

Новые горизонты химии: одиночные молекулы

А.Л.Бучаченко

*Институт проблем химической физики Российской академии наук
142432 Черноголовка Московской обл., факс (496) 524–9676*

Химия достигла своей верхней границы — способности детектировать, пространственно фиксировать и распознавать одиночную молекулу, измерять почти все ее свойства, наблюдать за ее химическими превращениями и функционированием. На этом рубеже разрабатываются технологии манипулирования одиночными молекулами и создается элементная база для нанооптики, наномеханики и нанoeлектроники. Это пролог к новой технологической цивилизации — к молекулярной электронике, которая работает с электрическими напряжениями порядка милливольт и электрическими токами порядка пикоампер.

Библиография — 101 ссылка.

Оглавление

I. Одиночные молекулы как объекты исследования	3
II. Люминесценция одиночных молекул	3
III. Сканирующая туннельная спектроскопия	9
IV. Одиночная высокоспиновая молекула как наномagnet	16
V. Спектроскопия комбинационного рассеяния одиночных молекул	17
VI. Электропроводность одиночных молекул	19
VII. Механика и механохимия одиночных молекул	20
VIII. Заключение	24

I. Одиночные молекулы как объекты исследования

На рубеже XX и XXI веков в химии и молекулярной физике произошла тихая и почти неизвестная широкому научному сообществу революция: прорыв в экспериментальной технике обнаружения и распознавания одиночных молекул и в технологии манипулирования ими. Люминесценция, электропроводность, магнетизм, нелинейная оптика, электронный парамагнитный и ядерный магнитный резонансы, частоты атомных колебаний, упругость и прочность, т.е. все те параметры и свойства, которые раньше измерялись только для больших ансамблей молекул, теперь измеряются и для одной молекулы.

В настоящем обзоре дан анализ основных идей и научных направлений в химии, физике и механике одиночных молекул. Сформулируем, какое значение они имеют для химии.

Во-первых, с детектированием одиночной молекулы достигается предел обнаружения в аналитической химии. При «считывании» одной молекулы с поверхности площадью 1 мкм^2 из слоя толщиной 1 мкм (на сегодня это нормальное «рабочее» условие) концентрационный предел обнаружения составляет 10^{15} л^{-1} или $10^{-9} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$. На этом пределе уже создаются детекторы одиночных молекул и сенсоры высшей чувствительности.

А.Л.Бучаченко. Академик, советник РАН, заведующий теоретическим отделом ИПХФ РАН. Телефон: (495) 939–7128, e-mail: spinchem@chph.ras.ru

Область научных интересов: магнитные эффекты в химических реакциях, спиновая химия, радиоспектроскопия, молекулярные ферромагнетики.

Дата поступления 25 марта 2005 г.

Во-вторых, удастся установить индивидуальные, «личные» свойства единичной молекулы, не усредненные и не «спрятанные» в большом ансамбле подобных молекул. В любой спектроскопии больших ансамблей наблюдается неоднородное уширение спектральных линий, которые являются суперпозицией множества линий (различающихся частотами и ширинами) от множества молекул, находящихся в разных окружениях. «Извлечь» спектр индивидуальной молекулы из суперпозиции линий — задача непростая и неоднозначная. В спектроскопии одиночных молекул эта проблема, как правило, отсутствует. Спектр одиночной молекулы является надежным и чувствительным тестом ее локального окружения (молекулярного сайта), т.е. места, занимаемого молекулой, и его ближайших окрестностей.

В-третьих, появилась возможность наблюдать, как функционирует одиночная молекула, и ответить на вопрос, как она работает — непрерывно или иногда «отдыхает», коррелированно во времени, или ее функционирование случайно; сохраняется ли у нее «память» о предшествующих событиях в ее «жизни». Фактически это новая область молекулярных знаний, в которую мы только начинаем входить.

В-четвертых, разрабатывая технологии манипулирования одиночными молекулами (их перемещением и соединением, внедрением и объединением в заданные молекулярные ансамбли), исследователи приобретают опыт создания элементов нанoeлектроники, наномеханики, нанооптики — будущих высоких технологий. И это не декларация, это реальная работа на пути поисков и находок.¹

II. Люминесценция одиночных молекул

Принцип оптического детектирования одиночных молекул прост: лазерное облучение участка поверхности, на котором находятся люминесцирующие молекулы, возбуждает их све-

чение, и они детектируются как молекулярные «светлячки». На рис. 1,*a* видны сигналы от «светящихся» молекул родамина В, диспергированных на поверхности пленки полиметилметакрилата;² площадка, с которой собирается излучение, имеет размер 4.5×4.5 мкм. На рис. 1,*b* изображены сигналы от одиночных молекул фермента холестерин-оксидазы, помещенных в пленку геля агарозы.³ Эмиттером в молекуле фермента является флавинадениндинуклеотид. Свет собирается с площадки 8×8 мкм, на которой находится лишь несколько молекул. Мерцающее свечение одной из молекул холестериноксидазы показано на рис. 1,*c*.³

С момента первых наблюдений люминесценции одиночных молекул (конец 1980-х годов)⁴ техника и технология

оптического детектирования сильно продвинулись и по чувствительности, и по надежности.^{5,6} Сканирующие оптические микроскопы, фотоприемники с высокой чувствительностью, микроскопия ближнего поля открыли доступ к детектированию люминесцирующих молекул и люминесцентных меток в твердых телах и жидкостях, на поверхностях и межфазных границах, в монослоях и пленках Ленгмюра – Блоджетт, в жидких кристаллах и гелях, эмульсиях и пористых средах, мембранах, белках, нуклеиновых кислотах, ферментах, хромосомах, молекулярных моторах.^{7,8} Разработана технология детектирования люминесцирующих молекул в микрокапиллярах и микрокаплях (висящих и падающих), при электрофорезе и в камере туннельного микроскопа, где люминесценция возбуждается туннельным током.⁹ Существенно расширился круг люминофоров (эмиттеров, имеющих высокую фотостабильность и большой квантовый выход), используемых для присоединения к биомолекулам в качестве люминесцирующих меток и подходящих для помещения их в любые среды.⁷

Разработана технология двухквантового возбуждения люминесценции. В этом случае молекулу возбуждают длинноволновым облучением, а излучение детектируют в коротковолновой области; при этом резко снижается рассеянный оптический фон в полосе люминесценции, сильно возрастает отношение сигнал/шум и, соответственно, чувствительность.

Рассмотрим, какую новую и полезную для химии информацию дает технология оптического детектирования одиночных молекул.

1. Тестирование молекулярных сайтов

Из классических измерений люминесценции можно извлечь информацию об усредненных свойствах и взаимодействиях большого ансамбля молекул (пусть даже идентичных). Спектроскопия одиночной молекулы исключает усреднение. Данные, полученные в результате детектирования набора одиночных молекул, содержат гораздо больше информации. Частота, интенсивность, ширина линии и поляризация люминесценции одиночной молекулы зависят от ее локального окружения (локального сжатия, плотности кристалла, вакансий, наличия тушителей) и от ее взаимодействия с окружением (через акустические фононы и локальные колебания). Фактически одиночная молекула является «репортером», дающим информацию о молекулярном сайте, который она занимает, и обо всех событиях, происходящих в этом сайте. Пример такого «репортажа» показан на рис. 2.¹⁰ На рис. 2,*a* приведена серия спектров флуоресценции пентацена в кристалле *n*-терфенила при 1.5 К; каждый спектр записывался в течение 2.5 с (интервал — 0.25 с). Видно, что частота излучения пентацена изменяется случайно, непредсказуемо (каждый раз флуоресценция возбуждается при другой частоте лазера; изменение этой частоты отложено по оси абсцисс). Это означает, что энергетическое состояние молекулы-репортера меняется случайно. Блуждание молекулы по ее энергетическим состояниям (т.е. по спектру люминесценции) можно рассматривать как случайный диффузионный процесс — спектральную диффузию.

На рис. 2,*b* изображена траектория спектральной диффузии. Из приведенной траектории видно, как спектральный сдвиг флуоресценции (он взят из рис. 2,*a*) флуктуирует во времени.¹⁰ Это пример того, как окружение влияет на единичную молекулу-репортера. Отметим высокое разрешение «репортажа»: при длине волны люминесценции 592.546 нм (она соответствует нулю на оси абсцисс на рис. 2,*a*) молекула сообщает об изменениях в энергетике порядка 10 МГц; это соответствует разрешению по энергии 10^{-7} – 10^{-8} . Одиночная молекула — самый чувствительный датчик.

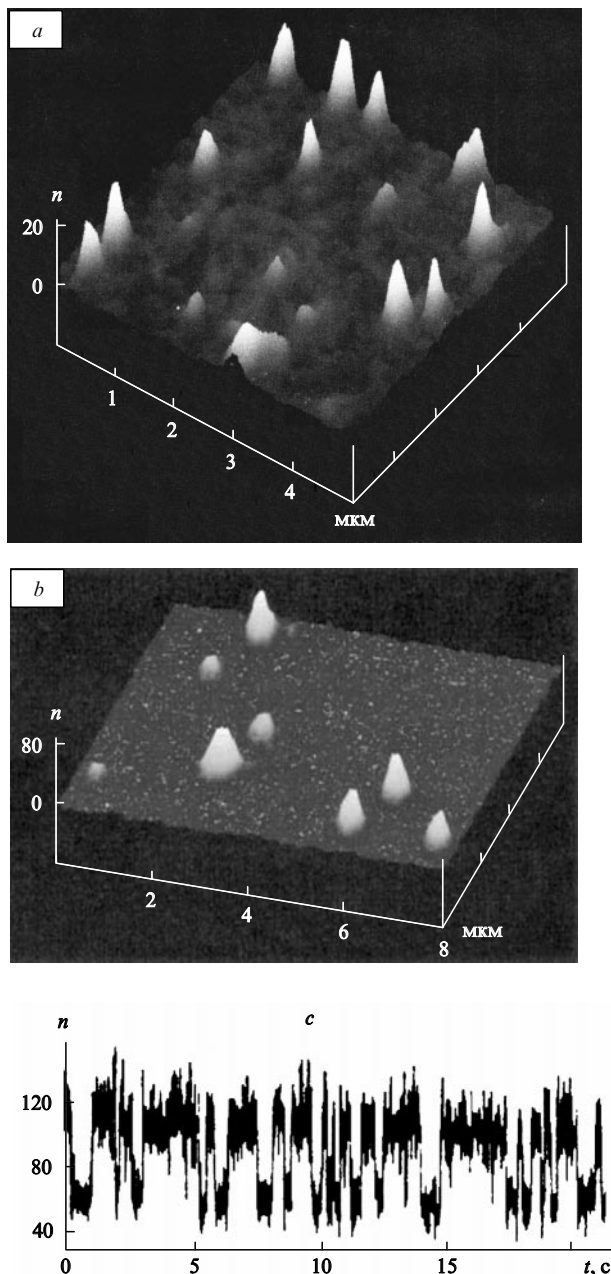


Рис. 1. Изображение люминесцирующих одиночных молекул: *a* — родамин В на полиметилметакрилате (рисунок взят из работы ²); *b* — холестериноксидаза в геле агарозы (рисунок взят из работы ³); *c* — «мерцание» одной из молекул холестериноксидазы во времени (*n* — число излучаемых фотонов в единицу времени).

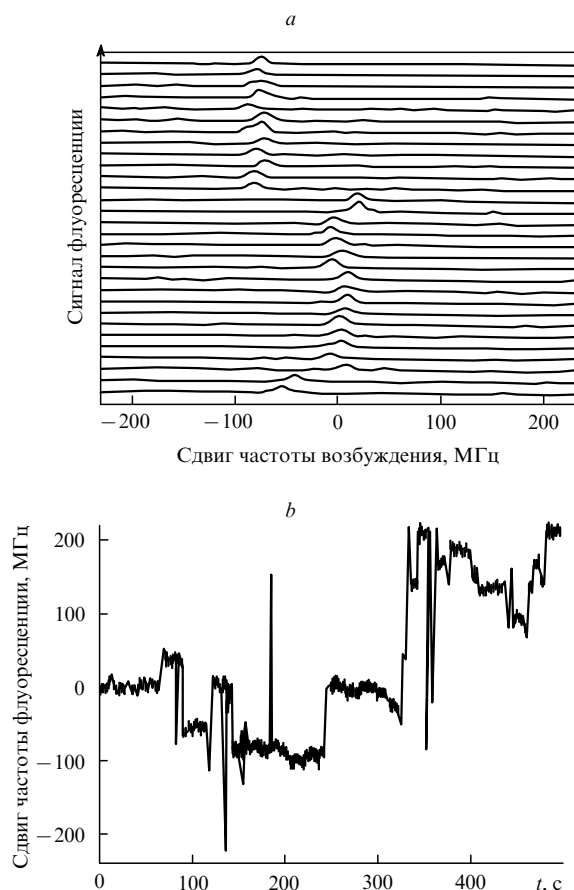


Рис. 2. Спектральная диффузия пентаэна в *n*-терфениле при 1.5 К. *a* — последовательные записи флуоресценции, показывающие случайные сдвиги частоты возбуждения (длительность записи 2.5 с, интервал между записями 0.25 с); *b* — траектория изменения частоты флуоресценции за время детектирования спектров (500 с).¹⁰

Авторы работы¹¹ исследовали спектральную диффузию на примере единичной молекулы терилена в полиэтилене при 0.03 К. В этом случае возбужденная молекула сбрасывает энергию в высокоэнергетические фононы, которые частично используются для молекулярной реорганизации ее окружения. В свою очередь, такая реорганизация реориентирует молекулу, помещая ее в обновленное окружение. Таким образом, одиночная молекула является одновременно и генератором фононов, и детектором изменений, производимых этими фононами. Фактически мы имеем дело со спектральной самодиффузией. Частота актов самодиффузии (вероятность спектральных скачков, N) зависит от амплитуды энергетических скачков (рис. 3): чем больше амплитуда скачка, тем меньше его вероятность. Например, скачок в 20 МГц молекула испытывает 16 раз, а скачок в 40 МГц претерпевается лишь однократно.

Теория спектральной самодиффузии позволяет получать количественные характеристики взаимодействия гость–хозяин: константы этого взаимодействия и коэффициенты спектральной диффузии. Так, авторы работы¹² измерили энергию активации фононного взаимодействия между одиночной люминесцирующей молекулой дибензантантрена (DBATT)[†] и кристаллом нафталина. Она оказалась равной 40 см⁻¹, что соответствует локальной колебательной моде в окрестности молекулы-гостя.

[†] По номенклатуре ИЮПАК — тетрацено[2,1,12,11-*opqra*]тетрацен.

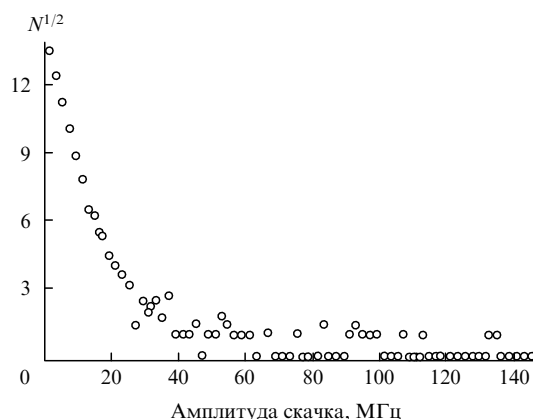


Рис. 3. Вероятность (N) диффузионных скачков по спектру как функция амплитуды скачка.¹¹

Чувствительность молекулярного датчика настолько высока, что по сдвигам линий люминесценции позволяет измерять внешние давления, приложенные к кристаллу,¹³ причем сдвиг прямо пропорционален давлению, но коэффициент пропорциональности различен для разных молекул-зондов. Линейность по давлению характеризует локальную сжимаемость матрицы, а различные коэффициенты свидетельствуют об «индивидуальности» молекулы-зонда по отношению к внешнему «насилию» давлением.

С помощью молекулярных датчиков можно уверенно измерять линейный и квадратичный эффекты Штарка (сдвиг линий в электрическом поле) даже для центросимметричных молекул. Из-за локальных дефектов в молекулярном окружении симметрия молекулы частично нарушается, в результате чего на ней появляется наведенный электрический диполь в несколько миллидебав,[‡] но даже такого ничтожного дипольного момента на одиночной молекуле достаточно, чтобы детектировать штарковский сдвиг.¹⁴

Недавно авторам работы¹⁵ удалось наблюдать кубический эффект Штарка как свидетельство сильного искажения геометрии молекулы DBATT в кристалле *n*-гексадекана.

2. Молекулярная динамика

Разработаны технологии прямого наблюдения за перемещением одиночных люминесцирующих молекул с использованием микроскопии полного внутреннего отражения. На рис. 4 показан результат такого наблюдения за единичной молекулой родамина 6G в полиакриламидном геле.¹⁶ Из анализа траектории молекулы можно получить шаг диффузии, распределение шагов по расстояниям, коэффициент диффузии — фактически, это визуализация броуновского движения одиночной молекулы.

Иногда это движение бывает неожиданным и даже неброуновским (неизотропным). Так, диффузия родамина 6G в тонкой пленке поливинилбутирала неоднородна: некоторые молекулы остаются неподвижными, другие движутся случайно и изотропно, третьи — сильно анизотропно и почти одномерно.¹⁷ Эти особенности можно объяснить различной структурой локальных областей (молекулярных сайтов) в полимере, в которых наблюдается молекула: каждый сайт диктует движение своей молекуле. Однако при усреднении независимых траекторий 97 молекул было обнаружено,¹⁷ что усредненное движение является одновременно и броуновским, и изотропным с коэффициентом диффузии $2.6 \cdot 10^{-15}$ см²·с⁻¹.

[‡] В стеклах из-за хаоса в расположении молекул-хозяев вокруг гостя наведенный на нем диполь может достигать даже 1 Дб.

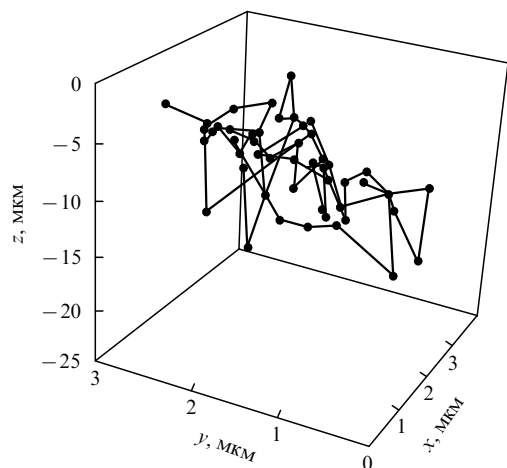


Рис. 4. Трехмерная траектория диффузионных блужданий одиночной молекулы родамина 6G при 20°C. Интервал между точками 0.1 с.

Тестирование поверхности и поверхностных областей на уровне одиночных молекул — это перспективное и информационно богатое направление. Динамическое зондирование молекулярных сайтов — задача непростая, но первые шаги уже сделаны. Так, тетраметилродамин, ковалентно присоединенный гибкой цепочкой атомов к поверхности стекла и погруженный в этиленгликоль, может оказаться в разных конформационных состояниях — в одних он движется «свободно», в других — находится в контакте с поверхностью. Измеряя интенсивность люминесценции одиночных молекул как функцию времени (в наносекундном диапазоне и в режиме счета одиночных фотонов с корреляционным анализом по времени), удалось установить, что контакт люминофора с поверхностью сокращает время жизни возбужденной молекулы; присутствие тушителя — молекул азулена — также сокращает время.

Получено распределение единичных молекул (на массах 300–500 молекул) по временам флуоресценции. Найдено, что в отсутствие и в присутствии тушителя времена флуоресценции различаются. Разработана теория, необходимая для анализа такой сложной динамики движения, модулированного конформационными переходами.¹⁸

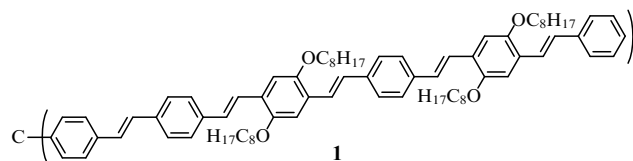
Оптические методы особенно привлекательны для исследования флуоресцентно-меченых липидов и их движения в липидных слоях и на поверхности клеток. Движение молекулярных моторов по белковым нитям (например, миозина по актину), одномерное движение РНК-полимеразы, неспецифично связанной с ДНК, были визуализированы на уровне одиночных молекул. Так, прослежено движение кинезина, меченного тетраметилродамином, вдоль белковой нанотрубки, меченной тем же люминофором по цистеиновым группам. Оно происходит только в присутствии аденозинтрифосфата и является физиологически «нативным». В этом случае, как и в случае миозина на актине, движение светящейся биомолекулы вдоль светящейся белковой нанотрубки очень похоже на движение автомобиля с зажженными фарами по ночному шоссе с цепочкой горящих фонарей (если наблюдать за этим движением сверху).¹⁹

Для детектирования вращательной динамики единичных молекул люминесценцию возбуждают поляризованным светом, а затем наблюдают излучение поляризованных квантов, сопровождающееся потерей поляризации вследствие реориентации молекулы. Фактически каждая молекула многократно возбуждается, и каждый раз ее излучение «считы-

вается» как элементарное событие. Затем определяется распределение этих событий во времени, и усреднением по событиям находится характеристическое время реориентации молекулы.

В растворах времена реориентации молекул лежат в пикосекундном диапазоне. Жестко присоединяя люминофор к большим молекулам, можно исследовать медленную ориентационную динамику этих молекул. По наблюдению деполаризации флуоресценции молекулы липида, меченной флуорофором, была измерена текучесть липидной мембраны.²⁰ Особый интерес такая техника представляет для исследования движения молекулярно-биологических моторов. В частности, показано, что реориентация миозина на актине происходит скачками, а не путем непрерывного поворота.²¹ Иногда исследуют движение самой флуоресцентной метки. В этом случае метку соединяют с «главной» молекулой гибким мостиком. Так было изучено вращение тexasского красного, присоединенного к молекуле ДНК цепочкой (CH₂)₆.²²

Когда в молекуле имеется несколько свободно сочлененных флуоресцирующих фрагментов, можно исследовать ее внутримолекулярную динамику. В качестве примера приведем молекулу **1**, в которой четыре флуоресцирующих фрагмента — цепочки из фениленвиниленовых групп — присоединены к атому углерода. По деполаризации люминесценции этих четырех цепочек («рук») можно измерить частоту, с которой молекула «размахивает руками», и определить время их покоя.²³



Вращательная динамика молекул родамина 6G в перекладном *o*-терфениле измерена по дихроизму люминесценции. Вращение детектировалось двумя датчиками, расположенными перпендикулярно друг к другу.²⁴ Каждая молекула характеризовалась одним и тем же временем броуновского вращательного движения τ_c , однако после 10–100 периодов вращений значения τ_c резко менялись. Такие прыжки молекулы по τ_c — свидетельство ее движения. Характеристическое время смены молекулой ее положения (τ_{ex}) в среднем в 15 раз больше τ_c , хотя температурные зависимости τ_c и τ_{ex} одинаковы. Это означает, что и вращение, и локальная перестройка являются движениями одного типа, а их температурные зависимости описываются теорией Дебая–Стокса–Эйнштейна.²⁴

Выше мы уже отмечали, что главная функция одиночных молекул — репортерская. Важно, чтобы молекулы-репортеры (люминофоры) имели высокий квантовый выход излучения и высокую фотостабильность — последнее обеспечивает им долгую «репортерскую» жизнь. Наиболее популярны в оптике одиночных молекул родамин 6G, красный нильский и террилендимин, а в биологии — зеленый флуоресцирующий белок GFP (см. ниже), флавинаденидинуклеотид и др. В последнее время в качестве люминофоров стали применять дендримеры.⁸

Проблемы фотостабильности одиночных молекул и, в частности, их время жизни как функция интенсивности возбуждения люминесценции обсуждены в работе²⁵. Показано, что время жизни молекулы и число излучаемых ею фотонов резко увеличиваются при низких интенсивностях возбуждения; при этом чувствительность метода снижается, но увеличивается его информативность.

Люминесценция одиночных молекул уже находит практическое применение; в частности, оптика одиночных моле-

кул была использована для изучения влияния влажности и набухания полимеров на их физико-химические свойства и молекулярную динамику.²⁶

3. Электронная спектроскопия одиночных молекул

Детектирование флуоресценции в режиме счета фотонов (с высоким разрешением по времени и по длине волны) является основой электронной спектроскопии одиночных молекул. Спектры отдельных молекул различаются между собой положением (сдвигами частот) и шириной сигналов, а часто и временами люминесценции. Это свидетельствует о том, что молекулы находятся в разном окружении и испытывают воздействие разных локальных силовых полей (т.е. занимают разные молекулярные сайты). Как правило, линии в спектрах излучения одиночных молекул менее уширены, чем в обычных спектрах, что свидетельствует об отсутствии неоднородного уширения за счет суперпозиции спектров разных молекул, другими словами, вместо спектрального распределения детектируется спектр одной молекулы — в этом огромное достоинство спектроскопии одиночных молекул. Особый интерес представляет оптическая спектроскопия ближнего поля, когда излучение молекулы собирается оптико-волоконным зондом.⁶

Высокое разрешение спектроскопии одиночных молекул открывает путь к прямому детектированию переноса электронной энергии возбуждения между одиночными донором и акцептором. Эффективность переноса является функцией расстояния, окружения, перекрытия спектров в паре донор–акцептор; эти функциональные зависимости поддаются прямому измерению. Уже имеются примеры таких спектральных исследований.^{5,8} Особенно интересна спектроскопия биологических молекул, которая позволяет получить информацию о конформации, комплексообразовании, фермент-субстратных взаимодействиях, функционировании клеточных элементов и т.д.

Высокое разрешение (порядка 10^{-4} см⁻¹, или 10^{-8} по абсолютной частоте) в электронных спектрах одиночных молекул удается получить, используя технику двух лазеров, один из которых насыщает электронно-колебательные переходы заданной молекулы, а другой (зондирующий) детектирует спектр, снимая насыщение. Эта техника была использована для детектирования при 1.4 К четырех молекул терилена, помещенных в кристалл дейтеронафталина.²⁷ С ее помощью были измерены частоты двух нижних колебательных уровней и гомогенная (истинная) ширина линии электронно-колебательного перехода. Измерения показали, что спектры индивидуальных молекул не тождественны, так как молекулы занимают разные положения в кристалле хозяина.

Экситонная флуоресценция одиночной макромолекулы полидиацетилена в кристалле мономера-хозяина была измерена при температурах в области 6 и 60 К.²⁸ Макромолекула хорошо моделирует органическую полупроводящую квантовую проволоку. В кристалле доля полимерных цепей составляла менее 10^{-8} , возбуждение производилось в вибронной полосе при 501.7 нм. И поглощение света, и люминесценция были сильно поляризованы вдоль оси молекулы (величина линейного дихроизма составляла около 600).

Одиночной макромолекуле соответствовала одиночная лоренцева линия эмиссии при 2.282 эВ с полушириной 350 мкэВ. Положение линии слегка смещалось в сторону больших энергий, а ширина линии линейно возрастала с ростом температуры из-за экситон-фононного взаимодействия. Характеристическое время потери фазовой когерентности экситона составляло около 2 пс. Обнаружено, что при возбуждении только одной части макромолекулы излучают обе ее части, хотя вторая удалена на расстояние порядка 10 мкм. Это означает, что экситон довольно быстро перемещается вдоль молекулы на расстояние ~ 10 мкм за время,

которое короче времени его жизни (~ 110 пс). Однозначно механизм движения экситона не установлен, однако независимо от механизма (баллистический транспорт или диффузионная миграция) скорость движения высока: по первому механизму она составляет $\sim 10^7$ см $\cdot$ с⁻¹, по второму — 10^4 см² $\cdot$ с⁻¹ (см.²⁸).

Отметим, что спектроскопия одиночных макромолекул была применена для исследования структуры и свойств электропроводящих полимеров,²⁹ а также для изучения функционирования одиночного светозапасующего комплекса LH2.³⁰ Комплекс содержит 27 молекул бактериохлорофилла *a* и 18 каротиноидов. Анализ спектров люминесценции и их зависимости от поляризации возбуждающего света показал, что возбуждение локализовано на ограниченном числе (1–3) молекул бактериохлорофилла.³⁰

4. Квантовая и нелинейная оптика

Ключевой задачей квантовой оптики является генерация одиночных фотонов «по заказу». Оптическое детектирование одиночных молекул в заданном режиме открывает новые возможности для этого. Источник фотонов может служить главным элементом в системах криптографии и коммуникации, а также в компьютерных системах. Новым кандидатом на эту роль может стать сильно люминесцирующая, фотостабильная одиночная молекула в кристалле (например, молекула терилена в кристалле *n*-терфенила). Возможность использования таких систем в квантовой оптике уже активно обсуждается.⁸

С люминесценцией одиночных молекул тесно связана нелинейная оптика одиночных молекул — нелинейное взаимодействие молекул с электромагнитным полем световой волны, когда оптические свойства являются функцией интенсивности света. Большое число нелинейных эффектов, известных для больших ансамблей молекул, уже обнаружено и исследовано для одиночных молекул: оптическое насыщение, четырехволновое смешение, фотонное эхо.³¹

5. Функционирование одиночных молекул

Для того чтобы ответить на вопрос, как функционирует одна молекула, рассмотрим процесс разложения пероксида водорода под действием оксидоредуктазы в присутствии доноров водорода.³²

Пероксидаза хрена — фермент, ключевым структурным элементом которого является протопорфирин IX. Ион железа, входящий в состав протопорфирина IX, участвует в окислительно-восстановительном цикле, инициирующем распад молекулы H₂O₂ и восстановление двух молекул донора. В качестве донора водорода использовали дигидро-родамин 6G, который сам не флуоресцирует, однако продукт его окисления — родамин 6G — является ярким люминофором.

Для наблюдений за функционированием одиночной молекулы фермента биотинилированный фермент иммобилизовали на стекле, модифицированном стрептавидином, и помещали в буферный раствор фосфата калия, содержащий дигидрородамин 6G и H₂O₂, после чего освещали единичные молекулы фермента лазером. Функционирование фермента приводило к генерированию родамина 6G, люминесценция которого детектировалась. По условиям опыта свободные молекулы родамина 6G быстро уходили из освещаемой лазером окрестности молекулы фермента, так что главный вклад в люминесценцию давали молекулы, не успевшие покинуть создавший их фермент.³²

На рис. 5 показаны записи счета фотонов, излучаемых молекулами родамина 6G, образовавшегося в результате функционирования трех молекул фермента (кривые 1–3 соответственно). Видно, что во время наблюдения (10 с)

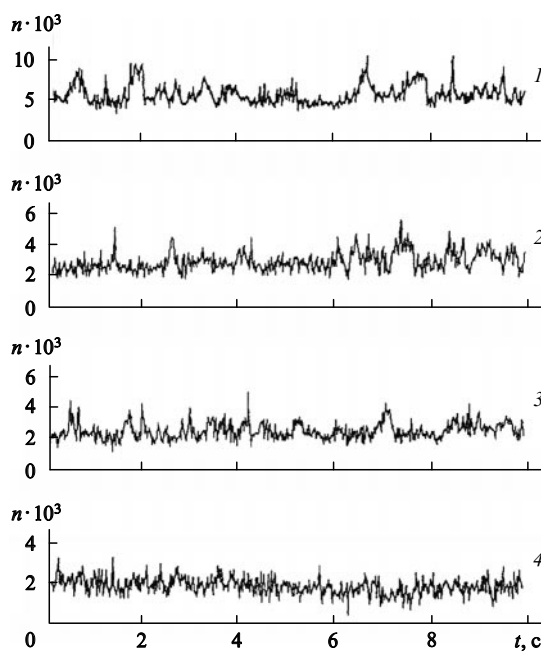


Рис. 5. Число фотонов n , излучаемых родамином 6G, синтезированным тремя одиночными молекулами пероксидазы хрена, как функция времени функционирования этих молекул (кривые 1–3). Кривая 4 — фон люминесценции от области, в которой нет молекул фермента.³²

выход продукта изменяется, т.е. периоды интенсивной работы фермента чередуются с периодами его отдыха, причем разные молекулы фермента «мерцают» по-разному, что свидетельствует о различной активности трех молекул фермента. Данное различие обнаруживается только при малых временах наблюдения, при больших временах оно исчезает. Это означает, что молекулы фермента ведут себя как эргодические стационарные системы, для которых усреднение по времени эквивалентно усреднению по ансамблю. Мерцающую (флуктуирующую) активность фермента авторы работы³² приписали (и это убедительно доказано) различным конформационным состояниям молекулы. Конформационные преобразования фермента изменяют его активность, а следовательно, и выход продукта.

Перенос энергии между двумя люминофорами был использован для исследования конформационной динамики молекулы стафилококковой нуклеазы — небольшого глобулярного фермента.³³ Каждая молекула фермента была помечена двумя люминофорами: тетраметилродамином — донором энергии (его присоединяли специфично к цистеиновому остатку в положении 28) — и цианиновым красителем Су5 — акцептором энергии (его присоединяли к одной из аминокислотных групп белка).

При лазерном облучении одиночных молекул фермента наблюдалось поочередное мерцающее свечение обоих люминофоров: когда светился один люминофор, второй «молчал». Частоты мерцаний соответствовали частотам конформационных переходов в белке, которые сопровождалась сближением или разделением люминофоров. Примечательно, что в присутствии ингибитора (дезокситимидин-фосфата), который связывается активным центром нуклеазы, конформационная динамика сильно изменяется. Это открывает дополнительный источник сведений об активном центре фермента.³³

Таким же способом была исследована динамика конформационных превращений α -тропомиозина в водном растворе.³⁴ Этот белок представляет собой димер, состоящий

из двух одинаковых сплетенных цепей. На цистеин-190 в обеих цепях «пришивали» люминофоры: на одну цепь Су3-малеимид (донор энергии), на другую — Су5-малеимид (акцептор энергии). Когда две цепи α -тропомиозина находились в сплетенном состоянии, люминесцировал только акцептор, а в расплетенном (денатурированном) — только донор. «Мерцание» люминесценции донора и акцептора в противофазе, наблюдаемое на одной молекуле α -тропомиозина, свидетельствует о периодическом расплетании и сплетении двух цепей этого белка. Очевидно, что такая «одномолекулярная» технология может применяться для изучения динамики ассоциации–диссоциации других биомолекул и их комплексов.

По люминесценции меток была изучена также динамика складывания молекул димера пептида GCN4.³⁵ В сложенном состоянии пептид представляет собой двухцепочечную спираль. Авторы присоединили к одним концам цепочек флуоресцирующие метки: к одной цепи — родамин 6G (донор энергии), к другой — техасский красный (акцептор энергии). Другими концами (отрицательно заряженными остатками глутаминовой кислоты) димер за счет электростатического взаимодействия был иммобилизован на поверхности стекла, модифицированного аминопропилсилоксановыми группами.

В димере, находящемся в сложенном состоянии, оба люминофора — донор и акцептор — располагаются рядом. Поэтому при лазерном облучении димера и возбуждении донора энергия возбуждения передается акцептору. При этом родамин 6G «тушится», а техасский красный «светится». В развернутом состоянии, когда донор и акцептор пространственно разделены, перенос энергии от донора к акцептору не происходит и «светится» родамин 6G, а техасский красный «потушен».

Переходы пептида из сложенной в развернутую конформацию и обратно детектируются как периодическое включение свечения донора или акцептора, причем оно происходит в противофазе: свечение одного люминофора неизбежно сопровождается тушением другого — это отчетливо видно на рис. 6. Данный подход приобретает широкую популярность как общий метод исследования складывания белков на уровне единичных молекул и комплексов.

Ферменты не всегда характеризуются эргодичностью. Двухцепочечный олигонуклеотид длиной 217 пар оснований, меченный по одному концу тетраметилродамином и модифицированный по другому концу биотином, был иммобилизован на поверхности стекла, модифицированного стрептавидином, за счет связывания биотина со стрептавидином. Закрепленная таким образом молекула ДНК флук-

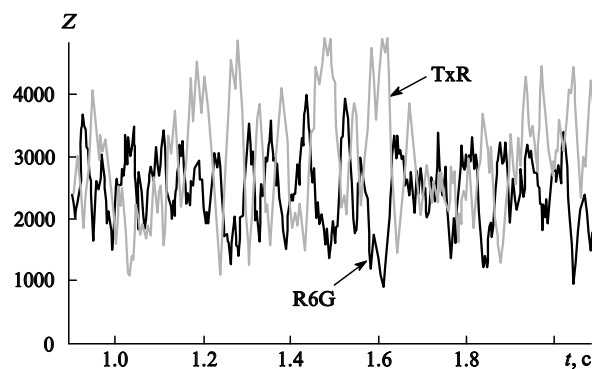


Рис. 6. Свечение в противофазе двух люминофоров — техасского красного (TxR) и родамина 6G (R6G) — при функционировании единичной молекулы димера пептида GCN4. Z — скорость счета излучаемых фотонов.³⁵

тировала между двумя конформационными состояниями, в одном из которых метка находилась рядом с гуанозином и не люминесцировала (гуанозин тушил ее), в другом — метка и гуанозин были разнесены в пространстве, поэтому метка «светилась». Периоды пребывания молекулы в этих двух состояниях — 0.16 и 0.03 с.³⁶

Замечательно, что при усреднении частот осцилляции по времени наблюдения за одиночной молекулой (время жизни метки-люминофора, которое определяется его фотохимической стабильностью) частоты осцилляции световых и темновых периодов не зависели от времени, т.е. каждая из 37 исследованных молекул ДНК являлась системой, эргодичной во времени (это называется гомогенной эргодичностью). Однако поведение каждой молекулы индивидуально, и в этом смысле ансамбль молекул является неэргодичной системой (гетерогенная эргодичность); таким образом, усреднение по времени неэквивалентно усреднению по ансамблю. Причина неэргодичности — индивидуальность каждой позиции ДНК на поверхности стекла. Аналогичная гетерогенная неэргодичность была найдена при изучении каталитической активности одиночных молекул лактатдегидрогеназы.³⁷

Широко известен в молекулярной и клеточной биологии зеленый флуоресцирующий белок GFP,³⁸ он используется как индикатор генной экспрессии и как флуоресцирующая метка для белков. Небольшой (238 аминокислотных остатков) GFP, выделенный из тела медузы, содержит в центре молекулы сильно поглощающий и люминесцирующий хромофор, который самопроизвольно образуется из трех аминокислотных остатков в присутствии кислорода. Люминесценция одиночной молекулы GFP уникальна: она самопроизвольно «мерцает». Эмиссия люминофора возбуждается при 488 нм и длится 0.4 с при малых мощностях лазерной накачки. Чем выше мощность, тем короче эмиссия, т.е. люминесценция не только возбуждается, но и тушится светом. Темновое состояние стабильно в течение нескольких минут и спонтанно возвращается в исходное, способное к люминесценции состояние. Мерцание вызвано конформационными переходами в белке. Природа мерцания пока не ясна, известно лишь, что оно не зависит от pH и не связано с протонизацией GFP.⁸

Спектроскопия одиночных молекул активно входит в аналитическую биохимию. Первый пример применения этого метода относится уже к 1997 г.³⁹ Авторы получили белковый комплекс-хамелеон, состоящий из белков CFP и YFP (CFP и YFP — мутанты белка GFP с голубой (cyan) и желтой флуоресценцией соответственно), объединенных молекулой кальмодулина (белка, связывающего ионы Ca^{2+}).

В отсутствие ионов Ca^{2+} молекула кальмодулина находится в развернутом состоянии, поэтому молекулы CFP и YFP оказываются удаленными друг от друга. При облучении CFP лазером с длиной волны 442 нм наблюдается его люминесценция в области 480 нм. После присоединения четырех ионов Ca^{2+} молекула кальмодулина сворачивается, в результате чего два люминофора — CFP и YFP — сближаются и происходит перенос энергии от CFP к YFP. Теперь уже при облучении CFP излучает YFP в области 530 нм. Фактически белковый комплекс является высокочувствительным сенсором на ионы Ca^{2+} : смена голубой флуоресценции на желтую — точный индикатор ионов Ca^{2+} . Уже разработаны аналогичные индикаторы на ионы H^+ (одномолекулярный pH-метр). Перспективность этого направления в высокочувствительной аналитической и экологической химии очевидна.

Один из важных вопросов молекулярной биологии (в частности, нейробиологии) — механизм действия молекулярных моторов, обеспечивающих транспорт веществ и орга-

нелл в живых клетках. Ответить на этот вопрос помогает оптика одиночных молекул. Так, она привлекалась для исследования движения белка кинезина по микротрубочкам, состоящим из тубулина. В качестве молекулярного мотора кинезин переносит на себе различные клеточные «товары». Например, он доставляет везикулы с нейромедиаторами из аппарата Гольджи к пресинаптическим мембранам, после высвобождения нейромедиаторов собирает «тару» (т.е. липиды везикул) и возвращает ее к исходному месту «загрузки».⁸ На перемещение этого «мотора» на расстояние 8 нм затрачивается (гидролизует) одна молекула АТФ (АТФ → АДФ). Однако ни электронная, ни рентгеновская спектроскопия не смогли дать ответ на вопрос, как два конца молекулы кинезина могут растягиваться на 8 нм.

Чтобы ответить на этот вопрос, нужно исследовать ориентационную подвижность единичной молекулы кинезина. Был приготовлен мутант кинезина, в молекуле которого две цистеиновые группы находились на фиксированном расстоянии; к этим группам жестко присоединяли молекулу-репортер — родамин (для этой цели использовали бифункциональное иодацетамидное производное родамина). Возбуждая жестко фиксированную люминесцентную метку поляризованным светом и детектируя поляризацию люминесценции одиночной молекулы кинезина, можно сделать выводы о ее поведении: поворачивается ли молекула, меняется ли ориентация оптического диполя при функционировании кинезина.

Результат оказался необычным. Установлено, что поляризация люминесценции кинезина, связанного с АДФ, не зависит от поляризации возбуждающего света. Это означает, что оптический диполь одиночной молекулы кинезина в масштабе времени измерения поляризации (0.1 с) динамически разупорядочен, т.е. молекула (мотор) находится в движении, усредняющем ориентацию оптического диполя. При этом кинезин остается связанным с микротрубочкой обоими концами. Отсюда возникла идея о новом типе движения — «качении» кинезина по микротрубочке, детали которого пока не ясны.⁴⁰

Интересно, что такое движение характерно только для кинезина, связанного с АДФ; кинезин, связанный с АТФ, жестко ориентирован и остается без движения. Таким образом, каждый цикл превращения АТФ → АДФ сопровождается перемещением «мотора» на расстояние в 8 нм. Бесспорно, что оптика одиночных молекул — блестящий инструмент исследования работы молекулярных моторов.

III. Сканирующая туннельная спектроскопия

Открытие сканирующей туннельной микроскопии стало крупным прорывом в науке о наномире; прямое наблюдение атомно-молекулярного рельефа поверхности открыло путь к нанотехнологиям. Игла туннельного микроскопа стала инструментом разнообразных операций с индивидуальными атомами и молекулами. Возможность с высокой точностью управлять туннельными токами и перемещениями атомов в молекулах (0.1 Å по горизонтали (по поверхности) и 0.01 Å по вертикали (по высоте)) гарантирует надежность манипулирования атомами и молекулами.

Более того, управляющие системы обеспечили особый режим работы туннельного микроскопа, когда игла «стоит» над одиночным атомом или молекулой сколь угодно долго.⁴¹ Это сразу превратило туннельную микроскопию в туннельную спектроскопию одиночных молекул, открывшую доступ к их электронно-колебательным спектрам, а также к их релаксационной и химической динамике.

1. Визуализация молекул и их движений

Визуализация молекул, передвижение их туннельной иглой в режиме «толкания» или «волочения» и объединение атомов и молекул в ансамбли заданной конструкции — хорошо освоенная наука (наноинженерия).⁴² Однако для химии важно визуализировать химические события (превращения и перемещения реагирующих молекул и продуктов) и наблюдать за их развитием во времени.

Простейший яркий пример — дискретное вращение молекул O_2 на поверхности $Pt(111)$.⁴³ На рис. 7,а приведено топографическое изображение молекулы O_2 . «Грушевидная» форма молекул объясняется тем, что один атом кислорода «сидит» на атоме Pt; он «заглублен», поэтому туннельный ток от него слабый и он «светится» неярко. Другой атом чуть приподнят, он ближе к игле, от него туннельный ток больше и он «светится» ярче.

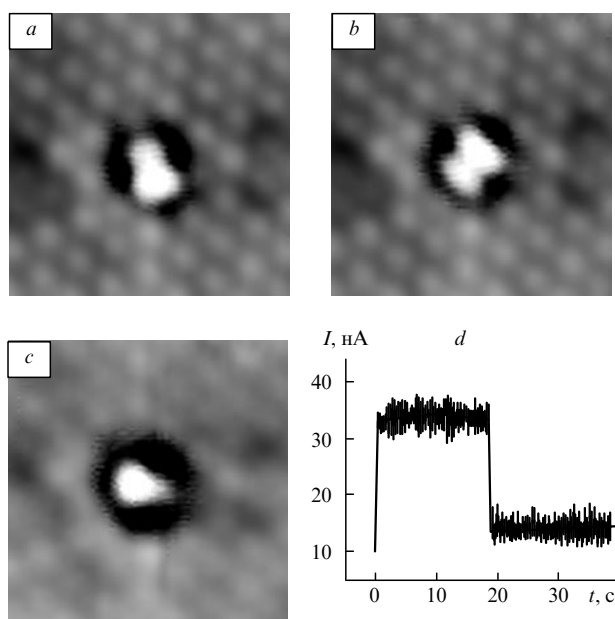


Рис. 7. Топографические изображения молекулы O_2 на поверхности кристалла $Pt(111)$ при ее последовательных угловых поворотах на 120° (a, b, c); d — скачкообразное падение туннельного тока в момент поворота.⁴³

Если установить иглу туннельного микроскопа над молекулой O_2 и подать на иглу напряжение 0.15 В, то через 20 с произойдет скачкообразный поворот молекулы на 120° против часовой стрелки (рис. 7,б); в этот же момент туннельный ток резко упадет (рис. 7,д). Это свидетельствует о том, что атом кислорода частично «уходит» из-под иглы. Новая подача напряжения сопровождается новым поворотом молекулы на 120° (рис. 7,с) и т.д. Такое заторможенное осциллирующее вращение молекулы O_2 между тремя эквивалентными положениями на поверхности $Pt(111)$ [§] индуцируется туннельным током слабого напряжения, причем скорость вращения пропорциональна туннельному току, а барьер вращения заключен между 0.15 и 0.175 эВ (при 8 К).⁴³ Отметим, что молекулы O_2 , на которые не действует туннельный ток, остаются неподвижными.

§ Три потенциальные ямы для молекулы O_2 на поверхности $Pt(111)$, смещенные относительно центра на 120° , определяются гексагональной симметрией расположения атомов Pt.

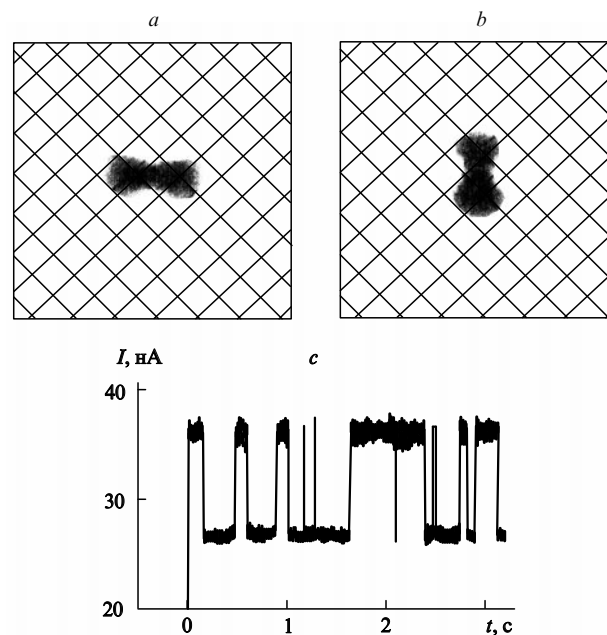


Рис. 8. Топографические изображения молекулы C_2H_2 в двух ортогональных сайтах на поверхности $Cu(100)$ (a, b); c — зависимость туннельного тока от времени.⁴⁴

Другой пример — вращение молекулы ацетилена на поверхности $Cu(100)$. Молекула ацетилена, «посаженная» на атомную поверхность $Cu(100)$ ($l(Cu-Cu) = 2.55 \text{ \AA}$), может занимать два эквивалентных ортогональных положения, в которых центры двух связей $C-H$ приходятся на соседние атомы Cu , т.е. молекула ацетилена как бы «лежит» на двух атомах Cu (рис. 8,а,б).⁴⁴ Когда игла, на которую подается напряжение, помещается над одним концом молекулы C_2H_2 (почти на связи $C-H$, под которой находится атом Cu), туннельный ток случайным образом «прыгает» между двумя значениями (рис. 8,с). Прыжки соответствуют моментам перескоков молекулы C_2H_2 между двумя ортогональными и энергетически тождественными положениями. Это отчетливо видно и по изображениям молекулы C_2H_2 до и после ее поворота (см. рис. 8,а,б), и по обратимым флуктуациям туннельного тока (см. рис. 8,с).

Частота поворотов молекулы ацетилена зависит от положения иглы (она максимальна, когда игла находится над связью $C-H$) и от величины туннельного тока. Последняя зависимость носит линейный характер. Зависимость частоты поворотов от напряжения на игле немонотонна и обнаруживает резкий максимум при напряжении, при котором энергия туннелирующих электронов совпадает с энергией колебательного возбуждения связи $C-H$. Так, частота поворотов молекулы ацетилена возрастает на порядок при напряжении 358 мВ (частота валентных колебаний связи $C-H$).[¶] В случае молекулы C_2D_2 резкое увеличение частоты поворотов (почти на два порядка) происходит при напряжении 266 мВ, что соответствует частоте валентных колебаний связи $C-D$.

Эти данные свидетельствуют о том, что первым событием, вызываемым действием туннельного тока, является возбуждение связи $C-H$ (или $C-D$ для C_2D_2); далее происходит внутримолекулярный перенос энергии от валентных колебаний $C-H$ на деформационные колебания и колебания молекулы как целого, либо сразу на комбинированные коле-

¶ 1 мВ соответствует 8.0655 cm^{-1} .

бания, составленные из деформационных и поворотных частот. Конечным результатом является перескок молекулы из одного положения в другое (ортогональное). Количественные оценки согласуются с этой картиной: вероятность ориентационного перескока молекулы C_2H_2 в расчете на каждый проходящий (туннелирующий) электрон постоянна и составляет $\sim 10^{-10}$. Учитывая, что приблизительно каждый сотый электрон возбуждает валентное колебание, получаем, что вероятность преобразования валентного возбуждения во вращение молекулы как целого составляет $\sim 10^{-8}$. Отметим, что вся эта информация — топографические изображения, частоты перескоков, частоты валентных колебаний, вероятности возбуждения различных типов колебаний — получена от единичной молекулы.

В отличие от молекул O_2 и C_2H_2 , которые совершают вращательные движения по поверхности кристаллов, оставаясь на месте, молекула этилена мигрирует по поверхности Ni(110) хаотически.⁴⁵ На рис. 9,а показано, что молекула C_2H_4 совершает прыжки произвольной длины и направления в разных атомных плоскостях монокристалла никеля, причем наиболее вероятны «короткие» прыжки. Большинство точек на рис. 9,а группируется в центре, вблизи стартового положения молекулы, которое обозначается нулевым смещением. На рис. 9,б приведена гистограмма числа прыжков как функция длины прыжка; из 112 событий (прыжков) большинство, почти 90%, заключено в интервале расстояний 0.1–2.0 Å.

Прыжки молекулы этилена по поверхности согласуются с прыжками туннельного тока: когда молекула уходит из-под иглы, туннельный ток резко падает; когда она возвращается, туннельный ток снова скачком возрастает до исходной величины. При этом возврат молекулы — событие далеко не редкое. Так, за время действия (10 с) импульса напряжения на игле туннельный ток многократно «включается», т.е. молекула успевает сотни раз уйти и вернуться к старту.

Гистограмма временных интервалов, в течение которых молекула находится в ожидании прыжка из-под иглы, является экспоненциальной (гистограммы строили по наблюдениям за 300–1300 событиями с последующим их усреднением по 8–16 единичным молекулам⁴⁵). Из этих гистограмм определяли константы скорости «ухода» молекулы из-под иглы. Оказалось, что эти константы сильно зависят от массы изотопных форм этилена: для $CH_2=CH_2$, *trans*-CHD=CHD, *cis*-CHD=CHD, $CD_2=CD_2$ и $CH_2=CD_2$ они равны соответственно 196, 204, 42, 24 и 15 s^{-1} . Следует отметить однако, что эта зависимость нерегулярная: молекула *trans*-CHD=CHD прыгает быстрее, чем *cis*-CHD=CHD, и гораздо быстрее, чем $CH_2=CD_2$ с той же массой. Авторы работы⁴⁵ отмечают, что при стимулировании колебаний молекулы как целого туннельным током важно, совпадает ли геометрический центр молекулы (куда направлен туннельный ток от иглы) с ее центром тяжести. Именно от этого совпадения сильно зависит эффективность накачки колебательной энергии молекулы туннелирующими электронами.

Аналогичным образом были измерены константы скорости возврата молекул этилена под иглу. Для того же ряда изотопных молекул этилена они составляли 74, 65, 22, 21 и 6 s^{-1} . Очевидно, что слабому туннельному току соответствуют и меньшие константы. Зависимость частоты прыжков от массы молекулы однозначно свидетельствует о неупругом взаимодействии туннелирующих электронов с молекулой, т.е. о колебательном возбуждении адсорбированной молекулы.

Отметим, что динамическое поведение каждой молекулы индивидуально и детектируется независимо. Нет нужды характеризовать его константой скорости. Последняя полезна лишь для статистической, вероятностной, характе-

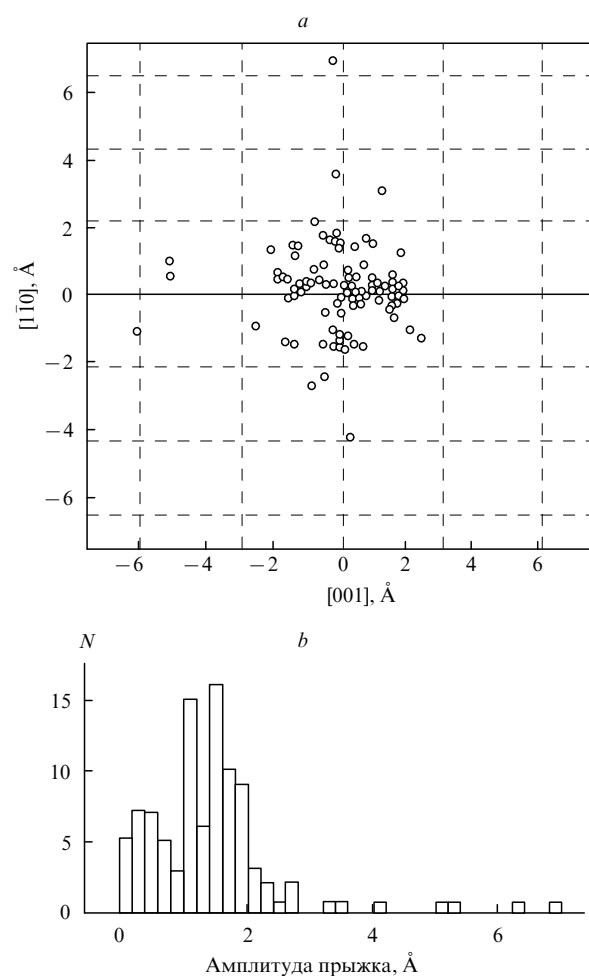


Рис. 9. Распределение амплитуд прыжков одиночных молекул этилена на поверхности Ni(110) (а) и гистограмма прыжков (б) (N — число прыжков с данной амплитудой).⁴⁵

ристики молекулы и получается усреднением по времени (по числу миграционных событий для одной молекулы) и по ансамблю (усреднение этих событий по 8–16 индивидуальным молекулам).

Перемещения молекулы C_{60} , хемосорбированной на кремнии, также индуцируются туннельным током порядка 1 нА при напряжении 2–3 В.⁴⁶ Замечательно, что в этом случае удается и «толкать» молекулу, и «тянуть» ее, т.е. взаимодействие иглы с молекулой C_{60} происходит при обоих потенциалах — и при притяжении, и при отталкивании. Перемещение молекул C_{60} происходит шагами, причем длина шага составляет два периода решетки кремния. В том случае, когда хемосорбция C_{60} включает образование химической связи C–Si, перемещение молекулы C_{60} можно рассматривать как перекачивание, сопряженное с миграцией валентности.

Конформационная динамика индивидуальных молекул пирролидина и его дейтероаналога на поверхности Cu(001) при 9 К была исследована в работе⁴⁷. Эти молекулы довольно прочно присоединяются к поверхности кристалла за счет неподеленной пары электронов атома азота и занимают два положения — либо располагаются перпендикулярно поверхности кристалла (положение I на рис. 10,а), либо параллельно ей (положение II на рис. 10,а). Игла, установленная над молекулой на постоянной высоте, фиксирует два уровня туннельного тока — высокий (0.15 нА) и низкий

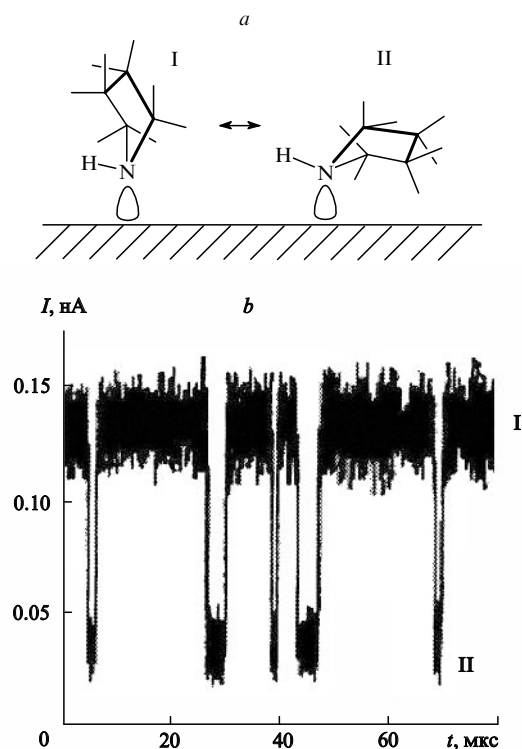


Рис. 10. Схема расположения одиночной молекулы пирролидина на поверхности Cu(001) в двух конформациях I и II (a) и скачки туннельного тока при конформационных переходах $I \leftrightarrow II$ (b).⁴⁷

(0.03 нА) (см. рис. 10,b), — которые соответствуют этим двум положениям. Случайные «мерцания» тока точно фиксируют обратимые скачки молекулы; при этом положение молекулы на поверхности остается фиксированным (это следует из топографических изображений молекулы).

Сравнивая длительности двух токов, можно оценить населенности двух положений (ориентаций), т.е. их статистический вес. И населенности, и скорость переходов между «стоячим» и «лежащим» положениями (т.е. частота мерцаний тока) зависят от напряжения на игле. Ясно, что населенности не являются термодинамически равновесными, поскольку на молекулу действуют туннельным током, стимулирующим ориентационные переходы.

При малых скоростях переходов видны обе ориентации (см. рис. 10,b), при быстрых переходах туннельный ток между ними усредняется. Такое явление наблюдается для пирролидина при потенциале иглы 376 мВ, а для его d_8 -дейтероаналога — при 283 мВ. Эти потенциалы соответствуют возбуждению колебательных уровней фрагментов CH_2 и CD_2 соответственно. Колебательное возбуждение инициирует быстрые переходы между двумя конформациями и выравнивание их населенностей. Когда игла сдвигается от этих резонансных потенциалов, медленная ориентационная динамика снова восстанавливается.

Два состояния жестких молекул — тиофена и пиррола — также отчетливо просматриваются в их топографических изображениях: в одном из них молекулы «лежат» на поверхности Cu(001) (адсорбция за счет π -орбиталей ароматического кольца), в другом — располагаются перпендикулярно к поверхности («стоят»), прочно присоединяясь к атомам Cu неподделенными парами электронов атомов S и N соответственно. Напротив, молекула фурана слабо связывается с атомами Cu, она слишком лабильна, чтобы удержаться под туннельным током.⁴⁸ Интересно, что тетрагидротиофен, ана-

логичный по структуре пирролидину, не обнаружил ориентационных переходов под током иглы; топографические изображения тетрагидротиофена свидетельствуют, что молекула «стоит» на атоме Cu.⁴⁸

Особый тип перемещения единичных молекул — контролируемый переброс их с поверхности на иглу и обратно; он достигается вариациями напряжений и туннельных токов.⁴⁹ Так, перенос молекулы этилена производится следующим образом. Вольфрамовая игла устанавливается над молекулой C_2H_4 , находящейся на поверхности Ag(110). При туннельном токе 0.1 нА на иглу подается напряжение +70 мВ. Поддерживая ток, меняют напряжение скачком на –70 мВ и затем медленно доводят его до –140 мВ. При этом туннельный ток увеличивается от 0.1 до 10 нА, и молекула C_2H_4 переносится на вершину иглы. Обратный перенос происходит при установке иглы, несущей молекулу C_2H_4 , над атомом Ag и подаче напряжения +390 мВ.⁴⁹ Таким же образом осуществляется обратимый перенос CO, только при других потенциалах иглы. Заметим, что физический механизм переноса при этих условиях не вполне ясен.

Более четкие суждения о механизме переноса молекул следуют из работы⁵⁰, в которой для переноса молекулы CO с поверхности Cu(111) на иглу из Cu использовали высокие напряжения. При напряжениях >2 В и расстоянии между иглой и поверхностью ~ 7 Å ток составлял несколько наноампер. Перенос молекулы CO на иглу, установленную над ней, или на новое место вдоль поверхности происходил при напряжении, превышающем пороговое значение 2.4 В. В этом случае наблюдается рост значения производной dI/dV . Этот рост совпадает с заселением возбужденного $2\pi^*$ -состояния молекулы CO (последнее было установлено двухфотонной фотоэмиссионной спектроскопией). Время релаксации этого электронно-возбужденного состояния оказалось очень коротким (0.5–5.0 фс). Быстрая релаксация энергии с разрыхляющей π^* -орбитали молекулы CO явилась причиной низкого квантового выхода десорбции монооксида углерода ($2.7 \cdot 10^{-11}$ при 2.7 В или $3.0 \cdot 10^{-11}$ при 3.0 В) и переноса его на новое место (включая иглу).

Среднее время «оседлой жизни» молекулы CO после подачи напряжения (т.е. время ожидания переноса) зависело от величины напряжения и тока. Установлено, что скорость переноса (величина, обратная времени «оседлой жизни») пропорциональна туннельному току, а это означает, что перенос молекулы является одноэлектронным процессом.

Был измерен⁵⁰ также изотопный эффект в скорости переноса: тяжелые молекулы $^{13}C^{18}O$ «прыгали» под током на новое место в 2.7 раза реже, чем легкие молекулы $^{12}C^{16}O$. Изотопный эффект свидетельствует о ключевой роли релаксации электронного возбуждения на колебания молекулы как целого. Количественный анализ эффекта привел к важному заключению: только 0.5% всех туннелирующих электронов возбуждают молекулу CO в состояние $2\pi^*$, и следовательно, вероятность «прыжка» на каждый акт возбуждения составляет $\sim 5 \cdot 10^{-9}$. Это низкая величина, но она согласуется с низкой вероятностью релаксации электронной энергии на низкочастотные колебания молекулы как целого.

2. Туннельная спектроскопия

Топографические изображения атомно-молекулярного рельефа поверхности получаются за счет упругого взаимодействия туннелирующих электронов с атомами поверхности. Однако чтобы зондировать энергетические уровни поверхностных атомов и молекул, необходимо неупругое взаимодействие электронов; только при неупругом взаимодействии происходит обмен энергией между туннелирующими электронами и поверхностными частицами. О наличии энергетического обмена (неупругого туннелирования)

можно судить по зависимостям ток–напряжение, изучение которых составляет предмет туннельной спектроскопии.

Наиболее эффективно в химии применяют два варианта туннельной спектроскопии: спектроскопию пороговых эффектов и резонансную спектроскопию. Первая развита преимущественно Хо с сотр.,⁵¹ вторая — Далидчиком с сотр.^{52,53}

В пороговой спектроскопии используются низкие потенциалы $V \ll \phi$ (ϕ — работа выхода электронов в наноконтакте иглы с поверхностью). Схема туннельных переходов для этого случая показана на рис. 11.

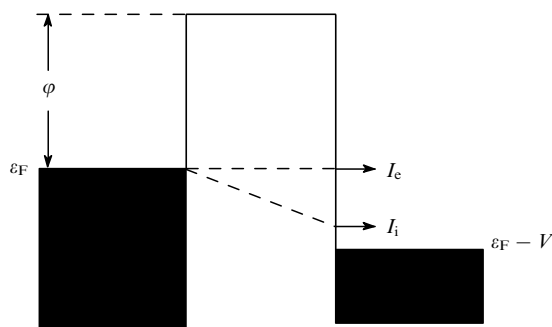


Рис. 11. Схема туннелирования в наноконтакте при напряжении $V \ll \phi$. ε_F — уровень Ферми, ϕ — работа выхода электрона, I_e и I_i — токи упругого и неупругого туннелирования.

Канал неупругого туннелирования открывается лишь при напряжении, превышающем критическое (пороговое) значение, которое соответствует энергетическому уровню молекулы в наноконтакте. При меньших напряжениях неупругое туннелирование запрещено, так как электрон не может потерять энергию, опустившись ниже уровня Ферми, где все электронные состояния заполнены и новым электроном нет места.

Пороговое напряжение V , при котором появляется дополнительное неупругое туннелирование, регистрируется по скачку туннельного тока $I(V)$. При возбуждении колебательных частот молекулы вероятность (сечение) неупругого процесса очень мала, поскольку обмен энергией между «легким» электроном и колебаниями «тяжелых» атомов происходит с очень низкой вероятностью. Для того чтобы детектировать колебательные частоты одиночных молекул по малым скачкам тока $I(V)$, Хо с сотр.⁵¹ разработал высокочувствительную технику, в которой достигалась высокая стабильность положения иглы над избранной молекулой (игла могла стоять часами); при этом потенциал на игле периодически изменялся от $-V$ до $+V$, проходя многократно (сотни и даже тысячи раз) через пороговое значение, где происходил скачок туннельного тока. Плавное меняющееся и контролируемо управляемое напряжение на игле модулировалось на частоте сотен Герц, так что скачок тока детектировался по второй производной d^2I/dV^2 ; положение пика на зависимости d^2I/dV^2 от напряжения V соответствует потенциалу V_k , отвечающему частоте в колебательном спектре молекулы.⁴⁸

Пример таких зависимостей для единичных молекул C_2H_2 и C_2D_2 на поверхности Cu(110) показан на рис. 12. Для молекулы C_2H_2 пик отчетливо виден при потенциале 358 мВ, а для C_2D_2 — при 266 мВ. В энергетической шкале эти пики совпадают с частотами валентных колебаний связей С–Н и С–D соответственно. Таким образом, изотопный сдвиг в потенциалах соответствует сдвигу в частотах колебаний связей С–Н и С–D.^{44,51}

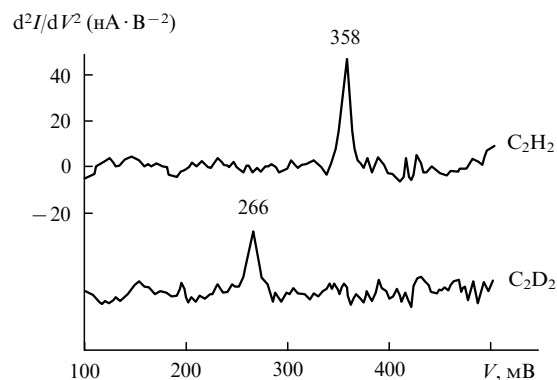


Рис. 12. Вторая производная тока по напряжению как функция напряжения для одиночных молекул C_2H_2 и C_2D_2 . Напряжения 358 мВ и 266 мВ соответствуют частотам колебаний связей С–Н и С–D соответственно.⁴⁴

С помощью пороговой спектроскопии были получены спектры разнообразных молекул: изотопных форм $^{12}C^{16}O$ и $^{13}C^{18}O$ (см.⁴⁹), этилена и его изотопных форм,⁴⁵ пиридина, бензола,⁵⁴ пиррола, пирролидина, тиафена, тетрагидротиофена и их дейтероаналогов.⁴⁸ Получить колебательный спектр молекул, особенно «легких» (например, спектр молекул O_2 на поверхности серебра⁴⁹), удается далеко не всегда. Это связано с тем, что молекулы «убегают» из-под иглы раньше, чем удастся накопить достаточно надежный спектр по зависимостям d^2I/dV^2 от V . Физическими причинами могут быть либо прямая накачка туннелирующими электронами низкочастотных колебаний молекулы как целого, либо передача колебательной энергии от валентных колебаний, возбуждаемых неупруго туннелирующими электронами, на колебания всей молекулы.

Резонансная туннельная спектроскопия одиночных молекул, разработанная Далидчиком с сотр.,^{52,53} работает в автоэмиссионном режиме, т.е. при напряжениях на игле, превосходящих работу выхода электронов. В этих условиях туннелирующие электроны преодолевают два барьера — на выходе из иглы и на входе в поверхность (рис. 13), — поэтому они оказываются «плененными» в пространстве между иглой и молекулой на время порядка 10^{-13} – 10^{-14} с. Пространство между острием и поверхностью функционирует как «наномасштабный резонатор», в котором при определенном значении энергии устанавливаются стоячие волны (автоэмиссионные резонансы). Поскольку энергия резонансов

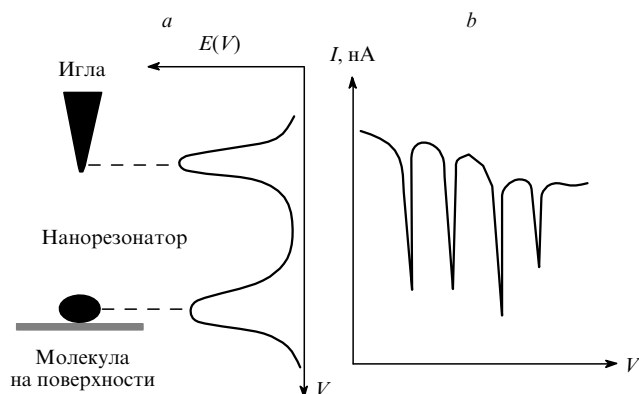


Рис. 13. Схема нанорезонатора, ограниченного двумя барьерами (a), и схематическая зависимость туннельного тока от напряжения (b).

зависит от потенциала острия, туннельный ток как функция приложенного напряжения имеет ярко выраженные пики, соответствующие электронно-колебательным (резонансным) уровням адсорбированной молекулы, взаимодействующей с электроном, захваченным резонатором. Это одно из проявлений фундаментального квантового эффекта — резонансного просветления двойных потенциальных барьеров, которые при совпадении энергии туннелирующих электронов с энергиями колебаний оказываются абсолютно прозрачными. При таких резонансных потенциалах туннельный ток резко возрастает, фиксируя колебательный спектр молекулы под иглой (схематически это показано на рис. 13).

Резонансная туннельная спектроскопия активно развивается Далидчиком и сотр. с 1997 г.^{52, 53, 55–57} Пример колебательных спектров единичных молекул H_2O и D_2O , адсорбированных на окисленном титане, показан на рис. 14. Здесь видны резонансные линии $\omega_1 = e(V_3 - V_1) = 0.5$ эВ и $\omega_2 = e(V_2 - V_1) = 0.2$ эВ (одноквантовые валентные и деформационные колебания), $\omega_3 = e(V_5 - V_1) = 2\omega_1$ (двухквантовые валентные колебания) и $\omega_4 = e(V_4 - V_1) = \omega_1 + \omega_2$

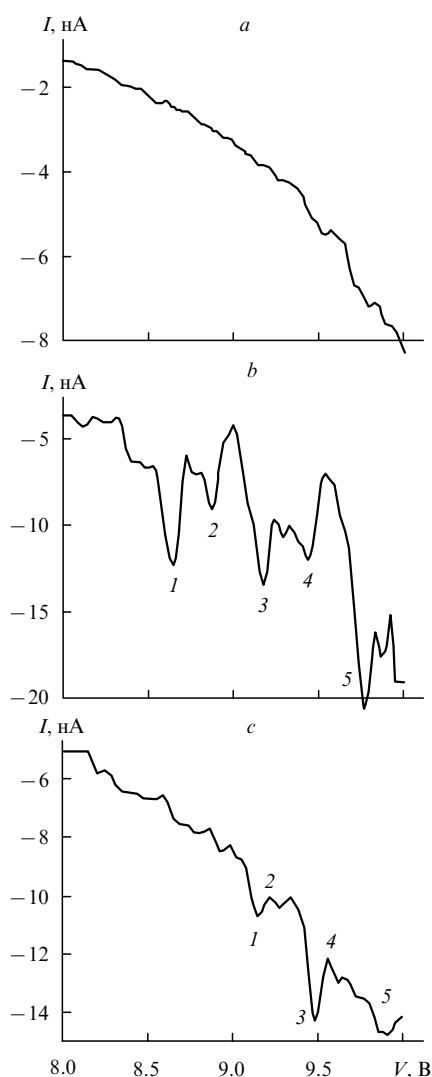


Рис. 14. Туннельный ток как функция напряжения для чистой поверхности окисленного титана (а) и для одиночных молекул H_2O (b) и D_2O (c), адсорбированных на поверхности окисленного титана. Резонансные линии 1–5 соответствуют колебательным частотам молекул (см. текст).^{53, 56}

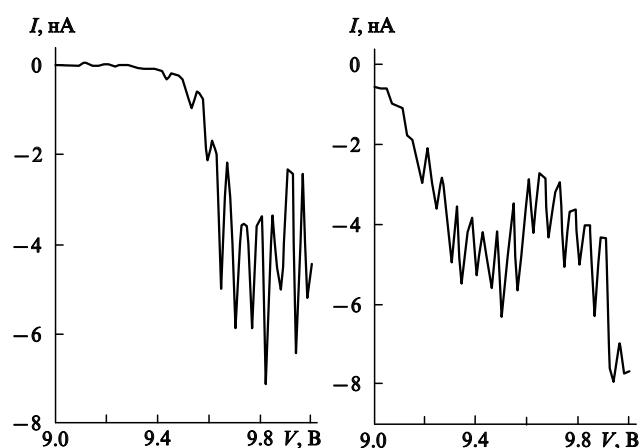


Рис. 15. Колебательные спектры молекул кислорода на разных (неидентифицированных) сайтах Fe_3O_4 .⁵⁷

(комбинированные колебания), где нижние индексы n соответствуют номерам резонансных линий, приведенных на рис. 14 (V_n — соответствующие напряжения).^{53, 56} Для молекулы D_2O ω_1 и ω_2 равны 0.35 и 0.15 эВ, т.е. изотопный сдвиг почти точно соответствует изотопному отношению частот ($\omega(\text{H}_2\text{O})/\omega(\text{D}_2\text{O}) \approx \sqrt{2}$).⁵⁶

На рис. 15 приведены колебательные спектры молекулярного кислорода, адсорбированного на разных участках поверхности оксидов железа.⁵⁷ Отметим, что резонансная туннельная спектроскопия имеет неограниченные возможности. С ее помощью можно детектировать и измерять частоты индивидуальных колебаний и их комбинации; измерять скорости колебательной релаксации, контролируемо управляя туннельным током (т.е. скоростью колебательной накачки). Трудности и ограничения резонансной спектроскопии также очевидны: далеко не всегда удастся разобраться в спектре и приписать максимумы в туннельном токе определенным колебаниям; расшифровка спектров — трудная задача, особенно для многоатомных молекул. При расшифровке полезно использовать родственные молекулы, изотопные формы и т.д.

3. Химия одиночных молекул

Неупругое взаимодействие туннелирующих электронов с молекулой сопровождается накачкой последней колебательной энергией, что стимулирует ее химические превращения. Эти события детектируются по изображениям реагента и продуктов, по скачкам туннельного тока в момент реакции и по колебательным спектрам реагента и продуктов.

Простейший пример — диссоциация молекулы O_2 , физически адсорбированной на поверхности $\text{Pt}(111)$, при 40–150 К.⁵⁸ При напряжении на игле 0.3 В и туннельном токе 22 нА диссоциация молекулы O_2 на атомы происходит в течение 30 с, причем атомы «разбегаются» на три постоянных решетки $\text{Pt}(111)$. Одновременно наблюдаются изображения атомов и скачок туннельного тока в момент реакции. Константа скорости диссоциации, измеренная статистическим усреднением по многим молекулам, растет с увеличением тока по степенному закону I^n , где показатель степени n зависит от напряжения и равен 0.8, 1.8 или 2.9 для напряжений 0.4, 0.3 или 0.2 В соответственно. Интересно, что поведение молекул O_2 зависит от места их нахождения на поверхности кристалла Pt : на грани fcc они только диссоциируют, на ступенях террас — десорбируются без распада, на переходных мостиках — и диссоциируют, и десорбируются. Ясно, что речь идет о конкуренции энергетической накачки на

внутренние (реакционные) и внешние колебания молекулы как целого.

Еще один пример — диссоциация молекул C_2H_2 и C_2D_2 до C_2H и C_2D на поверхности $Cu(001)$ при потенциалах 2.8 и 3.9 В соответственно.⁵⁹ Образующиеся радикалы C_2H и C_2D далее диссоциируют до C_2 при потенциалах 2.1 и 2.7 В соответственно. Огромные изотопные эффекты обусловлены не столько изотопией связей $C-H$ и $C-D$, сколько различием в сечении возбуждения изотопных молекул туннелирующими электронами. Как отмечалось выше, сечение возбуждения определяется вероятностью передачи энергии (неупругий процесс) от «легкого» электрона к «тяжелой» молекуле. Эта вероятность обычно очень мала и пропорциональна $(a_0/R_0)^{2\Delta\nu}$, где a_0 — амплитуда нулевых колебаний молекулы (или атомов в ней), R_0 — равновесное положение осциллятора, моделирующего колебательную подсистему, $\Delta\nu$ — изменение колебательного квантового числа при возбуждении. Отсюда очевиден большой изотопный эффект в сечении возбуждения.

Вся последовательность реакций единичных молекул C_2H_2 и C_2D_2 надежно регистрируется по изображениям (топографически), величине туннельного тока (он изменяется скачками в моменты превращений $C_2H_2 \rightarrow C_2H \rightarrow C_2$), колебательным спектром и изотопным сдвигам частот.⁵⁹

Изучено дегидрирование туннельным током пяти изотопных форм этилена на поверхности $Ni(110)$ (о них шла речь в разделе III.1) до ацетилена. Процесс контролировался по изображениям и колебательным спектрам реагента и продукта. Дегидрирование начиналось при напряжениях, превосходящих пороговые; при этом пороговые напряжения для каждой изотопной молекулы были различны.⁴⁵ Здесь, как и в случае ацетилена (см. выше), изотопный эффект есть результат конкуренции энергетической накачки на внутренние и внешние колебания молекулы.

Одномолекулярная химия молекул пиридина и бензола (и их дейтероаналогов) на поверхности $Cu(001)$ была исследована спектроскопически и топографически.⁶⁰ Основная реакция — диссоциация молекул C_5H_5N и C_6H_6 до C_5H_4N и C_6H_4 соответственно. Для пиридина порог диссоциации составляет 3.0 В, для его дейтероаналога — 3.2 В. Сведения о топографии молекул неоднозначны, сделан лишь предварительный вывод, что бензол «лежит», а продукт его диссоциации — молекула C_6H_4 — «стоит» ребром на поверхности кристалла.⁶⁰

Превращение двух молекул иodobензола в бифенил на поверхности $Cu(111)$ включает их диссоциацию, «отодвигание» атомов иода и «сближение» фенильных радикалов до объединения их в бифенил. Каждый шаг этого процесса контролировался топографически и индуцировался туннельным током иглы.⁶¹

Недавно японскими авторами опубликована надежная и убедительная работа по дегидрированию *транс*-бут-2-ена на $Pd(110)$.⁶² Сначала ими были получены топографические изображения исходных молекул (рис. 16,а) и продукта их дегидрирования — бута-1,3-диена (рис. 16,б); первые выглядят как гантели (метильные группы на концах молекулы приподняты и дают заметный подъем иглы), вторые смотрятся как эллипсы с длинной осью, параллельной ряду атомов Pd . Схемы расположения молекул *trans*- C_4H_8 и C_4H_6 относительно атомов Pd решетки показаны на рис. 16,с,д.

На рис. 16,е показано исходное состояние поверхности, на которой соадсорбированы две молекулы *транс*-бут-2-ена (Т) и одна молекула бута-1,3-диена (В). Над одной из молекул *транс*-бутена (обозначена стрелкой на рис. 16,е) устанавливается игла туннельного микроскопа. При токе 7 нА и напряжении 450 мВ через 1 с эта молекула превращается в молекулу продукта (Р), которая тождественна исходной молекуле бута-1,3-диена (В, рис. 16,ф). Таким образом, авторам удалось наблюдать, как под действием туннельного тока

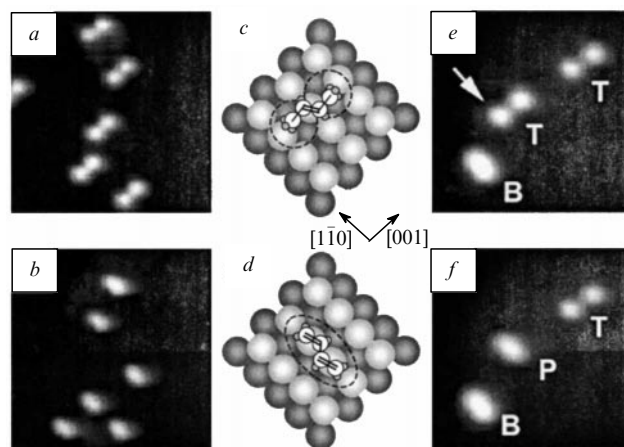


Рис. 16. Топографические изображения одиночных молекул *транс*-бут-2-ена (а) и бута-1,3-диена (б), схемы их расположения на $Pd(110)$ (с, д) и изображения молекулы *транс*-бут-2-ена (Т) перед реакцией (е) и после ее превращения в бута-1,3-диен (Р) (ф). В — исходная молекула бута-1,3-диена.

происходит дегидрирование *транс*-бутена. По-видимому, удаление атомов водорода из метильных групп *транс*-бутена осуществляется не одновременно, но промежуточная структура с одним удаленным атомом водорода нестабильна и настолько быстро отдает второй атом водорода, что получить ее изображение не удастся.

Спектроскопические доказательства дегидрирования *транс*-бутена и его дейтероаналога получены из анализа зависимости $I(V)$: вторая производная d^2I/dV^2 имеет максимумы, отвечающие колебаниям связи $C-H$ метильной группы, при 366 мВ для *транс*-бутена и 268 мВ для его дейтероаналога. В продукте реакции — бутадиене — эти частоты отсутствуют. Более того, превращение *транс*-бутена в бутадиен начинается при пороговых напряжениях, точно совпадающих с частотами валентных колебаний связей $C-H$ и $C-D$.

Зависимость скорости реакции W , измеренной статистически для ряда молекул, от тока имеет степенной характер: $W \approx I^n$, где показатель степени n зависит от напряжения и изотопного состава молекул и изменяется в пределах от 1.5 до 3.0. Все эти признаки надежно свидетельствуют о том, что химическое превращение стимулируется колебательным возбуждением связей $C-H$ (или $C-D$) туннелирующими электронами.

Замечательным свойством молекулы *транс*-бутена как экспериментального объекта является то, что под туннельным током иглы молекула остается неподвижной, т.е. не перемещается по поверхности (в отличие от других легких молекул типа O_2 или C_2H_2 , о которых шла речь в разделе III.1). Это означает, что высокочастотные колебания групп CH_3 слабо взаимодействуют с низкочастотными колебаниями массивной молекулы *транс*-бутена как целого, поэтому колебательное возбуждение групп CH_3 снимается в результате диссоциации связей $C-H$ (или $C-D$).

Завершая анализ работ по одномолекулярной химии, нельзя не остановиться на ее ограничениях. Главное из них — отсутствие информации о самом событии — химическом превращении. Вся информация о физике химического процесса содержится в зависимости скорости реакции от тока ($W \approx I^n$), а также в зависимостях n от V (в ней заложена скорость туннелирующих электронов) и от изотопного состава молекулы. Чтобы извлечь эту информацию, требуется теоретический анализ этих зависимостей в рамках теории неупругих взаимодействий электронов с адсорбированными молекулами и энергетической релаксации молекул.

Такая теория хорошо развита для молекул газа, но ее перенесение на адсорбированные молекулы — самостоятельная задача. Более того, для сопоставления теории с экспериментом необходимо знать, какая часть туннелирующих электронов взаимодействует с молекулой неупруго, т.е. дает вклад в колебательное возбуждение. Некоторые оценки этого параметра для частных случаев были даны выше, но в целом эта задача остается нерешенной.

IV. Одиночная высокоспиновая молекула как наноманит

Классические наноманиты — это частицы с размером порядка сотен нанометров. Их получают обычно диспергированием или осаждением ферромагнитных материалов, поэтому они неоднородны (имеют распределение по размерам и по магнитным моментам наночастиц). Новый класс наноманитов — одномолекулярные магниты — не имеют этих ограничений. Их получают с помощью классических методов химии, выделяют и очищают как индивидуальные химические вещества.⁶³ Как продукты химического «клонирования» одномолекулярные магниты абсолютно тождественны и по размеру, и по структуре, и по магнетизму. Как правило, ими являются высокоспиновые металлокластеры, которые имеют магнитное ядро из атомов переходных металлов, содержащих десятки (а иногда сотни) неспаренных электронов (носителей спина) и диамагнитную оболочку («одежду») из органических лигандов. Последние исключают межмолекулярное обменное взаимодействие электронов и делают ядро магнитно-изолированным (рис. 17).

Каждая такая молекула является наноманитом и обнаруживает все свойства настоящего магнита: спонтанную намагниченность, анизотропию и гистерезис намагниченности, доменную организацию, динамический гистерезис (мнимая часть намагниченности, обнаруживаемая по частотной зависимости намагниченности в переменных полях). Источник магнетизма в этих молекулах — обменное взаимодействие электронов и дипольное взаимодействие электронных спинов внутри молекулы. Обменное взаимодействие (J) между разными неспаренными электронами в ядре молекулы имеет, как правило, разную величину и знак: для одних электронов оно положительно и выстраивает их электронные спины параллельно (ферромагнетизм), для других электронов это взаимодействие отрицательно и выстраивает их спины антипараллельно (антиферромагнетизм). В результате полный спин такой молекулы не соответствует числу

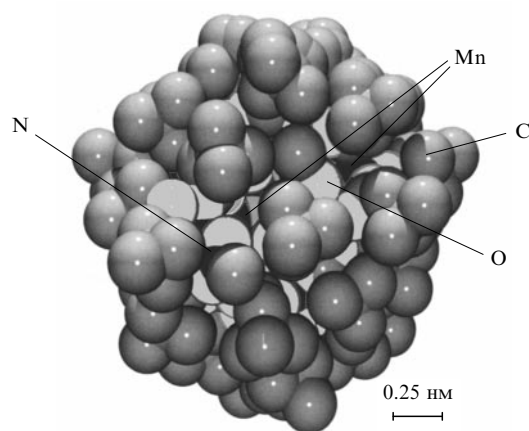


Рис. 17. Объемное атомное изображение молекулы-магнита $\text{Mn}_{30}\text{O}_{24}(\text{OH})_8(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{Bu}^t)_{32}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{MeNO}_2)_4$.⁶⁴ Показаны все атомы, кроме водорода.

неспаренных электронов в ней. Так, например, в молекуле $\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{O}_2\text{CMe})_{16}(\text{H}_2\text{O})_4$ число неспаренных электронов (N) равно 44, но полный спин (S) равен лишь 10 (см.⁶³). Молекулы $\text{Mn}_9\text{W}_6(\text{CN})_6$ и $\text{Mn}_9\text{Mo}_6(\text{CN})_6$ имеют одинаковое число неспаренных электронов ($N = 51$), но разные полные спины: $S = 39/2$ и $51/2$. Из значения полного спина $S = 51/2$ следует, что в молибденовом кластере $\text{Mn}_9\text{Mo}_6(\text{CN})_6$ все электроны связаны ферромагнитно. В молекуле $\text{Fe}_{11}\text{O}_6(\text{OH})_6(\text{O}_2\text{CPh})_{15}$ $N = 55$, а $S = 1/2$. Даже в рекордно большой молекуле $\text{Mn}_{30}\text{O}_{24}(\text{OH})_8(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{Bu}^t)_{32}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{MeNO}_2)_4$ (см. рис. 17), в которой число неспаренных электронов равно 143, $S = 5$.⁶⁴

Дипольное взаимодействие (D) электронных спинов в молекуле $\{\text{Mn}_{30}\}$ также имеет разные знаки и формирует внутри молекулы группы спинов, составляющие нанодомены. Энергия дипольных взаимодействий (как правило, порядка 1 см^{-1}) создает барьер для переориентации нанодоменов и является источником динамического и статического гистерезиса.

В отличие от макроскопических ферромагнетиков в молекулах-магнитах нанодомены меняют направление намагниченности по механизму туннелирования, поэтому в этих молекулах появляется квантовая петля гистерезиса: ее характерный признак — дискретные «ступеньки» намагниченности (рис. 18 и 19).^{63, 65}

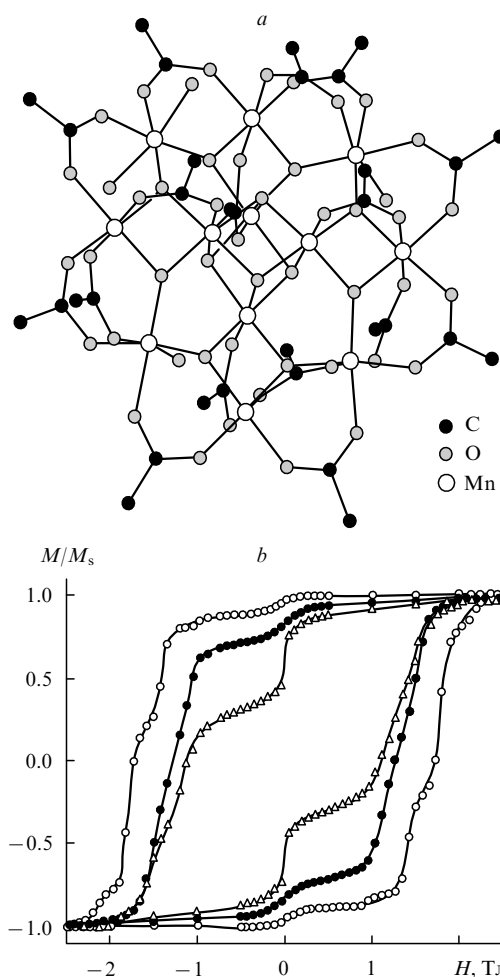


Рис. 18. Атомная структура молекулы $\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{O}_2\text{CC}_6\text{H}_4\text{Cl}-2)(\text{H}_2\text{O})_4$ (a) (2-хлорбензолные кольца для простоты не показаны) и квантовые петли гистерезиса (b) молекул-наноманитов $\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{O}_2\text{CMe})_{16}(\text{H}_2\text{O})_4$ (1) и $\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{O}_2\text{CC}_6\text{H}_4\text{X}-2)_{16}(\text{H}_2\text{O})_4$ (2, 3) ($\text{X} = \text{Br}$ (2) и Cl (3)) при 20 К.⁶³

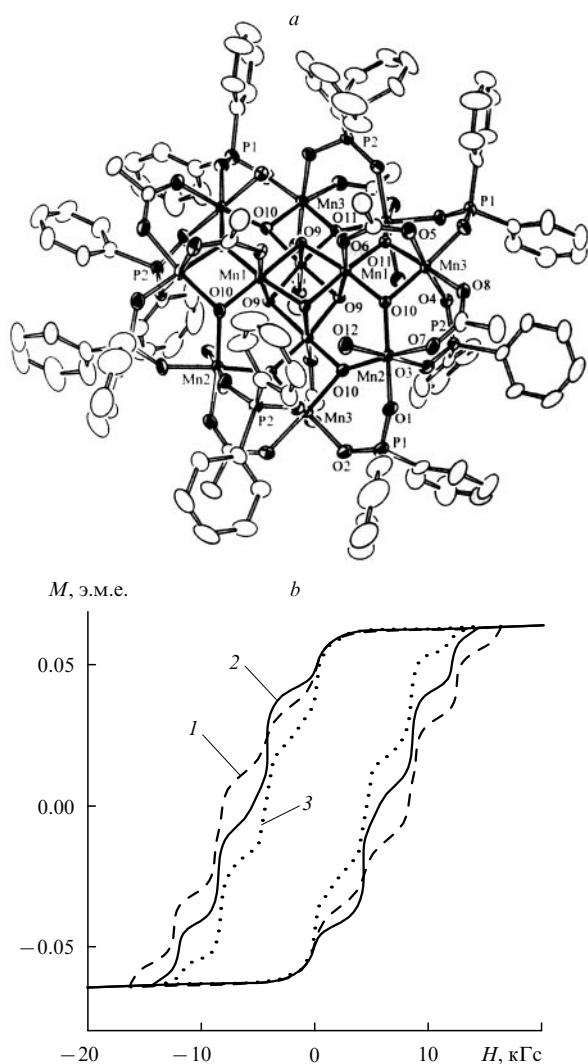


Рис. 19. Атомная структура (а) и квантовые петли гистерезиса (b) молекулы $\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{O}_2\text{CMe})_8(\text{O}_2\text{PPh}_2)_8(\text{H}_2\text{O})_4(\text{CH}_2\text{Cl}_2)_2$ при 1.8 (1), 1.9 (2) и 2.0 К (3).⁶⁵

Интерес к молекулам-наномагнитам определяется следующими обстоятельствами:

- они индивидуальны, тождественны, имеют четкую и точную атомно-молекулярную архитектуру;
- они растворимы и потому легко и контролируемо могут быть организованы в молекулярные ансамбли (включая двумерные решетки на поверхности);
- они имеют большой магнитный момент и надежно детектируются и контролируются «точечными» методами атомно-силовой и туннельной сканирующей спектроскопии.

Молекулы-магниты привлекают огромное внимание как элементы высокоплотной магнитной памяти и квантового компьютера, а также как материалы для спинтроники. Уже синтезировано порядка 20–30 таких молекул, имеющих ядро из атомов Mn, Fe, V, Cr, W, Tb, Dy.

В настоящее время интенсивно разрабатывается теория таких молекул, сформулированы условия, которым должны удовлетворять многоспиновые молекулы, чтобы они могли функционировать как наномагниты: неэквивалентность спинов по значениям J и D , анизотропия спин-орбитального (λLS) и обменного (J) взаимодействий. Эти условия на практике реализуются сочетанием в одной молекуле атомов

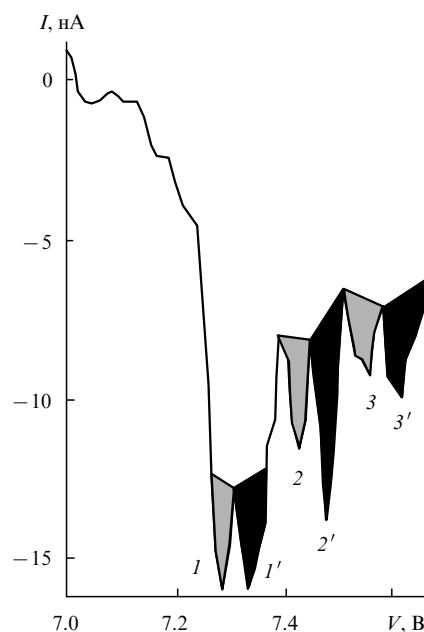


Рис. 20. Туннельный ток I как функция потенциала V для одиночного анион-радикала O_2^- , находящегося на поверхности окисленного титана. Расщепление линий внутри пар 1–1', 2–2', 3–3' соответствует обменной энергии электронов.⁵⁶

разных металлов (иногда с добавлением парамагнитных органических лигандов)⁶⁶ и химическим конструированием.

В туннельной спектроскопии молекулы-магниты обнаруживают замечательное свойство — спиновую селективность неупругого взаимодействия молекулы с туннелирующими электронами, исходящими из иглы. Это свойство было впервые обнаружено Далидчиком и сотр.⁵⁵ на примере низкоспиновой молекулы O_2^- . Спин неспаренного электрона в анион-радикале O_2^- и спин туннелирующего электрона создают за счет обменного взаимодействия либо синглетное (полный спин равен нулю), либо триплетное (полный спин равен единице) состояние. Энергетически эти состояния различаются на величину обменной энергии; различие приводит к расщеплению линий в колебательном спектре анион-радикала O_2^- на пары, соответствующие синглетному и триплетному каналам туннельного тока (рис. 20).

Это свойство открывает новые возможности для применения молекул-магнитов в качестве спиновых фильтров (для фильтрации туннелирующих электронов по спину). Это замечательный результат из области одномолекулярной спиновой химии, который, бесспорно, войдет в спинтронику. Кожушнер с соавт.⁶⁷ для этих же целей предложил использовать ферромагнитную иглу (источник поляризованных электронов) и разработал теорию такого спинового фильтра. Повышение чувствительности оптического детектирования за счет микроволнового воздействия на спиновую молекулу и использование электронного парамагнитного резонанса в туннельной спектроскопии обсуждены в работах^{68, 69}.

V. Спектроскопия комбинационного рассеяния одиночных молекул

В основе спектроскопии комбинационного (рамановского) рассеяния (КР) лежит явление неупругого рассеяния света на молекулярных колебаниях. Падающие на молекулу фотоны теряют квант энергии, который расходуется на возбуждение молекулярного колебания; эта потеря детектируется как сдвиг частоты возбуждающего света (стоксовый сдвиг).

Если молекулярные колебания возбуждены, то падающие на молекулу фотоны приобретают дополнительную энергию молекулярных колебаний, в результате чего частота рассеянного света увеличивается (антистоксовый сдвиг).

Спектроскопия КР получила широкое применение в химии и физике газов, жидкостей и твердых тел и стала серьезным дополнением к обычной колебательной спектроскопии. В настоящее время данный метод является мощным инструментом в исследовании молекулярной структуры. Однако вероятность неупругого фотон-колебательного (рамановского) взаимодействия (с генерацией стоксовой или антистоксовой линии) очень мала (поперечное сечение такого взаимодействия не превышает 10^{-30} см² на молекулу), поэтому чувствительность метода низка, что делает его применимым лишь к большим ансамблям молекул.

В 1977 г. было обнаружено, что вероятность неупругого рассеяния света молекулами резко возрастает, если эти молекулы адсорбированы на металлических поверхностях,^{70,71} в частности, на металлических электродах с развитой поверхностью или на наночастицах. Такая иммобилизация приводит к существенному увеличению (в 10^{14} – 10^{15} , а иногда и в 10^{20} раз) интенсивности стоксовых и антистоксовых линий, что позволяет достичь порога поперечного сечения фотон-колебательного взаимодействия, необходимого для детектирования одиночной молекулы (порядка $4 \cdot 10^{-18}$ см² на молекулу), а часто и превзойти этот порог.⁷² Наилучшие результаты по чувствительности были получены при адсорбции детектируемых молекул на наночастицах Ag или Au с размерами 10–100 нм.

Обсуждаются две причины (два механизма) резкого увеличения вероятности комбинационного рассеяния света. Первая причина («физический» механизм) — усиление локального, индуцированного световой волной электрического поля на металлической поверхности за счет коллективного возбуждения электронов проводимости (возбуждение поверхностных плазмонов). Такое поле стимулирует сильную нелинейную поляризуемость молекулы, находящейся в окрестности плазмонного возбуждения, и резко увеличивает вероятность фотон-колебательного перехода.

Вторая причина («химический» механизм) — специфическое взаимодействие молекулы с металлической поверхностью. В отличие от плазмонного взаимодействия, которое является чисто физическим, это взаимодействие часто называют «химическим». Считается, что «химическое» взаимодействие включает обмен электронами между адсорбированной молекулой и поверхностными атомами металла с образованием состояний типа комплекса с переносом заряда. В пользу электронного обмена свидетельствуют прямые наблюдения: например, линии КР молекул пиридина и бипиридина, адсорбированных на кластерах серебра, сдвинуты в область высоких частот и приближаются к частотам катионов пиридиния.⁷¹ Таким образом, перенос заряда в системе поверхность–адсорбированная молекула является ключевым элементом «химического» механизма стимулирования КР. Обратимо генерируемые и гибнущие короткоживущие состояния характеризуются высокой поляризуемостью, которая сопровождается резким увеличением вероятности рамановских колебательных переходов в адсорбированной молекуле.

Оба механизма сосуществуют, но относительный вклад каждого из них зависит от конкретных химических систем. Следует отметить, что доминирующий вклад принадлежит «физическому» механизму. Возбуждение плазмонов и плазмонных резонансов происходит в масштабе длины волны возбуждающего света; можно сказать, что это крупномасштабный процесс. В отличие от него «химический» механизм действует локально в масштабе молекулы; он характеризует

локальное электронное взаимодействие молекулы с поверхностью.

О вкладе «химического» механизма в усиление поверхностно-индуцированного КР свидетельствуют данные работы⁷³. На примере родамина 6G, иммобилизованного на кластерах коллоидного серебра, авторы не только обнаружили вклад «химического» механизма в КР, но и разделили вклады от «физического» и «химического» механизмов. Раствор, содержащий частицы коллоидного серебра, помещали в камеру, через которую пропускали раствор, содержащий родамин 6G (чтобы стабилизировать равновесие его адсорбции–десорбции на кластерах) и различные анионы: F[–], Cl[–], Br[–], I[–], S₂O₃^{2–}, SO₄^{2–} и др. Измерение интенсивности КР показало, что цитрат-анионы, ионы F[–] и SO₄^{2–} не влияют на интенсивность линий КР, ионы Cl[–], Br[–] и I[–] усиливают КР, а тиосульфат-анионы на 2–3 порядка снижают рассеяние. При этом оказалось, что плазмонный спектр кластеров Ag не зависит от их обработки анионами. Эти результаты однозначно свидетельствуют, что оба механизма — «физический» и «химический» — существуют практически независимо друг от друга: первый — универсальный, второй зависит от химической предыстории кластеров и их поверхностной химии.

Родамин 6G — первая молекула, для которой был «снят» колебательный спектр в условиях, когда каждая индивидуальная молекула располагалась на отдельном нанокластере серебра.⁷⁴

На кластерах серебра были получены также спектры одиночных молекул аденина и аденозинмонофосфата.⁷⁵ Из сравнения интенсивностей стоксовых и антистоксовых линий для этих молекул было вычислено поперечное сечение фотон-колебательного взаимодействия, которое оказалось равным $\sim 10^{-16}$ см² на молекулу (это огромная величина по сравнению со значением 10^{-30} см², характерным для нормального процесса КР), и показано, что сечение не зависит от размера кластера. Более того, спектры обеих молекул были тождественны, т.е. химическое связывание аденина с углеводом не влияет на рамановское возбуждение аденина.

Для красителя кристаллического фиолетового, адсорбированного на коллоидных кластерных частицах Ag и Au, коэффициенты усиления фотон-колебательного взаимодействия достигают рекордной величины — 10^{20} (см.⁷⁶).

Стоксовы линии возникают в результате прямого взаимодействия светового поля с молекулярными колебаниями, поэтому они являются одноквантовыми. Их интенсивность пропорциональна интенсивности возбуждающего света. Антистоксовы линии являются результатом двухквантового процесса: один квант возбуждает молекулярное колебание, а второй индуцирует его стимулированное излучение, т.е. «забирает» этот колебательный квант у молекулы. Интенсивность антистоксовых линий пропорциональна квадрату интенсивности возбуждающего света. Такая зависимость позволяет количественно охарактеризовать процесс рамановского неупругого взаимодействия света с молекулярными колебаниями.

Наиболее интересные и плодотворные исследования КР одиночных молекул были выполнены шведскими учеными на биологически важных молекулах — на гемоглобине⁷⁷ и пероксидазе хрена (см.⁷⁸). Так, путем сравнения структуры коллоидных частиц Ag с закрепленными на них молекулами гемоглобина, определенной методами сканирующей туннельной спектроскопии и атомно-силовой микроскопии, с интенсивностями линий КР молекул гемоглобина установлено, что наиболее активно рассеивают свет молекулы гемоглобина, заключенные между парами или тройками кластеров Ag. Именно эти молекулы дают главный вклад в интенсивности и стоксовых, и антистоксовых линий, причем самыми активными оказались молекулы гемоглобина, за-

крепленные на димерных кластерах, ось которых параллельна вектору электрического поля возбуждающего света. Это обстоятельство позволило авторам работы⁷⁷ сделать вывод (подтвержденный также теоретическими оценками), что главный вклад в усиление КР на гемоглобине вносит электрополевой плазмонный («физический») механизм, но не исключается вклад и «химического» механизма.

Другой изученной этим методом биомолекулой является пероксидаза хрена, иммобилизованная на коллоидном серебре (кластеры размером 90 нм).⁷⁸ В этом случае белковая макромолекула оказывается «плененной» кластерами, что усиливает плазмонный механизм и увеличивает интенсивность КР. Рост интенсивности настолько значителен, что авторам работы⁷⁸ удалось получить спектр КР от одной-единственной молекулы пероксидазы. Измерение ферментативной активности пероксидазы показало, что иммобилизованные молекулы пероксидазы менее активны. Однако, если предварительно обработать кластеры серебра пероксидом водорода, то активность иммобилизованного фермента сохраняется на уровне исходного (не иммобилизованного), но интенсивность КР при этом снижается.

Такое поведение биомолекул, в частности ферментов, можно использовать как индикатор их функционирования на уровне одиночных молекул. Иногда бывает необходимо сохранить и «нативную» активность фермента, и его высокую детектируемость с помощью спектроскопии КР; тогда используют специальные приемы (см., например, решение этой проблемы авторами работы⁷⁸).

Отметим одно важное обстоятельство. К настоящему времени известен единственный пример, когда в спектрах КР действительно была зафиксирована одна молекула — пероксидаза.⁷⁸ В большинстве случаев детектируются спектры ансамбля одиночных молекул, т.е. ансамбля изолированных, не взаимодействующих между собой молекул, разнесенных на разные кластеры. Однако это обстоятельство никак не обесценивает химическую информацию и достоинства поверхностно-активированной спектроскопии КР.

Как и флуоресценция одиночных молекул (см. раздел II), комбинационное рассеяние («мерцание») одиночных молекул на поверхности металлокластеров случайным образом зависит от времени: спектры изменяются во времени и по интенсивностям, и по частотам. Это явление характерно для всех исследованных молекул, включая биомолекулы. Случайная динамика флуктуаций однозначно свидетельствует о том, что причиной «мерцаний» является локальное взаимодействие поверхности — молекула. Образование и распад состояний с переносом заряда сопровождается перемещением молекулы по поверхности. Такая миграция изменяет как интенсивности, так и частоты линий в спектре КР анализируемой молекулы.

Флуктуации имеют нетепловую природу, они инициируются возбуждающим светом, который генерирует КР. Были получены прямые экспериментальные доказательства этого утверждения.⁷⁹ Для ансамбля молекул (от 30 до 50 молекул) были измерены частоты (ν) и интенсивности (I_ν) линий спектров КР и рассчитаны корреляционные функции флуктуации

$$c(\tau) = \sum_{\nu} (\langle I_{\nu}(t) I_{\nu}(t + \tau) \rangle - \langle I_{\nu}(t) \rangle^2)$$

(угловые скобки означают усреднение по τ).

Из зависимости $c(\tau)$ получены скорости флуктуаций k . Эти измерения были выполнены для разных интенсивностей света, возбуждающего спектр КР. Показано, что скорость флуктуаций линейно растет с ростом мощности возбуждающего света. При этом тепловой разогрев был ничтожен и не превышал 0.1 К,⁷⁹ т.е. спектральные флуктуации имеют нетепловую природу. Это замечательное свойство позволяет

использовать одиночные молекулы в качестве локального динамического зонда поверхности.

VI. Электропроводность одиночных молекул

Особый интерес к электропроводности одиночных молекул обусловлен двумя обстоятельствами. Во-первых, в химии (и особенно в биохимии) имеется много неопределенностей в установлении зарядовой проводимости молекул. Например, в зависимости от техники, используемой при определении зарядовой проводимости, молекулу ДНК относили либо к изоляторам, либо к полупроводникам, либо к металлическим проводникам и даже сверхпроводникам.⁸⁰ Во-вторых, молекула как объект молекулярной электроники и как элемент нанoeлектронных устройств (молекулярных сопротивлений, диодов, одноэлектронных транзисторов) нуждается в точных электрофизических характеристиках.

Для измерения электропроводности единичных молекул используют две технологии. Первая основана на сочетании атомно-силовой и туннельной спектроскопии: с помощью одной из них «находят» одиночную молекулу, а с помощью другой — подводят к ней электрический ток и измеряют его. В основе второй технологии лежит прямой электрохимический синтез молекулы (между двумя электродами) и измерение ее электрического сопротивления.

Одно из первых измерений электропроводности одиночной молекулы C_{60} , помещенной между двумя электродами, одним из которых является поверхность кристалла Ag(110), а другим — игла туннельного микроскопа, было выполнено в 1995 г.⁸¹ При больших значениях расстояний (S) от поверхности молекулы до туннельной иглы, стоящей над молекулой C_{60} , ток растет экспоненциально с уменьшением S . При установлении ван-дер-ваальсова механического контакта иглы с молекулой C_{60} ток достигает максимального значения, при этом полное электрическое сопротивление (R_{ef}) составляет 54.807 МОм.

Подставляя это значение R_{ef} в выражение

$$V = R_{ef}I = R_0 \left(1 + \frac{r}{t} \right) I$$

(R_0 — электрическое сопротивление молекулы C_{60} , r и t — коэффициенты отражения и пропускания на уровне Ферми[†]) — закон Ома для молекулярного электрического контакта, — авторы рассчитали электрическое сопротивление (R_0) молекулы C_{60} , которое оказалось равным 54.794 МОм.

После того как расстояние от поверхности молекулы C_{60} до иглы становится меньше ван-дер-ваальсова механического контакта, экспоненциальный характер зависимости $I(S)$ нарушается из-за деформаций молекулы C_{60} под действием иглы.

Электропроводность молекул сильно зависит от их сжатия. Так, сжатие молекулы C_{60} на 1 Å изменяет силу тока, проходящего через молекулу, на два порядка.⁴² Для молекулы C_{60} , нанесенной на диэлектрик, при 4.2 К наблюдалась кулоновская блокада. Способность молекулы C_{60} «запирать» ток может быть использована при создании одноэлектронных устройств, в которых молекула является идеальной квантовой точкой.⁴²

Главная проблема в измерении электропроводности одиночных молекул — создание надежного и контролируемого электрического контакта одной молекулы с двумя электро-

[†] t — коэффициент пропускания, отвечающий упругому прохождению электронной блоховской волны через молекулу C_{60} от одного электрода к другому, r — коэффициент отражения этой волны от молекулы.⁸¹

дами. Удобными объектами исследования являются молекулы, содержащие реакционноспособные группы SH (например, алкандитиолы), с помощью которых молекулы закрепляются как проволока между электродами.

Для измерения электропроводности углеводородных цепочек $(\text{CH}_2)_n$ была разработана элегантная и надежная экспериментальная техника.⁸⁰ На поверхность кристалла Au(111) из раствора наносили монослой алкандитиола, в который были «вмонтированы» отдельные молекулы соответствующего алкандитиола. Все молекулы монослоя имели электрический контакт с поверхностью Au за счет образования ковалентной связи S—Au. На верхней границе монослоя располагались метильные концевые группы молекул алкандитиола, а в местах нахождения примесных молекул алкандитиола — группы SH (эти группы могут быть одиночными или образовывать «островки» из двух, трех или четырех групп SH).

На монослой из молекул алкандитиола из раствора наносили кластеры золота, стабилизированные трифенилфосфин. Известно, что PPh_3 -лиганды легко обмениваются на группы SH, так что места нахождения молекул алкандитиола оказывались «помеченными» кластерами золота. Таким образом, кластеры Au через мостики $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}-$ подключались к электрическим контактам на поверхности Au(111). Игла атомно-силового микроскопа «находила» на поверхности кластер Au, к которому по цепочке $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}-$ подавалось напряжение. Измерив туннельный ток между иглой и поверхностью Au, определяли электрическое сопротивление единичных молекулярных цепочек $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}-$ (рис. 21), которое оказалось равным $0.97 \cdot 10^9$ для $n = 8$, $2.89 \cdot 10^9$ для $n = 9$ и $8.26 \cdot 10^9$ Ом для $n = 10$. Отсюда следует, что зависимость R от n имеет экспоненциальный характер: $R \approx \exp(\beta n)$, где $\beta = 0.6$.⁸⁰

Зависимости $I(V)$ в области малых напряжений (50 мВ) оказались линейными и симметричными относительно знака V . Тангенс угла наклона прямой $I-V$ к оси абсцисс (ось I) соответствует омическому сопротивлению. Оказалось, что все значения R можно разбить на четыре группы, для которых выполняется соотношение $1.00 : 0.50 : 0.33 : 0.25$. Эти значения соответствуют четырем случаям прохождения тока, а именно, через одну молекулу и через кластеры, состоящие из двух, трех и четырех молекул соответственно. В кластерах омическое сопротивление составляется из омических сопротивлений каждой молекулы, как в электрической цепи, состоящей из параллельных сопротивлений. Каждая молекула является независимым проводником, т.е. ее сопротивление не зависит от присутствия соседей в кластере. Это замечательный результат, свидетельствующий о надежности экспериментальной техники, использованной в работе.⁸⁰

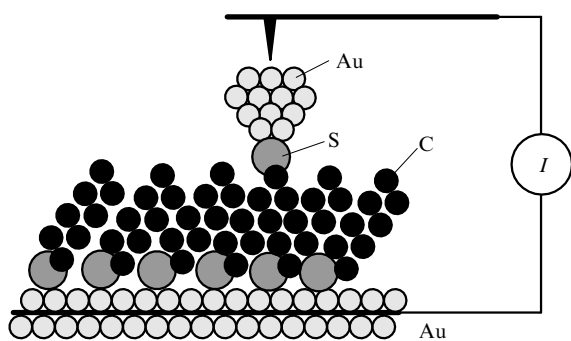


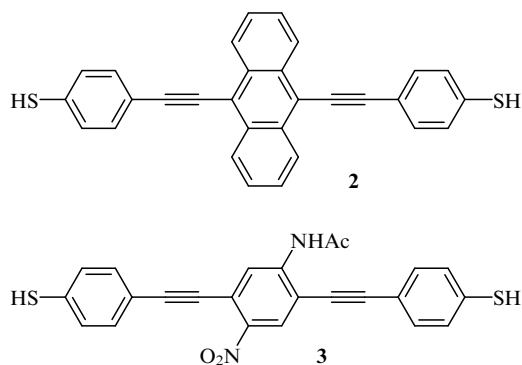
Рис. 21. Схема присоединения электрических контактов (поверхность Au внизу и кластер Au сверху) к одной молекуле алкандитиола, включенной в монослой алкандитиола.⁸⁰

Отметим, что электрическое сопротивление в цепочке атомов $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}-$ ($R \approx 10^9$ Ом) на два порядка больше, чем сопротивление в кластере C_{60} ($5 \cdot 10^7$ Ом). Отсюда можно сделать вывод, что проводимость молекул определяется главным образом молекулярными орбиталями, их энергиями и заполнениями. Теоретические расчеты⁸² проводимости (G) молекулярных проволок согласуются с этим заключением. Авторы изучали зависимость туннельного тока в канале (проволке) от длины и химической структуры молекулярных проволок, в качестве которых были взяты олиго(тиофен-2,5-диалкиндили), олиго(фениленалкиндили), полиены и др. Проводимость в канале металл–проволочка–металл вычисляли по формуле

$$G = G_0 \exp(-\gamma L),$$

где γ — коэффициент затухания, L — длина молекулярной проволоки. Величины G_0 и γ зависят от химической структуры молекулярной проволоки.

В качестве другого примера можно привести измерение электропроводности одиночных молекул 9,10-бис(*n*-меркаптофенилэтинил)антрацена (**2**) и родственного ему несимметрично замещенного бензола **3**.



Для «укладки» молекул **2** и **3** между электродами из атомов Au была литографически изготовлена электродная пара с одним подвижным электродом. Расстояние между электродами «настраивалось» механически на длину молекулы, укладываемой между электродами. Группы SH в молекулах **2** и **3** модифицировали ацетатными группами, которые при встраивании этих молекул между электродами замещались на атомы Au.⁸³

Зависимости $I(V)$ в таких молекулярных проводниках были симметричны относительно знака V . При приложении напряжения в 1 В к металлическим поверхностям в цепи возникали туннельные токи порядка 0.2–1.0 мкА, которые оставались стабильными в течение длительного времени (до 100 мин). Электрическое сопротивление таких молекулярных «провонок» составляло ~ 2 МОм (почти в 20 раз меньше, чем у C_{60} , и на три порядка меньше, чем у алифатической цепочки $-\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{S}-$). Ясно, что молекулы **2** и **3** с системой сильно сопряженных связей являются лучшими проводниками, чем молекулы C_{60} и $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{SH}$; еще лучшими проводниками являются углеродные нанотрубки (их сопротивление составляет ~ 100 кОм).

Бесспорно, что технологии создания молекулярных нанопроволок и наноустройств на их основе будут совершенствоваться и это один из путей в нанoeлектронике.

VII. Механика и механохимия одиночных молекул

В атомно-силовой микроскопии измеряют силу притяжения между иглой микроскопа и поверхностью молекулы как функцию расстояния между ними, в отличие от туннельной

сканирующей микроскопии, в которой измеряют ток между иглой и поверхностью молекулы. В классическом варианте атомно-силовая микроскопия является бесконтактной: игла скользит вдоль поверхности, не касаясь ее. Атомно-силовая микроскопия способна также визуализировать одноатомные вакансии на поверхности полупроводников и диэлектриков, а также адсорбированные молекулы. С ее помощью можно делать некоторые приближенные заключения о размерах и форме молекул, их плотности и расположении на поверхности. Однако надо признать, что из-за низкого пространственного разрешения данный метод дает больше информации о поверхности, чем о молекулах, адсорбированных на ней.

Ситуация принципиально изменится, если атомно-силовую микроскопию сделать контактной, т.е. закрепить один конец молекулы на игле, а другой — на поверхности. Тогда, отодвигая иглу от поверхности и растягивая молекулу, можно измерять силу как функцию растяжения молекулы, т.е. исследовать механику единичной молекулы. В этом случае атомно-силовая микроскопия становится силовой спектроскопией.

На рис. 22 показана схема эксперимента по измерению растяжения (x) молекулы и приведена зависимость силы (F) от растяжения. Функция $F(x)$, как правило, не является линейной (гукской). На кривой $F(x)$ есть небольшие локальные пики — подъемы и спады, — которые свидетельствуют об изменении конформации макромолекулы при ее растяжении. Свернутые конформации под действием растяжения заменяются вытянутыми. Наконец, при некотором критическом удлинении полностью вытянутая молекула рвется; сила разрыва есть прочность химической связи.

Силовая спектроскопия достигла высокой чувствительности по силе, высокого разрешения по деформации и работает в широком диапазоне деформаций и сил: $0.01 - 100 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$ и $10^{-13} - 10^{-8} \text{ Н}$.

Главным процессом в наномеханической технологии является «подцепление» иглой микроскопа одиночной молекулы из раствора, геля или твердого тела и ее «вытягивание». В ходе вытягивания измеряют силу и деформацию молекулы. Данная технология сочетает науку и искусство: обычно иглу погружают в нанесенный на подложку раствор (или пленку), используя силу в несколько наноньютонов, держат ее в таком состоянии некоторое время, а затем поднимают, вытягивая молекулу. Изменяя функциональные группы на концах молекулы, материал иглы и подложки, с которой снимаются молекулы; варьируя их концентрацию, усилие и время контакта иглы кантилевера с резервуаром молекул, методом проб и ошибок достигают заданной цели — «вылавливают» нужную молекулу и анализируют ее механику (или механохимию).

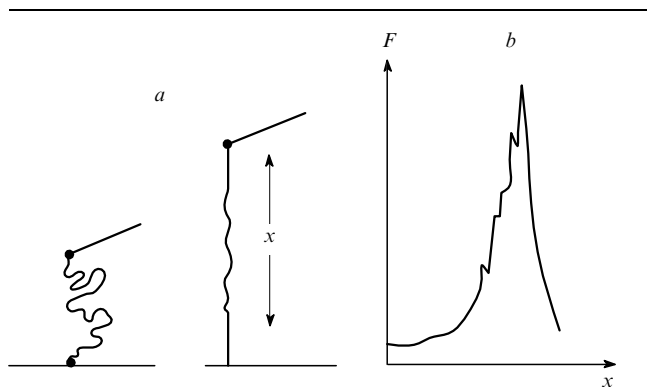


Рис. 22. Схема эксперимента с растяжением одиночной молекулы в атомно-силовой микроскопии (а) и полученная в результате этого эксперимента схематическая зависимость $F(x)$ (b).

С помощью новой технологии можно измерять силу связывания молекул и комплексов (например, нитей ДНК или антигена с антителом), силу разрыва химических связей, наблюдать конформации молекул, измерять их упругость, осуществлять перемещение атомов и молекул (тянуть или толкать их по поверхности).

1. Наномеханика макромолекул

Первые крупные успехи в области механики одиночных молекул были достигнуты при изучении природных и синтетических макромолекул. В экспериментах с одиночными молекулами полисахаридов на первом этапе осуществляли химическую модификацию концевых групп полисахаридов таким образом, чтобы одним концом их можно было закрепить на поверхности стекла (с помощью ковалентной связи Si—C) или золота (связь Au—S),⁸⁴ а другим концом «пришить» к кантилеверу. После этого вытягивали молекулу полисахарида, измеряя силу, затрачиваемую на ее деформацию. Полученная зависимость $F(x)$ для этих молекул была похожа на ту, что изображена на рис. 22; разрыв связи Si—C происходил при силе 2 нН, а связи Au—S — при 1.4 нН.

В работе⁸⁵ изучены наномеханические свойства поли-(N-изопропилакриламида) и поли(акриламида) в водных растворах. Для этих гибкоцепных макромолекул, сворачивающихся в статистический клубок, еще в 1942 г. Куном из модели свободно сочлененной цепи была выведена зависимость $x(F)$, которая описывается функцией Ланжевена

$$x(F) = \left[\text{cth} \left(\frac{Fl}{kT} \right) - \frac{kT}{Fl} \right] L, \quad (1)$$

где l — длина статистически независимого куновского сегмента, L — контурная длина макромолекулы (расстояние между концами предельно вытянутой молекулы). В рамках данной модели куновские сегменты считаются неупругими и нерастяжимыми. Прямые измерения $x(F)$ для одиночных макромолекул показали, что функция $x(F)$ описывается с помощью этой модели только при очень малых силах F (~ 10 пН), когда упругость макромолекулы имеет чисто энтропийную природу (химические связи и углы ненапряжены), а удлинение молекулы обеспечивается только разворачиванием свернутых конформаций.

Однако при $F > 10$ пН эта модель не соответствует экспериментальной зависимости $F(x)$. Если считать, что куновский сегмент является упругим и растягивающимся, то зависимость $x(F)$ нужно описывать обобщенным уравнением Ланжевена

$$x(F) = \left[\text{cth} \left(\frac{Fl}{kT} \right) - \frac{kT}{Fl} \right] \left(L + \frac{nF}{k} \right), \quad (2)$$

где n — число куновских сегментов ($n = L/l$), k — модуль упругости куновского сегмента. Экспериментальные данные, полученные для поли(акриламида) и поли(N-изопропилакриламида), хорошо описываются этой функцией вплоть до значений $F = 1000$ пН.⁸⁵

Макромолекула	l , нм	L , нм	k , $\text{Н} \cdot \text{м}^{-1}$
Поли(N-изопропилакриламид)	0.68	460	26
Поли(акриламид)	0.625		20

Если представить куновский сегмент как упругую конструкцию, то величина $k = 26 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-1}$ (или $26\,000 \text{ дин} \cdot \text{см}^{-1}$) свидетельствует об очень большой прочности.

Отметим, что обобщенное уравнение Ланжевена (2) хорошо описывает упругость макромолекул в условиях,

когда разрушены внутримолекулярные водородные связи с участием боковых групп (например, в присутствии мочевины). Однако в деионизированной воде, когда имеются внутримолекулярные связи в клубке, функция $\chi(F)$ уже не является ланжевенской, что свидетельствует о внутримолекулярной ассоциации.

Новая атомно-силовая техника лавиной вторглась в молекулярную биологию.⁸⁶ Из большого числа работ ниже рассмотрены лишь те, которые относятся к биохимии и биофизике. На рис. 23 представлены зависимости $F(x)$ для одиночных молекул полисахаридов декстрана (а), амилозы (b) и пуллулана (с).⁸⁷ Эти зависимости описываются ланжевенским уравнением (2) лишь при малых силах и деформациях.

Для декстрана уравнение (2) выполняется при $l = 0.44$ нм (размер мономерного звена) и $k = 14.6$ Н·м⁻¹. При больших деформациях в упругости молекулы декстрана появляется

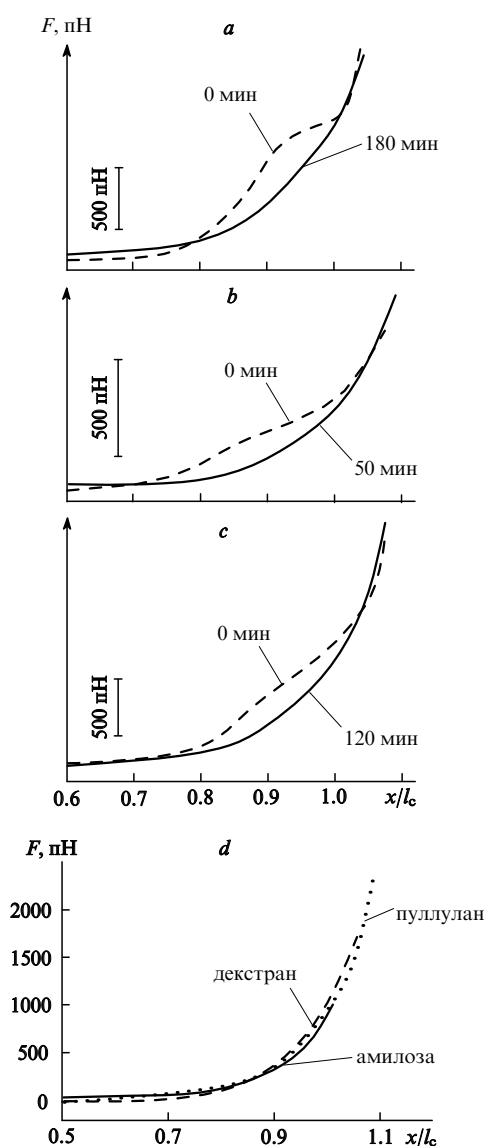


Рис. 23. Зависимости силы (F) от растяжения (x), отнесенного к длине химической связи (l_c), для декстрана ((1→6)- α -D-глюкана, а), амилозы ((1→4)- α -D-глюкана, b) и пуллулана ((1→4,1→6)- α -D-глюкана, c) до (штриховые линии) и после (сплошные линии) периодатного окисления (5 mM раствор NaIO_4); d — зависимость $F(x)$ для тех же полисахаридов с разрушенными в результате периодатного окисления пиранозными кольцами.⁸⁷

энтальпийная составляющая (плато на штриховых кривых): происходит переход пиранозных колец из конформации кресла в конформацию ванны. Модифицированная полимерная цепь снова описывается ланжевенским уравнением с параметрами $l = 0.2$ нм и $k = 34.2$ Н·м⁻¹, т.е. куновский сегмент становится более упругим. В этом новом состоянии энтальпийная составляющая упругости исчезает, а энтропийная остается. Этот же результат можно получить, если разрушить пиранозные кольца периодатным окислением: для декстрана это достигается за 180 мин, для амилозы — за 50 мин, для пуллулана — за 120 мин (см. рис. 23, a–c).

Аналогично ведут себя амилоза и пуллулан. В образовавшихся после разрыва пиранозных колец полимерных цепях остается лишь энтропийная упругость (см. рис. 23, d).

Зависимость $F(x)$, полученная при вытягивании молекулы белка титина, ответственного за пассивную упругость мышц, приведена на рис. 24. Из рисунка видно, что данная зависимость имеет периодический характер (кривая похожа на зубья пилы). Период повторения «зубьев» составляет ~ 25 нм, а возвращающая сила на каждом «зубе» равна 0.15 – 0.30 нН.⁸⁸ Периодичность находится в хорошем соответствии с разворачиванием иммуноглобулиновых доменов титина. Чтобы проверить эту идею, были испытаны фрагменты I8 и I4, содержащие соответственно 8 и 4 иммуноглобулиновых домена. На полученных кривых $F(x)$ имелось восемь и четыре «зуба» соответственно, что находится в полном согласии с ожидаемым результатом.⁸⁸ Подобные зависимости характерны и для другого белка — тенасцина — компонента внеклеточного матрикса.⁸⁹

Серьезным недостатком атомно-силовой спектроскопии одиночных молекул является неоднозначность экспериментально измеряемой функции $F(x)$, что связано с трудностью, а иногда и невозможностью определить, какие молекуляр-

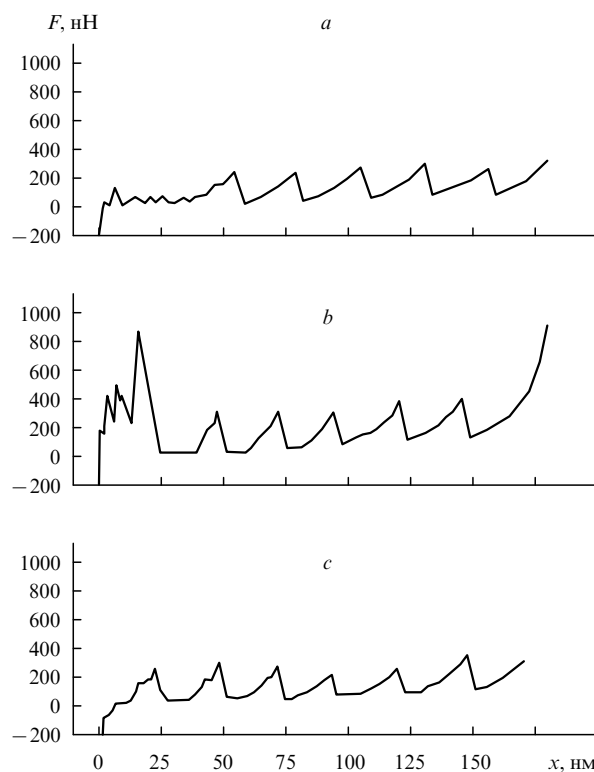


Рис. 24. Сила как функция растяжения одиночных молекул титина с различными иммуноглобулиновыми доменами. Домены 127–134 (a), 128_n (b), 127_n (c).⁸⁸

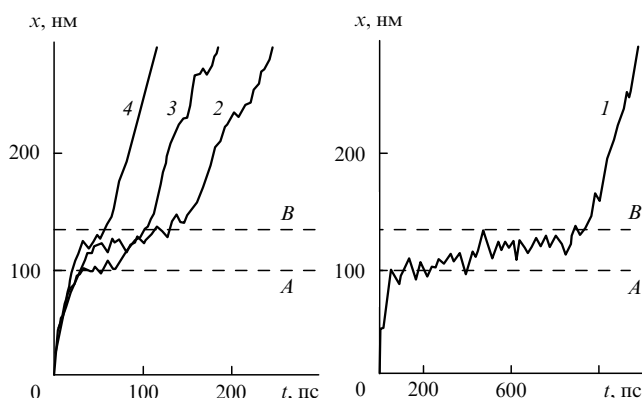


Рис. 25. Динамические (временные) растяжения домена 127 титина при постоянной силе: $F = 500$ (1), 750 (2), 900 (3), 1000 пН (4). Состояние *A* отвечает молекуле с водородными связями, а состояние *B* — молекуле, в которой эти связи разорваны.⁹⁰

ные процессы и атомные перестройки «спрятаны» в ней. Поэтому часто эксперимент сопровождают расчетами молекулярной динамики. Пример такого расчета показан на рис. 25. Авторы получили динамические кривые растяжения как функции времени для одного домена титина, а именно, для иммуноглобулина 127, когда к нему приложена постоянная сила (приведены четыре кривые для $F = 500$ (кривая 1), 750 (2), 900 (3) и 1000 пН (4)). Во всех случаях после первого удлинения до $10\text{--}12\text{ \AA}$ происходила стабилизация структуры (молекула не деформировалась в течение определенного времени τ , которое тем больше, чем меньше приложенная сила). Однако по истечении времени τ происходила дальнейшая быстрая деформация домена за счет распутывания белковых цепей.⁹⁰

Стабильное состояние заключено между двумя состояниями *A* и *B*. В молекуле, находящейся в состоянии *A*, все водородные связи функционируют и «держат» структуру цепей; в молекуле, находящейся в состоянии *B*, разорваны шесть водородных связей. Между состояниями *A* и *B* в молекуле происходит своеобразное «пластическое течение»; в это время молекула, сопротивляясь деформации, жертвует шестью водородными связями. Эти результаты хорошо согласуются с экспериментом и дают более ясное понимание процесса молекулярного разворачивания молекулы (в том числе и работающей мышцы), стимулированного механической деформацией.⁹⁰

Большое внимание привлекает исследование невалентных взаимодействий в системах «гость–хозяин», лиганд–рецептор и др. Для сложного многоточечного контакта биотин–авидин измерена даже температурная зависимость $F(x)$. Из анализа пуассоновского распределения разрывов по их силе найдена средняя прочность одного контакта, которая оказалась равной 0.26 нН, и температурная зависимость прочности: при увеличении температуры на 1 К прочность уменьшается на 12.6 пН.⁹¹

На примере комплекса человеческого сывороточного альбумина с поликлональным антителом (1 : 1) оценена сила взаимодействия антиген–антитело, которая оказалась равной 0.244 нН.⁹² Взаимодействие ферритина с антиферритином происходит со слабой силой адгезии $\sim 0.05\text{ нН}$.⁹³ Измерена также адгезия протеогликанов, которые обеспечивают узнавание и агрегацию клеток.⁹⁴

2. Оптический пинцет и биомеханика

Недавно появилась новая механо-оптическая технология для измерения деформации молекул. Главным рабочим инст-

рументом в ней является оптическая ловушка (или оптический пинцет). Оптическая ловушка представляет собой бусинки из полистирола или кварца размером порядка 1 мкм. При освещении сфокусированным лазерным излучением бусинка втягивается в фокус с силой, зависящей от интенсивности света. Такая ловушка, присоединенная к концу молекулы, вытягивает и деформирует последнюю; фактически оптическая ловушка выполняет роль кантилевера в атомно-силовом микроскопе.

Эта техника уже широко используется для исследования структуры молекулярных моторов и их функционирования.⁹⁵ АТФаза, кинезин, миозин, иммуноглобулиновые белки — вот далеко не полный список биомолекул, исследованных с помощью данного метода.^{96,97} Впечатляющий пример — изучение работы РНК-полимеразы (этот фермент производит транскрипцию РНК).⁹⁶ Авторы закрепили молекулу РНК-полимеразы на стекле и «дали» ей один конец двойной спирали ДНК, на другой конец ДНК они «посадили» оптическую ловушку. Известно, что РНК-полимераза втягивает и пропускает через себя двойную спираль ДНК, одновременно генерируя нить РНК. Действуя лазером на оптическую ловушку, авторы «уравновесили» силу втягивания ДНК ферментом с одного края и силу удерживания ДНК оптической ловушкой на другом конце ДНК. После установления такого силового равновесия фермент перестает работать. Равновесие достигается при силе 25 пН — именно с такой силой РНК-полимераза протаскивает через себя двойную спираль ДНК. Считается, что РНК-полимераза — самый мощный молекулярный мотор из всех известных: он сильнее кинезина в 5–6 раз. Предполагается, что основная энергия этого мотора расходуется на расплетание нитей ДНК.

Другой молекулярный (протеиновый) мотор — λ -экзонуклеаза — является составной частью бактериального вируса. В отличие от РНК-полимеразы, которая «питается» от АТФ, λ -экзонуклеаза работает на энергии ДНК: пропуская двухнитевую спираль ДНК через себя, она «съедает» одну из нитей. Как мотор она слабее РНК-полимеразы и развивает усилие лишь в 5 пН.⁹⁸

Предпринята попытка применить механо-оптическую технологию для исследования топоизомеразы — замечательного фермента, который развязывает узлы на ДНК, когда последняя распаковывается в ядре при делении клетки. Если понять, как работает этот фермент и блокировать его работу, то можно остановить деление раковых клеток.

3. Наномеханика на поверхности

Управляемое перемещение и ориентация молекул на поверхности — основной путь к объединению молекул в заданные ансамбли, к созданию электрических контактов, электрических цепей и интегральных наносхем. Технологии манипулирования единичными молекулами на поверхности опираются на атомно-силовую микроскопию и на туннельную электронную спектроскопию.

Силовая микроскопия уже значительно продвинулась в манипулировании нанотрубами на поверхности: игла микроскопа используется не только для перемещения нанотруб и конструирования из них разнообразных фигур и ансамблей, но и для измерения сил сцепления нанотруб между собой и с поверхностью.⁹⁹ Разные варианты этой технологии обсуждены в обзоре¹. Еще большие возможности в манипулировании нанообъектами предоставляет туннельная спектроскопия. Здесь усилие иглы на перемещаемую молекулу регулируется одновременно и чистой механикой, и электрическим потенциалом иглы. Покажем на двух ярких примерах, как работают «наномеханические» технологии.

На грани (100) монокристалла кремния пары атомов Si₂ выстраиваются рядами, между которыми создается желоб, куда «сажаются» молекулы C₆₀, нанесенные на поверхность.⁴⁶

В туннельном токе изображения молекул C_{60} видны как яркие куполы диаметром около 2.5 нм и высотой около 0.65 нм. Потенциал иглы туннельного микроскопа, туннельный ток и высота иглы над поверхностью кристалла связаны между собой таким образом, что потенциал и ток фиксируются и поддерживаются постоянными, а переменной величиной является расстояние S между иглой и поверхностью.

Игла, двигаясь вдоль желоба, «натывается» на молекулу C_{60} , приподнимается и обходит молекулу сверху (этот процесс описывается кривой 1 на рис. 26,а). Однако на склоне молекулы C_{60} последняя прыгает вслед за иглой и поднимает ее снова (этот момент указан стрелкой). Эти события повторяются несколько раз, т.е. молекула C_{60} «прыгает» вслед за удаляющейся иглой. Каждый прыжок совершается на дискретное расстояние, а именно, на две постоянных решетки кремния. Молекула C_{60} может вести себя иначе: при приближении иглы к молекуле она может прыгнуть ей навстречу, при этом произойдет резкий подъем иглы (такое поведение молекулы C_{60} описывается кривой 2 на рис. 26,а). В обоих случаях молекула и игла взаимодействуют в режиме притяжения: молекула движется навстречу игле или вслед за ней.

Изменяя потенциал иглы, можно реализовать также режим отталкивания, когда движущаяся игла толкает впереди себя молекулу. Этот режим наглядно представлен на рис. 26,б. Здесь игла, встречая молекулу в момент, указанный первой стрелкой, отталкивает ее, и она отскакивает на 70–80 нм (этот момент показан второй стрелкой). Далее события повторяются. Фактически игла «катит» молекулу C_{60} по желобу; при этом каждое перемещение молекулы сопровождается разрывом ее химической связи с атомами кремния и образованием новой связи в новом положении. Основанием для такого заключения служит смещение молекулы на одно и то же расстояние — две постоянных решетки.

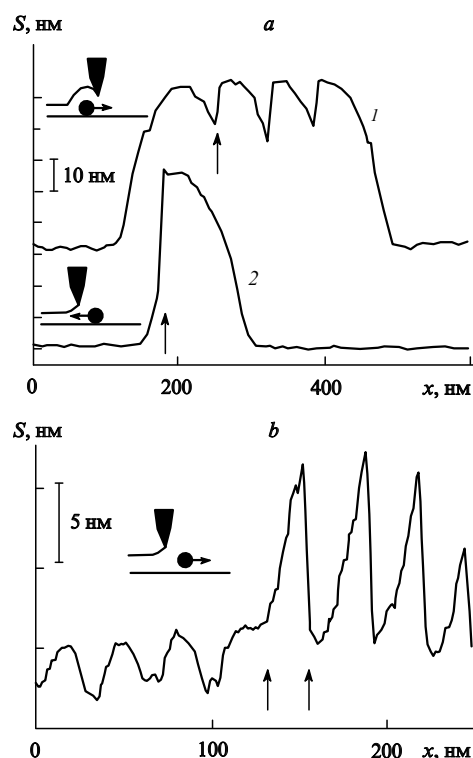


Рис. 26. Вертикальное смещение (S) иглы как функция горизонтального смещения x (а) и горизонтального смещения в режиме толкания (б).⁴⁶

Можно наблюдать и другие смещения, но их вероятность гораздо меньше.⁴⁶

Другой пример — конструирование металлических одноатомных проволок из атомов Au и Pd на поверхности NiAl(110).¹⁰⁰ Приподнятые над поверхностью (110) атомы Al образуют параллельные ряды вдоль направления [001]; эти ряды альтернируют с рядами из углубленных атомов Ni, образующих желоба в том же направлении [001]. На поверхность напыляют атомы Au и Pd, а затем иглой туннельного микроскопа эти атомы «сгоняют» в никелевые желоба. Перемещение атомов Au и Pd начинается при расстояниях между атомом и иглой, отвечающих сопротивлениям 150 и 50 кОм соответственно. Это означает, что атомы Pd более прочно связаны с поверхностью, чем атомы Au; их перемещение происходит при более тесном контакте с иглой (меньшему расстоянию между иглой и атомом соответствует меньшее сопротивление).

Этим способом удалось получить одноатомные нанопроволоки Au и Pd, а также смешанные проволоки с чередующимися атомами Au и Pd и исследовать их электронные свойства (энергетические уровни и плотности электронных состояний, «стоячие» волны электронной плотности в атомных цепочках).¹⁰⁰ Данная работа открывает огромные перспективы в понимании электронных взаимодействий и свойств сплавов металлов через электронные свойства «одномерных» сплавов — металлических нанопроволок.

VIII. Заключение

К началу XXI века химия достигла предела пространственного разрешения. Исследователи научились детектировать, пространственно фиксировать и распознавать одиночную молекулу, измерять почти все ее свойства, изучать химические превращения и функционирование одиночных молекул. В результате появилась новая область химии — химия одиночных молекул.

Что же дает эта новая область для химии и смежных с ней наук, каких находок можно ожидать от дальнейшего развития этого направления?

В общехимическом смысле вряд ли следует ожидать каких-либо неожиданностей от изучения одиночных молекул или появления принципиально новой информации, отличающейся от информации, полученной при изучении больших ансамблей молекул.[‡] Тем не менее нельзя не отметить абсолютно новую информацию, которую дают измерение электропроводности одиночных молекул (для теории движения электронов по молекуле) и анализ энергетических потоков в молекуле и на поверхности (электронно-колебательная накачка и релаксация энергии по колебательным осцилляторам).

Вряд ли можно ожидать необычных результатов и от изучения функционирования одиночных молекул. Как показывает уже известный опыт, молекулы являются эргодичными системами, в которых усреднение по времени функционирования одной молекулы эквивалентно мгновенному усреднению по ансамблю; отклонения от эргодичности обусловлены, как правило, искусственными причинами (см. раздел II.5).

Однако есть область химии, для которой изучение одиночных молекул имеет неоценимое значение — это ее «биологическое крыло». Люминесценция, механика и механохимия одиночных биомолекул (ферментов, белков, нуклеиновых кислот, молекулярных моторов, комплексов

[‡] Конечно, можно улучшить качество этой информации — разрешение, точность.

типа антиген–антитело и т.д.) открывают почти неограниченные перспективы в биохимии и биофизике.

Работа с одиночными молекулами стимулирует создание элементной базы для молекулярной электроники, нанооптики и наномеханики. Приобретается опыт в конструировании высокотехнологичных устройств — наноэлектронных схем, спиновых фильтров и транзисторов, молекулярных квантовых точек, наноконьютерных элементов, оптоэлектронных переключателей и т.д. Этот аспект химии и физики одиночных молекул безграничен. Уже обсуждается вопрос о создании и функционировании логических электронных схем на единичной молекуле.¹⁰¹

Автор признателен Министерству промышленности, науки и технологий за финансовую поддержку в рамках программы ведущих научных школ России (грант НШ-1221.2003.3), а также Российской академии наук и Российскому фонду фундаментальных исследований за финансирование в рамках федеральных программ и инициативных проектов.

Литература

1. А.Л.Бучаченко. *Успехи химии*, **72**, 419 (2003)
2. E.J.Sánchez, L.Novotny, G.R.Holtom, X.S.Xie. *J. Phys. Chem. A*, **101**, 7019 (1997)
3. H.P.Lu, L.Xun, X.S.Xie. *Science*, **282**, 1877 (1998)
4. E.Shera, N.Seitzinger, L.Davis, R.Keller, S.Soper. *Chem. Phys. Lett.*, **174**, 553 (1990)
5. W.P.Ambrose, P.M.Goodwin, J.H.Jett, A.Van Order, J.H.Werner, R.A.Keller. *Chem. Rev.*, **99**, 2929 (1999)
6. R.C.Dunn. *Chem. Rev.*, **99**, 2891 (1999)
7. P.Tamarat, A.Maali, B.Lounis, M.Orrit. *J. Phys. Chem. A*, **104**, 1 (2000)
8. W.E.Moerner. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 910 (2002)
9. N.Nilius, N.Ernst, H.-J.Freund. *Phys. Rev. B*, **61**, 12682 (2000)
10. W.P.Ambrose, W.E.Moerner. *Nature (London)*, **349**, 225 (1991)
11. T.Plakhotnik, E.A.Donley. *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 015504 (2001)
12. F.Jelezko, B.Lounis, M.Orrit. *J. Chem. Phys.*, **107**, 1692 (1997)
13. T.Iwamoto, A.Kurita, T.Kushida. *Chem. Phys. Lett.*, **284**, 147 (1998)
14. M.Orrit, J.Bernard, R.I.Personov. *J. Phys. Chem.*, **97**, 10256 (1993)
15. C.Brunel, P.Tamarat, B.Lounis, J.C.Woehl, M.Orrit. *J. Phys. Chem.*, **103**, 2429 (1999)
16. S.Kummer, R.Dickson, W.E.Moerner. *Proc. Soc. Photo-Opt. Instrum. Eng.*, **165**, 3273 (1998)
17. M.H.Bopp, A.J.Meixner, G.Tarrach, I.Zschokke-Gränacher, L.Novotny. *Chem. Phys. Lett.*, **263**, 721 (1996)
18. M.Lee, J.Kim, J.Tang, R.M.Hochstrasser. *Chem. Phys. Lett.*, **359**, 412 (2002)
19. H.Yokota, K.Saito, T.Yanagida. *Phys. Rev. Lett.*, **80**, 4606 (1998)
20. G.Schutz, H.Schindler, T.Schmidt. *Opt. Lett.*, **22**, 651 (1997)
21. I.Sase, H.Miyata, S.Ishiwata, K.Kinosita. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **94**, 5646 (1997)
22. T.Ha, J.Glass, Th.Enderle, D.S.Chemla, S.Weiss. *Phys. Rev. Lett.*, **80**, 2093 (1998)
23. M.A.Summers, M.R.Robinson, G.C.Bazan, S.K.Buratto. *Chem. Phys. Lett.*, **364**, 542 (2002)
24. L.A.Deschenes, D.A.Vanden Bout. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 11438 (2002)
25. L.A.Deschenes, D.A.Vanden Bout. *Chem. Phys. Lett.*, **365**, 387 (2002)
26. Y.Hou, D.Higgins. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 10306 (2002)
27. T.Plakhotnik, T.Nonn, V.Palm. *Chem. Phys. Lett.*, **357**, 397 (2002)
28. T.Guillet, J.Berrehar, R.Grousson, J.Kovensky, C.Lapersonne-Meyer, M.Schott, V.Voliotis. *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 087401 (2001)
29. D.Hu, J.Yu, P.F.Barbara. *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 6936 (1999)
30. A.M.van Oijen, M.Ketelaars, J.Köhler, T.J.Aartsma, J.Schmidt. *Chem. Phys.*, **247**, 53 (1999)
31. P.Tamarat, F.Jelezko, C.Brunel, A.Maali, B.Lounis, M.Orrit. *Chem. Phys.*, **245**, 121 (1999)
32. L.Edman, Z.Földes-Papp, S.Wennmalm, R.Rigler. *Chem. Phys.*, **247**, 11 (1999)
33. T.Ha, A.Y.Ting, J.Liang, A.A.Deniz, D.S.Chemla, P.G.Schultz, S.Weiss. *Chem. Phys.*, **247**, 107 (1999)
34. Y.Ishii, T.Yoshida, T.Funatsu, T.Wazawa, T.Yanagida. *Chem. Phys.*, **247**, 163 (1999)
35. Y.Jia, D.S.Talaga, W.L.Lau, H.S.M.Lu, W.E.DeGrado, R.M.Hochstrasser. *Chem. Phys.*, **247**, 69 (1999)
36. S.Wennmalm, L.Edman, R.Rigler. *Chem. Phys.*, **247**, 61 (1999)
37. Q.Xue, E.S.Yeung. *Nature (London)*, **373**, 681 (1995)
38. R.Tsien. *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 509 (1998)
39. A.Miyawaki, J.Llopis, R.Heim, J.M.McCaffrey, J.A.Adams, M.Ikura, R.Y.Tsien. *Nature (London)*, **388**, 882 (1997)
40. H.Sosa, E.J.G.Peterman, W.E.Moerner, L.S.B.Goldstein. *Nat. Struct. Biol.*, **8**, 540 (2001)
41. L.J.Lauhon, W.Ho. *Rev. Sci. Instrum.*, **72**, 216 (2001)
42. J.K.Gimzewski, C.Joachim. *Science*, **283**, 1683 (1999)
43. B.C.Stipe, M.A.Rezaei, W.Ho. *Science*, **279**, 1907 (1998)
44. B.C.Stipe, M.A.Rezaei, W.Ho. *Phys. Rev. Lett.*, **81**, 1263 (1998)
45. J.Gaudioso, H.J.Lee, W.Ho. *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 8479 (1999)
46. D.L.Keeling, M.J.Humphry, P.Moriarty, P.H.Beton. *Chem. Phys. Lett.*, **366**, 300 (2002)
47. J.Gaudioso, L.J.Lauhon, W.Ho. *Phys. Rev. Lett.*, **85**, 1918 (2000)
48. J.Gaudioso, W.Ho. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 10095 (2001)
49. J.R.Hahn, W.Ho. *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 166102 (2001)
50. L.Bartels, G.Meyer, K.-H.Rieder, D.Velic, E.Knoesel, A.Hotzel, M.Wolf, G.Ertl. *Phys. Rev. Lett.*, **80**, 2004 (1998)
51. B.C.Stipe, M.A.Rezaei, W.Ho. *Science*, **280**, 1732 (1998)
52. Ф.И.Далидчик, М.В.Гришин, С.А.Ковалевский, Н.Н.Колченко. *Письма в ЖЭТФ*, **65**, 306 (1997)
53. Ф.И.Далидчик, С.А.Ковалевский, Б.Р.Шуб. *Успехи химии*, **70**, 715 (2001)
54. L.J.Lauhon, W.Ho. *J. Phys. Chem. A*, **104**, 2563 (2000)
55. Ф.И.Далидчик, С.А.Ковалевский. *Письма в ЖЭТФ*, **67**, 916 (1998)
56. М.В.Гришин, Ф.И.Далидчик, С.А.Ковалевский, Н.Н.Колченко, Б.Р.Шуб. *Письма в ЖЭТФ*, **66**, 37 (1997)
57. Б.Р.Шуб. В кн. *Проблемы и достижения физико-химической и инженерной науки в области наноматериалов. Т. 1, 2.* (Под ред. В.А.Махлина). НИФХИ им. Л.Я.Карпова, Москва. 2002
58. B.C.Stipe, M.A.Rezaei, W.Ho, S.Gao, M.Persson, B.I.Lundqvist. *Phys. Rev. Lett.*, **78**, 4410 (1997)
59. L.J.Lauhon, W.Ho. *Phys. Rev. Lett.*, **84**, 071527 (2000)
60. L.J.Lauhon, W.Ho. *Surface Sci.*, **451**, 219 (2000)
61. S.-W.Hla, L.Bartels, G.Meyer, K.-H.Rieder. *Phys. Rev. Lett.*, **85**, 2777 (2000)
62. Y.Kim, T.Komeda, M.Kawai. *Phys. Rev. Lett.*, **89**, 126104 (2002)
63. D.Ruiz, Z.Sun, B.Albela, K.Folting, J.Ribas, G.Christou, D.N.Hendrickson. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **37**, 300 (1998)
64. M.Soler, W.Wernsdorfer, K.Folting, M.Pink, G.Christou. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 2156 (2004)
65. C.Boskovic, M.Pink, J.C.Huffman, D.N.Hendrickson, G.Christou. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 9914 (2001)
66. V.S.Mironov, L.F.Chibotaru, A.Ceulemans. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 9750 (2003)
67. А.Л.Бучаченко, М.А.Кожушнер, Б.Р.Шуб. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1732 (1998)
68. А.Л.Бучаченко, Ф.И.Далидчик, Б.Р.Шуб. *Chem. Phys. Lett.*, **340**, 103 (2001)
69. А.Л.Бучаченко, Ф.И.Далидчик, С.А.Ковалевский, Б.Р.Шуб. *Успехи химии*, **70**, 611 (2001)
70. D.Jeanmair, R.Duyn. *J. Electroanal. Chem.*, **84**, 1 (1977)
71. M.G.Albrecht, J.A.Creighton. *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 5215 (1977)
72. K.Kneipp, H.Kneipp, I.Itzkan, R.R.Dasari, M.S.Feld. *Chem. Rev.*, **99**, 2957 (1999)
73. W.Doering, S.Nie. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 311 (2002)
74. S.Nie, S.R.Emory. *Science*, **275**, 1102 (1997)
75. K.Kneipp, H.Kneipp, V.B.Kartha, R.Manoharan, G.Deinum, I.Itzkan, R.R.Dasari, M.S.Feld. *Phys. Rev. E*, **57**, R6281 (1998)

76. K.Kneipp, H.Kneipp, I.Itzkan, R.R.Dasari, M.S.Feld. *Chem. Phys.*, **247**, 155 (1999)
77. H.X.Xu, E.J.Bjorneld, M.Kall, L.Borjesson. *Phys. Rev. Lett.*, **83**, 4357 (1999)
78. E.J.Bjorneld, Z.Foldes-Papp, M.Kall, R.Rigler. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 1213 (2002)
79. A.Weiss, G.Haran. *J. Phys. Chem. B*, **105**, 12348 (2001)
80. X.D.Cui, A.Primak, X.Zarate, J.Tomfohr, O.F.Sankey, A.L.Moore, T.A.Moore, D.Gust, L.A.Nagahara, S.M.Lindsay. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 8609 (2002)
81. C.Joachim, J.K.Gimzewski, R.R.Schlittler, C.Chavy. *Phys. Rev. Lett.*, **74**, 2102 (1995)
82. M.Magoga, C.Joachim. *Phys. Rev. B*, **56**, 4722 (1997)
83. J.Reichert, R.Ochs, D.Beckmann, H.B.Weber, M.Mayor, H.van Löhneysen. *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 176804 (2002)
84. M.Grandbois, M.Beyer, M.Rief, H.Clausen-Schaumann, H.E.Gaub. *Science*, **283**, 1727 (1999)
85. W.Zhang, S.Zou, C.Wang, X.Zhang. *J. Phys. Chem. B*, **104**, 10258 (2000)
86. H.Takano, J.R.Kenseth, S.-S.Wong, J.C.O'Brien, M.D.Porter. *Chem. Rev.*, **99**, 2845 (1999)
87. P.E.Marszalek, A.F.Oberhauser, Y.-P.Pang, J.M.Fernandez. *Nature (London)*, **396**, 661 (1998)
88. P.E.Marszalek, H.Lu, H.Li, M.Carrion-Vazquez, A.F.Oberhauser, K.Schulten, J.M.Fernandez. *Nature (London)*, **402**, 100 (1999)
89. A.F.Oberhauser, P.E.Marszalek, H.P.Erickson, J.M.Fernandez. *Nature (London)*, **393**, 181 (1998)
90. H.Lu, K.Schulten. *Chem. Phys.*, **247**, 141 (1999)
91. Y.Lo, J.Simons, T.Beebe. *J. Phys. Chem. B*, **106**, 9847 (2002)
92. P.Hinterdorfer, W.Baumgartner, H.Gruber, K.Schilcher, H.Schindler. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **93**, 3477 (1996)
93. S.Allen, X.Chen, J.Davies, M.C.Davies, A.Dawkes, J.C.Edwards, C.J.Roberts, J.Sefton, S.J.B.Tendler, P.M.Williams. *Biochemistry*, **36**, 7457 (1997)
94. U.Dammer, O.Popescu, P.Wagner, D.Anselmetti, H.-J.Güntherodt, G.Misevic. *Science*, **267**, 1173 (1995)
95. A.D.Mehta, M.Rief, J.A.Spudich, D.A.Smith, R.M.Simmons. *Science*, **283**, 1689 (1999)
96. M.D.Wang, M.J.Schnitzer, H.Yin, R.Landick, J.Gelles, S.M.Block. *Science*, **282**, 902 (1998)
97. L.Tskhovrebova, J.Trinick, J.A.Sleep, R.M.Simmons. *Nature (London)*, **387**, 308 (1997)
98. R.F.Service. *Science*, **283**, 1668 (1999)
99. T.Hertel, R.Martel, P.Avoiris. *J. Phys. Chem. B*, **102**, 910 (1998)
100. N.Nilius, T.Wallis, W.Ho. *J. Phys. Chem. B*, **108**, 14616 (2004)
101. S.Ami, M.Hliwa, C.Joachim. *Chem. Phys. Lett.*, **367**, 662 (2003)

NEW HORIZONS OF CHEMISTRY: SINGLE MOLECULES

A.L.Buchachenko

Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences

142432 Chernogolovka, Moscow Region, Russian Federation, Fax +7(496)524-9676

The chemistry has reached its upper boundary, i.e., the ability to detect, fix in space and identify a single molecule, measure almost any of its properties and observe its chemical transformations and functioning. This boundary deals with the development of procedures for manipulating single molecules and with the creation of the elemental base for nanooptics, nanomechanics and nanoelectronics. This is the prologue for a new technological civilization, molecular electronics that operates with electric voltages of the order of millivolts and electric currents of the order of nanoamperes.

Bibliography — 101 references.

Received 25th March 2005