**Kromatikus offset vizsgálata szuperrezolúciós lokalizációs mikroszkópiában**

*Varga Dániel, fizikus MSc szakos hallgató*Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar

Témavezetők:
Dr. Erdélyi Miklós, egyetemi adjunktus, SZTE TTIK Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék
Sinkó József, PhD hallgató, SZTE TTIK Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék

A mikroszkópiában a feloldás javítására mindig jelentős hangsúlyt fektettek. Sokáig azonban úgy tűnt, hogy a diffrakció ennek határt szab. A feloldási határok azonban valamilyen trükköt alkalmazva megkerülhetők a képalkotási technika során. A hagyományos feloldási határokat átlépő, azoknál jobb feloldást ígérő technikákat szuperrezolúciós mikroszkópiai technikáknak hívjuk, melyek közül a lokalizációs mikroszkópiával foglalkoztam.

A lokalizációs mikroszkópia 2006-os kifejlesztése óta a figyelem középpontjában áll. 2008-ban a *Nature Methods* folyóirat az év módszereként jellemezte és az idei, 2014-es kémiai Nobel-díjat is ennek a területnek a kifejlesztéséért ítélték oda. Az intenzív kutatások előnyei mellett sok gyenge pontjára világítottak rá, amelyek kiküszöbölést vagy javítást igényelnek.

Lokalizációs mikroszkópia során fotokémiai folyamatok révén elérjük, hogy – a hagyományos fluoreszcens mikroszkópiával ellentétben - egy időben a mintában leképezendő tartományon csak kevés számú molekula legyen aktív állapotban, így az egyes molekulák diffrakciós foltjainak leképezését időben szétválasztjuk, függvényt illesztünk rájuk, és ezeknek maximumából nagy pontossággal következtethetünk az adott diffrakció folthoz tartozó molekulák tényleges helyére. Sok képet készítve és a fenti módon meghatározva és eltárolva a molekulák pozícióit, létrehozhatunk egy nagy feloldású képet.

A lokalizációs mikroszkópia egyik nagy előnye, hogy a minta különböző alkotóelemeit különböző fluoreszcens molekulákkal megjelölve lehetőséget ad szelektív megfigyelésre. A laterális kromatikus aberráció hatására viszont egy molekula képe máshova kerül a detektoron, attól függően, hogy milyen hullámhosszúságú fényt emittál [1]. Egy pont két különböző hullámhossztartományához tartozó két különböző lokalizált pozíciójának távolságát nevezem kromatikus offsetnek. Hagyományos fluoreszcens mikroszkópoknál a hiba elhanyagolható, azonban a szuperrezolúciós technikáknál elért feloldásoknál (tipikusan néhány 10 nm) és többszínű kísérleteknél már a kép félreértelmezéséhez vezethet.

Szimulációkat végeztem számítógépes programokkal (OSLO [2], MATLAB [3]) az effektus kvantitatív meghatározására az emittáló molekula térbeli helyzetének függvényében, melynek eredményeit felhasználva megbízhatóbb információtartalmú képeket készíthetünk.

A fókuszsíkból való kilépés vizsgálatának egyik fontos vonzata, hogy a további kutatásoknak a 3D-s képek javításában lehet nagy szerepe.

[1] Miklos Erdelyi, Eric Rees, Daniel Metcalf, Gabriele S. Kaminski Schierle, Laszlo Dudas, Jozsef Sinko, Alex E. Knight, and Clemens F. Kaminski. 2013. *Correcting chromatic offset in multicolor super-resolution localization microscopy*, Opt. Express **21**, 10978-10988
http://www.opticsinfobase.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-21-9-10978

[2] http://www.lambdares.com/oslo

[3] http://www.mathworks.com/products/matlab/