



单分子科学的机遇与挑战

程丽¹, 贾传成^{1,2*}, 郭雪峰^{1,2*}

1. 南开大学电子信息与光学工程学院, 天津市微尺度光学信息技术科学重点实验室, 新物质创造前沿科学中心, 现代光学研究所, 单分子科学研究中心, 天津 300350;

2. 北京大学化学与分子工程学院, 北京分子科学国家研究中心, 国家生物医学成像科学中心, 北京 100871

* 联系人, E-mail: jiacc@nankai.edu.cn; guoxf@pku.edu.cn

2022-10-31 收稿, 2022-12-07 修回, 2022-12-16 接受, 2023-01-12 网络版发表

国家重点研发计划(2021YFA1200102, 2022YFE0128700, 2021YFA1200101)、国家自然科学基金(21727806, 22075310, 21933001, 22150013, 22173050)、中央高校基本科研业务费专项资金(63223056)、南开大学有机新物质创造前沿科学中心(63181206)、北京分子科学国家研究中心(BNLMS202105)和腾讯科学探索奖资助

摘要 单分子作为物质世界中独立稳定的最小单元, 是构造物质的基本单元, 是最稳定的量子化单元. 单分子研究是对人类表征和检测技术极限的挑战, 已经成为各国竞争的制高点. 单分子科学作为一个前沿交叉领域, 融合了分子结构设计、单分子超分辨、单分子物理化学性质研究、理论模拟等多层面工作, 孕育着不可估量的突破. 本综述以单分子科学为主题, 对该领域的整体发展概况和突破性成果进行系统梳理. 首先, 从基础科学与应用两个层面介绍单分子科学与技术研究的意义; 然后, 重点阐述基于电学、力学、光谱学等技术对单分子不同维度性质进行表征的进展, 并着重介绍我国学者为推动单分子科学研究领域发展所作出的巨大贡献; 最后, 归纳并展望未来单分子科学领域发展所面临的机遇与挑战.

关键词 单分子器件, 扫描探针, 单分子光学, 单分子力学, 纳米结构

单分子科学旨在分子层次揭示单分子的行为以解决物理、化学、生物和材料等方面的关键性核心科学问题, 是人类认知的极限挑战之一. 得益于微纳加工与多维度表征技术的完善, 单分子科学成长迅速, 现已涵盖对单分子性质的理论模拟, 分子设计合成以及分子多维度理化性质表征技术等多层面内容, 成为多学科深度交叉融合的领域. 作为一个方兴未艾的前沿领域, 国内外学者在单分子科学的研究过程中取得了系列突破, 也面临着众多挑战.

1 单分子科学研究意义

在研究分子的性质和机理时, 传统表征手段所获得的是平均结果, 中间状态以及个体差异往往被掩盖. 单分子科学聚焦单个分子水平, 可以呈现被系统平均

效应所掩盖下的新机理和新规律. 就化学反应而言, 单分子技术可直接观察每一个分子的反应历程, 消除平均效应带来的模糊, 更本真全面地还原反应路径和规律. 就物理机制而言, 单分子科学是研究单个量子系统非平衡统计与量子效应的理想平台. 就生物医学而言, 单分子科学从分子水平探究生物分子的结构功能, 有助于阐明生命现象规律和本质. 简而言之, 单分子科学具有不可估量的基础科学价值, 能有力促进化学、物理以及生物医学等学科的繁荣发展.

另一方面, 单分子科学可以利用单个分子的尺寸与性能优势发掘独特功能, 展现出不可估量的应用价值. 比如在半导体行业, 器件尺寸的发展基本遵循摩尔定律^[1]. 然而, 随着晶体管元器件逐渐逼近性能与尺寸极限, 先进制程开发复杂度呈指数级增加, 摩尔定律开

引用格式: 程丽, 贾传成, 郭雪峰. 单分子科学的机遇与挑战. 科学通报, 2023, 68: 2155–2173

Cheng L, Jia C C, Guo X F. Opportunities and challenges of single molecule science (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 2155–2173, doi: [10.1360/TB-2022-1112](https://doi.org/10.1360/TB-2022-1112)

始陷入困境. 基于此背景, 以单个分子或少量分子为组件, 设计并构建分子尺度的功能器件, 可以在分子层次上完成信息的检测、转换、传输、存储与处理等功能, 为应对“摩尔困境”提供新的发展路径^[2]. 此外, 基于分子本征性质可以实现场效应^[3]、忆阻^[4]、整流^[5]等多种功能, 进一步满足不同场景的需求. 此外, 单分子作为量子化单元, 利用分子内在量子秉性可构建量子比特以进行量子计算, 有望解决一些经典系统较难处理的计算问题^[6,7], 为发展新型量子信息技术奠定基础.

2 单分子科学发展概况

单分子科学是探求分子基本物理、化学原理的可靠手段, 在基础科学与应用方面均具有重大价值. 发展至今, 单分子科学已形成以单分子结为结构, 以扫描探针显微镜为手段, 以纳米结构为维度, 以光学光谱、力谱为辅助多方位技术相结合的格局. 接下来, 我们围绕单分子结、扫描探针显微镜、纳米结构、光学光谱、力谱等技术介绍单分子科学整体发展概况.

2.1 基于分子结的单分子电学

将分子以特定的锚定基团与两侧电极连接构成的单分子结, 如金属/分子/金属结, 是研究材料在单分子尺度行为和规律的强大平台, 也是观测分子电荷输运规律的理想工具. 得益于各种新型单分子结制备技术的运用, 基于单分子结的单分子电学技术取得了长久

的进步.

目前, 最广泛应用的一种单分子结构筑手段是裂结技术. 裂结技术主要基于在断裂处形成原子级间隙作电极, 连接目标分子形成单分子结后, 通过测量电导随电极尖端位移的函数形成电导迹线以实现单分子电学性质的表征. 裂结技术以扫描隧道显微镜(scanning tunneling microscope, STM)断裂结(图1(a))^[8]和机械可控断裂结(图1(b))^[9]为代表, 具有操作简便、间隙可控、稳定性高等优势. 厦门大学毛秉伟团队^[10]和洪文晶团队^[11]、中国科学院化学研究所臧亚萍团队^[12]等均在领域取得了系列优秀成果. 在电场作用下, 电极上的金属原子可以迁移运动, 最终在断裂尖端处演化形成分子级别间隙, 从而用于分子连接^[13]. 基于电迁移原理制造纳米间隙电极(图1(c))也是制备单分子结的一种有效方法^[14]. 但是在采用电迁移构筑电极时, 需要注意纳米线断裂时的热现象和间隙尺寸的精准控制.

除了以金、银等传统金属作电极材料, 碳基纳米材料也展现出构筑可靠分子结的潜质. 以石墨烯电极为例, 可以通过稳定共价键在石墨烯与功能分子间形成强界面耦合, 同时其电荷传输能力比传统金属更强. 本课题组^[15]首先开发利用虚线刻蚀产生石墨烯点接触电极构建单分子结的方法, 如图1(d)所示, 通过将分子与电极以酰胺共价键方式连接, 有效增强器件稳定性, 推进单分子结制备技术的迅速发展. 最近, 以碳纳米材料如单壁碳纳米管和石墨烯构筑分子电极的研究取得

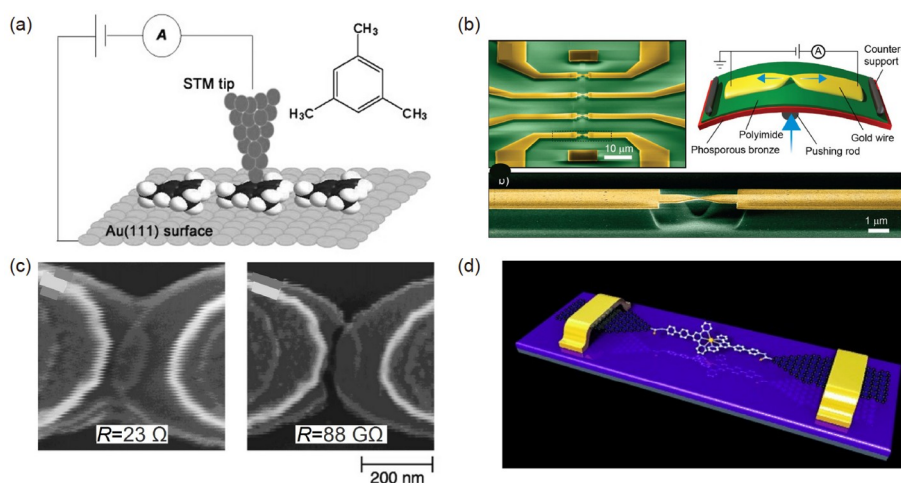


图1 (网络版彩色)单分子结器件. (a) STM断裂结^[8]; (b) 机械控制断裂结的扫描电子显微镜图像和装置示意图^[9]; (c) 电迁移前后金纳米线的场发射扫描电子显微像^[14]; (d) 基于石墨烯点接触的单分子器件^[15]

Figure 1 (Color online) Single-molecule junction device. (a) STM break junction^[8]; (b) scanning electron microscope image and device diagram of mechanically controlled break junction^[9]; (c) field emission scanning electron micrographs of gold nanowires before and after electromigration^[14]; (d) single-molecule device based on graphene point contacts^[15]

了诸多突破^[16]。与此同时,其他工艺如在线光刻法、自对准模板法等也相继被报道,进一步提升了制备单分子结器件的能力。

2.1.1 单分子结的结构

基于分子工程设计在分子两端修饰锚定基团,利用锚定基团与电极间的相互作用将分子与电极耦合,是典型的单分子结构型。在该构造中,单分子结的电学性质不仅与中心分子密切相关,还受到外界环境和界面连接形式的显著影响。为此,围绕分子、界面连接与电极三要素进行设计,可以有效调控单分子结器件的性能,进而实现相关器件的功能。

首先,功能分子的本征性质直接决定了单分子结的性能。分子构型、主链长度、功能中心和侧链基团等对电荷传输的路径与机制有直接决定作用。其次,分子锚定基团与电极之间的相互作用形式,比如共价、非共价、对称性等决定了两者的耦合强度以及电荷传输势垒,可直接影响体系的导电性和量子效应。此外,两侧电极材料的类别及对称性会影响分子结整体特性。例如,常用的金属、半导体、碳基材料在稳定性、可加工性、功函大小以及与分子兼容性上都各具特色,所制备的单分子结也展现出不同的电学性能。

然而,基于单分子桥的单分子电学技术面临两个核心难题。第一个是稳定可控纳米间隙电极的制备依旧存在挑战^[17],比如,间隙尺寸和形貌的精准控制、可重复性与阵列集成性等。第二个是分子与电极间界面连接的有效控制依旧存在难度^[18]。由于分子与电极的连接方式以及界面耦合强度会对分子的功能和性质产生重大影响,为更有效调控分子的性质,需要实现分子与电极之间稳定可靠的连接。实验证明,采用锚定基团,如氨基、吡啶、巯基同电极金属原子以共价键方式进行连接,或通过物理方式,如引入蒽、蒹等稠环芳烃与碳基电极形成 π - π 连接,都是优化分子-电极界面接触的有效措施。此外,引入不同的桥联基团,如烷基链来调节分子功能中心与电极界面间电子结构,同样可以实现对界面耦合的有效调控。同时,改变分子-电极间的界面耦合状态可以有效调控某些物理效应,如库仑阻塞效应和近藤效应^[19]等。

2.1.2 单分子的物性研究与调控

单分子物性的研究范围十分广泛,基于单分子结可对分子的立体结构、自旋、激子、振子等性质进行系统研究。囿于篇幅的限制,本文重点围绕分子的构效关系、量子干涉效应和热电效应等三方面进行探讨。

对于单分子结体系,分子的结构特征直接决定了隧穿电流大小,所以分子构效关系是调控单分子结电学性质的一个关键因素。大量实验表明,分子长度、立体结构、对称性等要素将对单分子结体系的物理性能产生影响。首先,不同分子长度下的电荷传输机制将改变。一般而言,短分子的电荷传输机制以直接隧穿为主,电导与长度呈指数依赖性;长分子的电荷传输机制为跳跃方式,电导与长度的依赖关系为线性。以长度在1.5~7.3 nm范围的共轭寡苯亚胺线为例,当长度接近4 nm时,分子结中的传输机制从隧穿转变为跳跃^[20]。此外,调节分子立体结构同样会改变单分子结的电学性质。以联苯类单分子结的电导同联苯分子扭转角的函数关系研究为例^[21],设计具有不同环取代的联苯分子,发现扭转角增加导致 π 共轭度降低,所对应特征电导的峰宽和强度也随之改变,从而可以建立分子电导与立体结构之间的关系。前面提到,分子-电极的连接方式也是理解分子结电学特性的一个重要因素。采取不同锚定基团如巯基、氨基同金电极连接是调控分子-电极界面耦合的有效措施。此外,稠环分子通过 π - π 堆叠相互作用与电极直接相连,也可以观测到分子电导特征^[22]。

在单分子结器件中,通过分子结构设计也可以实现对电荷传输路径的控制。当电子传输通过不同的通路时,相位差的出现将导致相涨或相消量子干涉效应的产生^[23],即分子的电荷传输系数受到量子干涉的强烈影响。量子干涉效应是单分子尺度上电荷输运量子现象,会对分子的导电性能产生强烈影响,掌控量子干涉模式的切换规律可实现对分子电学性质的灵活调控。研究表明,一些特殊设计的最高占据分子轨道(highest occupied molecular orbital, HOMO)与最低未占分子轨道(lowest unoccupied molecular orbital, LUMO)的能级干涉会对分子电导产生显著影响。洪文晶课题组^[24]使用电化学门控研究噻吩基单分子结的电荷传输,结构如图2(a)所示,通过电化学栅调控分子与电极的能级相对位置,探测到电导的最小值。他们解释称这是破坏性量子干涉引起反共振状态下的电荷传输行为所致。陶农建课题组^[25]利用STM断裂结技术结合电化学栅控(图2(b)),对分子HOMO和LUMO能级之间的量子干涉效应进行调控,观察到破坏性干涉导致的反共振现象,实现了单分子电导在两个数量级范围之间的连续变化。基于量子干涉效应,金属芳香化合物的电荷离域可用于切换单分子结的电荷传输路径,从而显著调节电荷

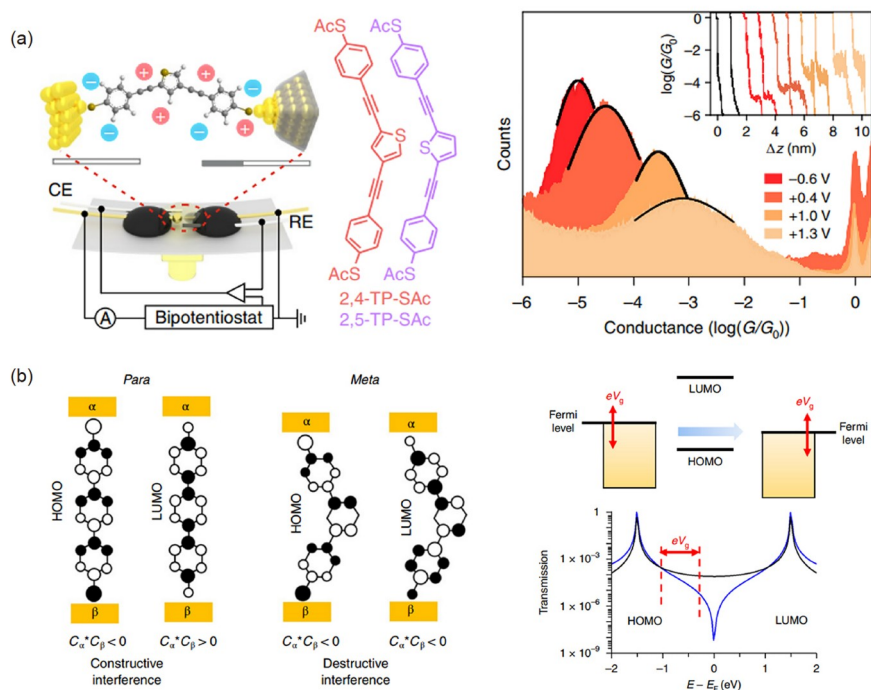


图 2 (网络版彩色)单分子结量子干涉效应. (a) 噻吩衍生物分子结的电化学门控和相应的一维(one-dimensional, 1D)电导图^[24]; (b) 用栅极控制的STM针断裂结测量对位和间位分子, 以及调节栅极电压对电荷转移通道的影响和传输的能量依赖性^[25]
Figure 2 (Color online) Quantum interference effects of single-molecule junctions. (a) Electrochemical gating of thiophene derivative-based single-molecule junctions and corresponding 1D conductance histogram^[24]; (b) *para* and *meta* molecules measured by a gate-controlled STM break junction, and influence of adjusting gate voltage on charge transfer channel, and energy dependence of transmission^[25]

传输能力.

由于单分子结具有确定的分子数以及相互作用力形式, 可以避免整体测量的系综平均影响, 是研究分子物性的特殊平台^[26]. 热电效应在能量转换、温度传感等方面有广泛的应用, 其大小可以依据塞贝克常数进行量化. 基于单分子结研究热电效应, 可进一步揭示分子结构与物性的内在联系. 例如, 在STM针尖端和基底之间桥接DNA分子, 发现DNA热电性能可以通过其序列和长度进行调节^[27]. 研究单分子热电效应有助于评估电极费米能量相对于分子能级的位置, 揭示电荷传输的能量转换机制并确定电子或空穴在传输中的主导地位^[28].

美国密歇根大学Edgar Meyhofer团队^[29]在镀金扫描探针头之间引入加热器和电阻温度计构建扫描热显微镜装置. 基于该装置, 当单分子结被外力拉断时, 通过记录加热器-温度计的温度变化便可高灵敏测量单分子结的热导率. 同时通过研究一系列具有从2~10个CH₂单元数的烷烃分子, 发现声子对分子结热导的贡献与分子长度无关. 诸多理论研究表明, 通过改变分子长

度、设计共轭骨架以及利用锚定基团优化分子电极界面耦合强度^[30], 都能有效调控热电效应, 增加单分子结中热能采集的效率.

2.1.3 单分子化学反应监控

利用常规宏观技术对化学反应机制的研究不可避免地受到系综平均的影响, 从单分子水平来实时并明确解析化学反应的本征机制具有重要的科研价值. 单分子结提供了一个对单分子行为/事件的优良探测平台, 为明晰化学反应机制提供了新的契机.

Diels-Alder反应作为一类非常重要的有机化学合成反应, 关于其协同反应机制始终不够明晰. 为此, 本课题组^[31]基于石墨烯基单分子结的电监测平台, 如图3(a)所示, 直接观察到电催化Diels-Alder反应的精确时间轨迹, 精准阐明了通过电荷转移络合物的协同机制及通过新离子中间体的反应途径. 此外, 洪文晶团队^[32]利用机械断裂结技术在单分子尺度上调整定向外部电场与反应轴之间的相对方向, 研究了定向外部电场对Diels-Alder的选择性静电催化过程. 实验发现, 当反应轴与电场正交时, Diels-Alder反应保持不变; 当电

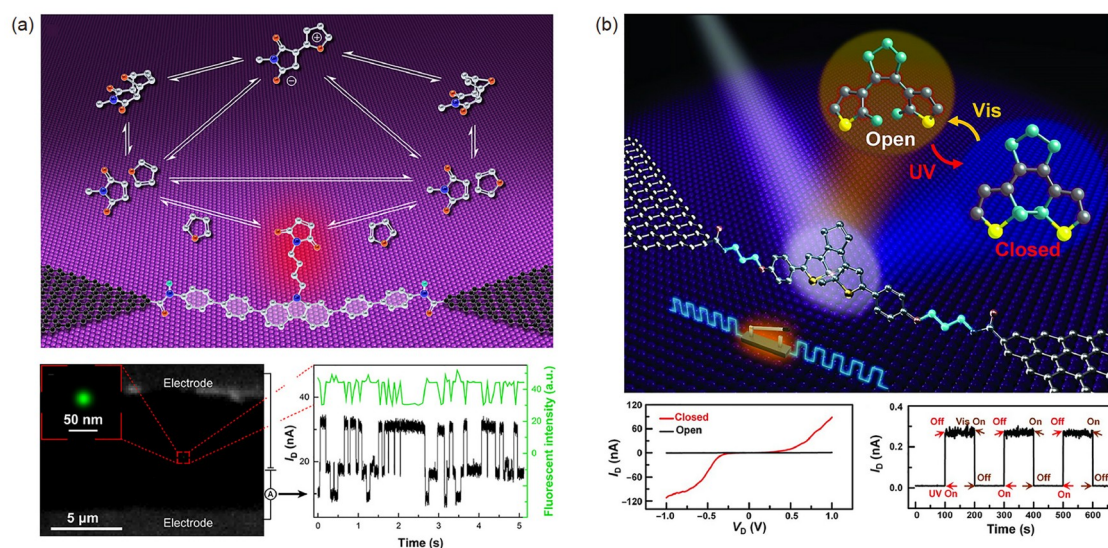


图3 (网络版彩色)基于单分子结检测单分子化学反应。(a) 基于石墨烯单分子结对Diels-Alder反应进行原位电检测^[31]; (b) 石墨烯-二芳基乙烯-石墨烯单分子结的可逆光开关^[34]

Figure 3 (Color online) Detection of single-molecule chemical reactions based on single-molecule junctions. (a) *In situ* electrical detection of Diels-Alder reaction on graphene based single-molecule junctions^[31]; (b) reversible photoswitching of graphene-diarylethene-graphene single-molecule junctions^[34]

场在反应轴方向有分量, 反应速率提升超过1个数量级, 证明可通过电场来选择性操纵化学反应。

除了传统的合成反应, 单分子结也为研究光化学反应提供了崭新视角。最近, 光致异构分子在光场下的构象异构反应吸引了广泛关注。基于光致异构分子构建单分子结, 分析不同光照状态下的电导可获得光化学反应过程的信息。美国哥伦比亚大学Nuckolls课题组^[33]曾以单壁碳纳米管作为电极, 并利用酰胺共价键与二芳烯分子相连构建了单分子结。实验发现, 随着紫外和可见光相互切换, 分子共轭度改变, 单分子结电流也出现显著差异, 但由于电极对分子激发态的淬灭作用, 导致光致异构反应不可逆。2016年, 本课题组^[34]以二芳烯分子为功能中心构筑了石墨烯基单分子结器件(图3(b)), 引入3个亚甲基基团优化分子与电极的界面耦合, 突破性地在单分子结中实现了本征可逆的光致异构反应。

2.1.4 单分子器件功能化

随着现有半导体制备工艺逐渐逼近物理极限, 器件的集成化、小型化发展面临挑战。基于分子的小尺寸优势与诸多新奇特性构建高性能单分子器件, 可为进一步提升器件的小型化和高密度集成提供可靠途径。我们以单分子场效应、整流和开关为代表论述单分子器件功能化的进展。

场效应晶体管是当前芯片电路的基本组成单元。随着器件尺寸的进一步缩小, 传统半导体场效应晶体管技术面临着严重的短沟道效应等困扰, 使得尺寸逐渐逼近物理极限。利用外加电场调控单分子电荷传输以实现单分子场效应功能具有重要研究价值。构建单分子场效应器件的核心是有效引入第三端栅电极, 以施加强电场到源-漏电极之间的分子上, 实现对分子输运性质的有效调控。目前开发的第三端栅电极包含液态与固态两种形式。液态栅极可通过离子双电层将强电场施加到单分子上, 有效调节分子前线轨道和电极费米能级的排列关系, 进而实现高效场效应调控功能。例如, 陶农建团队^[35]合成了具有小HOMO-LUMO能隙的吡咯烷取代的茚四羧酸二亚胺衍生物, 并使用电化学电压门控方法改变分子HOMO和LUMO与电极费米能级的接近程度, 将电荷传输形式在电子主导与空穴主导之间来回切换, 得到了单分子双极场效应器件, 如图4(a)所示。本课题组^[36]在2018年设计了石墨烯电极-联苯单分子场效应器件, 创新性地引入离子液体栅(图4(b))。离子液体栅能在较小的栅压范围内形成强双电层静电场, 对分子电荷输运进行显著调控, 在单分子水平为构建高性能场效应器件提供新策略。

引入固态栅对分子输运进行调制以实现场效应功能, 由于其与现代半导体工艺的兼容性, 吸引了众多研

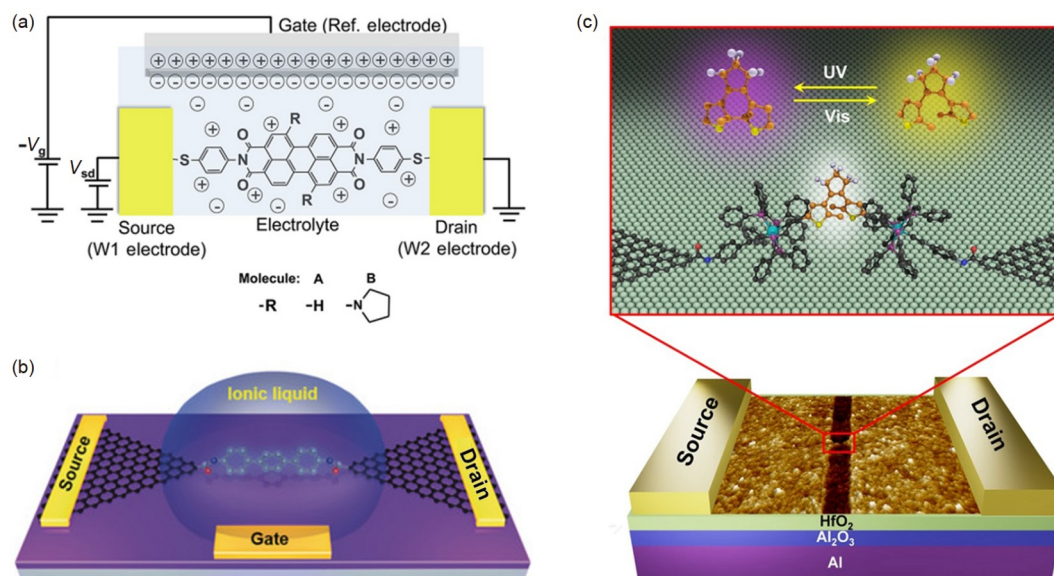


图4 (网络版彩色)单分子场效应器件. (a) 电化学栅调控的单分子双极场效应器件^[35]; (b) 具有离子液体栅电介质的石墨烯-分子-石墨烯单分子结^[36]; (c) 基于固态高 κ 金属氧化层的双核钌二芳基乙烯复合物单分子场效应器件^[37]
Figure 4 (Color online) Single-molecule field-effect devices. (a) Single-molecule ambipolar field-effect device with an electrochemical gate^[35]; (b) grapheme-molecule-graphene single-molecule junction with ionic-liquid gate dielectric^[36]; (c) dinuclear ruthenium diarylethylene complex single-molecule field-effect device based on a solid high- κ metal oxides layer^[37]

究投入。图4(c)所示是本课题组^[37]设计的基于固态高 κ 介电层的石墨烯单分子场效应器件, 可实现最大开/关比超过3个数量级的场效应行为。该设计利用双核钌二芳基乙烯复合物作为导电通道, 以石墨烯作为源/漏电极材料, 避免了金属-分子-金属单分子结中可能发生的电极屏蔽效应。最重要的是, 通过选取超薄 $\text{HfO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 固态多层膜作为高 κ 介电层, 有效克服了短沟道效应, 进而保证了器件的场效应调控性能。除了栅电场调控, 还可以采取其他栅控形式, 如磁场、光场、化学势等。此外, 由于界面耦合直接决定了电荷传输模式, 为更好地调控单分子场效应性能, 也需要重点关注分子-电极界面耦合情况, 具体可参见文献^[38]。

与场效应类似, 通过调控分子轨道能级, 也可以实现单分子整流功能。1974年, Aviram和Ratner^[39]提出可实现整流功能的单分子结模型, 随后引发研究热潮。当分子结的对称性被打破, 器件在正向与反向偏压下的电流大小具有明显差异, 进而实现整流效应。背后机制可理解为正反偏压下分子电荷输运轨道与电极费米能级的相对位置存在差异, 导致电流强度出现了差异。目前, Aviram-Ratner模型、Kornilovitch-Bratkovsky-Williams模型和Datta-Paulsson模型^[40]先后被提出, 用以解释单分子整流特性。

为了在单分子器件中获得整流效应, 有3种常见措施。(1) 引入不对称锚定形式差异化分子与两端电极耦合强度^[41]。具体包括设计锚定基团-电极之间的不对称接触方式、调整锚定基团和分子功能中心之间桥联基团的长度改变隧穿势垒以及在分子两端引入不同的锚定基团等。(2) 通过选用功函数不同的电极组合以提供不同的电荷注入势垒, 如金属-分子-半导体结构^[42]、石墨-分子-金结构^[43]。(3) 设计不对称分子结构以实现整流行为, 例如供体和受体基团的存在可以将不对称性引入单分子结, 或者引入侧基或者末端基团对分子构型进行调节^[44]。2015年, 美国哥伦比亚大学Venkataraman课题组及合作者^[45]创新性提出利用离子溶液调控形状不对称电极的电势来获得整流效应的方法。如图5(a)所示, 他们将基于低聚物分子的扫描隧道显微镜断裂分子结暴露在极性的碳酸亚丙酯溶剂中, 观察到 I - V 曲线呈现高度不对称性。原因是, 由于溶剂中离子的移动在尖端和基底上形成了不对称、依赖于偏置电压的双电层, 进而影响分子结周围的静电环境。

除了场效应晶体管和整流器, 开关也是组成电子电路的基本单元, 构建可靠的电子开关是单分子器件领域需要解决的关键科学问题之一^[46]。光致异构分子的结构在光场调控下会发生转变, 进而表现出不同的

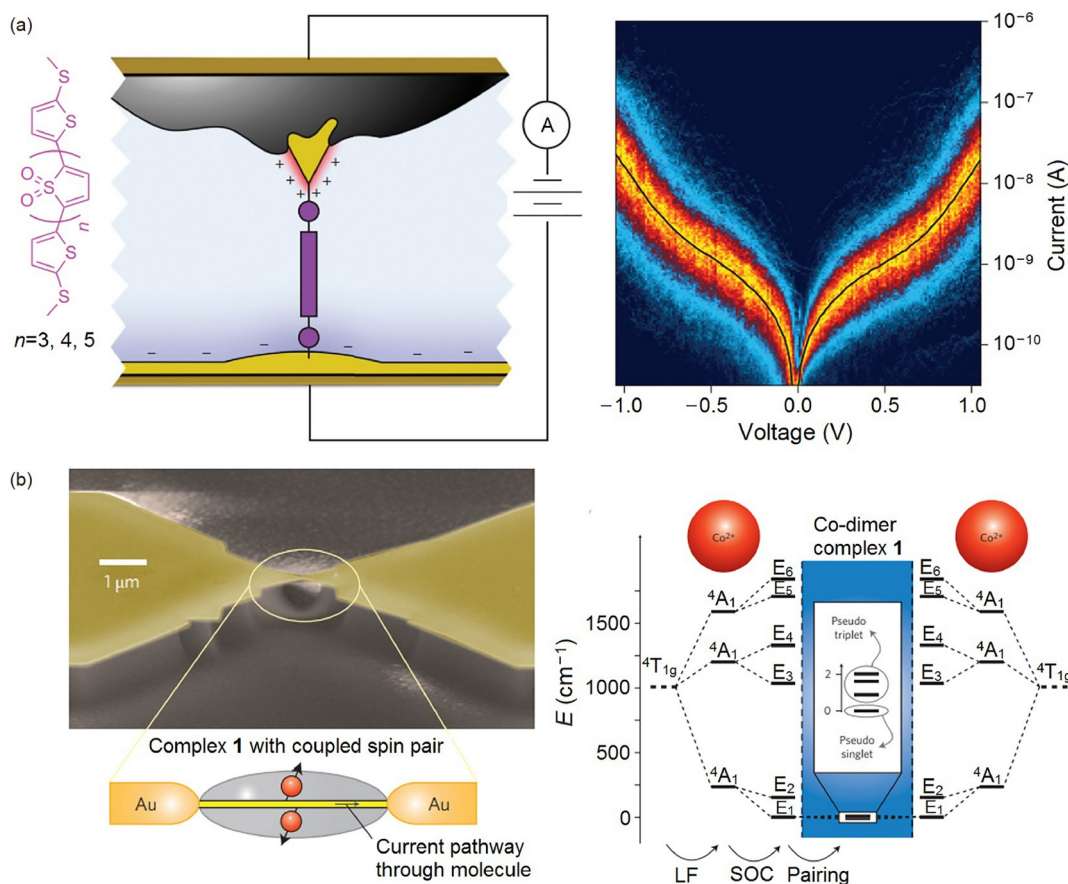


图5 (网络版彩色)单分子整流与开关功能. (a) 不对称区域电极构建的单分子结整流装置及其二维电流-电压图^[45]; (b) 机械可控断裂结中的耦合自旋对开关^[52]

Figure 5 (Color online) Functions of single-molecule rectifiers and switches. (a) Schematic of the single-molecule junctions created using asymmetric area electrodes and two-dimensional absolute current versus voltage histogram^[45]; (b) coupled spin pair switch in a mechanically controlled break junction^[52]

导电性, 已被广泛用于构筑开关器件. 典型的光致异构分子包括偶氮苯^[47]、螺吡喃^[48]和二芳烯衍生物^[49]等. 如前文提到的, 基于石墨烯单分子器件平台, 在二芳烯功能中心与电极间引入亚甲基桥联基团调控界面耦合, 实现了稳定可逆的单分子光电子开关器件^[34]. 此外, 立体电子效应被证明能够实现开关效应^[50]. Nuckolls课题组及合作者^[51]采用STM单分子断裂结技术操纵具有硫甲基电极接触的低聚硅烷中的特定二面角时, 发现可通过立体电子效应实现分子在两组不同旋转异构体之间切换, 进而表现出不同的电导态.

除了光致异构分子, 依靠分子的自旋秉性同样可以实现开关功能. 2013年, 德国埃尔朗根大学的Weber课题组^[52]使用机械可控断裂结平台测量通过包含两个耦合自旋中心的单分子结电导, 其中自旋中心被限制在两个Co²⁺离子上, 且磁耦合路径与传导通道正交(图5(b)).

该实验发现了偏置驱动下的分子开关现象, 并解释为自旋耦合系统的伪单重态到高偏置电压下伪三重态的转变所致. 除了单分子开关, 利用电子自旋进行传感、信息存储、传输和处理, 可大幅提高数据处理速度、降低操作能耗和提高集成密度, 所以操控电子自旋, 研制出速度更快、能耗更低的单分子器件具有不可忽视的战略价值.

2.2 基于扫描探针的单分子研究

以STM和原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)为代表的基于扫描探针显微镜的单分子成像与操纵技术, 已发展成为研究单分子的有力工具. 扫描探针显微镜的极高分辨率允许对单个分子进行清晰成像, 而通过尖端施力或电触发可以对单分子进行操纵. 同时, 对针尖进行功能化修饰也可以进一步提升扫描探

针对分子的表征能力。

2.2.1 单分子成像

利用扫描探针单分子形貌成像是分子物理机制、化学反应以及生物科学等领域重要的研究内容。通过探测STM针尖与目标分子间的隧穿电流,高分辨STM可直接用于对分子构型和空间取向进行成像,同时揭示关于分子轨道电子态密度的信息^[53]。国内以苏州大学迟力峰团队^[54]为代表的学者在STM单分子成像领域长期耕耘,硕果累累。STM技术不仅可以实现分子静态成像,也可以捕捉反应动态过程,如借助原位STM在部分渗碳的Fe(110)表面进行乙烯聚合的可视化表征(图6(a)),可在分子水平观察到乙烯的聚合反应过程^[55]。对STM针尖进行功能化可以有效提升表征能力,例如,使用自旋 $S=1$ 的二茂镍分子对STM尖端进行修饰以引入自旋灵敏度,可以依据二茂镍分子的自旋激发特征探测到原子级别分辨率的铁吸附原子和钴基底表面的磁性^[56]。

相比于STM, AFM以探针和分子间的相互作用力为探测信号。利用高分辨AFM可获得包括分子构象、成键特征在内的微观信号,为理解分子组装和识别提供十分有价值的指导。国家纳米科学中心裘晓辉课题组^[57]利用针尖被CO分子修饰的非接触式AFM,对Cu(111)衬底上8-羟基喹啉分子组装体中以及分子间配位情况实现了原子精度的可视化(图6(b)),并通过密度泛函理论计算进行了验证。该工作证明高分辨AFM有

助于研究具有多个活性位点分子中的分子间相互作用。

2.2.2 单分子操纵

扫描探针不但能对单分子结构进行高分辨率成像,还可以基于其力学敏感性,操纵分子平移、化学键断裂以及生物大分子相互作用等过程。2018年,江颖、王恩哥团队^[58]创新性地将STM和非接触AFM组合构成一套独特的分子操控系统(图6(c)),在NaCl表面上将单个水分子附着到 Na^+ 离子上并构建了单离子水合物团簇。随后利用带电针尖作为电极,通过非弹性电子激发操控单个水合离子在NaCl表面上的定向输运,实验发现了有趣的幻数效应。此外,来自德国吉森大学Ebeling团队^[29]通过在扫描探针的针尖和样品之间施加偏压(结构如图6(d)所示),以电驱动方式操纵NaCl薄膜衬底上有机分子实现脱卤活化、对分子进行横向移动以及诱导分子间碳-碳偶联反应,成功实现了在单键水平构筑共价有机纳米结构。以上研究进一步证实扫描探针是对分子进行机械操控研究的强大工具。

2.3 基于纳米结构的单分子检测

以纳米线、纳米管和纳米孔为代表的纳米结构,具有与分子匹配的纳米尺度结构,可用于构建高效、快速与灵敏的单分子检测技术平台,有效推进人们对单分子科学的认知。

2.3.1 基于一维纳米材料的单分子检测

半导体纳米线和碳纳米管等一维纳米材料具备优

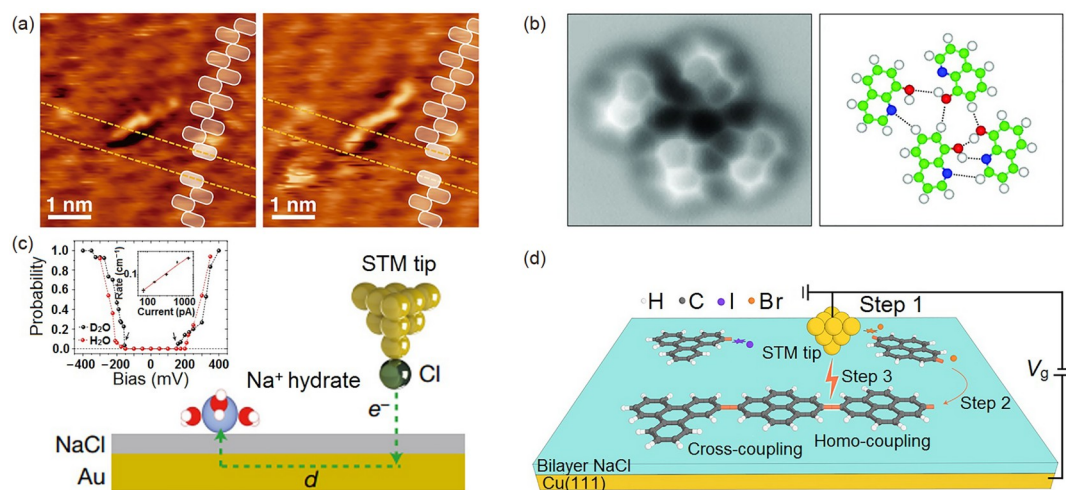


图 6 (网络版彩色)单分子成像与操纵。(a) STM原位监测渗碳铁表面聚合物链生长过程^[55];(b) Cu(111)上分子组装簇的AFM图像^[57];(c) Au介导的STM尖端对 Na^+ 水合物的非弹性电子激发过程^[58];(d) STM尖端施加的电压脉冲诱导分子前体脱卤化^[59]

Figure 6 (Color online) Single-molecule imaging and manipulation. (a) STM *in-situ* monitoring of polymer chain growth process on the surface of carburized Fe^[55]; (b) AFM image of a molecular assembly cluster on Cu(111)^[57]; (c) Au mediated inelastic electron excitation process of STM tip to Na^+ hydrate^[58]; (d) dehalogenation of a molecular precursor induced by voltage pulse applied by a STM tip^[59]

异的机械和电学性能, 可以作为高灵敏度的单分子检测器. 其中, 单壁碳纳米管的碳原子间以稳定的C-C共价键结合, 表现出高的机械强度和优越的载流子传输能力, 是极具代表性的一维纳米材料^[60-62]. 通过对碳纳米材料进行点修饰, 如引入某些结构“缺陷”, 可实现对单分子的灵敏检测. 例如, 在碳纳米管上利用电化学可控产生单点缺陷作为散射位点, 可与分子通过共价键或非共价键形式相结合, 由于电导随局部电荷状态而强烈变化, 进而可构建单分子分辨的高增益场效应传感器. 基于此原理构建的单分子无标记生物分析系统, 实现了在微秒时间尺度上探测单分子动力学. 美国哥伦比亚大学Shepard团队和合作者^[61]构筑了碳纳米管场效应晶体管, 并将单链DNA探针共价连接到碳纳米管中的点缺陷上, 成功测量出存在互补DNA靶时纳米管电导变化信号, 实现了在单分子水平对DNA杂交动力学行为的无标记检测. 类似地, Nuckolls团队^[62]在氧化硅晶片上以低密度生长单壁碳纳米管构建纳米管器

件. 依靠离子选择性过滤形成的电渗流驱动DNA分子在碳纳米管内的传输, 并通过电流脉冲信号实现了对DNA序列的有效测量, 如图7(a)所示.

与此同时, 纳米线在单分子科学中的应用也引起众多学者的关注. 目前, 科研人员已经高效合成一系列半导体纳米线, 包括IV族、III-V族、II-VI族和金属氧化物半导体. 为生物功能材料、生物接口设备带来了新的机遇. 重要的是, 通过化学掺杂、几何形状设计、调控缺陷分布等措施调控纳米线性能, 有望在材料研究、生物物理学、生物工程和混合信息处理方面产生重大飞跃. 例如, 本课题组^[63]于2016年制备了基于硅纳米线场效应晶体管的单分子生物传感器(图7(b)), 基于电流信号在亚微秒时间尺度上实现了对单分子发夹DNA杂交动力学过程的实时监测, 在单碱基对水平揭示了单个发夹DNA的动态折叠与展开过程.

2.3.2 基于纳米孔的单分子检测

1996年, 哈佛大学Branton团队^[64]提出, 单链DNA

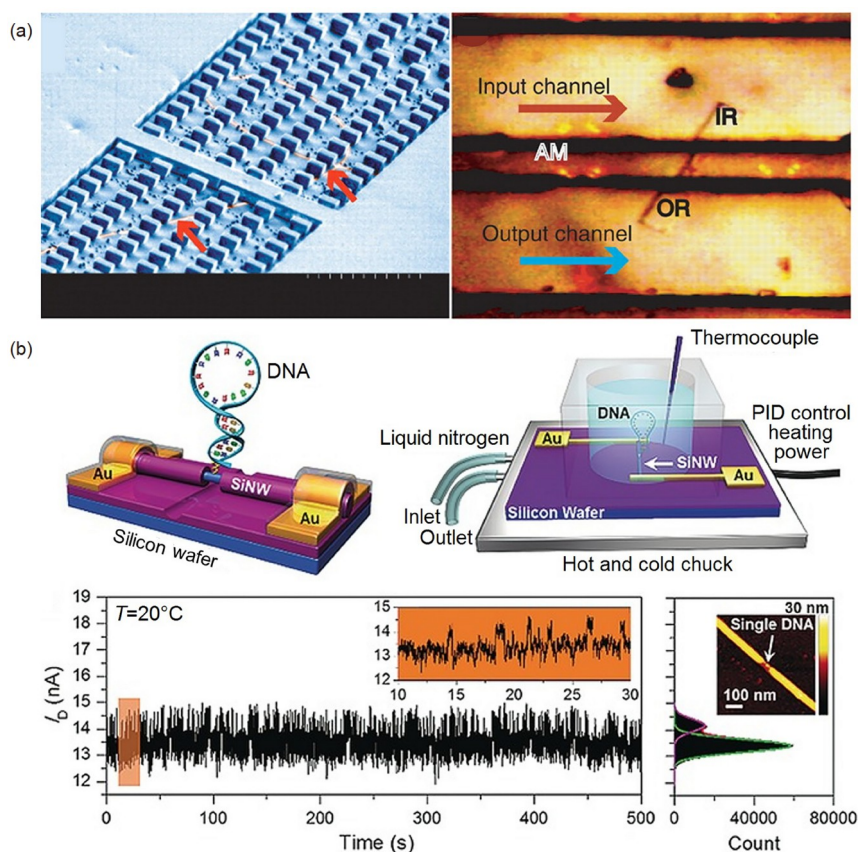


图7 (网络版彩色)基于一维纳米材料的单分子检测. (a) 单壁碳纳米管纳米孔器件结构图^[62]; (b) 单发夹DNA修饰的硅纳米线生物传感器和相应的电测量装置示意图^[63]

Figure 7 (Color online) Single-molecule detection based on one-dimensional nanomaterials. (a) Structural diagram of a single-walled carbon nanotube nanopore device^[62]; (b) single-hairpin DNA-modified silicon nanowire biosensor and corresponding electrical measurement signals^[63]

可以通过 α -溶血素形成的纳米孔实现单链DNA测序。此后,众多研究者围绕纳米孔开展了广泛的研究。纳米孔技术现已发展成一种功能强大的单分子生物检测手段,具有无须标记和转录、实时原位、灵敏度高、突出优势。其工作原理比较简单:溶液中的分子在电极驱动下通过纳米级孔道引起特征性电流波动,根据阻塞电流的幅度、频率与停留时间等特征可对分子序列和构象等进行解读^[65]。这使得纳米孔成为基于受限场增强的电学信号放大机制对单分子进行表征的有力平台。

纳米孔具体可分为生物纳米孔、固态纳米孔以及杂化纳米孔三类。成孔蛋白嵌入脂质膜构成的生物纳米孔是最先被报道的纳米孔结构,具有灵敏度高和结构均匀等优点^[66]。得益于微纳加工技术的进步,用聚焦离子束或电子束等工艺在无机材料上面加工形成的固态纳米孔^[67],具备良好的热稳定性、化学稳定性以及尺寸可控等优势。其中,具有单原子层厚度的二维材料如石墨烯能实现对分子的单位点识别而备受青睐^[68]。同时,生物纳米孔与固态纳米孔相互融合而成的杂化纳米孔,因融合了生物纳米孔和固态纳米孔的长处也

表现出卓越的应用潜能^[69]。

纳米孔技术最成熟、最广泛的应用是核酸测序,产业前景明朗。如Oxford Nanopore Technologies公司开发了基于纳米孔的DNA和RNA测序技术,并于2014年推出了首款商业化产品MinION^[70]。随着纳米孔结构和功能的完善,纳米孔技术在鉴定蛋白质序列^[71]、捕捉酶催化反应步骤^[72]、识别分子相互作用^[73]等领域取得了不俗的成就。2021年,荷兰代尔夫特工业大学Dekker研究团队^[74]利用Hel308 DNA解旋酶将DNA-肽偶联物拉过MspA纳米孔(图8(a)),基于离子电流信号实现了在单氨基酸序列水平对蛋白质序列的精准解读。该工作扩展了纳米孔在单分子检测领域的应用。

南京大学龙亿涛和黄硕、东南大学陈云飞等课题组在纳米孔研究领域也颇有建树。2021年,龙亿涛团队^[75]通过设计Aerolysin蛋白上的突变以定向调控纳米孔中非共价相互作用类型及大小,证明是排阻体积以及分子与孔道之间的相互作用协同决定了离子流信号的特征。2022年,黄硕团队^[76]设计了苯基硼酸修饰的异八聚MspA纳米孔对多种核苷单磷酸单体进行分辨,获

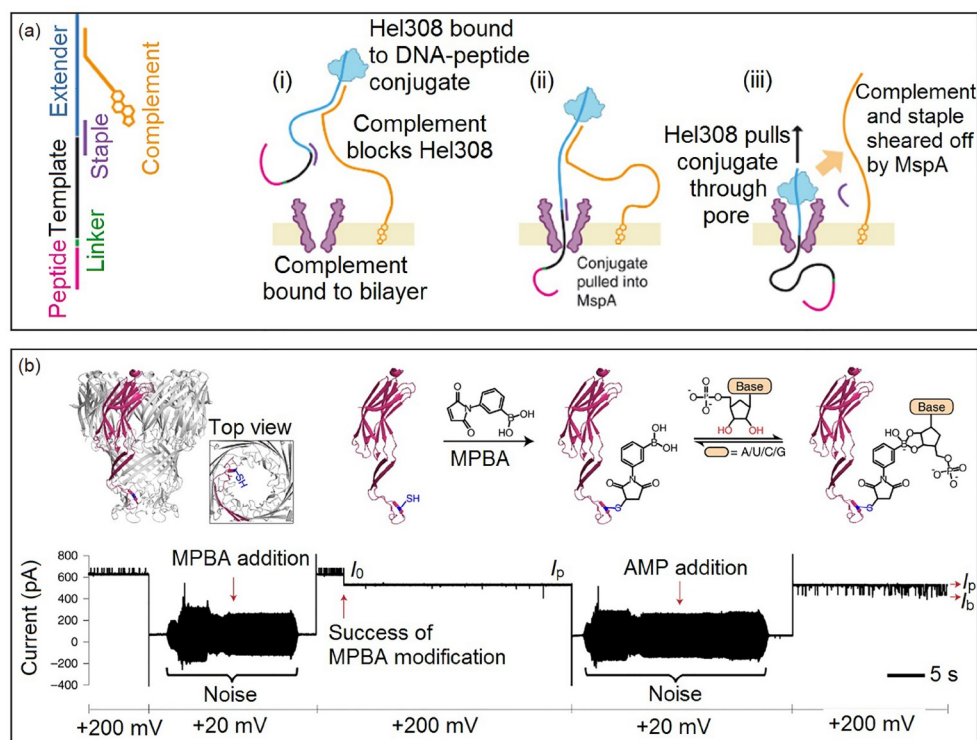


图8 (网络版彩色) 纳米孔单分子测序。(a) DNA-肽缀合物被DNA片段上行走的解旋酶拉过生物纳米孔^[74]; (b) 异八聚体MspA纳米孔的结构及其对核苷单磷酸的识别机制^[76]

Figure 8 (Color online) Nanopore based single-molecule sequencing. (a) A DNA-peptide conjugate is pulled through biological nanopore by helicase walking on DNA section^[74]; (b) structure of hetero-octameric MspA nanopore and its recognition mechanism for nucleoside monophosphate^[76]

得了准确的序列和修饰信息(图8(b)). 通过对纳米孔的形状尺寸、内表面位点以及离子液体动力学等因素持续改进, 可进一步提高纳米孔对单分子的时间和空间分辨率, 进而夯实纳米孔在基因序列、重大疾病诊断和治疗方面的应用基础.

2.4 单分子光学和光谱

近年来, 单分子光学成像和光谱分析技术取得了一系列瞩目成果. 通过测量单分子光学信号, 可以在单分子水平对分子化学反应途径进行实时监测, 并对分子的结构-功能关系进行精细表征. 同时, 基于单分子光学超高分辨率成像技术, 可以实现纳米级精度的单分子定位追踪. 最近, 扫描近场光学技术与单分子拉曼的成熟运用, 突破了衍射光的波长限制, 进一步推动了单分子科学的蓬勃发展.

2.4.1 单分子荧光

在光学信号中, 荧光因其高灵敏和选择性而成为一种高效的单分子监测信号. 借助单分子荧光光谱技术, 如荧光相关光谱、双光子荧光光谱等可完成对生物分子结合、分子间相互识别以及分子扩散等多种过程的探测和分析^[77]. 标记分子的时间和空间依赖性荧光信号强度的变化是提取分子动力学信息的有用指标. 例如, 荧光相关光谱基于荧光强度随时间涨落的相关函数, 可用于研究自由扩散的荧光分子并给出分子浓度和动力学参数等信息, 已经引起了广泛的关注. 利用扩散减速荧光相关光谱并结合光诱导电子转移的荧光标记, 北京大学赵新生团队^[78]对DNA双链体中不匹配碱基对中自发单碱基翻转的微观动力学进行了有效表征.

值得一提的是, 将存在相互作用的分子标记上不同的荧光基团, 可利用分子能量转移过程中的荧光变化获得关于分子间距以及其他动力学信息, 这便是单分子荧光共振能量转移的工作原理. 该原理运用在研究生物大分子的结构变化和反应方面已取得了显著进展. 例如, 美国哈佛大学的庄小威团队^[79]将供体染料Cy3标记的组蛋白八聚体和受体染料Cy5标记的DNA结合组装成单核小体, 利用单分子荧光共振能量转移技术, 成功分辨出了核小体出口侧的DNA易位步骤.

2.4.2 超分辨成像

2014年, 诺贝尔化学奖授予了超分辨显微技术. 超分辨成像超越了远场光学分辨率, 极大地促进了单分子科学的研究进展. 其中一项代表性的超分辨成像技

术是基于全内反射荧光显微镜. 全内反射荧光显微镜^[80]利用光纤全反射产生的隐逝波选择性激发荧光分子, 由于激发光具备指数衰减特性, 只有极靠近全反射面的区域才会产生荧光信号, 从而大大提高图像信噪比. 基于全内反射荧光显微镜, 可对样品表面物质如单个肌浆球蛋白分子进行高质量成像观察. 在该领域, 厦门大学方宁课题组^[81]专注于利用多样化的纳米颗粒合成并结合超分辨率荧光显微镜以实现高灵敏度的单分子追踪, 并研究不同纳米孔形态下催化反应动力学的行为, 成功地利用单分子荧光偏振显微镜对线性极化激发和圆极化激发下的单分子进行成像(图9(a)), 验证了分子取向和反应中间体的纳米限制效应.

2006年, 庄小威团队^[82]凭借其在超高分辨率显微领域的研究基础, 提出了分辨率远高于传统光学显微镜的随机光学重建显微法, 原理如图9(b)所示. 在每个成像周期中, 只有一小部分荧光团被激发, 并以纳米级的精度确定它们的位置. 最终, 从一系列成像循环获得的荧光团位置用于重建整体图像. 随机光学重建显微法成功地将荧光光谱和显微分析技术应用于细胞分子的超分辨成像领域. 2011年, 北京大学谢晓亮团队与庄小威团队合作^[83], 使用超分辨率荧光显微镜并结合染色体构象捕获, 成功对活体大肠杆菌细胞内拟核相关蛋白的分布进行定位跟踪. 将分子发光与电学手段结合, 可为基于荧光的单分子成像提供更多的探索空间. 浙江大学冯建东课题组^[84]2021年报道了一种直接对溶液中的单分子电致化学发光进行成像的显微镜技术. 如图9(c)所示, 他们开发了一种组合的宽场光学成像和电化学测量系统, 并通过充分的溶液稀释和快速曝光, 对水溶液电极处的单分子钉基的电致化学发光反应进行成像表征. 该技术无需外部光源激发, 而是依靠单个激发染料分子发射的单光子进行空间成像, 极具启发性.

2.4.3 扫描近场光学

近场扫描探针与光学结合, 可获得超越衍射极限的分辨率, 并提供分子与局域光场环境相互作用的直接光学信息. 耶路撒冷希伯来大学的Gross团队^[85]将同步辐射红外光束聚焦在AFM探针尖端上, 尖端与高度聚焦的红外光耦合时可作为灵敏的光学传感天线(图10(a)). 基于此结构, 成功监测到结合在催化剂颗粒上的N-杂环卡宾分子的化学反应过程, 空间分辨率达25 nm, 足以分辨出单个粒子在不同区域的催化活性. 中国科学技术大学侯建国、杨金龙、董振超团队在单分子扫描近场光学方面也取得了许多重大突破. 侯建

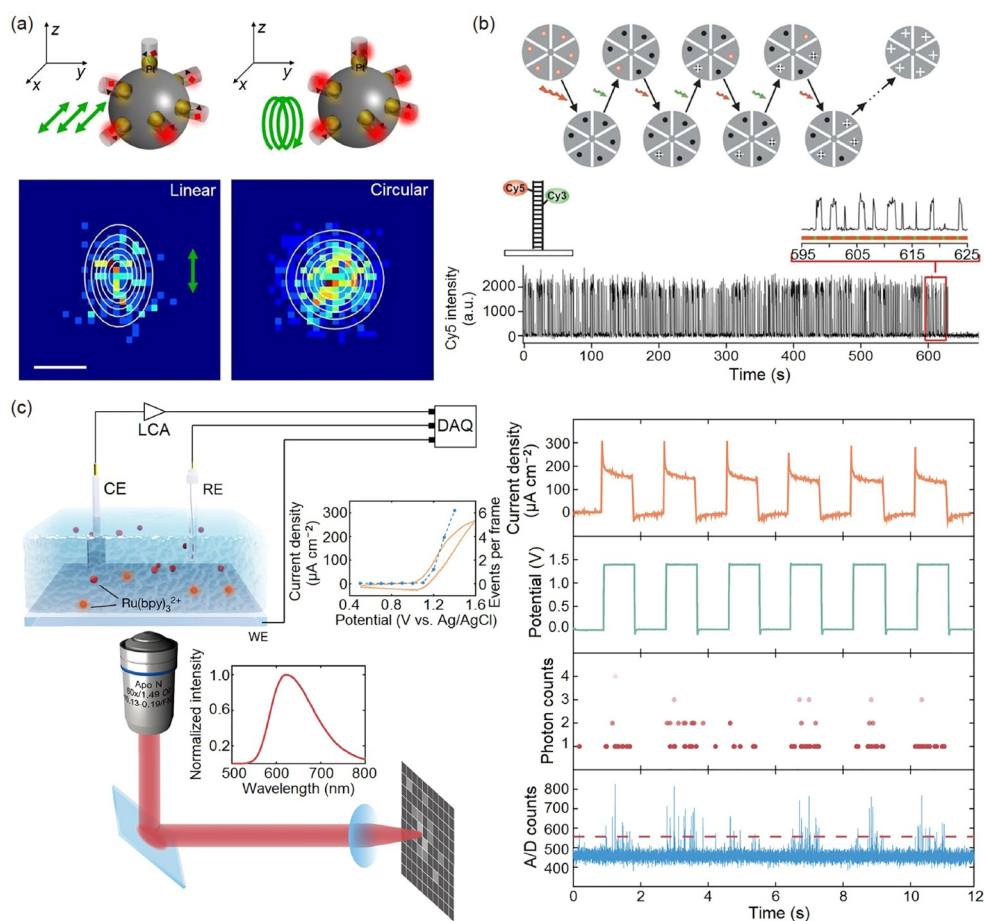


图9 (网络版彩色)单分子超分辨成像技术。(a) 用单分子荧光偏振显微镜研究纳米孔中的分子取向示意图^[81]; (b) 带有光开关荧光团的随机光学重建显微镜^[82]; (c) 宽视场光学成像和电化学记录组合装置示意图^[84]

Figure 9 (Color online) Single-molecule super-resolution imaging techniques. (a) Schematic diagram of molecular orientation in nanopores studied by single-molecule fluorescence polarization microscope^[81]; (b) stochastic optical reconstruction microscopy with optical switch fluorescent groups^[82]; (c) diagram of wide field optical imaging and an electrochemical recording combination device^[84]

国团队^[86]在STM探针尖端构筑原子尺度的银团簇突起对等离子激光场进行限制,并将纳腔等离子共振模式调控到与入射激光和酞菁分子发光能量有效匹配的状态,同时采用超薄NaCl介电层隔绝酞菁分子与银衬底的电荷转移,实现了亚纳米分辨的单分子光致发光成像,并揭示了局域等离子共振与分子激子的相互作用对荧光信号的调控机制。

2.4.4 单分子拉曼

拉曼光谱作为一种散射光谱,可提供独特的分子振动结构信息,发挥高分辨化学识别和成像功能。将扫描探针显微镜与拉曼光谱结合而成的针尖增强拉曼^[87],通过尖端将光场限制在纳米空间范围以突破光学衍射极限的瓶颈,不仅能提供高分辨表面形貌与拉曼光谱信号,还可用来分析样品分子的化学成分和表

面缺陷态等信息。厦门大学任斌团队^[88]采用针尖增强拉曼光谱并以苯基异氰酸酯作为探针分子,对Pd/Au(111)双金属催化剂的表面位置特异性电子和催化性质进行了研究,空间分辨率可达到3 nm尺度。杨金龙、侯建国和董振超团队^[89]一直致力于研究单分子光致发光成像,为从原子尺度上理解光与物质的相互作用作出重要贡献。2019年,由侯建国领衔的研究团队^[90]通过将单个化学基团的拉曼光谱指纹与埃级分辨水平的拉曼图像及其干涉效应相结合,建立了一种扫描拉曼埃分辨显微术。该方法将分子振动模式的局域空间位置信息,以类似于搭积木的方式来实现对单个分子的组成单元与排列方式的可视化。图10(b)是基于该方法对单个钼卟啉分子振动模式的成像示意图,空间分辨率达到埃级尺度。

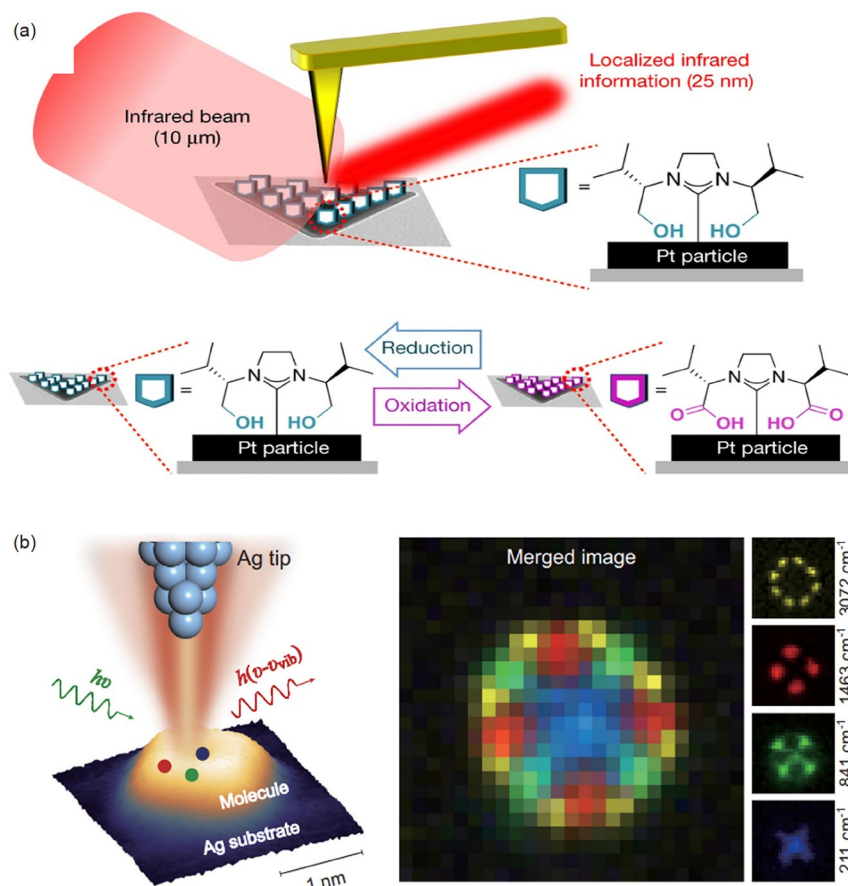


图 10 (网络版彩色)扫描近场光学技术。(a) 金属原子力显微镜尖端通过在其尖端的近场区域定位和散射入射光充当光学天线^[85]; (b) 通过扫描拉曼埃分辨显微技术对组装结构单元成像形成的分子结构^[90]

Figure 10 (Color online) Scanning near-field optical technology. (a) The tip of metal atomic force microscope acts as an optical antenna by locating and scattering incident light in the near-field region of its tip^[85]; (b) imaging molecular structure by assembling structural units using scanning Raman picoscopy^[90]

2.5 单分子力谱

力在单分子水平的受控应用为研究单分子的结构、动力学和功能提供了强大的工具。单分子力谱^[91]已经成为研究单个分子机械特性和分子内与分子间相互作用力的一种有力表征技术，可以揭示分子的本质结构特征及动态过程。目前，最常见的单分子力谱技术有原子力显微镜、光镊和磁镊。

2.5.1 基于原子力显微镜的单分子力谱

将原子力显微镜的针尖与基底上的分子接近后再分离，能在基底和探针之间形成单分子桥联结构获得力-拉伸长度曲线，也就是单分子力谱。原子力显微镜作为分子力探针能提供有关分子内相互作用力强度、键能、键的动力学参数和过渡态的几何形状等信息。最近，对传统AFM进行改进后所得到的基于qPlus传感器的非接触AFM吸引了众多目光。相比于传统AFM的硅

悬臂，qPlus传感器采用高弹性常数的石英音叉作为悬臂，具有稳定性高，易于功能化，可同时获得STM和AFM信号等优势。2018年，北京大学江颖课题组^[92]自行开发了高性能的qPlus型原子力传感器，对NaCl(001)表面上的水团簇进行了亚分子分辨率成像。如图11(a)所示，AFM的尖端用CO分子官能化以调控尖端的电荷分布。通过探测四极型CO尖端和强极性水分子间的弱高阶静电力，获得了对弱键合水体系的无侵扰高分辨成像。基于qPlus传感器的非接触AFM达到了亚分子级别空间分辨率^[93]，极大拓展了单分子力谱的应用范围。

2.5.2 基于光镊的单分子力谱

光子携带能量以及线性动量和角动量，利用可移动聚焦激光束产生的辐射压力可形成光场梯度力陷阱对分子进行捕获^[94]。1986年，美国贝尔实验室Ashkin等人^[95]利用单束强聚焦激光对颗粒进行捕获，标志光镊

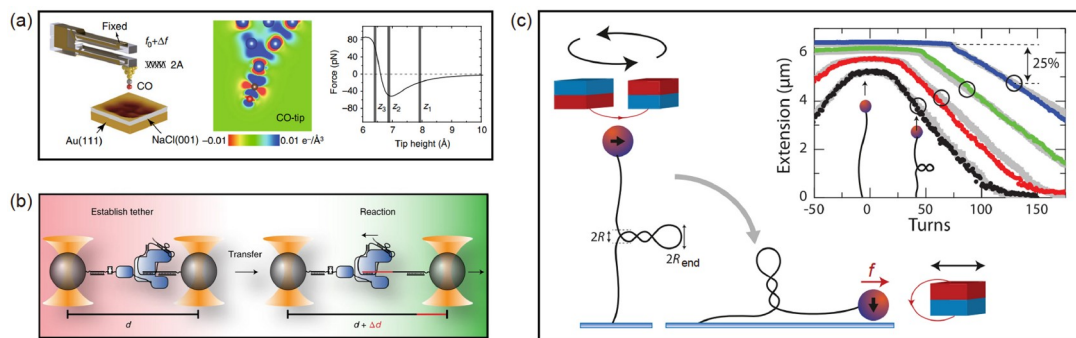


图 11 (网络版彩色)单分子力谱. (a) 基于qPlus-AFM对水团簇的亚分子级分辨成像^[92]; (b) 使用双光镊测量端粒酶催化过程^[97]; (c) 侧拉式磁镊荧光显微技术^[100]

Figure 11 (Color online) Single-molecule force spectroscopy. (a) Submolecular resolution imaging of water clusters by qPlus-AFM^[92]. (b) measurement of telomerase catalysis process using dual optical tweezers^[97]; (c) side-pull magnetic tweezer fluorescence microscopy technique^[100]

技术的诞生。光镊涉及的相互作用力可以分为散射力和梯度力，散射力沿光传播方向向前推动粒子，而梯度力沿光强度梯度将粒子拉向最高光强处。实验上，可以通过微球位移成像或分析位移微球折射的光来精确测量外力。光镊技术可以操纵粒子进行翻转和迁移，具有非接触操纵和高的空间分辨率等特征。然而，由于传统光源存在衍射极限，随着研究粒子的尺寸缩小，光镊捕获的稳定性将会削弱。面对该问题，可尝试将光镊与表面等离子体共振相结合，进一步增加光阱俘获势的深度来增强光镊对单分子的限制力^[96]。2020年，美国密歇根州立大学的Schmidt团队^[97]利用高分辨磁镊研究了端粒酶单分子的催化过程。如图11(b)所示，他们将端粒酶和底物DNA分别连接到两个微球上，通过共焦单分子荧光显微镜并结合时间分辨率双光阱对两个微球的位置进行捕获。实验数据分析表明，底物DNA与端粒酶锚定位点的结合有助于端粒重复序列的持续合成。

2.5.3 基于磁镊的单分子力谱

除了光场，利用磁场也可以实现单分子操纵，相关技术被称为磁镊。结构上，磁镊主要由磁场、超顺磁小球以及显微装置组成。原理上，磁镊利用外加磁场控制超顺磁小球的运动，然后以小球为媒介对目标分子施加力。与光镊技术相比，磁镊可以同时操纵表面上的多个分子，具备无损耗、无热效应、结构简单等优势^[98]。单分子磁镊可以向单个生物分子施加扭曲力和拉伸力^[99]，已被证明是研究生物分子力学的理想平台。2012年，荷兰代尔夫特理工大学Dekker团队^[100]利用磁镊技术成功在单分子水平表征了DNA超螺旋动力学。他们通过旋转一对磁体，操纵荧光标记的DNA分子进行超螺旋(图11(c))。然后，用额外的磁体将分子横向拉入物

镜的焦平面，以20 ms时间分辨率进行了图像采集，进而获得相对应的动力学信息。

3 总结与展望

综上，本文以单分子科学为主线，对基于分子桥、扫描探针和纳米结构等单分子电学研究，基于超分辨成像、近场光学、荧光和拉曼等单分子光学光谱研究，基于原子力显微、光镊、磁镊等单分子力学研究的国内外现状与进展进行了概括，阐述单分子科学领域所面临的机遇与取得的重要突破。需要强调的是，作为一个前沿且交叉的学科，单分子科学正处于初级阶段，现有理论和技术依旧不够成熟。为推动单分子科学进一步发展，有以下5个挑战需攻克。

(1) 单分子器件的研制及应用。单分子器件提供了在单分子水平研究分子性质的基础，是相关研究开展的前提。开发精准的加工工艺以实现原子级可控、重现性高、稳定性好的单分子器件制备，是单分子科学理论落实到应用研究的关键。目前，实现单分子器件的高效与可靠制备依旧是制约单分子科学发展的难题。面对该困境，未来可努力的着手点包括发展新型材料、优化功能分子构型、调控分子和电极锚定形式、改善器件的加工与集成工艺等方面。

(2) 单分子的新奇物性表征与调控。结构多样的单分子如机械互锁^[101]、手性分子^[102]，在电学、光学以及力学等层面均蕴含丰富的新奇物性。揭示单分子蕴含的新奇物性是单分子科学发展的关键。从电学角度考虑，可设计高性能的单分子场效应、开关、整流、忆阻等功能器件，基于多维度调控对分子的电学物性进行发掘。从光学角度考虑，可优化与组合光学平台探索

单分子新奇光物理、光化学等性质。从量子角度考虑, 由于单分子量子态的物理量信号很弱, 加上分子量子态的相干时间往往较短并且高度局域化, 亟须完善超高时空分辨的探测技术, 以实现单分子的量子相干叠加态的直接读出。

(3) 单分子反应的理论及机制。对于单分子水平的反应动力学, 如反应的溶剂效应、激发态/过渡态捕捉以及反应的量子调控等内容, 经典的动力学理论和模型已不再适用, 为此需要研究者从量子学和原子模型出发建立与完善新的理论模型和机制, 为深度探究单分子反应过程提供科学认知工具。例如, 小分子体系氢原子加氢分子的同位素反应被发现蕴含着独特的量子干涉效应^[103]。再比如, 以有机小分子为催化剂, 从简单非手性的原料高效合成手性化合物单一对映体的不对称有机催化反应^[104], 其反应的理论及机制有待从单分子角度清晰化以提高催化效率^[105]。面对上述挑战, 需要发展多模态高精度的表征手段, 提高超快、超冷以及超高时空分辨率的检测能力。此外, 可借助超快光谱技术^[106], 实现以皮秒甚至飞秒量级对单分子动力学行为和动态演化过程进行实空间原位表征, 从而拓展人们对复杂化学反应的认知。

(4) 单分子生物物理及其测序。单分子科学通过对生物大分子结构和动力学的细致研究, 推动了单分子生物物理的科研进展。单分子生物物理将单分子科学与生命医学相融合以在分子层次解释生命现象最本质的规律, 一个典型例子就是单个生物大分子序列测定。目前DNA测序技术已相对成熟, 蛋白质作为生命活动

功能的主要承担者, 对其序列准确快速的测定同样是实现生物医学精准治疗的关键。与DNA不同, 蛋白质无法扩增, 存在对仪器设备要求高、荧光标记检测通量低、信号放大造成分析检测时间长等难点, 所以利用纳米传感技术对弱信号进行高效提取和放大, 发展简便、快速、高通量的蛋白质测序手段是待突破方向。为此, 可以构建与单个蛋白分子空间尺寸相匹配的领域测量界面, 实现单分子的化学动态信息与时序性检测信号之间的切换。此外, 单分子精准诊断学、固氮和光合作用、分子酶催化动力学、基因表达和调控机制等多个单分子研究方向都有待进一步发展。

(5) 单分子科学的理论及模型。理论计算具备不受限于实验技术条件的优势, 可作为一种强有力的单分子研究辅助手段。然而, 已有的理论模型大多比较理想化, 研究多局限在单一尺度模拟, 未充分考虑自身或周围环境多自由度对分子性质的影响, 故而存在很多不足。为此, 完善现有理论, 建立新模型、新机制、新概念, 从抽象概念走向真实体系, 并发展多时间和空间尺度模拟方法作为辅助工具对单分子新奇物性进行研究是亟须探索的方向。此外, 将分子先进计算方法移植到器件体系, 对激发态、强关联器件性质开展可靠计算, 建立分子-电极界面电荷输运行为的清晰模型, 模拟将分子热运动及电极结构的非平整性纳入考量的真实环境下的器件性能, 都是值得投入精力的方向。同时, 可借助人工智能以及机器学习手段^[107]以提升处理实验数据的效率, 实现算得快、算得大、算得准, 将有力推进单分子科学更好地发展。

参考文献

- Lundstrom M. Moore's law forever? *Science*, 2003, 299: 210–211
- Zhang B, Fan F, Xue W, et al. Redox gated polymer memristive processing memory unit. *Nat Commun*, 2019, 10: 736
- Jäckel F, Wang Z, Watson M D, et al. Prototypical single-molecule transistors with supramolecular gates: Varying dipole orientation. *Synth Met*, 2004, 146: 269–272
- Goswami S, Pramanick R, Patra A, et al. Decision trees within a molecular memristor. *Nature*, 2021, 597: 51–56
- Wang Z, Palma J L, Wang H, et al. Electrochemically controlled rectification in symmetric single-molecule junctions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119: e2122183119
- Schlupf L, Oeckinghaus T, Xu K, et al. A molecular quantum spin network controlled by a single qubit. *Sci Adv*, 2017, 3: e1701116
- Kazmierczak N P, Mirzoyan R, Hadt R G. The impact of ligand field symmetry on molecular qubit coherence. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 17305–17315
- Afsari S, Li Z, Borguet E. Orientation-controlled single-molecule junctions. *Angew Chem Int Edit*, 2014, 126: 9929–9932
- Frisenda R, Stefani D, van der Zant H S J. Quantum transport through a single conjugated rigid molecule, a mechanical break junction study. *Acc Chem Res*, 2018, 51: 1359–1367
- Zhou X S, Wei Y M, Liu L, et al. Extending the capability of STM break junction for conductance measurement of atomic-size nanowires: An electrochemical strategy. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 13228–13230

- 11 Li X, Wu Q, Bai J, et al. Structure-independent conductance of thiophene-based single-stacking junctions. *Angew Chem Int Edit*, 2020, 59: 3280–3286
- 12 Lü Y, Lin J, Song K, et al. Single cycloparaphenylene molecule devices: Achieving large conductance modulation via tuning radial π -conjugation. *Sci Adv*, 2021, 7: eabk3095
- 13 Esen G, Fuhrer M S. Temperature control of electromigration to form gold nanogap junctions. *Appl Phys Lett*, 2005, 87: 263101
- 14 Park H, Lim A K L, Alivisatos A P, et al. Fabrication of metallic electrodes with nanometer separation by electromigration. *Appl Phys Lett*, 1999, 75: 301–303
- 15 Cao Y, Dong S, Liu S, et al. Building high-throughput molecular junctions using indented graphene point contacts. *Angew Chem Int Edit*, 2012, 51: 12228–12232
- 16 Jia C, Ma B, Xin N, et al. Carbon electrode-molecule junctions: A reliable platform for molecular electronics. *Acc Chem Res*, 2015, 48: 2565–2575
- 17 Shiraki S, Shirasawa T, Suzuki T, et al. Atomically well-ordered structure at solid electrolyte and electrode interface reduces the interfacial resistance. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 41732–41737
- 18 Kong G D, Jin J, Thuo M, et al. Elucidating the role of molecule-electrode interfacial defects in charge tunneling characteristics of large-area junctions. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 12303–12307
- 19 Park J, Pasupathy A N, Goldsmith J I, et al. Coulomb blockade and the Kondo effect in single-atom transistors. *Nature*, 2002, 417: 722–725
- 20 Ho Choi S, Kim B S, Frisbie C D. Electrical resistance of long conjugated molecular wires. *Science*, 2008, 320: 1482–1486
- 21 Venkataraman L, Klare J E, Nuckolls C, et al. Dependence of single-molecule junction conductance on molecular conformation. *Nature*, 2006, 442: 904–907
- 22 Gehring P, Harzheim A, Spièce J, et al. Field-effect control of grapheme-fullerene thermoelectric nanodevices. *Nano Lett*, 2017, 17: 7055–7061
- 23 Tang C, Huang L, Sangtarash S, et al. Reversible switching between destructive and constructive quantum interference using atomically precise chemical gating of single-molecule junctions. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 9385–9392
- 24 Bai J, Daaoub A, Sangtarash S, et al. Anti-resonance features of destructive quantum interference in single-molecule thiophene junctions achieved by electrochemical gating. *Nat Mater*, 2019, 18: 364–369
- 25 Li Y Q, Buerkle M, Li G F, et al. Gate controlling of quantum interference and direct observation of anti-resonances in single molecule charge transport. *Nat Mater*, 2019, 18: 357–363
- 26 Huang C, Jevric M, Borges A, et al. Single-molecule detection of dihydroazulene photo-thermal reaction using break junction technique. *Nat Commun*, 2017, 8: 15436
- 27 Li Y, Xiang L, Palma J L, et al. Thermoelectric effect and its dependence on molecular length and sequence in single DNA molecules. *Nat Commun*, 2016, 7: 11294
- 28 Tan A, Balachandran J, Sadat S, et al. Effect of length and contact chemistry on the electronic structure and thermoelectric properties of molecular junctions. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 8838–8841
- 29 Cui L, Hur S, Akbar Z A, et al. Thermal conductance of single-molecule junctions. *Nature*, 2019, 572: 628–633
- 30 Huang D, Yao H, Cui Y, et al. Conjugated-backbone effect of organic small molecules for n-type thermoelectric materials with ZT over 0.2. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 13013–13023
- 31 Yang C, Liu Z, Li Y, et al. Electric field-catalyzed single-molecule Diels-Alder reaction dynamics. *Sci Adv*, 2021, 7: eabf0689
- 32 Huang X, Tang C, Li J, et al. Electric field-induced selective catalysis of single-molecule reaction. *Sci Adv*, 2019, 5: eaaw3072
- 33 Whalley A C, Steigerwald M L, Guo X, et al. Reversible switching in molecular electronic devices. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 12590–12591
- 34 Jia C, Migliore A, Xin N, et al. Covalently bonded single-molecule junctions with stable and reversible photoswitched conductivity. *Science*, 2016, 352: 1443–1445
- 35 Díez-Pérez I, Li Z, Guo S, et al. Ambipolar transport in an electrochemically gated single-molecule field-effect transistor. *ACS Nano*, 2012, 6: 7044–7052
- 36 Xin N, Li X, Jia C, et al. Tuning charge transport in aromatic-ring single-molecule junctions via ionic-liquid gating. *Angew Chem*, 2018, 130: 14222–14227
- 37 Meng L, Xin N, Hu C, et al. Dual-gated single-molecule field-effect transistors beyond Moore's law. *Nat Commun*, 2022, 13: 1410
- 38 Fu H, Zhu X, Li P, et al. Recent progress in single-molecule transistors: Their designs, mechanisms and applications. *J Mater Chem C*, 2022, 10: 2375–2389
- 39 Aviram A, Ratner M A. Molecular rectifiers. *Chem Phys Lett*, 1974, 29: 277–283
- 40 Xiang D, Wang X, Jia C, et al. Molecular-scale electronics: From concept to function. *Chem Rev*, 2016, 116: 4318–4440
- 41 Zhao J, Yu C, Wang N, et al. Molecular rectification based on asymmetrical molecule-electrode contact. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 4135–4141
- 42 Vezzoli A, Brooke R J, Higgins S J, et al. Single-molecule photocurrent at a metal-molecule-semiconductor junction. *Nano Lett*, 2017, 17: 6702–

6707

- 43 Kim T, Liu Z F, Lee C, et al. Charge transport and rectification in molecular junctions formed with carbon-based electrodes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 10928–10932
- 44 Zhou Y, Zheng X, Xu Y, et al. Current rectification by asymmetric molecules: An *ab initio* study. *J Chem Phys*, 2006, 125: 244701
- 45 Capozzi B, Xia J, Adak O, et al. Single-molecule diodes with high rectification ratios through environmental control. *Nat Nanotechnol*, 2015, 10: 522–527
- 46 Darwish N, Aragonès A C, Darwish T, et al. Multi-responsive photo- and chemo-electrical single-molecule switches. *Nano Lett*, 2014, 14: 7064–7070
- 47 Fregoni J, Granucci G, Coccia E, et al. Manipulating azobenzene photoisomerization through strong light-molecule coupling. *Nat Commun*, 2018, 9: 4688
- 48 Moo J G S, Presolski S, Pumera M. Photochromic spatiotemporal control of bubble-propelled micromotors by a spiropyran molecular switch. *ACS Nano*, 2016, 10: 3543–3552
- 49 Jean-Ruel H, Cooney R R, Gao M, et al. Femtosecond dynamics of the ring closing process of diarylethene: A case study of electrocyclic reactions in photochromic single crystals. *J Phys Chem A*, 2011, 115: 13158–13168
- 50 Xin N, Wang J, Jia C, et al. Stereoelectronic effect-induced conductance switching in aromatic chain single-molecule junctions. *Nano Lett*, 2017, 17: 856–861
- 51 Su T A, Li H, Steigerwald M L, et al. Stereoelectronic switching in single-molecule junctions. *Nat Chem*, 2015, 7: 215–220
- 52 Wagner S, Kisslinger F, Ballmann S, et al. Switching of a coupled spin pair in a single-molecule junction. *Nat Nanotechnol*, 2013, 8: 575–579
- 53 Wu S W, Ogawa N, Ho W. Atomic-scale coupling of photons to single-molecule junctions. *Science*, 2006, 312: 1362–1365
- 54 Zhong D, Franke J H, Podiyanachari S K, et al. Linear alkane polymerization on a gold surface. *Science*, 2011, 334: 213–216
- 55 Guo W, Yin J, Xu Z, et al. Visualization of on-surface ethylene polymerization through ethylene insertion. *Science*, 2022, 375: 1188–1191
- 56 Verlhac B, Bachellier N, Garnier L, et al. Atomic-scale spin sensing with a single molecule at the apex of a scanning tunneling microscope. *Science*, 2019, 366: 623–627
- 57 Zhang J, Chen P, Yuan B, et al. Real-space identification of intermolecular bonding with atomic force microscopy. *Science*, 2013, 342: 611–614
- 58 Peng J, Cao D, He Z, et al. The effect of hydration number on the interfacial transport of sodium ions. *Nature*, 2018, 557: 701–705
- 59 Zhong Q, Ihle A, Ahles S, et al. Constructing covalent organic nanoarchitectures molecule by molecule via scanning probe manipulation. *Nat Chem*, 2021, 13: 1133–1139
- 60 Feldman A K, Steigerwald M L, Guo X, et al. Molecular electronic devices based on single-walled carbon nanotube electrodes. *Acc Chem Res*, 2008, 41: 1731–1741
- 61 Sorgenfrei S, Chiu C, Gonzalez Jr R L, et al. Label-free single-molecule detection of DNA-hybridization kinetics with a carbon nanotube field-effect transistor. *Nat Nanotechnol*, 2011, 6: 126–132
- 62 Liu H, He J, Tang J, et al. Translocation of single-stranded DNA through single-walled carbon nanotubes. *Science*, 2010, 327: 64–67
- 63 He G, Li J, Ci H N, et al. Direct measurement of single-molecule DNA hybridization dynamics with single-base resolution. *Angew Chem Int Edit*, 2016, 55: 9036–9040
- 64 Kasianowicz J J, Brandin E, Branton D, et al. Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 13770–13773
- 65 Bayley H, Cremer P S. Stochastic sensors inspired by biology. *Nature*, 2001, 413: 226–230
- 66 Nivala J, Marks D B, Akeson M. Unfoldase-mediated protein translocation through an α -hemolysin nanopore. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 247–250
- 67 Im J O, Lindsay S, Wang X, et al. Single molecule identification and quantification of glycosaminoglycans using solid-state nanopores. *ACS Nano*, 2019, 13: 6308–6318
- 68 Sathe C, Zou X, Leburton J P, et al. Computational investigation of DNA detection using graphene nanopores. *ACS Nano*, 2011, 5: 8842–8851
- 69 Farimani A B, Dibaeinia P, Aluru N R. DNA origami-graphene hybrid nanopore for DNA detection. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 92–100
- 70 Goodwin S, Gurtowski J, Ethe-Sayers S, et al. Oxford Nanopore sequencing, hybrid error correction, and de novo assembly of a eukaryotic genome. *Genome Res*, 2015, 25: 1750–1756
- 71 Hu Z, Huo M, Ying Y, et al. Biological nanopore approach for single-molecule protein sequencing. *Angew Chem Int Edit*, 2021, 60: 14738–14749
- 72 Dong B, Pei Y, Zhao F, et al. *In situ* quantitative single-molecule study of dynamic catalytic processes in nanoconfinement. *Nat Catal*, 2018, 1: 135–140
- 73 Thakur A K, Movileanu L. Real-time measurement of protein-protein interactions at single-molecule resolution using a biological nanopore. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 96–101
- 74 Brinkerhoff H, Kang A S W, Liu J, et al. Multiple rereads of single proteins at single-amino acid resolution using nanopores. *Science*, 2021, 374: 1509–1513

- 75 Li M Y, Ying Y L, Yu J, et al. Revisiting the origin of nanopore current blockage for volume difference sensing at the atomic level. *JACS Au*, 2021, 1: 967–976
- 76 Wang Y, Zhang S, Jia W, et al. Identification of nucleoside monophosphates and their epigenetic modifications using an engineered nanopore. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17: 976–983
- 77 Brouwer I, Patel H P, Meeussen J V W, et al. Single-molecule fluorescence imaging in living *Saccharomyces cerevisiae* cells. *STAR Protocols*, 2020, 1: 100142
- 78 Yin Y, Yang L, Zheng G, et al. Dynamics of spontaneous flipping of a mismatched base in DNA duplex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 8043–8048
- 79 Deindl S, Hwang W L, Hota S K, et al. ISWI remodelers slide nucleosomes with coordinated multi-base-pair entry steps and single-base-pair exit steps. *Cell*, 2013, 152: 442–452
- 80 Axelrod D. Total internal reflection fluorescence microscopy in cell biology. *Traffic*, 2001, 11: 764–774
- 81 Dong B, Pei Y, Mansour N, et al. Deciphering nanoconfinement effects on molecular orientation and reaction intermediate by single molecule imaging. *Nat Commun*, 2019, 10: 4815
- 82 Rust M J, Bates M, Zhuang X. Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM). *Nat Methods*, 2006, 3: 793–796
- 83 Wang W, Li G W, Chen C, et al. Chromosome organization by a nucleoid-associated protein in live bacteria. *Science*, 2011, 333: 1445–1449
- 84 Dong J, Lu Y, Xu Y, et al. Direct imaging of single-molecule electrochemical reactions in solution. *Nature*, 2021, 596: 244–249
- 85 Wu C Y, Wolf W J, Levartovsky Y, et al. High-spatial-resolution mapping of catalytic reactions on single particles. *Nature*, 2017, 541: 511–515
- 86 Yang B, Chen G, Ghafoor A, et al. Sub-nanometre resolution in single-molecule photoluminescence imaging. *Nat Photonics*, 2020, 14: 693–699
- 87 Verma P. Tip-enhanced Raman spectroscopy: Technique and recent advances. *Chem Rev*, 2017, 117: 6447–6466
- 88 Zhong J H, Jin X, Meng L, et al. Probing the electronic and catalytic properties of a bimetallic surface with 3 nm resolution. *Nat Nanotechnol*, 2017, 12: 132–136
- 89 Zhang R, Zhang Y, Dong Z C, et al. Chemical mapping of a single molecule by plasmon-enhanced Raman scattering. *Nature*, 2013, 498: 82–86
- 90 Zhang Y, Yang B, Ghafoor A, et al. Visually constructing the chemical structure of a single molecule by scanning Raman picoscopy. *Natl Sci Rev*, 2019, 6: 1169–1175
- 91 Ladenthin J N, Frederiksen T, Persson M, et al. Force-induced tautomerization in a single molecule. *Nat Chem*, 2016, 8: 935–940
- 92 Peng J, Guo J, Hapala P, et al. Weakly perturbative imaging of interfacial water with submolecular resolution by atomic force microscopy. *Nat Commun*, 2018, 9: 122
- 93 Xu J, Zhu X, Tan S, et al. Determining structural and chemical heterogeneities of surface species at the single-bond limit. *Science*, 2021, 371: 818–822
- 94 Bustamante C J, Chemla Y R, Liu S, et al. Optical tweezers in single-molecule biophysics. *Nat Rev Methods Primers*, 2021, 1: 25
- 95 Ashkin A, Dziedzic J M, Bjorkholm J E, et al. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Opt Lett*, 1986, 11: 288–290
- 96 Juan M L, Righini M, Quidant R. Plasmon nano-optical tweezers. *Nat Photonics*, 2011, 5: 349–356
- 97 Patrick E M, Slivka J D, Payne B, et al. Observation of processive telomerase catalysis using high-resolution optical tweezers. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 801–809
- 98 Neuman K C, Nagy A. Single-molecule force spectroscopy: Optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy. *Nat Methods*, 2008, 5: 491–505
- 99 Dahal N, Sharma S, Phan B, et al. Mechanical regulation of talin through binding and history-dependent unfolding. *Sci Adv*, 2022, 8: eabl7719
- 100 van Loenhout M T J, de Grunt M V, Dekker C. Dynamics of DNA supercoils. *Science*, 2012, 338: 94–97
- 101 Segawa Y, Kuwayama M, Hijikata Y, et al. Topological molecular nanocarbons: All-benzene catenane and trefoil knot. *Science*, 2019, 365: 272–276
- 102 Naaman R, Paltiel Y, Waldeck D H. Chiral molecules and the electron spin. *Nat Rev Chem*, 2019, 3: 250–260
- 103 Xie Y, Zhao H, Wang Y, et al. Quantum interference in $H + HD \rightarrow H_2 + D$ between direct abstraction and roaming insertion pathways. *Science*, 2020, 368: 767–771
- 104 Liu Y, Nappi M, Arceo E, et al. Asymmetric catalysis of Diels-Alder reactions with *in situ* generated heterocyclic *ortho*-quinodimethanes. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 15212–15218
- 105 Cen S, Huang N, Lian D, et al. Conformational enantiodiscrimination for asymmetric construction of atropisomers. *Nat Commun*, 2022, 13: 4735
- 106 Sun K, Tan D, Fang X, et al. Three-dimensional direct lithography of stable perovskite nanocrystals in glass. *Science*, 2022, 375: 307–310
- 107 Mai H X, Le T C, Chen D H, et al. Can artificial intelligence and machine learning be used to accelerate sustainable chemistry and engineering? *Chem Rev*, 2022, 122: 13478–13515

Summary for “单分子科学的机遇与挑战”

Opportunities and challenges of single molecule science

Li Cheng¹, Chuangcheng Jia^{1,2*} & Xuefeng Guo^{1,2*}

¹ Center of Single-Molecule Sciences, Institute of Modern Optics, Frontiers Science Center for New Organic Matter, Tianjin Key Laboratory of Micro-scale Optical Information Science and Technology, College of Electronic Information and Optical Engineering, Nankai University, Tianjin 300350, China;

² National Biomedical Imaging Center, Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

* Corresponding authors, E-mail: jiacc@nankai.edu.cn; guoxf@pku.edu.cn

Single-molecule science focuses its perspective on the microscopic scale, reveals a series of novel phenomena and properties different from macroscopic materials, and effectively circumvents the interference of ensemble average. Meanwhile, the construction of functional devices based on single molecules is expected to meet the demand for miniaturization and high integration of electronic devices, thus conforming to the national strategies for device miniaturization in the information field. Specifically, single-molecule science studies multi-dimensional contents, such as molecular conformation design, single-molecule super-resolution imaging/mechanical manipulation, and characterization/theoretical simulation of single-molecule physical and chemical properties. As an advanced interdisciplinary field, single-molecule science can inject impetus into the continuous development of multiple disciplines, such as physics, chemistry, biology and materials, and has become the commanding heights of competition in the world. There are many interesting and elegant opportunities in the field of single-molecule science, and great progress has been made so far. For example, single-molecule junction electrical platforms allow real-time adjustment of the physical properties of single molecules and capture of transition states in chemical reactions. At the same time, single-molecule junctions also show satisfactory results in the construction of single-molecule electronic devices including field-effect transistors, rectifiers and switches. Advances in micro-nano characterization technologies represented by high-resolution scanning probes enable molecular imaging at the single-bond level. In the meantime, with the help of atomic force microscopy, magnetic tweezers, optical tweezers and other sophisticated mechanical instruments, it is possible to achieve reliable manipulation of the movement and chemical reaction process of individual molecules. In addition to these, the combination of nanomaterials and single molecules promotes the implementation of new functions. For example, the nanopore platform based on current signals not only contributes to the industrialization of single-molecule DNA sequencing, but allows real-time and label-free characterization of the conformation and sequence of biological molecules such as proteins. During this process, Chinese scholars have actively made plenty of outstanding contributions to the development of single-molecule science. Up to now, a series of exciting breakthroughs and challenges have emerged in the field of single-molecule science. Based on the above background, we comprehensively summarize the recent progress in single-molecule research with the theme of single-molecule science. Firstly, the significance of exploring single-molecule science and technology is expounded from the perspective of scientific research and practical application. Subsequently, major advances in multidimensional technologies are introduced in detail, including electronics based on single-molecule junctions, mechanics and optics based on scanning probes, and biophysical characterization based on nanopores. Finally, we conclude with a comprehensive outlook on potential opportunities and challenges of single-molecule science in the future. Although a series of achievements have been made, it must be noted that it is still a challenge to directly apply the experimental findings of single-molecule science to practical applications. In the future, the preparation and application of single-molecule devices, the characterization and regulation of novel physical properties of single molecules, the refinement and improvement of the theoretical framework of single-molecule reactions, the development and promotion of single-molecule biophysics and sequencing technology, and the establishment and optimization of the theoretical model of single-molecule science all need to be further explored. As the title indicates, the study of single molecules presents both challenges and opportunities. After all, a single molecule is the smallest stable unit in the material world. Only with patience and innovation can we unveil the infinite charm of single-molecule science.

single-molecule device, scanning probe, single-molecule optics, single-molecule mechanics, nanostructures

doi: [10.1360/TB-2022-1112](https://doi.org/10.1360/TB-2022-1112)