الجمهوريّة العربيّة السّوريّة

وزارة التربية

المركز الوطني للمتميّزين

SUPER-RESOLVED FLUORESCENCE MICROSCOPY

إجهارية التآلق

إعداد الطالب: سليم حنا

إشراف المدرّس: لؤي حمرة

عالية الدقة

حلقة بحثٍ في الكيمياء

العام الدراسي 2014-2015 م

هذه الصفحة تُركَت فارغةً عمداً

مقدّمة:

لطالما كان لدى البعض عداءٌ تجاه المعتقدات القديمة في المجتمع؛ والعلم كالمجتمع فيه من النظريات القديمة التي قيدت قدراتنا على البحث ما جعل البعض يعملون على تجاوز هذه النظريات واختراق الحدود القديمة، وبذلك حققوا أعظم الاكتشافات العلمية واستحقوا لأجلها التكريم.

فجائزة نوبل في الكيمياء الصادرة عن الأكاديمية الملكية السويدية للعلوم مُنحت لعام 2014 لكل من إيريك بيتزيك Eric Betzig وستيفان هيل Stefan W. Hell ووليام مورنر William E. Moerner؛ وذلك لتجاوزهم حداً علمياً افتراضياً يشترط أن المجهر الضوئي لا يمكن أن يعطي أبداً دقة أفضل من 0.2 ميكرو متر.

فباستخدام الجزيئات المتألقة(المُفَلوَرة)[1] والمجهر الضوئي المُفَلوَر أصبح العلماء الآن قادرين على مراقبة التأثير المتبادل بين الجزيئات (كل جزيئة على حدىً) في داخل الخلايا، حيث أصبح بإمكانهم مراقبة إجمالي البروتينات المرتبطة بالأمراض بالإضافة إلى تعقّب انقسام الخلية على المستوى النانوي.

تاريخياً كان المجهر الضوئي أداةً أساسيةً في علم الأحياء، فمنذ درس العلماء عضياتٍ حيةً تحت المجهر الضوئي لأول مرةٍ في القرن السابع عشر فُتح عالمٌ جديدٌ أمام أعينهم، وكانت تلك ولادة علم الأحياء المجهري، ومنذ ذلك الحين أصبح المجهر الضوئي أهم أداة في الأبحاث الحيوية، لكن مشكلته كانت في عدم قدرته على التكبير للأبعاد النانوية؛ مما دفع العلماء للبحث عن أساليب أخرى كالمجهر الالكتروني الذي يصل للأبعاد النانوية ولكن بالمقابل يجب قتل المادة الحية قبل فحصها تحته.

ولذلك برزت مشكلةٌ أساسيةٌ وهي دراسة المادة الحية بأبعادٍ نانوية دون قتلها؛ فمن هنا ظهرت فكرة **المجهر المُفَلوَر عالي الدقة الذي يدرس المادة الحية بالأبعاد النانوية دون الحاجة إلى قتلها، وهذا اختراعٌ يستحق البحث في مبدأه وآلية عمله واستخداماته.**

[1] الجزيئات المتألقة (المفلورة): هي الجزيئات التي تصدر إشعاعاً (تتألق) (وخاصة الضوء المرئي) عند تعريضها إلى إشعاع خارجي كالضوء أو الأشعة السينية.

فهرس المحتويات

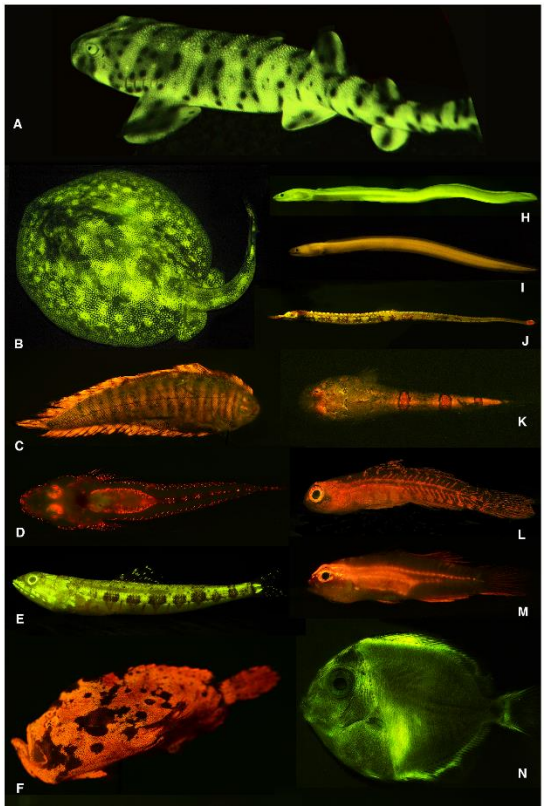
الموضوع		رقم الصفحة
مقدّمة		2
الباب الأوّل	**مبادئٌ ونظرياتٌ**	
الفصل الأوّل	التألّق والجزيئات المتألّقة	4
الفصل الثاني	الجزيئات المتألّقة تتخطى حدّاً فيزيائياً	7
الباب الثّاني	**آليات وطرق عمل المجهر المُفَلوَر عالي الدقة**	
الفصل الأوّل	تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ STED	9
الفصل الثاني	مطيافية الجزيء المُفَلوَر الوحيد	13
خاتمة		15
قائمة المصادر والمراجع		16
فهرس الأشكال		18
فهرس الجداول		18

الباب الأول: مبادئ ونظريات

الفصل الأول: التألّق والجزيئات المتألّقة[2]

الشكل 1. فلزاتٌ متألّقةٌ تصدر ضوءاً مرئياً عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية.

التألّق Fluorescence (أو الاستشعاع) هو إصدار الضوء من قبل مادة كانت قد امتصت قبلاً ضوءاً أو إشعاعاً كهرومغناطيسياً آخر ويتوقف هذا الإصدار فجأةً عند توقف الطاقة المحفزة، وفي معظم الحالات يكون الضوء الصادر ذو طول موجة أطول من الإشعاع الممتص ونتيجةً لذلك يكون أخفض منه بالطاقة.



الشكل 2. أسماك بحرية يمكنها أن تتألّق.

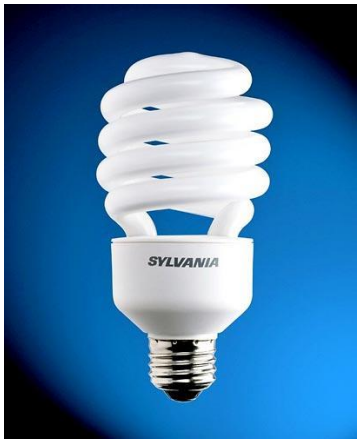
ومن الأمثلة المميزة لهذه الظاهرة هو التألّق الناتج عن امتصاص إشعاع من منطقة فوق البنفسجي (أي أنه غير مرئي للعين المجردة) وإصدار ضوءٍ من منطقة الضوء المرئي؛ فيبدو الجسم وكأنّه يتألّق من تلقاء نفسه.

ويوجد العديد من التطبيقات العملية للتألّق؛ بما في ذلك صناعة المعادن والجواهر، وأجهزة الكشف الكيميائية (مطيافية التألّق أو الفلورة[3] fluorescence spectroscopy)، ووضع العلامات الفلورية، والأصبغة، وأجهزة

[2] An article entitled " Fluorescence" http://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescence 9/1/2015 (5:30 PM)

[3] مطيافية التألّق أو الفلورة: هي نوع من المطيافيات الكهرومغناطيسية التي تحلّل الضوء الصادر عن عينة متألّقة وتستعمله في تحديد هوية هذه العينة.

الكشف الحيوية، والكشف عن الأشعة الكونية، والأكثر شيوعاً مصابيح الفلورسنت[4]، كما يحدث التألّق أيضاً في كثير من الأحيان في الطبيعة في بعض المعادن وفي حالات حيوية عديدة في العديد من فروع المملكة الحيوانية.



الشكل 3. مصباح الفلورسنت

كيميائياً تمّ تفسير التألّق على أنه عودة الكترون في جزيء أو ذرة أو بنية نانوية إلى حالته الأرضية (سويته الطاقية الدنيا) وذلك بعد إثارته إلى سوية طاقية أعلى من خلال بعض أنواع الطاقة، ويعبر عن ذلك بالمعادلات التالية:

$$S_0 + hv_{ex} \rightarrow S_1 \quad \text{(مرحلة الإثارة)}$$

$$S_1 \rightarrow S_0 + hv_{em} + \text{حرارة} \quad \text{(مرحلة التألّق)}$$

S_0: الحالة الأرضية (السوية الطاقية الدنيا) S_1: أول سوية طاقية ينتقل إليها الالكترون المثار للجزيء المتألّق

hv: مصطلح يشير إلى الطاقة الضوئية (طاقة الفوتون) حيث:

h: ثابت بلانك v_{ex}: تواتر الشعاع المثير v_{em}: تواتر الشعاع الصادر

ويوجد ما يسمى بالمردود الكوانتي (الكمومي) (Quantum yield) وهو مقدار يعطي مدى فعالية عملية التألّق، ويساوي نسبة عدد الفوتونات المصدرة إلى عدد الفوتونات الممتصة، كما في العبارة:

$$\Phi = \frac{\text{عدد الفوتونات المصدرة}}{\text{عدد الفوتونات الممتصة}} \qquad (1)$$

ويشير زمن التألّق (the fluorescence lifetime) إلى الزمن المتوسط الذي تبقى فيه الكترونات الجزيء في حالتها المثارة قبل أن تصدر فوتوناً، ويتبع زمن التألّق قانون سرعة التفاعل من المرتبة الأولى:

[4] مصابيح الفلورسنت والمعروفة أيضاً بالمصابيح الموفرة للطاقة.

$$[S_1] = [S_1]_0 \, e^{-kt} \quad (2)$$

$[S_1]$: تركيز الجزيئات المثارة عند الزمن t $[S_1]_0$: التركيز الابتدائي للجزيئات المثارة

k: ثابت سرعة التفاعل t: الزمن

كما ذُكر سابقاً فيمكن استخدام مطيافية التألّق لتحديد هوية العينة المتألّقة؛ فعملية التألّق بأكملها عملية دورية (أي تكرّر نفس مراحلها كلّما تعرّضت العينة لمصدر طاقةٍ جديدٍ) وذلك ما لم تتفاعل الجزيئات المثارة من العينة مع المحيط كالتفاعل مع الأوكسجين وتشكيل مواد جديدةٍ، ففي الحالة الطبيعية يمكن لنفس العينة أن تُثار وتُتعقب مراراً وتكراراً، ومن المبادئ الأساسية لتقنيّات رصد التألّق عالية الحساسية؛ أنّ العينة المتألقة الواحدة يمكن أن تولّد عدة آلافٍ من الفوتونات القابلة للرصد من قبل جهاز المطيافية.

تُستخدم مطيافية التألّق في حقول البحوث الكيميائية الحيوية والطبية والكيميائية لتحليل المركبات العضوية، كما تستخدم في التفريق بين الأورام الجلدية الحميدة والخبيثة، ويمكن استخدام تقنيات مطيافية التألّق في الكشف عن وجود مركبٍ ما وتحديد كميته سواء في الهواء أو الماء أو في أوساط أخرى؛ مثل مطيافية التألّق الذري للبخار البارد (Cold Vapour Atomic Fluorescence) CVAFS[5] التي يستخدم في الكشف عن المعادن الثقيلة مثل الزئبق، أما في الكيمياء التحليلية فتستخدم أجهزة الكشف عن التألّق مع الكروموتوغرافيا السائلة عالية الأداء (High Performance liquid chromatography) HPLC.

[5] مطيافية التألّق الذري للبخار البارد: تقوم على الحصول على بخار المادة دون رفع درجة حرارتها (عن طريق تطبيق ضغط منخفض جداً مثلاً) وإثارة جزيئات هذا البخار لتتألّق؛ ثم تحديد هوية هذه المادة عن طريق رصد الأشعة الصادرة عن الجزيئات المتألّقة.

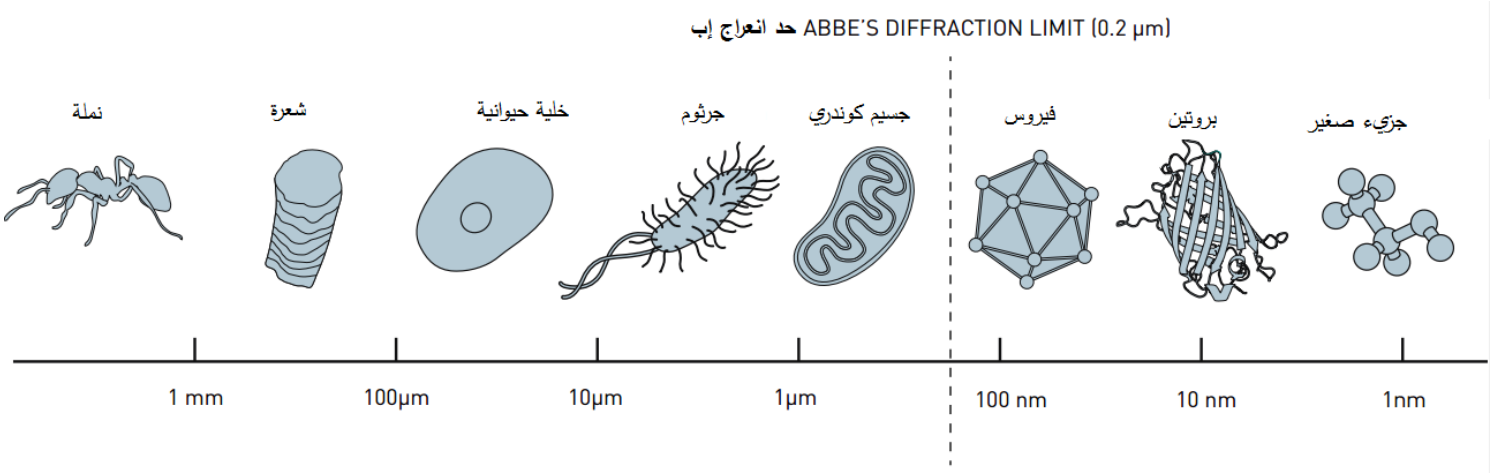
الفصل الثاني: الجزيئات المتألّقة تتخطى حدّاً فيزيائياً[6]

لوقتٍ طويلٍ كان استخدام المجهر الضوئي مقيّداً بحجم البنى التي يمكن رؤيتها بواسطته، وفي عام 1873 نشر العالمان إرنست إبه Ernst Abbe واللورد رايلي Lord Rayleigh معادلةً توضح كيف أن دقة المجهر محدودةٌ بطول موجة الضوء بالإضافة إلى أمورٍ أخرى؛ سميت هذه المعادلة بـ "حدود الانعراج" للإجهارية[7] "diffraction limit" of microscopy.

هذه المعادلة تفرض أنه من المستحيل أن يُرى عنصران من بنيةٍ ما البعد بينهما في المستوي الأفقي (x,y) وحتى العمودي (z) أصغر من نصف طول موجة الشعاع (λ) المستخدم في المجهر، وبكلماتٍ أخرى؛ وفقاً لمعيار إبه فإن أصغر المسافات ($\delta_{Xmin}, \delta_{Ymin}$) التي يمكن أن تُرى بوضوحٍ في المستوي الأفقي تقدّر بالعبارة:

$$(\delta_{Xmin}, \delta_{Ymin}) \approx \frac{\lambda}{2} \qquad (3)$$

ونتيجةٌ أخرى لمعادلة حدود الانعراج أنّه من غير الممكن تسليط شعاع ليزرٍ على بقعةٍ أبعادها أصغر من $\lambda/2$ (**الشكل** 4).



الشكل 4. حدد إرنست إبه في نهاية القرن التاسع عشر حد دقة المجهر الضوئي بنصف طول موجة الضوء المرئي وهي حوالي ($0.2\ \mu m$)؛ أي أن العلماء تمكنوا من تمييز الخلايا بالمجمل بالإضافة إلى بعض عضيات هذه الخلايا ولكنهم لم يتمكنوا أبداً من تمييز أي شيء بصغر الفيروس طبيعي الحجم أو البروتينات الأحادية.

[6] THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2014, THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES, "Popular Science Background", 2014.

[7] الإجهارية microscopy: هي استخدام المجهر.

فعلياً العلاقة (3) لا تصف بشكل دقيق حدود الانعراج؛ لذلك فقد تمّ صياغة علاقة جديدة أكثر دقّة:

$$(\delta_{Xmin}, \delta_{Ymin}) = \Delta_{min} = \frac{\lambda}{2\, n \sin(\alpha)} \qquad (4)$$

Δ_{min}: حدود دقة المجهر في تحديد البنية n: قرينة انكسار الوسط المحيط بالمجهر

α: نصف الزاوية بين المسقط العمودي الافتراضي للشعاع الضوئي الصادر من فتحة المجهر ومسقطه الفعلي على المحضر المدروس

ونشتقّ من العلاقة (3) العلاقة المعبرة عن الدقة بالنسبة إلى المحور (z) وهي:

$$\delta_{Zmin} = \Delta_{min} = \frac{\lambda}{2\, n \sin^2(\alpha)} \qquad (5)$$

ولكن معادلة "حدود الانعراج" لم تبقى السائدة فقد تم نقضها على مسارين متوازيين نالا جائزة نوبل بالمناصفة على الرغم من أنّ كل واحدٍ تمّ تطويره بشكلٍ مستقلٍ عن الآخر، أوّلهما هو المسار الذي عمل فيه ستيفان هيل، وثانيهما هو المسار الذي عمل فيه إيريك بيتزيك و ويليام مورنر.

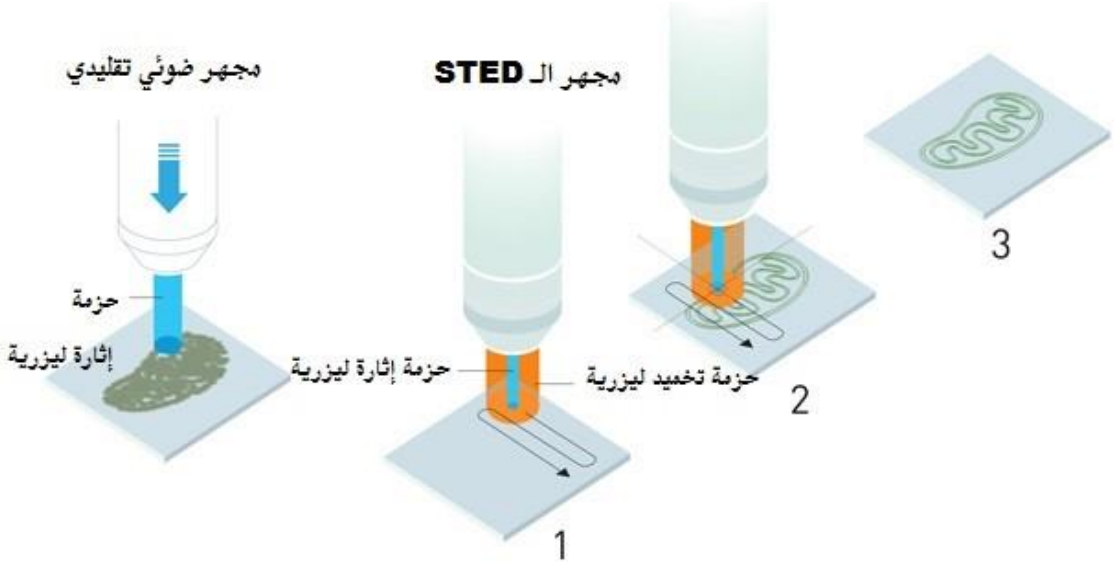
الباب الثاني: آليات وطرق عمل المجهر المُفلوَر عالي الدقة

الفصل الأول: تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ STED [8]

قام فريق ستيفان هيل في معهد ماكس بلانك سنة 2000 بتطوير تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ **(stimulated emission depletion)** STED ، من أجل الحصول على صور مجهرية ضوئية عالية الدقة، حيث تستخدم هذه التقنية ليزر أولي يسلَّط على جزيئات مُفَلوَرة متوضعة ضمن عينة من أجل المساعدة على رؤيتها، ويستخدم ليزر ثان من أجل تخميد عملية الفلورة عدا منطقة بأبعاد النانومتر عند مركز الليزرين، ولذلك فبمسح العينة أثناء تسليط الليزرين عليها، تتشكل صورة بدقة عالية للبنى المدروسة (مثل هذه البنى متعضيات الخلية التي في طور التكوين) وبسماكة نانومتر واحد طالما أنه سيتم إلغاء الضوء المنعكس عن الجزيئات المُفَلوَرة الأخرى التي قد تشكل صورة ضبابية.

ولضبط فعالية تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ يجب أن يكون تشتت الضوء في مركز الليزرين (البقعة المركزية) شبه معدومٍ؛ مما يضع بعض الحدود أمام الأجهزة الضوئية التي يمكن استخدامها في هذه التقنية.

[8] An article entitled “super resolution light microscopy wins chemistry Nobel” http://www.rsc.org/chemistryworld/2014/10/super-resolution-light-microscopy-wins-chemistry-nobel November 6th 2014 (6:00 pm)



الشكل 5. مقارنة بين آلية عمل المجهر الضوئي التقليدي (على اليسار) ومجهر الـSTED (على اليمين) حيث نلاحظ أنه في المجهر التقليدي تُرسَل حزمة ضوئية واحدة تقوم بإثارة كل الجزيئات في البنية المدروسة مما يؤدي إلى تداخل الانعكاسات الضوئية لهذه الجزيئات وبالتالي تظهر الصورة ضبابية، بينما في مجهر الـSTED 1) يتم إرسال حزمة ليزرية مثيرة للجزيئات يحيط بها حزمة ليزرية مخمّدة لتثبيط تألق الجزئيات ما عدا الجزيئات المراد فحصها والتي تكون ضمن نطاق الحزمة المثيرة 2) وهكذا تمسح أشعة الليزر العينة؛ فحالما يعرف العلماء أين يصدم الشعاع العينة يصبح بإمكانهم استخدام هذه المعلومات لتشكيل صورة أكثر دقة 3) وتكون الصورة النهائية بدقة أفضل من 0.2 ميكرومتر.

ففي البدايات الأولى لاستخدام هذه التقنية كان عدد الأصبغة التي يمكن استخدامها محدوداً جداً، حيث كان الرودامين–ب (Rhodamine B) أول الأصبغة المذكورة في الوصف النظري لتقنية الإصدار المحثوث المستنفذ؛ كنتيجةٍ لذلك كانت الأصبغة الأولى المستخدمة مصدرةً لليزر في منطقة اللون الأحمر من الطيف.

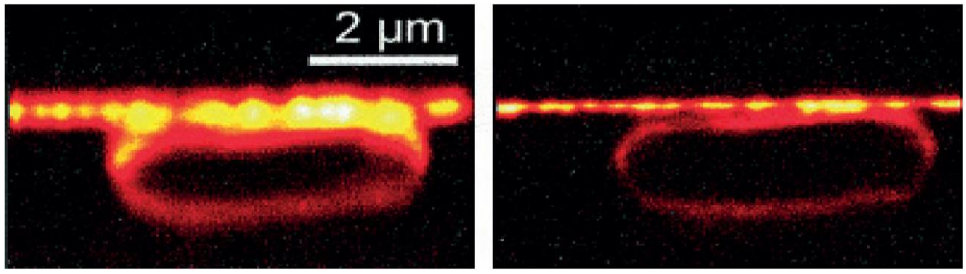
كما أنه لدراسة الأنظمة الحيوية المجهرية بتقنية الإصدار المحثوث المستنفذ يجب أن تكون الأصبغة ومصادر الليزر متوافقة وملائمة لهذه الأنظمة؛ الأمر الذي أدّى إلى استخدام أصبغة وأنظمة إثارة أكثر تطوّراً (يبيّن **الجدول** 1 أحدث الأصبغة المستخدمة في تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ).

من أهم التطورات التي حدثت لتقنية الإصدار المحثوث المستنفذ هو تطوير خلايا مناعية (immunolabeled cells) هي عبارة عن أصبغة متألّقة (مُفَلوَرة) مرتبطة مع الأضداد من خلال روابط أميدية، وكان أول استعمال لهذه التقنية من خلال ربط صباغٍ أحمر يسمى MR–121SE

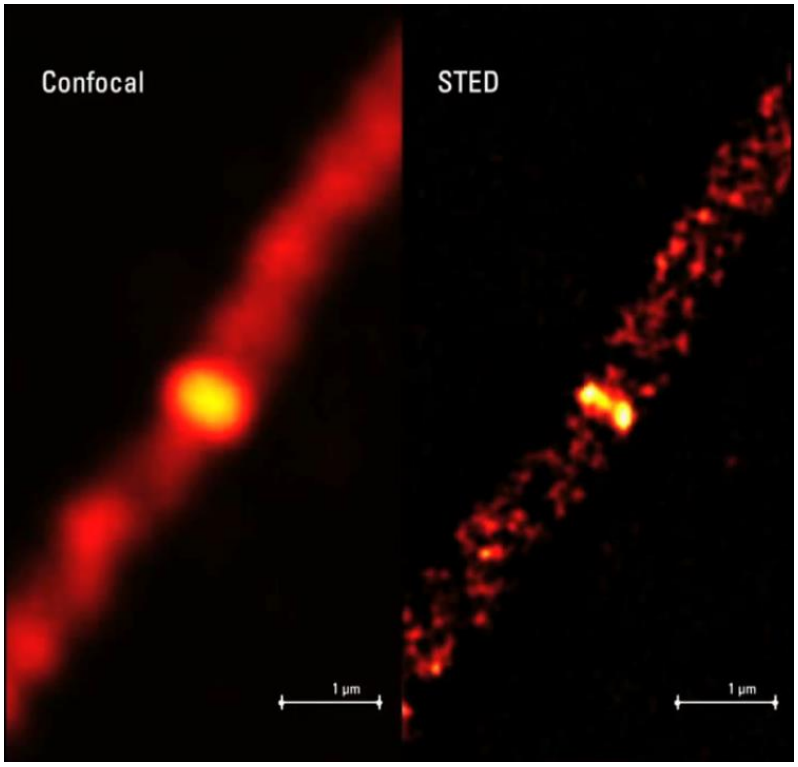
مع أضدادٍ ثانويةٍ مضادة للفئران، ومنذ ذلك الحين استُخدم العديد من الأصبغة بما فيها المصدرة للضوء الأخضر مثل ATTO 532 والأصفر مثل ATTO 590 بالإضافة إلى أصبغةٍ أخرى مصدرةٍ للضوء الأحمر، كما تمّ استخدام الصباغ ATTO 647N لأول مرةٍ مع هذه التقنية لإنتاج STED بلونين.

Dye name اسم الصباغ (Manufacturer / Distributor)	Exc. Wavelength طول موجة الشعاع المثير	STED طول موجة الـSTED Wavelength	Spatial Resol. الدقة المكانية
ATTO 425	440	532	70 - 80 nm (xy)
Mn doped ZnSe Qdots	440	676	45 nm (xy)
YOYO-1	470	568	40 - 60 nm (x,y))
ATTO 532	470	603	<25 nm (xy)
ATTO 532	470	615	66 - 72 nm (xy)
DY-485XL	470	647	
YOYO-1	470	647	40-60 nm (x,y)
Alexa Fluor 488	488	592	< 60 nm (xy)

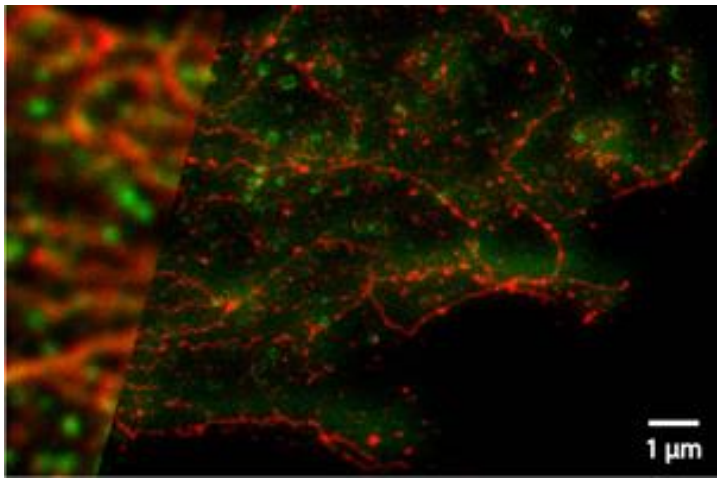
الجدول 1. أحدث الأصبغة المستخدمة في تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ.



الشكل 6. واحدة من الصور الأولى الملتقطة من قبل ستيفان هيل باستخدام مجهر STED، إلى اليسار جرثوم E.coli مصوّر باستخدام مجهر تقليدي؛ وإلى اليمين نفس الجرثوم مصوّر باستخدام مجهر STED، نلاحظ أنّ صورة STED أفضل بثلاث مراتٍ من صورة المجهر التقليدي.



الشكل 7. مقارنةٌ بين صورةٍ لبروتين ملتقطةٌ بالمجهر التقليدي (إلى اليسار) وأخرى بمجهر STED (إلى اليمين)، ويمكننا من خلال هذه المقارنة رؤية مدى تحسّن الصورة عند استخدام تقنية STED.



الشكل 8. صورة STED بلونين لورم دماغي خبيث، حيث أنّ المنطقة الضبابية على اليسار لم تخضع لتصحيحٍ للدقة.

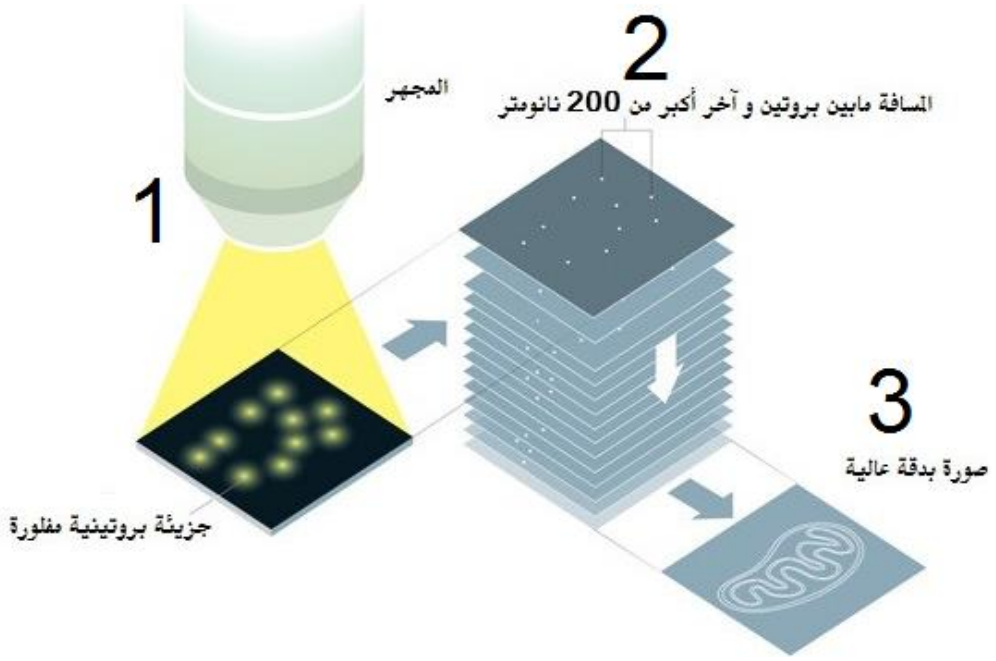
الفصل الثاني: مطيافية الجزيء المُفَلوَر الوحيد[9]

بشكلٍ منفصلٍ عن ستيفان هيل؛ طرح كلٌ من إيريك بيتزيغ ووليام مورنر أساس تقنيةٍ أخرى تسمى بمطيافية الجزيء المُفَلوَر الوحيد **Single Fluorophore Microscopy**، وذلك عن طريق إظهار أنه يمكن الكشف عن الضوء الصادر من جزيئةٍ مُفَلوَرةٍ وحيدةٍ، وبالعمل من هذه الفرضية كمنطلقٍ، أظهروا أنه من الممكن الحصول على صورٍ ذات دقةٍ عاليةٍ، لقطةً وراء لقطةٍ بإدخال كمياتٍ ضئيلةٍ من البروتينات المُفَلوَرة ضمن العينة، عن طريق إثارة البروتينات ضمن العينة باستخدام نبضةٍ ضوئيةٍ ضعيفةٍ؛ وبما أنّ البروتينات قليلةٌ وبعيدةٌ عن بعضها ضمن العينة سوف تتوهج البروتينات عندما تكون الأبعاد فيما بينها أكبر من 200 نانومتر – وهي حدود الانعراج في المطيافية الضوئية، وعندما "تحترق" الجزيئات البروتينية المُفَلوَرة، سوف تعيد عملية الإثارة مرةً بعد مرةٍ، مما يؤدي لأخذ الكثير من لقطات البروتينات المنتشرة ضمن العينة، فتؤدي هذه الصور لبناء صورةٍ بدقةٍ عاليةٍ للعينة، مرةً أخرى، صورة استطاعت التحايل على القيود المفروضة للمجاهر الضوئية بسبب الأطوال الموجية. (ويوضّح **الشكل** 9 مبدأ إجهارية الجزيء المُفَلوَر الوحيد)

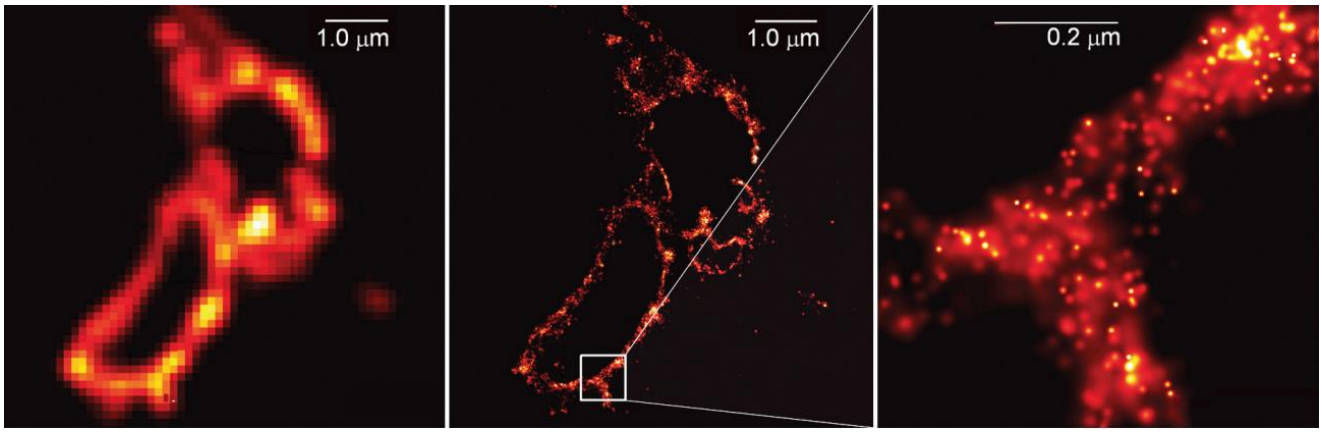
وبالنسبة للأصبغة المستخدمة في هذه التقنية فهي تشبه إلى حدٍّ ما الأصبغة المستخدمة في تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ STED؛ حيث يجب أن تكون ذات زمن تألّقٍ مناسبٍ ومتوافقةً مع البيئة المدروسة (العضية الحية مثلاً).

وتعتبر كلا التقنيتين (الإصدار المحثوث المستنفذ ومطيافية الجزيء المُفَلوَر الوحيد) بنفس الفعالية تقريباً، وهذا ما توصّلت إليه لجنة الكيمياء لجائزة نوبل في الأكاديمية الملكية السويدية للعلوم.

[9] THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2014, THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES, "Advanced Science Background", 2014.



الشكل 9. 1) تنشّط نبضةٌ من ضوءٍ ضعيفٍ جزءاً من مجمل البروتينات المتألّقة؛ حيث تكون المسافة بين بروتينات الجزء المنشّط أكبر من 0.2 ميكرومتر (حدّ إبه للانعراج)، فتتألّق هذه البروتينات ثم تخمد؛ وتعاد العملية على مجموعةٍ أخرى من البروتينات تتسلط عليها النبضة الضوئية 2) ثم تعالج الصور المتتالية للعينة وتدمج الأجزاء الواضحة من كل صورةٍ 3) وفي النهاية نحصل على صورة واحدة عالية الدقة تظهر فيها الأجزاء الواضحة من كل صورةٍ فرديةٍ.



الشكل 10. تظهر الصورة الوسطى أغشية الليزوزوم lysosome وهي واحدة من أولى الصور الملتقطة من قبل بيتزيك باستخدام مجهر الجزيء الوحيد، وإلى اليسار نفس الصورة مأخوذة بمجهر تقليدي، أما إلى اليمين فقد تمّ تكبير صورة الأغشية.

خاتمة:

لم تكن للمجهر الضوئي القدرة على إعطاء دقةٍ أفضل من نصف طول موجة الضوء المستخدم، أما الآن وبعد هذا الاكتشاف، فقد أصبح بإمكاننا ليس فقط خرق هذه الحدود، بل وتجاوزها إلى أية دقةٍ نرغب بها وذلك باستخدام الطريقة التي طوّرها الحائزون على نوبل لعام 2014.

هذا يعني أنه أصبح بإمكاننا الآن، دراسة أشياء أصغر بكثيرٍ من تلك التي كنّا ندرسها من قبل، وهذا بدوره قد ساهم في نقل المجهر من كونه تقنيةً بيولوجيةً ليغدو تقنيةً كيميائيةً.

فالكيمياء كانت تركز على دراسة عددٍ كبيرٍ من الجزيئات في وقتٍ واحدٍ، ولكن الآن أصبح بإمكاننا دراسة كلّ جزيءٍ على حدة، كما أصبح بالإمكان أيضاً دراسة التفاعلات الكيميائية وهي تحدث، وليس فقط الاكتفاء بمشاهدة نتائج هذه التفاعلات، وذلك يفتح أبواباً لا نهاية لها من الاحتمالات والأفكار الجديدة في كلٍّ من الكيمياء والكيمياء الحيوية.

فالإجهارية التألقية تتضمن تقنيتين رئيسيتين هما الإصدار المحثوث المستنفذ STED ومطيافية الجزيء المُفَلوَر الوحيد SFM اللّتان تعتمدان بشكلٍ أساسيٍّ على تألّق جزيئات المواد في العينة المدروسة.

"الفائزون لعام 2014 بجوائز نوبل ساهموا في كسر حواجز كنّا نظنّها لا تُخترق، وحتى يتمكن المرء من ذلك يتوجب عليه أن يكون مثابراً ويمتلك القدرة على التحمل ويؤمن بشدة بأن آراءه صحيحة، وإذا قرأتَ في سيرهم الذاتية ستجد أنهم تنقلوا كثيراً و تعبوا كثيراً و كانوا على مشارف اليأس من إمكانية تحقيق رؤيتهم، ولكنّهم صبروا وعادوا إلى متابعة أفكارهم اللامعة والعمل عليها ودعمها بالنظريات العلمية حتى تمكّنوا من النجاح."[10]

[10] من مقابلة البروفيسور سفين ليدين، رئيس لجنة نوبل للكيمياء، مع الصحفية جوانا روز عن جائزة نوبل للكيمياء للعام 2014.
www.nobelprize.org

قائمة المصادر والمراجع

المصادر الإنكليزية:

1. Johnson, Iain, Spence, Michelle, “Molecular Probes Handbook, A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies”, 11th Edition, 2010.
2. Hell, Stefan, “stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy”, OPTICS LETTERS, Vol. 19, No. 11, June 1, 1994.
3. The Royal Swedish Academy of Sciences, The Nobel prize in chemistry 2014, “Popular Science Background”, 2014.
4. The Royal Swedish Academy of Sciences, The Nobel prize in chemistry 2014, “Science Background”, October 8th 2014.

المراجع الإنكليزية:

1. An article entitled “Fluorescence”

   https://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescence September 10th 2014 (5:30 pm)

2. An article entitled “STED microscopy”

   http://en.wikipedia.org/wiki/STED_microscopy September 12th 2014 (1:30 pm)

3. An article entitled “Super-resolution microscopy”

   http://en.wikipedia.org/wiki/Super-resolution_microscopy November 4th 2014 (3:00 pm)

4. An article entitled “super resolution light microscopy wins chemistry Nobel”

http://www.rsc.org/chemistryworld/2014/10/super-resolution-light-microscopy-wins-chemistry-nobel November 6th 2014 (6:00 pm)

المراجع العربية:

1. موقع "الباحثون السوريون"–مقال بعنوان "جائزة نوبل 2014 للكيمياء.. تقنية مجهرية متقدمة تقربنا أكثر من فهم العمليات الحيوية" بتاريخ 8 تشرين الأول/أكتوبر 2014 الساعة 2:00 PM

http://www.syr-res.com/article/R3730.html

2. موقع "الكيمياء العربي"–مقال بعنوان " ما هو المجهر المُفَلوَر عالي الدقة؟" بتاريخ 11 تشرين الأول/أكتوبر 2014 الساعة 7:00 PM

http://arabian-chemistry.com/%D9%85%D8%A7-%D9%87%D9%88-%D8%A7%D9%84%D9%85%D8%AC%D9%87%D8%B1-%D8%A7%D9%84%D9%85%D9%81%D9%84%D9%88%D8%B1-%D8%B9%D8%A7%D9%84%D9%8A-%D8%A7%D9%84%D8%AF%D9%82%D8%A9%D8%9F|

فهرس الأشكال

رقم الشكل	الشرح	رقم الصفحة
.1	فلزات متألّقة تصدر ضوءاً مرئياً عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية	4
.2	أسماك بحرية يمكنها أن تتألّق	4
.3	مصباح الفلورسنت	5
.4	أبعاد الأجسام وحدود الانعراج	7
.5	مقارنة بين آلية عمل المجهر الضوئي التقليدي ومجهر الـSTED	10
.6	واحدة من الصور الأولى الملتقطة من قبل ستيفان هيل باستخدام مجهر STED	11
.7	مقارنةٌ بين صورةٍ لبروتين ملتقطةٌ بالمجهر التقليدي وأخرى بمجهر STED	12
.8	صورة STED بلونين لورم دماغي خبيث	12
.9	مبدأ إجهارية الجزيء المُفَلوَر الوحيد	14
.10	صورة لأغشية الليزوزوم lysosome ملتقطة باستخدام مجهر الجزيء الوحيد	14

فهرس الجداول

رقم الجدول	الشرح	رقم الصفحة
.1	أحدث الأصبغة المستخدمة في تقنية الإصدار المحثوث المستنفذ	11