

Neuartige Raster-Sensor-Methoden erlauben das Abbilden
und das Manipulieren auf molekularer und atomarer Ebene.
Ein Bericht von Walter Huber und Dario Anselmetti

Diese majestätische Erhebung ist kein Tafelberg, der sich aus der südafrikanischen Landschaft erhebt, sondern ein nur fünf Tausendstelmillimeter grosses Silberbromidkorn eines photographischen Films.

Es ist ein Bedürfnis jedes Naturwissenschaftlers, sich auch von den kleinsten Dingen innerhalb seines Interessenbereiches ein möglichst exaktes, dreidimensionales Bild zu verschaffen. Dieses Bedürfnis gründet einerseits wohl in der natürlichen Neugier des Menschen, andererseits aber auch auf der Erfahrung des Wissenschaftlers, dass eine vollständige Beschreibung der Funktionalität dieser Dinge erst unter Einbezug ihrer räumlichen Gestalt möglich wird. Betrachten wir ein menschliches, tierisches oder pflanzliches Organ, so ist der Zusammenhang zwischen dreidimensionaler Gestalt und Wirkungsweise augenfällig. Dieser Zusammenhang gilt aber auch für die kleinsten Bausteine, aus denen dieses Organ aufgebaut ist, etwa die Zelle oder das einzelne Molekül. Als Beispiel: Welche Funktion ein Protein in der Zelle erfüllt, entscheidet nicht allein die Abfolge der Aminosäurebausteine dieses Proteins, sondern auch seine Faltung zu einem dreidimensionalen Gebilde. Es ist deshalb verständlich, dass Techniken zur Aufklärung und zur bildlichen Darstellung der dreidimensionalen Struktur eines Gegenstandes seit jeher einen besonderen Stellenwert innerhalb der Naturwissenschaften eingenommen haben. Über eine Erhöhung des Auflösungsvermögens bildgebender Methoden wird laufend versucht, immer kleinere Untereinheiten sichtbar zu machen.

Das einzelne Atom ist sichtbar geworden

Lange Zeit war das Lichtmikroskop das einzige Instrument in der Hand des Naturwissenschaftlers, mit dem er sich ein räumliches Bild von Objekten verschaffen konnte, die dem menschlichen Auge nicht mehr zugänglich sind. Das Lichtmikroskop konnte im Laufe der Jahre so optimiert werden, dass ein durch die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes begrenztes Auflösungsvermögen von wenigen hundert Nanometern (ein Nanometer entspricht dem millionsten Teil eines Millimeters) erreicht wurde. Einen wesentlichen Schritt hin zur Abbildung noch kleinerer Untereinheiten hat die Mikroskopie durch die Einführung des Elektronenmikroskops gemacht. Durch die Verwendung eines Elektronenstrahls (statt sichtbaren Lichts) wurde es möglich, Objekte mit einer Grösse von unge-

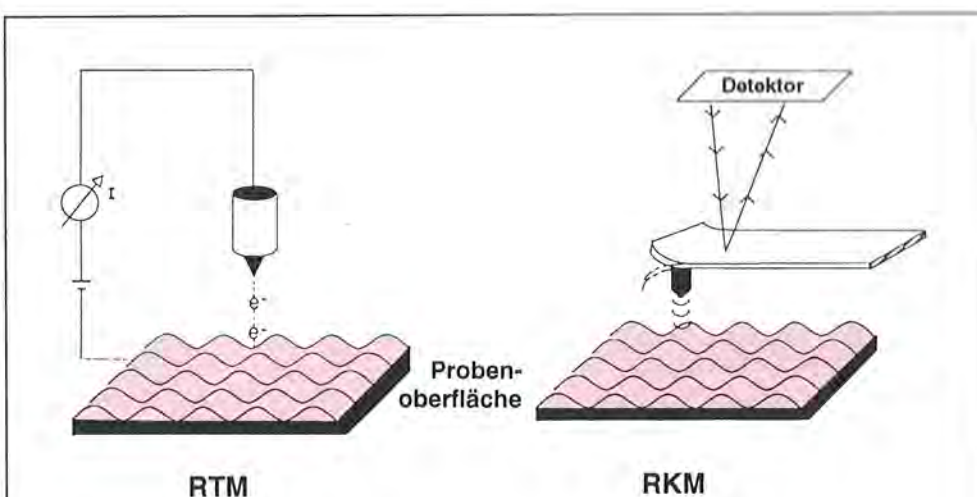
REISE DURCH DIE DIMENSIONEN

denn das Verfahren erlaubt eine Abbildung von Proteinen und Zelloberflächen in wässrigen Medien, was den Verhältnissen in den Zellen am nächsten kommt.

Kein Wunder, dass seit Bekanntwerden dieser Technologie eine Flut wissenschaftlicher Arbeiten erschienen ist, die deren Einsetzbarkeit für die Lösung von Fragestellungen auf den unterschiedlichsten Gebieten der Naturwissenschaften und der Technik dokumentieren. Die wohl überzeugendsten Untersuchungsergebnisse stammen bisher aus dem Gebiet anorganischer Festkörper wie Metalle, Metalloxide und Halbleiter. Typische Anwendungen liegen beispielsweise in der Halbleiterforschung, wenn es darum geht, die Nahordnung von Molekülen und Atomen an Grenzflächen zu untersuchen oder Fehlstellungen, Dislokationen oder atomare Stufen auf Halbleiteroberflächen zu lokalisieren. Ein wichtiges Anwendungsgebiet ist die Materialforschung. Als Beispiel seien hier die Rauheitsuntersuchungen genannt. Dabei können beispielsweise Material und Poliermethoden von Kugellagern genauer untersucht und entsprechend eingesetzt und verändert werden. Ein weiterer Einsatzbereich ist die Untersuchung von Vorgängen bei der Vergiftung von Katalysatoren im Rahmen chemischer Verfahren. (Diese sind vergleichbar mit der Anfälligkeit des Auto-Katalysators, der bei Verwendung falschen Benzins zerstört wird.) Die Betreiber dieser neuen Technologie machen aber auch vor komplizierterem Probenmaterial nicht halt. So wurden in letzter Zeit Bilder von Lipid-Doppelschichten (künstliche Membranen) veröffentlicht, welche belegen, dass die Methode selbst auf weichem Probenmaterial angewandt werden kann und auch hier die für die Untersuchung der Nanometerstruktur und der Nahordnung notwendige molekulare Auflösung besitzt. Selbst sehr komplexe Biomoleküle wie die DNA, Trägerin unserer Erbinformationen, und Proteine können mit der Methode abgebildet werden, wobei das Erreichen einer atomaren Auflösung auf diesen relativ weichen Biomolekülen zurzeit noch Probleme bereitet.

Wachsendes Interesse der Industrie

Obwohl das Potential dieser neuen Methode in wissenschaftlichen Kreisen so-



Schematische Darstellung der Rastertunnel- und der Rasterkraftmikroskopie. Während man bei der Rastertunnelmikroskopie (RTM) den zwischen Sensor und Probe angelegten, winzigen Strom misst, werden bei der Rasterkraftmikroskopie (RKM) die zwischen den Atomen der Sensorspitze und der zu untersuchenden Probe wirkenden Kräfte gemessen. Die Sensoren

werden in der Ebene über die Oberfläche bewegt (gerastert) und erkennen so atomare und molekulare 'Unebenheiten', die Erhebungen quasi. Diese werden auskorrigiert und aufgezeichnet. Die Daten werden dann mit einem Computer zu einem Bild zusammengefügt und ergeben die Rekonstruktion der gemessenen Oberfläche.

fort erkannt und akzeptiert worden ist, sind die Hauptaktivitäten in diesem Gebiet noch mehrheitlich auf Hochschulinstitute beschränkt. In letzter Zeit häufen sich aber die Kontakte zwischen der Industrie und diesen Instituten. Über diese Kontakte wird in den meisten Fällen die Einsetzbarkeit der Methode für die Lösung firmenspezifischer Fragestellungen ausgelotet. Konkrete Ergebnisse derartiger Zusammenarbeiten liegen schon vor. Im Teamwork zwischen Ilford AG, einem auf dem Gebiet des Photomaterials tätigen Unternehmen, und dem Institut für Physik der Universität Basel wurde beispielsweise die Oberflächenstruktur von Silberhalogenid-Kristallen, wie sie bei photographischen Filmen eingesetzt werden, mit dem *Rasterkraftmikroskop* untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass diese Oberflächenstruktur von entscheidender Bedeutung für die Lichtempfindlichkeit der erwähnten Kristalle ist. Nach dieser Erkenntnis hat die Firma ihre Verfahren für die Darstellung von Kristallen mit der geforderten, terrassenförmigen Topographie optimiert; sie ist nun in der Lage, Filme mit einer zehn Mal höheren Lichtempfindlichkeit anzubieten. In ei-

ner anderen Arbeit desselben Hochschulinstitutes wurde gezeigt, dass die Rasterkraftmikroskopie herkömmlichen optischen Methoden bei der Charakterisierung polierter Glasoberflächen in Bezug auf Zeitaufwand und Auflösungsvermögen weitaus überlegen ist. Dies ist beispielsweise bei der Herstellung von Brillengläsern sehr wichtig. Polierprozesse und Beschichtungen können mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie genauer untersucht werden; dank der gewonnenen Erkenntnisse lassen sich Brillengläser entscheidend verbessern.

Roche pflegt schon seit mehr als vier Jahren eine enge Zusammenarbeit mit dem Institut für Physik der Universität in Basel, um das Potential dieser neuen Art der Mikroskopie für die Lösung analytischer Fragestellungen zu untersuchen. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Dr. Klaus Noack (Bereich Pharmaforschung; Spektroskopie und Chromatographie) werden Probleme innerhalb der heterogenen Katalyse, das heisst mit einem nichtgelösten Katalysator, zu Leibe gerückt. Es wird versucht, Zusammenhänge zwischen Struktur und Zusammensetzung einer Festkörperoberfläche und deren Wirksamkeit als

fähr zehn Nanometern (= 1/100 000 mm) abzubilden. Der Vergrößerungsfaktor dieser Instrumente reicht nur in speziellen Fällen und unter enormem Aufwand aus, um die am Aufbau dieser Objekte beteiligten Bausteine (Moleküle oder gar Atome) sichtbar zu machen und auf diese Weise Informationen über die atomare Struktur der Oberfläche des Objektes zu gewinnen. In vielen Gebieten der Naturwissenschaften ist es aber gerade diese Oberflächenfeinstruktur, welche die Funktion des Objektes bestimmt. Beispielsweise ist für das Funktionieren eines Katalysators nicht nur das Trägermaterial von entscheidender Bedeutung, sondern in viel stärkerem Masse die Zusammensetzung und die Strukturierung der äussersten Atomlagen, also der Oberfläche. Gleiches gilt aber auch für das korrekte Funktionieren einer Zellmembran, welches nicht allein von ihrer molekularen Zusammensetzung abhängt, sondern auch von der relativen räumlichen Anordnung der einzelnen Komponenten zueinander.

Auf ein Instrumentarium, mit dessen Hilfe solche lokale, atomar beziehungsweise molekular aufgelöste Bilder einer Objektoberfläche erstellt werden können, musste die Wissenschaft lange Zeit warten. Der Durchbruch gelang Gerd Binnig und Heinrich Rohrer vom IBM-Forschungslaboratorium in Rüschlikon, Kanton Zürich, vor rund zwölf Jahren mit der Erfindung des sogenannten *Rastertunnelmikroskops* (RTM). Zum ersten Mal gelang es diesen beiden Forschern, den Bereich einer Oberfläche derart zu vergrössern und lokal aufzulösen, dass in dieser Oberfläche die einzelnen Atome sichtbar wurden: Ein Vergrößerungsfaktor von mehr als zehn Zehnerpotenzen war erreicht worden. Die zu dieser Zeit in der wissenschaftlichen Welt noch weit verbreitete Meinung, die direkte Abbildung einzelner Atome sei nicht möglich, wurde mit dieser Erfindung von einem Tag auf den andern umgestossen. Für ihre bahnbrechende Erfindung erhielten die beiden Forscher 1986 den Nobelpreis für Phy-

sik. In der Zwischenzeit wurden an den verschiedenen Orten der Welt analoge Verfahren entwickelt, die alle auf einem ähnlichen Prinzip beruhen. Das bekannteste ist das *Rasterkraftmikroskop* (RKM). Alle werden unter dem Begriff *Raster-Sensor-Methoden* zusammengefasst.

Der Natur auf die Finger geschaut

Das erreichbare Auflösungsvermögen dieser Methoden verblüfft um so mehr, wenn man sich bewusst macht, dass sie auf einem sehr einfachen, auch in der Natur realisierten Prinzip beruhen. Im Grunde ist das Instrument nichts anderes als ein künstliches, hoch miniaturisiertes und empfindliches Tastorgan. Es ist bekannt, dass wir in der Lage sind, uns durch blosses Abtasten mit einem Finger ein sehr genaues Bild eines Gegenstands zu machen. Dabei ist der Finger nicht nur imstande, die äussere Form des Objektes zu vermitteln. Die durch den Tastsinn vermittelte Information beinhaltet darüber hinaus auch Eigenschaften der Oberfläche dieses Gegenstandes, die dem Auge nicht oder nur schwer zugänglich sind; wie zum Beispiel lokale Veränderungen in der Oberflächenrauigkeit, lokale Unterschiede in der Wärmetönung oder im Feuchtigkeitsgehalt und vieles mehr.

Die *Raster-Sensor-Methoden* arbeiten im wesentlichen nach demselben Prinzip. Ein Vergleich mit herkömmlichen Vorgehensweisen zeigt, dass im Rahmen dieser darstellenden Methoden radikal mit den Grundsätzen der herkömmlichen Mikroskopie gebrochen wurde. Während beim Lichtmikroskop oder beim Elektronenmikroskop das Objekt und das Bild unter Verwendung von Strahlung über ein Linsensystem miteinander verknüpft werden, ist in diesen neuen Methoden das Objekt über den Sensor mit dem Bild verbunden. Die Positionierung dieses Sensors über der Oberfläche und das 'Abrastern' (deshalb *Raster-Sensor-Methoden*) wird durch sogenannte piezoelektrische Elemente übernommen, auf denen der Sensor oder das zu untersuchende Objekt befestigt ist. Die Fähigkeit des Sensors, eine bei seiner Annäherung an die Probe auftretende Wechselwirkung über eine physikalische Grösse (zum Beispiel abstossende und anziehende Kräfte oder Tunnelstrom) zu quantifizieren, kann mit

dem menschlichen Tastempfinden verglichen werden. Das überraschende ist nun, dass es – aufbauend auf diesem einfachen Prinzip – gelungen ist, ein Gerät zu konstruieren, dessen 'Tastsinn' einzelne Atome voneinander unterscheiden kann. Dies ist auf eine konsequente Miniaturisierung des Sensors und den Einsatz hoch präziser piezoelektrischer Stallelemente zurückzuführen, die sich durch Anlegen einer elektrischen Spannung mikroskopisch kontrolliert verformen können. Im Idealfall ist die Sensorspitze so stark verkleinert, dass sie mit der Oberfläche der zu untersuchenden Probe nur über ein einzelnes Atom in Wechselwirkung tritt. Typische piezoelektrische Elemente, welche für die Positionierung des Sensors zur Probe eingesetzt werden, verschieben den Sensor beim Anlegen einer elektrischen Spannung von einem Volt um nur gerade einen Nanometer; das entspricht ungefähr vier Atomdurchmessern. Bedenkt man, dass es ein leichtes ist, elektrische Spannungen im Bereich von einem Millivolt oder weniger exakt zu stabilisieren, so versteht man, dass es mit derartigen Elementen möglich ist, vertikale und horizontale Positionierungen auf den Bruchteil eines Atomdurchmessers einzustellen und stabil zu halten.

Scheinbar unbegrenzte Einsatzbereiche

Das breite Interesse, auf das diese revolutionäre Technologie schon kurz nach ihrer Einführung gestossen ist, überrascht nicht. Mit der Etablierung dieser Methoden gelingt es nun, Bilder eines Gegenstandes in allen Grössenbereichen zu erstellen, das heisst von Merkmalen, die mit Hilfe eines Licht- oder eines Elektronenmikroskopes sichtbar werden bis hin zur räumlichen Anordnung der Atome auf der Oberfläche des Gegenstandes. Das Interesse wurde aber auch noch durch die Tatsache gesteigert, dass die *Raster-Sensor-Methoden* im Prinzip ohne Probenvorbereitung auskommen können. Anders als etwa in der Elektronenmikroskopie, bei der meist eine Vorbehandlung des zu untersuchenden Gegenstandes (zum Beispiel Metallbedampfung, Kontrastierung) notwendig ist, kann hier die Oberfläche in ihrem ursprünglichen Zustand und in ihrer natürlichen Umgebung abgebildet werden. Besonders wichtig ist dieser Vorteil im Gebiet biologischen Probenmaterials,

Dr. Walter Huber ist eigentlich Chemiker, bezeichnet sich selbst aber als physikalischen Chemiker. Er arbeitet in den physikalischen Laboratorien der Pharmaforschung Roche Basel.

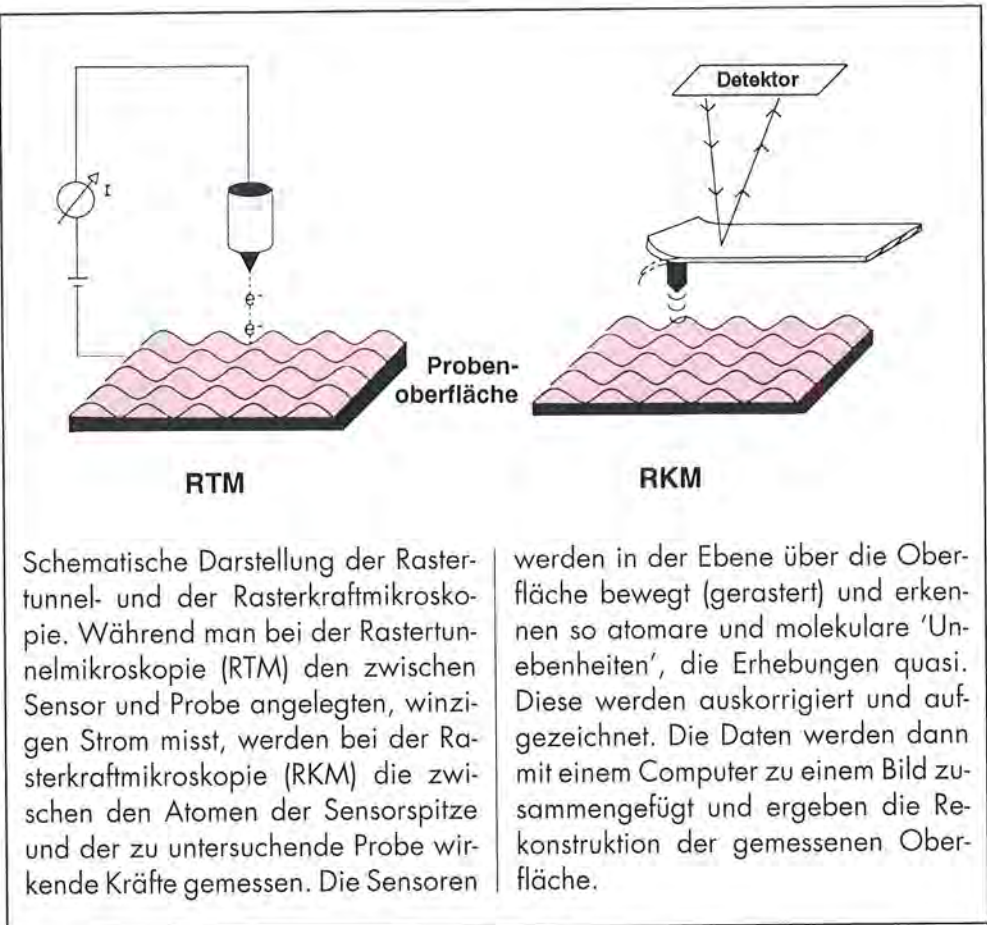
Dr. Dario Anselmetti ist Physiker und Mitarbeiter am Institut für Physik der Universität Basel.

denn das Verfahren erlaubt eine Abbildung von Proteinen und Zelloberflächen in wässrigen Medien, was den Verhältnissen in den Zellen am nächsten kommt.

Kein Wunder, dass seit Bekanntwerden dieser Technologie eine Flut wissenschaftlicher Arbeiten erschienen ist, die deren Einsetzbarkeit für die Lösung von Fragestellungen auf den unterschiedlichsten Gebieten der Naturwissenschaften und der Technik dokumentieren. Die wohl überzeugendsten Untersuchungsergebnisse stammen bisher aus dem Gebiet anorganischer Festkörper wie Metalle, Metalloxide und Halbleiter. Typische Anwendungen liegen beispielsweise in der Halbleiterforschung, wenn es darum geht, die Nahordnung von Molekülen und Atomen an Grenzflächen zu untersuchen oder Fehlstellen, Dislokationen oder atomare Stufen auf Halbleiteroberflächen zu lokalisieren. Ein wichtiges Anwendungsgebiet ist die Materialforschung. Als Beispiel seien hier die Rauheitsuntersuchungen genannt. Dabei können beispielsweise Material und Poliermethoden von Kugellagern genauer untersucht und entsprechend eingesetzt und verändert werden. Ein weiterer Einsatzbereich ist die Untersuchung von Vorgängen bei der Vergiftung von Katalysatoren im Rahmen chemischer Verfahren. (Diese sind vergleichbar mit der Anfälligkeit des Auto-Katalysators, der bei Verwendung falschen Benzins zerstört wird.) Die Betreiber dieser neuen Technologie machen aber auch vor komplizierterem Probenmaterial nicht halt. So wurden in letzter Zeit Bilder von Lipid-Doppelschichten (künstliche Membranen) veröffentlicht, welche belegen, dass die Methode selbst auf weichem Probenmaterial angewandt werden kann und auch hier die für die Untersuchung der Nanometerstruktur und der Nahordnung notwendige molekulare Auflösung besitzt. Selbst sehr komplexe Biomoleküle wie die DNA, Trägerin unserer Erbinformationen, und Proteine können mit der Methode abgebildet werden, wobei das Erreichen einer atomaren Auflösung auf diesen relativ weichen Biomolekülen zurzeit noch Probleme bereitet.

Wachsendes Interesse der Industrie

Obwohl das Potential dieser neuen Methode in wissenschaftlichen Kreisen so-



Schematische Darstellung der Rastertunnel- und der Rasterkraftmikroskopie. Während man bei der Rastertunnelmikroskopie (RTM) den zwischen Sensor und Probe angelegten, winzigen Strom misst, werden bei der Rasterkraftmikroskopie (RKM) die zwischen den Atomen der Sensorspitze und der zu untersuchenden Probe wirkende Kräfte gemessen. Die Sensoren

werden in der Ebene über die Oberfläche bewegt (gerastert) und erkennen so atomare und molekulare 'Unebenheiten', die Erhebungen quasi. Diese werden auskorrigiert und aufgezeichnet. Die Daten werden dann mit einem Computer zu einem Bild zusammengefügt und ergeben die Rekonstruktion der gemessenen Oberfläche.

fort erkannt und akzeptiert worden ist, sind die Hauptaktivitäten in diesem Gebiet noch mehrheitlich auf Hochschulinstitute beschränkt. In letzter Zeit häufen sich aber die Kontakte zwischen der Industrie und diesen Instituten. Über diese Kontakte wird in den meisten Fällen die Einsetzbarkeit der Methode für die Lösung firmenspezifischer Fragestellungen ausgelotet. Konkrete Ergebnisse derartiger Zusammenarbeiten liegen schon vor. Im Teamwork zwischen Ilford AG, einem auf dem Gebiet des Photomaterials tätigen Unternehmen, und dem Institut für Physik der Universität Basel wurde beispielsweise die Oberflächenstruktur von Silberhalogenid-Kristallen, wie sie bei photographischen Filmen eingesetzt werden, mit dem Rasterkraftmikroskop untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass diese Oberflächenstruktur von entscheidender Bedeutung für die Lichtempfindlichkeit der erwähnten Kristalle ist. Nach dieser Erkenntnis hat die Firma ihre Verfahren für die Darstellung von Kristallen mit der geforderten, terrassenförmigen Topographie optimiert; sie ist nun in der Lage, Filme mit einer zehn Mal höheren Lichtempfindlichkeit anzubieten. In ei-

ner anderen Arbeit desselben Hochschulinstitutes wurde gezeigt, dass die Rasterkraftmikroskopie herkömmlichen optischen Methoden bei der Charakterisierung polierter Glasoberflächen in Bezug auf Zeitaufwand und Auflösungsvermögen weitaus überlegen ist. Dies ist beispielsweise bei der Herstellung von Brillengläsern sehr wichtig. Polierprozesse und Beschichtungen können mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie genauer untersucht werden; dank der gewonnenen Erkenntnisse lassen sich Brillengläser entscheidend verbessern.

Roche pflegt schon seit mehr als vier Jahren eine enge Zusammenarbeit mit dem Institut für Physik der Universität in Basel, um das Potential dieser neuen Art der Mikroskopie für die Lösung analytischer Fragestellungen zu untersuchen. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Dr. Klaus Noack (Bereich Pharmaforschung; Spektroskopie und Chromatographie) werden Probleme innerhalb der heterogenen Katalyse, das heisst mit einem nichtgelösten Katalysator, zu Leibe gerückt. Es wird versucht, Zusammenhänge zwischen Struktur und Zusammensetzung einer Festkörperoberfläche und deren Wirksamkeit als

Katalysator herzustellen und auszunützen.

In einer weiteren Zusammenarbeit mit der Gruppe von Dr. Walter Huber (Bereich Pharmaforschung, physikalische Laboratorien) bemüht man sich, die Immobilisierung von Biomolekülen (Proteine, DNA) auf Festphasen zu optimieren. Eine grosse Anzahl verschiedener immunologischer Tests basiert auf diesem Prinzip; als Beispiel seien hier Schwangerschaftstests, Aids-Tests oder der Test zum Nachweis von Gelbsucht (Hepatitis) genannt. Grundsätzlich geht es bei all diesen Tests um das Nachweisen spezifischer Markermoleküle. Hierzu werden im allgemeinen auf einer Festkörperoberfläche Erkennungsmoleküle (zum Beispiel Antikörper) verankert, die in der Lage sind, die für ein bestimmtes Krankheitsbild typischen Markermoleküle aus der Testlösung (beispielsweise Blut, Serum eines Patienten) an diese Oberfläche zu binden. Der Nachweis dieser über die Erkennungsmoleküle gebundenen Markermoleküle kann dann auf unterschiedlichem Wege erfolgen.

Innerhalb der bei Roche für die Durchführung solcher Tests neu entwickelten Biosensor-Technologie werden derartige Erkennungsmoleküle auf der Oberfläche eines Messfühlers (Sensor) verankert. Dieser ist dann in der Lage, das Andocken des Markermoleküls direkt zu messen. Damit dieses Andocken selektiv und möglichst quantitativ erfolgt, müssen diese Erkennungsmoleküle richtig (das heisst homogen verteilt und ausgerichtet) auf der Oberfläche festgemacht werden. Je besser dies gelingt, desto zuverlässiger werden die Testergebnisse mit diesen biologischen Messfühlern (Biosensoren). Die Raster-Sensor-Technologie ist die einzige zurzeit bekannte Methode, die Auskunft über die Orientierung und Verteilung derartiger Erkennungsmoleküle geben kann. Sie wird deshalb von Roche in Zusammenarbeit mit der Hochschule Basel mit Erfolg eingesetzt.

Eine Technologie, die auf die korrekte Orientierung organischer Moleküle an Oberflächen zwingend angewiesen ist, ist die Flüssigkristall-Technologie. Natürlich können Aussagen über Orientierungsgrad oder Richtung der Moleküle auch über klassische optische Methoden erhalten werden. Eine Aussage

Jenseits der Grenzen der Vorstellungskraft

Das Leben spielt sich in Grössenordnungen ab, die unzählige Dimensionen und Masseinheiten umfassen. So sind wir Menschen an einen Meter gewöhnt und können uns den Millimeter, also den tausendsten Teil eines Meters, noch gut vorstellen: auf jedem Maßstab ist er eingraviert. Unterteilen wir den Millimeter wiederum in tausend gleich lange Teile, so erhalten wir den Mikrometer, den millionsten Teil eines Meters – die Längeneinheit biologischer Zellen, Bakterien, aber auch von Leiterbahnen auf hochintegrierten Schaltkreisen. Der Mikrometer lässt sich erneut in tausend gleiche Abschnitte unterteilen; so gelangen wir zum Nanometer, dem milliardsten Teil eines Meters, der Längeneinheit kleinerer Moleküle.

Atome, die diese Moleküle und unsere Materie aufbauen, sind nun noch rund zehn Mal kleiner als ein Nanometer. Hier endet zwar die physikalische Welt noch lange nicht, aber die meisten festkörperspezifischen und biologischen Fragestellungen begnügen sich mit dieser atomaren Dimension – dem zehn-milliardsten Teil eines Meters.

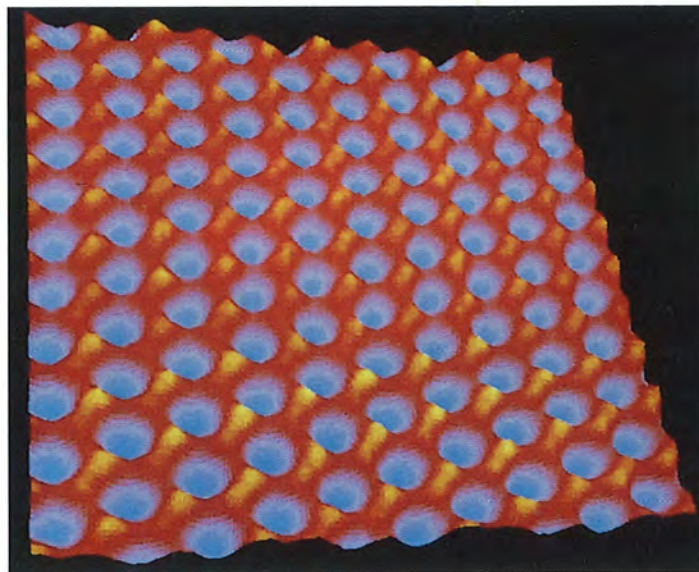
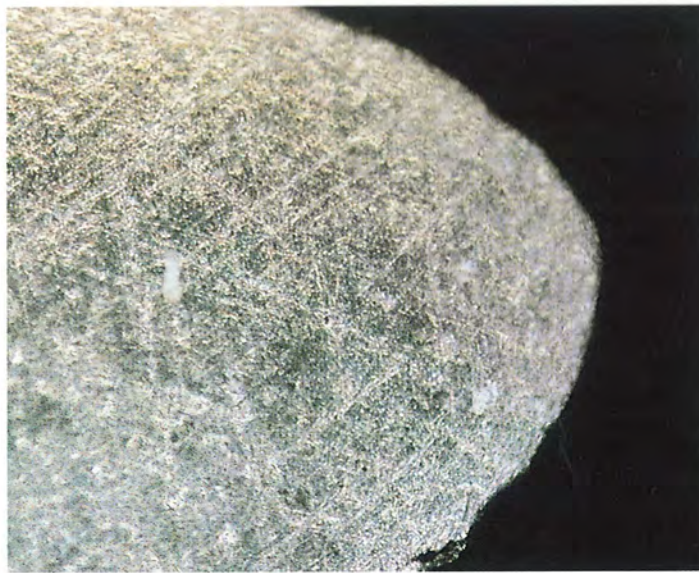
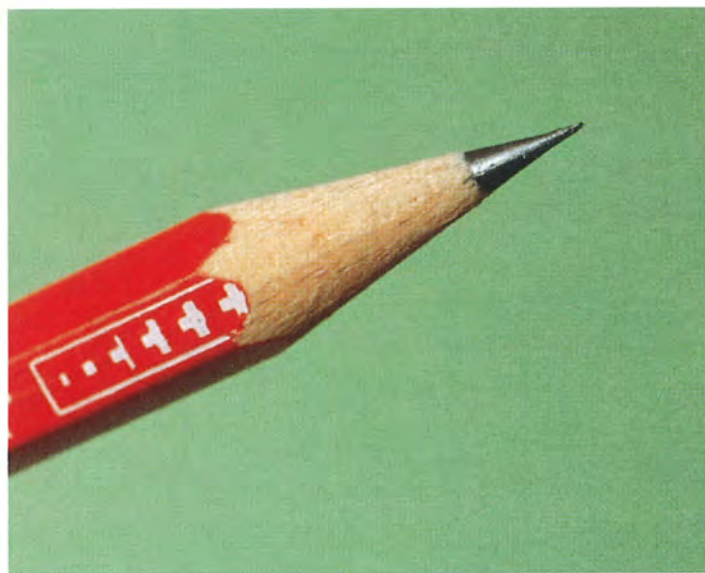
Um diese winzigen Ausmasse und den Sprung über zehn Grössenordnungen hinweg überhaupt fassen zu können, lässt sich ein anschaulicher Vergleich anstellen. Blasen wir beispielsweise die Atome auf die Grösse von Ping-Pong-Bällen auf, und versuchen uns vorzustellen, wie die Spitze eines Raster-Tunnel-Mikroskops den atomaren Konturen der Balloberflächen folgt, so hätte die Sensorspitze im Verhältnis zu den 'Ping-Pong-Atomen' die Grösse des Matterhorns.

Die neuartigen Techniken der Raster-Sensor-Mikroskopie funktionieren ganz anders, als man es von konventionellen Methoden gewöhnt ist. Während man bei der optischen Lichtmikroskopie beispielsweise Licht optisch bündelt und fokussiert und damit unmittelbar ein vergrössertes Abbild des Objekts erhält,

wird bei den Raster-Sensor-Methoden ein spezieller Sensor sehr nahe an die zu untersuchende Oberfläche angenähert (Abstand: ein Nanometer). Der Sensor wird nun zeilenweise über die Oberfläche gerastert, wobei der Sensor immer im gleichen Abstand zur Oberfläche gehalten wird. Mit der gleichzeitigen Aufzeichnung der zurückgelegten Spur des Sensors kann die zu untersuchende Oberfläche rekonstruiert und sichtbar gemacht werden.

Bei der Rastertunnelmikroskopie (RTM) wird eine elektrisch leitende, sehr scharfe metallische Spitze (Sensor) an eine ebenfalls leitende Oberfläche angenähert. Obwohl sich die beiden Körper noch nicht berühren und daher klassisch betrachtet kein Strom zwischen ihnen fliessen dürfte, lässt sich in quantenmechanischer Hinsicht ein solcher Tunnelstrom, der zwar sehr klein ist, theoretisch voraussagen und auch experimentell nachweisen. Verändert man nun den Abstand zwischen den beiden Körpern ganz wenig, zum Beispiel um einen Zehntel Nanometer, so ändert sich der Strom drastisch um den Faktor zehn. Durch Messen und Kontrollieren dieses Tunnelstromes lässt sich somit indirekt der Abstand zwischen zu untersuchender Oberfläche und Sensor konstant halten. Diese Methode funktioniert allerdings nur auf leitenden Materialien.

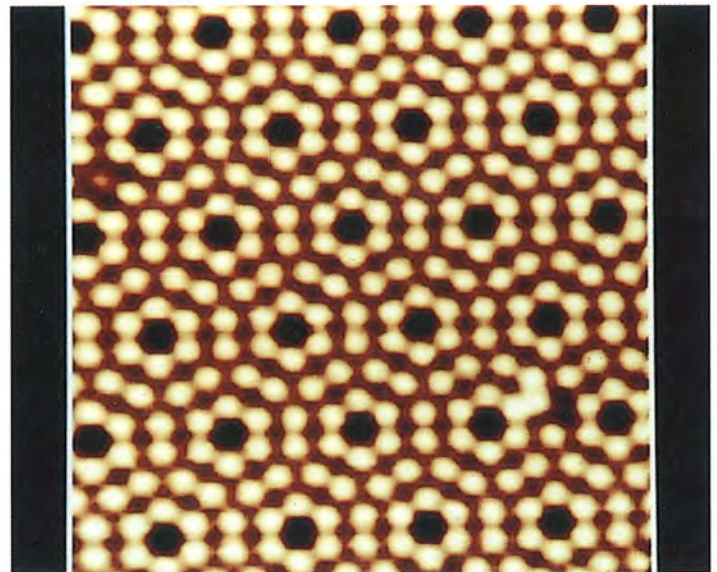
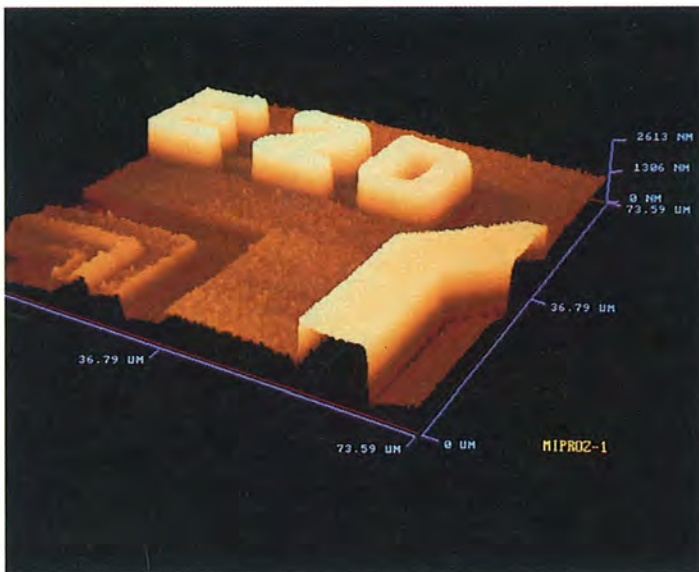
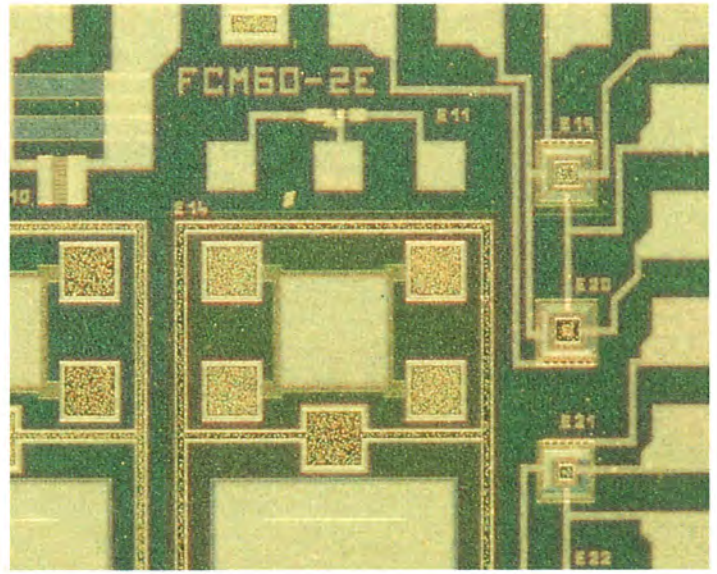
Die überwiegende Anzahl der gebräuchlichen Materialien ist jedoch nichtleitender Natur. Die Forscher behelfen sich deshalb mit einem Kunstgriff und entwickelten das sogenannte Rasterkraftmikroskop (RKM). Die Sensorspitze wird auf einer sehr feinen Blattfeder befestigt, die sich nun bei Annäherung an die zu untersuchende Oberfläche unter den zwischen den Atomen wirkenden Kräften verbiegt. Diese Verbiegungen werden heutzutage mit Hilfe optischer Methoden (Laserstrahlableitung, optische Interferometrie) präzise erfasst und kontrolliert.



Eine Bleistiftmine wird zum Eierkarton

Vergrössert man die Graphitmine eines Bleistifts mit Hilfe optischer (Abbildung oben rechts) und elektronenmikroskopischer (unten links) Methoden, so werden immer feinere Strukturen mit immer grösserer Detailgenauigkeit sichtbar. Doch erst die Aufnahme mit dem Rastertunnelmikroskop (unten rechts) erlaubt die Abbildung der atomaren Oberfläche. In diesem Bildausschnitt (Seitenlänge 2,5 Nanometer) ist der atomare Aufbau der Kohlenstoffschichten zu erkennen. Was auf den ersten Blick wie ein grosser Eierkarton aussieht, sind in Wahrheit die Kohlenstoffatome, die

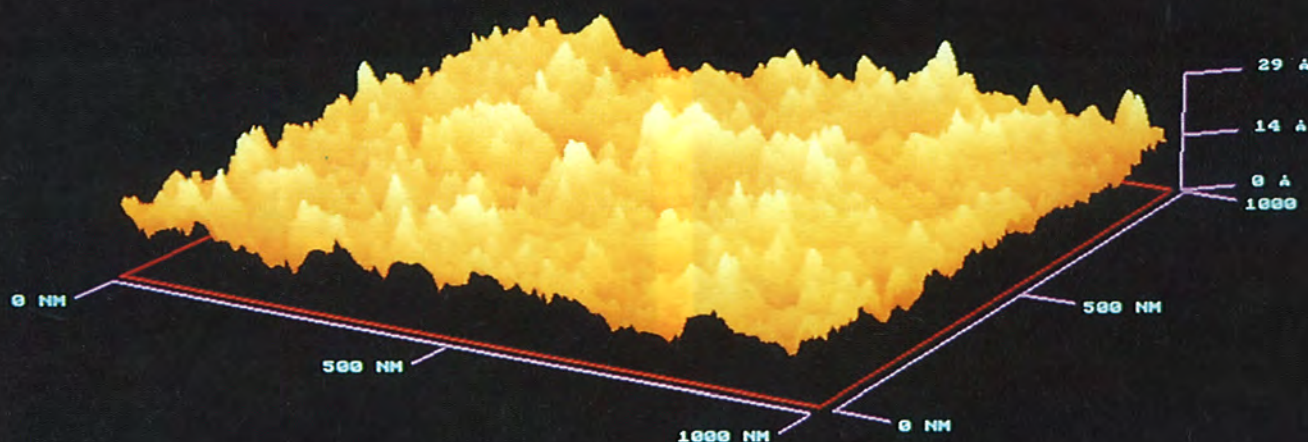
sich in den Graphitschichten honigwabenartig anordnen und so atomare Vertiefungen schaffen.



Atomare Strukturen und Defekte

Heutige Mikroelektronik basiert hauptsächlich auf dem Halbleitermaterial Silizium. Um solche elektronische Schaltungen grob auf einer Mikrometerskala untersuchen zu können, genügen optische oder elektronenmikroskopische Methoden. Doch erst die Raster-Sensor-Methoden erlauben eine Charakterisierung und eine Qualitätskontrolle der gefertigten Strukturen im Submikrometer- und im Nanometerbereich. Unter sehr reinen Vakuumbedingungen ist es ebenfalls möglich, die Oberflächenstruktur atomar aufzulösen. Das mit Hilfe eines Rastertunnelmikroskops aufgenommene Bild (Abbildung unten rechts) zeigt den rund 12 Nanometer im Quadrat grossen Bildausschnitt der Siliziumoberfläche eines Computer-

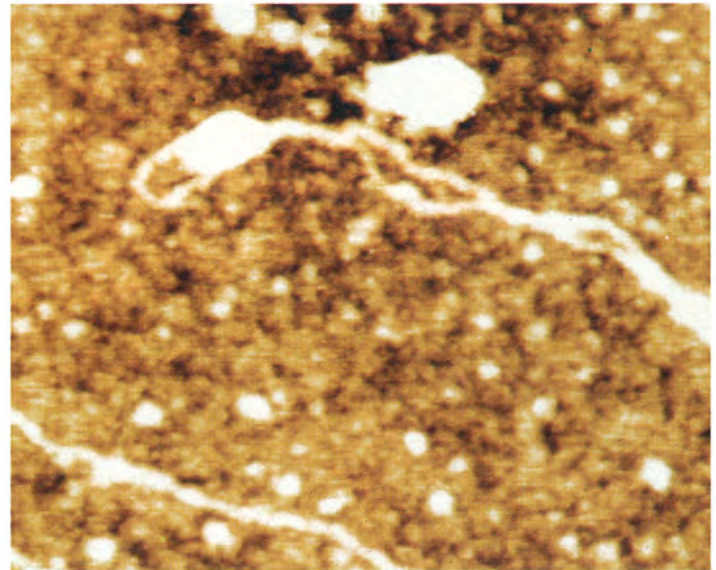
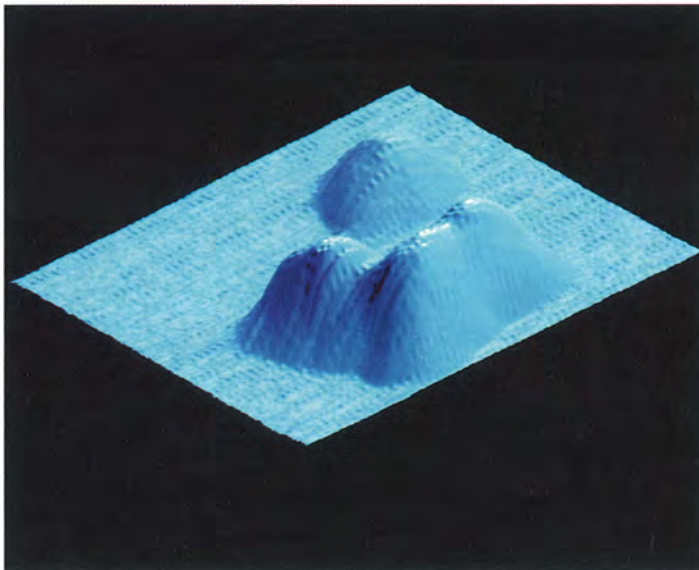
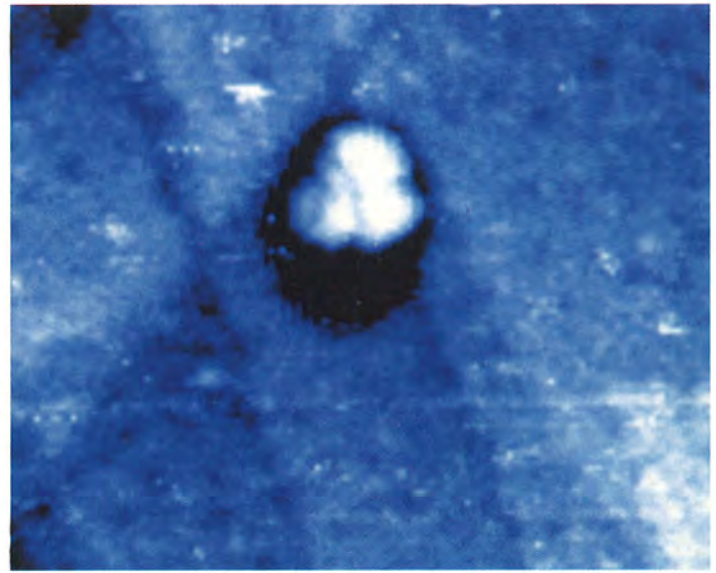
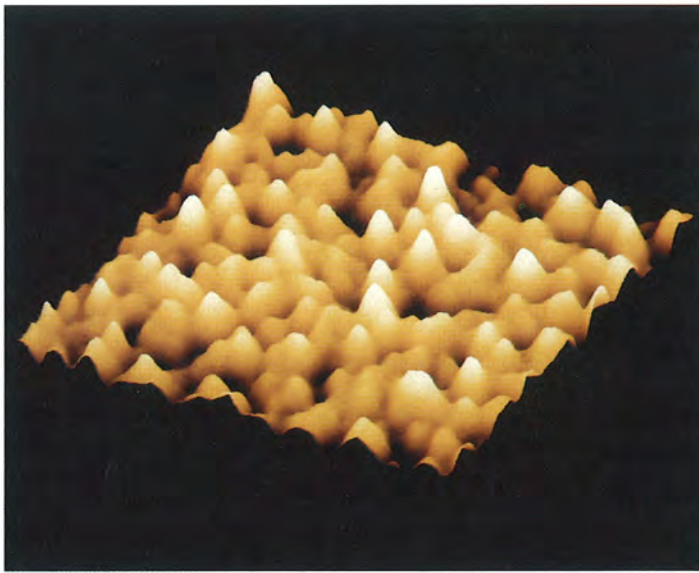
chips, worauf einzelne Siliziumatome zu erkennen sind; jeder gelbe Punkt entspricht einem einzelnen Atom. Man kann deutlich erkennen, dass sich die Atome zu periodischen Strukturen zusammengeschlossen haben. Neben diesen rhombenförmigen, sich wiederholenden Einheiten, die durch genau 12 Atome gebildet werden, sind auch einzelne atomare Defekte zu erkennen: Im linken oberen Teil der rastertunnelmikroskopischen Aufnahme fehlt beispielsweise ein Atom; unten rechts ist eines leicht aus seiner angestammten Position verschoben.



Zerklüftete Urlandschaft

Dieses stark an eine zerklüftete Mondlandschaft erinnernde Bild ist die Oberfläche eines Brillenglases, wie wir es vom täglichen Gebrauch her kennen. Bedingt durch den nichtleitenden Charakter von Glas, stellt dieses Material, was die Untersuchung der Oberflächenrauigkeit anbelangt, grosse Probleme an die Entwicklungsingenieure. Mit dem Rasterkraftmikroskop steht jetzt ein Instrument zur Verfügung, das eine Charakterisierung bis hinunter in den Subnanometerbereich ohne grosse Probenvorbereitung direkt ermöglicht. Mit den herkömmlichen Methoden wurde die Oberfläche zuerst beispielsweise mit Gold bedampft. Damit wurde das Objekt zwar leitfähig; gleichzeitig aber wurden die effekti-

ven Strukturen quasi zugedeckt und die realen Werte in einer gewissen Weise abgeflacht. Die direkte Untersuchung des Materials ist für die Brillen- und Linsenhersteller sehr hilfreich, können doch beispielsweise die Leistungsfähigkeit unterschiedlicher Polierprozesse oder Materialien viel exakter als bisher bestimmt werden. Obwohl unser mikrometergrosser Bildausschnitt eine wilde Urlandschaft suggeriert, ist diese Glasoberfläche von bemerkenswerter Güte. Schuld an dieser Täuschung ist die durch den Computer erzeugte Überhöhung in der Senkrechten; in Tat und Wahrheit beträgt die gemessene Rauigkeit nur winzige 1,5 Nanometer.



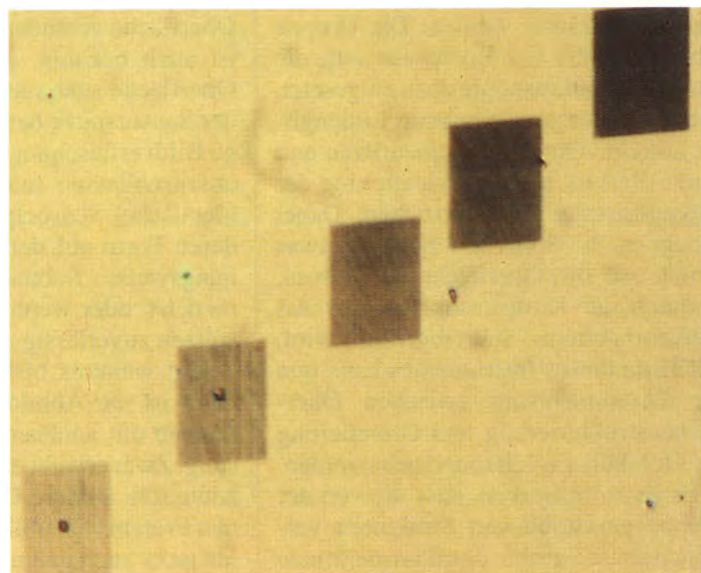
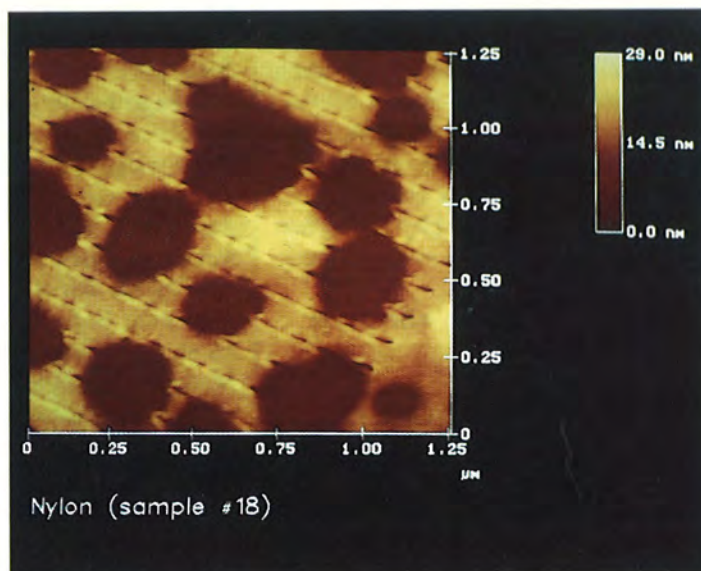
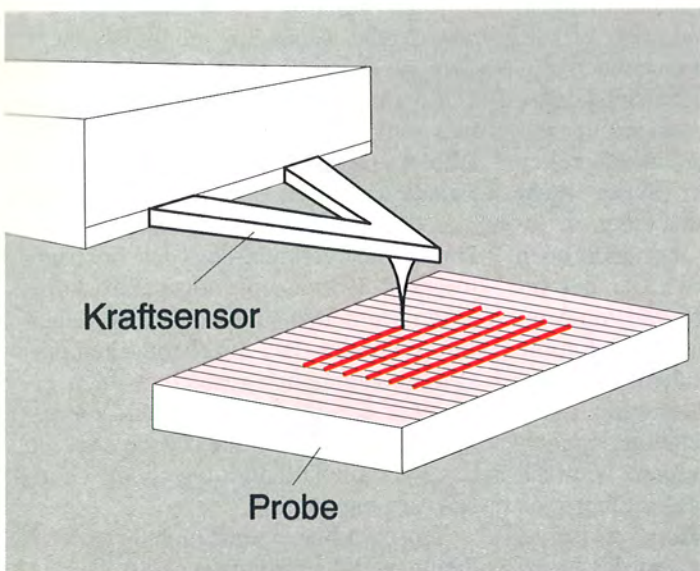
Portraits von Biomolekülen

In diesen vier Raster-Sensor-Mikroskopie-Bildern sind Biomoleküle sichtbar gemacht, die auf den Oberflächen von Biosensoren fixiert sind. Das Bild oben links zeigt eine Oberfläche, welche dicht mit Protein-A bedeckt ist. Die wenige Nanometer grossen Proteine erscheinen als kleine Hügel. Derartige Oberflächen werden in der Bioanalytik verwendet, um Antikörper gerichtet und homogen verteilt zu immobilisieren. Dieses Verfahren wird vor allem bei verschiedenen immun-

diagnostischen Tests eingesetzt. Aber auch bei der Entwicklung von Medikamenten, zur Untersuchung verschiedener Wechselwirkungen zwischen einzelnen Molekülen, findet die Methode Anwendung. Das Bild oben rechts zeigt einen einzelnen derartigen Antikörper (H-IgG). In der Abbildung ist eine deutliche Dreiteilung des Proteins in drei Untereinheiten erkennbar. Zwei dieser Untereinheiten entsprechen den sogenannten Fab-Fragmenten, welche die antigenbindenden Regionen beinhalten, während die dritte Untereinheit dem sogenannten Fc-Fragment entspricht. Das Bild unten links zeigt Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen-Partikel. Diese Partikel sind Markermoleküle, die in der Humandiagnostik für den Nach-

weis einer Hepatitis-B-Infektion herangezogen werden.

Das Bild unten rechts zeigt verschiedene verschlungene DNA-Stränge, Träger unserer Erbsubstanz. Diese Fäden sind Nähgarn nicht unähnlich; allerdings sind sie 100000mal dünner, nämlich rund zwei Nanometer. Mit Hilfe einzelner Unterabschnitte dieses Doppelstrangmoleküls lassen sich beispielsweise Wechselwirkungen zwischen DNA und bestimmten Proteinen untersuchen.



Massanzug für Moleküle

Das Rasterkraftmikroskop kann auch dazu benutzt werden, Oberflächen zu verändern, sie auf Nanometerskala zu modifizieren. Mitarbeitern der Uni Basel ist es in Zusammenarbeit mit der Flüssigkristallgruppe von Roche gelungen, winzigste Liniengitter in die Oberfläche nylonbeschichteter Glasplatten zu ritzen (Abbildungen oben links und rechts). Baut man mit solchen Platten eine Flüssigkristallzelle, so orientiert sich der Flüssigkristall längs der Rillen, das heisst die in die Oberfläche geritzte Information überträgt sich auf das Flüssigkristallvolumen und kann in einem optischen Mikroskop, dem Polarisationsmikroskop, sichtbar gemacht werden. Die Effizienz der Ausrichtung hängt dabei stark von den Rasterbedingungen ab,

wie man an den unterschiedlich geritzten Rechtecken in der Abbildung unten rechts sehen kann. Eine erste Anwendung dieser Ausrichtung organischer Moleküle in ein vorgegebenes Muster werden Lichtleiterstrukturen in Flüssigkristallen sein. Ein entsprechendes Einsatzgebiet ist beispielsweise die Nachrichtentechnik mit Hilfe von Glasfasern.

Photos Roche und Institut für Physik der Universität Basel

über die relative Lage einzelner Moleküle zueinander wird aber erst durch den Einsatz von Raster-Sensor-Methoden möglich. Es ist deshalb nicht überraschend, dass auch die Gruppe Flüssigkristalle bei Roche Basel eine rege Zusammenarbeit mit dem physikalischen Institut der hiesigen Universität pflegt.

Nicht nur abbilden, sondern auch manipulieren

Durch diese Zusammenarbeit glückten der Gruppe Experimente, welche mit keiner herkömmlichen Methodik durchführbar gewesen wären. Die Orientierung von Flüssigkristall-Molekülen kann durch eine Strukturierung der Oberfläche, beispielsweise einer Glasplatte, beeinflusst werden. Die Gruppe Flüssigkristalle bei Roche hat nun die Rasterkraftmikroskopie dazu eingesetzt, feine Strukturen, sogenannte Liniengitter, auf eine Oberfläche einzuritzen und deren Einfluss auf die Orientierung der Flüssigkristalle zu untersuchen. Dabei genügt es, die Spitze des Sensors etwas stärker auf die Oberfläche zu pressen, wodurch der Kraftsensor zu einer Art miniaturisiertem Schreibgriffel wird. Mit Hilfe dieses Instrumentes kann nun der Zusammenhang zwischen Oberflächenstrukturierung und Orientierung der Moleküle gezielt untersucht werden.

Es ist zu bemerken, dass die von der Gruppe geschriebenen Strukturen vergleichsweise grobe Strukturmerkmale aufweisen. Arbeitsteams, welche auf dieses Manipulieren im Nanometerbereich spezialisiert sind, haben gezeigt, dass es mit dieser Technologie möglich ist, einzelne Atome oder Moleküle auf Oberflächen kontrolliert zu verschieben und zu neuen Atom- oder Molekülverbänden zusammenzufügen. So ist es prinzipiell möglich, Drähte von wenigen Atomdurchmessern Breite herzustellen. Zusätzlich kann man heute sogar einzelne Elektronen untersuchen und manipulieren (Einzелеlektroneneffekte).

Ungelöste Probleme und Entwicklungstrends

Es ist naheliegend, dass die kurze Zeitspanne seit der Entwicklung dieser Methode nicht ausreichen konnte, um alle anstehenden Probleme und Fragen im Umkreis dieser neuartigen Mikroskopie-

technologie zu lösen oder zu beantworten. So ist es bisher noch nicht gelungen, alle physikalischen Phänomene, welche dem jeweiligen Abbildungsmechanismus zugrunde liegen, vollständig zu untersuchen, zu verstehen und auf der Basis physikalischer Gesetzmässigkeiten zu beschreiben. Neben dieser mehr durch die Grundlagenforschung zu lösenden Aufgabe wartet aber auch noch viel Arbeit auf die Entwickler der Instrumente. So ist das Auftreten von Artefakten, also von künstlichen, durch die Methode bedingten falschen Ergebnissen, ein ungelöstes Problem. Sie lassen sich bisher nicht mit absoluter Sicherheit erkennen und eliminieren. Vielfach kommen derartige Artefakte über eine zu starke Wechselwirkung zwischen dem abtastenden Sensor und der Probe zustande, wodurch die abzubildende Oberfläche verändert wird. Andererseits ist auch bekannt, dass das Bild einer Oberfläche sehr stark durch die Gestalt der Sensorspitze beeinflusst ist. Derartige Bildverfälschungen werden erst dann auszuschliessen sein, wenn es gelingt, identische Sensorspitzen herzustellen, deren Form auf der Nanometer- beziehungsweise Subnanometerskala definiert ist, oder wenn es gelingt, Sensorspitzen zuverlässig zu eichen.

Ein weiteres bisher ungelöstes Problem ist die Abbildung weicher Oberflächen mit annähernd atomarer Auflösung. Zwar erlaubt es die Methode schon heute, die äussere Gestalt eines einzelnen Proteins abzubilden. In einigen Fällen ist es auch gelungen, einzelne Bereiche solcher Proteine sichtbar zu machen. Zu einem brauchbaren Instrumentarium für den Molekularbiologen kann das Verfahren aber erst dann werden, wenn es gelingt, auch feinere Strukturmerkmale wie etwa die lokale Faltung von Peptidketten im Innern oder an der Oberfläche eines Proteins zuverlässig abzubilden. Es wäre dann möglich, sehr schnell eine erste dreidimensionale Strukturinformation über ein Protein zu erhalten, ohne dass der in der Regel schwierige und langwierige Weg über eine Kristallisation und eine Röntgenstrukturanalyse begangen werden müsste. Die in diesem Gebiet an vorderster Front tätigen Forscher sind überzeugt, dass auch dieses geforderte Auflösungsvermögen in naher Zukunft realisiert werden kann.

Mit diesen Mikroskopen werden zurzeit hauptsächlich Bilder von Oberflächenstrukturen erzeugt. Damit sind

die Anwendungen aber noch nicht erschöpft. Vereinzelt sind auch material-spezifische Aussagen möglich geworden: so etwa die Beschreibung lokaler Unregelmässigkeiten im Materialaufbau, magnetischer Feinstrukturen sowie lokaler Änderungen des Reibungskoeffizienten oder der Elastizität. Damit will man sich aber nicht zufrieden geben. Durch die Verknüpfung der hochauflösenden Mikroskopie mit spektroskopischen Methoden sollen in Zukunft auch Informationen über die chemische Feinstruktur zugänglich gemacht werden; etwa über den Oxidationszustand einzelner Elemente in der Oberfläche oder die Lage und die Orientierung chemisch reaktiver Gruppen.

Trotz der bisher noch ungelösten Probleme bleibt unbestritten, dass Raster-Sensor-Methoden die wissenschaftliche und technische Welt nachhaltig beeinflussen werden. Schon heute spricht man von einem neuen Wissenschaftsbereich – dem Bereich der Nanowissenschaften –, dessen Tore durch die Erfindung dieser Methoden aufgestossen worden sind. Im Gegensatz zu den klassischen Wissenschaften, welche sich im allgemeinen mit der Handhabung grosser Ensembles von Molekülen auseinandersetzen, befassen sich die Nanowissenschaften mit dem Beobachten, Messen, Analysieren, Kontrollieren, Verändern (Modifizieren, Manipulieren, Positionieren) *einzelner* Atome und Moleküle. Es ist zu erwarten, dass physikalische und chemische Eigenschaften der Materie in diesen kleinen Dimensionen verglichen mit Normalbedingungen extreme Werte annehmen.

Das Potential dieser Methoden als Werkzeuge für gezielte Veränderungen an Oberflächen im molekularen und atomaren Bereich ist heute noch nicht abschätzbar. Ein Anwendungsgebiet derartiger Nanofabrikationstechniken liegt sicher in der Elektronik, wo über Miniaturisierungen eine wesentlich höhere Informations- und Integrationsdichte auf elektronischen Bausteinen und damit höhere Speicherkapazitäten und höhere Prozessgeschwindigkeiten erreicht werden könnten. Aber auch in der Chemie werden künftig die Raster-Sensor-Methoden erfolgreich auf lebende Systeme angewendet werden, um biochemische Erkennungsvorgänge wie auch Wechselwirkungen zwischen lebenden Zellen bei einer sehr hohen Auflösung studieren zu können.