

# Anwendung des Übermikroskopes

Autor(en): **Frey-Wyssling, A. / Mühlethaler, K.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Prisma : illustrierte Monatsschrift für Natur, Forschung und Technik**

Band (Jahr): **1 (1946)**

Heft 5

PDF erstellt am: **11.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-653735>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Anwendung des Übermikroskopes

PROF. DR. A. FREY-WYSSLING UND K. MÜHLEHALER

In zäher, jahrzehntelanger Arbeit haben die optischen Werkstätten vor der Jahrhundertwende das Auflösungsvermögen des *Lichtmikroskopes* von  $0,5 \mu$  = fünf Tausendstelmmillimeter (Trockensysteme) auf  $0,3 \mu$  (Immersionssysteme) und 1904 schließlich auf  $0,1 \mu$  (Ultraviolettmikroskop) gesteigert. Die moderne Entwicklung der Zytologie und die Erkenntnisse über die sichtbare Struktur der Zellwände, Chlorophyllkörner, Blutzellen, Nervenfasern, Muskelfibrillen, Kerne und Chromosomen verdankt man dem Immersions- und dem Ultraviolettmikroskop. Das Auflösungsvermögen von  $0,1 \mu$  wurde als absolute Grenze der Abbildungsmöglichkeit erklärt. Wollte man daher in den unsichtbaren Feinbau der zytologischen Objekte eindringen, so mußte man sich indirekter Methoden bedienen (Polarisationsmikroskop, Röntgenspektrographie) und sich aus den indirekten Daten ein Bild der tatsächlichen Verhältnisse konstruieren.

Da tauchte vor dem zweiten Weltkrieg die Möglichkeit auf, mit den sehr kurzwelligen Elektronenstrahlen mikroskopische Bilder zu erzeugen. Die Entwicklung des *Elektronenmikroskopes*<sup>1</sup> zu einem Laboratoriumsinstrument steigerte das Auflösungsvermögen für die Mikroskopie schlagartig von  $0,1 \mu$  auf  $0,005 \mu$  oder  $5 m\mu$ . Gegenüber einem gewöhnlichen Lichtmikroskop (Trockensystem) bedeutet dies eine hundertfache und gegenüber dem Ultraviolettmikroskop eine zwanzigfache Verbesserung! Wenn man bedenkt, welche grundlegenden Entdeckungen in der Mikroskopie durch die Steigerung des Auflösungsvermögens von  $0,5 \mu$  auf  $0,1 \mu$  möglich geworden sind, auf denen z. B. die Zytogenetik beruht, d. h. die Kenntnis des Zusammenhanges zwischen Chromosomenbau und Vererbung, so muß man von der unvermittelten Herausschiebung des Auflösungsvermögens ins Reich der kolloiden Abmessungen eine revolutionäre Entwicklung der Biologie erwarten. Die fünffache Verbesserung des Mikroskopes, die frühere Forschergenerationen in langsamer Entwicklungsarbeit errungen haben, ist nun plötzlich um das Zwanzigfache überboten worden, so daß dem mikroskopierenden Biologen unbegrenzte Möglichkeiten eröffnet scheinen!

Die Prometheus-Natur des Menschen läßt ihn mit dem erreichten Auflösungsvermögen von  $5 m\mu$ , das erlaubt, Kolloidteilchen abzubilden, jedoch nicht zufrieden sein. Schon wird der Wunsch geäußert, man sollte nicht nur Teilchen und Makromoleküle kolloider Abmessungen, sondern auch gewöhnliche Moleküle abbilden können. Die äußerst kurzen Wellen-

längen der Elektronenstrahlen, die hundertmal kleiner sind als der Durchmesser der kleinsten Moleküle, lassen eine solche verwegene Hoffnung aufkommen. Vorläufig verhindern jedoch technische Schwierigkeiten eine Ausnützung der theoretischen Möglichkeiten. Zur Zeit ist eine weitere Steigerung der Leistungsfähigkeit des Elektronenmikroskopes übrigens auch gar nicht notwendig; denn bis das gesamte Gebiet der «vernachlässigten Dimensionen» zwischen  $100$  und  $5 m\mu$  erschöpfend durchforscht ist, haben wir keine Berechtigung, noch bessere Instrumente von den Konstruktionswerkstätten zu fordern. Voraussichtlich werden wiederum mehrere Generationen zu forschen haben, bis wir die Morphologie der kolloiden Systeme so gut kennen wie Gestalt und Struktur der zytologischen Objekte.

Wichtiger als der Ruf nach einer weiteren Steigerung des Auflösungsvermögens ist die Entwicklung einer geeigneten *Mikrotechnik* für die Anwendung des Elektronenmikroskopes. Der Vorstoß der Abbildungsmöglichkeit im submikroskopischen Gebiete ist so unerwartet erfolgt, daß die Präpariertechnik zurzeit hintennach hinkt. Die Verhältnisse liegen umgekehrt wie bei der Entwicklung der Lichtmikroskopie. Damals stellten die Histologen, Zytologen, Pathologen und Bakteriologen durch eine hochentwickelte Schneide- und Färbetechnik geeignete Präparate her, und die Optik mußte mikroskopische Objektive schaffen, um die Einzelheiten dieser Präparate aufzulösen. Heute ist uns umgekehrt ein wundervolles leistungsfähiges Instrument geschenkt, aber wir besitzen nur wenige Präparate, die erlauben, diesen Fortschritt voll auszunützen. Für die meisten Objekte fehlt uns vorläufig noch die Kunst der Präparation, so daß das Gebot der Zeit in der Entwicklung der elektronenoptischen Mikrotechnik besteht.

## *Abbildung korpuskular disperser Systeme*

Relativ günstig liegen die Verhältnisse für die Abbildung und Darstellung kolloider Einzelteilchen. Diese werden auf einem Film aus Kollodium oder Zaponlack von etwa  $10 m\mu$  Dicke aufgeschwemmt, der als Objektträger dient. Mit dieser Methode hat man erstaunenswerte Ergebnisse erzielt: Die Abbildung kolloider Gold-, Ruß- und Tonteilchen ist möglich geworden und man findet die früheren Ergebnisse der indirekten Größenbestimmung im Ultramikroskop, durch Diffusionsversuche usw. bestätigt. Neu ist für die Biologie die Darstellung der Erreger der Viruskrankheiten, deren submikrosko-

pische Dimension aus ihrer Fähigkeit, durch Bakterienfilter zu filtrieren, bekannt war. Auch die Bakteriologie hat neue Erkenntnisse errungen, indem bei gewissen Bakterien feinste Cilien oder Geißeln

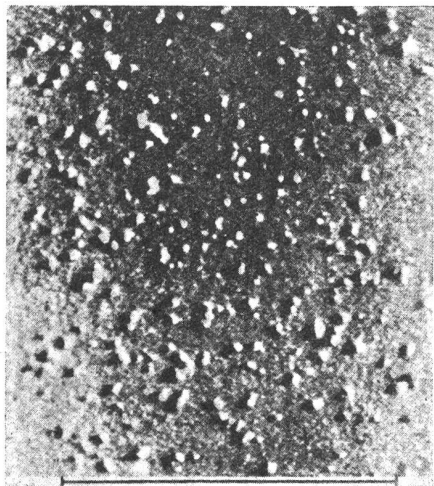


Bild 1. Abdruck einer monomolekularen Haemocyanin Schicht. Die Moleküle wurden auf einer Glasplatte mit einer dünnen Goldschicht beschattet. Vergr. 45 000 : 1. Aus *Journal of applied Physics* 17,31 (1946).

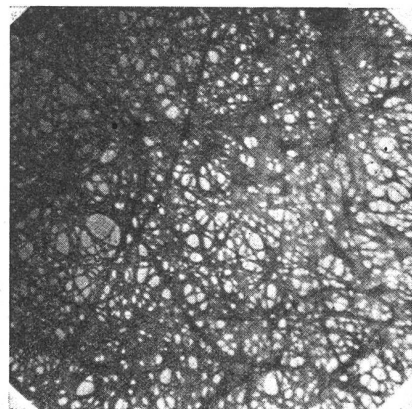
abgebildet worden sind, über deren Zahl und Größe früher Uneinigkeit herrschte. Häufig erklären sich jedoch die Bakteriologen vom Elektronenmikroskop unbefriedigt, da es nicht gelingt, im riesig vergrößerten Bakterienleibe Einzelheiten zu erkennen. Dieser erscheint als schwarzes Schattenbild, das die Geheimnisse der Feinbaustruktur nicht frei gibt.

An dieser enttäuschenden Tatsache ist indessen nicht das Elektronenmikroskop schuld, sondern unsere mangelhafte Präpariertechnik. Die meisten Bakterien sind für eine Durchleuchtung zu dick, so daß sie nur einen Schatten werfen, anstatt nach den Gesetzen der Beugungsoptik ein Bild zu erzeugen. Wir müßten daher die Bakterien in Schnitte zerlegen. Selbst wenn dies gelingen würde, wären jedoch den Abbildungsmöglichkeiten Grenzen gesetzt, die das theoretische Auflösungsvermögen nicht erreichen; denn die Objekte kommen auf den Objektträgerfilm zu liegen, der selbst einen submikroskopischen Feinbau besitzt. Ein Objekt kann daher die Bahn der Elektronenstrahlen nur wirksam beeinflussen, wenn es dicker ist als die Trägerfolie oder wenn es schwerere Elemente enthält, die die Strahlen stärker ablenken als die Elemente C, O, N der organischen Verbindungen. Mit zunehmender Feinheit des Objektes nimmt daher der Kontrast seines Bildes gegenüber dem grauen Untergrund des Objektträgerfilms ab. Die Präparationsschwierigkeit liegt also darin, daß zu dicke Objekte nur Schattenbilder, zu dünne organische Objekte dagegen nur flauere Bilder liefern können. Die Kunst der Elektronenmikrotechnik be-

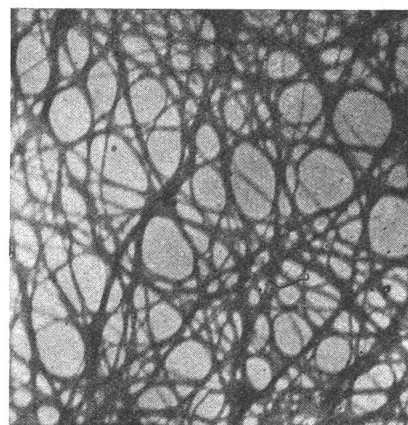
steht nun darin, diese Schwierigkeiten zu überwinden. In Amerika ist man dazu übergegangen, durch schiefe Aufdampfung von Gold oder Silber den Kontrast kleinster Objekte zu steigern. Es ist dadurch gelungen, den Traum der Abbildung von Molekülen, wenigstens für Makromoleküle, die einen wesentlich größeren Durchmesser als  $5 \mu$  besitzen, zu verwirklichen (Bild 1)<sup>2</sup>. Es gelingt auch, biologische Objekte auf diese Weise zu vergolden; eine Möglichkeit, Aufschluß über den inneren Aufbau der Objekte zu erhalten, besteht dabei natürlich nicht.

#### Abbildung retikular disperser Systeme

Die zytologischen Objekte Zellwand, Chlorophyllkörner, Zellkerne usw. sind im Gegensatz zu den kolloiden Lösungen und Aufschwemmungen keine korpuskular dispersen Systeme, sondern sie besitzen als gelartige Substanzen eine submikroskopische Netzstruktur; es handelt sich um retikular disperse Systeme. Nachdem wir uns in Zürich zweieinhalb Jahr-



1  $\mu$



1  $\mu$

Bild 2 oben: Vanadinpentoxyd-Gel; elektronenoptisch 20 000 : 1. Unten: Getrocknetes Vanadinpentoxyd-Gel; elektronenoptisch 20 000 : 1, Nachvergrößerung auf 50 000 : 1.

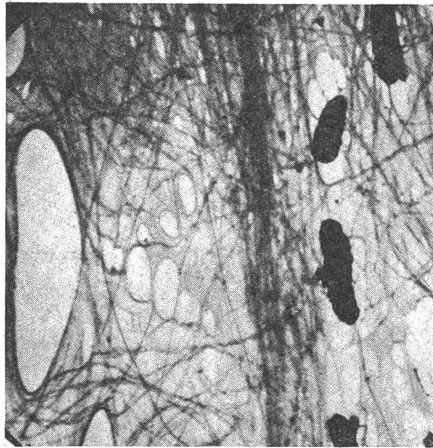


Bild 5. Oberflächenfilm einer Kultur von *Bacterium xylinoides*. Vergrößerung 6200mal.

zehnte um die Aufklärung dieser Strukturen auf indirektem Wege bemüht haben, ist es nun unser Ziel, die Elektronenmikroskopie der Untersuchung solcher Objekte zugänglich zu machen. Dabei stößt man auf noch größere Schwierigkeiten als bei der Abbildung aufschwemmbarer Teilchen, weil die Zellbestandteile erst schonend zerlegt werden müssen, ohne daß die charakteristische Struktur zerstört wird. Die Ergebnisse sind bisher noch bescheiden, doch berechtigen sie zu gewissen Hoffnungen.

Wie bei den korpuskular dispersen Systemen liefern anorganische Modellsubstanzen kontrastreichere Bilder als organische Gele. Bild 2<sup>3</sup> zeigt eine auf einer Trägerfolie aufgetrocknete Gellösung von Vanadin-pentoxid. Dieses Bild darf als Muster des submikroskopischen Feinbaus einer Gallerte betrachtet werden. Wie bereits auf Grund der indirekten Untersuchungsmethoden behauptet worden ist<sup>4</sup>, besteht der submikroskopische Feinbau der Gele aus Strängen von Fadenmolekülen, die sich vielseitig berühren (Haftpunkte) und so ein lockeres Netzwerk bilden. In den Maschen dieser Lockerstruktur ist der große Wassergehalt der Gallerten gebunden.

Da es technisch unmöglich ist, so dünne Schnitte herzustellen, wie es die Elektronenmikroskopie verlangt, sind wir auf die Idee gekommen, Gelhäutchen sich entwickeln zu lassen und diese zu untersuchen, solange sie noch submikroskopisch dünn sind. Dies ist uns bei den Zellulosefilmen gelungen, die von gewissen Essigbakterien (*B. xylinum* und *B. xylinoides*) erzeugt werden. Diese Bakterien scheiden merkwürdigerweise Zellulose aus, welche sie aus Zuckermolekülen aufbauen, und da die Zellulose wasserunlöslich ist, schwimmt sie auf der Oberfläche der Kulturlösung. Läßt man nun diesen zellulosischen Oberflächenfilm auf eine Objektträgerfolie absitzen, bevor er auf der Kulturflüssigkeit überhaupt sichtbar ist, so besitzt er gerade die richtige Dicke, um

gute übermikroskopische Bilder zu liefern. Bild 3<sup>5</sup> zeigt, wie das Zellulosegel ähnlich der Vanadin-pentoxid-Gallerte aus feinsten Strängen besteht, die sich gegenseitig überkreuzen und ein lockeres Gefüge bilden.

Ein weiteres Ziel besteht nun im Nachweis solcher lichtmikroskopisch unsichtbarer Stränge in den Zellwänden. Dies ist gelungen durch eine schonende Zerfaserung von Zellulosefasern mittels Ultraschallwellen<sup>6</sup>. Eine ähnliche Zertrümmerung der Zellwände kann auch in der Kugelmühle erreicht werden; dabei wird die Wandstruktur jedoch schonungslos zerschlagen, so daß nur bestimmte Bruchstücke brauchbare Bilder liefern. Die kurzwelligen longitudinalen Schwingungen, die durch einen Ultraschallerreger in einer Flüssigkeit erzeugt werden können, spalten Zellulosefasern ohne irgendwelche Querbrüche in immer feinere Fibrillen, Mikrofibrillen und schließlich in allerfeinste Stränge, die wir als *Micellarstränge* bezeichnen. Bild 4 zeigt das Ergebnis einer solchen Beschallung. Es ist damit be-

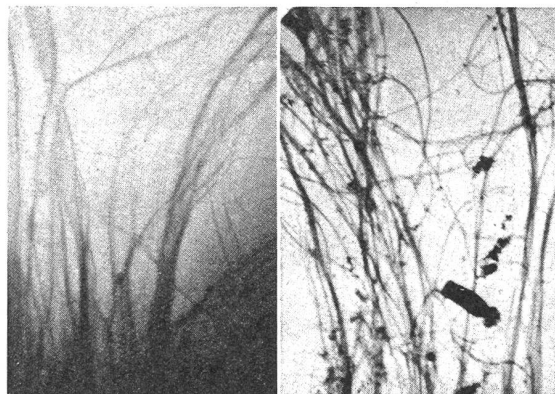


Bild 4. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von beschallter Rammie (a) und von Hanf (b). Vergrößerung 14 000mal.

<sup>1</sup> Induni G., Das Schweizerische Elektronenmikroskop. Vierteljahresschrift der Naturforschenden Gesellschaft Zürich. 90.181 (1945).

<sup>2</sup> Williams & Wickoff, Applications of Metallic Shadow Casting to Microscopy. J. applied Physics. 17.31 (1946).

<sup>3</sup> Frey-Wyßling und Mühlethaler, Elektronenoptische Abbildung des submikroskopischen Gel-Feinbaues. Vierteljahresschrift der Naturforschenden Gesellschaft Zürich. 89.214 (1944).

<sup>4</sup> Frey-Wyßling, A. Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin 1938.

<sup>5</sup> Frey-Wyßling und Mühlethaler, Submicroscopic Structure of Cellulose Gels. J. Polymer Science 1, 172 (1946).

<sup>6</sup> Wuhrmann, Heuberger und Mühlethaler, Elektronenoptische Untersuchungen an Zellulosefasern nach Behandlung mit Ultraschall. Experientia 2, 105 (1946).

Die Aufnahmen 3 bis 5 sind mit dem Elektronenmikroskop der Firma Trüb, Täuber & Co., Zürich, gemacht worden.

wiesen, daß in den Zellwänden strangartige Bauelemente von unbestimmter Länge und 5–10  $\mu$  Dicke auftreten.

Die erwähnten Beispiele zeigen, wie erst eine neue Mikrotechnik aufgebaut werden muß, um das Elektronenmikroskop mit seiner bewundernswerten Lei-

stungsfähigkeit richtig auszunützen. Es ist nicht zu vergleichen mit einer Lupe, unter die man beliebige Objekte schieben und diese betrachten kann; sondern bei jedem Objekt muß zuerst abgeklärt werden, wie es in einen Feinheitsgrad zerlegt werden kann, der eine nützliche Abbildung im Übermikroskop erlaubt.

## Über Stachelhäuter

PROF. DR. BERNHARD PEYER

*Star-fish* heißt der Seestern auf englisch, die Meduse der *jelly-fish*, der Krebs der *craw-fish* und *cuttle-fish* der Tintenfisch. Alle diese Tiere gehören nicht zu den Fischen im Sinne der Zoologie. Diese Namen stammen aus alter Zeit; für die volkstümliche Zoologie war eben alles, was im Wasser lebt, ein Fisch. Auch im Deutschen gibt es ähnliches, z. B. den *Walfisch*, der ein im Meere lebendes Säugetier ist und dazu den *Tintenfisch*. Für die Volkssprache ist oft auch, was in der Luft fliegt, ein Vogel, wie z. B. der *Sommervogel* und früher auch die *Fliege*; denn in einem mittelalterlichen Verse heißt es von ihr:

Diu flug ist, wirt der sumer haiz,  
der chuenste vogel, den ich waiz.

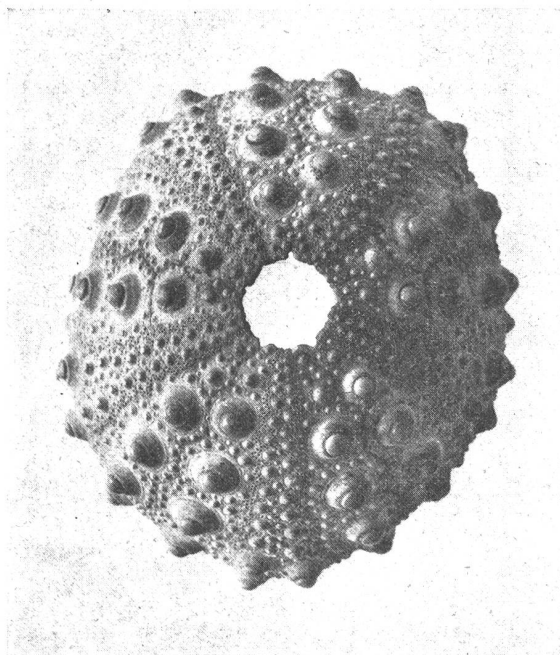


Bild 1: Schale eines rezenten Seeigels. Ansicht von oben.

Die *Seesterne* und ihre Verwandten, die *Schlangensterne*, die *Seeigel*, die *Seelilien* und die abenteuerlich geformten *Seewalzen* kommen alle nur im Meere vor. Für das Süßwasser oder gar das Festland ist offenbar ihre Organisation nicht geeignet. Gemeinsam ist allen, so verschieden sie auch geformt sind, der Besitz eines sogenannten *Wassergefäß-Systemes*, sowie eines *Skelettes* (Bild 1), das unter dem Mikroskop eine charakteristische feine Gitterstruktur aufweist. Alle diese genannten Formen werden deshalb zum Tierstamm der *Echinodermen* oder *Stachelhäuter* vereinigt.

Das Skelett scheint beim Seeigel oder beim Seestern äußerlich zu liegen; in Wirklichkeit ist es von Weichteilen bedeckt. Es liegt somit prinzipiell im Innern des Körpers. Es setzt sich aus zahlreichen Teilen zusammen, die entweder gegeneinander beweglich sind, wie bei Seestern und Seelilie, oder aber einen starren Panzer bilden, wie beim Seeigel, bei dem jedoch die Stacheln beweglich sind (Bild 2). Bei den Seewalzen ist das Skelett bis auf wenige Stücke im Innern des Körpers verschwunden. Verschieden ist auch der Grad der Ortsbeweglichkeit. Manche Seewalzen sind frei flottierende Tiere, andere kriechen auf dem Grunde; die Seelilien dagegen sind meist mittels eines Stieles am Grunde verankert. Die festsitzenden Formen nähren sich von Planktonorganismen, die durch eine von schlagenden Wimpern erregte Wasserströmung dem Munde zugeführt werden. Andere, wie z. B. die Seesterne, sind Räuber. Unser Röntgenbild (Bild 3) zeigt zwei Seesterne, deren Magen ganz von Schalen von gegessenen Weichtieren erfüllt sind. Unter den Seeigeln haben die einen ein kräftiges Gebiß, die sogenannte Laterne des Aristoteles, während andere als Schlammfresser keinen solchen Kauapparat besitzen. Die meisten Stachelhäuter zeigen wie der Seestern einen fünfstrahligen Bau. Sie wurden deshalb früher mit den ebenfalls radiär gebauten See-