 338. P. 514–518.
10. *Ashkin A., Dziedzic J.M.* Internal cell manipulation using infrared-laser traps // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989. V. 86. P. 7914–7918.
11. *Wang M.D. et al.* Stretching DNA with optical tweezers // *Biophys. J.* 1997. V. 72. P. 1335–1346.
12. *Mammen M. et al.* Optically controlled collisions of biological objects to evaluate potent polyvalent inhibitors of virus-cell adhesion // *Chem. Biol.* 1996. V. 3. P. 757–763.
13. *Helmerson K. et al.* Optical tweezers-based immunosensor detects femtomolar concentrations of antigens // *Clin. Chem.* 1997. V. 43. P. 379–383.
14. *Seeger S. et al.* Application of laser optical tweezers in immunology and molecular genetics // *Cytometry.* 1991. V. 12. P. 497–504.
15. *Steubing R.W. et al.* Laser-induced cell-fusion in combination with optical tweezers-the laser cell-fusion trap // *Cytometry.* 1991. V. 12. P. 505–510.
16. *Liang H., Wright W.H., He W., Berns M.W.* Micromanipulation of chromosomes in PTK2 cells using laser microsurgery (optical scalpel) in combination with laser induced optical force (optical tweezers) // *Exp. Cell Res.* 1993. V. 204. P. 110–120.
17. *Svoboda K., Block S.M.* Biological application of optical forces // *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 1994. V. 23. P. 247–285.
18. *Svoboda K. et al.* Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry // *Nature.* 1993. V. 365. P. 721–727.
19. *Ashkin A. et al.* Force generation of organelle transport measured in vivo by an infrared laser trap // *Nature.* 1990. V. 348. P. 346–348.
20. *Yin H. et al.* Transcription against an applied force // *Science.* 1995. V. 270. P. 1653–1657.
21. *Kellermayer M.S.Z., Smith S.B., Granzier H.L., Bustamante C.* Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with laser tweezers // *Science.* 1997. V. 276. P. 1112–1116.
22. *Dimova R., Pouligny B., Dietrich C.* Pretransitional effects in dimyristoylphosphatidylcholine vesicle membrane: optical dynamometry study // *Biophys. J.* 2000. V. 79. P. 340–356.

23. *Peterman E.J.G., Gittes F., Schmidt C.F.* Laser-induced heating in optical traps // *Biophys. J.* 2003. V. 84. P. 1308–1316.
24. *Ashkin A.* Force of single-beam gradient laser trap on dielectric sphere in the ray optics regime // *Biophys. J.* 1992. V. 61. P. 569–582.
25. *Felgner H., Muller O., Schliwa M.* Calibration of light forces in optical tweezers // *Appl. Optics.* 1995. V. 34. P. 977–982.
26. *Visscher K., Gross S.P., Block S.M.* Construction of multiple-beam optical traps with nanometer-resolution position sensing // *IEEE J. Selec. Top. Quantum Electronics.* 1996. V. 2. P. 1066–1076.
27. *Ashkin A., Bjorkholm J.E., Chu S.* Caught in a trap // *Nature.* 1986. V. 323. P. 585.
28. *Fällman E., Axner O.* Design for fully steerable dual-trap optical tweezers // *Appl. Optics.* 1997. V. 36. P. 2107–2113.
29. *Molloy J.E., Veigel C., Knight A.* Single molecule mechanics of acto-myosin using optical tweezers // *J. Gen. Physiol.* 1999. V. 114. P. 18–20.
30. *Funatsu T. et al.* Single molecule imaging of motion and ATPase reaction of motor proteins // *Biophys. J.* 1996. V. 70. P. 1.
31. *Shivashankar G.V., Libchaber A.* Single DNA molecule grafting and manipulation using a combined atomic force microscope and optical tweezer // *Appl. Phys. Lett.* 1997. V. 71. P. 3727–3729.
32. *Ghislain L.P., Switz N.A., Webb W.W.* Measurement of small forces using an optical trap // *Rev. Sci. Instrum.* 1994. V. 65. P. 2762–2768.
33. *Gittes F., Schmidt C.F.* Thermal noise limitations on micromechanical experiments // *Eur. Biophys. J.* 1998. V. 27. P. 75–81.
34. *Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М.* Гидродинамика. М.: Наука, 1986. 736 с.

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург*

Материал поступил в редакцию 30.12.2003.

BIOLOGICAL APPLICATIONS OF OPTICAL TWEEZERS

P. B. Kraikivski, L. N. Gall

Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

Optical tweezers are used to quantitatively measure small forces and displacement of moving objects. In biological applications of optical trapping and manipulation, it is possible to remotely apply controlled forces to living cells, internal parts of cells, and large biological molecules without detectable optical damage. This paper reviews the early developments in the field leading to the use of optical tweezers in biology.