



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480013395.3

[45] 授权公告日 2008年8月13日

[11] 授权公告号 CN 100411497C

[22] 申请日 2004.5.14

[21] 申请号 200480013395.3

[30] 优先权

[32] 2003.5.16 [33] US [31] 60/471,149

[32] 2003.8.29 [33] US [31] 60/498,868

[86] 国际申请 PCT/US2004/015327 2004.5.14

[87] 国际公布 WO2004/104551 英 2004.12.2

[85] 进入国家阶段日期 2005.11.16

[73] 专利权人 芝加哥大学

地址 美国伊利诺斯州

[72] 发明人 大卫·G·格里尔

[56] 参考文献

US2003/0007894 A1 2003.1.9

US2002/0185592 A1 2002.12.12

US2003/0032204 A1 2003.2.13

审查员 王 荣

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 蒋世迅

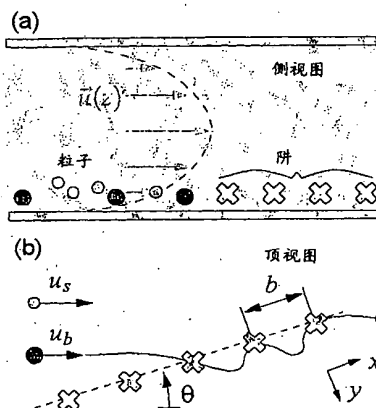
权利要求书 3 页 说明书 14 页 附图 7 页

[54] 发明名称

光学分离法的方法和设备

[57] 摘要

可以使用光阱的静态阵列把微观物体按大小的指数律灵敏度分类。这种光学分离法依赖于外加力和运动物体对光梯度阱不同的亲合力之间的竞争。在相反的分离法方法中，受阱更强烈影响的物体，被动态地锁定在阵列中并被系统地偏折回输入的流体中。在热棘轮方法中，图案是分隔开的，以便让微粒扩散，从而提供向前或向后通过图案运动的机会。与其他分类技术不同，光分离法能够连续地运行，还能够连续地优化。源于微粒大小对势阱表观宽度依赖性的指数律灵敏度，是十分普遍的。



1. 一种把微小物体的总体分类的设备, 包括:
第一通道和第二通道;
驱动微小物体的总体通过通道的力源;
位于第一通道和第二通道聚合处并由激光束构成的多个管道, 以便形成许多光阱;
这些光阱被组织成多种图案, 其中, 这些图案的排列, 要使一种图案的管道能被其余图案的管道分隔开; 和
这些光阱以一定角度相对于驱动力取向, 且使光阱的每种图案彼此分隔地排列;
其中, 微小物体的总体至少被分类为需要的成分和不需要的成分。
2. 按照权利要求 1 的设备, 其中的微小物体的总体, 分散在第一通道内配置的液体媒质中, 其中还在第二通道中配置缓冲剂。
3. 按照权利要求 1 的设备, 其中的通道包括一种 H 形交叉。
4. 按照权利要求 1 的设备, 其中的光阱由全息光学装置建立。
5. 按照权利要求 1 的设备, 其中不需要的成分, 比需要的成分更易扩散或更易活动。
6. 按照权利要求 1 的设备, 其中, 需要的成分, 比不需要的成分更易扩散或更易活动。
7. 按照权利要求 1 的设备, 其中, 沿驱动力方向各管道间的距离, 大于各种阱的宽度。
8. 按照权利要求 7 的设备, 其中, 当按顺序激励图案时, 光阱只适合把微小物体的总体的一部分向前移动。
9. 按照权利要求 7 的设备, 其中的图案, 适合于当激励一种图案时, 能使陷入另一种图案中的微小物体的总体扩散。
10. 一种连续地把微小粒子的总体, 分开成至少需要的成分和不需要的成分的方法, 包括如下步骤:
提供一种驱动微小粒子的总体的外力;

提供各包括至少一条管道的多种图案，每一管道至少包括一种光阱，并且沿驱动力方向各管道间的距离，大于光阱的宽度；

提供激光束，以便形成许多光阱；和

组织这些光阱，使不需要的成分能离开这些阱，而留住需要的成分。

11. 按照权利要求 10 的方法，还包括把微小粒子的总体分散在送进第一通道的液体流体中，其中还把缓冲剂送进第二通道中。

12. 按照权利要求 10 的方法，其中的通道包括一种 H 形交叉。

13. 按照权利要求 10 的方法，还包括用全息光学镊子技术建立光阱。

14. 按照权利要求 10 的方法，其中，当按顺序激励图案时，只有微小粒子的总体的一定成分通过光阱向前移动。

15. 按照权利要求 10 的方法，其中，当激励一种图案时，陷入另一种图案中的微小粒子的总体，可以自由扩散。

16. 按照权利要求 10 的方法，其中，一些粒子通过光阱阵列向前运动，而一些粒子通过光阱阵列向后运动。

17. 一种连续地把微小粒子的总体分开的方法，包括如下步骤：

提供一种驱动微小粒子的总体的外力；

把激光束聚焦，形成许多光阱；和

提供各包括至少一条管道的多种图案，每一管道至少包括一种光阱；

和

每隔一段时间，激励每一种图案，其中，当激励一种图案时，陷入先前激励的另一种图案中的粒子，可以自由扩散；

其中，微小粒子的总体至少被分类为需要的成分和不需要的成分。

18. 按照权利要求 17 的方法，还包括用全息光学镊子技术建立光阱。

19. 按照权利要求 17 的方法，其中，沿驱动力方向各管道间的距离，大于各种阱的宽度。

20. 按照权利要求 17 的方法，其中，当按顺序激励图案时，只有微小粒子的总体的一定成分通过光阱向前移动。

21. 按照权利要求 17 的方法，其中，当激励一种图案时，陷入另一种图案中的微小粒子的总体，可以自由扩散。

22. 按照权利要求 17 的方法, 其中, 一些粒子通过光阱阵列向前运动, 而一些粒子通过光阱阵列向后运动。

光学分离法的方法和设备

技术领域

本发明一般涉及把微小粒子分类的方法和系统的实施方案。更具体说，本发明针对的是，使用全息光学镊子技术，对诸如宏观分子、生物分子、纳米团、胶体粒子、及生物细胞等微小物体进行分类。

背景技术

光学镊子使用光学梯度力，使微小的，通常是微米尺度的，沿二维和三维的物质体积，陷入阱中。一种光学镊子的全息形式，能够使用计算机产生的衍射光学单元，从单一的激光束建立大量的光学镊子。这些镊子能够根据现实要求，按任何需要的结构形式排列。

虽然已知一些精确的并以相对高的可信度移动粒子的系统，但是通常的系统对粒子运动的每一个别步骤，要求单独投射的全息图。要计算多个全息图是费时的，并要求颇大的计算工作量。此外，要求实现上述计算机产生的光学镊子的计算机可寻址投射系统，或其他动力学光学镊子系统，诸如扫描光学镊子，看来将是昂贵得不可接受的。

发明内容

许多技术上和商业上重要系统的运转，是通过调制势能的形貌的经典迁移产生的。利用这些运转的一种方法，是光学分离法。光学分离法能够把微小物体的总体，根据它们通过光阱阵列的不同能力，连续地（在给定时间段内）分类成分开的成分。具体说，被外力，例如流动液体中的粘滞阻力驱动力的物体，遇到其对称轴以一定角度相对于驱动力取向的光阱阵列。一般地说，这些阱可以用全息光学镊子技术产生。那些更强烈受这些阱建立的势能阱影响的物体，趋于从一个阱跳到一个阱，从而偏离驱动力的方向。更强烈受驱动力影响或较不强烈受光阱影响的其他物体，则通过阵列而不偏折。与阱的构造形式有关，可以利用本发明，使不同成分偏折不同的量。在某些情况中，最好使用上述两成分实施例

的干净分离。但是，选择多种成分以便收集，也包括在本发明的范围之内。例如，在一个实施例中，在“光学色谱分离法”方法的连续分布的方向范围中，可以成扇形地输出非均匀的样本。能够分开地收集偏折的和不偏折的成分。

一般说，非均匀的输入样本与输出的成分，分散在通过通道流动的液体中。在一个优选的实施例中，通道取所谓H形交叉的形式，其中的两个输出，一个包含输入的混合样本，而另一个仅包含本底液体，在被分开为两条输出通道前，被带到一起并排流动一段设定的距离。如果通道足够小，则流动液体的Reynold数也足够小，使该两种流体不会混合，而是以层流方式并排地流动。结果，除偶或由于扩散外，在输入流体中的物体通常不会越过流体之间的分界线，进入缓冲剂通道。

本发明的一个方面，涉及使用离散光阱阵列的光学分离法，根据微小物体对光阱及对外加力竞争的相对亲合性，连续地把微小物体分类。不需要的成分，比需要的成分更易扩散或更易活动。但是，本发明的另一方面，涉及“相反”的光学分离法。在相反的光学分离法中，需要的成分，比不需要的成分更易扩散或更易活动。

本发明的另一方面，涉及对被称为光学蠕动技术的修改，在光学蠕动技术中，微小物体决定性地被投射的光阱图案序列迁移。光学蠕动与公开的光学热棘轮技术之间的差别，从性质上对系统和方法赋予新的能力，包括没有限制的通过称为流量颠倒效应的双向泵浦，还具备对非均匀样本进行分类的新的可能性。

附图说明

图1画出光学分离法，其中的显微流态学的H形交叉，包括含有要分类的非均匀样本的第一流体，和由本底或叫缓冲剂液体构成的第二流体；

图2画出相反的光学分离法，其中的显微流态学的H形交叉，包括两种流动的液体，一种包含要分离的非均匀样本，另一种只包含缓冲剂溶液；

图3A画出光学分离法的示意侧视图；图3B画出图3A的光学分离

法的顶视图；

图 4 画出大石英球从小石英球中的光学分离；图 4A 画出 0.79 微米半径球每隔 1/60 秒测量的代表性轨迹；图 4B 画出同时获得的 0.5 微米半径球的轨迹；图 4C 是 0.79 微米半径球相对于它们平均面密度的时间平均面密度；而图 4D 是 0.50 微米半径球相对于它们平均面密度的时间平均面密度；

图 5 表示对单一光阱线获得的分离的空间分辨质量；

图 6A 画出现有技术的光学蠕动方法，其中，一种光阱图案使物体定位；图 6B 画出以位移一段距离的另一个光阱图案置换光阱图案；图 6C 画出又一个位移的光阱图案；最后，图 6D 画出光学蠕动一个循环的完成；和

图 7 对论证流量颠倒的光学棘轮实施方案，画出其运动方程的数值解。

具体实施方式

本发明涉及光学分离法的方法和设备。一个方面是涉及用离散光阱阵列的光学分离法，根据微小物体对光阱及对外加力竞争的相对亲合性，连续地把微小物体分类。本发明的另一方面，涉及“相反”的光学分离法。本发明的第三方面，涉及“棘轮式”光学分离技术的使用。

为研究调制迁移，已经发展一种模型系统，其中各个胶体球被驱动，通过用离散的光学镊子建立的规则势阱阵列，同时用数字视频显微镜分析它们的运动。在该系统上的实验表明，随着阵列相对于驱动力旋转，被驱动的粒子描出运动学上锁定状态的 Devil 阶梯体系。在这些状态的每一个中，粒子的轨迹遵从对称选择的方向，通过阱的格子，与阵列的取向无关，从而被侧向偏折，离开驱动力。可以预测这种偏折，以便提供连续分离技术的基础，在该分离技术中，已选择的总体被阱阵列偏折，同时，其余的样本不受阻碍地通过。该方法给出光学分离法的实际证明，而且还证明，光学分离法的分辨率可以按指数律依赖于粒子的大小。因此，该方法给出以前报告的任何分类技术不可比拟的灵敏度。

人们能够证明一种光学分离法概念上的形式，证明是通过使用离散

光阱阵列, 根据微小物体对光阱及对外加力竞争的相对亲合性, 可以连续地把微小物体分类。这一证明利用分散在水中两种不同大小胶体石英球的轨迹, 该水流经过与水流成一定角度排列的光学镊子线性阵列。流动的胶体分散性被限制在 $4\text{ mm} \times 0.7\text{ mm} \times 40\text{ }\mu\text{m}$ 的玻璃通道, 玻璃通道是把盖板边缘粘结在显微镜载波片上形成的。在该通道上施加的压力差, 在数分钟内产生约 $60\text{ }\mu\text{m}/\text{秒}$ 的大致恒定的 Poiseuille 流。样本包括 $a = 0.79\text{ }\mu\text{m}$ 半径的球 (Duke Scientific Duke Scientific Corporation, 2463 Faber Place Palo Alto, California 94303, Lot No. 24169) 和 $a = 0.5\text{ }\mu\text{m}$ 半径的球 (Duke Scientific Lot No. 19057), 两者可以使用常规的亮场显微镜及数字视频分析, 每隔 $1/60$ 秒在平面中以 30 nm 精度跟踪。此外, 这些球能够根据它们的外观可靠地区分, 从而提供理想的模型系统, 该模型系统对光学分离法的显微镜响应, 能够实时监控。大球和小球的典型轨迹, 分别示于图 4A 和 4B。

石英球的密度大致是水的两倍, 因而沉降成正好在通道下玻璃壁之上的单层, 较小的球因为它们较轻, 漂浮得高些。给定通道内的 Poiseuille 流线, 较小的球平均速度为 $u_s = 17 \pm 9\text{ }\mu\text{m}/\text{秒}$, 与较大球的 $u_b = 13 \pm 2\text{ }\mu\text{m}/\text{秒}$ 相比, 移动得稍快些。静态球的粘滞阻力 $F_1 = \gamma u$, 由阻力系数 γ 表征, 阻力系数与球的半径 a 及与球的分界面的邻域有关。总体的阻力系数能够用 Einstein-Smoluchowsky 关系 $D = k_B T / \gamma$, 从它们的扩散率 D 估计, 这里 $k_B T$ 是在温度 T 的热能比例。而扩散率又可以从例如示于图 4A 和 4B 的轨迹中横向速度的起伏测量。更一般地说, 施加的力 F_1 能够由诸如电泳作用、电渗作用、磁泳作用、或重力沉降等过程提供。

上面出示的光阱, 是用动态全息光学镊子技术产生的。12 个离散的光学镊子, 各用 $1.7 \pm 0.8\text{ mW}$ 的 532 nm 激光会聚产生, 排列在与通道轴成 $\theta = 12.0^\circ \pm 0.5^\circ$ 的线中, 中心到中心的间隔为 $b = 3.6 \pm 0.1\text{ }\mu\text{m}$ 。每一阱粗略地可用 Gauss 势阱模拟, 势阱的深度 V_0 和宽度 ϵ_T , 两者都与球的半径 a 有关。

如果不是对光阱, 那么被外加力 F_1 驱动的粒子通过粘滞液体时, 将以平均速度 $u = F_1 / \zeta$ 移动。只要外加的力 F_1 足够大, 光阱只把一个粒子

偏折,使它离开它的轨迹。如果偏折是小的,那么粒子将继续向下游移动,离开阱的线,且可以说已经从阱的线逃逸。相反,每一阱可以足够强,把粒子偏折进它邻近的影响力范畴。在此情形下,粒子将从一个阱到另一个阱,并有效地被阵列捕获。这就是运动学锁定迁移的机理。选择的偏折角 θ ,要接近该锁定迁移的最大偏折。捕获粒子的轨迹对逃逸粒子的轨迹的相对偏折,是用光学分离法分类的基础。偏折和不偏折的成分,可以分别地收集,而图 1 示意画出该过程。

给定阱的几何结构,可以把激光功率设定在由经验确定的大球和小球逃逸阈值之间。图 4A 和 4B 的轨迹表明,在这些条件下,较大的球被阱阵列系统地偏折,而较小的球则没有。结果是,小球不受阻碍地流进大球分布中产生的影子中,可以在那里收集它们。相反,被偏折的大球,集中进光阱阵列一端小的区域内,可以在那里分开地收集它们。因为小球的纯化作用和大球的集中,是由较大的成分的侧向偏折产生的,所以该光学分离法过程能够持续进行,从而优于诸如凝胶电泳等分批模式的技术。

这种只有少量轨迹的性质上的解释,通过考虑图 4C 和 4D 中收集的成千上万轨迹的统计,更能使人信服。在此,我们在以 \bar{r} 为中心的面积区域 $60 \times 24 \mu\text{m}^2$ 中,描绘球的时间平均面密度 $n(\bar{r})$,其中对每一总体都以平均的时间平均面密度 n_0 归一化。球对阱的相对亲和力,可作如下估计:大球在阱中比在整个流体中的可能性粗略地大 18 倍,而小球的可能性只大 3 倍。给定球的相对速度,那么这些比值,与较大球临时停在局部的势极小中,而较小球被简单地减速,是一致的。

得到的分离质量,可以通过测量作为流体中位置函数的相对总体浓度估计:

$$Q(\bar{r}) = \frac{n_b(\bar{r}) - n_s(\bar{r})}{n_b(\bar{r}) + n_s(\bar{r})} \quad (1)$$

图 5A 和 5B 所示上式的优值，在仅包含大球的区域中达到极大值一个单位，而在只有小球的区域中是负的一个单位。在阱阵列前横切沿图 5A 线 A 的流体的一段，展现完全混合的样本， $Q(y) = 0$ ，如图 5B 中的小圆圈所示。在阱阵列后沿线 B 的类似的一段，在图 5B 中以较大圆圈画出，粗略展示对大球和小球有百分之 40 的纯化作用。许多本底对阱阵列中的碰撞有贡献，这种碰撞能使大球逃逸。碰撞导致的逃逸，在图 4C 阱阵列下游的大球浓度曲线中是明显的，随着大球在阱阵列下游端的饱和，碰撞和逃逸的可能性逐渐增大。最有效地避免这种碰撞，是投射若干条平行的阱线。在本实验条件下，少至三条线可以提供基本完善的分离，在较密的悬浮液中，需要更多的线。

在图 4A、4B 和 5A、5B 中的数据表明，离散的光阱阵列，能够连续地把球根据它们的大小分离。考虑导致一种粒子从光阱阵列逃逸，而另一种被捕获的物理条件，可以给出优化光学分离法的基础。

为简单起见，分析仅有两个离散的光阱的影响，该两个光阱以 $x = \pm b/2$ 为中心，粒子靠近它们的中点 $x = 0$ 。粒子的总势能是

$$V(\vec{r}) = -V_0 \left[\exp\left(-\frac{(x-\frac{b}{2})^2}{2\sigma^2}\right) + \exp\left(-\frac{(x+\frac{b}{2})^2}{2\sigma^2}\right) \right] \exp\left(-\frac{y^2}{2\sigma^2}\right) - \vec{F}_1 \cdot \vec{r} \quad (2)$$

粒子逃逸通过的点是

$$F_y(\vec{r}) = F_1 \sin \theta - \frac{V_0}{\sigma^2} y \left[\exp\left(-\frac{(x-\frac{b}{2})^2}{2\sigma^2}\right) + \exp\left(-\frac{(x+\frac{b}{2})^2}{2\sigma^2}\right) \right] \exp\left(-\frac{y^2}{2\sigma^2}\right) = 0 \quad (3)$$

在这里，总力的 y 分量等于零。粒子很可能在接近 $x = 0$ 时逃逸，因为陷入阱中的力最弱，且在 $y = \sigma$ ，分离的力最大。在这种情形下，仍允许捕获轨迹的最大可获得的偏折，由下式给出

$$\sin \theta \approx f(a) \exp\left(-\frac{b^2}{8\sigma^2}\right) \quad (4)$$

这里, 相对阱强度 $f(a) = (2/\sqrt{e})V_0/V_1$ 与粒子材料性质, 包括它们的大小有关, 但与阱的构造形式无关。这里 $V_1 = F_1\sigma$ 表征驱动力。类似地, 光阱的表观扩展 $\sigma(a)$ 不仅依赖于聚焦光束的宽度 σ_0 , 还依赖于粒子的大小:

$$\sigma^2(a) \approx \sigma_0^2 + a^2 \quad (5)$$

较大粒子比较小粒子在更大范围上受光阱的影响。 σ 的这一性质上对 a 的依赖, 为指数律灵敏分离建立条件。我们继续使用公式 (5) 来举例说明。

对目前从大球和小球分别获得的 $V_0/V_1 = 1.3$ 和 0.73 的数据, 使用热起伏分析来表征光阱的深度。同一分析表明, 阱的表观宽度为 $\sigma = 0.94 \pm 0.07 \mu\text{m}$ 和 $0.74 \pm 0.07 \mu\text{m}$ 。这些结果对大球建议的临界角是 $\theta = 14^\circ \pm 1^\circ$, 而对小球是 $\theta = 3^\circ \pm 2^\circ$, 这与观察到的大球系统地被捕获而小球逃逸的现象一致。对 N 个阱阵列中勉强捕获的粒子, 总的侧向偏折是 $(N-1)b \sin \theta$ 。因此, 由

$$\Delta(a|b) = b \sin \theta \quad (6)$$

建立每一阱的侧向偏折, 从而表征阵列的效率。选择在 $\Delta = 4/eV_0/F_1$ 上的阱间间隔 $b = 2\sigma(a)$ 来优化该效率。这个结果对实际光学分离法系统的设计是有用的, 但没有必要优化它对粒子大小的灵敏度。

灵敏度可以用式子表示为

$$S(a|b) = \frac{\partial \Delta(a|b)}{\partial a} \quad (7)$$

且可通过下式优化

$$\frac{\partial S(a|b)}{\partial b} = \frac{\partial^2 \Delta(a|b)}{\partial b \partial a} = 0 \quad (8)$$

于是得到

$$\frac{b^2}{2(\sigma_0^2 + a^2)} = 3 - x(a) + \sqrt{9 - 2x(a) + x^2(a)}, \quad (9)$$

这里

$$x(a) = \frac{a^2 + \sigma_0^2}{a} \frac{f'(a)}{f(a)} \quad (10)$$

方程式(9)建立阱间间隔 b ，在角度 θ 上按该间隔的光阱阵列，对将被捕获的“大”粒子和对将逃逸的“小”粒子的区分，是最灵敏的。

作为实际的例子，可以用这些结果来优化粘滞流体中的光学分离法。对大小可与光波长比较或更小的粒子，势阱的深度将与粒子体积 $V_0 = Aa^3$ 成比例，同时，粘滞阻力与粒子的半径 $V_1 = Ba$ 成正比，所以 $f(a)$ 与 a^2 成正比。把优化的间隔 b 代入方程式(4)中基于流体分离的判据，得：

$$\sin \theta \approx \frac{2Aa^2}{B} \exp\left(\frac{\sigma_0^2}{2a^2} - \frac{3}{4} - \frac{1}{2}\sqrt{\frac{9}{4} + \frac{\sigma_0^2}{a^2} + \frac{\sigma_0^4}{a^4}}\right) \quad (11)$$

方程式(4)和(5)还表明，光学分离法只线性地依赖于势阱的深度。因此，光学涡流体实际阵列的实际深度的变化，只线性地使分离的分辨率降质，并一般能被大体上对粒子大小更强的依赖性补偿。

总之，前述例子事实上已经用胶体石英球模拟系统，阐明了光学分离法，还证明该技术对基于大小的分离有可能实现指数律的灵敏度。前述的考虑说明，可以选择光学分离系统的几何结构，优化基于大小的分离，且指数律的灵敏度是标准的。基于其他特征的分离，可以用相同的

论证优化，不过一般不能期望得到指数律的灵敏度。

方程式(11)还提供深入了解把光学分离法用于蛋白质和纳米团物体的可能性，这些物体的尺度 a 是以数十纳米测量的。具体说，方程式(11)表明，在固定角度 θ 上，从1微米尺度的物体到10纳米尺度的物体，将要求比值 A/B 增加数个量级。这一点在原理上可以通过增加光强、缩减它的波长、和选择与粒子的相互作用发生共振加强的波长来实现。

在该系统中实施光学分离，涉及建立阱的阵列，该阵列以一定方式跨越输入的混合流体，该种方式能使粒子需要的成分被偏折，越过分界线，进入缓冲剂流体。一方面，成功的操作要求样本有足够低的扩散率或移动性，使不需要的成分自发地以可接受的低速率越过分界线。

但是，本发明的另一方面针对相反的情形，这种情形是，需要的成分比不需要的成分更易扩散或更易活动。此外，这一方面还针对需要的成分比另一种成分相互作用更弱，因而不被常规的光学分离法选择的情形。本发明的最大利益，将在能实施两种条件的系统中实现，尽管两种条件还不够。图1画出有两种液体流体的显微流态学的H形交叉100。一种流体，即混合的输入流体110，包含待分离的非均匀样本。另一种流体，即缓冲剂流体120，由本底或缓冲剂液体构成。输入流体110中的物体，遇到与流体成 θ 角度排列的光学镊子阵列130，该光学镊子阵列130把样本中选择的成分偏折，使之进入缓冲剂输出流体140，以便收集。样本中不偏折的成分，依旧留在原先的液流即输出流体150中，在那里被收集。

如图2所示，代替建立引导物体离开混合输入流体110并进入缓冲剂流体120的光阱阵列，本发明还能在物体或者通过扩散，或者通过主动的游动试图越过分界线时，使用光阱引导该物体返回输入的混合流体中。如同在图1所示的常规方法中一样，显微流态学的H形交叉200包含两种流动的液体流，其中之一210包含待分离的非均匀样本，而其中的另一种220只包含缓冲剂溶液。在混合的输入流体210中，只有那些试图越过两种流体分界线的物体，才遇到光阱阵列230，该光阱阵列的排列，在于引导物体返回混合的输入流体210中。通过光阱阵列230越过

分界线的物体，在缓冲剂输出流体 240 中被收集。那些或者因为它们较不易扩散，或者因为它们被光阱阵列 230 偏折的物体，仍旧留在原先的输入流体中，可以在输出流体 250 中分开地收集。在这种情形下，较不易扩散或较不活动的物体，被偏折回混合的输入流体中，同时更易移动的成分将从阱逃逸并越过分界线而被收集。同样，较不强烈受光阱影响的物体，更能越过分界线而被收集。

尽管光学分离法要求足够大量的光阱，以填充整个混合的输入流体，但上述相反的过程仅要求足够的光阱，以覆盖正好围绕流体间分界线的区域。因此，相反的光学分离法，比常规的光学分离法，要求远少得多的光阱，所以更有效地使用需要建立光阱的激光。

就这方面来说，光学分离法已经很好地证明了优于其他的分类技术，相反的光学分离法给出相同的优点。这些优点包括：连续操作而不是分批操作；通过调整激光功率、激光波长、光学镊子几何配置、驱动力、和对大小的指数律灵敏度而连续地优化。相反的光学分离法，把这些优点推广到那些常规光学分离法或者不能应用，或者不实际的系统。因为借助常规光学分离法，相反的光学分离法可以有利地利用形成阱的光偏振的优点，或形成阱的光束模式结构的优点，根据物体的双折射性、旋光性、弹性、以及诸如大小、光散射截面、光吸收率、表面电荷、及形状等性质，对物体进行分类。

众所周知，根据物体的扩散率，对物体进行分类，显微流态学的 H 形交叉是有用的。为相反的光学分离法增加光学镊子阵列，极大地增强过程的选择性，并给出大量新的对物体分类的物理基础。

本发明的另一方面，是利用热棘轮。图 6 (A-D) 画出光学蠕动操作所根据的原理，并用于解释光学热棘轮的特性。在图 6A 中，画出离散光阱的图案使单个物体定位。该图案示意地表示成两个离散的势能阱，各有宽度 σ ，分开的距离是 L 。事实上，实际的图案可能包括许多组织成管道的光阱。光学蠕动和本文公开的光学热棘轮方法的目的，是把物体从一个光阱管道传送到另一个。这两种方法的不同，在于它们如何实现这个目的。

在光学蠕动中，阱的初始图案被另一个取代，在后一个图案中，管道位移一段可与 σ 相比的距离（见图 6B）。因为新势阱与旧的重叠，粒子确定性地转移到新图案上最近的管道。图 6C 以又一个位移的阱图案，重复该过程。当投射原先的图案时，完成光学蠕动的一个循环（见图 6）。这个循环的净效应，是把陷入阱中的粒子从第一图案中一个阱的管道，传送到也在第一图案中的下一个管道。实际上，有许多粒子陷入许多光阱中；且在每一光学蠕动的循环中，全部粒子将被一组管道向前传送。运动的方向由序列的顺序明确地确定，并能够通过颠倒该顺序而反过来。

光学热棘轮与光学蠕动的差别，在于沿运动方向，管道之间的距离基本上比各个阱的宽度更大。因此，当激励第二图案时，陷入第一图案中的粒子可以自由扩散。那些扩散得足够远，以致到达第二图案中最近管道的粒子，迅速被定位。然后，被定位的成分在投射第三图案时，再次被向前传送（也通过扩散），并当循环回到第一图案时，又一次被传送。与光学蠕动不同，光学蠕动中确定性的迁移，保证在每一循环中，所有陷入阱中的物体向前运动，而上述被偏置的扩散，只向前迁移样本的一定成分。

但是，上述热棘轮的实施例导致新的机会。太慢以致追不上向前传播的波的粒子，当图 6C 的第三图案照射时，可能仍在扩散得足够远，追上逆行到它们开始点的阱。这些粒子在每一循环中，被向后传送管道间距离的三分之一。通过形成阱的图案序列的总体，是向前运动还是向后运动，由粒子扩散速率与序列循环速率之间的均衡确定。因此，改变循环的速率，能够改变平均运动的方向，此现象亦称流量颠倒。

在循环的光学镊子图案的影响下，能够计算粒子的期望流量。在位置 x_j 上的镊子，可以用 Gauss 势阱模拟。

$$u_j(x) = -V_0 \exp\left(-\frac{(x-x_j)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (12)$$

该势阱有深度 V_0 和宽度 σ 。该势阱显然是空间对称的。阱的图案建立棘轮运转需要的三态循环中的一个状态。作为说明的例子，可以考虑

图案中的阱以相等距离 L 隔开，所以在状态 k 中的整个势是

$$V_k(x) = - \sum_{l=-N}^N -V_0 \exp \left(- \frac{(x - jL - k \frac{L}{3})^2}{2\sigma^2} \right) \quad (13)$$

这里 $k=0, 1, \text{或} 2$ 。还有，如说明的例子所示，势能的形貌，可以考虑每隔相等时间 T 通过这三个状态重复循环。该时间可与扩散率 D 的粒子通过系统扩散的时间

$$\tau = \frac{L^2}{2D} \quad (14)$$

相当。 T 与 τ 之间均衡的结果，确定势能状态序列驱动粒子通过系统的方向。

在光阱和随机热力的组合影响下，在时间 t 、位置 x 的 dx 中找到 Brown 粒子的概率 $p(x, t)dx$ ，由主方程式决定：

$$p(y, t + \tau) = \int P(y, \tau | k, 0) p(x, t) dx \quad (15)$$

这里，对每一状态 k 的传播函数，由下式给出，

$$P_i(y, t | x, 0) = e^L \quad (16)$$

对时间 $\tau < T$ ，有：

$$L(y) = D \left(\frac{\partial^2}{\partial y^2} - \beta \frac{\partial^2 V(y)}{\partial y^2} \right) \quad (17)$$

且这里 β^{-1} 是热能比例。一个完整三态循环的主方程式是，

$$p(y, t+3T) = \int dy_3 P_3(y_3, T \setminus y_2, 0) \int dy_2 P_2(y_2, T \setminus y_1, 0) \int dy_1 P_1(y_1, T \setminus x, 0) p(x, t) \quad (18)$$

对对称的光学镊子势，我们的考虑是，该主方程式有稳态解，可使：

$$p(x, t+3T) = p(x, t) \quad (19)$$

于是，该稳态的平均速度由下式给出：

$$v = - \int p(x) \frac{\partial V_3(x)}{\partial x} + \frac{\partial p(x)}{\partial x} dx \quad (20)$$

图7对 $\beta V_0 = 10$ 和 σ/L 的两个代表值，画出该方程式系统的数值解。对循环时间 T 非常小的值，粒子不能跟上迅速变化的势能形貌，从而随机地扩散；平均速度最终在该极限中等于零。如果在相继图案中的阱重叠（图7中 $\sigma = 0.15 L$ 所示），粒子确定性地从一个阱到一个阱地通过，产生一致的正的漂移速度。这种传送，对适度的循环时间 T 而言，达到它的最大效率，而对更长的停顿时间，没有改进。结果是，当 $1/T$ 在长时间的极限中时，漂移速度下降。

分开得更宽的阱（图7中 $\sigma = 0.10 L$ 所示）产生另一种运转情况。在这里，对足够大的 T 值，粒子能够跟上向前传播的波。但是，更快的循环，导致以负 v 值为特征的流量颠倒。这一数值结果表明这样的原理，利用该原理，能够使用光学镊子阵列，以流量颠倒实施完全对称的热棘轮。

如图7所示，对 $\beta V_0 = 10$ 的 Gauss 阱势三态循环，出现从 $\sigma = 0.15 L$ 的确定性光学蠕动，到 $\sigma = 0.10 L$ 的流量颠倒热棘轮运转的跨越。

至此，已经说明因循环时间 T 的变化而导致的流量颠倒。对非均匀样本中不同的总体，它们的不同扩散系数产生不同的 τ 值，也能引起流量颠倒效应。只要选择 T 来驱动一种总体向前而驱动另一种总体向后，那么可以引起这些不同的总体同时沿相反方向运动。按此方式，已说明的光学热棘轮，对分离和纯化由液体载运的小物体是有用的。

实施可逆转热棘轮的一种优选的光学途径，与其他基于棘轮的分离

方案相比，是有优点的。例如，基于叉指式电极阵列的热棘轮，已经应用于DNA碎片的分类。但是这些热棘轮需要复杂的微制作工艺，而光学棘轮能够廉价地实施，并能容易地组装成显微流态学装置，供芯片上实验室应用。先前已经证明，一种基于单个时间共享的扫描光学镊子的光学棘轮，可以引起流量颠倒。所述途径有赖于建立在时间平均意义上的空间非对称势能形貌，因而该系统根据与上述过程不同的原理。在本文说明的优选系统中，每一图案中的每一光阱，提供空间对称势能阱；而图案自身也是空间对称的。单向的迁移，是通过每一循环中至少三种图案的序列，利用断开时空对称性驱动的。

前面建议的对称热棘轮例子之一，也涉及三态序列。但是，该途径依赖于只在一种状态中允许扩散的粒子，对其他两种状态，则起确定性棘轮的作用，从而使扩散偏置。在本文献中说明的过程，涉及在所有三个状态中的扩散和定位，因此给出更多的选择性，和更迅速的对非均匀样本的分类。

虽然已经出示并说明优选的实施例，但应当指出，本领域的一般人员，在不偏离更广泛意义上的本发明的情形下，可以对之作出改变和修改。本发明的各种特性，由下面的权利要求书规定。

图1

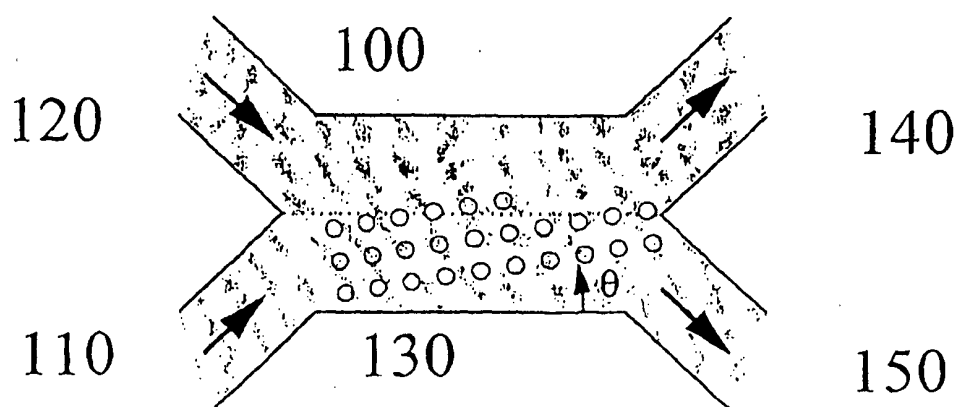


图2

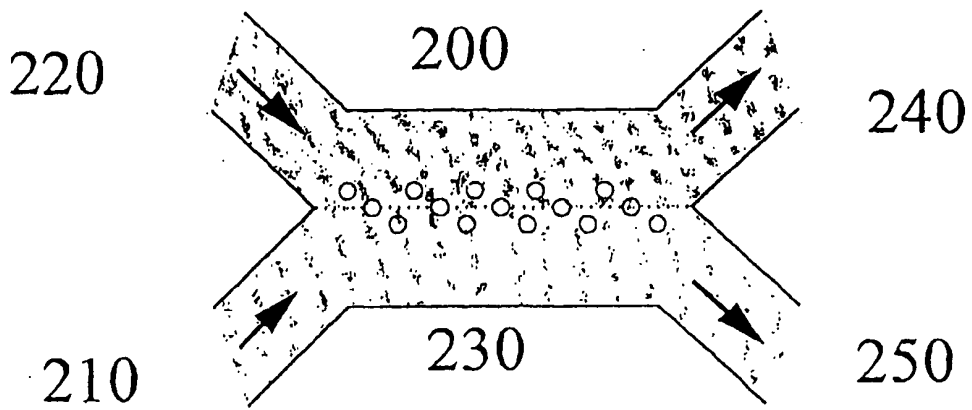


图3

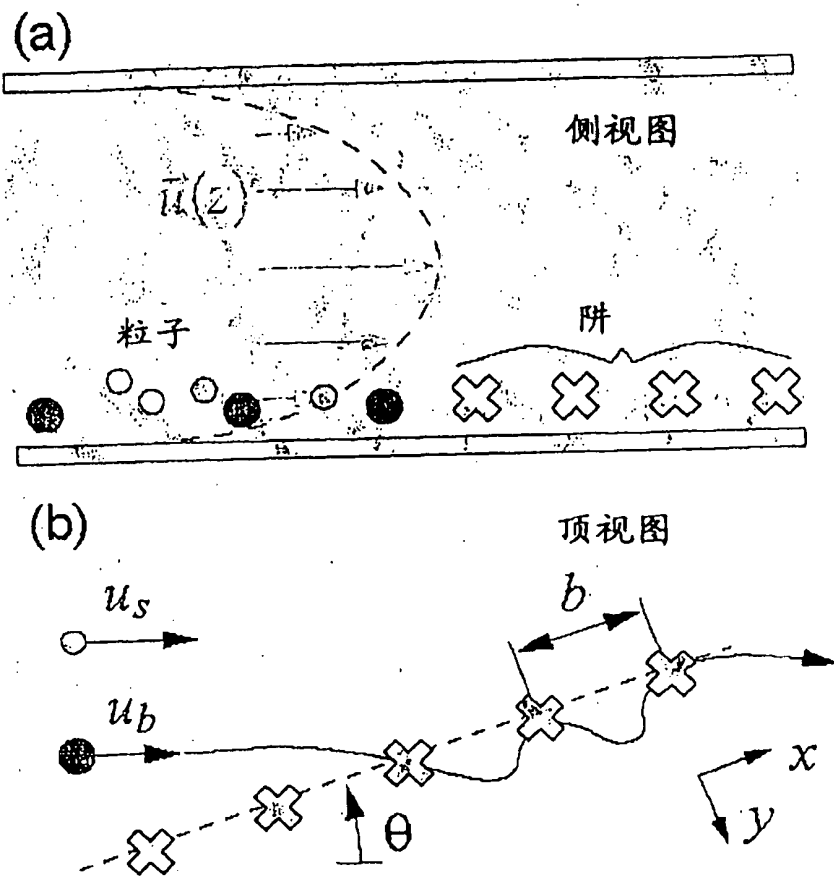


图4

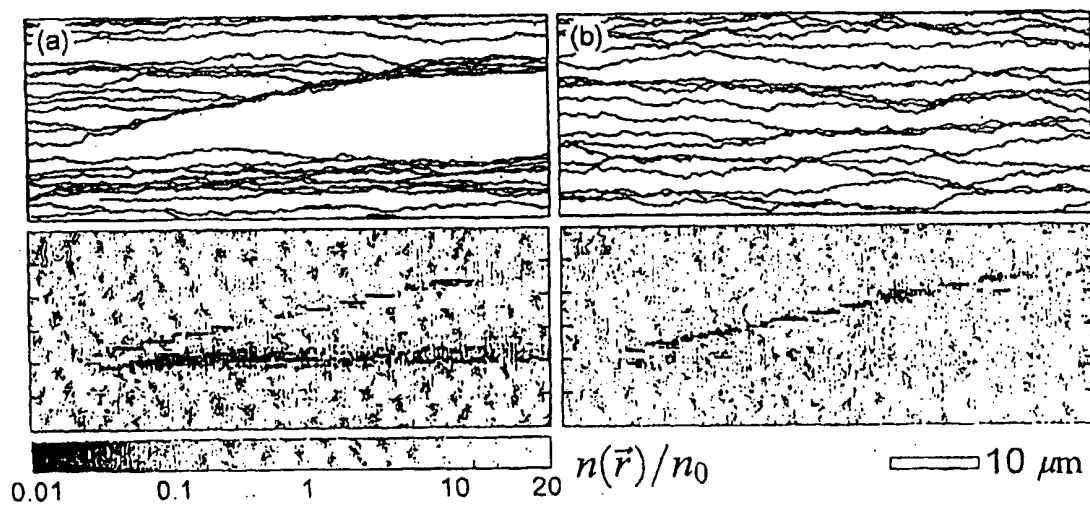


图 5

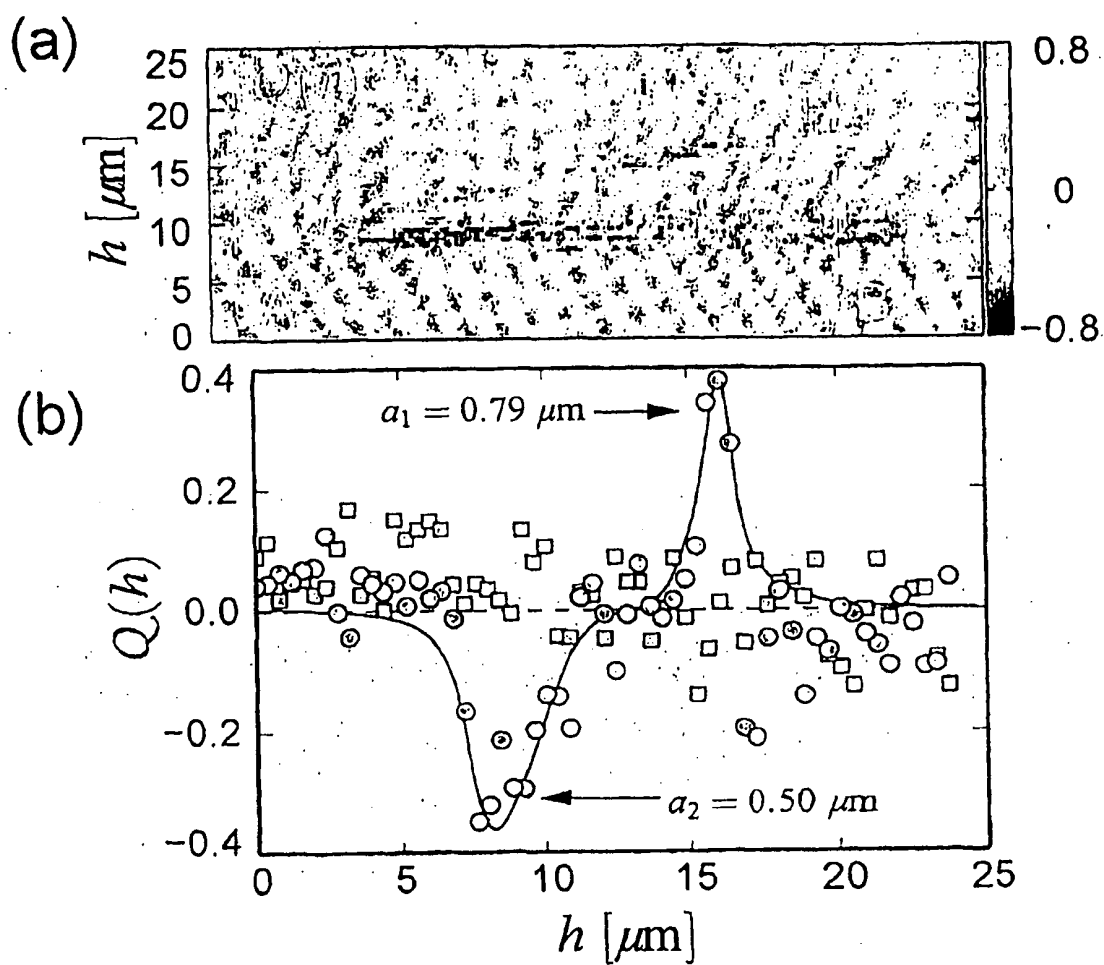


图6

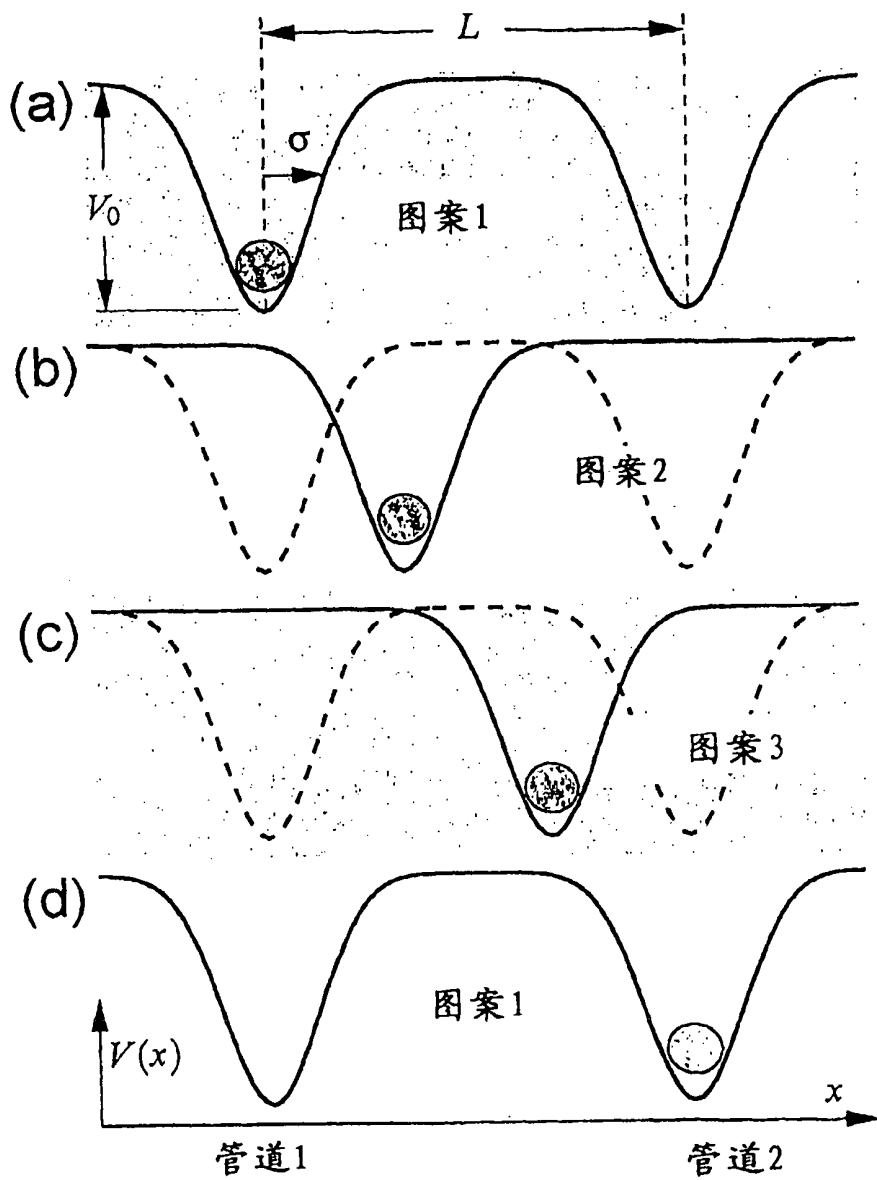


图7

