

Bedeutung und Ergebnisse der Übermikroskopie

Von

Dr. med. H. Ruska

Mit 18 Bildern

Mitteilung aus dem Laboratorium für Übermikroskopie
der Siemens & Halske AG

Sonderdruck
aus
Siemens - Zeitschrift
Jahrgang 20 (1940), Heft 6, Seite 228 bis 234

Bedeutung und Ergebnisse der Übermikroskopie

Von Dr. med. H. Ruska

Der Mikroskopie ist die Aufgabe gestellt, Werte für die dem Gesichtssinn unzugänglichen kleinsten Abmessungen zu finden. Diese Aufgabe teilt sie mit einer großen Zahl mittelbarer Meßverfahren. Es wird jedoch als besonderer Vorzug angesehen, wenn eine solche Vermessung unmittelbar durch die mikroskopische Betrachtung erfolgen kann. Die Begründung hierfür liegt einmal darin, daß wir von allen Sinnen am stärksten vom Gesichtssinn abhängig sind, sodann auch darin, daß das Gesehene, wenn wir die optischen Gesetze kennen, weniger leicht zu Täuschungen führt als das mittelbar Vermessene. Es war daher durchaus sinnvoll, sich um eine Erweiterung des mikroskopischen Sehens zu bemühen. Die Mikroskopie untersucht jedoch nicht ausschließlich gegebene Formen und Größen, sie versucht auch durch das Experiment die Wandelbarkeit der Feinstrukturen nachzuweisen und die Zusammenhänge zwischen den Entstehungsbedingungen, den Eigenschaften der Stoffe und deren Struktur zu ergründen.

Entsprechend ihrer sehr allgemeinen Aufgabenstellung ist die Mikroskopie ein Hilfsverfahren für zahlreiche praktische Arbeiten und fast jeder Art naturwissenschaftlicher Forschung. Manche Fachrichtungen, vor allem in Medizin und Biologie, verdanken ihre Entwicklung fast ausschließlich der Mikroskopie. Die Mikroskopie mit Elektronenstrahlen stellt gegenüber der Lichtmikroskopie eine Erweiterung in Richtung eines gesteigerten Auflösungsvermögens dar, während sie andererseits auf manche Möglichkeiten der Mikroskopie mit Licht verzichten muß. Mit beiden Verfahren lassen sich die Objekte betrachten, vermessen und zählen. Das mit dem Lichtmikroskop betrachtete Bild vermittelt zunächst in der Fläche verschiedene Formen, Farben und Lichtstärken. Ein räumlicher Eindruck kann durch das Scharfstellen verschiedener Ebenen im Objekt oder durch binokulares Sehen vermittelt werden. In der Übermikroskopie sehen wir auf dem Leuchtschirmbild verschiedene Helligkeiten und Formen, die auf dem Weg über die stereoskopische Aufnahme¹⁾ räumlich ergänzt werden können. Wir

sehen jedoch keine Farben, weil auch mit verschiedenen Wellenlängen der Elektronen erzeugte Bilder für unser Auge keine Farbeigenschaften haben.

Das Vermessen der Objekte erfolgt mit dem neuen Verfahren, entsprechend seinem über 50fachen Auflösungsvermögen mit der 50fachen Genauigkeit. Die erhöhte Genauigkeit der Objektvermessung ist das entscheidende Merkmal der Übermikroskopie. Auch die dritte Dimension läßt sich nicht nur auf der Stereoaufnahme betrachten, sondern auch etwa mit der Genauigkeit des Auflösungsvermögens stereophotogrammetrisch ausmessen²⁾.

Bei der Zählung der betrachteten Teile ist zu unterscheiden zwischen der zahlenmäßigen Festlegung von Vergleichswerten und der absoluten Zählung von Teilchen in einer gegebenen Gewichts- oder Raummenge. Die Verteilung verschiedener Größen ähnlicher Objekte in einem Präparat und die ver-

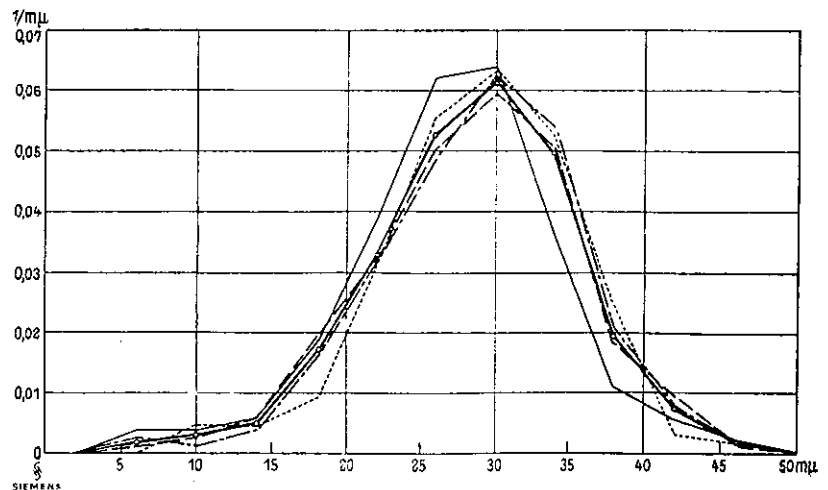


Bild 1. Häufigkeitsverteilung des Durchmessers kolloider Goldteilchen.

	Teilchenzahl	Mittlerer Durchmesser	
		linear gemittelt	kubisch gemittelt
		µm	µm
—	137	27,2	28,8
----	162	28,9	30,2
-----	480	28,6	30,1
-----	190	28,7	30,3
————	969	28,5	30,0

¹⁾ E. Ruska, DRP 659 092 (1934).

M. v. Ardenne, Z. Phys 115 (1940), 359.

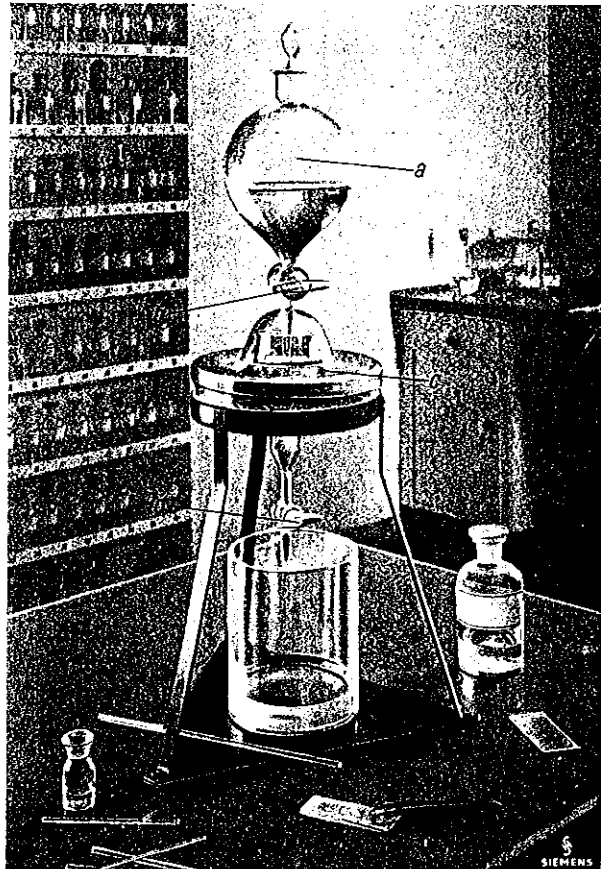
²⁾ W. Eitel u. E. Gotthardt, Naturwiss. Bd. 28 (1940), S. 367.

gleichende Zählung der gleichen Objekte in Präparaten mit verschiedener Häufigkeit der Einzelteile kann, wie in der Lichtmikroskopie, vorgenommen werden. Als Beispiel sei die Größenverteilung der Teilchen in einer Lösung von kolloidem Gold gegeben (Bild 1)³⁾. Die Feststellung absoluter Teilchenzahlen ist indessen bis jetzt nicht durchgeführt worden, weil die Abmessung so kleiner Substanzmengen, wie sie für diese Zwecke erforderlich wäre, bisher technisch nicht durchgeführt ist.

Betrachtung, Vermessung und Zählung geschehen in der Übermikroskopie meist an kleineren, vielfach aber auch an den gleichen Objekten wie in der Mikroskopie mit Licht, nur müssen in jedem Falle die Präparate in einer anderen Form vorliegen als sie die lichtmikroskopische Technik liefert. Für die Übermikroskopie sind nicht nur die Objektträger und Deckgläser, sondern meist auch die Präparate zur Durchstrahlung zu dick, weil die Elektronen nur äußerst dünne Schichten zu durchdringen vermögen. An die Stelle des Glasträgers tritt ein nur $10\text{ m}\mu$ ($1\text{ m}\mu = 10^{-6}\text{ mm}$) dicker Kollodium-Film, den man durch Zerfließenlassen eines kleinen Tropfens von Zaponlack auf einer Wasseroberfläche erhält⁴⁾. In dem in Bild 2 dargestellten Gerät befindet sich zur Herstellung der Trägerfilme in der flachen mittleren Schale eine Anzahl 3 bis 4 mm großer, runder Metallblenden mit sehr feinen Bohrungen. Diese werden mit Wasser aus dem Scheidetrichter bedeckt, das mit Amylacetat, dem Lösungsmittel des Kollodiums, gesättigt ist. Auf der Oberfläche des Wasserbades bildet sich beim Aufbringen eines Kollodiumtropfens der dünne Trägerfilm, den man dann auf die im Bad liegenden Blenden durch Ablassen des Wassers am unteren Hahn absinken läßt. Auf den Blenden trocknet der Film über die Bohrung gespannt fest und bildet den Träger für die Objekte. Die hohen Vergrößerungen erfordern nur ein sehr kleines Objektfeld; es genügt, Filme über 0,1 mm große Blendenbohrungen anzuringen. Ein solches rundes Objektfeld wird bei 40 000facher Vergrößerung über $12\text{ }\mu\text{m}$ 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. Man bringt es zu diesem Zweck in die Maschen eines feinen Drahtnetzes oder über die unbefilmte Blendenbohrung.

Das besondere Arbeitsgebiet der Übermikroskopie wird durch das erreichbare Auflösungsvermögen des Gerätes und den jeweiligen Stand der

präparativen Technik bestimmt. Zur Zeit ist ein Auflösungsvermögen von $2,5\text{ m}\mu$ ⁵⁾ nachgewiesen. Das bedeutet, daß ein punkt- oder strichförmiges Gebilde mit einem Durchmesser von $1,25\text{ m}\mu$ unter günstigen Bedingungen noch erkannt werden kann. Die erfassbaren Größen liegen im Gebiet der Kolloide und reichen bis zu den Abmessungen der Makromoleküle. Teilchen mit einem Molekulargewicht von 10^{-5} und darüber können heute schon abgebildet werden. Voraussetzung ist allerdings dabei,



a=Scheidetrichter, b=Absperrhahn, c=Folien-Gießschale, d=Ablaßhahn, e=Trägerblech für Objektblenden.

Bild 2. Gerät zur Herstellung der Objektträgerfilme.

daß die Teilchen gegenüber der Umgebung einen so großen Massenunterschied haben, daß auf der photographischen Platte noch ein Kontrastunterschied entsteht. Daher lassen sich massendichte Teilchen, wie z. B. Gold-Kolloid, leichter abbilden als große organische Moleküle, wie z. B. Glykogen, die Moleküle der tierischen Stärke. Durch Einführung von schweren Atomen kann man jedoch auch hier den Kontrast steigern und auf diese Weise für übermikroskopische Zwecke die Objekte „färben“.

³⁾ B. v. Borries u. G. A. Kausche, Kolloid-Z. Bd. 90 (1940), S. 152.

⁴⁾ H. Ruska, Naturwiss. Bd. 27 (1939), S. 287.

⁵⁾ B. v. Borries u. E. Ruska, Ergebn. exakt. Naturw. (1940) im Druck.

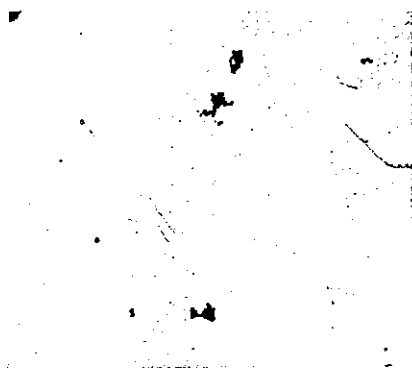
Bild 3 zeigt Glykogenmoleküle, die durch chemischen Einbau eines Jodbenzoylrestes kontrastreich gemacht sind⁶⁾. Außer der Teilchengröße, die bei Molekülen durch das Molekulargewicht ausgedrückt wird, und dem Kontrast der Teilchen, der im wesentlichen durch die Dichte gegeben

auf dem Trägerfilm aufrocknen, bei Pulverform auch trocken aufstäuben⁸⁾ und aus Dämpfen kondensieren oder sublimieren. Die Präparate dürfen dabei keine, oder nur sehr wenig gelöste niedermolekulare Substanzen erhalten, da infolge der Abbildung der gesamten im Präparat vorhandenen Masse jede



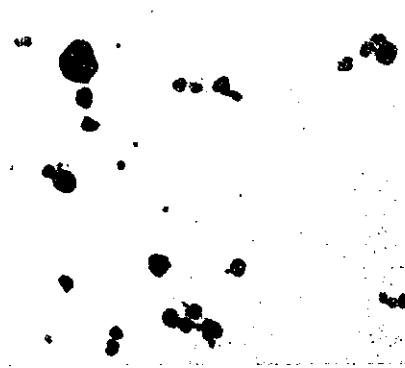
1985/40

Bild 3. Moleküle des p-Jodbenzoyl-glykogens, 0,1 mg/l; Molekulargewicht etwa 6×10^6 ⁹⁾. Elektronenopt. 14000:1 (Bild 28000:1).



II 1044/39

Bild 4. Moleküle des Tabakmosaik-Virusproteins und kolloides Gold als reaktionsloses Gemisch. Elektronenoptisch 16000:1.



II 7/40

Bild 5. Kolloides Silber. Elektronenoptisch 30000:1.

ist, ist bei der Frage der Sichtbarkeit auch die Teilchenform zu berücksichtigen. Fadenförmige Gebilde müssen sehr viel höhere Molekulargewichte haben, um sichtbar zu sein, da es auf die optische Auflösung der kleinsten Abmessung quer zum Strahlengang ankommt. Als Beispiel zeigt Bild 4 die Protein-Moleküle des Tabak-Mosaikvirus, die ersten Moleküle, deren Abbildung gelang⁷⁾. Von annähernd runden Teilchen kann man die genaue Form nur erkennen, wenn ihre Größe ein Mehrfaches des Auflösungsvermögens beträgt⁸⁾. In Bild 5 sieht man kolloide Silberpartikel, deren kleinste Formen rund erscheinen. Erst an den größeren kann man erkennen, daß nicht etwa Kugeln, sondern Kristalle, wie Oktaeder oder davon abgeleitete Formen vorliegen.

Die präparative Technik der Übermikroskopie hat die Aufgabe, freie Einzelteilchen oder zusammenhängende Strukturen in einer solchen Weise der Durchstrahlung auszusetzen, daß ein auswertbares Bild zustande kommt. Am einfachsten lassen sich aus flüchtigen Suspensionsmitteln kleine zu untersuchende Teilchen aus geeigneten Verdünnungen

Fremdschubstanz mitabgebildet wird. Wenn die zu untersuchenden Objekte im Ausgangsstoff nicht rein vorliegen, müssen sie durch sorgfältige Reinigungsverfahren isoliert werden. So können aus Pflanzenzellen die Körner des Blattgrüns abgetrennt werden⁹⁾, aus den Chlorophyllkörnern die sie aufbauenden Grana und „Scheiben¹⁰⁾“ und bei kranken Pflanzen noch das krankmachende Virus (Bilder 6, 7 und 4). Auch das tierische Virus muß durch Reinigungsverfahren aus dem kranken Gewebe herausgelöst werden. Bild 8 zeigt die Erreger einer bösartigen Geschwulst, durch deren Infektion zahme Kaninchen in kurzer Zeit zugrunde gehen.

Bei zusammenhängenden Strukturen muß man versuchen, Schichtdicken zu gewinnen, die auf dem Bildschirm oder der übermikroskopischen Aufnahme durchstrahlt erscheinen. Meistens sind die Verfahren der Mikrotomtechnik, deren dünnste Schnitte bei $500 \dots 1000 \text{ m}\mu$ liegen, nicht ausreichend. Nur bei porösen Objekten kann man damit gute Bilder gewinnen. So zeigt Bild 9 das Stück eines Querschnitts einer Zellwollfaser¹¹⁾, deren

⁶⁾ Unter den übermikroskopischen Aufnahmen ist die Archivnummer hinzugefügt, um bei dem großen Bestand an solchen Aufnahmen das Aufsuchen der Originalplatten zu erleichtern.

⁸⁾ E. Husemann u. H. Ruska, Naturwiss. Bd. 28 (1940), S. 554.

⁷⁾ G. A. Kausche, E. Pfankuch u. H. Ruska, Naturwiss. Bd. 27 (1939), S. 292.

⁹⁾ H. Friess u. H. O. Müller, Gasmaske Bd. 11 (1939), S. 1.

⁹⁾ G. A. Kausche u. H. Ruska, Naturwiss. Bd. 28 (1940), S. 303.

¹⁰⁾ G. A. Kausche u. H. Ruska, Naturwiss. Bd. 28 (1940), S. 303.

¹¹⁾ H. Ruska, Kolloid-Z. Bd. 92 (1940), S. 276.

schaumige Innenstruktur gut durchstrahlt wird, während in der kompakten Außenzone keine Strukturen zu erkennen sind, obwohl der Aufbau nach den Ergebnissen indirekter Messungen nicht homogen ist. Vielfach liefert die Natur von sich aus Objekte, die dünner sind als Mikrotomschnitte; da

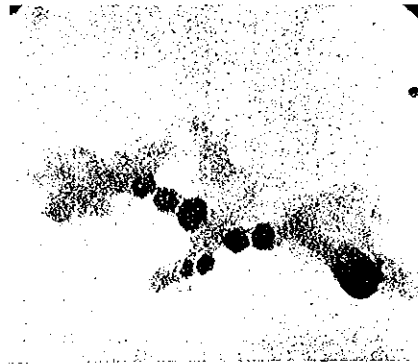
zahlreicher, streng geordneter Fadenmoleküle, die man als Micelle bezeichnet.

Die Untersuchungsbedingungen bringen es mit sich, daß einstweilen solche Substanzen von der Untersuchung auszuschließen sind, die im Vakuum rasch verdampfen und daß in jedem Objekt die im



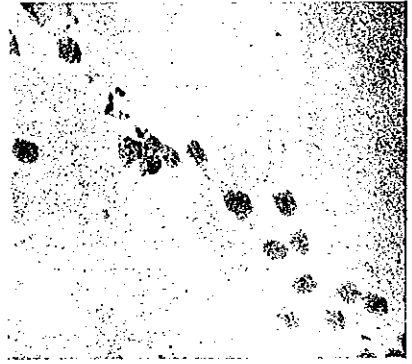
III 109/40

Bild 6. Rand eines aus der Zelle isolierten Chloroplasten der Tabakpflanze mit mehrfach übereinanderliegenden „Scheiben“, welche bei der Beobachtung im Polarisationsmikroskop das Phänomen der Scheibendoppelbrechung verursachen. Elektronenoptisch 10 000 : 1.



III 25/40

Bild 7. Grana und Virusstäbchen aus Chloroplasten einer kranken Zelle der Tabakpflanze. Die dunklen „Grana“ sind in „Stroma“-Bestandteilen gebettet, von denen die stäbchenförmigen Proteinmoleküle ihren Ausgang zu nehmen scheinen. Elektronenoptisch 19 000 : 1.



5150/40

Bild 8. Virus (Elementar-Körper) des Kaninchenmyxoms. Die Elementar-körper haben hier, wie auch bei anderen Tier-Viren, annähernd kubisch-prismatische Form. Es fehlt ihnen die Membran der Bakterien und Kokken. Elektronenoptisch 12 000 : 1.

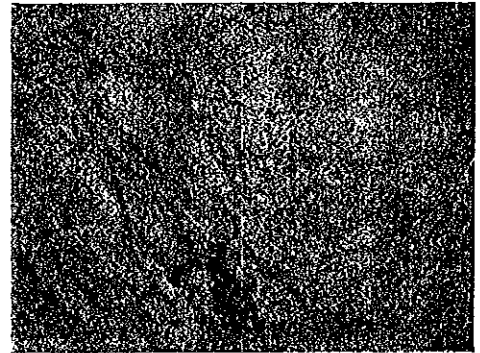
man sich jedoch auf diese nicht beschränken kann, muß man versuchen, auf künstlichem Wege „Verdünnungen“ herbeizuführen. Man kann Objektteile durch chemische Mittel herauslösen oder durch Fermente verdauen; man kann die Objekte veraschen und nur die Mineralbestandteile abbilden oder sie quellen lassen, um sie aufzulockern und damit zu einer breiteren Auseinanderlagerung bringen, die zu einer besseren Durchsichtigkeit führt. Wenn der chemische Abbau nicht homogen erfolgt, sondern durch eine vorhandene Struktur in bestimmte vorgegebene Wege geleitet wird, so kann diese Struktur während des Abbaus freigelegt und im Bild festgehalten werden. Auf diese Weise ist Bild 10 erhalten worden¹²⁾, das die Micellarstruktur der Baumwolle darstellt. Die sichtbaren Fäden sind noch keine Zellulosemoleküle, sondern Bündelungen

Vakuum flüchtigen Stoffe fehlen. Außerdem ist der Einfluß der Strahlung selbst zu berücksichtigen, sie bedeutet einen Eingriff, der nicht von jeder Substanz ohne sichtbare Veränderung getragen wird. Wir müssen dabei unterscheiden zwischen der elektrischen Aufladung, der Ionisierung und der Er-



2447/40

Bild 9. Teilquerschnitt durch eine Zellwollfaser. Der Gesamtquerschnitt besitzt etwa den 4–5fachen Durchmesser. Elektronenoptisch 18 000 : 1.



2641/40

Bild 10. Micellarstruktur aus der Sekundärwand eines durch Salzsäure abgebauten Baumwollhaares. Elektronenoptisch 18 000 : 1.

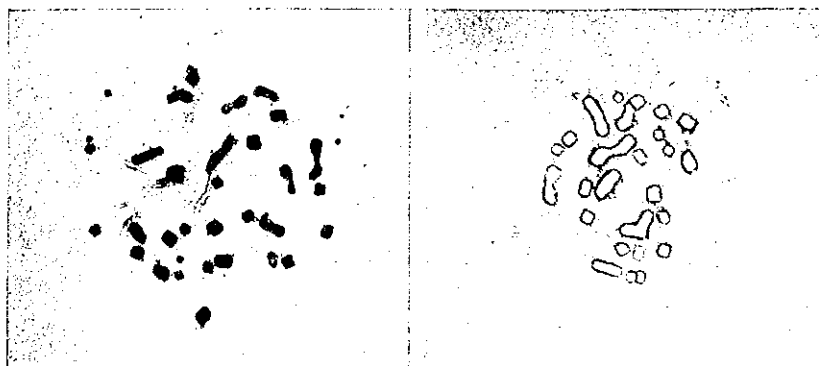
¹²⁾ H. Ruska u. M. Kretschmer, Kolloid-Z. Bd. 95 (1940), S. 165.

wärmung der Objekte. Soweit diese zu sichtbaren Veränderungen führen, was besonders bei der Wärmewirkung der Fall ist, können wir sie im Übermikroskop beobachten. Wirkungen einer Objektaufladung (Abspringen der aufgeladenen Teilchen

vom Trägerfilm bzw. von der Objektblende) sind selten zu sehen. Die Ionisierung ist insofern wichtig, als wir in ihr den für die Abtötung lebender Objekte wesentlichen Faktor sehen müssen, doch führt sie nach den bisherigen Erfahrungen nicht zu Strukturänderungen in jenem Größenbereich, der dem Übermikroskop zugänglich ist. Praktisch von Bedeutung ist vorwiegend die Erwärmung. Sie wird durch Kühlung der Objekte herabgemindert und dadurch, daß man durch geeignete Einstellung des Bestrahlungsgerätes mit möglichst geringem Strahlstrom zu der erforderlichen Bildhelligkeit zu gelangen sucht. Durch richtige Bemessung der Kühlung und durch vorsichtige Bestrahlung können selbst empfindliche Objekte vor zu starker Erwär-

Nebeltröpfchen auf dem Film ab und trocknen dort fest. Schon bei geringfügiger Bestrahlung werden feine, nadelförmige, nur noch am Umriß erkennbare Anteile, die dem Tröpfchen als Kondensationskeime gedient haben oder in ihm gelöst waren, flüchtig (Bild 11). Bei stärkerer Bestrahlung sind alle Anteile zum Verschwinden zu bringen (Bild 12). 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.

Im allgemeinen wird man versuchen, physikalische Zustandsänderungen bei der Bestrahlung der Objekte zu vermeiden oder zu beschränken. In gewissen Fällen können sie dem Untersucher aber auch dienlich sein, indem sie zu Veränderungen führen, die für bestimmte Objektteile so kennzeichnend sind, daß sie als spezifische Reaktionen angesehen werden können. So zeigt Bild 13 eine Bakterienzelle, die von Bakteriophagen umgeben ist, welche bei starker Bestrahlung von kompakten Körperchen zu den im Bild sichtbaren Ringen übergehen. Die Bakteriophagen der Coli-, Ruhr- und Typhusbakterien, nicht dagegen die der Staphylokokken, lassen sich auf diese Weise von ähnlichen Körperchen gleicher Größe, aber



II 501/39
Bild 11. Schwach bestrahlter
Zigarrenrauch.
Elektronenoptisch 13000:1.

II 502/39
Bild 12. Stark bestrahlter
Zigarrenrauch.
Elektronenoptisch 13000:1.

mung geschützt werden. Andererseits lassen sich Temperaturen erreichen, bei denen Silber, Gold und Goldplatingemische zum Schmelzen kommen. Die Wärmewirkung wird durch Steigerung der Bildhelligkeit erhöht, so daß es bei gewissen Substanzen möglich ist, Umkristallisationen, Verdampfen oder Sublimieren zu bewirken. An Tuberkelbazillen¹³⁾ und Bakteriophagen¹⁴⁾, an amorphem Kalziumkarbonat¹⁵⁾, an Kochsalz und zahlreichen anderen Substanzen sind solche Wirkungen beobachtet worden. Besonders schön lassen sich die Veränderungen unter dem Einfluß der Bestrahlung an Zigarrenrauch zeigen¹⁶⁾. Bläst man diesen auf den Objektträgerfilm, so setzen sich die Rauchteilchen, bzw.

anderer biologischer Bedeutung gut unterscheiden.

Bei langer Bestrahlung wird organische Substanz immer denaturiert. So verliert z. B. Nitrozellulose nach der Bestrahlung durch tiefgreifende chemische Veränderung ihre Löslichkeit. Für die Mikroskopie sind aber solche Veränderungen belanglos, solange sie ohne oder nicht mit unüberprüfbar Strukturänderungen einhergehen. Die Veränderung der Nitrozellulose, aus der die üblichen Trägerfilme bestehen, kann man dazu benutzen, diese Filme durch Vorbestrahlung auch für Objekte geeignet zu machen, die in Lösungen aufgeschwemmt sind, die den unbestrahlten Film zerstören würden. Biologische, im wesentlichen meist aus Eiweiß bestehende Objekte, erfahren bei der Bestrahlung eine leichte Bräunung, die insofern nützlich sein kann, als sie eine nachträgliche lichtmikroskopische Untersuchung der im allgemeinen ungefärbten Präparate erleichtert.

Als eine weitere Wirkung der Strahlen im Objekt muß an die Entstehung von Sekundärelektronen und Röntgenstrahlen gedacht werden, doch spielen diese bei der hier zunächst allein in Betracht gezogenen Durchstrahlungsmikroskopie keine Rolle.

¹³⁾ A. Lembke u. H. Ruska, *Klin. Wochenschr.* Bd. 19 (1940), S. 217.

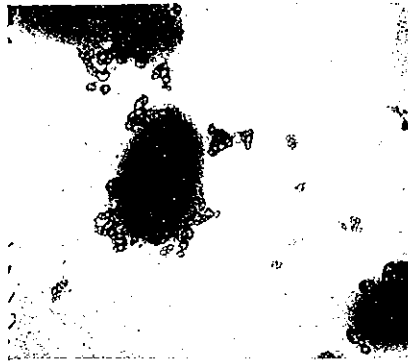
¹⁴⁾ H. Ruska, G. A. Kausche u. E. Pfankuch, *Naturwiss.* Bd. 28 (1940), S. 45.

¹⁵⁾ O. E. Radzewski, H. O. Müller u. W. Eitel, *Zbl. Min. Geol. Paläont. Abt. A.* (1940), Nr. 1, S. 8.

¹⁶⁾ H. Ruska u. E. Frühbrodt, *Biologie* Bd. 9 (1940), S. 69.

Nur in der Rückstrahlungsmikroskopie sind bei senkrecht zum Abbildungsstrahlengang liegender Objektobjektfläche¹⁷⁾ auf der photographischen Platte praktisch vernachlässigbare Wirkungen von Röntgenstrahlen beobachtet worden.

Der Wert der Übermikroskopie auf zahlreichen Arbeitsgebieten steigt in dem Maße, in dem durch sie auch der Ablauf von Veränderungen an den untersuchten Objekten beobachtet werden kann. Während es aber einfach und mit großer Genauigkeit möglich ist, Teilchengrößen, deren Form, Struktur und Häufigkeitsverteilung zu bestimmen, macht es die bisher notwendige Untersuchung im Vakuum schwierig, Reaktionsabläufe oder gar Lebensvorgänge zu verfolgen. Man muß deshalb eine Reihe von Einzelzuständen aus einem ablaufenden Vorgang herausgreifen und versuchen, sich aus einer genügend großen Beobachtungszahl den Vorgang zu rekonstruieren. Solche Beobachtungen wurden bei der Verfolgung des Brennvorgangs an Tonmineralien¹⁸⁾, bei der Beobachtung der Bakterienentwicklung¹⁹⁾, bei der Auflösung der Bakterien unter der Einwirkung von Bakteriophagen¹⁴⁾ und bei der Gerinnung des Blutes²⁰⁾ gemacht. Aus der Entwicklung der Bakterien zeigen die Bilder 13 bis 16 kennzeichnende Formen aus verschiedenen alten Kulturen. Wenn eine Bakterienzelle auf einen frischen Nährboden gebracht wird, wachsen zunächst gleichmäßig dichte, strukturlose Formen (Bild 13). Später trennt sich das Bakterieninnere von der Bakterienmembran und nimmt nicht mehr den ganzen in der Membran verfügbaren Raum ein (Bild 14). Daß es sich tatsächlich nicht etwa um eine wenig dichte, die Bakterien umgebende Substanz handelt, sondern um eine Haut, erkennt man an den Faltenbildungen, die mitunter



1961/40

Bild 13. Colibakterien mit umgebenden Bakteriophagen. Die gleichmäßig dichte Zelle entspricht einem Kulturalter von wenigen Stunden.
Elektronenoptisch 14 000 : 1.



4468/40

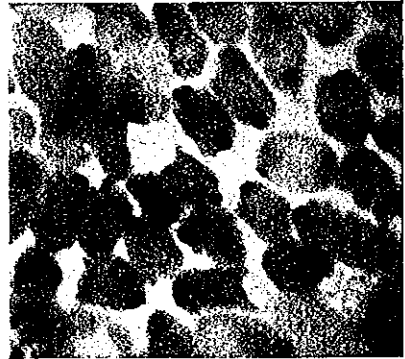
Bild 14. Ruhrbakterien aus 36stündiger Kultur. Die umgebenden Punkte sind keine Bakteriophagen.
Elektronenoptisch 13 000 : 1.

unabhängig voneinander sowohl in der unmittelbar dem Film aufliegenden, als auch der darüberliegenden Schicht zu sehen sind. Es ist auch gelungen, diese Membranen von den sogenannten Bakterienkapseln genau zu unterscheiden²¹⁾. Die Formen mit dem dicht zusammengeballten Inneren gehen dann über die in Bild 15 sichtbaren Zwischenformen in kleinere, blassere Zellen mit polaren Verdichtungen über (Bild 16). Die biologische Bedeutung dieses Vorgangs ist noch unklar, die Bilder zeigen aber, welche unerwarteten morphologischen Vorgänge gerade auf dem Gebiet der Bakteriologie zu beobachten sind.



4812/40

Bild 15. Ruhrbakterien aus 63stündiger Kultur.
Elektronenoptisch 12 000 : 1.



4815/40

Bild 16. Ruhrbakterien aus 63stündiger Kultur.
Elektronenoptisch 12 000 : 1.

¹⁷⁾ E. Ruska u. H. O. Müller, Z. Phys. Bd. 116 (1940), S. 249.

¹⁸⁾ W. Eitel, H. O. Müller u. O. E. Radzewski, Ber. dtsh. keram. Ges. Bd. 20 (1939), S. 165.

¹⁹⁾ G. Piekarski u. H. Ruska, Arch. Mikrobiologie Bd. 10 (1939), S. 302.

²⁰⁾ C. Wolpers u. H. Ruska, Klin. Wochenschr. Bd. 18 (1939), S. 1077 u. 1111.

Außer der Verfolgung stetig fortlaufender Veränderungen durch das Festhalten einzelner Zustandsbilder ist auch der Vergleich eines zu untersuchenden Systems vor und nach einem einmaligen in seiner Wirkung überblickbaren Eingriff möglich.

²¹⁾ E. Frühbrodt u. H. Ruska, Arch. Mikrobiologie Bd. 11 (1940) S. 137.

Es können sowohl Reaktionsergebnisse, als auch Struktureigentümlichkeiten geklärt werden. So ist es gelungen, Reaktionen zwischen zwei Kolloiden in der Abhängigkeit von der Elektrolyt- und Wasserstoffionen-Konzentration aufzuklären²²⁾. Als Modell diente die sogenannte Goldsolreaktion, die in der Biologie vielfach zur Charakterisierung von Eiweißen verwendet wird. Eintretende Reaktionen sind makroskopisch entweder an den Farbänderungen des Goldsols von rot über alle Zwischentöne nach Blau zu sehen, oder auch an der Bildung verschiedenfarbiger Niederschläge. In dem besonderen Fall der Reaktion zwischen Tabakmosaik-Virusprotein



II 1122/39
Bild 17. Tabakmosaik - Virusprotein und kolloides Gold durch Verschiebung der Wasserstoff-Ionenkonzentration nach der sauren Seite als „Rotflockung“ ausgefallen.
Elektronenoptisch 15 000 : 1.

und kolloidem Gold hat sich ergeben, daß Blaufärbung durch die Aggregation der Goldteilchen untereinander eintritt, während bei der Bildung von roten Ausflockungen das Gold nicht mit dem Gold, sondern mit den Proteinemolekülen zusammentritt, und zwar in der Weise, daß die Goldteilchen in

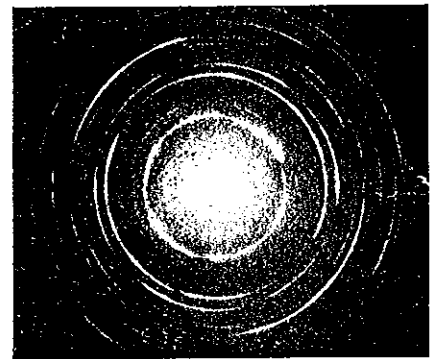
Abständen auf den untereinander vernetzten, fadenförmigen Eiweißteilchen sitzen (vgl. Bild 4 mit Bild 17). Durch Behandlung biologischer Objekte mit fettlösenden Mitteln ist es gelungen, an Tuberkelbazillen¹⁹⁾ und an Zellmembranen²⁰⁾ den Sitz fettartiger Substanzen an sublichtmikroskopischen Strukturen nachzuweisen. Besonders der Nachweis der sogenannten Lipide in Membranen ist von großer Bedeutung, weil diese Lipide die Durchlässigkeit der Zellwände regeln und beispielsweise in der Theorie der Narkose eine große Rolle spielen.

In jüngster Zeit ist auch die Entwicklung der Mikroskopie von Oberflächen wieder aufgenommen worden¹⁷⁾ und hat auch hier zum Erreichen sublichtmikroskopischer Auflösungen geführt²¹⁾. Es können auf diese Weise unter Vermeidung des Abdruckverfahrens von H. Mahl²⁵⁾ unbehandelte oder geätzte Metalloberflächen, die die Grenzen des Kristall-

gefüges erkennen lassen, untersucht werden²⁶⁾. Die bestrahlten Oberflächen müssen gut gekühlt und elektrisch leitend sein, damit keine Objektzerstörung und keine Objektaufladung eintritt. Bei nichtleitenden Objekten kann man wahrscheinlich durch dünnste Metallaufstäubungen, die die Struktur des darunterliegenden Nichtleiters noch erkennen lassen, ebenfalls zu brauchbaren Ergebnissen kommen.

Es ist wertvoll, daß im Übermikroskop als ergänzendes indirektes Meßverfahren die Aufnahme von Elektronen-Beugungsdiagrammen möglich ist²⁷⁾ (Bild 18). In der Lichtmikroskopie wird das entsprechende Verfahren kaum angewandt, da cha-

arakteristische Beugungsdiagramme nur bei gesetzmäßig gebauten Objekten auftreten, deren Aufbauperiode in oder auch etwas über der Größenordnung der Wellenlänge der angewandten Strahlen liegt. Diese Abmessungen kön-



3736/40
Bild 18. Beugungsdiagramme einer etwa 350 Å dicken, auf Kollodiumfolie durch thermisches Verdampfen im Vakuum hergestellten Antimonschicht.

nen aber in der Lichtmikroskopie auch direkt gesehen werden. Der besondere Wert der Aufnahme von Beugungsdiagrammen ist daher vor allem bei denjenigen Strahlen kürzerer Wellenlänge gegeben, welchen die optische Ablenkbarkeit fehlt (Röntgenstrahlen), oder bei denen die Auflösung der optischen Bilder nicht an den Betrag der Wellenlänge heranreicht (Elektronenstrahlen). Durch die zusätzliche Aufnahme von Elektronenbeugungsdiagrammen gelingt es, Aussagen auch noch über molekulare und atomare Abmessungen der übermikroskopisch untersuchten Objekte zu machen.

Mit den angeführten aus zahlreichen eingehenden Untersuchungen entnommenen Beispielen sollten die Möglichkeiten aufgezeigt werden, die das Übermikroskop als Forschungsinstrument bietet. Die Mikroskopie mit schnellen Elektronen findet ein weites Betätigungsfeld vor und wird uns in der Analyse des Aufbaues der Natur wiederum ein Stück weiter bringen.

²²⁾ G. A. Kausche u. H. Ruska, Kolloid-Z. Bd. 89 (1959), S. 21.

²³⁾ Unveröffentlichte Untersuchungen.

²⁴⁾ B. v. Borries, Z. Phys. Bd. 116 (1940), S. 370.

²⁵⁾ H. Mahl, Metallwirtschaft Bd. 19 (1940), S. 458.

²⁶⁾ B. v. Borries u. W. Ruttmann, Wiss. Veröff. Siemens, Werkstoff-Sonderheft (1940), S. 342; L. Koch u. A. Lehmann, ebenda, S. 363.

²⁷⁾ E. Ruska, Wiss. Veröff. Siemens, Werkstoff-Sonderheft (1940), S. 372.