

单分子科学进展*

杨金龙¹ 李震宇¹ 侯建国² 朱清时¹

(1 中国科学技术大学选键化学开放实验室 合肥 230026)

(2 中国科学技术大学结构研究开放实验室 合肥 230026)

摘 要 综述了新兴边缘学科——单分子科学的进展.对单分子科学的基本实验技术即扫描探针显微术、荧光技术和光镊技术进行了介绍.结合众多的实例(如:对单原子的直接操纵、直接测量化学键强度、在 DNA 链上“拔河”、用单个 C₆₀分子作放大器等)评述了单分子科学方法在各学科领域的广泛应用,以及单分子科学对它们产生的深远影响.最后对单分子科学的发展前景进行了展望.

关键词 单分子,扫描探针显微术,荧光技术,光镊技术

PROGRESS IN SINGLE MOLECULE SCIENCE

YANG Jin-Long¹ LI Zhen-Yu¹ HOU Jian-Guo² ZHU Qing-Shi¹

(1 Open Laboratory of Bond Selective Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

(2 Open Laboratory of Structure Research, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

Abstract The progress in a rapidly expanding field——single molecule science——is reviewed. Single molecule techniques include scanning probe microscopy, fluorescence techniques, and optical tweezers. Their applications and influence in various fields are presented with many examples such as single atom manipulation, direct measurement of the strength of chemical bonds, a tug-of-war with DNA chains, a single C₆₀ molecular amplifier, and so on. Future prospects of single molecule science are discussed.

Key words single molecule, scanning probe microscope, fluorescence techniques, optical tweezers

1 概述

早在量子力学建立的初期,理查德·费曼就梦想着能在原子、分子尺度上观察和操纵物质世界,然而多年以来,人们对微观世界的观测和研究都是建立在系综平均的基础上.直到 80 年代扫描隧道显微镜 (STM)、荧光探针方法、光镊技术等出现,进而 90 年代单分子科学的形成与发展才使人们真正实现了费曼的梦想.

基于扫描探针显微 (SPM) 技术和光学技术的单分子科学方法使人们能直接研究和操纵单个的分子.单分子层次的某些物理现象将与宏观现象、系综平均现象有着显著的差异.由于不再有系综平均,人们不再需要通过费力设计那些有时根本不可能实现的时间同步去研究复杂的大分子.同时,人们还可以把单分子作为周围“纳米环境”的监测器,用单分子科学方法研究分子与环境的相互作用.

总之,单分子科学方法大大扩展了我们的观测范围.一个尚未完全开发的神秘的物理世界将展现在我们面前.我们可以看到单分子科学方法已在物理、化学、生物、电子工程等领域获得了广泛应用,并对这些领域产生了深远影响.

2 单分子科学的基本技术

2.1 扫描探针显微术^[1]

1982 年,国际商业机器公司苏黎世实验室的宾尼博士和罗雷尔博士及同事们成功地研制了一种新型的表面分析仪器——扫描隧道显微镜,随后又诞生了原子力显微镜 (AFM)、静电力显微镜、扫描离子电导显微镜等一个丰富的扫描探针显微镜体系.

* 国家重点基础研究发展规划项目,中国科学院“九五”重大科学基金资助项目

2000-01-24 收到初稿,2000-04-10 修回

它们被广泛地应用于表面上的单分子研究。

STM的工作原理是基于量子力学的隧道效应。在经典力学中,如果势垒的高度大于粒子的能量,粒子将不能越过势垒。而在量子力学中,只要势垒不是无限高,微观粒子总有一定的几率穿过势垒。一个形象的比喻是隔着一堵坚固高墙的狮子,在经典力学中,它没法捕捉到墙外的目标,而在量子力学中,它可以穿墙而过,直接扑向目标。STM正是利用这种效应,把非常细小的针尖和被研究物质表面作为两个电极,当样品与针尖距离非常近($<1\text{nm}$)时,在外加电场的作用下,电子会穿过两电极间的绝缘层从一个电极流向另一个电极,由此产生的电流称为隧道电流。隧道电流与针尖-样品间距、外加电压以及样品物理性质有密切关系,所以通过观察电流、间距等物理量可以获得样品的各种物理性质。同时STM达到了原子级的分辨,可以用来实现单分子研究。STM谱的数学分析十分复杂,但我们将看到这同时也意味着STM谱蕴含着丰富的信息,有着广泛的应用前景。为了弥补STM不能直接观察非导电样品的缺陷,人们发明了AFM。AFM将一个对微弱力极端敏感的微悬臂一端固定,另一端有一微小针尖,针尖与样品表面轻轻接触,针尖尖端原子与样品表面原子间的微弱斥力将引起微悬臂的起伏运动。通过光学或隧道电流的方法检测这种起伏可以获得样品信息。

2.2 荧光技术^[2]

SPM方法在单分子科学中取得了巨大成功,但由于探针与样品距离十分近,探针与样品间的相互作用将很强。而荧光技术提供了一种“远距离操作”的方法。它在不丧失优越的空间分辨率的情况下对样品扰动很小。

用激光照射样品,通过分析样品的荧光辐射而获得样品信息的技术称为荧光技术。为了用荧光技术实现单分子观测,我们必须确保在照射体积内只有一个分子与激光共振,另外我们还必须使单分子产生的信号大于背景干扰信号。显然,荧光辐射能量一般远小于入射能量。但是,由于振动弛豫、光声耦合引起的斯托克斯效应会导致荧光辐射的谱线红移(相对于入射激光频率降低),这使我们仍然可以以较高的信噪比探测单分子信号。为了进一步提高信噪比,并保证荧光为单分子信号,我们还必须缩小激光照射体积。通常采用的办法有激光光纤导入和激光光学聚焦两种办法。

荧光技术在分子生物学中获得了广泛应用,通

过荧光标定的办法,许多生物大分子的结构及结构与功能的关系得到了充分的研究。

2.3 光镊技术^[3]

作为一种重要的辅助技术,光镊在单分子科学中也占有重要地位。光镊的基本原理是利用光学梯度力形成的光阱来俘获和操纵微观物体。我们知道,光实际上是电磁波,当它产生空间分布不均匀的电场和电势时,电势梯度会在电介质上产生一个作用力。更直观的,我们把光看成光子流,光入射到物体表面,光子的部分动量转移给物体,会形成光压。光场的性质决定了物体的受力,通过适当的设计光场分布,我们可以把物体俘获在一定的位罝,这种光场分布称为光阱,如高斯光束本身就是一个二维光阱。当然,通过移动光束我们可以方便地实现迁移或翻转俘获物体。因为这种光学技术在另一个尺度实现了传统机械镊子的功能,所以被称为光镊技术。在单分子实验中通常把生物分子样品联结到介质小球上,通过用光镊技术俘获和操纵介质小球来达到操纵样品的目的。

3 单分子科学方法的应用及其对其他学科的影响

单分子科学方法作为人类认识世界的手段上的一次革命,迅速在自然科学的各个分支得到广泛的应用并产生了深远的影响。

3.1 物理学

单个的分子将是一个检验基本量子力学效应的简单体系。光辐射的一个量子效应是荧光光子的反群聚,即光子计数关联低于随机值,通俗的说即光子计数在时间上趋于分散。这是经典的相干理论所不允许的,是光场二阶相干度小于1的表现。现在实验工作者已经在1.5K时在p-三联苯晶体中的单个并五苯分子上演示了反群聚效应^[2]。

Kondo共振效应也因为单分子实验方法的发展而得到充分研究^[4]。Madhavan等通过作Au(111)表面Co原子的扫描隧道谱观察到由Kondo共振效应引起的谱结构。Kondo效应是指低温下金属中磁性杂质对电阻的影响。在该实验中,作者把STM针尖放置在Co原子中央上方,改变针尖电压 V ,观察隧穿电流 I 。作者发现 $dI/dV \sim V$ 曲线在零偏压附近呈现明显的共振现象。仔细的理论分析表明,谱线结构可由Co原子d轨道与Au的导带间的相互作用获得很好的解释。该实验加深了人们对Kondo效应

物理

的理解。

一个更基本的量子效应是波粒二象性,最近它也在 C_{60} 分子上被演示出来^[5]。 C_{60} 的波动性通过它与衍射光栅作用后出现的一级衍射极大体现出来。理论模拟与实验符合得很好。还有许多效应,如非线性光学效应、热力学效应,也在单分子层次上得到检验。但更激动人心的是在单分子层次上出现的新的物理效应。我们知道,一般的体材料具有正的电导,但在单分子尺度下,由于分立能级与隧穿的作用会出现新的物理现象——负电导(一些人造分立能级结构,如隧穿二极管,也可以表现出负电导)。Xue 等人仔细研究了单个分子的负电阻现象^[6],在由 STM 针尖,单个 4-*p*-Terphenylthiol 分子,金基底组成的隧穿结构中,在某一电压段,隧穿电流随电压的增高而降低,即出现负电导。作者从理论上仔细地分析了这种现象的物理原因。我们期待着基于单分子的负电导现象在电子学中取得广泛的应用。

另一个新奇的单分子现象是量子电容。在电子学向微观高速的方向迅速发展进而达到其物理极限——单原子、单分子层次之前,物理学家们必须先对这样的尺度下电子学现象进行充分的研究。一个自然的问题是,电子进入单个的分子时将引起分子能级或化学势怎样的变化呢?即一个具有分裂能级结构的分子的电容性质是怎样的呢?Iafrate 及同事就这个问题进行了探讨^[7]。他们认为电容与分子的能级结构及分子内的电子数目等因素有关。

为研究一个单分子电子学器件的电荷响应,考虑一个分子尺度的结的电容更具实用意义。一个实际的问题将形如:STM 探针与基底间的电容为多少?怎样从理论上预言?或者更复杂一点,由针尖、 C_{60} 和基底形成的双结系统怎样通过简单的等效电路图来模拟?这方面的工作已经取得了初步成功^[8]。现在,通过从头算(*ab initio*)的方法,一些简单几何模型的量子电容已经可以预言。这种基于从头算的理论模型的大概思想是:首先用第一性原理的方法计算原子簇的构型,再在该构型的基础上求出散射势,然后解单电子散射问题,最后通过求解三维自洽泊松方程得到系统的非平衡电荷分布,进而求得量子电容。利用该模型求得的五原子针尖-基底系统的电容 C 与针尖-基底间距 d 的关系与 STM 实验基本符合。在 d 很大时, C 随 d 的减小而增大,正如经典所预言的 $C \sim 1/d$ 。而在很小时, C 随 d 的减小而减小,直观的物理图象是:随着 d 的减小,隧穿几率增加,非平衡电荷减小,从而电容减小。这是

与经典图象不一致的量子效应。

在单分子尺度上,一些我们习以为常的问题可能将不得不重新仔细考虑。一个简单的例子:怎样在单分子层次上定义“接触”?事实上,Jaachim 等人正是对这样一个简单问题进行了研究^[9]。他们把 STM 针尖放在 C_{60} 分子上方,测量隧穿电流 I 随针尖-分子间距 s 的变化,结果发现在针尖向分子靠近的过程中,对 $\log I(s)$ 线性变化的偏离发生在力学接触处,即范德瓦耳斯力和排斥力的平衡点。随着进一步靠近,针尖对分子的挤压改变了分子的电子态结构,从而使 $\log I(s)$ 的斜率发生第二次改变。而电子学接触被定义为在此之间,针尖与 C_{60} 分子轨道开始混合的时候。在这样定义好的电子学接触下,他们测得表观电阻为 54.80 M Ω 。

单原子、单分子操纵也是单分子科学的一项重要内容。埃格勒等通过在 Ni 表面用 Xe 原子写出“IBM”三个字母演示了这种可能性。然后是更复杂的“CO 分子人”和“量子栅栏”^[10]。除了这种演示性的结果外,我们将看到它在各个学科都有着实际的应用或潜在的应用前景。在物理学中单原子操纵一个可能的应用是量子计算机的实现。由于充分利用了量子相干性,量子计算机可能在某些问题上有着不可比拟的优越性。虽然量子计算机在理论上获得了蓬勃发展,但实验上始终没有重大突破。一个可能产生大量量子比特数的量子计算机方案是 Kane 的硅基核磁共振方案^[11],但该方案有两个难点:首先它需要无同位素的高纯硅,另外它需要把单个的 ^{31}P 原子规则地掺杂到硅表面。后一个难点便是单原子操纵的问题。现在看来最有可能的实现方案是用 STM 把 ^{31}P 移到指定位置并打入相同的深度。

总之,单分子科学的发展使我们可以单分子层次上观测、发现物理现象,并在该层次上操纵物理世界。

3.2 化学

单分子方法在化学中有广泛的应用。在单分子层次上,化学结构、化学反应和催化机理等方面的研究都展现出新的生机。

单分子化学中一个激动人心的结果是共价键强度的直接观测^[2]。该工作的作者用 AFM 直接测量了一个单一的共价键在多大的外力下断裂。单个多糖分子被共价地锚接在表面和 AFM 之间,然后单糖分子被拉伸直至脱落,通过使用不同的表面化学方法锚接单个多糖分子,作者发现,在以每秒增加 10 nN 的速度加大负载时, Si-C 键在 $2.0 \pm$

0.3 nN,而 S—Au 锚接在 1.4 ± 0.3 nN 时断裂.基于密度泛函理论的键断裂几率的计算与实验符合得很好.

化学反应一直是化学研究的主旋律.从化学学科创立以来,人们就开始研究化学反应.而随着科学的进步,研究的层次也越来越深入.我们可以将化学反应的研究层次大致分为这样几个阶段:总包反应→基元反应→态态反应→单分子态态反应.经典的态态反应概念还是基于系综平均的,只是人们在研究反应的时候注意区分了不同的量子态.事实上,真正的态态反应概念应该是基于单分子方法的.对于中间产物、反应通道等信息,单分子态态反应可以获得其整个分布,而不像传统的方法只能得到一个系综平均.所以,单分子态态反应可以获得一些用分子束技术无法得到的、有关单个分子化学反应及其内部量子力学过程的更直接的信息.例如,在基于 STM 的 O_2 离解反应的研究中,STM 激发 Pt(111) 表面 O_2 分子的伸缩模使 O_2 离解,同时,分离过程的细节也被 STM 成像清楚地揭示出来^[21].

单原子、单分子操纵在化学上另一个极具诱惑力的潜在应用是可能实现“选键化学”——对分子内的化学键进行选择性的加工.虽然这是一个极具挑战性的目标,但现在已有一些激动人心的演示性的结果^[10].在 Lee 和 Ho 的实验中,STM 被用来控制单个的 CO 分子与 $Ag(110)$ 表面的单个 Fe 原子在 13 K 的温度下成键,形成 $FeCO$ 和 $Fe(CO)_2$ 分子.同时,他们还通过利用 STM 研究 C—O 键的伸缩振动特性等方法来确认和研究产物分子.他们发现 CO 以一定的倾角与 Fe— $Ag(110)$ 系统成键(即 CO 分子倾斜地立在 Fe 原子上),这被看成是 Fe 原子局域电子性质的体现.

研究分子的振动、转动状态也是单分子化学中一大热点.单分子振、转分析将使我们从分子层次上的表面化学有更深入的理解,进而更好地控制这种化学过程.基于 STM 的非弹性电子隧穿过程将激发分子的振动、转动模,再结合 STM 的原子级分辨优势,我们将很容易研究一些表面化学中至关重要的问题,如邻近吸附分子、表面缺陷对振动性质的影响.单分子振、转研究中一个典型的工作是 $Cu(100)$ 表面 C_2H_2 的单分子振动谱^[12].通过把针尖放置在 C—C 中心(避免转动的影响),作者在 258 mV 的偏置电压下观察到 C—H 伸缩模引起的隧穿电导的突变.对 C_2D_2 ,作者发现振动谱有明显的同位素移动,他们认为 STM 空间成像加上单分子振动谱

技术为同位素分辨提供了广阔的空间.

我们看到,单分子理论和方法在物质的结构、相应的化学性质及化学反应的研究中起到了非常重要的作用.相信在不久的将来,我们将获得包括选键化学在内的一系列重大成果.

3.3 分子生物学

我们都知道,生物分子具有惊人的复杂性,想用一般的方法研究生物大分子将是十分困难甚至是不可能的.然而以光学技术为主要手段的单分子科学方法^[2]却有效地实现了这一目标.

单分子荧光谱为研究单个生物分子的构象(conformation)状态及构象动力学提供了一种行之有效的办法.其中一个关键技术是荧光标定,即把荧光物质附着在生物大分子上.通过标定方案和所观测的物理量可以把单分子探测和单分子谱分类.一种简单但行之有效的方法是把单个的染料分子以几十纳米的精度标定在生物分子上.由于染料分子的直径远小于其辐射光波长,故可将其视为点光源.通过光学系统对点源的响应(点传播函数),我们可以对点源位置进行精确定位,进而研究单分子构象.这种方法的一个自然扩展是通过不同分子标定不同荧光物质来研究分子间的相互作用.另外,通过考虑光的偏振性质并刚性联结荧光物质,生物分子或其中某部分的取向和旋转可以方便地进行研究.而最精确的方法是考虑两个荧光物质的荧光共振能量传输(FRET).通过研究距离对能量传输的影响,这种方法可以达到 2—8 nm 的空间分辨,从而实现了不使用复杂的近场光学系统而达到远低于衍射极限的空间分辨.

除了研究分子构象,单分子方法还广泛应用于生物分子的力学研究,即所谓单分子生物力学.该领域中,光镊和 AFM 是广泛使用的两种方法.生物大分子通常被束缚在直径约 $1 \mu m$ 的聚苯乙烯或硅土小球上,而这样的介质小球则通过光镊技术被俘获在光阱中.一个有趣的单分子生物力学过程是 RNAP 拖动 DNA 模板的过程^[13].RNAP 是协助将 DNA 中遗传信息转录到信使 RNA 中的酶.为遍历 DNA 的某一段, RNAP 需拖动 DNA 前进. Schafer 等人首先开始该过程的单分子生物力学研究.他们将 RNAP 固定在溶液中的表面上,转录过程中, RNAP 牵引 DNA 链,进而带动束缚在 DNA 上的介质小球向表面运动.而最近, Wang 等人改进了该实验,他们通过用光镊俘获介质小球完成了一场世界上最小的“拔河比赛”.结果测得 RNAP 产生的力约

为 25pN 。

单分子科学方法给生物学的发展带来了蓬勃的生机和丰富的机遇。可以预见的挑战包括怎样耦合核糖体的活性与介质小球的运动,怎样把蛋白质固定在基底上而保持其生物性质不变等问题。

3.4 微电子学

人们一直在追求电子器件的高速化与小型化。我们相信,通过物理、化学、分子生物学、电子学和材料科学的合作,一类基于单原子、单分子的电子学器件将逐步涌现,一门新的学科——分子电子学亦将随之诞生。

现在,碳纳米管已被用作室温下的三极管,而单个的 C_{60} 分子被用来作为放大器。这种单分子放大器由一个 C_{60} 分子和两个金属电极组成, C_{60} 分子的填充及未填充电子能级没有落在金属电极费米能级附近时,其隧穿是通过外加电压下的虚共振隧穿来实现的。这时的接触电导可由电子透射率来定义,而电子透射率实际上是分子延展金属电极电子波函数的能力。分子轨道,特别是最高占据和最低未占据轨道,提供了这种延展并且对外部畸变引起的杂化和简并非常敏感。于是,在 C_{60} 分子上局域地加上 $n\text{N}$ 量级的力可以连续的、不可逆地改变它的电导,进而实现基于单分子的电压放大。

在分子电子学中另一激动人心的问题是分子马达。在单分子层次上,热起伏(布朗运动)有可能引起分子的力学响应。于是,我们有可能利用热噪声使分子马达达到热力学极限效率。实验上已经观测到利用热噪声的六-叔丁基-十环烯转子^[2]。反对者认为由热噪声驱动的单向转动将违背热力学第二定律^[14]。而事实上, Astumian 已对布朗马达的热力学进行了详细的研究^[15]。他认为,起伏驱动的输运可以用化学能直接驱动粒子运动的一种有效机制。在微观领域,热噪声是完全可以被有效利用的。其实,大自然本身也充分利用了这一概念。我们知道,人体内各种生物活动的能量都直接或间接地来自 ATP 水解为 ADP 放出的化学能,而 ADP 通过 ATP 合成酶(ATPase)来合成 ATP。ATPase 由 F_0 和 F_1 两部分组成。研究表明, F_1 -ATPase 可以水解 ATP 并产生转动,但直接的观测是最近通过在 F_1 -ATPase 上连接一根荧光肌纤维而得到的。人们发现,克服粘滞力使肌纤维转动的功大致等于单个 ATP 水解放出的能量,即 F_1 -ATPase 以几乎 100% 的效率将化学能转化为动能。

可以预料,即将出现的分子电子学将以其丰富

的分子层次上的奇特性而区别于经典电子学。

4 展望

作为一门新兴边缘学科,单分子科学展现出蓬勃的生机,并把丰富的机遇带我们面前。首先,单分子实验方法还有待于进一步开拓与改进。如荧光技术中时间匹配(荧光漂白)^[1],STM 的扫描速度、扫描范围等问题都是急待解决的。其次,单分子理论还有大量工作可做。单分子实验方法的一个共同特点是信息量大,而有效地把这些信息从实验数据中提取出来就需要强有力的理论指导。最后,我们相信,随着单分子科学的发展,越来越多的新的物理效应与各种应用将被揭示出来。

参 考 文 献

- [1] 白春礼.原子和分子的观察与操纵.长沙:湖南教育出版社,1994:119-138[Bai Chun-Li. Observation and Manipulation of Atoms and Molecules. Changsha: Hunan Education Press, 1994:119-138(in Chinese)]
- [2] Uppenbrink J, Clery D. Science, 1999, 283:1667
- [3] 李银妹.光镊原理、技术和应用.合肥:中国科学技术大学出版社,1996:3-15[Li Yin-Mei. Principle, Technology and Application of Optical Tweezers. Hefei: Press of University of Science and Technology of China, 1996:3-15(in Chinese)]
- [4] Madhavan V *et al.* Science, 1998, 280:567
- [5] Arndt M. Nature, 1999, 401:680
- [6] Xue Y Q *et al.* Phys. Rev. B, 1999, 59:R7852
- [7] Iafrate G J *et al.* Phys. Rev. B, 1995, 52:10737
- [8] Wang J *et al.* Phys. Rev. Lett., 1998, 80:4277
- [9] Joachim C *et al.* Phys. Rev. Lett., 1995, 74:2102
- [10] Gimzewski J K *et al.* Surf. Sci., 1997, 386:101
- [11] Kane B E. Nature, 1998, 393:133
- [12] Stipe B C *et al.* Science, 1998, 280:1732
- [13] Service R F. Science, 1999, 283:1668
- [14] Davis A P. Nature, 1999, 401:120
- [15] Astumian R D. Science, 1999, 276:917



作者简介

杨金龙,男,1966年出生,江苏省盐城市人。中国科学技术大学化学物理系教授,博士生导师。现任中国科学院选键化学开放实验室副主任,中国科学技术大学理化研究中心副主任。研究方向为单分子化学物理,主要从事用扫描探针显

微技术操纵表面单原子和观察表面上单分子和原子团簇的构型、位置和取向以及单分子化学反应等方面的相关理论研究。E-mail: jlyang@ustc.edu.cn