

MIKROSKOPIE

Scharfer Blick aufs Detail

Beugungsgrenze

Moleküle im Lichtmikroskop

Freie-Elektronen-Laser

Der ultimative Röntgenblick

Kryo-Elektronenmikroskopie

Cooler Methode



Mike Beckers
E-Mail: beckers@spektrum.de

Liebe Leserin, lieber Leser,
seit vielen Jahrhunderten untersuchen die Menschen mit ausgefeilten Apparaten Details einer Welt, die unseren Augen normalerweise verborgen ist – zunächst allein mit Hilfe handwerklicher Erfahrungen, seit Ende des 19. Jahrhunderts obendrein auf Basis seinerzeit entdeckter physikalischer Zusammenhänge. Heute sprengen hoch entwickelte Mikroskope nicht nur die Grenzen der sichtbaren Wellenlängen, sondern hebeln manchmal sogar die Grundregeln der Optik selbst aus.

Atemberaubende Einblicke wünscht Ihnen

Erscheinungsdatum dieser Ausgabe: 11.06.2018

Folgen Sie uns:

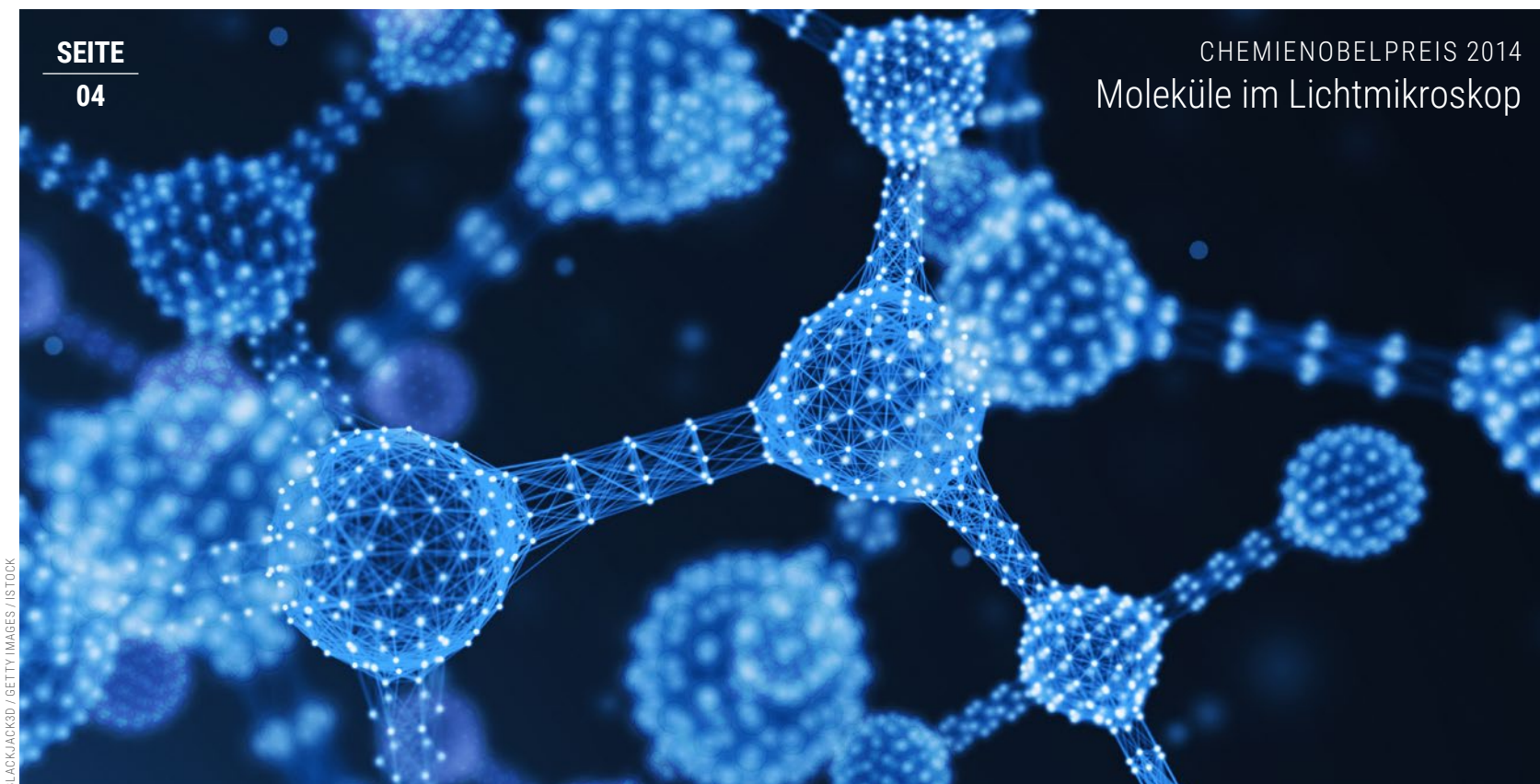


CHEFREDAKTEURE: Prof. Dr. Carsten Könneker (v.i.S.d.P.), Dr. Uwe Reichert
REDAKTIONSLEITER: Dr. Hartwig Hanser, Dr. Daniel Lingenhöhl
ART DIRECTOR DIGITAL: Marc Grove
LAYOUT: Oliver Gabriel, Marina Männle
SCHLUSSREDAKTION: Christina Meyberg (Ltg.), Sigrid Spies, Katharina Werle
BILDREDAKTION: Alice Krüßmann (Ltg.), Anke Lingg, Gabriela Rabe
PRODUKTMANAGEMENT DIGITAL: Antje Findeklee, Dr. Michaela Maya-Mrschik
VERLAG: Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Tiergartenstr. 15–17, 69121 Heidelberg, Tel. 06221 9126-600, Fax 06221 9126-751; Amtsgericht Mannheim, HRB 338114, UStd-Id-Nr. DE229038528
GESCHÄFTSLEITUNG: Markus Bossle, Thomas Bleck
MARKETING UND VERTRIEB: Annette Baumbusch (Ltg.)
LESER- UND BESTELLSERVICE: Helga Emmerich, Sabine Häusser, Ilona Keith, Tel. 06221 9126-743, E-Mail: service@spektrum.de

Die Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH ist Kooperationspartner der Nationales Institut für Wissenschaftskommunikation gGmbH (NaWik).

BEZUGSPREIS: Einzelausgabe € 4,99 inkl. Umsatzsteuer
ANZEIGEN: Wenn Sie an Anzeigen in unseren Digitalpublikationen interessiert sind, schreiben Sie bitte eine E-Mail an service@spektrum.de.

Sämtliche Nutzungsrechte an dem vorliegenden Werk liegen bei der Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH. Jegliche Nutzung des Werks, insbesondere die Vervielfältigung, Verbreitung, öffentliche Wiedergabe oder öffentliche Zugänglichmachung, ist ohne die vorherige schriftliche Einwilligung des Verlags unzulässig. Jegliche unautorisierte Nutzung des Werks berechtigt den Verlag zum Schadensersatz gegen den oder die jeweiligen Nutzer. Bei jeder autorisierten (oder gesetzlich gestatteten) Nutzung des Werks ist die folgende Quellenangabe an branchenüblicher Stelle vorzunehmen: © 2018 (Autor), Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg. Jegliche Nutzung ohne die Quellenangabe in der vorstehenden Form berechtigt die Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH zum Schadensersatz gegen den oder die jeweiligen Nutzer. Bildnachweise: Wir haben uns bemüht, sämtliche Rechteinhaber von Abbildungen zu ermitteln. Sollte dem Verlag gegenüber der Nachweis der Rechtsinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar nachträglich gezahlt. Für unaufgefordert eingesandte Manuskripte und Bücher übernimmt die Redaktion keine Haftung; sie behält sich vor, Leserbriefe zu kürzen.



SEITE
04

CHEMIENOBELPREIS 2014
Moleküle im Lichtmikroskop

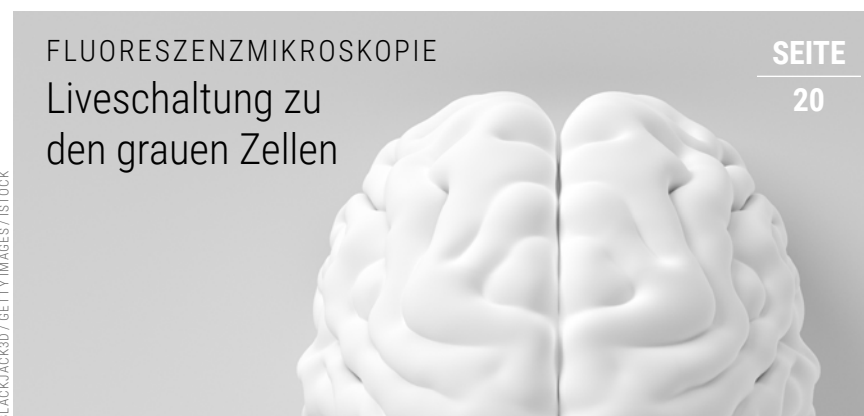
BLACKJACK3D / GETTY IMAGES / ISTOCK



SEITE
39

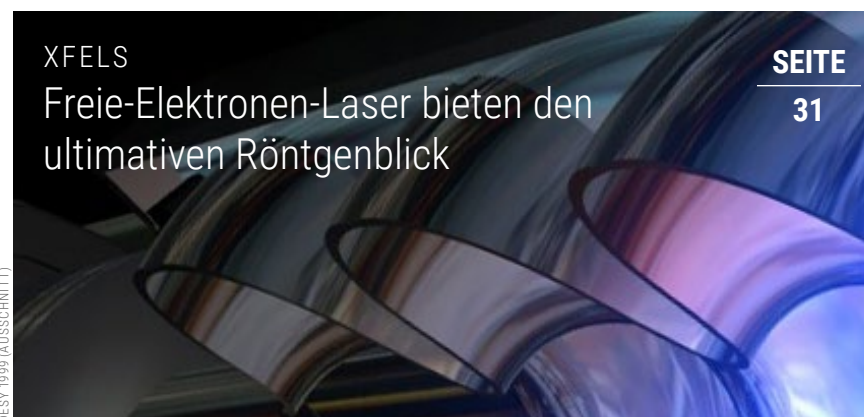
STRUKTURBIOLOGIE
Molekulare Schnappschüsse

BRYAN CHRISTIE DESIGN / SCIENTIFIC AMERICAN MAI 2017



FLUORESZENZMIKROSKOPIE
Liveschaltung zu
den grauen Zellen

SEITE
20



XFELS
Freie-Elektronen-Laser bieten den
ultimativen Röntgenblick

SEITE
31

- 04 CHEMIENOBELPREIS 2014
Moleküle im Lichtmikroskop
- 10 NANOOPTIK
Die Grenzen ausloten
- 14 MIKROSKOPIE
Expansionstrick macht
Unsichtbares sichtbar
- 16 GITTER-LICHTSCHEIBEN-MIKROSKOP
Dreidimensionale Filme
aus dem Innern der Zelle
- 20 FLUORESZENZMIKROSKOPIE
Liveschaltung zu den grauen Zellen
- 27 CHEMIENOBELPREIS 2017
Coole Methode für Molekülbilder
- 31 XFELS
Freie-Elektronen-Laser bieten den
ultimativen Röntgenblick
- 39 STRUKTURBIOLOGIE
Molekulare Schnappschüsse
- 50 PTYCHOGRAPHIE
Einblick ins Innere eines Magneten
- 54 PROTONENSTRAHLEN
Blick in bisher Undurchdringliches
- 56 RASTERTUNNELMIKROSKOP
Umschalten auf Handsteuerung
- 58 PRÄZISIONSCHEMIE
Mikroskop baut Molekül um
- 60 SMALL-WORLD-FOTOWETTBEWERB
Bizarre Schönheit im Detail



CHEMIENOBELPREIS 2014

Moleküle im Lichtmikroskop

von Lars Fischer

Den Nobelpreis für Chemie 2014 teilen sich drei Forscher, die mit ausgeklügelten Fluoreszenzmikroskopen Auflösungen erzielten, welche lange unerreichbar schienen: der Deutsche Stefan Hell sowie die US-Amerikaner W. E. Moerner und Eric Betzig.

Auch physikalische Gesetze sind manchmal weniger absolut, als sie scheinen. Als der deutsche Physiker Stefan Hell sich zu Beginn der 1990er Jahre vornahm, die so genannte Beugungsgrenze zu überwinden, sahen die meisten Fachkollegen in dieser 1873 von Ernst Abbe formulierten Gesetzmäßigkeit eine unbezwingbare Hürde. Lichtmikroskope könnten niemals Strukturen mit weniger als etwa 200 Nanometer Durchmesser auflösen. Das war, wie Hell zeigte, ein Irrtum. Für den Nachweis, dass Details weit unterhalb dieser Grenze darstellbar sind, erhält der Biophysiker vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen und dem Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg im Jahr 2014 zusammen mit den US-Amerikanern Eric Betzig vom Howard Hughes Medical Institute und W. E. Moerner von der Stanford University den Nobelpreis für Chemie. Die Bilder, die ihre Methoden erzeu-

gen, zeigen die Welt an der Grenze zwischen Chemie und Biologie.

Die so genannte Beugungsgrenze ist eine grundlegende Eigenschaft der Optik. Zwei Punkte, die weniger als eine halbe Lichtwellenlänge voneinander entfernt sind, zeigen sich als einzelner, verschmierter Punkt. Ebenso ist es auch nicht möglich, den Strahl auf einen Durchmesser von weniger als der halben Wellenlänge zu fokussieren. Bei sichtbarem Licht sind das rund 200 Nanometer – etwa die Größe einer Zellorganelle. Unterhalb dessen sind normale Lichtmikroskope blind.

Gerade Biologen stellt das vor ein Problem. Um zu verstehen, wie eine Zelle funktioniert, müssen sie einzelne Moleküle im Blick behalten, die 10- oder 100-mal kleiner sind als diese magische Grenze. Zwar geht das beispielsweise mit dem Elektronenmikroskop; andere Techniken wie die Röntgenbeugung zeigen sogar einzelne Atome. Doch diese Verfahren benötigen extreme Bedingungen wie Hochvakuum und ener-

giereiche Strahlen, die jedes Leben mit Sicherheit töten. Das Lichtmikroskop dagegen zeigt die biologischen Vorgänge live und im Prinzip unbegrenzt lange. Aber eben nicht in hoher Auflösung.

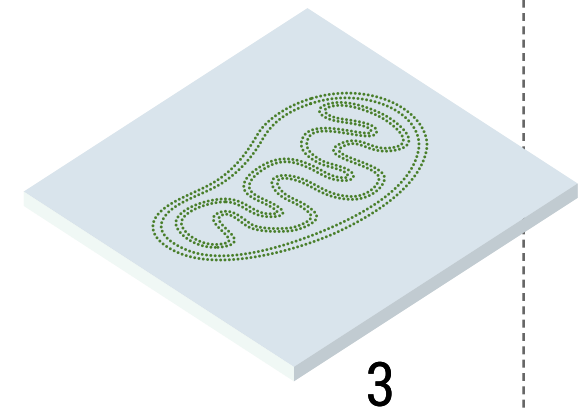
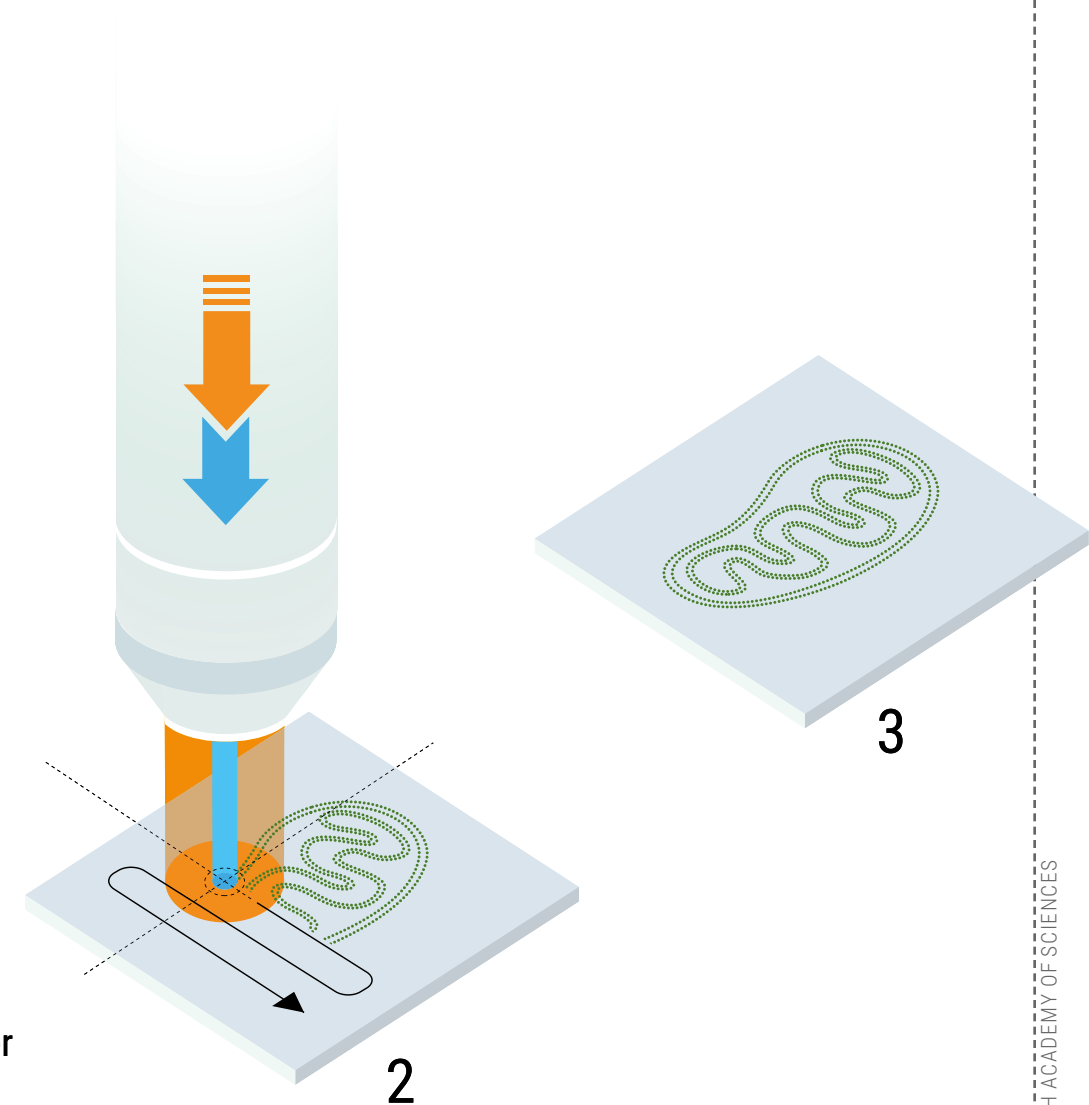
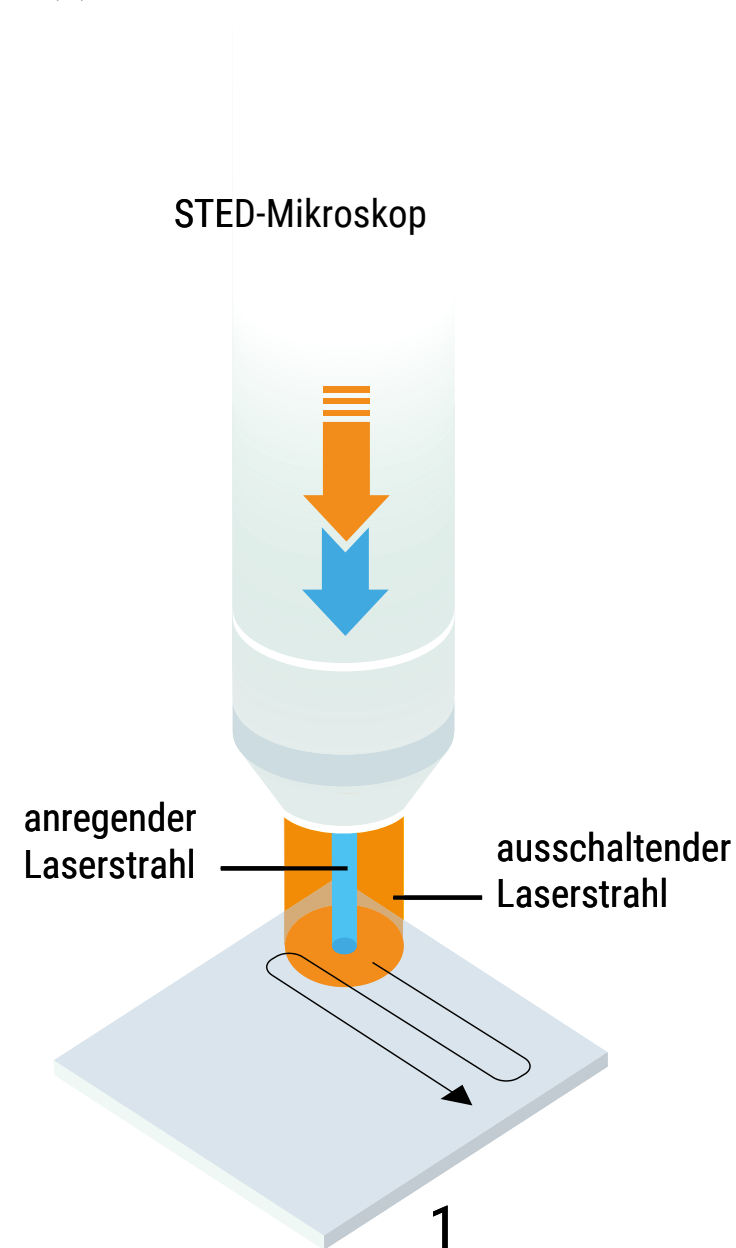
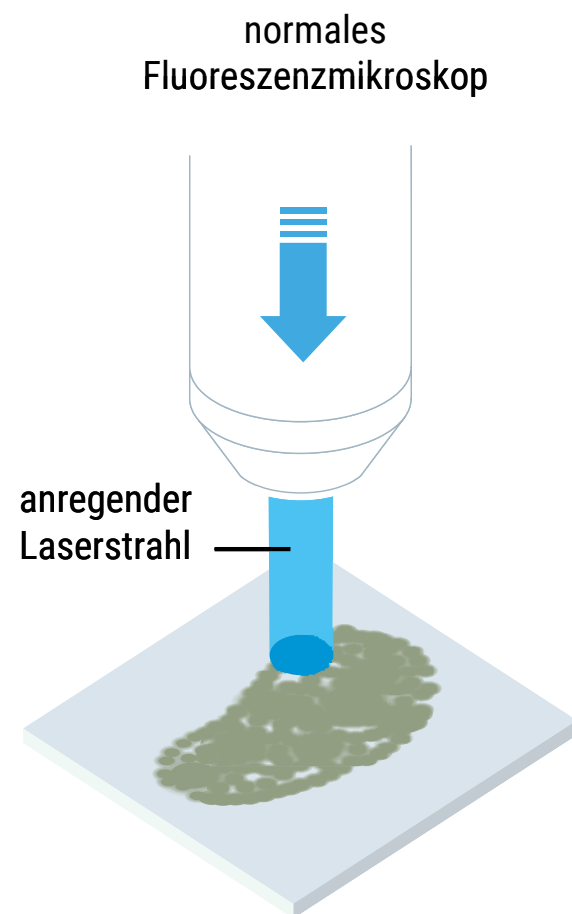
Verräterische Farbstoffe

Mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörpern verfolgen Forscher in Lichtmikroskopen Biomoleküle und entschlüsseln ihre Funktion. Das Prinzip ist einfach: Bestimmte Farbstoffe lassen sich mit einem Laser anregen, worauf ihre Elektronen in einen energiereicheren Zustand gelangen. Anschließend fallen diese wieder zurück und geben ein Photon ab – die Moleküle leuchten.

Biochemiker heften solche Farbstoffe an Antikörper. In eine Zelle gebracht, binden diese sich an bestimmte Zielmoleküle und verraten so ihren Aufenthaltsort. Man sieht dann zum Beispiel, dass bestimmte Proteine nahe der Zellmembran liegen. Doch Details unterhalb der Beugungsgrenze blieben weiterhin verborgen.

STED-Mikroskopie

Die Details einer Zelle verwischen unter einem normalen Lichtmikroskop (links), das der Beugungsgrenze unterliegt. Der spezielle Laser eines STED-Mikroskops (rechts) bringt dagegen nur Strukturen im Strahlzentrum zum Leuchten (1), während er schrittweise über die Probe fährt (2), und ermöglicht so hoch aufgelöste Bilder (3).



Diese Fluoreszenztechnik lieferte Hell jedoch das Werkzeug, die Gesetze der Optik zu überlisten. Mit einem quantenmechanischen Trick sorgte er dafür, dass nur Moleküle an einem bestimmten Punkt mit wenigen Nanometern Durchmesser Licht abgeben können. Der Anregungslaser, in dessen Strahl die markierten Proteine zu leuchten beginnen, kann zwar nicht schärfer fokussiert werden, als die Beugungsgrenze erlaubt. Doch Hell erkannte, dass unter bestimmten Bedingungen Proteine nur genau im Strahlzentrum Licht abgeben.

Dafür verantwortlich ist die so genannte stimulierte Emissionslöschung (STED, stimulated emission depletion), die den Prozess der Fluoreszenz unterbindet. Normalerweise hebt das Laserlicht Elektronen in einen angeregten Zustand. Anschließend fallen sie in den Grundzustand zurück und senden Photonen aus. Doch ein zweiter Laser mit niedrigerer Energie zwingt die angeregten Elektronen auf einen anderen Weg, so dass ihr Licht eine andere Farbe hat und herausgefiltert werden kann.

Bei der STED-Mikroskopie erreichte Hell das mit einem zweiten Laser, der in den Außenbereichen des Lichtflecks des Anre-



RECHTS: MATT STALEY, HHMI, MIT FRDL. GEN. VON ERIC BETZIG; MITTE: KEVIN LOWDER / W.E. MOERNER / CC BY-SA 3.0; LINKS: BERND SCHULLER, MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR BIOPHYSIKALISCHE CHEMIE / STEFAN W. HELL / CC BY-SA 3.0 (CC BY-SA)



gungslasers einen eigenen, ringförmigen leuchtenden Bereich erzeugt. Dort leert das zusätzliche Licht die angeregten Zustände der markierten Moleküle gewissermaßen aus. Nur im Inneren des Rings, im Zentrum des Anregungslasers, können noch Moleküle fluoreszieren.

Dieser STED-Strahl fährt nun die Probe ab – und ermöglicht so eine Auflösung weit jenseits der physikalischen Grenzen des Lichtmikroskops. Zwei Punkte innerhalb der klassischen Beugungsgrenze erscheinen als getrennt, weil je einer von ihnen durch den zweiten Laser am Leuchten gehindert wird.

NOBELPREISTRÄGER FÜR CHEMIE 2014
Stefan Hell (links) kombinierte speziell geformte Laserstrahlen so geschickt, dass er die Auflösung seines Mikroskops unabhängig von optischen Beugungsgesetzen machte. W. E. Moerner (Mitte) und Eric Betzig (rechts) gelang es mit einem Trick, einzelne Farbstoffmoleküle sichtbar zu machen. Sie sorgten dafür, dass die leuchtenden Proteine stets weit genug voneinander entfernt sind, um sie eindeutig identifizieren zu können.

Einzelmolekülspektroskopie

Bei der Einzelmolekülspektroskopie leuchten immer nur weit voneinander entfernte, einzelne Proteine. So lässt sich ihre Position genau bestimmen – sie sind stets im Zentrum der Lichtflecke im Mikroskop. Sehr viele Aufnahmen, bei denen jeweils andere Moleküle aufscheinen, ergeben dann ein detailliertes Gesamtbild.

