

Hingucker in neuen Dimensionen

Elektronen- und Rastersondenmikroskope gehören zu den wichtigsten Werkzeugen in den modernen Naturwissenschaften. Gleich mehreren Jülicher Forscherteams ist es 2014 gelungen, die Möglichkeiten dieser weitverbreiteten Methoden aufsehenerregend zu erweitern.

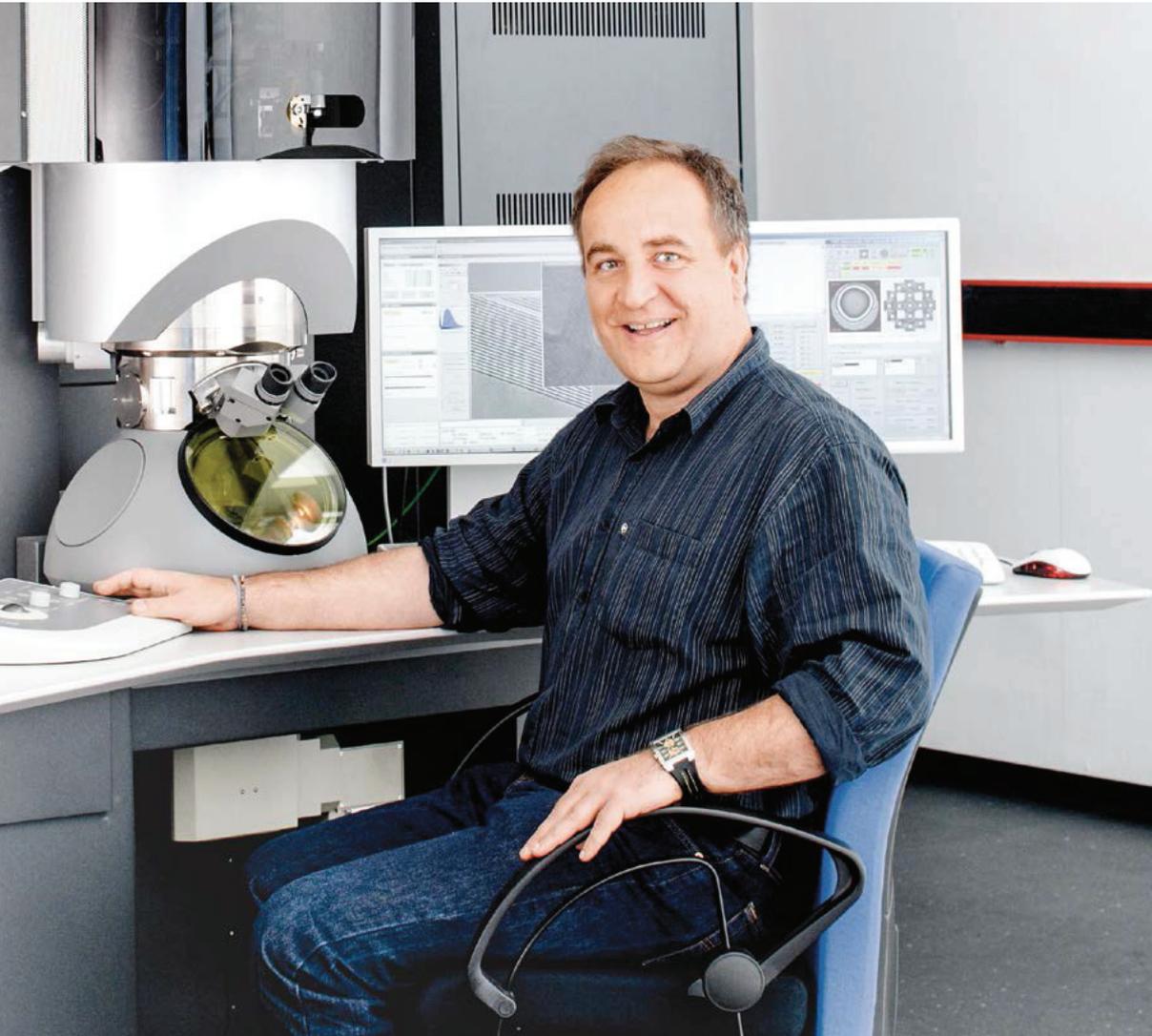
Stellen Sie sich vor, jemand wirft Ihren Schatten frontal an die Wand und behauptet, er könne Ihnen exakt sagen, wie groß Ihr Brustumfang ist. Etwa so wundersam kamen unsere Ergebnisse vielen Kollegen vor“, schmunzelt Physiker Andreas Thust. Er gehört zu einem Team, dem genau das im Nanomaßstab gelungen ist. Die Forscher haben eine Methode entwickelt, mit der sich aus einem einzigen „Schnappschuss“ eines Elektronenmikroskops rekonstruieren lässt, was auf den ersten Blick nicht sichtbar ist: die dreidimensionale Anordnung der Atome in der Probe.

Diese Probe, beispielsweise ein nanometerkleiner Kristall, wird dazu von Elektronen eines Transmissions-Elektronenmikroskops (TEM) durchstrahlt. Wenn der Elektronenstrahl auf die säulenförmig angeordneten Atome im Kristall trifft, wird anschließend auf einem Bildsensor oder Leuchtschirm der Aufbau des Kristalls als zweidimensionales Bild dargestellt, wobei die jeweiligen Atomsäulen als einzelne Punkte abgebildet sind. „Dabei handelt es sich aber nicht um eine simple zweidimensionale Projektion der dreidimensionalen Probe, denn die Elektronenmikroskopie folgt quantenmechanischen Regeln“, erklärt Thusts Kollege Chunlin Jia, der sowohl in Jülich als auch an der Jiaotong-Universität in der chinesischen Provinz Shaanxi forscht. „Auf dem Weg durch das Kristallgitter fungiert die Elektronenwelle des Mikroskops als hochempfindlicher Detektor für Atome und wird von jedem einzelnen Atom beeinflusst.“ Dieser Einfluss ist jedoch so gering, dass selbst innerhalb des erfolgreichen Teams zunächst umstritten war, ob winzige Unterschiede der Punkte untereinander in den elek-

tronenmikroskopischen Aufnahmen rein zufällig sind oder ob sich daraus Informationen über die dritte Dimension – Länge und Lage der Atomsäule – herauslesen lassen.

Thust vergleicht die Ausgangslage mit der Situation von Archäologen, die wissen, dass in einer bestimmten Region alte Schrifttafeln in einer kaum bekannten Sprache zu finden sind. Eines Tages kommt ein Teammitglied mit einer völlig verwitterten Steinplatte an und glaubt, darauf Schriftzeichen erkennen und eine Botschaft entziffern zu können. Die Kollegen sind skeptisch und halten es für möglich, dass es sich statt um vermeintliche Schriftzeichen auch um zufällige Verwitterungsspuren handeln könnte. Beim deutsch-chinesischen Team vom Jülicher Peter Grünberg Institut (PGI), dem Ernst Ruska-Centrum für Mikroskopie und Spektroskopie mit Elektronen (ER-C) und der Xian-Jiaotong-Universität war es Jia, der seinen Kollegen eine elektronenmikroskopische





Dr. Andreas Thust vor einem der Höchstleistungselektronenmikroskope des Ernst Ruska-Centrums.

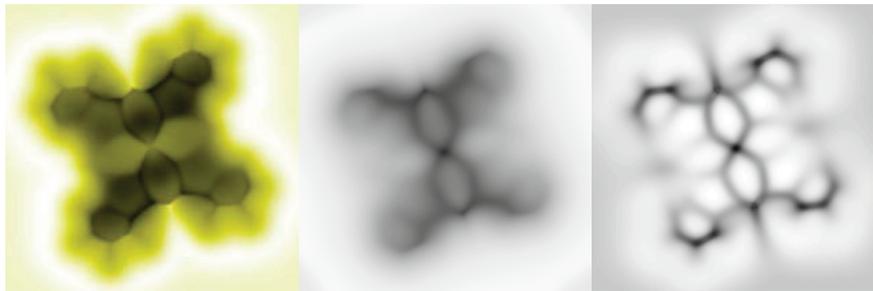
Aufnahme eines Nanokristalls vorlegte – gleichsam als verwitterte Steinplatte. Die Punkte in den Aufnahmen zeigten winzige Schwankungen in Intensität und Form. Lagen hier echte Informationen vor oder waren es nur Spuren des Zufalls?

Eine Million simulierte Aufnahmen

Die Wissenschaftler gingen ähnlich vor wie Archäologen, die eine Million verschiedene Schriftplatten mit bekannten Inhalten herstellen und sie einem künstlichen Verwitterungsprozess aussetzen, bis sie nicht mehr von der echten alten Platte zu unterscheiden sind. Dann lassen sie die künstlichen Schriftplatten durch ein Computerprogramm automatisch entziffern und prüfen, wie gut es die beschädigten Schriftzeichen lesen kann. Wenn die Archäologen ermitteln, wie viel Prozent der Buchstaben und der Sätze sich korrekt identifizieren lassen, dann wissen sie, wie gut das Computerprogramm echte Informationen vom

Elektronenmikroskopie

Herkömmliche Lichtmikroskope können weder Atome abbilden noch Bauelemente im Nanometerbereich, wie etwa winzige Transistoren in heutigen Laptops. Der Grund: Die Wellenlänge des Lichts begrenzt das Auflösungsvermögen der Geräte. Dieses Auflösungsvermögen ist ein Maß dafür, wie weit Punkte voneinander entfernt sein dürfen, um noch getrennt voneinander abgebildet zu werden. Das in den 1930er Jahren erfundene Elektronenmikroskop (TEM) überwindet die Beschränkungen der Lichtmikroskopie. Denn es verwendet Elektronen statt Licht. Der Elektronenstrahl mit seiner extrem kurzen Wellenlänge wird dabei durch magnetische Felder gelenkt, die somit die Funktion der Glaslinsen im Lichtmikroskop übernehmen. Anders als die Rastersondenmikroskopie liefert die Elektronenmikroskopie auch Informationen über die innere Struktur von Materialien.



dynamische
Rasterkraftmikroskopie

Rastertunnelmikroskopie

inelastische
Rastertunnelspektroskopie

Drei simulierte Aufnahmen desselben organischen Moleküls. Die Bilder unterscheiden sich in der simulierten mikroskopischen Aufnahmetechnik.

Rastersondenmikroskopie

Die Rastersondenmikroskopie umfasst eine Vielzahl von Verfahren. Die zwei wichtigsten sind die Rastertunnel- und die Rasterkraftmikroskopie (RTM, RKM). Beide wurden Anfang der 1980er Jahre entwickelt.

Rastertunnelmikroskope nutzen den quantenmechanischen „Tunneleffekt“: Danach können Elektronen durch nicht leitende Barrieren – dazu zählt auch das Vakuum – „tunneln“, so dass ein Strom fließt. Bei einem Rastertunnelmikroskop fährt eine feine Nadelspitze mit extrem geringem Abstand über die Oberfläche einer Probe. Bewegt wird die Halterung der Spitze dabei mit einem Piezokristall, der sich ein wenig ausdehnt oder zusammenzieht, wenn man eine elektrische Spannung anlegt. Die Stromstärke steigt drastisch an, je näher die Spitze an der Oberfläche ist. Umgekehrt bedeutet das: Wenn man die Stromstärke auf einem bestimmten Wert hält, bleibt die Spitze immer im gleichen Abstand zur Oberfläche. Auf diese Weise gesteuert, hebt sich die Spitze bei jedem Buckel auf der Oberfläche. Das Rastertunnelmikroskop „ertastet“ sich somit Informationen über die Oberfläche. Bilder entstehen daraus, indem ein Oszillograf oder ein Computer diese elektronischen Informationen für unser Auge aufbereitet.

Mit Rastertunnelmikroskopen lassen sich nur Proben untersuchen, die metallisch leitend sind. Beim Rasterkraftmikroskop gilt diese Einschränkung nicht. Im einfachsten Fall ist die Tastspitze bei ihm an einer Tastfeder, dem sogenannten Cantilever, befestigt. Die Spitze erspürt die winzigen Kräfte, die von den Atomen der untersuchten Oberfläche ausgehen. Als Folge davon biegt sich der Cantilever nach unten oder nach oben. Die Auslenkung des Cantilevers wird gemessen, indem man einen Laserstrahl darauf richtet und die Richtungsänderung der Reflexion registriert. Daraus lässt sich ein Bild der Oberfläche gewinnen. Die Arbeitsgruppe von Stefan Tautz nutzt eine Variante der Rasterkraftmikroskopie. Hier ist die Tastspitze an einer Art Stimmgabel befestigt. Wenn die Tastspitze in die Nähe der Oberfläche kommt, ändert sich die Frequenz der Stimmgabel. Diese Frequenzverschiebung ist dann das Maß für die Kräfte, die an der Oberfläche auftreten.

Hintergrundrauschen des Zufalls unterscheidet – also auch, wie gut es zum Entziffern der echten alten Platte taugt.

„Wir stellten keine künstlich verwitterten Schriftplatten her, sondern simulierten am Computer eine Million Abbildungen von Kristallen“, überträgt Thust dieses Vorgehen auf sein eigenes Arbeitsgebiet. Hier wurde geprüft, wie gut ein Computerprogramm die – bekannte – dreidimensionale Struktur eines Kristalls korrekt berechnen und echte Informationen von zufälligen Abweichungen unterscheiden kann. Auf diese Weise wiesen die Forscher nach: Man kann die Information über die dritte Dimension eindeutig aus dem elektronenmikroskopischen Bild dechiffrieren und somit auch unbekannte 3-D-Strukturen mit hoher Wahrscheinlichkeit richtig erkennen.

Sanft zur Probe

Zwar ließen sich auch bisher schon mit dem Elektronenmikroskop Proben räumlich erfassen, man benötigte dafür aber Dutzende oder gar Hunderte von Aufnahmen aus verschiedenen Perspektiven. Dass man nun nur noch eine einzige Aufnahme braucht, bringt nicht nur Zeitgewinn. Mit der neuen Methode wird es möglich, auch strahlungsempfindliche Proben zu untersuchen, die durch den energiereichen Elektronenstrahl der Mikroskope rasch zerstört werden. Die vergleichsweise kurze Aufnahmedauer könnte es künftig sogar ermöglichen, schnell ablaufende chemische Prozesse abzubilden. Außerdem erlaubt das sanfte Messverfahren, nicht nur schwere, sondern auch leichte chemische Elemente nachzuweisen – zum Beispiel Sauerstoff, der in vielen technisch wichtigen Materialien eine wesentliche Rolle spielt.

Denken abseits ausgetrampelter Pfade hat sich auch für eine andere Forschergruppe auf dem Gebiet der Elektronenmikroskopie ausgezahlt: Lothar Houben vom ER-C und PGI sowie zwei Wissenschaftler vom israelischen Weizmann Institute of Science haben ein bestimmtes von der Fachwelt „vergessenes“ Verfahren wieder ans Licht geholt, weiterentwickelt und damit die Untersuchung von Bakterien, Zellen und anderen biologischen Proben verbessert.

Solche Proben werden üblicherweise schockgefroren, um sie unversehrt dreidimensional abbilden zu können. Störend ist dabei ihr geringer Kontrast. Man kann sie einfärben, doch dadurch wird ihr natürlicher Aufbau häufig zerstört. Daher setzen Wissenschaftler meist auf die sogenannte Phasenkontrastmethode, die Unterschiede im Brechungsindex und der Dicke des Objekts zur Erzeugung eines Hell-Dunkel-Kontrasts nutzt. Der bessere Kontrast, der damit erreicht wird, hat seinen Preis: Das Auflösungsvermögen des Mikroskops und somit die Bildqualität nehmen ab.

Mehr Kontrast durch Rastern

Prinzipiell gibt es eine Alternative, die zur Erforschung von Halbleitern und anderen Werkstoffen auch eingesetzt wird: die Raster-Transmissions-Elektronenmikroskopie (STEM, „scanning transmission electron microscopy“). Bei diesem Verfahren fährt ein sehr feiner Elektronenstrahl zeilenweise über die Probe. Auf diese Weise erscheinen im Bild keine störenden Streuelekttronen von anderen Gegenstandspunkten. Das verbessert den Kontrast.

Bis zu der Publikation des deutsch-israelischen Teams 2014 herrschte unter den Wissenschaftlern weltweit jedoch die Auffassung, dass außer der Phasenkontrastabbildung keine andere elektronenmikroskopische Methode – auch nicht die STEM – in befriedigendem Maße Kontrast bei biologischen Proben erzeugen würde. „Diese Auffassung hat sich schon sehr früh durchgesetzt. Man ging in der Folgezeit einfach davon aus, dass ungefärbte biologische Proben den Elektronenstrahl zu schwach streuen“, sagt Houben. Die STEM geriet für die Untersuchung biologischer Proben in Vergessenheit.

„Wir erkannten jedoch, dass es keine ausreichende theoretische Begründung und keinen ausreichenden praktischen Nachweis dafür gab, warum nur

Uns war damals schon bewusst, dass wir da auf eine tolle Sache gestoßen waren.

Stefan Tautz | Professor am Peter Grünberg Institut

die Phasenkontrastabbildung infrage kommen sollte“, so Houben. Diese Erkenntnis ließ die Forscher nicht ruhen: Sie passten die STEM, wie sie in der Materialforschung eingesetzt wird, an die Messung biologischer Proben an – beispielsweise ordneten sie die Detektoren anders an. Und siehe da: Auf diese Weise lässt sich mit der „vergessenen“ Methode die räumliche Struktur vor allem von dickeren organischen Proben besser abbilden als mit dem Phasenkontrastverfahren.

Wie die Wissenschaftler des ER-C dachten auch die Jülicher Forscher um Stefan Tautz vom PGI kreativ und auf ungewöhnliche Weise – und entdecken dabei neue Möglichkeiten für die Rastertunnelmikroskopie (RTM). 2008 hatten sie Bilder von organischen Molekülen veröffentlicht, die in der Fachwelt für Aufsehen sorgten. Denn sie machten erstmals die Atomstrukturen im Inneren von Molekülen sichtbar. Bis dahin bildete die RTM beispielsweise ein Molekül aus sieben zusammenhängenden Ringen nur als einen runden Fleck ab. Die Jülicher Bilder ließen dagegen die innere wabenartige Struktur erkennen, die von den Ringen gebildet wird.

Der Trick der Jülicher Forscher, um das zu erreichen: Sie hatten ein winziges Wasserstoffmolekül als molekularen Sensor an die Spitze des Mikroskops gehängt, welches Strukturen nun mit einer deutlich besseren Auflösung abtasten konnte als eine nadelförmige metallische Spitze. „Meinem Mitarbeiter Ruslan Temirov und mir war damals schon bewusst, dass wir da auf eine tolle Sache gestoßen waren. Aber was inzwischen alles daraus geworden ist, hat uns schon sehr überrascht und erfreut“, sagt Tautz.

Tautz und seine Mitarbeiter versuchten, theoretische Physiker zu überzeugen, mit ihnen zusammen dem Phänomen der verbesserten Abbildung auf den Grund zu gehen. Außerdem hatten sie schon bald die Idee,



dass es sich um ein Phänomen handelt, das auch für weitere Varianten der Rastertunnel- und Rasterkraftmikroskopie einsetzbar ist. „Denn das angehängte Molekül verschafft der Mikroskopspitze zusätzliche Möglichkeiten, die Eigenschaften der Probe sozusagen zu erfüllen“, so Tautz.

Inzwischen hat sich das bestätigt, und es gibt verschiedene rastersondenmikroskopische Verfahren, die sich des Tricks mit einem kleinen Molekül an der Spitze bedienen. Die Jülicher Forscher haben gemeinsam mit Theoretikern der Prager Akademie der Wissenschaften der Tschechischen Republik ein Computermodell entwickelt, das detailliert die Funk-

tionsweise der verschiedenen neuen Mikroskopie-Varianten erklären kann, bei denen ein Molekül an der Spitze angehängt ist. „Die Entstehung der mikroskopischen Abbildungen lässt sich mit diesem Modell sehr gut nachvollziehen, denn die Simulationen stimmen mit den experimentell gewonnenen Darstellungen überein“, sagt Tautz. „Nur wenn man versteht, wie eine Methode funktioniert, kann man die Bilder richtig interpretieren.“

Der Jülicher Physiker freut sich vor allem darüber, dass es seinem Team kürzlich gelungen ist, noch eine weitere mikroskopische Variante zu entwickeln. Sie ermöglicht es, elektrische Felder in der Umgebung von Molekülen auf Oberflächen mit bisher nicht da gewesener Auflösung und Empfindlichkeit zu messen. Solche Kräfte sind häufig entscheidend dafür, wie sich die Moleküle auf einer Oberfläche verhalten. Als Sonde wird dabei nicht Wasserstoff oder ein anderes kleines Molekül an die Spitze des Mikroskops gehängt, sondern das flache und relativ große Halbleitermolekül PTCDA, bestehend aus sieben zusammenhängenden Ringen aus Kohlenstoff- und Sauerstoffatomen.

Doch die Forscher um Tautz sehen sich mit dem Rastertunnelmikroskop nicht nur Oberflächen und Moleküle an und verbessern dabei Auflösung und Abbil-



Dieser Schriftzug entstand Molekül für Molekül mithilfe der Spitze eines Rastertunnelmikroskops.



Matthew Green
am Probeneinlass
eines Rastertunnel-
mikroskops

dungsqualität. Sie nutzen die Mikroskope auch, um größere Moleküle wie PTCDA aufzuheben und zu bewegen. Wer Doktorand Matthew Green dabei zusieht, könnte meinen, er wäre in der virtuellen Welt einer Spielekonsole versunken: Konzentriert steht Green im halbdunklen Raum – einzig sein Arm bewegt sich: hinunter, hinauf und dann zur Seite. An seiner Hand funkelt eine silbrig schimmernde Kugel. Sie reflektiert das Licht von zwei Infrarotkameras, die an Wand und Decke hängen.

Doch Green dirigiert keine Spielfigur um gefährliche Hindernisse. Stattdessen steuert er die Mikroskopspitze. Bewegt Green seine Hand um fünf Zentimeter nach rechts oben, registrieren das die Kameras und übertragen die Information an einen Computer. Der Rechner sorgt dafür, dass umgehend auch die Metallspitze im Gerät nach rechts oben fährt, allerdings nur um ein Zehntel eines millionstel Millimeter, der charakteristischen Größe eines Atoms. Diese Ansteuerung der Mikroskopspitze haben die Jülicher Wissenschaftler selbst entwickelt.

Green greift mit der Spitze die halbleitenden Moleküle von der Oberfläche seiner Probe und hebt sie hoch. Das ist möglich, weil sich zwischen metallischer Spitze und den Sauerstoffatomen des Moleküls eine che-

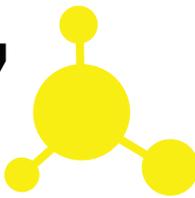
mische Bindung ausbildet. Wichtig ist dabei, wo genau die Spitze ansetzt: Packt man die Moleküle an der falschen Stelle, bleiben sie unbeeindruckt an der Oberfläche kleben. „Bei dieser Art Molekül muss man die Spitze an einer Ecke des Moleküls ansetzen und langsam im Bogen nach oben ziehen“, erklärt Green. An anderer Stelle legt Green die Moleküle wieder ab.

„Mit dieser Methode versuchen wir zu klären, wie viel Kontrolle man über vergleichsweise komplizierte Objekte wie organische Moleküle gewinnen kann. Anders als Atome können diese sich auf die verschiedensten Arten knicken, verbiegen oder auch Federkräfte aufbauen, wenn man an ihnen zieht“, erklärt Tautz den Zweck.

Molekulare Haftkraft gemessen

Mit dem Rasterkraftmikroskop konnte das Forscherteam um Tautz außerdem die sogenannten Van-der-Waals-Kräfte erstmals experimentell bestimmen, mit denen Moleküle an einer Oberfläche festgehalten werden. Diese Kräfte wurden schon vor rund 150 Jahren entdeckt, doch ihre Größe war zumindest bei Molekülen bislang nicht präzise zu bestimmen. Sie sind aber durchaus wesentlich für das Verhalten etwa von Biomolekülen, wie beispielsweise Proteinen.

Die Fähigkeit, Moleküle kontrolliert von einer Oberfläche abzuheben und zu versetzen, benötigt man, wenn man sie zu molekularen Maschinen oder winzigen Geräten zusammenfügen will. „Das ist wie in unserer sichtbaren Welt: Objekte mit Händen zu greifen, sie zu positionieren und zusammenzubauen. Das ist die Grundlage jeglicher Ingenieurskunst“, sagt Tautz. Und ein bisschen Spielerei für einen nützlichen Zweck ist natürlich auch dabei, wenn Green aus einer einlagigen Schicht genau 47 Moleküle einzeln aufhebt, um den winzigen Schriftzug „JÜLICH“ auf eine Oberfläche zu schreiben. Und wie in der Archäologie sind dabei Fingerspitzengefühl und Geduld nötig.

47 

Moleküle hat Green einzeln aufgehoben und weggetragen, um den Schriftzug Jülich entstehen zu lassen.