

Die Übermikroskopie als Untersuchungsverfahren.

Von H. Ruska und E. Frühbrodt.

Mitteilung aus der I. med. Klinik der Charité, Berlin, und dem Laboratorium für Elektronenoptik der Siemens & Halske A.G., Berlin-Spandau.

Vor nahezu 70 Jahren wurde die Grenze in der Leistungsfähigkeit des Mikroskops durch die Erkennung des Zusammenhangs zwischen der kleinsten mikroskopisch auflösbaren Strecke und der Wellenlänge des Lichts sowie dem Öffnungswinkel des Objektivs theoretisch festgestellt (Lord *Raleigh*, *Abbe*) und durch den Bau verbesserter Objektive für das Lichtmikroskop praktisch erreicht (*Abbe*, *Schott*, *Zeiss*). Es gelang, zwei Linien im Abstand einer halben Lichtwellenlänge als solche getrennt abzubilden. Dieser Fortschritt war insofern endgültig, als die abzubildenden Einzelheiten nicht wesentlich feiner sein dürfen, als das abbildende Medium selbst. Die immer neu sich stellende Aufgabe, noch kleinere Objekte sichtbar zu machen, wurde in neuerer Zeit durch das mit einer Quarzoptik ausgerüstete Ultraviolett-Mikroskop besser gelöst (*Köhler* 1904). Da die Wellenlänge des Ultraviolett-Lichts nur etwa die Hälfte der Wellenlänge des sichtbaren Lichts beträgt, erreicht man damit eine Auflösung von Dimensionen, die nur die Hälfte der mit sichtbarem Licht auflösbaren Strecken ausmachen. Es blieb aber dieser Schritt verhältnismäßig begrenzt, weil für die Wellenstrahlung jenseits des Ultraviolettpektrums bis herunter zu den Röntgenstrahlen geeignete brechende Medien bisher fehlen.

Die geometrische Optik der Lichtstrahlen bot deshalb wenig Aussicht mehr, in der Gestalterkennung feinsten Formen noch Fortschritte zu machen. Um zu Kenntnissen sog. submikroskopischer Strukturen und Teilchengrößen zu kommen, wurden daher zahlreiche *indirekte* Verfahren ausgearbeitet, die, wenn auch kein geometrisch optisches Bild, so doch summarische Vorstellung über die submikroskopischen Bauprinzipien und Größenordnungen vermitteln konnten. Zu diesen indirekten Verfahren sind die Ultramikroskopie, die Polarisationsmikroskopie und die Untersuchung der Strömungsdoppelbrechung, die Röntgenometrie, die Sedimentationsanalyse in der Ultrazentrifuge, die Ultrafiltration und einige andere zu rechnen. Die Existenz dieser zahlreichen Methoden zeigt, wie lohnend Bemühungen um eine Erweiterung der Mikroskopie in lichtoptisch nicht mehr erfaßbare Bereiche sein mußten.

Durch die im folgenden zu besprechende Übermikroskopie, die sich aus der Elektronenoptik entwickelt hat, sind die Bereiche submikroskopischer Abmessungen, die jetzt als *sublichtmikroskopisch* zu bezeichnen sind, zu einem großen Teil der unmittelbaren Beobachtung zugänglich geworden. Es werden dabei aus freien Elektronen bestehende Strahlen zur Abbildung verwandt. Nach *de Broglie* haben diese je nach der Höhe der Beschleunigungsspannung etwa 10000mal kleinere Wellenlänge als sichtbares Licht. Durch magnetische oder elektrische Kraftfelder werden sie wie Lichtstrahlen an der Grenze von zwei optischen Medien mit verschiedenem Brechungsvermögen gebrochen.

Ordnet man die Kraftfelder konzentrisch um den Elektronenstrahl an, so erhält man Sammelsysteme (Wiechert 1899, Ryan 1911) Für diese gelten wie für Glaslinsen die Abbildungsgesetze der Lichoptik (Busch 1926). Der Strahlengang durch eine Elektronenlinse ist am Beispiel einer Spule in Abb. 1 dargestellt. Er unterscheidet sich insofern vom Strahlengang durch eine Lichtlinse, als nicht alle von einem Objektpunkt ausgehenden Strahlen fehlerfrei zum Bildpunkt

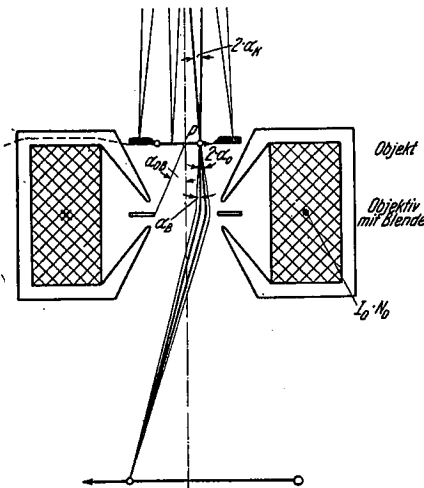


Abb. 1. Der Strahlengang durch eine magnetische Linse. Der Objektpunkt P wird unter dem Winkel $2\alpha_K$ von Elektronen getroffen, die im Objekt gestreut werden. Nur diejenigen Strahlen, die ihre ursprüngliche Richtung nicht mehr als um den sehr kleinen Winkel α_B ändern, werden zum Bildpunkt vereinigt. Dadurch wird jeder einzelne Punkt des Objekts nicht durch den ganzen Linsenquerschnitt abgebildet, sondern nur durch einen kleinen Teil desselben. Die um größere Winkel abgestreuten Strahlen, deren Menge mit steigender Objektdicke zunimmt, kommen nicht auf den zugehörigen Bildpunkt, so daß infolge der Streuung das Bild bei dünnen Objektstellen hell, bei dicken dunkel erscheint.

mittels empfindlicher photographischer Schichten festgehalten werden. Die von einer Glühkathode ausgehenden und mit 40000 bis 85000 Volt beschleunigten Elektronen treten durch eine zentrale Öffnung der Anode in das Feld der Kondensorenspule, welche sie auf das im Vakuum befindliche Objekt richtet. Die im Objekt gestreuten Strahlen bündelt die Objektivspule und vereinigt sie auf einem ersten Leuchtschirm zum Zwischenbild. Hier erscheint das Bild des ganzen Objekts in bis zu 160facher Vergrößerung. Vom Zwischenbild erscheint nur ein kleiner Ausschnitt durch eine kreisförmige Öffnung in der Mitte des Zwischenbildschirmes auf dem Endbildschirm, auf welchem das Objekt durch die Pro-

vereinigt werden, sondern nur der in dem sehr kleinen Winkel $2\alpha_0$ austretende Teil (1). Da die Linsen Kraftfelder sind, tritt in ihnen keine Absorption von Strahlen auf, doch hat man wie bei Lichtlinsen mit verschiedenen Fehlerarten zu rechnen, von denen insbesondere der chromatische Fehler und der Öffnungsfehler praktisch wichtig ist.

Nachdem M. Knoll und E. Ruska (7) 1932 die Abbildbarkeit elektronendurchstrahlter Objekte in zwei Stufen bei mäßigen Vergrößerungen und Auslösungen gezeigt hatten, wurde von B. v. Borries und E. Ruska (12, 2) 1934—1939 durch Schaffung magnetischer Linsen von genügend kleiner Brennweite und genügend kleinen Fehlern sowie durch geeigneten Gesamtaufbau des Geräts das Übermikroskop geschaffen. (Abb. 2). Es enthält wie ein Lichtmikroskop für Photographie Strahlquelle, Kondensator, Objektisch, Objektiv, Projektionslinse und Aufnahmeeinrichtung. Neuerdings wurde es technisch so durchgebildet, daß es von einer großen Zahl industrieller und wissenschaftlicher Forschungsstellen benutzt wird. Es vermag noch Dimensionen aufzulösen bis herunter zu 5μ , also bis zu $1/40$ der mit sichtbarem Licht auflösbaren Strecke.

Da die Elektronenstrahlen nur im Vakuum existieren und unsichtbar sind, ist das Übermikroskop als evakuiertes Rohr ausgebildet, in dem die Elektronenbilder durch Vermittlung geeigneter Leuchtsubstanzen sichtbar gemacht und

jektionsspule in einer zweiten Abbildungsstufe nochmals bis 250fach vergrößert wird. Das Maß der Vergrößerung läßt sich in beiden Stufen verändern, so daß Gesamtvergrößerungen von 4000 bis 40 000 zur bequemen Beobachtung beliebig wählbar sind. Auf dem Endbildschirm erscheint jeweils nur ein Teil des Objekts; es ist deshalb dafür Sorge getragen, daß sich das Objekt durch eine Kreuztischanordnung im Vakuum so verschieben läßt, daß es vollständig betrachtet werden kann. Unter dem Endbildschirm liegt in einer Kassette, die nach Bedarf geöffnet und geschlossen werden kann, die photographische Platte. Die Expositionszeit beträgt selbst bei der höchsten Vergrößerung und bei Verwendung handelsüblicher Platten nur etwa 1 Sekunde. Um ständig ein Vakuum von 10^{-4} bis 10^{-5} mm Hg aufrecht zu erhalten, das für den ungestörten Strahlverlauf notwendig ist, wird das Gerät dauernd evakuiert. Die Einbringung des Präparats und der Photoplatte erfolgt durch besondere Schleusen. Die in die Plattenschleuse einkommende Luft wird aus dem Schleusenraum vor dem Öffnen der Schleuse zum Innenraum des Übermikroskops durch eine Pumpe in kürzester Zeit entfernt; die in die Objektschleuse eintretende, wesentlich geringere Luftmenge gelangt unmittelbar in den Mikroskopraum. Der Wechsel der Platte wie des Objekts geht jeweils in etwa einer Minute vor sich.

Bei der beschriebenen Konstruktion (Abb. 3) werden alle an ein vollständiges Mikroskop zu

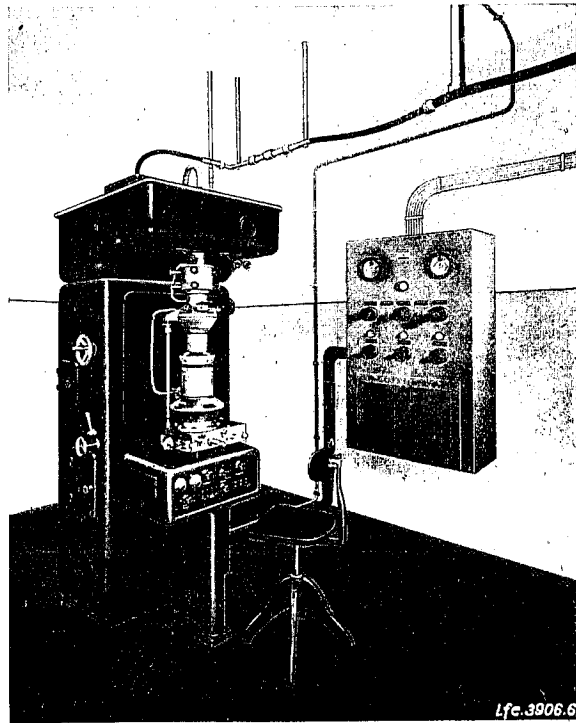


Abb. 2. Siemens-Übermikroskop nach E. Ruska und B. v. Borries.

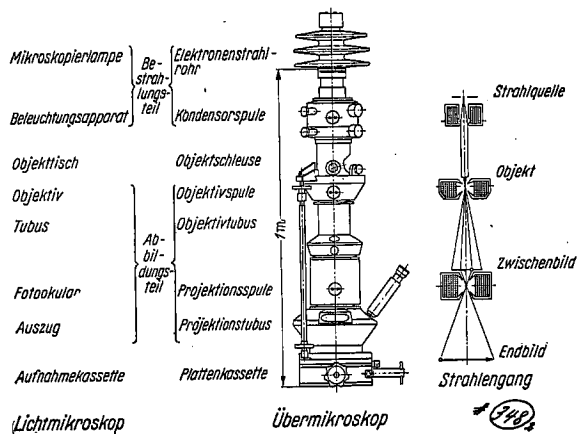


Abb. 3. Schematischer Vergleich zwischen Lichtmikroskop und Übermikroskop.

stellende Forderungen erfüllt. Die Wellenlänge des angewandten „Lichts“ kann bis herab zu etwa 4×10^{-9} mm bei 85 kV Strahlspannung vermindert werden. Die Bildhelligkeit ist stets bis zu voll ausreichender Höhe einstellbar. Der Kondensator ist zentrier- und neigbar bis zur Erreichung von Dunkelfeldbildern (Abb. 4). Das Objekt ist bei bequemer Armauflage in zwei rechtwinkligen Koordinaten stetig bewegbar, wobei eine sicher reproduzierbare Verschiebung von weniger als $\frac{1}{10\,000}$ mm gelingt. Die Vergrößerung kann beliebig gewählt und damit dem jeweiligen Objekt als förderliche Vergrößerung angepaßt werden. Um die Berührung Hochspannung führender Teile zu vermeiden, ist das Gerät gesichert, ähnlich einer Röntgenanlage.

Gegenüber der Lichtmikroskopie bestehen bezüglich der Bedeutung des Bildinhalts wesentliche Unterschiede, wenn auch beide Mikroskope geometrisch treue Bilder liefern. Die Elektronenstrahlen bilden vom durchstrahlten Objekt innerhalb der Grenzsichtdicke ähnlich den Röntgenstrahlen die Massenverteilung ab, während die Lichtstrahlen Unterschiede der Brechung, Absorption und Farbe des Lichts zeigen. So erscheinen zum Beispiel die Sporen der Bakterien im Lichtmikroskop infolge ihrer starken Lichtbrechung besonders hell, während sie im Übermikroskop als die Zellteile mit der größten Massendicke dunkel erscheinen (Abb. 5). Da jedoch die Elektronenstrahlen im Gegensatz zu den Röntgenstrahlen nur ein sehr geringes Massendurchdringungsvermögen besitzen, können sie nur von dünnsten Objekten die Massenverteilung wiedergeben. Es können um so dickere Objekte durchstrahlt werden, je höher die Beschleunigungsspannung der Elektronen, d. h. je kleiner ihre Wellenlänge ist. Mit der Höhe der Strahlspannung erweitert sich daher der Kreis der mikroskopierbaren Objekte. Die günstigsten Abbildungsbedingungen liegen vor, wenn die Dicke des durchstrahlten Objekts die Abmessungen der kleinsten noch abzubildenden Einzelheiten nicht wesentlich, jedenfalls nicht um Größenordnungen übertrifft. Will man also Feinheiten von $10\ \mu$ noch sehen, so darf die Objektdicke nicht etwa die eines Mikrotomschnittes ($1 > \mu$) betragen. Nur bei sehr lockerem Bau erlauben dickere Objekte eine Abbildung (Abb. 6), wobei dann infolge der großen Tiefenschärfe Bildebenen bis zum 100fachen Abstand des Auflösungsvermögens scharf erscheinen. Selbstverständlich sind die Objektträger und Deckgläser der Lichtmikroskopie für die Durchstrahlung mit Elektronen zu dick. An die Stelle des Glasträgers tritt ein nur $10\ \mu$ dicker Film, den man durch Zerfließenlassen eines kleinen Tropfens von Zaponlack auf einer Wasser Oberfläche erhält (13). Die hohen Vergrößerungen erfordern nur ein sehr kleines Objektfeld. Es genügt, Filme über $0,1$ mm große Blendenbohrungen anzubringen. Ein solches rundes Objektfeld wird bei 40 000facher Vergrößerung über $12\ \mu$ groß. Das Auffinden des gesuchten Objekts auf dieser großen Fläche erleichtert die Beobachtung im nur gering vergrößerten Zwischenbild. Bei manchen Objekten kann man die Anwendung des Films als Objektträger vermeiden und das Präparat frei im Vakuum betrachten, indem man es in die Maschen eines feinen Drahtnetzes oder in die Blendenbohrung bringt.

Das Arbeitsgebiet der Übermikroskopie wird bestimmt durch das erreichbare Auflösungsvermögen des Geräts und durch den jeweiligen Stand der präparativen Technik. Zur Zeit ist ein Auflösungsvermögen von $5\ \mu$ mit Sicherheit nachgewiesen, das bedeutet, daß bei genügender Massendifferenz gegen die Umgebung ein Punkt oder strichförmiges Gebilde mit einem Durchmesser von $2,5$ bis $3\ \mu$ noch erkannt werden kann. Die erfassbaren Dimensionen liegen daher im Gebiet der kolloiden Abmessungen und reichen bis zu den Dimensionen großer Moleküle und der Makromoleküle. Teilchen mit einem Molekulargewicht von 10^5 und darüber können heute schon abgebildet werden. Außer der Teilchen-



Abb. 4. Rand eines Objektträgerfilms mit aufliegenden Bakterien bei Hell- und Dunkelfeldbeleuchtung. Elektronenoptisch 9000:1.



Abb. 5. Milzbrand-erreger mit Spore. El.-opt. 12 000:1.

II 700/39



Abb. 6. Schräg zum Strahlengang liegender Rand einer Schmetterlingsschuppe (Noctuide). Infolge der großen Tiefenschärfe erscheinen alle Schuppenteile scharf. El.-opt. 14 000:1.

II 7/40



Abb. 7. Mit Ammonsulfat gefälltes Tabakmosaik-Virusprotein in Form von parakristallinen Parallelaggregaten und einzeln liegenden, stäbchenförmigen Makromolekülen. El.-opt. 16 000:1.

II 481/39



Abb. 8. Kolloides Silber. Einzelne Teilchen erscheinen deutlich sechseckig oder dreieckig. Die Kristallform des Silbers ist das Oktaeder, wobei die sechseckig erscheinenden Teilchen vollständig ausgebildete Kristalle darstellen, während die dreieckigen Exemplare Formen haben, die im Modell entstehen, wenn von einem vollständigen Oktaeder ein Teil durch einen nahe einer Dreiecksfläche parallel zu dieser geführten Schnitt abgetrennt wird. El.-opt. 30 000:1.



Abb. 9. Aus Speichel aufgetrocknete Mundspirochäte. Die Speichelsubstanzen sind auf dem Objektträgerfilm aufgetrocknet und rufen eine leichte Verschleierung des Bildes hervor. El.-opt. ca. 10 000:1.

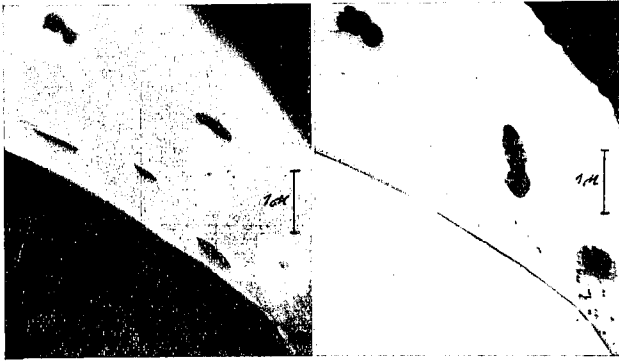


Abb. 4. Rand eines Objektträgerfilms mit aufliegenden Bakterien bei Hell- und Dunkelfeldbeleuchtung. Elektronenoptisch 9000:1.



Abb. 5. Milzbrand-erreger mit Spore. El.-opt. 12 000:1.

II 700/39

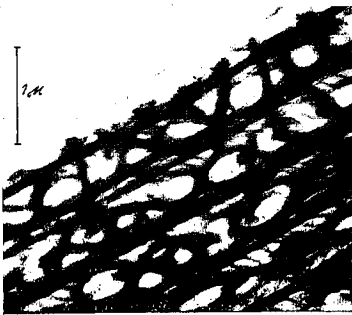


Abb. 6. Schräg zum Strahlengang liegender Rand einer Schmetterlingsschuppe (Noctuide). Infolge der großen Tiefenschärfe erscheinen alle Schuppenteile scharf. El.-opt. 14 000:1.

II 992/39



Abb. 7. Mit Ammonsulfat gefälltes Tabakmosaik-Virusprotein in Form von parakristallinen Parallelaggregaten und einzeln liegenden, stäbchenförmigen Makromolekülen. El.-opt. 16 000:1.

II 7/40



Abb. 8. Kolloides Silber. Einzelne Teilchen erscheinen deutlich sechseckig oder dreieckig. Die Kristallform des Silbers ist das Oktaeder, wobei die sechseckig erscheinenden Teilchen vollständig ausgebildete Kristalle darstellen, während die dreieckigen Exemplare Formen haben, die im Modell entstehen, wenn von einem vollständigen Oktaeder ein Teil durch einen nahe einer Dreiecksfläche parallel zu dieser geführten Schnitt abgetrennt wird. El.-opt. 30 000:1.

II 481/39



Abb. 9. Aus Speichel aufgetrocknete Mundspirochäte. Die Speichelsubstanzen sind auf dem Objektträgerfilm aufgetrocknet und rufen eine leichte Verschleierung des Bildes hervor. El.-opt. ca. 10 000:1.

II 905/39

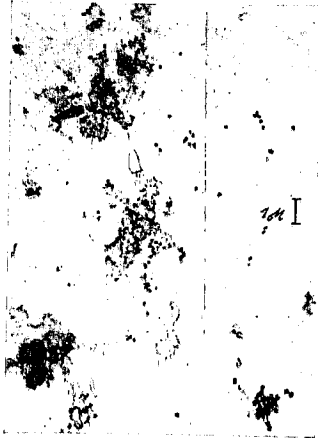


Abb. 10. Virus der Elektromelie der Maus aus Zelltrümmern nach den Angaben von H. Jahn gewonnen. Übersichtsbild bei schwacher Vergrößerung. Die Elementarkörper erscheinen nicht rund, sondern etwas kantig. El.-opt. 3300:1.

II 1227/39



Abb. 11. Durch Salzsäurebehandlung „durchsichtig“ gemachte Hefezellen. El.-opt. 8000:1.

II 501/39

II 162/39

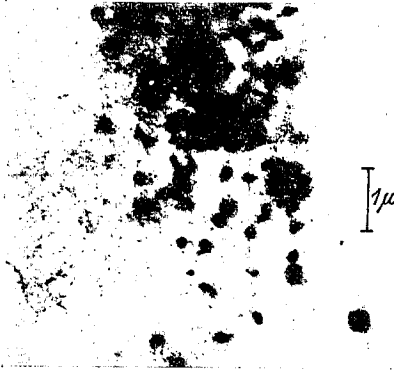


Abb. 12. Ungenügend mit Osmium fixiertes und dann in Wasser gequollenes, menschliches Blutplättchen mit körnigen und gerüstartig gebauten Protoplasmateilen. (Vgl. die nicht gequollene Zelle in Bild 21.) El.-opt. 9000:1.



Abb. 13. Zigarrenrauch. Nadel-förmige, an ihrer Umrandung noch erkennbare Rauchteilchen sind flüchtig geworden. El.-opt. 13000:1.

II 640/38

II 502/39

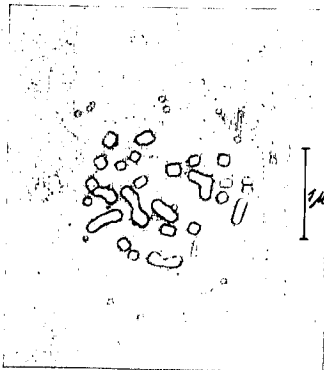


Abb. 14. Zigarrenrauch. Durch intensive Bestrahlung sind auch die würfelförmigen und prismatischen Rauchteilchen zum Verschwinden gebracht. El.-opt. 13000:1.



Abb. 15. Roher Zettlitzer Kaolin mit feinsten Kristallplättchen. El.-opt. 25000:1.

II 829/38



Abb. 16. Bei 1200° gebrannter Zettlitzer Kaolin. Die Kristallplättchen beginnen bei etwa 700° zu zerfallen und kristallisieren bei noch höherer Temperatur zu scharfkantigen Körnern um. El.-opt. 15000:1.

II 105/39



Abb. 17. Kolibakterien aus junger Kultur. El.-opt. 9000:1.

II 147/39



Abb. 18. Kolibakterien aus älterer Kultur. El.-opt. 9000:1.

III 133/39

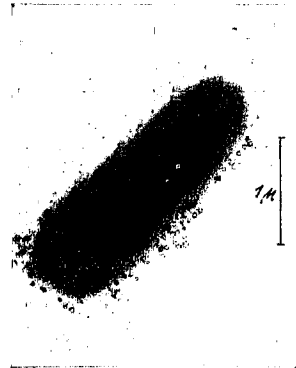


Abb. 19. An der Oberfläche eines Kolibakteriums haftende, zu Gruppen und einzeln liegende Koliphagen. El.-opt. 15000:1.

III 127/39

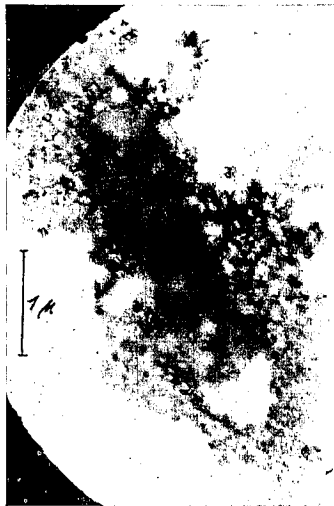


Abb. 20. Durch die Phagen weitgehend aufgelöstes Kolibakterium. Die geringe Schwärzung der Zelle zeigt unmittelbar ihren Substanzverlust an. El.-opt. 15000:1.

II 300/39

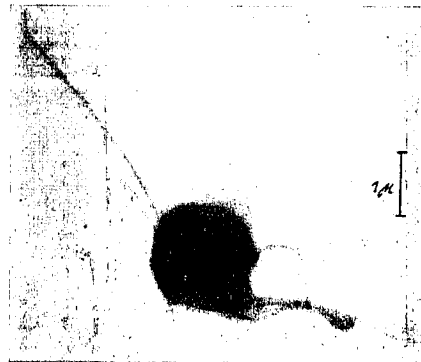


Abb. 21. Blutplättchen mit breitem Protoplasmafortsatz und anhaftenden Fibrinmizellen. El.-opt. 9000:1.

II 122/39

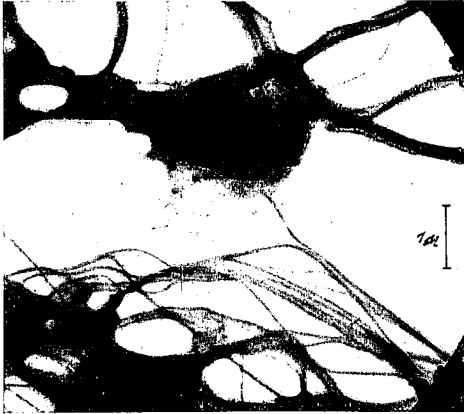


Abb. 22. Blutplättchen mit anhaftenden Fibrinfasern, deren Aufbau aus parallel geordneten Mizellen deutlich erkennbar ist. El.-opt. ca. 9000:1.

II 1044/39

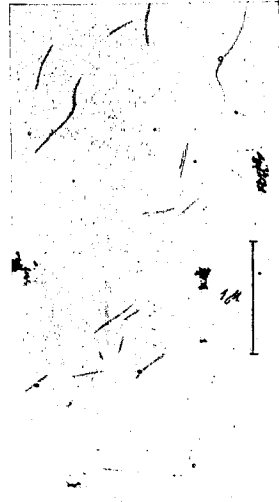


Abb. 23. Kolloides Gold und Tabakmosaik-Virusprotein als reaktionsloses Gemisch. El.-opt. 16000:1.

II 1122/39



Abb. 24. Kolloides Gold und Tabakmosaik-Virusprotein durch Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration nach der sauren Seite als „Rotflockung“ ausgefallen. El.-opt. 15000:1.

II 447/39

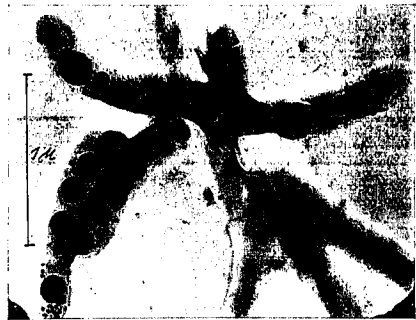


Abb. 25. Bazillen der Hühnertuberkulose. Es sind deutlich Granula und Mikrogranula zu unterscheiden. El.-opt. 16000:1.

II 444/39



Abb. 26. Bazillen der Hühnertuberkulose. Nach Extraktion mit Äther erscheinen die Granula strukturiert. El.-opt. 16000:1.

größe, die bei Molekülen durch das Molekulargewicht ausgedrückt wird, ist bei der Frage der Sichtbarkeit auch die Teilchenform zu berücksichtigen. Fadenförmige Gebilde (Abb. 7) müssen sehr viel höhere Molekulargewichte haben, um sichtbar zu sein, da es auf die Darstellbarkeit der kleinsten Abmessung ankommt. Annähernd runde Teilchen sind, wenn sie an der Grenze des Auflösungsvermögens liegen, in ihrer genauen Form, etwa als kleinste Kristalle, nicht mehr zu erkennen, je nach ihrer wahren Form muß ihre Größe das 5 bis 15fache des Auflösungsvermögens oder mehr betragen (Abb. 8) (3).

Die präparative Technik der Übermikroskopie hat die Aufgabe, freie Einzelteilchen oder zusammenhängende Strukturen in einer solchen Weise der Durchstrahlung mit Elektronen auszusetzen, daß ein auswertbares Bild zustande kommt. Am einfachsten lassen sich aus flüchtigen Suspensionsmitteln kleine zu untersuchende Teilchen aus geeigneten Verdünnungen auf dem Trägerfilm auf-trocknen, bei Pulverform auch trocken aufstäuben (5) und aus Dämpfen kondensieren oder sublimieren. Die Suspensionsmittel dürfen dabei keine oder nur sehr wenig gelöste Bestandteile enthalten, da infolge der Massendickenabbildung jede objektfremde Substanz als das Bild verschleiender (Abb. 9) oder neben dem Objekt auskristallisierender Fremdkörper stört. Wo die interessierenden Objekte im Ausgangsmaterial nicht rein vorliegen, wie z. B. beim intrazellulär sich vermehrenden Virus, müssen sorgfältige Reinigungsverfahren die Objekte vorbereiten (Abb. 10). Bei zusammenhängenden Strukturen muß man versuchen, Schichtdicken zu erreichen, die auf dem Bildschirm oder der übermikroskopischen Aufnahme durchstrahlt erscheinen. Dafür sind die Verfahren der Mikrotomtechnik, deren dünnste Schnittdicke bei 1000 bis 2000 $m\mu$ liegt, im allgemeinen nicht ausreichend, so daß man sich entweder auf Objekte beschränken muß, die erheblich dünner als Mikrotomschnitte sind, oder versuchen muß, „Verdünnungen“ auf künstlichem Wege herbeizuführen. Bis jetzt haben sich verschiedene Verfahren bewährt, die darin bestehen, bestimmte Teile eines Objekts durch chemisch differente Mittel zu entfernen (Abb. 11). Ein anderer Weg geht dahin, Objekte durch Quellung aufzulockern und damit die Strukturteile zu einer breiteren und folglich in der Durchsicht dünneren Auseinanderlagerung zu bringen, ohne daß ein wesentlicher Substanzverlust eintritt (Abb. 12).

Für gewisse Substanzen bedeutet die Untersuchung im Übermikroskop einen Eingriff, der nicht ohne sichtbare Veränderungen vertragen wird. Durch Faltenbildung in einem einreißenden Objektträgerfilm kann es zu Verformungen organischer Objekte, wie Bakterien, Tier- und Pflanzenvirus oder zu Knitterungen dünnster Kristallplättchen und dergl. kommen. Das Vakuum führt u. U. zu einer leichten Schrumpfung des Objekts. Schließlich wirkt der Elektronenstrahl selbst auf die Objekte erwärmend und unabhängig von der Wärmewirkung auf lebende Gebilde abtötend. Die Wärmewirkung wird durch Steigerung der Bildhelligkeit erhöht, so daß es bei gewissen Substanzen möglich ist, Umkristallisationen (11), Verdampfung oder Sublimierung zu bewirken. An Tuberkelbazillen (8) und Bakteriophagen (9, 14), an amorphem Kalziumkarbonat (11), an Kochsalz und zahlreichen anderen Substanzen sind solche Wirkungen beobachtet worden. Besonders schön lassen sich die Veränderungen unter dem Einfluß der Bestrahlung an Zigarrenrauch zeigen. Bläst man diesen auf den Objektträgerfilm, so setzen sich die Rauchteilchen, bzw. Nebeltröpfchen auf dem Film ab. Schon bei geringfügiger Bestrahlung werden Anteile, die dem Tröpfchen als Kondensationskeime gedient haben oder in ihm gelöst waren, flüchtig (Abb. 13). Bei stärkerer Bestrahlung sind alle Anteile zum Verschwinden zu bringen (Abb. 14). Kennt man die Temperatur, bei welcher die untersuchten

Substanzen im Vakuum flüchtig sind, so kann man aus der übermikroskopischen Beobachtung auf die im Objekt vorhandene Temperatur rückschließen. Spielen sich die Veränderungen an sehr kleinen Partikeln ab, so ist es unerlässlich, bei hohen Vergrößerungen direkt zu beobachten.

Um der Übermikroskopie ihren Platz neben anderen Untersuchungsverfahren zu sichern, war es notwendig, ihre Verwertbarkeit als Erweiterung zahlreicher Forschungsmethoden nachzuweisen. Während es einfach und mit großer Genauigkeit möglich ist, Teilchengrößen, deren Form, Struktur und Häufigkeitsverteilung zu bestimmen (3), macht es die bisher notwendige Untersuchung im Vakuum schwierig, Reaktionsabläufe oder gar Lebensprozesse zu verfolgen. Man muß deshalb eine Reihe von Einzelbildern aus einem ablaufenden Vorgang herausgreifen und sich aus genügend großem Beobachtungsmaterial den Vorgang rekonstruieren. Solche Beobachtungsreihen wurden bei der Verfolgung des Brennprozesses an Tonmineralien (4), bei der Beobachtung der Bakterienentwicklung (10) und der Lyse der Bakterien durch Phagen (14), sowie bei der Gerinnung des Blutes (15) gemacht. Abb. 15 zeigt unveränderte Kristallplättchen aus Zettlitzer Kaolin, die beim Brennen bei etwa 700° zerfallen und bei noch höherer Temperatur zu neuen Produkten rekristallisieren (Abb. 16). Aus der Entwicklung der Bakterien ist die typische Form der Bakterien aus jungen und älteren Kolonien wiedergegeben (Abb. 17 und 18). Die polare Verminderung der Dichte der Bakterien entspricht lichtoptisch gesehen einer Verminderung und Verlagerung nach *Feulgen* färbbarer, chemisch kernähnlicher (thymonukleinsäurehaltiger) Substanzen aus den Zellenden nach der Zellmitte. Stadien aus dem Vorgang der bakteriophagen Lyse, der Vernichtung der Bakterien durch ein „bakterienpathogenes Virus“ geben die Bilder 19 und 20 wieder. Die Phagen erscheinen als Ringe, die zunächst auf der Bakterienoberfläche haften und bei ihrer Vermehrung unter Verminderung der Bakteriensubstanz zu deren Auflösung führen. Aus dem Prozeß der Blutgerinnung sind 2 Bilder wiedergegeben (Abb. 21 und 22), die das Zusammentreten sublichtmikroskopischer Fibrinbausteine (Mizelle) mit Blutplättchen und den Aufbau der Fibrinfaser aus diesen Bausteinen zeigen.

Außer der Beobachtung fortlaufender Veränderungen durch das Festhalten einzelner Zustandsbilder ist auch der Vergleich eines zu untersuchenden Systems vor und nach einmaligen, in ihrer Wirkung überblickbaren Eingriffen möglich. Es können damit sowohl Reaktionsabläufe, als auch Struktureigentümlichkeiten geklärt werden. Aus den einzelnen Phasen der Goldsolreaktion zur Charakterisierung der Eiweißkörper gelang es mit dem hochmolekularen Tabakmosaik-Virusprotein als einem Modellkörper, dessen Einzelmoleküle sichtbar sind, typische immer reproduzierbare Bilder zu erhalten, so daß der Mechanismus dieser Kolloidreaktion durch das Bild der verschiedenen Reaktionsphasen geklärt wurde (6). Wenn beide Partner des Reaktionsgemisches, das Eiweiß und das kolloide Gold miteinander reagieren, tritt das Gemisch der beiden Anteile (Abb. 23) so zusammen, daß die Goldteilchen an der Oberfläche der Eiweißmoleküle adsorbiert erscheinen (Abb. 24). Makroskopisch zeigt sich dieser Vorgang als Rotflockung.

Als Beispiel einer Strukturaufklärung sei die Wirkung der Ätherextraktion auf Tuberkelbazillen angeführt. In Abb. 25 erscheinen die Granula der Bazillen als homogene Gebilde, während sie nach der Ätherbehandlung (Abb. 26) einen zweiphasigen Aufbau erkennen lassen. Aus einer großen Reihe ähnlicher Bilder konnte mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit außer auf den Aufbau auch auf die Entstehung der Granula geschlossen werden (8).

Mit diesen aus zahlreichen eingehenden Untersuchungen entnommenen Beispielen sollten die Möglichkeiten der Übermikroskopie als Untersuchungsverfahren aufgezeigt werden. Als morphologischer Methode stehen ihr eine Reihe neuer Untersuchungsmöglichkeiten offen, die zu einer weiteren Analysierung des Aufbaus der Natur führen werden.

Zusammenfassung.

Die Bemühungen um die Verbesserung und Erweiterung der lichtoptischen Mikroskopie, sowie die durch die Möglichkeit der Elektronenoptik geschaffene Übermikroskopie werden besprochen. Das Übermikroskop und die hierfür erforderliche Untersuchungstechnik wird beschrieben. Ferner wird die besondere Einwirkung des Untersuchungsverfahrens auf belebte und unbelebte Substanzen besprochen. Sodann wird erörtert und mit Beispielen belegt, wie man trotz der Schwierigkeiten, die sich aus der Untersuchung im Vakuum und dem Verzicht auf eine Beobachtung in flüssigem Medium ergeben, fortlaufende Reaktionen und Lebensprozesse untersuchen kann.

Literatur:

1. v. Borries, B., und E. Ruska: Z. techn. Physik 1938 Bd. 19 S. 402; Z. techn. Physik 1939 Bd. 20 S. 225 und Nat. Wiss. 1939 Bd. 27 S. 281. — Dies.: Wiss. Veröff. Siemens 1938 Bd. 17 S. 99; Nat. Wiss. 1939 Bd. 27 S. 577 und Z. wiss. Mikroskopie 1939 Bd. 56 S. 317. — 3. v. Borries, B., und G. A. Kausche: Kolloid-Ztschr. 1940 Bd. 90 S. 132. — 4. Eitel W., H. O. Müller und O. E. Radczewski: Ber. d. dtsh. keram. Ges. 1939 Bd. 20 S. 165. — 5. Frieß, H., und H. O. Müller: Die Gasmaske 1939 Bd. 11 S. 1. — 6. Kausche, G. A., und H. Ruska: Kolloid-Ztschr. 1939 Bd. 89 S. 21. — 7. Knoll, M., und E. Ruska: Ann. d. Phys. 1932 Bd. 12 S. 607 und Z. Phys. 1932 Bd. 78 S. 318. — 8. Lembke, A., H. Ruska und J. Christopherson: Klin. Wochenschr. 1940 Bd. 19 S. 217. — 9. Pfankuch, E., und G. A. Kausche: Nat. Wiss. 1940 Bd. 28 S. 46. — 10. Piekarski, G., und H. Ruska: Arch. f. Mikrobiologie 1939 Bd. 10 S. 302. — 11. Radczewski, O. E., H. O. Müller und W. Eitel: Zentralbl. f. Mineralogie 1940 S. 8. — 12. Ruska, E.: Z. Physik 1934 Bd. 87 S. 580. — 13. Ruska, H.: Nat. Wiss. 1939 Bd. 27 S. 287. — 14. Ders.: Nat.-Wiss. 1940 Bd. 28 S. 45. — 15. Wolpers, C., und H. Ruska: Klin. Wochenschr. 1939 Bd. 18 S. 1077 u. IIII.