

Корреляционная теория флуктуаций флуоресценции одинокных молекул, случайно движущихся в наноклодце

В. В. Климов¹⁾

Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, 119991 Москва, Россия

Институт спектроскопии РАН, 108840 Троицк, Москва, Россия

Поступила в редакцию 24 июня 2024 г.

После переработки 22 июля 2024 г.

Принята к публикации 23 июля 2024 г.

Предложен регулярный способ количественного описания флуоресценции молекул, случайно движущихся в наноклодце. Найдены корреляционные функции флуоресценции одиночных молекул в зависимости от геометрии наноклодца и глубины проникновения в него возбуждающего поля. Полученные результаты позволят не только количественно анализировать свойства молекул, но и извлекать информацию о параметрах наноклодца.

DOI: 10.31857/S0370274X24080135, EDN: LFPGNG

1. Введение. В настоящее время важным экспериментальным инструментом исследования динамических свойств молекул, макромолекул и наночастиц в различных средах и химических реакций между ними является метод флуоресцентной корреляционной спектроскопии (Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS, см., например, [1–3]), в котором экспериментально измеряется и потом анализируется автокорреляционная функция интенсивности флуоресценции

$$G(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I \rangle^2} - 1, \quad G(\infty) = 0, \quad (1)$$

где $I(t)$ обозначает сигнал фотодетектора, а угловые скобки обозначают усреднение по времени.

Обычно FCS используется в контексте оптической микроскопии [1–3]. В этих методах свет фокусируется на образце, и измеренные флуктуации интенсивности флуоресценции (из-за диффузии молекул, физических или химических факторов, агрегации и т.д.) анализируются с помощью автокорреляционной функции интенсивности флуоресценции.

Современные нанотехнологии привели к развитию нанооптики, в которой оптические поля можно локализовать на наномасштабах, т.е. на масштабах, много меньших длины волны света в вакууме. В нанооптике особенно интересны эффекты, связанные с локализацией света в одиночных нанодоверстиях [4] и с влиянием нанодоверстий на излучение молекул [5–9]. В упорядоченных решетках нанодовер-

стий в металлических нанопленках возникают экстраординарное прохождение света [10–12] и гигантская асимметрия прохождения света [13], невозможные для одиночных отверстий.

Нанодоверстия в металлических нанопленках могут иметь объемы на порядки меньшие, чем объемы, достигаемые с помощью конфокальной микроскопии. В силу этого в таких нанодоверстиях не может распространяться оптическое излучение, и потому их сейчас часто называют наноклодцами (Nanowell, NW) или безмодовыми волноводами (Zero-Mode Waveguide, ZMW).

ZMW открывают совершенно новые перспективы анализа динамики молекул на основе изучения флуктуаций их флуоресценции [14–30]. На рисунке 1 иллюстрируется различие динамики флуоресцирующих молекул в свободном пространстве и внутри ZMW.

Из рисунка 1 видно, что при существенно субволновых размерах ZMW адресация молекул становится существенно более точной, а шумы от окружающего пространства существенно ограничиваются.

С другой стороны, структура ZMW является очень сложной и зависит от многих параметров: от качества литографии, от материалов пленки, в которой сделаны отверстия, от того, как функционализированы дно и стенки ZMW, от природы взаимодействия молекул и стенок ZMW (гашение), от структуры поля возбуждения и т.д.

Поэтому главная проблема описания флуоресценции в ZMW заключается в сложном характере взаимодействия света и молекул с дном и стенками

¹⁾e-mail: klimovvv@lebedev.ru

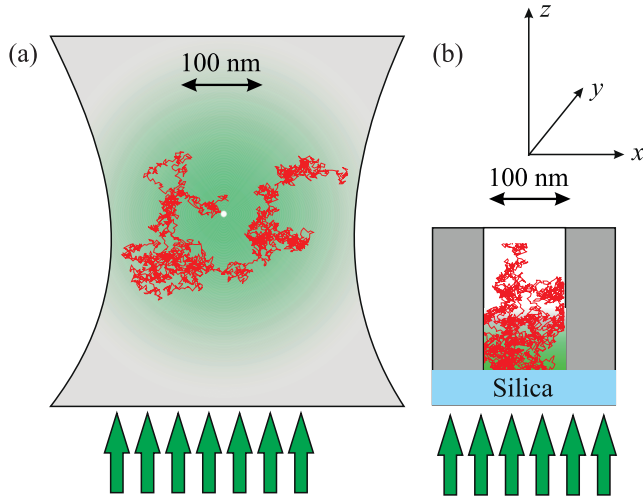


Рис. 1. (Цветной онлайн) Геометрия диффузии молекул в свободном пространстве в сфокусированном пучке (a) и в эванесцентном (экспоненциально спадающем) поле открытого ZMW (b). Красная кривая – траектория броуновского движение молекулы красителя цианин 3 (Cy3) в течение 60 мкс (временной шаг – 20 нс). Зеленые стрелки обозначают возбуждающее поле

волновода. В силу этого анализ флуоресценции молекул может помочь не только определить диффузионные свойства молекул, но и свойства ZMW: размеры, качество стенок [17] и т.д.

Эффективность FCS критически связана с наличием модели, которая связывает измеренные корреляционные функции с параметрами ZMW.

Когда известна подходящая модель, FCS может дать информацию о таких параметрах как:

- коэффициенты диффузии;
- гидродинамические радиусы;
- средние концентрации;
- скорости кинетических и химических реакций;
- синглет-триплетная динамика;
- усилении или гашение флуоресценции молекул, находящихся внутри ZMW (эффект Парселла [8, 31]);
- свойства ZMW: размеры, качество стенок (прилипание).

Флуоресценция молекулы, которая свободно диффундирует в однородной жидкости в поле гауссова пучка света, описывается корреляционной функцией (см., например, [1–3]):

$$G_N(\tau) = \frac{1}{N} (1 + \tau/\tau_{\perp})^{-1} (1 + \tau/\tau_{\parallel})^{-1/2} \quad (2)$$

$$\tau_{\perp} = w_{\perp}^2/D_0, \quad \tau_{\parallel} = w_{\parallel}^2/D_0. \quad (3)$$

В (2), (3) N обозначает среднее число молекул в объеме $V = (2\pi)^{3/2} w_{\perp}^2 w_{\parallel}$, D_0 обозначает коэффициент

диффузии молекул в растворителе, w_{\perp} и w_{\parallel} обозначают параметры гауссова пучка, который возбуждает флуоресценцию.

При анализе диффузии в ZMW обычно используется феноменологическое обобщение (2) (см., например, [2, 17]):

$$G_N(\tau) = \frac{1}{N} \sum_i \alpha_i (1 + \tau/\tau_{\perp,i})^{-1} (1 + \tau/\tau_{\parallel,i})^{-1/2}, \quad (4)$$

которое, очевидно, никак не связано с геометрией ZMW, и поэтому не может описать все специфичные для ZMW особенности корреляционной функции.

Целью данной работы является разработка метода нахождения автокорреляционной функции флуоресценции молекул в ZMW с учетом его геометрии. Такой подход позволяет не только глубже понять фундаментальную физику флуоресценции молекул в ZMW, но и обеспечить более полное извлечение информации из экспериментальных данных.

2. Геометрия задачи и основные уравнения. Геометрия задачи показана на рис. 2. В данной исследуется не только стандартный открытый ZMW (рис. 2a), но и родственные геометрии, которые позволяют лучше понять физику флуоресценции в ZMW (рис. 2b и 2c).

Сигнал флуоресценции молекулы зависит как от положения молекулы, так и от ее ориентации. Здесь мы будем рассматривать времена, существенно большие по сравнению с временами корреляции вращательной диффузии молекул, и поэтому сигнал флуоресценции рассматривается как результат усреднения по поляризациям возбуждающего излучения и по ориентациям молекулы. В результате, в случае монохроматического и неполяризованного возбуждающего поля сигнал флуоресценции от молекулы в точке $\mathbf{r}(t)$ может быть описан выражением:

$$I(t) = \text{const} \frac{4|\mathbf{d}_{\text{extabs}}|^2 |\mathbf{E}_{\text{exc}}(\mathbf{r}(t))|^2}{\hbar^2 \Gamma_2} \times \frac{|\mathbf{d}_{\text{det}}|^2 \text{Tr}(\overleftrightarrow{G}(\mathbf{r}_{\text{det}}, \mathbf{r}(t))^2) |\mathbf{d}_{\text{em}}|^2}{\hbar^2 \omega_{\text{em}} \Gamma_{\text{tot}}} =$$

$$= \text{const} |\mathbf{E}_{\text{exc}}(\mathbf{r}(t))|^2 \text{Tr}(\overleftrightarrow{G}(\mathbf{r}_{\text{det}}, \mathbf{r}(t))^2) = P(\mathbf{r}(t)), \quad (5)$$

где $\overleftrightarrow{G}_{\alpha\beta}(\mathbf{r}_{\text{det}}, \mathbf{r})$ обозначает тензорную функцию Грина уравнения Максвелла с дипольным источником [6, 8]; Γ_2 и Γ_{total} обозначают скорости спонтанного излучения молекулы на частоте возбуждения и полную скорость спонтанного распада на частоте излучения ω_{em} соответственно. $\mathbf{E}_{\text{exc}}(\mathbf{r})$ обозначает напряженность электрического поля в ZMW. \mathbf{d}_{abs} , \mathbf{d}_{em} и \mathbf{d}_{det} обозначают дипольные моменты молекулы при

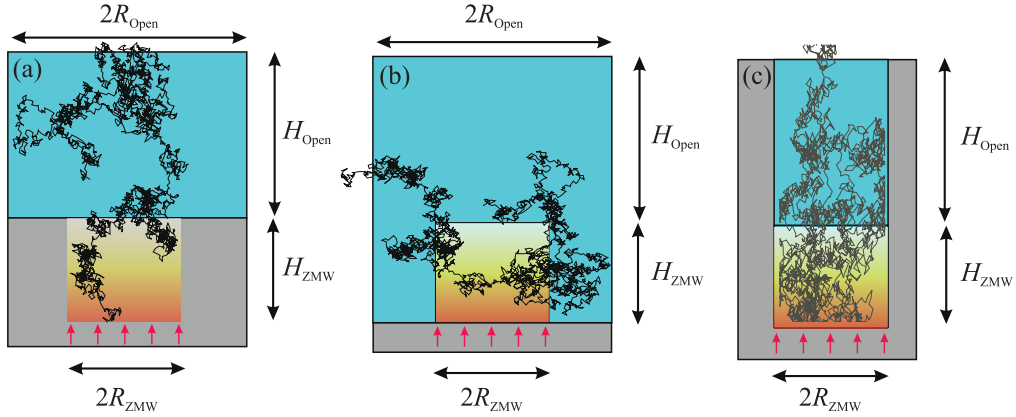


Рис. 2. (Цветной онлайн) Случайное движение молекулы в открытом ZMW (a); в свободном пространстве ($Z > 0$), в котором возбуждающее поле такое же, как и в ZMW (b); в открытом ZMW в виде бесконечного по высоте капилляра с радиусом, равным радиусу ZMW (c). Градиентная красно-желтая заливка обозначает область возбуждающего электромагнитного поля, которое экспоненциально убывает при удалении от дна ZMW. $R_{\text{Open}} \gg R_{\text{ZMW}}$, $H_{\text{Open}} \gg H_{\text{ZMW}}$

поглощению и испусканию света, и эффективный дипольный момент детектора, соответственно.

Важно заметить, что в (5) учитывается как спадание возбуждающего поля внутри наноклодда $|\mathbf{E}(\mathbf{r})|^2 \sim \exp(-z/Z_E)$, так и экспоненциально убывающая вероятность выхода фотона флуоресценции из глубины наноклодда $P_{\text{det}}(\mathbf{r}) \sim \text{Tr}(\langle \vec{G}(\mathbf{r}_{\text{det}}\mathbf{r})^2 \rangle) / \Gamma_{\text{tot}} \sim \exp(-z/Z_P)$, которая может быть оценена из принципа взаимности Лоренца $\langle \vec{G}(\mathbf{r}_{\text{det}}, \mathbf{r}) \rangle = \langle \vec{G}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_{\text{det}}) \rangle$ [32, 33]. В дальнейшем для краткости мы будем называть $P(\mathbf{r})$ в (5) интенсивностью флуоресценции.

На рисунке 3 показано распределение интенсивности возбуждающего электрического поля $|\mathbf{E}(\mathbf{r})|^2$ в ZMW при нормальном падении циркулярно поляризованной волны.

Анализ рисунка 3 показывает, что поле спадает экспоненциально внутри ZMW и что интенсивность флуоресценции (5) от глубины z положения молекулы в ZMW может быть аппроксимирована экспоненциальной функцией:

$$P(r, z) = \begin{cases} e^{-z/L}, & r < R_{\text{ZMW}}, \\ 0, & r > R_{\text{ZMW}}, \end{cases} \quad \frac{1}{L} = \frac{1}{Z_E} + \frac{1}{Z_P}, \quad (6)$$

где $Z_E \approx Z_P$ обозначают глубину проникновения поля в ZMW и длину затухания вероятности фотона выйти из ZMW соответственно.

Наш подход позволяет рассматривать и более сложные модели пространственного распределения интенсивности флуоресценции $P(\mathbf{r})$, но в данной работе мы ограничимся выражением (6), так как это позволит получить аналитические выражения для

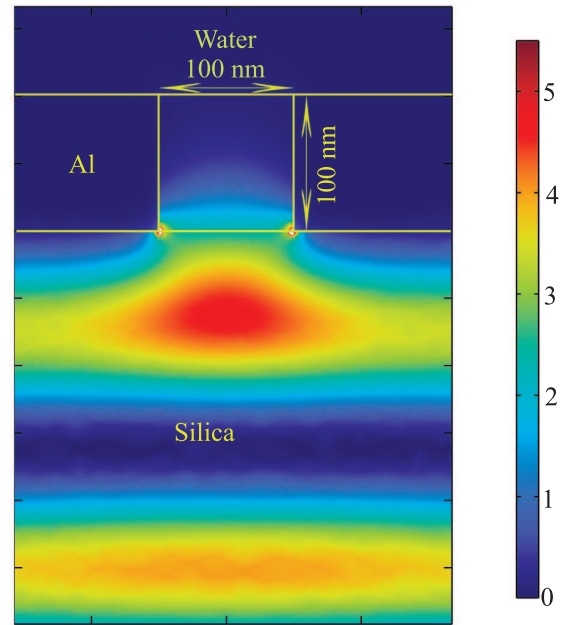


Рис. 3. (Цветной онлайн) Распределение $|\mathbf{E}|^2$ в ZMW в Al пленке на кварцевой подложке, $\lambda = 532$ нм. Циркулярно поляризованная волна падает снизу; видна интерференционная картина, возникающая при отражении света от Al пленки с ZMW

корреляционных функций и лучше понять физику процессов.

Предполагая, что процесс диффузии стационарный, корреляционную функцию флуоресценции одиночной молекулы (1) можно выразить через вероятность $\text{Prob}(\mathbf{r}', t | \mathbf{r}, t + \tau)$ обнаружения молекулы в момент времени $t + \tau$ в точке \mathbf{r} , при условии, что в момент времени t молекула находилась в точке \mathbf{r}' :

$$G(\tau) = \frac{\int_V d\mathbf{r} \int_V d\mathbf{r}' P(\mathbf{r})P(\mathbf{r}') \frac{1}{V} \text{Prob}(\mathbf{r}', t|\mathbf{r}, t + \tau)}{\left(\frac{1}{V} \int_V d\mathbf{r} P(\mathbf{r})\right)^2} - 1. \quad (7)$$

В (7) и далее $V \rightarrow \infty$ обозначает объем, в котором случайно блуждает молекула (см. рис. 2). Используя теорему Фейнмана–Каца [34, 35] $\text{Prob}(\mathbf{r}', t|\mathbf{r}, t + \tau)$ может быть выражена через функцию Грина уравнения диффузии:

$$\text{Prob}(\mathbf{r}', t|\mathbf{r}, t + \tau) = G_{\text{diff}}(\tau, \mathbf{r}, \mathbf{r}'),$$

$$\frac{\partial G_{\text{diff}}(\tau, \mathbf{r}, \mathbf{r}')}{\partial \tau} = D_0 \Delta G_{\text{diff}}(\tau, \mathbf{r}, \mathbf{r}'), \quad \mathbf{r} \in V, \quad (8)$$

$$(\mathbf{n} \nabla) G_{\text{diff}}(\tau, \mathbf{r}, \mathbf{r}') = 0, \quad \mathbf{r} \in S;$$

$$G_{\text{diff}}(0, \mathbf{r}, \mathbf{r}') = \delta^{(3)}(\mathbf{r} - \mathbf{r}').$$

В (8) и ниже S обозначает непроницаемую для молекул поверхность наноклодца, D_0 – коэффициент диффузии и \mathbf{n} обозначает внешнюю нормаль к поверхности.

3. Результаты и их обсуждение. Выражение (7) точное и описывает корреляционную функцию ZMW для любых времен и любых геометрий ZMW. В области малых времен ($\tau \ll L^2/D_0$), разлагая функцию Грина уравнения диффузии по τ и интегрируя по частям, можно найти, что для любой геометрии ZMW

$$G(\tau) = 1 - \tau D_0 \frac{\int_V d\mathbf{r} (\nabla P(\mathbf{r}))^2}{\int_V d\mathbf{r} P^2(\mathbf{r})} \approx$$

$$\approx \exp\left(-\tau D_0 \frac{\int_V d\mathbf{r} (\nabla P(\mathbf{r}))^2}{\int_V d\mathbf{r} P^2(\mathbf{r})}\right), \quad (9)$$

если использовать нормировку на 1 частицу в объеме $V^* = 2\pi L R_{ZMW}^2$, т.е. для концентрации молекул в растворе $n = 1/V^*$. В дальнейшем мы будем рассматривать именно такой случай. Асимптотика (9) весьма замечательна, так как она показывает, что при малых временах корреляционная функция не чувствует форму ZMW, а чувствует только распределение интенсивности флуоресценции (5).

В случае произвольных времен задержки τ аналитические решения можно найти в случае очень тонких пленок $H_{ZMW} \ll L$ (рис. 2b) или очень глубоких $H_{ZMW} \gg L$ наноклодцев (рис. 2c).

Случай очень тонких пленок $H_{ZMW} \ll L$ (рис. 2b) эквивалентен задаче о диффузии молекул в полупространстве $z > 0$, в котором интенсивность флуоресценции описывается уравнением (6). В этом

случае уравнение диффузии решается методом отражения от плоскости $z = 0$ и имеет вид:

$$G_{\text{diff}}(\tau, \mathbf{r}, \mathbf{r}') = \frac{1}{\pi^{3/2} \Delta^3} \times$$

$$\times \exp\left(-\frac{(\mathbf{r} - \mathbf{r}')^2}{\Delta^2}\right) \left(1 + \exp\left(-\frac{4zz'}{\Delta^2}\right)\right), \quad (10)$$

$$\Delta = \sqrt{4D_0\tau}$$

и корреляционную функцию можно записать в виде

$$G(\tau) = \frac{2}{\pi^{1/2}} R^{*2} IR(R^*) L^* IZ(L^*), \quad (11)$$

$$R^* = \frac{R_{ZMW}}{\Delta}; \quad L^* = \frac{L}{\Delta}.$$

В (11)

$$IR(R^*) = \frac{4}{R^{*4}} \int_0^{R^*} \rho d\rho \int_0^{R^*} \rho' d\rho' I_0(2\rho\rho') \exp(-(\rho^2 + \rho'^2)),$$

$$IR(0) \approx 1 - R^{*2}, \quad IR(R^* \rightarrow \infty) = \frac{1}{R^{*2}} - \frac{1}{\sqrt{\pi} R^{*3}}. \quad (12)$$

$$IZ(L^*) = \frac{1}{2L^{*2}} + \frac{e^{\frac{1}{4L^{*2}(-1+2L^{*2})} \sqrt{\pi} \text{erfc}\left(\frac{1}{2L^*}\right)}}{4L^{*3}},$$

$$IZ(0) = 2, \quad (13)$$

$$IZ(L^* \rightarrow \infty) = \frac{\sqrt{\pi}}{2L^*} \left(1 - \frac{1}{4L^{*2}}\right) + \dots$$

В предельном случае очень глубокого ZMW, $H_{\text{Open}} \rightarrow \infty$, т.е. для 1D бесконечного цилиндра (рис. 2c) аналитическое выражение для корреляционной функции имеет вид

$$G_{1D}^{\text{Inf}}(\tau) = \frac{2L^*}{\sqrt{\pi}} IZ(L^*). \quad (14)$$

При произвольных соотношениях между L и H в качестве хорошего приближения можно взять решение уравнения диффузии для замкнутого ZMW, в котором диффузия молекул из ZMW в свободное пространство $z > H_{ZMW}$ учитывается при помощи условия полного поглощения молекул на верхней границе ZMW при $z = H_{ZMW}$. В этом случае корреляционная функция (7) принимает вид:

$$G_{\text{appr}}(\tau) = \frac{\sum_{n=0}^{\infty} e^{-\lambda_n^2 D_0 \tau} a_n^2}{\sum_{n=0}^{\infty} a_n^2}; \quad \lambda_n = \frac{(2n+1)\pi}{2H_{ZMW}};$$

$$a_n = \frac{1 + (-1)^n e^{-\frac{H_{ZMW}}{L}} L \lambda_n}{1 + L^2 \lambda_n^2}. \quad (15)$$

Для точного нахождения корреляционной функции при произвольных параметрах ZMW мы численно решали уравнение диффузии (8) во временной области с начальным значением $G_{\text{diff}}(\mathbf{r}, t = 0) = P(\mathbf{r})$, и потом интегрировали полученное решение для нахождения корреляционной функции

$$G(\tau) = \int_V G_{\text{diff}}(\mathbf{r}, \tau) P(\mathbf{r}) d\mathbf{r}. \quad (16)$$

Для численного решения (8) мы использовали систему COMSOL Multiphysics интерфейс Mathematics > PDE Interfaces > Coefficient Form PDE и прямой MUMPS алгоритм с относительной точностью (relative tolerance) 0.01. Объем области интегрирования выбирался существенно больше объема ZMW, $V_{\text{Open}} = \pi R_{\text{Open}}^2 H_{\text{Open}} \sim 100 V_{\text{ZMW}}$, $V_{\text{ZMW}} = \pi R_{\text{ZMW}}^2 H_{\text{ZMW}}$, размер ячейки сетки в ZMW был равен 0.05 нм. Всего для решения задачи использовалось около 5000000 конечных элементов. В такой конфигурации норма решения сохранялась с точность лучше 5 знаков на интервале до 10 с.

Аналитические результаты и результаты численного интегрирования показаны на рис. 4 сплошными кривыми. Пунктирными линиями того же цвета показывают результаты приближенных вычислений с помощью (15).

Из рисунка 4 видно, что время корреляции в наноклодде с пространственным распределением интенсивности флуоресценции (6) всегда на один-два порядка больше, чем в свободном полупространстве (рис. 2b), т.е. ZMW оказывает существенное влияние на флуоресценцию молекул. Очевидно, это связано с тем, что движение в полупространстве в основном трехмерное, в то время как внутри ZMW движение ближе к одномерному. При временах $\tau < H_{\text{ZMW}}^2 / (4D_0)$ корреляционная функция хорошо описывается корреляционной функцией бесконечно глубокого наноклодда (14), так как за эти времена молекула не успевают выйти из ZMW. При произвольных временах и при произвольной геометрии ZMW приближение (15) неплохо описывает точное решение (7), причем точность возрастает при увеличении глубины наноклодда по сравнению с глубиной проникновения поля L и радиусом ZMW R_0 . При $\tau \gg H_{\text{ZMW}}^2 / (4D_0)$ асимптотика корреляционной функции стремится к корреляционной функции в свободном пространстве (левая черная кривая), т.е. $G(\tau) \sim \tau^{-3/2}$, что конечно согласуется как с (11)–(13), так и с (2), так при достаточно больших временах задержки молекула определенно выйдет из ZMW, а вернуться обратно определенно не сможет из-за трехмерности пространства [34].

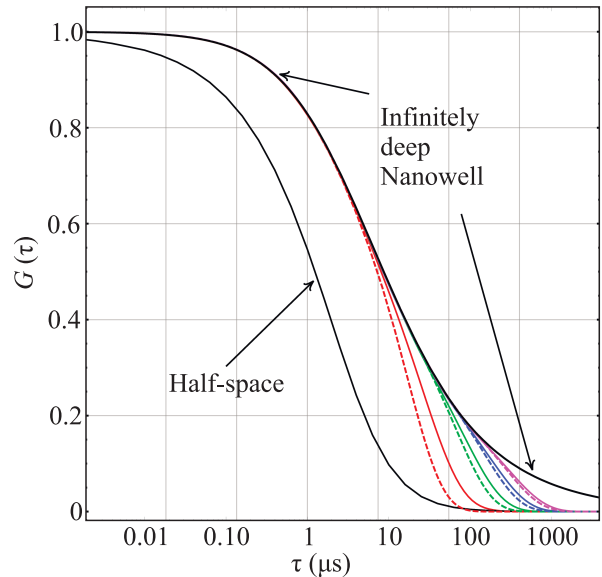


Рис. 4. (Цветной онлайн) Корреляционные функции флуоресценции молекул в наноклодде с различными геометриями. Сплошная черная кривая слева – аналитическое решение для полупространства (11). Сплошная черная кривая справа – аналитическое решение для глубокого ZMW (14). Цветные линии между ними – результаты численного интегрирования при $H_{\text{ZMW}} = 100$ нм (красная), 200 нм (зеленая), 300 нм (синяя), 400 нм (сиреневая). Штриховые цветные кривые – аппроксимация (15). Радиус ZMW во всех случаях 50 нм, коэффициент диффузии $D_0 = 2.4 \times 10^{-4}$ мкм² мкс⁻¹ (Су3 краситель), параметр спада интенсивности флуоресценции (6) $L = 25$ нм

4. Заключение. В данной работе впервые разработана корреляционная теория флуктуаций флуоресценции молекул, случайно блуждающих в открытом наноклодде, и найдены аналитические решения для корреляционной функции флуоресценции. Показано, что в наноклодде времена корреляции флуоресценции на несколько порядков больше времен корреляции в свободном пространстве. Это связано с тем, что диффузия молекул в ZMW существенно ограничена его геометрией. Полученные аналитические выражения определенно будут весьма востребованными при анализе экспериментальных данных при секвенировании ДНК [26, 27] и при решении аналогичных задач, например, при анализе пространственной траектории отдельной молекулы, измеренной с помощью трехмерной флуоресцентной наноскопии [36].

В данной работе рассмотрены наноклодды в металлических пленках с однородным в пространстве распределением коэффициентов диффузии, но разработанные методы могут быть применены и к более

общим случаям, когда дно или стенки функционализированы, и коэффициенты диффузии вблизи них существенно отличаются от коэффициентов диффузии в основном объеме жидкости. Если вблизи стенок существенны эффекты гашения флуоресценции, то это также может быть учтено в нашем подходе путем модификации функции $P(\mathbf{r})$, описывающей интенсивность флуоресценции в точке \mathbf{r} (см. (6)). Пространственная неоднородность коэффициентов диффузии приводит к новым интересным эффектам, которые заслуживают специального исследования.

Флуоресценция и диффузия макромолекул и наночастиц в наноклодах в диэлектрических пленках (трековые мембраны) также представляют значительный интерес [37], однако в этом случае возбуждающее поле не убывает экспоненциально, а проникает на всю глубину наноклода, и описание флуктуаций флуоресценции в такой постановке задачи требует отдельного исследования.

Финансирование. Автор благодарен Российскому научному фонду за финансовую поддержку данной работы (грант # 23-42-00049).

Конфликт интересов. Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов

1. O. Krichevsky and G. Bonnet, Rep. Prog. Phys. **65**, 251 (2002).
2. J. Widengren, U. Mets, and R. Rigler, J. Phys. Chem. **99**, 13368 (1995).
3. S. R. Aragón and R. Pecora, J. Chem. Phys. **64**, 1791 (1976).
4. V. V. Klimov and V. S. Letokhov, Opt. Commun. **106**, 151(1994).
5. V. V. Klimov, D. V. Guzatov, and I. V. Treshin, Phys. Rev. A **91**, 023834 (2015).
6. V. Klimov, *Nanoplasmonics*, Pan Stanford Publishing, Singapore (2014), 586 p.
7. V. V. Klimov, Phys. Rev. Appl. **12**, 014049 (2019).
8. V. V. Klimov, Phys.-Uspekhi **64**, 990 (2021).
9. V. V. Klimov, M. Ducloy, and V. S. Letokhov, Quantum Electron. **31**, 569 (2001).
10. T. W. Ebbesen, H. J. Lezec, H. F. Ghaemi, T. Thio, and P. A. Wolff, Nature **391**, 667 (1998).
11. A. A. Zyablovskii, A. A. Pavlov, V. V. Klimov, A. A. Pukhov, A. V. Dorofeenko, A. P. Vinogradov, and A. A. Lisyanski, JETP **125**, 175 (2017).
12. I. V. Treshin, V. V. Klimov, P. N. Melentiev, and V. I. Balykin, Phys. Rev. A **88**, 023832 (2013).
13. V. V. Klimov, I. V. Treshin, A. S. Shalin, P. N. Melentiev, A. A. Kuzin, A. E. Afanasiev, and V. I. Balykin, Phys. Rev. A **92**, 063842 (2015).
14. S. Yang, N. Klughammer, A. Barth, M. E. Tanenbaum, and C. Dekker, ACS Nano **17**, 20179 (2023).
15. F. H. C. van Loenhout, *Designing zero-mode waveguides for fluorescence experiments on α -synuclein and DNA*, Masters' thesis Education and Communication in the Beta Sciences July 2022; <https://purl.utwente.nl/essays/95017>.
16. J. M. Chandler and H. Xu, AIP Adv. **11**, 065112 (2021).
17. S. Patra, M. Baibakov, J.-B. Claude, and J. Wenger, Sci. Rep. **10**, 5235 (2020).
18. G. M. Crouch, D. Han, and P. W. Bohn, J. Phys. D Appl. Phys. **51**, 193001 (2018).
19. J.-B. Claude, S. Patra, N. Bonod, and J. Wenger, Nano Lett. **19**, 7434(2019).
20. S. Patra, J.-B. Claude, J.-V. Naubron, and J. Wenger, Nucleic Acids Res. **49**, 12348 (2021).
21. M. Baibakov, A. Barulin, P. Roy, J.-B. Claude, S. Patra, and J. Wenger, Nanoscale Adv. **2**, 4153 (2020).
22. J. Larkin, R. Y. Henley, V. Jadhav, J. Korlach, and M. Wanunu, Nat. Nanotechnol. **12**, 1169 (2017).
23. M. Baibakov, S. Patra, J.-B. Claude, A. Moreau, J. Lumeau, and J. Wenger, ACS Nano **13**, 8469(2019).
24. V. Jadhav, D. P. Hoogerheide, J. Korlach, and M. Wanunu, Nano Lett. **19**, 921 (2019).
25. P. Ponzellini, X. Zambrana-Puyalto, N. Maccaferri, L. Lanzanò, F. De Angelis, and D. Garoli, Nanoscale **10**, 17362 (2018).
26. J. Chena, R. V. Dalal, A. N. Petrov, and J. D. Puglisi, PNAS **111**(2), 664 (2014).
27. A. Rhoads and K. F. Au, Genomics Proteomics Bioinformatics **13**, 278 (2015).
28. A. Al Masud, S. M. N. Arefin, F. Fairouz, X. Fu, F. Moonschi, B. R. Srijanto, K. R. Neupane, S. Aryal, R. Calabro, D.-Y. Kim, C. P. Collier, M. H. Chowdhury, and C. I. Richards, J. Phys. Chem. Lett. **12**, 3303 (2021).
29. A. Barulin and I. Kim, Opt. Express **31**, 12162 (2023).
30. A. Barulin, Y. Kim, D. K. Oh, J. Jang, H. Park, J. Rho, and I. Kim, Nat. Commun. **15**, 26 (2024).
31. E. M. Purcell, Phys. Rev. **69**, 681 (1946).
32. R. J. Potton, Rep. Prog. Phys. **67**, 717 (2004).
33. H. A. Lorentz, *Het theorema van Poynting over de energie in het electromagnetisch veld en een paar algemeene stellingen over de voortplanting van het licht*, Verslagen der Afdeeling Natuurkunde van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen **4**, 176 (1895).
34. М. Кац, *Вероятность и смежные вопросы в физике*, Мир, М. (1965) [M. Kac, *Probability and Related Topics in Physical Sciences. With special lectures by G. E. Uhlenbeck, A. R. Hibbs, and Balth. van del' Pol*, Lectures in Applied Mathematics, Interscience Publishers, Inc.; Interscience Publishers, Ltd., N.Y., London (1959), v. 1, XIII +266 p.
35. R. M. Mazo, *Brownian Motion: Fluctuations, Dynamics, and Applications*, Clarendon, Oxford (2002), 289 p.

36. И. Ю. Ерёмчев, Д. В. Проконова, Н. Н. Лосевский, И. Т. Мынжасаров, С. П. Котова, А. В. Наумов, УФН **192**, 663 (2022).
37. С. И. Кулик, И. Ю. Ерёмчев, П. Ю. Апель, Д. Л. Загорский, А. В. Наумов, Журнал прикладной спектроскопии **85**, 814 (2018).