

Forscher auf die Verschiebung der Grenzen gegen das Unsichtbare. Ist die Entwicklung und technische Gestaltung der Mikroskopie schon eine vorwiegend deutsche Domäne, so ist es die Ultramikroskopie und im besonderen die Elektronenmikroskopie praktisch ausschließlich. Ein besonderes Zeichen der

Arbeitsintensität und des Aufbauwillens deutscher Forscher mag man darin sehen, daß entscheidende Schritte in der Entwicklung der Elektronenmikroskopie nach Ausbruch des Krieges bis in die letzten Wochen hinein getan wurden und daß der Einsatz der Instrumente bis auf den heutigen Tag sich ständig steigert.

B. v. Borries und E. Ruska

Neue Wege der Mikroskopie

Die Fülle der durch den Vierjahresplan an die Technik und Wissenschaft gestellten vordringlichen Arbeiten erfordert auch den Ausbau von Forschungsmethoden, welche die gesteckten Ziele mit zeitlich geringerem Aufwand erreichen lassen.

Grenzen der Lichtmikroskopie

Ein Forschungsverfahren, das uns rasch verwertbare Ergebnisse auf fast allen Gebieten beschert hat und immer weitere wertvolle Beiträge liefert, ist die Mikroskopie. Sie ist jedoch durch die Wellennatur des Lichtes in ihrer Leistungsfähigkeit beschränkt, da sie feinste Strukturen und kleinste Körper, deren Abmessungen klein gegen die Lichtwellenlänge sind, nicht mehr wiedergeben kann. Gerade die Kenntnis der Formen in diesem Größenbereich ist aber heute auf einer größeren Zahl von wesentlichen Arbeitsgebieten entscheidend wichtig geworden. Genannt sei hier nur die Kolloidchemie mit ihrer Bedeutung für verschiedene chemische Großprozesse (Austauschstoffe) sowie auf biologischem Gebiet die Mikrobiologie und Virusforschung, deren Arbeitsbereich die zahlreichen Erreger menschlicher sowie tierischer und pflanzlicher Krankheiten mit ihren Folgen für Volksgesundheit und Ernährungswirtschaft umfaßt. Wegen der Bedeutung dieser Probleme führte der Mangel an einem unmittelbar abbildenden Instrument nicht zu einem Verzicht auf Untersuchungen in diesem Größengebiet. Vielmehr bediente man sich zur Erforschung der Strukturen und Bausteine, deren Größe zwischen dem molekularen und dem lichtmikroskopisch sichtbaren Gebiet liegt, einer Reihe von Untersuchungsverfahren, die verschiedene physikalische Effekte benutzen, aus deren Art und Größe man in zum Teil mühevoller Auswertungsarbeit Schlüsse auf die Feinstruktur ziehen kann. Genannt seien: Polarisationsmikroskopie, Bestimmung der Teilchenform durch Messung der Strömungsdoppelbrechung, Röntgen- und Elektronenbeugungsuntersuchungen, Bestimmung der Sedimentationskonstanten in der Ultrazentrifuge, Untersuchungen mittels Ultrafiltern, Elektrophorese und Elektrodialyse, Viskositätsmessungen u. a. m. Durch gleichzeitige Anwendung mehrerer dieser Verfahren auf die gleichen Probleme gelang es, gewisse Vorstellungen und Aufschlüsse über den Aufbau organischer und anorganischer Substanzen im sublichtmikroskopischen Größengebiet und über Formen und Größen freier Teilchen zu erhalten. Diese indirekten Wege erfordern jedoch meistens langwierige Untersuchungen oder komplizierte Berechnungen und liefern nur Mittelwerte oder Grenzwerte der gesuchten Größen. Zudem ist ihre Anwendung meist an Voraussetzungen gebunden, die nicht bei jedem Objekt realisierbar sind.

Ernst Abbe, der Mitarbeiter und spätere Leiter der Carl-Zeiß-Werke, Jena, hat in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts die prinzipielle, durch die Größe der Lichtwellenlänge gegebene Grenze des Lichtmikroskops erkannt und durch praktische Verbesserungen die Leistungsfähigkeit der damaligen Mikroskope bis an diese Grenze gesteigert. In seinen gesammelten Abhandlungen schreibt er nach der Erörterung über die Begrenzung des Auflösungsvermögens: „Das Ergebnis solcher Erwägungen läßt also in der Hauptsache keine Aussicht, daß die Zukunft Wünsche und Hoffnungen realisieren könnte, welche auf eine immer fortschreitende und ins Unbegrenzte gehende Verfeinerung unserer künstlichen Schwerezeuge gebaut sind. Nach allem, was im Gesichtskreis unserer heutigen Wissenschaft liegt, ist der Tragweite unseres Sehorgans durch die Natur des Lichtes selbst eine Grenze gesetzt, die mit dem Rüstzeug unserer dermaligen Naturkenntnis nicht zu überschreiten ist. Es bleibt natürlich der Trost, daß

zwischen Himmel und Erde noch so manches ist, von dem sich unser Unverstand nichts träumen läßt. Vielleicht, daß es in der Zukunft dem menschlichen Geist gelingt, sich noch Prozesse und Kräfte dienstbar zu machen, welche auf ganz anderen Wegen die Schranken überschreiten lassen, welche uns jetzt als unübersteiglich erscheinen müssen. Das ist auch mein Gedanke. Nur glaube ich, daß diejenigen Werkzeuge, welche dereinst vielleicht unsere Sinne in der Erforschung der letzten Elemente der Körperwelt wirksamer als die heutigen Mikroskope unterstützen, mit diesen kaum etwas anderes als den Namen gemeinsam haben werden.“

Entwicklung der Übermikroskopie

Unser Elektronenmikroskop zur Untersuchung durchstrahlter Objekte mit magnetischen Linsen, das diese Voraussage zuerst erfüllt hat, arbeitet mit einer anderen Strahlenart als das Lichtmikroskop, nämlich mit Elektronenstrahlen, deren Wellenlänge 100000mal kleiner ist als die der Lichtstrahlen. Durch die Natur der Elektronenstrahlen ergeben sich erhebliche Unterschiede zum Lichtmikroskop. Elektronenstrahlen können sich nur im luftleeren Raum ungehindert und damit gradlinig fortpflanzen, weshalb bekanntlich alle Elektronengeräte, z. B. Röntgenröhre, Verstärkeröhre, Senderöhre, Fernschröhre, Vakuumröhren sind. Auch der Strahlengang des Übermikroskops verläuft daher im Vakuum, in das auch die zu untersuchenden Objekte und die photographischen Platten eingebracht werden müssen. Dies geschieht mit Hilfe von rasch arbeitenden Vakuumschleusen ohne nennenswerten Zeitverlust. Elektronenstrahlen selbst sind unsichtbar wie Röntgenstrahlen. Man fängt daher wie bei diesen die erzeugten Bilder auf Leuchtschirmen auf, die hier durch im metallischen Mikroskopgehäuse angebrachte Glasfenster betrachtet werden. Wie die Röntgenbilder können auch die Elektronenbilder unmittelbar auf einer photographischen Platte aufgenommen werden. Zur Erzeugung schneller, die Objekte gut durchdringender Elektronenstrahlen gehört eine Hochspannungsquelle.

Auch bei dem neuen Mikroskop sind Linsen vorhanden, die die Aufgabe haben, den Gang der Strahler in gewollter, gesetzmäßiger Weise abzuknicken. Dies ist bei Elektronenstrahlen grundsätzlich auf zwei Wegen möglich, nämlich durch elektrische und durch magnetische Kraftfelder. Beim Übermikroskop werden magnetische Felder verwendet, durch die sich leichter kleine Brennweiten bei schnellen Elektronenstrahlen erreichen lassen. Da die Felder durch stromdurchflossene Spulen erzeugt werden, sind sie und damit die Brennweite bequem regelbar. Während das Lichtmikroskop die Verteilung der Farben und des Brechungsindex im Objekt zur Abbildung bringt, zeigt das neue Mikroskop die Verteilung der Masse des Objekts, also der primärsten aller Eigenschaften.

Die Entwicklungsgeschichte des Übermikroskops zeigt, wie auch dann neue Ergebnisse gefunden werden, wenn die Forschung nicht allein der gerade gestellten engeren Aufgabe, sondern auch scheinbar vom Wege abseits liegenden Möglichkeiten nachgeht. Im Zuge von Entwicklungsarbeiten am Kathodenstrahloszillographen — einem Elektronenstrahlgerät, das der Aufzeichnung schnellster elektrischer Vorgänge dient — wurde im Hochspannungslaboratorium der Technischen Hochschule Berlin die seit Wichert (1898) bekannte Bündelung der Elektronenstrahlen durch magnetische Felder näher untersucht. Dabei wurde die Vorstellung zugrunde gelegt, die 1927 Busch gegeben hatte, daß die Elektronenstrahlen durch rotationssymmetrische elektrische und magnetische Felder optisch beeinflußt werden wie Lichtstrahlen durch Glas-

linsen. Als sich herausstellte, daß diese Elektronenlinsen genügend fehlerfrei arbeiteten, entstand der Wunsch, analog der Lichtoptik aus mehreren Linsen ein Mikroskop zusammenzusetzen. So entwickelten M. Knoll und E. Ruska 1931 das erste Elektronenmikroskop für etwa 150fache Vergrößerungen, das E. Ruska dann nach von uns gemeinsam gemachten Vorschlägen im Jahre 1933 zu einem Gerät ausbaute, mit dem Vergrößerungen und Auflösungen erreicht wurden, die über die Leistung des Lichtmikroskops hinausgehen.

Der Wert der neuen Mikroskopie war zunächst umstritten, so daß ihre Durchsetzung einige Jahre verzögert wurde, da sowohl maßgebende, auf mikroskopische Forschungen angewiesene Fachwissenschaftler als auch sogar elektronenoptische Entwicklungsstellen die Bedeutung dieser neuen Möglichkeit unterschätzten und sich von gewissen Anfangsschwierigkeiten abschrecken ließen. Es gelang unseren ununterbrochenen Bemühungen erst gegen Ende des Jahres 1936, das für eine erfolgreiche Fortführung der Arbeiten bis zur Entwicklung eines einsatzfähigen Instruments notwendige Interesse von industrieller Seite bei Carl Zeiß, Jena, und bei der Siemens & Halske AG. zu finden. Ausschlaggebend für den Entschluß, die Entwicklung in dem elektrotechnischen Haus durchzuführen, wurde schließlich die Überlegung, daß das neue Mikroskop nur in seiner Anwendung optischer, in seiner technischen Ausführung aber elektrischer Natur war. Als Ergebnis unserer seit Anfang 1937 dort durchgeführten Arbeit steht heute das in Abbildung 1 dargestellte Übermikroskop all den Forschungsstätten zur Verfügung, deren Aufgaben mikroskopische Untersuchungen in bisher submikroskopischen Gebieten verlangen.

Durch das neue Mikroskop ist die mikroskopische Sichtbarkeitsgrenze mit einem Schläge von $2/100000$ mm auf $5/1000000$ mm, d. h. auf den vierzigsten Teil herabgedrückt worden. Ferner ist mit diesem Instrument durch eine große Reihe von Untersuchungen gezeigt worden, daß die Mikroskopie mit Elektronenstrahlen im sublichtmikroskopischen Bereich bei zahlreichen Objekten der verschiedensten Wissensgebiete möglich und wertvoll ist. Sie hat daher auch in den letzten Jahren rasch an Umfang zugenommen. Für besondere Fragen der Kolloidchemie, Silikatforschung, Farbstoffuntersuchung, Technik der Staube und Rauche und der Faserstoffkunde, für Strukturfragen in der Biologie, Hämatologie, Bakteriologie und Virusforschung hat sich das Verfahren als nützlich erwiesen und zu Klärungen geführt, die mittels anderer Methoden nicht erzielbar waren.

Um einige dieser wertvollen Instrumente auf rationellste Art für wichtige und dringende Untersuchungen solcher Stellen einzusetzen, die zur Zeit noch nicht über ein eigenes Gerät verfügen, hat die Siemens & Halske AG. im Anschluß an ihr Laboratorium für Elektronenoptik eine mit Übermikroskopen ausgestattete Forschungsstätte errichtet, die jetzt Mitarbeitern von Forschungsstellen der Behörden, Wissenschaft und Industrie zur Verfügung steht. Das Laboratorium ist mit Einrichtungen für mikroskopische und präparative Untersuchungen der verschiedenen Arbeitsrichtungen versehen und enthält eine größere Zahl von Arbeitsplätzen. In ihm können die Gäste in das praktische Arbeiten mit dem neuen Gerät und in die dabei anzuwendende Präparationstechnik eingeführt werden. Auch können an dieser Stätte eigene Forschungsarbeiten von Gästen in Angriff genommen werden. Das Laboratorium soll damit dem Ziele dienen, Wissenschaft und Praxis der Übermikroskopie zu fördern.

Nachdem mit dem neuen Mikroskop ein neuer Wissenschaftszweig begründet worden war, sind einige andere Geräte bekannt geworden, die ebenfalls mit schnellen Elektronen durchstrahlte Objekte vergrößert abbilden und dabei wie das Übermikroskop die Massenverteilung der Objekte wiedergeben. Es sind dies Varianten, die einerseits elektrische Linsen statt der magnetischen Linsen verwenden, wie das von H. Mahl (AEG.) zuerst ausgeführte elektrostatische Durchstrahlungsmikroskop, und andererseits einen anderen Strahlengang haben, indem die Linsen nicht zwischen Objekt und Bild, sondern zwischen Strahlquelle und Objekt angeordnet sind, wie das Elektronenrastermikroskop nach M. v. Ardenne und das Elektronenschattenmikro-

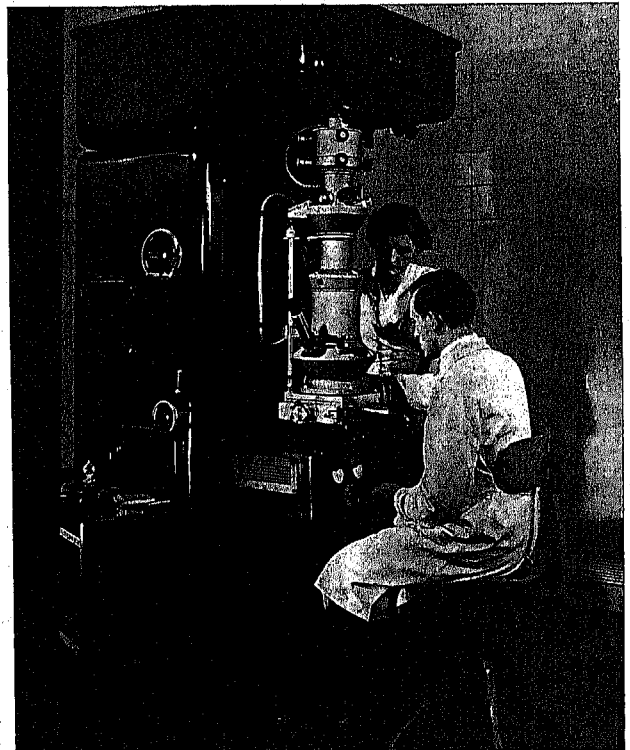
skop nach H. Boersch (AEG.). In den Bildern 2 bis 6 sind alle bisher bekannt gewordenen Durchstrahlungsmikroskope schematisch im Vergleich mit dem Lichtmikroskop dargestellt. In den Unterschriften ist ihre Wirkungsweise erläutert.

Es ist erfreulich festzustellen, daß alle diese Wege zur hochvergrößernden Abbildung mittels Elektronen zuerst in Deutschland beschritten wurden, so daß wir mit Recht die Entwicklung der Elektronenmikroskope und der Übermikroskopie als eine ausschließlich deutsche wissenschaftlich-technische Leistung ansehen dürfen. Einzelne Mikroskope nach der ältesten und bisher erfolgreichsten Bauart mit magnetischen Linsen wurden mit teilweise selbständigen Konstruktionseinheiten im Ausland von Marton (Belgien) 1935, Martin (England) 1938, Prebus und Hillier (Kanada) 1939, Siegbahn (Schweden) 1939, und in Deutschland 1940 von M. v. Ardenne gebaut.

Ergebnisse übermikroskopischer Forschungen

Die Ausbildung einer übermikroskopischen Präparationstechnik für die verschiedenen Objektarten ist wie in der Lichtmikroskopie eine besondere und wichtige Aufgabe. So mußten Objektträger hergestellt werden, die bei genügender mechanischer Festigkeit selbst gegen die kleinsten Objekte noch dünn sind, so daß sich diese im Elektronenbild deutlich abheben. Damit diese Trägerfilme und die Objekte nicht durch die Elektronenstrahlung erwärmt und zerstört werden, wurden Einrichtungen geschaffen, die die Präparate während der Beobachtung im Mikroskop kühlen. Die einzelnen Objektarten müssen in geeigneter Konzentration und gegebenenfalls in natürlicher Zusammenlagerung auf die Trägerfilme gebracht werden. In den beiden letzten Jahren sind gegenüber den zuerst ausgearbeiteten Methoden wesentlich vereinfachte Verfahren entwickelt worden, so daß jetzt systematische Reihen übermikroskopischer Bilder mit geringem Zeitaufwand gewonnen und ausgewertet werden können. Während noch vor drei Jahren die Aufnahme eines übermikroskopischen Bildes einen großen Zeitaufwand erforderte und nur eine beschränkte Zahl von Aufnahmen den damit beschäftigten Spezialisten gelang, sind heute mit dem Übermikroskop allein mehr als 5000 Aufnahmen von großenteils der Entwicklung des Geräts fernstehenden Wissenschaftlern auf den Fachgebieten der jeweils untersuchten Objekte gemacht worden.

Siemens-Übermikroskop nach Ruska und von Borrtje

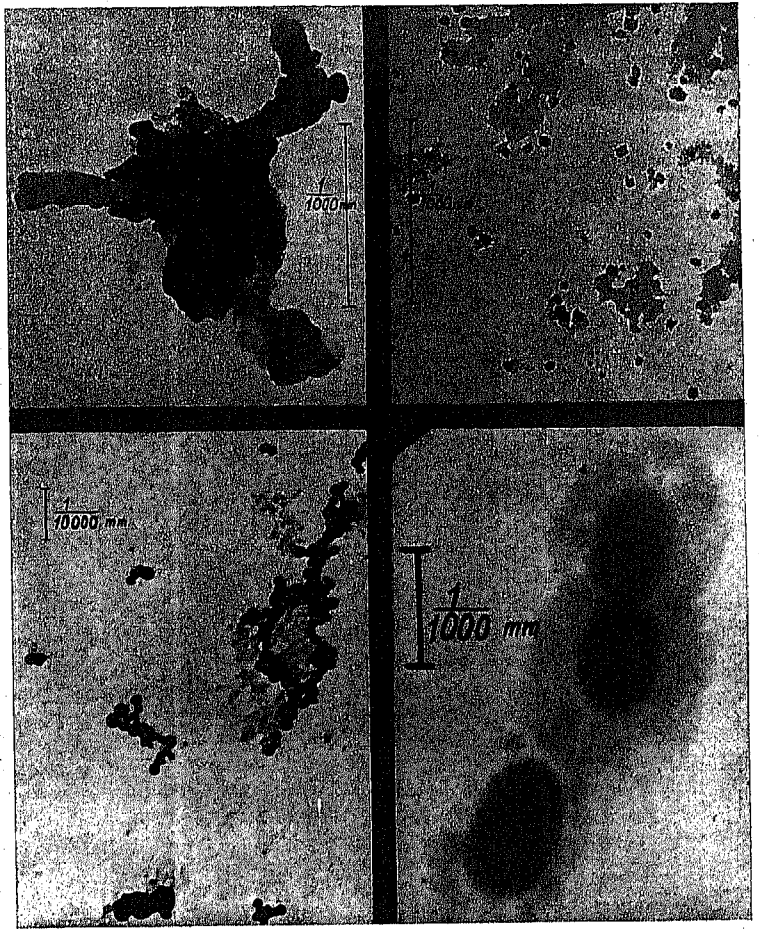


vor allem von Schwermetalloxyden, Titanweiß usw. ist bereits übermikroskopisch erschlossen, wobei insbesondere dadurch wesentliche Fortschritte erzielt wurden, daß man über die feinste Struktur der Sekundärteilchen näheren Aufschluß erhält.

Durch übermikroskopische Untersuchungen läßt sich die physikalische Analyse der Industriestaube wesentlich ausweiten, da nunmehr auch die im sublichtmikroskopischen Gebiet liegenden Teilchen abgebildet, exakt vermessen sowie als Bausteine größerer Sekundärteilchen erkannt werden können. Daraus ergeben sich Anhaltspunkte für den Verlauf der Aufbereitung, besonders der Vermahlung und der Größenverteilung des Arbeitsgutes bis in den sublichtmikroskopischen Bereich. Hier stellte sich das überraschende Ergebnis heraus, daß die mechanische Trockenvermahlung bis zu einem beachtlichen Anteil an sublichtmikroskopischen Größen gefördert werden kann. Für das Feinstgefüge von Stäuben sowie für die Innigkeit der Durchmischung verschiedener Feinststaube können wir quantitative Unterlagen gewinnen. Künftig wird man auch den Einfluß des Feinststaubes auf die Energieaufnahme technischer Mühlen und auf die Entstehung von Staubexplosionen genauer bewerten können. — Ein anderes Arbeitsgebiet ist die Untersuchung von rauchförmigen Gewerbegiften, bei der die kleinsten Einzelteilchen abgebildet werden können, die in die Atemwege und die Lunge eindringen und dadurch zu Gesundheitsschäden führen. Die Leistung von Atemschutzfiltern, deren Durchlässigkeit für feinste Staub- und Rauchteilchen besonders wichtig ist, läßt sich durch übermikroskopische Untersuchungen quantitativ bestimmen.

Aus dem Gebiete der Chemie seien erwähnt: Die Untersuchungen an Farbstoffteilchen, deren Größe und Form für die Deckkraft und Haftfähigkeit wichtig ist, die Bestimmung der Formen und Teilchengrößen von Rußen, aus denen man auf seine Eignung für bestimmte Großprozesse, für die der Ruß Rohstoff ist, schließen kann, sowie verschiedene Arbeiten über die bildmäßige Darstellung kolloider Systeme und Reaktionen. Hier sind z. B. durch Untersuchungen an Katalysatoren und über Adsorptionsvorgänge Ergebnisse zu erwarten.

In der Biologie und Medizin wurden hauptsächlich an Kleinlebewesen und an Blut Untersuchungen durchgeführt. Ein der Übermikroskopie besonders naheliegendes Gebiet ist die Bakteriologie, weil hier die Objekte so klein sind, daß sie einerseits im Lichtmikroskop nicht mehr auf besondere Einzelheiten untersucht, andererseits aber von Elektronen durchstrahlt werden können und dabei ihren inneren Aufbau erkennen lassen. Hier sind wichtige Ergebnisse zu nennen bezüglich der Frage, ob und welche Bakterien Zellkerne, Membranen und Kapseln haben, und wie Bakterien durch noch kleinere „Lebewesen“, sogenannte Bakteriophagen, angegriffen werden. Weitere Untersuchungen werden das Ziel haben, zu klären, wie die Vermehrungsvorgänge ablaufen und auf welche Weise Desinfektionsmittel angreifen. Auf dem großen, erst in der jüngsten Zeit in seiner ganzen Bedeutung erkannten Gebiet der Virusforschung ist der Übermikroskopie insofern eine ganz besondere Rolle zugewiesen, als die Erreger der Viruskrankheiten zumeist völlig unter der lichtmikroskopischen Sichtbarkeitsgrenze liegen und somit überhaupt erstmalig abbildbar wurden. Es gelang im Jahre 1938 mit dem Übermikroskop den Erreger der Tabakmosaikkrankheit und damit zum erstenmal ein Makromolekül mikroskopisch abzubilden. Die übermikroskopische Untersuchung stellt die schärfste Kontrolle für den Grad der Reindarstellung eines Virus dar; die Reindarstellung selbst ist aber die Voraus-



Oben links: Hickoryholz (Hartholz), oben rechts: Mitteldeutsche Braunkohle. Vergrößerung: 33 000:1; elektronenoptisch 19 000:1. Die Bilder zeigen Teilchen, die der trockenen Vermahlung entnommen wurden. Es ergibt sich, daß der Zusammenhalt, also der Mahl widerstand des Holzes wesentlich größer ist, als der der Braunkohle. Mit dem Abbau der Zellulose wird die Länge der Zellulosemoleküle kleiner und damit die Festigkeit des Stoffes geringer. — Beide Körper liegen in tafelförmiger Form vor, weil offenbar der Zusammenhalt in Richtung der Tafeln stärker ist als senkrecht dazu; diese Erscheinung läßt einen Rückschluß auf die Lamellenstruktur der pflanzlichen Zellwand zu.

Unten links: Kolloides Gold. Vergrößerung 90 000:1; elektronenoptisch 36 000:1. Das Bild zeigt, daß die Objekte der Kolloidchemie abgebildet werden können. Das hier untersuchte Gold war aus zwei Bestandteilen verschiedener Teilchengröße gemischt.

Unten rechts: *Bazillus Pneumoniae*, elektronenoptisch 21 000:1. Die Erreger der Lungenentzündung bilden im Körper des befallenen Organismus als Schutz gegen bakterieneindringende Abwehrstoffe des Körpers eine »Kapsel«. In der Kultur auf künstlichen Nährböden bleibt die Kapselbildung aus. Auf dem Bild der *Pneumoniebazillen*, das von Bakterien stammt, die aus dem Blut erkrankter Mäuse gewonnen wurden, sieht man die Kapsel als wolkige, manchmal radförmig strukturierte Ausscheidung. Im Zellinnern erkennt man Nukleole, die Kernäquivalente der Bakterienzellen, als schwarze Punkte.

setzung für Forschungen über die chemische Natur und die Bekämpfung der Virusarten, die für eine große Zahl wichtiger Krankheiten von Mensch, Tier und Pflanze verantwortlich sind.

Auf dem Gebiet der Hämatologie wurden Untersuchungen über Blutplättchen und Gerinnungsprobleme durchgeführt, die in sehr komplizierte Zusammenhänge Einblicke gewährten und bisher offene Fragen klären konnten. Mit der Untersuchung des Fibrins, des Gerinnungsproduktes des Blutes, begann eine Reihe von Arbeiten, die die Erforschung der Faserstruktur belebter Substanzen zum Ziel haben und mit der Aufklärung des Aufbaues der Zellulose wieder in das technische Gebiet münden.

Die Übermikroskopie dient zunächst in erster Linie der Grundlagenforschung; schon jetzt aber, nachdem erst kurze Zeit seit der ersten Bearbeitung wissenschaftlicher Probleme mit der neuen Methode verfloren ist, zeichnen sich die Wege ab, auf denen das neue Gerät unmittelbar verwertbare Ergebnisse liefern und als ein bald unentbehrliches Rüstzeug in die Praxis Eingang finden wird.