

I. Appenzeller
D. Dubbers
H.-G. Siebig
A. Winnacker
(Hrsg.)

HEIDELBERGER PHYSIKER BERICHTEN 4

Rückblicke auf Forschung
in der Physik und Astronomie

Von den Grundlagen
zur Anwendung



UNIVERSITÄTS-
BIBLIOTHEK
HEIDELBERG

Heidelberger Physiker berichten

4

Von den Grundlagen zur Anwendung

Heidelberger Physiker berichten

Rückblicke auf Forschung
in der Physik und Astronomie

Herausgegeben von

Immo Appenzeller, Dirk Dubbers, Hans-Georg Siebig
und Albrecht Winnacker

Band 4

Von den Grundlagen zur Anwendung



UNIVERSITÄTS-
BIBLIOTHEK
HEIDELBERG

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie, detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.



Dieses Werk ist unter der Creative Commons-Lizenz 4.0 (CC BY-SA 4.0) veröffentlicht.

Texte © 2018. Das Copyright der Texte liegt beim jeweiligen Verfasser.

Die Online-Version dieser Publikation ist auf heiBOOKS, der E-Book-Plattform der Universitätsbibliothek Heidelberg, <http://books.ub.uni-heidelberg.de/heibooks>, dauerhaft frei verfügbar (Open Access).

URN: [urn:nbn:de:bsz:16-heibooks-book-370-9](http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:16-heibooks-book-370-9)

DOI: <https://doi.org/10.11588/heibooks.370.525>

Umschlagbild: Laserexperimente an turbulenten Flammen:
3D-Temperaturfeld und Flammenfrontstruktur im TECFLAM
Drallbrenner.

ISBN 978-3-946531-82-1 (PDF)

ISBN 978-3-946531-83-8 (Softcover)

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	1
Josef Bille	
<i>Biomedizinische Optik</i>	3
Christoph Cremer	
<i>Mit Laserlicht ins Innerste des Zellkerns</i>	39
Albrecht Winnacker	
<i>Vom Physiker zum Materialwissenschaftler</i>	93
Jürgen Wolfrum	
<i>Das Feuer im Laserlicht:</i>	
<i>Theoretische Grundlagen und praktische Anwendungen</i>	125

Vorwort

Dieser vierte Band der Buchreihe "Heidelberger Physiker berichten" enthält Vorträge aus dem Jahr 2017. Der Titel des Bandes "Von den Grundlagen zur Anwendung" spricht sowohl die Anwendungsnähe der hier präsentierten Vorträge an wie aber auch die Tatsache, dass sich das jeweilige wissenschaftliche Lebenswerk auf der Basis und aus der Erfahrung wissenschaftlicher Grundlagenforschung heraus entwickelt hat. Auch erfolgreiche und wirklich innovative angewandte Forschung muss sich modernster Hilfsmittel und eines tieferen Verständnisses aktueller Entwicklungen bedienen; in diesem Sinne sind letztlich die Grenzen zwischen Grundlagenforschung und Angewandter Forschung fließend! Hervorzuheben ist, dass die geschilderten Arbeiten von der Forschung "im Labor" bis hin zu Firmengründungen führen. Dieser Schritt ist getragen von der Überzeugung, so auch der Grundton der Vorträge, dass die Forschung an unseren Universitäten eine Verantwortung trägt gegenüber der Gesellschaft, einen Auftrag nämlich, zur Innovation in unserem Land beizutragen. Der Band legt vor allem auch Studenten und jungen Lesern diesen Auftrag ans Herz.

Auch der nachfolgende fünfte und vorerst letzte Band der Reihe mit dem Titel "Vielfalt der Physik" wird noch einmal die Breite und Wandlungsfähigkeit der Physik an der Universität Heidelberg zum Ausdruck bringen. – Wie im Vorwort von Band 1 beschrieben, verfolgt die Buchreihe insgesamt den Zweck einer Dokumentation aus Leben und Geschichte der Heidelberger Fakultät für Physik und Astronomie. Diesem Ziel soll es auch dienen, dass die Vorträge zeitnah als Video abrufbar sein werden. Stichworte wie: Voller Name des Redners, ergänzt durch youtube oder durch heidlCON – werden den Interessenten dorthin führen.

Heidelberg, im Juni 2018

Die Herausgeber

Josef Bille



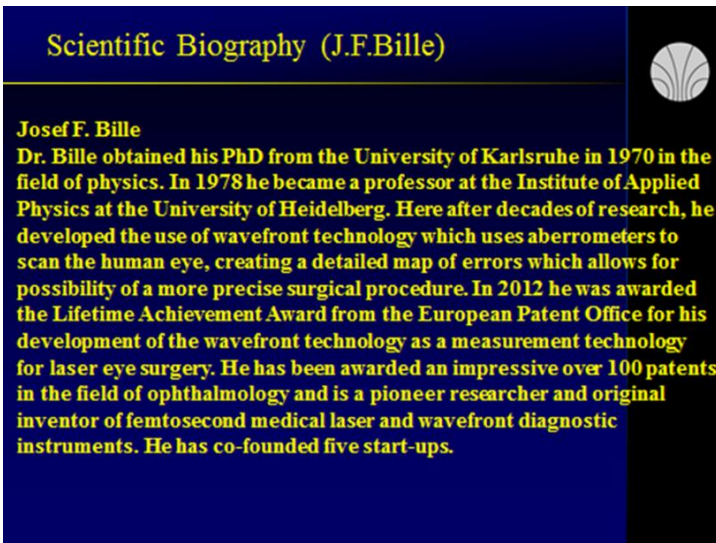
Josef Bille

Josef Bille wurde 1944 in Neuenkirchen (Westfalen) geboren. Nach dem Schulbesuch in Recklinghausen studierte er Physik in Karlsruhe. Nach seiner Promotion 1970 mit einer Arbeit zur Exzitonendiffusion in Halbleiterlasern forschte er zunächst weiter in Karlsruhe, wo er 1973 auch habilitiert wurde. Von 1974 bis 1978 beschäftigte er sich als wissenschaftlicher Mitarbeiter der Hoechst AG in Frankfurt/M mit Regelungsmechanismen, bevor er 1978 einem Ruf auf den Lehrstuhl für Angewandte Physik an der Universität Heidelberg folgte, wo er bis zu seiner Emeritierung im Jahre 2007 tätig war. Neben seiner Professur in Heidelberg richtete er an der Medizinischen Fakultät der Universität Mannheim, an der er kooptiert war, einen Masterstudiengang "Medical Physics and Biomedical Engineering" ein. Von 1986 bis 1991 war er gleichzeitig Gastprofessor an der University of California in San Diego. In Heidelberg arbeitete Bille – aufbauend auf seinen Erfahrungen in der Lasertechnik und mit Regelsystemen – insbesondere an Verfahren der adaptiven Optik, weitere Forschungsschwerpunkte sind in Abb. 5 zusammengefasst. Durch Billes Einführung der Wellenfrontmethoden und der adaptiven Optik in die Augenheilkunde entstand die LASIK-Therapie, der heute viele Millionen von Menschen ein wesentlich verbessertes Sehvermögen verdanken. Zur Anwendung seiner zahlreichen Patente auf diesem Gebiet gründete Bille in Deutschland und in den USA mehrere sehr erfolgreiche Start-Up-Unternehmen. Für sein Lebenswerk wurde Josef Bille 2012 vom European Patent Office mit dem Europäischen Erfinderprijs ausgezeichnet.

Josef Bille

Biomedizinische Optik

Bei diesem Vortrag wurden alle wichtigen Informationen auf Folien präsentiert. In dieser schriftlichen Fassung werden daher die wichtigsten dieser Folien wiedergegeben und jeweils mit Erläuterungen ergänzt.

A slide with a dark blue background and a black sidebar on the right. The title "Scientific Biography (J.F.Bille)" is in yellow text at the top left. The sidebar contains a white circular logo with a stylized wave pattern. The main text is in yellow and describes Dr. Bille's career and achievements.

Scientific Biography (J.F.Bille)

Josef F. Bille
Dr. Bille obtained his PhD from the University of Karlsruhe in 1970 in the field of physics. In 1978 he became a professor at the Institute of Applied Physics at the University of Heidelberg. Here after decades of research, he developed the use of wavefront technology which uses aberrometers to scan the human eye, creating a detailed map of errors which allows for possibility of a more precise surgical procedure. In 2012 he was awarded the Lifetime Achievement Award from the European Patent Office for his development of the wavefront technology as a measurement technology for laser eye surgery. He has been awarded an impressive over 100 patents in the field of ophthalmology and is a pioneer researcher and original inventor of femtosecond medical laser and wavefront diagnostic instruments. He has co-founded five start-ups.

Abb. 1. Wissenschaftlicher Lebenslauf (Zusammenfassung).

In Abb. 1 ist eine Zusammenfassung meines wissenschaftlichen Lebenslaufs wiedergegeben, die im Rahmen der Verleihung des Lifetime Achievement Award 2012 des European Patent Office erstellt wurde.

Tatsächlich habe ich viele Patente in den vergangenen vierzig Jahren machen können. Dafür war eine wesentliche Voraussetzung, dass ich während dieser Zeit einige Startups, drei in Heidelberg, zwei in den USA, – in der Regel mit ehemaligen Studenten – gestartet habe. Dadurch konnten wir Entwicklungen umsetzen, deren Grundlagen wir im Labor erarbeitet haben. Zum Zeitpunkt der Verleihung des Erfinderpreises im Jahre 2012 waren genau neunundachtzig internationale Patente erteilt. Damals gab es nur eine Firma in der Welt, nämlich die Firma Topcon in Japan, die ein Patent mehr hatte als ich persönlich, auf dem Gebiet der Laser-Ophthalmologie!

Frühe Arbeiten zu Halbleiterlasern

Der Laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) hat mein wissenschaftliches Leben bestimmt.

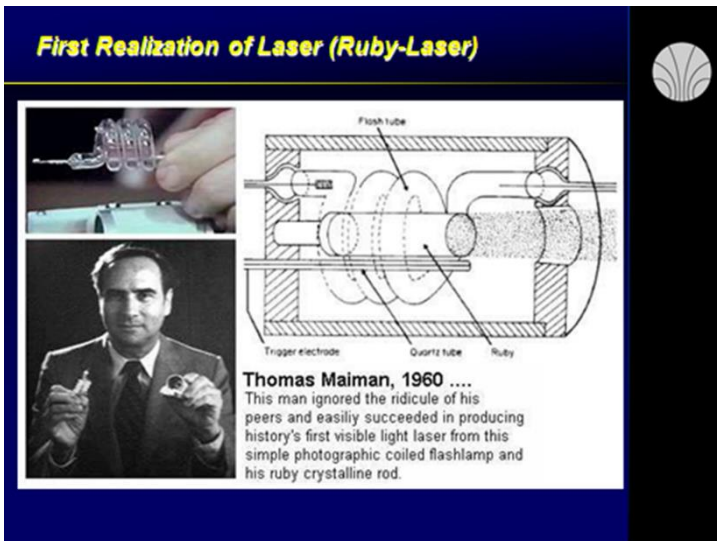


Abb. 2. Erste Realisierung eines Lasers (Rubin-Laser)).

In Abb. 2 ist der erste Laser wiedergegeben, der im Jahre 1960 von Theodore Maiman entwickelt wurde. Es war der Rubin-Laser, der aus einer fotografischen, wendelförmigen Blitzlampe und einem Rubinstab, der an den Enden verspiegelt war, aufgebaut war.

Wissenschaftliche Biographie (I) (J.F.Bille)



1962: Laser-Experimente/Schüler (HeNe-Laser)

1964: Beginn Physikstudium TH Karlsruhe (KIT)

1966: Diplom/Doktorarbeit IAP, TH Karlsruhe

1970: Promotion TH Karlsruhe, Dissertation:
 „Multimodeoscillation and Exciton Diffusion in
 CdS/CdSe -Semiconductor Lasers“(phys.stat.sol.*69)

1973: Habilitation TH Karlsruhe, Habilitationsschrift:
 „Properties of Highly Excited Semiconductors
 (Experimental Aspects)“ (Festkörperprobleme XIII, 1973)

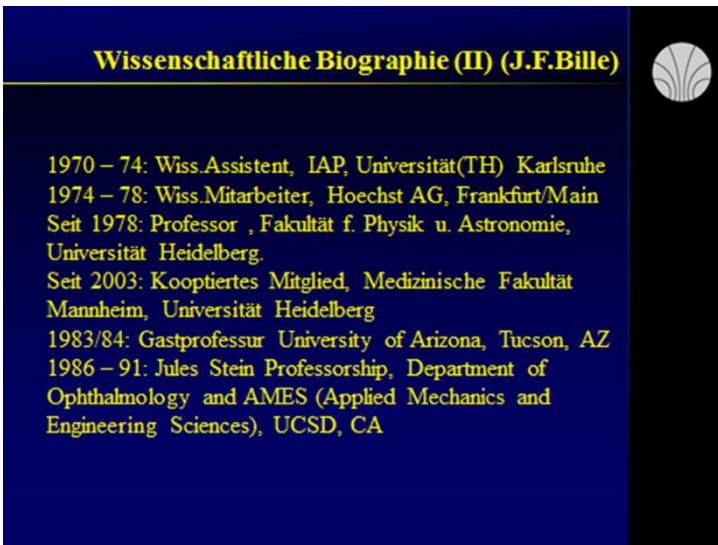
Abb. 3. Wissenschaftliche Biographie (I).

Ich hatte dann die Chance, Anfang der 60er Jahren in Karlsruhe selbst einen Rubinlaser zu bauen (siehe Abb. 3). Mit diesem Laser habe ich dann im Selbstbau später experimentiert. Tatsächlich war die Erfindung des Lasers ein Weckruf für mich. Als der Laser im Jahr 1960 entdeckt wurde, war ich noch Schüler; im Jahr 1962 habe ich angefangen, mit dem Helium-Neon Laser (HeNe Laser) in der gymnasialen Physiksammlung zu experimentieren. Der HeNe-Laser wurde 1962 von Ali Javan bei den Bell-Labs erfunden. Ich habe Ali Javan später bei Laser-Konferenzen oft getroffen. Sehr frühzeitig hatte die Firma Spindler&Hoyer, Göttingen, einen kleinen Labor-Laser für die Schulen gebaut. Da mein Vater

Physiklehrer war, konnte ich jeden Nachmittag in die Schule gehen und mit diesem neuartigen Laser und optischen Bauelementen experimentieren. Im letzten Teil meines Beitrags werde ich auf Grundlagenexperimente zur nach-operativen Feinjustierung von intraokulären Linsen (IOLs) nach Kataraktoperation eingehen, wobei auch heute noch die Beugungsbildgenerierung an optischen Gittern eine unserer besten Methoden ist, um Brechungsindex-Änderungen zu bestimmen; d.h. nach knapp 60 Jahren bin ich immer noch dem HeNe-Laser und den optischen Gittern verbunden geblieben.

In meiner Diplomarbeit am Institut für Angewandte Physik der Universität (TH) Karlsruhe habe ich neuartige Halbleiterlaser auf der Basis von CdS und CdSe Einkristallen, sowie CdS/Se Mischkristallen entwickelt. Prof. Ruppel, mein späterer Doktorvater, hatte mir schon direkt nach dem Vordiplom die Möglichkeit zu wissenschaftlich-experimenteller Arbeit gegeben. Aus der Diplomarbeit wurde zugleich eine Doktorarbeit, die in phys.stat.sol. im Jahre 1969 veröffentlicht wurde. Experimentell war diese Zeit die fruchtbarste Zeit in meinem Forscherleben, da ich vielfältige Ansätze selbst untersuchen durfte: Ich habe die Laser im Labor-masstab selbst gebaut, die Kristalle gezogen aus der Gasphase, die Kristalle entlang der Kristallflächen geschnitten, wodurch die Laser-Cavities gebildet wurden, eine 50 kV Elektronenkanone, wie sie früher in den Projektionsbeamern eingesetzt war, installiert, auf das Austrittsfenster der Elektronenkanone den Laser-Kristall aufgeklebt, und so seitlich mit dem Elektronenstrahl den Kristall zur Laseremission angeregt. Tatsächlich konnte ich erstmalig in der Welt Laseremission in solchen Kristallen erzielen und bezüglich des Laserprozesses untersuchen. Aus dem Modenverhalten der Laser ("Homogene Linienverbreiterung") konnte ich auf die Parameter der Exzitonendiffusion zurückschliessen. In den kommenden Jahren, 1970–1973, habe ich eine Forschungsgruppe aufgebaut, die sich mit den Themen Halbleiterlaser und Halbleiteroptik bei hoher Anregung befasste. 1973 konnte ich mit einer Arbeit über "Properties of highly excited semiconductors" habilitieren. Bei

dieser Arbeit, die in Festkörperproblemen XIII, 1973, erschienen ist, habe ich auch unsere Experimente mit Biexzitonen beschrieben. Wir hatten damals vermutet, dass Biexzitonen eine Bose-Einstein-Kondensation durchführen können. In späteren Jahren wurden entsprechende Ergebnisse gefunden, die Bose-Einstein Kondensationen an Gasen und Molekülen, und auch an Biexzitonen in direkten Halbleitern, wie z.B. CdSe, bewiesen haben. Damals, 1973, hat es niemand für möglich gehalten.



Wissenschaftliche Biographie (II) (J.F.Bille)

1970 – 74: Wiss.Assistent, IAP, Universität(TH) Karlsruhe
 1974 – 78: Wiss.Mitarbeiter, Hoechst AG, Frankfurt/Main
 Seit 1978: Professor, Fakultät f. Physik u. Astronomie, Universität Heidelberg.
 Seit 2003: Kooptiertes Mitglied, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg
 1983/84: Gastprofessur University of Arizona, Tucson, AZ
 1986 – 91: Jules Stein Professorship, Department of Ophthalmology and AMES (Applied Mechanics and Engineering Sciences), UCSD, CA

Abb. 4. Wissenschaftliche Biographie (II).

In Abb. 4 ist die weitere wissenschaftliche Entwicklung zusammengefasst. Von 1970 bis 1974 war ich Assistent in der Angewandten Physik an der Universität (TH) Karlsruhe, heute zu KIT (Karlsruher Institut für Technologie) umbenannt. Dann war ich vier Jahre bei der Hoechst AG in Frankfurt in der Regel-Systemtechnik tätig, habe komplexe Regelungs-Mechanismen entwickelt, auch Prozessrechner und Anlagenautomatisierung, und dann bin ich in die

Physik zurückgegangen, und bin seit 1978 auf den Lehrstuhl für Angewandte Physik an der Universität Heidelberg berufen worden. Seit 2003 bin ich kooptiertes Mitglied in der Medizinischen Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, wo ich den Master-Studiengang "Medical Physics and Biomedical Engineering", zusammen mit der Klinik für Strahlenonkologie (Direktor: Prof. Dr. Frederik Wenz) aufgebaut habe. In dieser Zeit habe ich längere Forschungsaufenthalte in den USA durchgeführt. 1983/1984 hatte ich eine Gastprofessur am Optical Science Center der University of Arizona, in Tucson. Von 1986 bis 1991 hatte ich eine Stiftungsprofessur bei UCSD, San Diego, CA, parallel zu meiner Tätigkeit in Heidelberg. Ich war jeweils ein halbes Jahr in den USA im Rahmen einer Jules Stein-Professorship an der Universität von Kalifornien (UCSD, Ophthalmology/AMES (Applied Mechanics and Engineering Sciences)) und in der anderen Zeit in Heidelberg tätig.

Adaptive Optik und ihre Anwendung in der Augenheilkunde

So habe ich im Laufe von 50 Jahren viele Forschungsgebiete bearbeitet (siehe Abb. 5). Die ersten sieben Jahre meines wissenschaftlichen Lebens habe ich den Halbleiterlasern gewidmet. Dabei habe ich auch damit begonnen, Ultrakurzpulslaser zu entwickeln, die wir damals zur Spektroskopie an Halbleitern eingesetzt haben, um Halbleiteroptik mit – damals – Picosekunden-Lasern zu untersuchen. Seit meiner Berufung nach Heidelberg, habe ich meine Erfahrungen in der Optik und Lasertechnik aus meiner Karlsruher Zeit und die Kenntnisse auf dem Gebiet der Regelsystemtechnik aus meiner Frankfurter Zeit bei der Hoechst AG zusammengebracht und so das Forschungsgebiet der adaptiven Optik mitbegründet. Dabei geht es um die Anwendung geschlossener Regelsysteme, um die optische Abbildung zu optimieren, woraus die Wellenfronttechnologie entstanden ist, insbesondere deren Anwendung in der Augenheilkunde. Gleichzeitig habe ich die Laserscanning-Ophthalmoskopie entwickelt, hier in Heidelberg ab 1978.



Wissenschaftliche Biographie (III) (J.F.Bille)

Forschungsschwerpunkte:

- **HalbleiterLaser, Ultrakurzpulslaser**
- **Adaptive Optik, Wellenfronttechnologie**
- **Laser-Scanning Ophthalmoskopie**
- **Femtosekundenlaser in der Diagnostik
und Therapie (Augenheilkunde, Neuro-
chirurgie, Orthopädie, Zahnheilkunde)**

Abb. 5. Wissenschaftliche Biographie (III).

Diese Entwicklungen haben mich sehr eng mit Hermann von Helmholtz verknüpft. Hermann von Helmholtz hat das erste Ophthalmoskop im Jahre 1851 beschrieben und während seiner Heidelberger Zeit als Professor für Physiologie der Universität Heidelberg (1858–1878) zur Untersuchung des menschlichen visuellen Systems eingesetzt. Ausserdem habe ich mich mit der Entwicklung von Femtosekundenlasern befasst. Auf Grundlage dieser Entwicklungen konnte ich neue Verfahren in der medizinischen Diagnostik und Therapie initiieren, hauptsächlich in der Augenheilkunde, aber auch in der Neurochirurgie, in Zusammenarbeit mit der Stereotaktischen Neurochirurgie der Universität Köln, und der Orthopädie, in Zusammenarbeit mit der Orthopädischen Klinik, Schlierbach, und der Zahnheilkunde. Dabei haben wir u.a. mit der Zahnklinik der Universität Heidelberg einen "schmerzlosen" Bohrer mit Femtosekundenlaser entwickelt, der allerdings nie zur Serienreife gekommen ist.

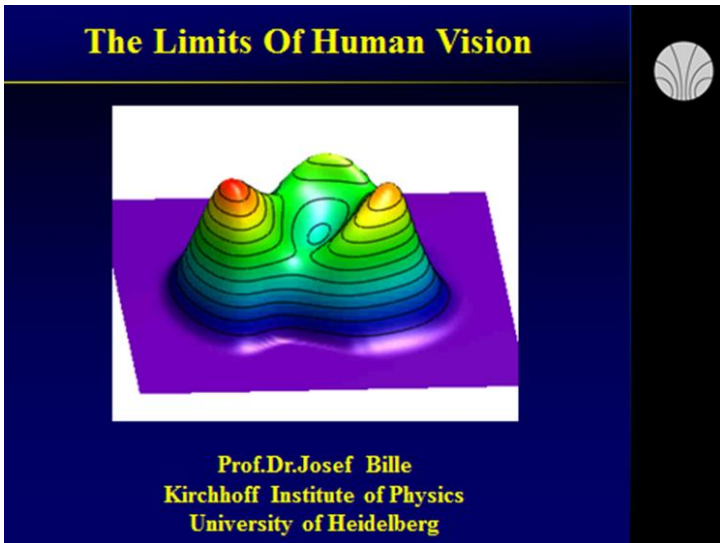


Abb. 6. Die Grenzen des Menschlichen Sehens.

Den Schwerpunkt meiner Arbeiten in den letzten 40 Jahren kann man unter dem Motto "The Limits of Human Vision", beschreiben, ein Thema, das mich noch heute beschäftigt (siehe Abb. 6). Vor fünf Jahren war die 100-Jahrfeier der Optical Society of America (OSA) in Tucson; dort habe ich einen eingeladenen Vortrag über dieses Thema gehalten. Seit hundert Jahren befassen sich die Physiker mit der visuellen Optik ("Visual Optics"). In Abb. 6 ist die Wellenfront eines menschlichen Auges in pseudo-dreidimensionaler Abbildung in Form eines Höhengichtlinienbild dargestellt. Von einer Höhengichtlinie zur nächsten ändert sich die Wellenfront um $\lambda/10$. Die dargestellte Wellenfront ist unterschiedlich gegenüber einer ebenen Wellenfront; dabei handelt es sich um typische Effekte, die in ähnlicher Form in nahezu jedem menschlichen Auge auftreten. In Abb. 6 sind die höheren Ordnungen der Aberrationen in Farbcodierung dargestellt, jenseits von Defokus und Astigmatismus. Die elementaren Aberrationen

zweiter Ordnung, Defokus und Astigmatismus, die z.B. mit Brillengläsern korrigiert werden können, sind von der Wellenfront abgezogen; die übrigen Aberrationen höherer Ordnung sind in Farbe kodiert. Man erkennt etwa zehn Ringe, das ist eine Wellenlänge, entsprechend ein halbes Mikrometer Wellenfrontamplitude. Ein halbes Mikrometer erscheint wenig; höhere Aberrationen dieser Größenordnung haben aber extreme Auswirkungen auf das Kontrastsehen. Es macht einen Faktor zehn im Kontrastsehen aus, wenn Wellenfrontaberrationen dieser Größenordnung vorliegen, und nicht kompensiert werden.

Typisch ist auch die Dreizähligkeit der höheren Aberrationen des menschlichen Auges. Die dreizählige Symmetrie hängt mit der Aufhängung unserer menschlichen Linse zusammen. Die menschliche Linse ist an drei Fäden, sogenannten Zonula-Fasern, im Vorderabschnitt des Auges aufgehängt; an den Aufhängungsstellen wird die Linse etwas verspannt und darum ändert sich die Wellenfront entsprechend. Der optische Weg ändert sich an diesen drei Stellen. Die Messung der Wellenfront im menschlichen Auge In-Vivo zu bewerkstelligen, um eine höchstauflösende Darstellung für die Augendiagnostik zu gewinnen und die Wellenfront lasertechnisch zu kompensieren, d.h. "Optisch Perfektes Sehen", wie wir das nennen, zu erzeugen, war der wesentliche Inhalt meiner Forschungen in den letzten 40 Jahren.

In Abb. 7 ist das Prinzip der adaptiv-optischen Messtechnik ("Principle of adaptive optics") veranschaulicht. In der adaptiven Optik geht es darum, dass bei einer optischen Abbildung eine Wellenfrontverzerrung auftritt, die gemessen und im geschlossenen Regelkreis kompensiert werden kann. Wellenfrontverzerrungen können bei einem selbstleuchtenden Objekt, zum Beispiel bei einem Stern bei der Propagation durch die Atmosphäre, oder bei einem optischen System, wie z.B. dem menschlichen Auge, durch die optischen Aberrationen in den Medien auftreten. Der adaptiv-optische Regelkreis enthält ein aktives Element ("Wavefront regulation"), z.B. einen deformierbaren Spiegel ("Deformable

mirror"), mit dem die Wellenfront entzerrt und zu einer idealen ebenen Welle geformt wird, so dass ein ideales Bild entsteht.

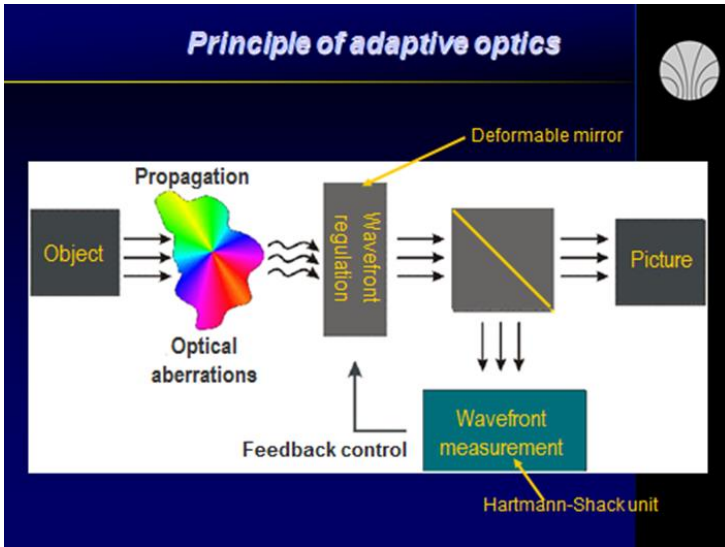


Abb. 7. Prinzip der Adaptiven Optik.

Natürlich muss man zunächst die Wellenfront präzise messen. Das hauptsächlich verwendete Messinstrument ist der Hartmann-Shack-Sensor (HSS), den wir erstmals zur retinalen Bildgewinnung am menschlichen Auge angewendet haben. Die Wellenfront-Information ("Wavefront measurement") wird zur Ansteuerung des deformierbaren Spiegels eingekoppelt ("Feedback control"). Nach mehreren Iterationen im geschlossenen Regelkreis resultiert ein optimales Bild. Bildverbesserung mittels Verfahren der adaptiven Optik wurde zunächst in der Astronomie angewendet. Daher haben wir auch zuerst versucht, eine adaptiv-optische Kamera an ein Teleskop der Sternwarte am Königstuhl anzubauen. Im Jahre 1979 haben wir Messungen durchgeführt, wobei wir den Sirius als Leitstern verwendeten. Dann habe ich ab 1979 die

adaptiv-optische Abbildungstechnik in die Augenheilkunde eingeführt, etwa zehn Jahre bevor andere Forscher diese Technologie aufgegriffen haben. Erst spät sind amerikanische Forschungsgruppen, die heute das Gebiet dominieren, eingestiegen, gefördert durch Entwicklungshilfe über meine Studenten, die ich nach Amerika geschickt habe.

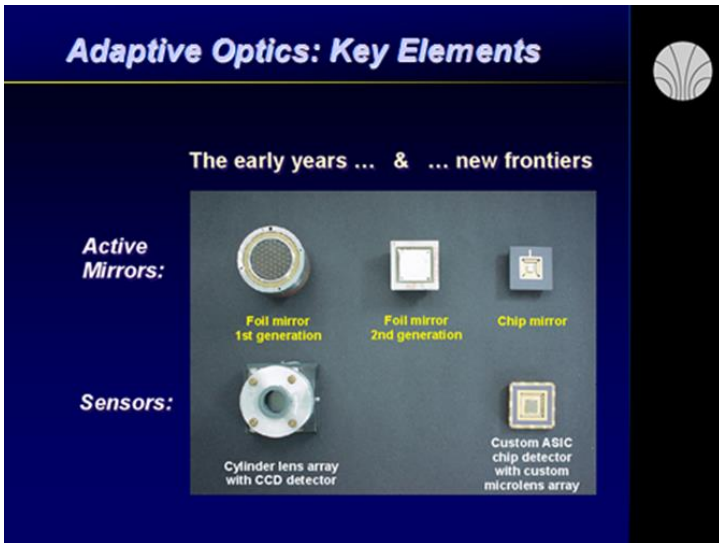


Abb. 8. Adaptive Optik: Komponenten.

In Abb. 8 sind die Komponenten eines adaptiv-optischen Systems abgebildet, die im Laufe von zwanzig Jahren (1979–1999) im Wesentlichen in den Labors und Werkstätten des Instituts für Angewandte Physik entstanden sind. Später wurden die Chip-Spiegel ("Chip mirror") bei 20/10 Perfect Vision, GmbH, Heidelberg in Zusammenarbeit mit dem Dresdener Fraunhofer-Institut für Mikrosysteme entwickelt. Zur Vermessung der Wellenfront wurde im ASIC-Labor des Kirchhoff Instituts (KIP) ein spezielles ASIC-Chip ("Custom ASIC") entwickelt.

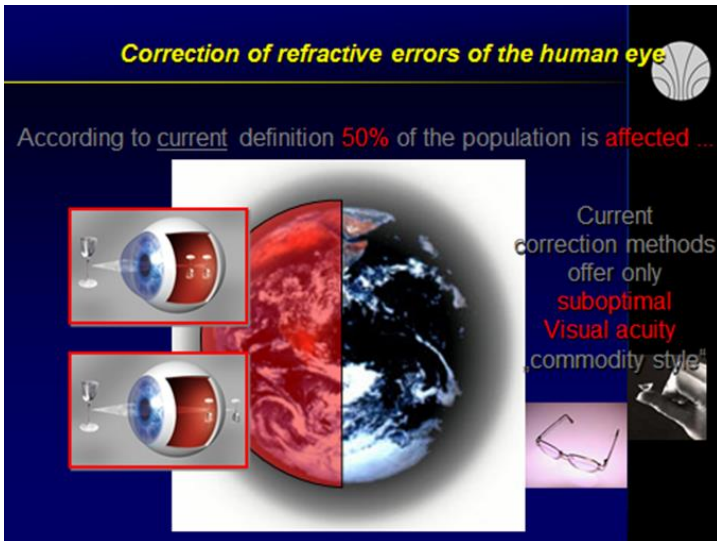



Abb. 9. Korrektur der Brechungsfehler des Menschlichen Auges.

In Abb. 9 ist eine Übersicht über Sehfehler und ihre Korrektur veranschaulicht. Gemäss der Definition der Fehlsichtigkeit – etwa im Jahre 1990 – ist die Hälfte der Weltbevölkerung mit Kurzsichtigkeit oder Weitsichtigkeit betroffen. Kurzsichtigkeit und Weitsichtigkeit kann in der Regel gut mit Brillengläsern oder Kontaktlinsen korrigiert werden. Allerdings selbst diese Elemente bringen nur eine suboptimale Sehschärfe ("Visual acuity"), weil sie die höheren Ordnungen der optischen Aberrationen des menschlichen Auges vernachlässigen. Die höheren Ordnungen der optischen Aberrationen des menschlichen Auges konnten früher, also vor etwa 1990, nicht gemessen werden. Vor 20 Jahren haben wir das technisch eingeführt, dass man präzise Wellenfront-Messungen am lebenden Auge ("In Vivo") routinemässig durchführen und damit auch die Grundlage für eine bessere Korrektur legen kann.

Optical Quality of the Human Eye(I)

Hermann von Helmholtz, 1821-1894
Professor of Physiology in Heidelberg (1858-1870)



**„If somebody offered me
an optical device with all these flaws,
I would reject the offer out of hand.“**

**Hermann von Helmholtz on the human eye.
Heidelberg, 1859**

Abb. 10. Optische Qualität des Menschlichen Auges (I).

Wie anfangs erwähnt, der Bezugspunkt für meine Arbeiten in der Ophthalmologie ist Hermann von Helmholtz, der das indirekte Ophthalmoskop entwickelt und den Augenmedizinern zur Verfügung gestellt hat. Er hat als erster in den 50er Jahren des neunzehnten Jahrhunderts ein optisches Gerät entwickelt, in dem Beleuchtung und Detektion räumlich getrennt sind. Durch die Trennung von Eintritts- und Austrittspupille kann man ein kontrastreiches Abbild der Netzhaut erzielen. Über mehr als hundert Jahre war das indirekte Ophthalmoskop nach Helmholtz Stand der Technik. Ab den 70er Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts haben wir dann in Heidelberg die Laser-Scanning Ophthalmoskopie entwickelt, die erstmals eine elektronische Bildgewinnung der retinale Abbildung ermöglichte. Hermann von Helmholtz hatte bereits die Grenzen der optischen Qualität des menschlichen Auges beschrieben: "If somebody offered me an optical device with all these flaws, I would reject the offer out

of hand" (siehe Abb. 10). Der Originaltext von Hermann von Helmholtz war: "Wollte mir jemand ein optische Gerät mit all diesen Defekten verkaufen, würde ich es in aller Deutlichkeit zurückweisen" (siehe auch Abb. 11).

Optical Quality of the Human Eye(II)

Hermann von Helmholtz, 1821-1894
Professor für Physiologie in Heidelberg (1858-1870)

"Wollte mir jemand ein optisches Gerät mit all diesen Defekten verkaufen, würde ich es in aller Deutlichkeit zurückweisen." (1859)

"Das Auge zeigt jeden Defekt, der in einem optischen Instrument gefunden werden kann und zudem noch einige dem Auge eigentümliche. Aber diese wirken einander so entgegen, dass die Ungenauigkeiten des Bildes, die sie verursachen, unter normalen Beleuchtungsbedingungen kaum die Grenzen erreichen, die dem Sinneseindruck des Sehens durch die Dimensionen der retinalen Rezeptoren gesetzt sind." (1862)

Abb. 11. Optische Qualität des Menschlichen Auges (II).

Hermann von Helmholtz hat seine Forschungsergebnisse während seiner Zeit als Professor für Physiologie in Heidelberg weiter präzisiert (1862): "Das Auge zeigt jeden Defekt der in einen optischen Instrument gefunden werden kann und zudem noch einige dem Auge eigentümliche. Aber diese wirken einander so entgegen, dass die Ungenauigkeiten des Bildes, die sie verursachen, unter normalen Beleuchtungsbedingungen kaum die Grenzen erreichen, die dem Sinneseindruck des Sehens durch die Dimensionen der retinalen Rezeptoren gesetzt sind" (siehe Abb. 11). Herman von Helmholtz sagt also, dass es in der Hauptsache um die optischen Aberrationen der Hornhaut und der Linse geht, die sich

zum grossen Teil in der Peripherie des Auges kompensieren. Die Evolution hat damit weitgehend die optische Abbildung des menschlichen Auges optimiert, bis auf die höheren Ordnungen der optischen Aberrationen, die wir später genauer besprechen werden. Hermann von Helmholtz hat aufgrund physiologischer Untersuchungen damals bereits erkannt, dass der Sinneseindruck durch die Grösse der Rezeptoren, und wie wir heute wissen, von der neuronalen Nachverarbeitung in der Netzhaut bestimmt wird.



Abb. 12. Erfinder Medizinischer Geräte.

Medtec China hat 2016 eine Aufstellung der "most important inventors of medical devices of all time" herausgegeben (siehe Abb. 12). An vierter Stelle in der Liste ist Hermann von Helmholtz ("Ophthalmoscope") aufgeführt, für die Erfindung des Indirekten Ophthalmoskops. An fünfter Stelle steht Wilhelm Röntgen, 1845–1923 ("Medical X-rays"). Es gibt nur noch einen dritten Deutschen in der Liste: Josef Bille ("Laser Eye Correction"). Auf dem Gebiet

der Augenkorrektur mit Lasern sind noch zwei amerikanische Kollegen aufgeführt, J. Wynne und R. Srinivasan von Bell Labs, die als erste mit dem Excimer-Laser biologisches Material ablatiert und damit die Grundlage für die LASIK-Augenkorrektur, die ich später beschreiben werde, gelegt haben. Damit habe ich im Nachhinein eine gewisse Rechtfertigung bekommen, dass ich seit vierzig Jahren Hermann von Helmholtz in meinen Vorträgen als einen meiner Wegbereiter auf dem Gebiet der Augendiagnostik anführe.

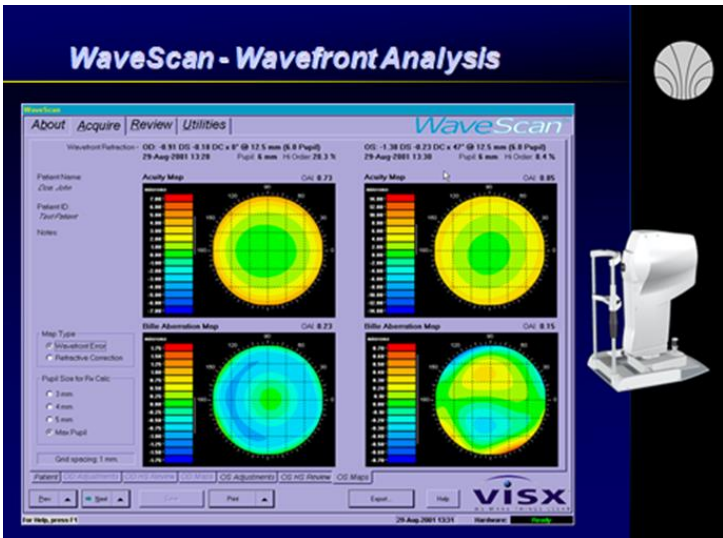


Abb. 13. Wellenfront Messung im Menschlichen Auge (WaveScan).

In Jahre 1999 wurde das erste kommerzielle Wellenfrontmessgerät bei 20/10 Perfect Vision, GmbH, Heidelberg, fertiggestellt ("WaveScan", siehe Abb. 13). Damit war der Übergang von Laborgeräten zur ophthalmologischen Anwendung am Patienten geschafft. Dazu haben wir zwanzig Jahre intensiver Grundlagenforschung am Institut für Angewandte Physik der Universität Heidelberg (1979–1999) benötigt.

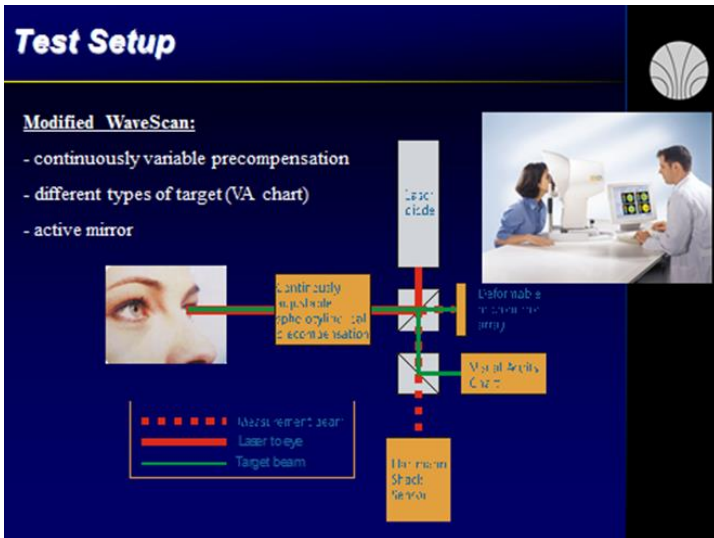


Abb. 14. Adaptiv-optischer Wellenfrontsensor.

In Abb. 14 ist ein adaptiv-optischer Wellenfrontsensor abgebildet, mit dem erstmals klinische Untersuchungen auf der Basis der adaptiven Optik ermöglicht wurden. Im Jahre 2000 haben wir die ersten sechzig Augen in einer Klinik in der Nähe von Würzburg mit diesem Gerät untersucht und die Auswirkung der Wellenfrontkompensation auf die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Messung bestimmt. Durch die Kompensation wurden die Aberrationen höherer Ordnung von $0,3 \mu\text{m}$ auf etwa $0,1 \mu\text{m}$ reduziert. Die Messgrenze des Geräts ist kleiner als $0,1 \mu\text{m}$, d.h. hinsichtlich der Länge des Auges von ca. 20 mm, entsprechend einer Messgenauigkeit von 10^{-5} , am lebenden Auge. Als wesentliches Ergebnis der Pilotstudie konnten wir feststellen, dass etwa die Hälfte aller Menschen einen Anteil von etwa $0,3 \mu\text{m}$ an höheren Ordnungen der optischen Aberrationen aufweist, die eine Rolle für die Sehschärfe spielen und normalerweise nicht kompensiert werden. Dabei sind die Aberrationen dritter und vierter Ordnung, das sind

Koma und sphärische Aberration, besonders wichtig. Welche Folgen hat das für das menschliche Sehen?

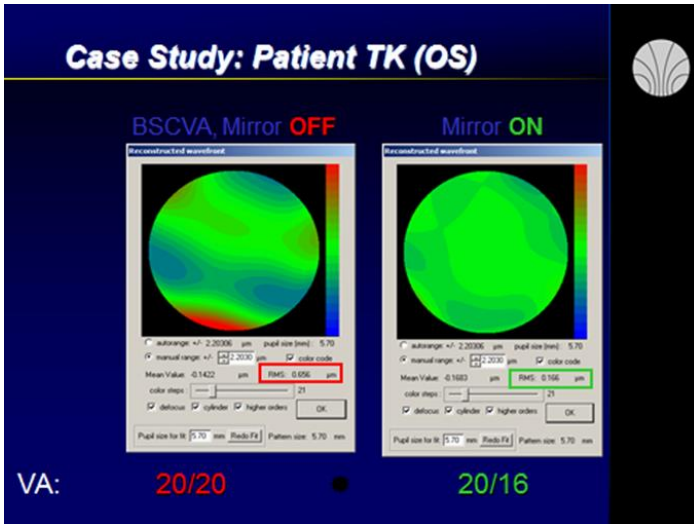


Abb. 15. Fallstudie, Proband TK(OS).

In Abb.15 sind Ergebnisse von Wellenfrontmessungen am linken Auge (OS: "Oculus Sinistrus", linkes Auge) des Probanden TK (OS) wiedergegeben. Es liegt ein kleiner Betrag von Koma, einer optischen Aberration dritter Ordnung, vor. Der Root-Mean-Square(RMS)-Fehler der Wellenfront, d.h. die mittlere quadratische Abweichung, bei diesem Auge beträgt 0,65 µm. Etwa 20 Prozent der menschlichen Augen besitzen einen derartigen RMS-Fehler. Bei älteren Menschen ist natürlich der Anteil höher, gemessen bei einer Pupille von 5,7 mm Durchmesser. Nach Einschalten des Mikrospiegels, also mit der adaptiven optischen Korrektur, kann der RMS-Fehler auf 0,166 µm reduziert werden, das entspricht etwa $\lambda/5$. Zugleich sieht der Proband auch besser. Von einer Sehschärfe von 20/20, das ist der normale Visus, entsprechend 1,0, verbessert sich der Visus um eine Linie, d.h. der Proband kann eine feinere

Linie, die 20/16-Linie, auf der eingblendeten Sehtafel erkennen. Die Bezeichnungen 20/20 und 20/16 stammen aus der amerikanischen Nomenklatur; 20/20 entspricht einem Visus von 1,0, 20/16 entspricht einem Visus von 1,25.

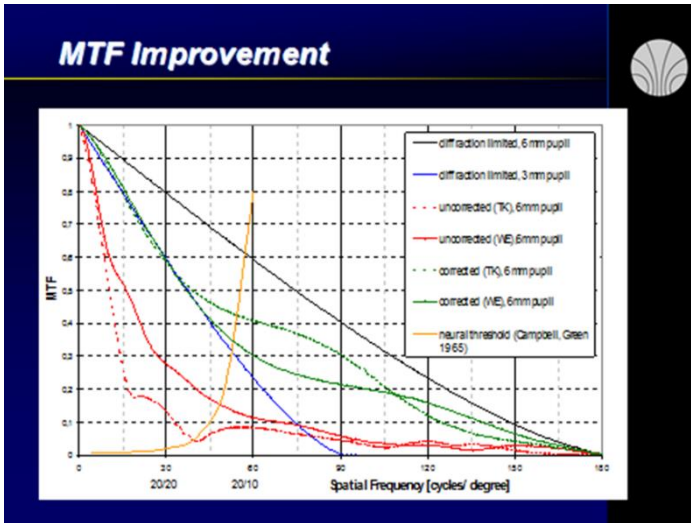


Abb. 16. Verbesserung der Sehschärfe (MTF).

In Abb. 16 sind die Ergebnisse von zwanzig Jahren Forschung – von 1978 bis 1998 – bezüglich der Grenzen des menschlichen Sehens veranschaulicht. Aus der Auftragung der optischen Modulationstransfer-Funktion (MTF) in Abhängigkeit von der Ortsfrequenz, gemessen in Linienpaaren/Grad (Schwinkel), lassen sich Rückschlüsse auf die optische Qualität des menschlichen Auges und die Grenzen des menschlichen Sehens ziehen. In der MTF-Kurve entspricht die Ortsfrequenz von 30 Linienpaaren/Grad ("cycles per degree") einer Sehschärfe von 20/20, entsprechend einem Visus von 1,0; dabei entspricht die kleinste auflösbare Struktur einem Sehwinkel von einer Bogenminute. Eine halbe Bogenminute entspricht einer Sehschärfe von 20/10, entsprechend

einer Ortsfrequenz von 60 Linienpaaren/Grad ("60 cycles per degree"). Als Grenzkurven sind die beugungsbegrenzten Modulations-Transfer-Funktionen (MTF) für eine 3mm Pupille und eine 6mm Pupille eingezeichnet.

Die in roter Farbe strichlinierte Kurve entspricht der MTF des linken Auges des Probanden TK(OS), unkompensiert. Bei 6-mm-Pupille hat der Proband TK(OS) bei der Ortsfrequenz 30 Linienpaare/Grad, entsprechend einer Sehschärfe von 20/40, oder einem Visus von 0,5, eine MTF von 0,2. Man muss etwas mehr als 10% Kontrast haben, um eine Ortsfrequenz noch sehen zu können. Nach adaptiv-optischer Kompensation ergibt sich die grüne gestrichelte Kurve als MTF, mit einer Verbesserung des Bildkontrasts bei 30 Linienpaaren/Grad um einen Faktor fünf. Wie früher beschrieben (siehe Abb. 15), hat sich für den Probanden TK(OS) die Sehschärfe mit adaptiv-optischer Kompensation auf 20/16, entsprechend einem Visus von 1,25, verbessert. Bei Proband WE (rote durchgezogene Kurve) liegen nur mässige Aberrationen vor; die adaptiv-optische Korrektur führt zu einer beachtlichen Steigerung der MTF, so dass ein Wert von $MTF = 0,1$ noch bei 120 Linienpaaren/Grad vorliegt, entsprechend einer Sehschärfe von 20/5, oder einem Visus von 4,0; das wäre also um vierfach überhöhtes Sehen, das allerdings nicht vorkommt. Menschen weisen maximal einen Visus von 2,0 auf. Das hängt mit dem neuronalen Schwellwert der Sehschärfe zusammen. Campbell und Green haben 1965 eine wichtige Arbeit zur neuronalen Grenze des menschlichen Sehens veröffentlicht. Die Grenze hängt mit der Grösse der retinalen Rezeptoren zusammen. In der Fovea der menschlichen Netzhaut haben die Sehzäpfchen kleinste Dimensionen von etwa $2,2 \mu\text{m}$ Durchmesser, entsprechend einem Sehwinkel von einer halben Bogenminute. Das entspricht einer Sehschärfe von 20/10, oder einem Visus von 2,0. An der Grenze fällt die laterale Inhibition in der neuronalen Netzhaut weg, d.h. die neuronale Vorverarbeitung der Sehfunktion wird unwirksam. Eine individuelle neuronale Schwellwertkurve ist in gelber Farbe in Abb. 16 eingezeichnet. Entsprechend dieser Charakteristik wäre ein Kontrast

von 0,8 erforderlich, um eine Sehschärfe von 20/10 zu erreichen. Dieser Wert liegt aber oberhalb der beugungsbegrenzten Kurve. Daraus folgt, dass die Verbesserung der Sehschärfe durch adaptiv-optische Kompensation der optischen Aberrationen des menschlichen Auges letztendlich von der individuellen neuronalen Schwellwertkurve abhängt. Unsere Untersuchungen haben ergeben, dass die neuronale Schwellwertkurve durch längere Adaption in einem Lernprozess deutlich verbessert werden kann.

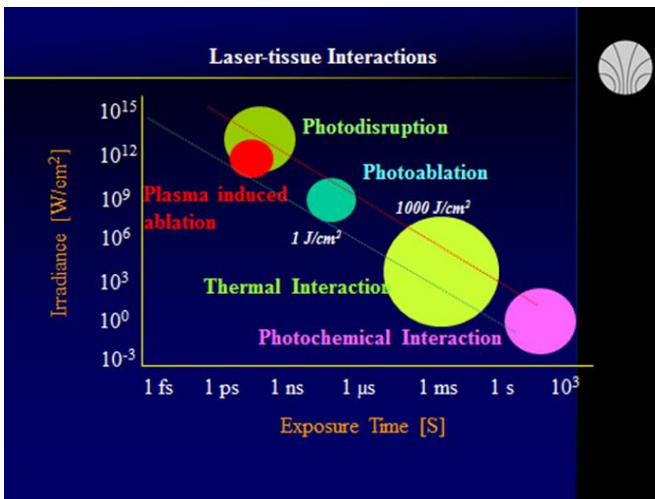


Abb. 17. Laser-Gewebe Wechselwirkungen.

In Abb. 17 sind die Laser-Gewebe Wechselwirkungen in Abhängigkeit von der Pulslänge des chirurgischen Lasers dargestellt. An diesem Schaubild, das ich seit vierzig Jahren in der Vorlesung "Biomedizinische Optik" gezeigt habe, haben wir viele Jahre gearbeitet, seit meiner Berufung nach Heidelberg im Jahre 1978. Einige wesentliche Bestandteile dieser Darstellung haben wir an unserem Institut entwickelt. Für den Zusammenhang zwischen Bestrahlungsstärke und Wechselwirkungszeit ergibt sich, dass alle unterschiedlichen Wechselwirkungsprozesse im Bereich von

Bestrahlungsdosen von 1 J/cm^2 und 1000 J/cm^2 therapeutisch oder chirurgisch wirksam werden. Die photochemische Wechselwirkung, die die photodynamische Therapie einschliesst, erfolgt bei kleinen Bestrahlungsstärken und langen Wechselwirkungszeiten und beruht auf einem photochemischen Prozess. Die photodynamischen Therapie wird z.B. in der palliativen Krebsbehandlung, sowie in der Netzhautbestrahlung bei altersbedingter Makuladegeneration (AMD) verwendet. Die thermische Wechselwirkung umfasst z.B. die Abtragung von Gewebe, im wesentlichen mit chirurgischen CO_2 -Lasern. Die Photoablation, bei der ein Excimer-Laser, z.B. der ArF-Laser, zum Einsatz kommt, wird bei der Augenkorrektur mit dem LASIK-Verfahren verwendet. Die Photodisruption, bei der sehr kurze Femtosekunden-Laserpulse benutzt werden, trägt Gewebe mittels Erzeugung eines Plasmas ab. Die verschiedenen Wechselwirkungsprozesse haben wir in Heidelberg in verschiedenen Disziplinen der Medizin eingesetzt, mit besonderem Schwerpunkt in der Augenchirurgie.

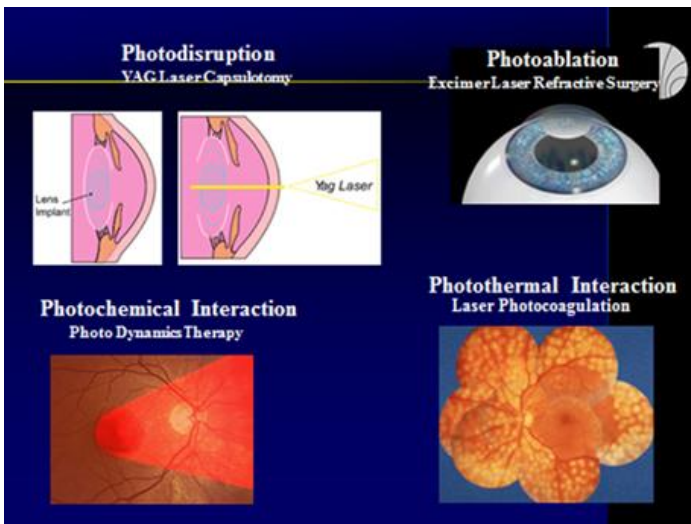


Abb. 18. Laserchirurgie am Menschlichen Auge.

In Abb. 18 sind die wichtigsten Anwendungen des Lasers in der Augenheilkunde veranschaulicht. Die Photodisruption wird bei der Nach-Star-Behandlung nach Kataraktoperation verwendet. Wenn sich nach der Kataraktoperation eine Membran auf der hinteren Linsenkapsel bildet, die undurchlässig wird, dann kann man die Membran mit wenigen Pulsen eines gütegeschalteten Nd:YAG-Lasers in wenigen Sekunden durchschneiden und die volle Sehleistung wiederherstellen. Die photochemische Wechselwirkung kommt bei der Behandlung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) zum Einsatz. Die Laser-Photokoagulation wird bei diabetischer Retinopathie angewendet, wobei die Netzhaut in der Peripherie grossflächig koaguliert wird, um die Blutversorgung in der Makula für das scharfe Sehen zu erhalten.



Abb. 19. Personalisierte Laser-Augenkorrektur.

In Abb. 19 ist die Methode der personalisierten Laser-Augenkorrektur veranschaulicht. Dieses Verfahren haben wir, sozusagen, aus Heidelberg vor zwanzig Jahren in die ganze Welt getragen.

Es ist uns gelungen, die Wellenfrontmesstechnik mit der therapeutischen Lasertechnik zusammenzubringen. Die erste Studie haben wir im Jahre 2000 mit der Augenpraxisklinik, Heidelberg, durchgeführt. Wir haben demonstriert, dass man die Wellenfront messen und die Korrektur jetzt an der Hornhaut über die Hornhautkorrektur gemäss der Wellenfront durchführen kann. Das Ergebnis der Wellenfrontmessung wird automatisch auf den Excimer-Laser übertragen. Bei der LASIK-Prozedur (LASIK: Laser Assisted In-Situ Keratomileusis) wird zunächst eine dünne Hornhaut-Scheibe ("LASIK-Flap") geschnitten und aufgeklappt und dann Hornhautgewebe mit dem Excimerlaser abgetragen, um eine optische Linse in der Hornhaut zu modellieren. Der LASIK-Flap wird entweder mit einem automatisierten Messer ("Mikrokeratom") oder – meistens – mit einem Femtosekundenlaser erzeugt. Die Laserkorrektur erfolgt mit einer Geschwindigkeit von etwa einer Sekunde pro Dioptrie. Seit unserer Pilotstudie mit der Augenpraxisklinik Heidelberg im Jahre 2000 gibt es die wellenfrontgeführte Laser-Augenkorrektur. Die weltweit ersten fünfzig wellenfrontgeführten Operationen wurden an der Augenpraxisklinik Heidelberg durchgeführt. Anschliessend wurden fünfhundert Behandlungen in den USA in einer FDA-Studie vorgenommen. Es wurden fünfhundert Patienten in fünf Augenzentren in den USA jeweils an einem Auge mit der wellenfrontgeführten LASIK-Prozedur und am anderen Auge mit der konventionellen LASIK behandelt.

In Abb. 20 sind die Resultate der FDA-Studie zusammengestellt. Die Ergebnisse zur wellenfrontgeführten LASIK-Prozedur sind über die vergangenen dreissig Jahre auf der Basis von vielen Millionen Operationen bestätigt worden. Es werden im Jahr etwa 6 Millionen Prozeduren weltweit durchgeführt; daher sind rund 100 Millionen Prozeduren in den vergangenen zwanzig Jahren durchgeführt worden; dabei ist die Statistik ungefähr gleich geblieben. Die Ergebnisse sind in den letzten Jahren sogar verbessert worden, weil die diagnostischen Geräte und chirurgischen Laser weiterentwickelt wurden.



Abb. 20. Verbesserung der Sehschärfe mit personalisierter Laser-Augenkorrektur.

Die blauen Balken des Balkendiagramms bezeichnen die Sehschärfe der Patienten vor der Operation (BSCVA: "best spectacle corrected visual acuity", siehe Abb. 20). Aus der Studien-Gruppe von fünf-hundert Patienten besaßen 100% eine Sehschärfe von 20/20, also einen Visus von 1,0. 59% der Patienten besaßen eine Sehschärfe von 20/16, also einen Visus von 1,25, und 6% besaßen eine Sehschärfe von 20/12,5, also einen Visus von 1,6. Alle Patienten wurden mit dem wellenfrontgeführten LASIK-Verfahren behandelt, i.e. einer Prozedur von ca. 20 Sekunden Dauer. Die grünen Balken des Balkendiagramms bezeichnen die Sehschärfe der Patienten nach der Behandlung (UCVA: "uncorrected visual acuity", siehe Abb. 20). Nach der Behandlung hatten nach wie vor, und das war wichtig, 100% der Patienten eine Sehschärfe von 20/20, die Zahl der Patienten mit einer Sehschärfe von 20/16 erhöhte sich auf 74%, und die Zahl der Patienten mit einer Sehschärfe von

20/12,5 – entsprechend der Grenze des physiologisch Möglichen (siehe auch die frühere Abb. 16 auf S. 25) –, hat sich auf 32% erhöht, d.h. einhundertfünfzig Patienten aus der Studien-Gruppe von fünfhundert Patienten haben optisch perfektes Sehen erreicht.

Neue Ansätze und Methoden

In Abb. 21 ist eine neuere Anwendung des Femtosekundenlasers in der Kataraktchirurgie veranschaulicht, nämlich die postoperative In-Vivo Optimierung der Sehschärfe. Dabei geht es darum, dass in Zusammenarbeit mit einer amerikanischen Firma, Perfect Lens, LLC, Irvine, CA, eine Methode entwickelt wurde, mit der nach der Kataraktoperation eventuelle refraktive Restfehler In-Vivo mit dem Femtosekunden-Laser nachgebessert werden können.

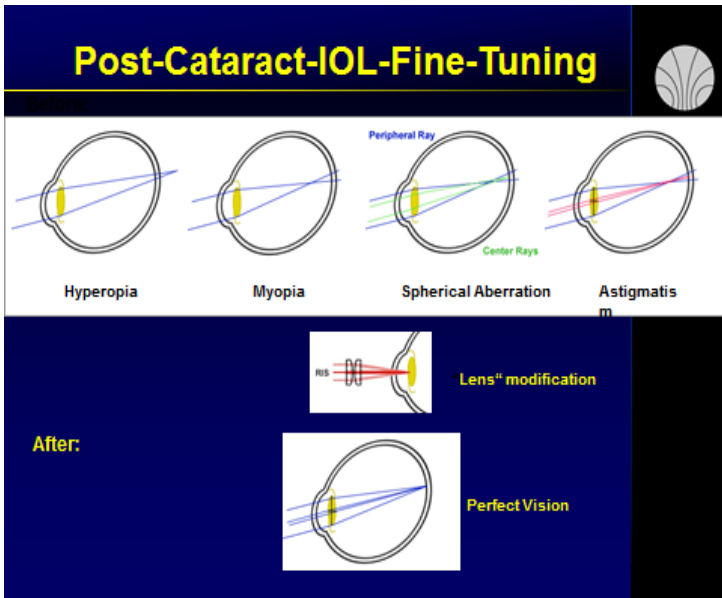


Abb. 21. Feinabstimmung der Sehschärfe nach Katarakt-Operation

Tatsächlich ist das Auge nach einer Kataraktoperation in der Regel bei fast 50% der Patienten nicht ganz perfekt, entweder leicht weitsichtig oder leicht kurzsichtig, oder es hat sphärische Aberration, oder einen Rest-Astigmatismus (siehe Abb. 21).

Technology Background

Femtosecond Laser induced refractive index shaping (RIS)

- A new method for modifying the refractive index of polymeric materials by femtosecond laser has been developed.
- RIS changes the refractive characteristics of the polymeric material without cutting the material.

Phase wrapping

- A process used to create a RIS Lens with enhanced diopter change without increasing the height of the lens.
- With Phase wrapping, a convex lens can be reduced to a thin layer of approx. 50 μm thickness, creating multiple refractive zones.

Refractive Index Shaping (RIS), Femtosecond (FS), Refractive index of IOL (n_1) and Refractive index of RIS lens (n_2)

µm precision curvature precision

Bakker et al., J Cataract Refract Surg 42(9), 1207-15 (2016)

Abb. 22. Technologie der In-Vivo Brechkraftoptimierung.

Perfect Lens, LLC, hat ein Verfahren entwickelt, mit dem mittels der RIS-Technologie ("Refractive Index Shaping") die residualen Sehfehler in einer schnellen Prozedur korrigiert werden können (siehe Abb. 22 "Technology Background"). Die Prozedur dauert ca. zwanzig Sekunden und kann ambulant durchgeführt werden. Zwanzig Sekunden ist die Zeit, in der ein menschliches Auge ein Fixationstarget sicher fixieren kann. Deshalb müssen ambulante Lasereingriffe am Auge in etwa zwanzig Sekunden abgeschlossen sein. Das Auge wird durch einen Saugmechanismus ("Suction-Cone") an der Sclera während der Applikation der Laserstrahlung immobilisiert. Wegen der Erhöhung des Augeninnendrucks auf-

grund des Ansaugprozesses muss die gesamte Prozedur, bestehend aus Justierung der IOL-Position und Herstellung der eingeschriebenen RIS-Linse, in weniger als einer Minute erfolgen. Wenn dieses Zeitlimit nicht eingehalten wird, ist die Technologie für die klinische Anwendung nicht geeignet. Der Patient fixiert während der Prozedur ein Fixationstarget, während die Fresnel-Linse in die intraokuläre Linse (IOL) eingeschrieben wird, die optisch perfektes Sehen erlaubt. Inzwischen ist von Perfect Lens, LLC, Irvine, CA, ein Gerät entwickelt worden, mit dem in der Augenklinik Behandlungen am Menschen durchgeführt werden können. Die zugrundeliegenden photophysikalischen Prozesse wurden in den vergangenen zehn Jahren aufgedeckt. Den entscheidenden photochemischen Wirkmechanismus, nämlich die Änderung der Hydrophilizität des Photopolymers, haben wir vor etwa fünf Jahren im Labor von Perfect Lens, LLC, in Irvine, CA gefunden.

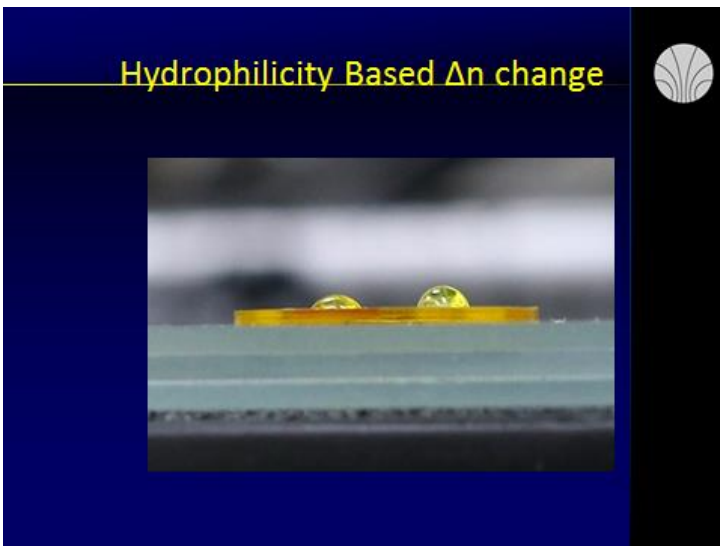


Abb. 23. Änderung der Hydrophilizität durch Bestrahlung mit Femtosekundenlaser.

In Abb. 23 ist die Benetzung der Oberfläche eines polymeren Materials im Kontaktwinkelttest veranschaulicht. Man erkennt, dass der Wassertropfen über dem bestrahlten Gebiet, das durch die dunklere Gelbfärbung gekennzeichnet ist, flacher wird und somit eine Erhöhung der Hydrophilizität anzeigt. In dieser Abbildung (siehe Abb. 23) handelt es sich um ein gelbes hydrophobes Material. Wir haben zeigen können, dass die Erhöhung der Hydrophilizität auch bei anderen Materialien, wie z.B. klaren hydrophoben Materialien sowie hydrophilen Materialien, auftritt. Den Effekt der Erhöhung der Hydrophilizität haben wir gezielt weiter untersucht. Wir haben herausgefunden, dass der im Polymer als Co-Polymer enthaltene UV-Absorber eine wesentliche Rolle spielt. UV-Absorber-Moleküle werden dem Polymermaterial einer intraokulären Linse (IOL) mit einer Konzentration von ungefähr einem Prozent zugesetzt, um den UV-Anteil des Lichts, der für das menschliche Auge schädlich wäre, zu blockieren. Die natürliche menschliche Linse filtert ebenfalls den UV-Anteil des Lichts heraus. Der photochemische Prozess konnte aufgeklärt werden, indem durch 2-Photonen-Anregung neue chemische Bindungen mit erhöhtem Dipolmoment erzeugt werden, die die Hydrophilizität im bestrahlten Material erhöhen. Dadurch wird Wasser, das in der Vorderkammer des Auges vorhanden ist, in die künstliche Linse gesaugt. Dabei entsteht ein Netzwerk von Wassermolekülen ("Hydrogen bonding"), woraus eine Abnahme des Brechungsindex im bestrahlten Material resultiert, d.h. der ursprüngliche Brechungsindex des Polymers ($n = 1,48$) wird durch den Einbau von Wasser ($n = 1,33$) im bestrahlten Bereich erniedrigt. Man kann ausrechnen, dass bei einer 10%-igen Zunahme des lokalen Wassergehalts eine 1%-ige Abnahme im Brechungsindex resultiert. Der Prozess der Eindiffusion des Wassers erfolgt lang-sam. Es dauert etwa 2 bis 3 Stunden, bis das Wasser eingezogen ist, und der Patient dann perfektes Sehen erreicht.

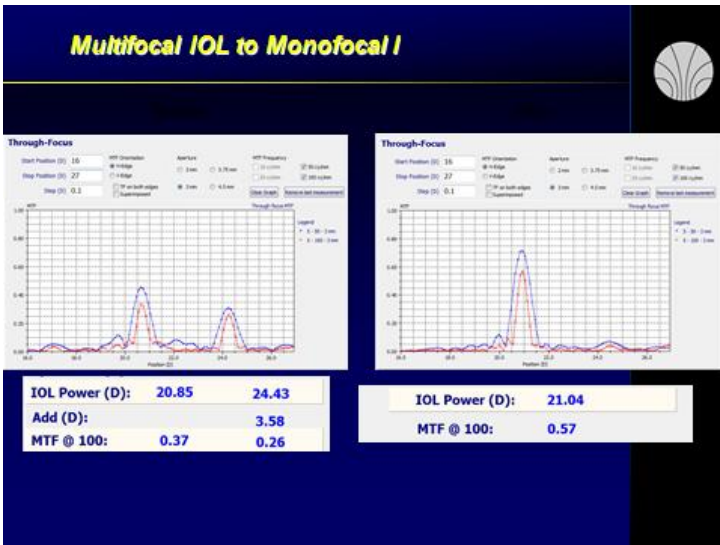


Abb. 24. In Vivo Umwandlung: Multifokale IOL in Monofokale IOL.

Eine interessante Anwendung besteht darin, bei einer diffraktiven Multifokallinse, in der mittels Beugungsstrukturen ein Nahfokus erzeugt wird, mit einer eingeschriebenen refraktiven RIS-Linse den Nahfokus zu kompensieren (siehe Abb. 24). Im gezeigten Beispiel wird ein Nahfokus von dreieinhalb Dioptrien eliminiert, wobei zugleich der "Peak" für die Ferne wieder restauriert wird, und zwar auf eine MTF von 0,57 bei 100 Linienpaaren pro mm, und vorher war die MTF für das Sehen in der Ferne bei 0,37. Wenn z.B. ein Patient nach Implantation einer Multifokallinse mit der Reduzierung des Kontrasts im Fernfokus nicht zurechtkommt, kann mit Hilfe des RIS-Verfahrens der Bildkontrast für das Sehen in der Ferne verbessert werden, bei gleichzeitiger Reduzierung des Kontrasts im Nahfokus.

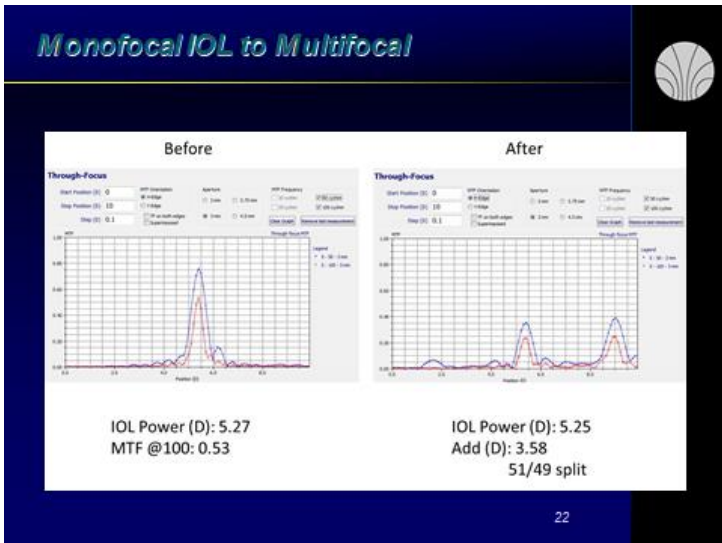


Abb. 25. In Vivo Umwandlung einer Monofokalen IOL in eine Multifokale IOL.

In Abb. 25 ist der inverse Prozess veranschaulicht, die Umwandlung einer Monofokalen IOL in eine Multifokale IOL. Es gibt eine Reihe von Kataraktpatienten – immerhin gibt es 25 Millionen Kataraktoperationen pro Jahr –, die bei Katarakt-OP Monofokallinsen eingesetzt bekommen haben, aber mit der Lesebrille nicht zurechtkommen. In diesem Fall kann man mit einer RIS-Prozedur das Licht aufsplitten und einen Nahfokus, z.B. ein ADD(D): 3,5D (siehe Abb. 25, "After"), in 20 Sekunden in die IOL In-Vivo einschreiben. Da gibt es viele Menschen, besonders in den USA, die das gerne hätten.

Das Projekt zur postoperativen In-Vivo Optimierung der Sehschärfe nach Kataraktoperation befindet sich in einer frühen klinischen Erprobungsphase.

Vortrag gehalten an der Fakultät für Physik und Astronomie der Universität Heidelberg am 06. Juli 2017.

Christoph Cremer



Christoph Cremer

Christoph Cremer, 1944 in Freiburg geboren, studierte Physik an der LMU München, gefördert durch die Studienstiftung, wo er 1970 sein Diplom ablegte. Er promovierte 1976 in Freiburg in Genetik und Biophysik. 1980–1983 war er als Postdoc am Lawrence Livermore National Laboratory (University of California). Er habilitierte 1983 zum Dr. med. habil. in Allgemeiner Humangenetik und Experimenteller Cytogenetik an der Freiburger Medizinischen Fakultät. Im gleichen Jahr erhielt Cremer eine Professur für Angewandte Optik an der Universität Heidelberg, die 2004 in eine ordentliche Professur mündete und die er bis zu seiner Pensionierung im Jahr 2011 innehatte. Seitdem setzt er seine Forschung fort am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie (IPMB) und am Interdisziplinären Zentrum für wissenschaftliches Rechnen (IWR) der Universität Heidelberg, sowie – als Honorarprofessor der Universität Mainz – am dortigen Institut für Molekulare Biologie (IMB). Seit 2004 ist Christoph Cremer zudem Adjunct Professor am Physikdepartment der Universität Maine, USA, und (bis 2014) wissenschaftliches Mitglied des dortigen Jackson Laboratory.

Sein Hauptforschungsthema ist die Biophysik des Zellkerns. Mit diesem Ziel wurden vielbeachtete laseroptische Verfahren für die dreidimensionale Analyse von Nanostrukturen des Genoms entwickelt, die weit unterhalb der optischen Auflösungsgrenze liegen. Sie machen es möglich, die "Topographie" einzelner Zellen und Zellkerne auf der Ebene einzelner Moleküle zu untersuchen. – 2009 wurde Cremer für seine Entwicklung des schnellsten Lichtmikroskops für die dreidimensionale Analyse von der Wirtschaftsinitiative Baden-Württemberg mit dem Preis für die "Beste Business Idee" ausgezeichnet. – 2006–2009 war Cremer Zweiter Sprecher des Senats der Universität Heidelberg. Er ist Herausgeber

Christoph Cremer

des 2008 erschienenen Buches "Vom Menschen zum Kristall –
Konzepte der Lebenswissenschaften von 1800–2000".

Christoph Cremer

Mit Laserlicht ins Innerste des Zellkerns

Zusammenfassung

Lebende Organismen bilden einen Kosmos von extrem komplexen Nanostrukturen. Bis vor kurzem wurde jedoch die lichtmikroskopische Erforschung dieser Strukturen durch die konventionelle Auflösung von etwa 200 nm in der Objektebene und 600 nm entlang der optischen Achse ("Abbe/Rayleigh-Grenze") ganz wesentlich eingeschränkt. Eine darüber hinaus gehende substantielle Verbesserung der Auflösung schien aufgrund der fundamentalen Gesetze der Wellenoptik physikalisch ausgeschlossen. In den letzten Jahrzehnten wurde jedoch diese Grenze durch verschiedene "superauflösende" Fluoreszenzmikroskopie (SRM) Methoden überwunden, wie z.B. die 4Pi-Mikroskopie; die Stimulierte Emissions Depletions (STED) Mikroskopie; die Mikroskopie mit strukturierter Beleuchtung (SIM); oder die Verfahren der Lokalisationsmikroskopie. Zu diesen Entwicklungen und ihren biophysikalischen Anwendungen zur Analyse zellulärer Nanostrukturen haben zahlreiche Mitglieder/Associates des von mir von 1983–2009 geleiteten Forschungsbereiches "Angewandte Optik und Informationsverarbeitung" des Instituts für Angewandte Physik 1 (später Kirchhoff Institut für Physik) beigetragen. Gegenwärtig erlauben diese supraauflösenden Verfahren uns eine optische Auflösung bis hinunter zu etwa 5 nm, oder ca. 1/100 der zur Fluoreszenzanregung verwendeten Wellenlänge; sie machen es möglich, die "Topographie" einzelner Zellen und Zellkerne auf der Ebene einzelner Moleküle zu untersuchen.

Wissenschaftliche Fragestellungen

Damit komme ich zum Fokus meiner Forschungstätigkeit: Optische und chemische Methoden haben uns zur Einsicht gebracht, dass lebende Organismen einen Kosmos von extrem komplexen Nanostrukturen bilden. Eines der faszinierendsten Themen der heutigen Wissenschaft ist die Emergenz solch komplexer Systeme aus den fundamentalen Gesetzen der Natur. Jahrtausendlang schien dieses Problem dem menschlichen Geist völlig unzugänglich zu sein.

Dies änderte sich jedoch durch die mit der Mikroskopie möglich gewordenen Entdeckung der Zelle als der Elementareinheit alles Lebendigen. Bereits im 19. Jahrhundert war bekannt, dass die in den Mikroskopiebildern von Zellen sichtbare kleinere Einheit, der Zellkern, den Ort der Erbinformation darstellt. Im Jahre 1940 machte hierzu Erwin Schrödinger einen Vorschlag, der ganz wesentlich dazu beitrug, die bislang unüberwindbar scheinende Kluft zwischen Physik und Leben zu schließen. Die in seinem Buch "What is Life" vorgetragene These war, dass die Träger der Erbinformation, die Chromosomen, "aperiodische feste Körper" sind. Die Aufklärung der atomaren Struktur der DNA durch Watson und Crick bestätigte einige Jahre später diese kühne Hypothese: Die Erbinformation in den Chromosomen ist tatsächlich aperiodischen festen Körpern vergleichbar: Die chromosomale DNA ist eine lineare Kette mit fest verbundenem Phosphat-Zucker Rückgrat ("fester Körper") und einer mit diesem Rückgrat verbundenen aperiodischen Abfolge von Basen (Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin und ihre Derivate).

Auf der Grundlage der konventionellen Lichtmikroskopie sowie der Elektronenmikroskopie schien der Zellkern viele Jahrzehnte lang einfach ein Behälter für DNA und Proteine sein. Die Konsequenz aus der angenommenen fehlenden Struktur war der auch heute noch vielverbreitete Glaube, dass die immens komplexe Regelung der Aktivität der rund $2 \times 20,000$ Proteinkodierenden Gene ausschließlich über biochemische Mechanismen erfolgt, wie sie in Barrierefreien wässrigen Lösungen ablaufen.

Diese Vorstellung des Zellkerns als "Reagenzglas" schien für zahlreiche Chemiker und Biochemiker recht einleuchtend zu sein: Sie waren es gewohnt, dass viele hoch komplexe Reaktionen tatsächlich in dieser Weise in flüssigen oder gasförmigen Phasen ablaufen können, ohne weitere räumliche Ordnungszustände zu benötigen. Forscher mit einer medizinischen Ausbildung taten sich da schwerer: In ihrer Erfahrung benötigten die im Körper ablaufenden molekularen Prozesse vielfältige anatomische, also strukturelle Randbedingungen, auch auf mikroskopischer Ebene. Zu diesen gehörte auch mein Bruder Thomas Cremer, der zur Zeit meiner Diplomarbeit (1968–1970) Medizin studierte (1995–2010 Inhaber des Lehrstuhls für Anthropologie und Humangenetik der Universität München). Beide waren wir begeistert von den uns grenzenlos erscheinenden Möglichkeiten der damals sich gerade entwickelnden Laseroptik und ihrer Anwendungen zur Erforschung von Strukturen des Lebendigen, allem voran des Zellkerns. Ein besonders hervorstechendes Problem schien uns: Wie sind die jeweils aus Milliarden von Atomen bestehenden Riesenmoleküle der Erbinformation im Kern der Zellen angeordnet? Schließlich ist die chromosomale DNA in jeder menschlichen Zelle insgesamt rund 2 Meter lang, während der typische Durchmesser des Zellkerns nur etwa 10 μm beträgt. Als Ergebnis dieser Diskussionen formulierten wir in einem Forschungsantrag im Jahre 1969 einige hoch spekulative Fragen zu diesem Thema:

- Gibt es im (Säuger) Zellkern eine räumliche Ordnung der Chromosomen?
- Gibt es Möglichkeiten, eine solche Ordnung (falls existent) mit laseroptischen Verfahren zu erkennen?

Eine erste sich uns aufdrängende fundamentale Frage war: Ist das Erbmaterial im Zellkern in einzelnen, unterscheidbaren Chromosomenterritorien angeordnet (in Abb. 1aA oben links durch verschiedenfarbige Wollknäuel veranschaulicht); oder ist die Organisation der Chromosomen "nicht-territorial" und eher einem Haufen vermischter Spaghettis vergleichbar, wie in Abb. 1aB oben

rechts angedeutet? Könnte man die einzelnen Chromosomen spezifisch anfärben, so wäre dieses Problem leicht lösbar.

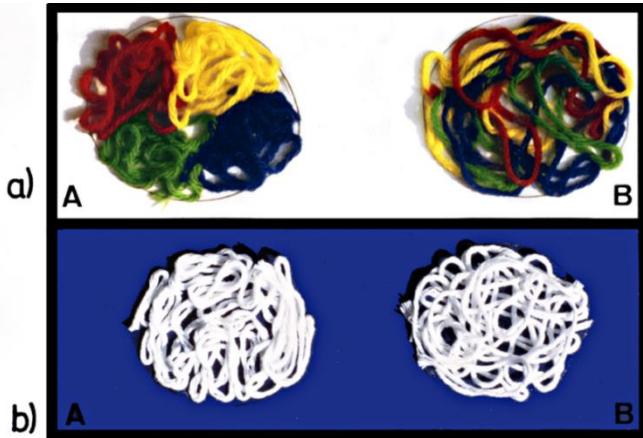


Abb. 1. Zwei grundsätzliche Möglichkeiten der Organisation des Zellkerns.

aA) Die einzelnen Chromosomen einer Zelle bilden distinkte "Territorien", d.h. ihr einhüllendes Volumen V_C ist wesentlich kleiner als das Gesamtkernvolumen V_K ; die einhüllenden Volumina V_C überlappen sich nur geringfügig.

aB) Die Organisation der Chromosomen ist "nicht-territorial", d.h. die DNA-Protein Fäden der einzelnen Chromosomen durchziehen jeweils den ganzen oder einen großen Teil des Zellkerns und sind eher einem Haufen "vermischter Spaghettis" vergleichbar. Aus T. Cremer et al. 1982.-bA/B) Bei homogener Färbung der gesamten DNA des Zellkerns ist eine Unterscheidung zwischen territorialer und nicht-territorialer Organisation nicht möglich.

Heute ist dies mithilfe neuartiger molekularzytogenetischer Methoden ("Chromosome Painting") tatsächlich möglich. Diese wurden jedoch erst gegen Ende der 1980iger Jahre entwickelt. Bis dahin gab es nur Färbemethoden, um die gesamte DNA des

Zellkerns einfarbig zu markieren (schematisch in Abb. 1bA,B) dargestellt, womit eine Entscheidung zwischen "territorialer" und "NICHT-territorialer" Organisation nicht möglich war.

Unsere 1969 vorgebrachte Idee war es nun, einen kleinen Teil der Chromosomen im Kern lebender Zellen laseroptisch zu markieren (Abb. 2aA/B).

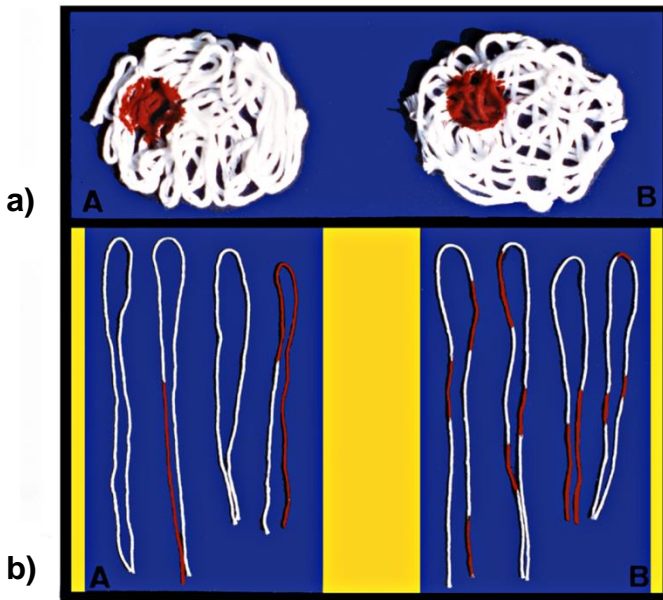


Abb. 2. Grundidee der laseroptischen Analyse der Zellkernstruktur. *aA/B:* Zellen mit Markierung eines kleinen Teils der Zellkern DNA durch Laser Mikrobestrahlung; (*aA*) Kern mit territorialer, (*aB*) mit nicht-territorialer Chromosomenstruktur.

bA/B: Verteilung der Markierung (rot) auf den Chromosomen in der folgenden Zell-Teilungsphase. *bA):* Im Falle einer territorialen Chromosomenstruktur sind nur wenige Mitosechromosomen markiert; *bB)* Im Falle einer nicht-territorialen Chromosomenstruktur sind viele Mitosechromosomen markiert. Aus T. Cremer et al. 1982.

In der nächstfolgenden Teilungsphase (Mitose) sollten die einzelnen Chromosomen als lange Fäden sichtbar werden. Im Falle einer territorialen Organisation sollten nur wenige Chromosomen markiert sein (Abb. 2bA); im Falle einer nicht-territorialen sollten dagegen viele Chromosomen eine Markierung tragen (Abb. 2bB).

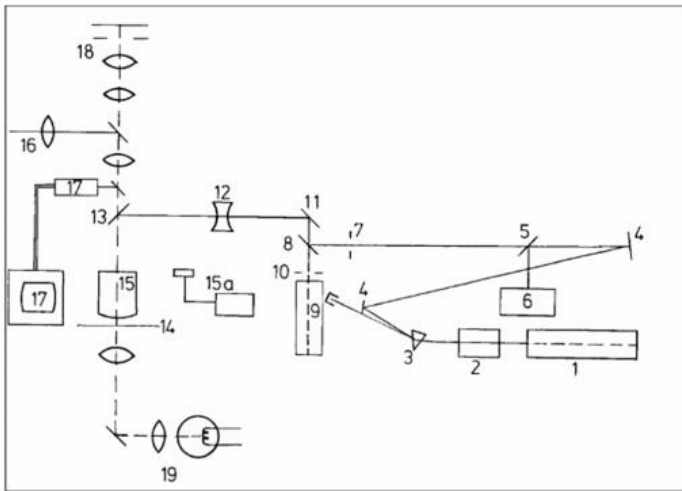


Abb. 3. Fokussierung eines Laserstrahls mit 257 nm Anregungswellenlänge

Kohärentes Licht der Wellenlänge 514.5 nm eines Dauerstrich Argon Lasers (1) wird mithilfe eines Ammonium Dihydrogenphosphatkristalls (2) frequenzverdoppelt, aufgeweitet (12) und über einen dichroitischen Teilerspiegel (13) durch ein Quarzobjektiv hoher numerischer Apertur (15) in die Objektebene (14) fokussiert. Aus Cremer et al., 1974.

Um diese Idee zu realisieren, bauten wir eine Laser-UV-Mikrobestrahlungsapparatur für kohärentes Licht der Wellenlänge 257 nm, also im Absorptionsmaximum der DNA (Abb. 3).

In diesem als Teil meiner biophysikalischen Doktorarbeit (1976) konstruierten Laser-UV-Mikrobestrahlungssystem wurde die frequenzverdoppelte 514 nm Linie eines Dauerstrich Argon Ionen

Lasers mithilfe eines Quarz-Objektivs hoher numerischer Apertur beugungsbegrenzt in der Objektebene fokussiert. Vor vier Jahrzehnten war dies eine völlig neuartige Angelegenheit, bei der eine Reihe technischer Schwierigkeiten zu überwinden waren. Zum Beispiel musste der gesamte Strahlengang des 257 nm Laserlichts mit entsprechend UV kompatiblen optischen Elementen durchgeführt werden. In Bezug auf Objektive und Linsen konnten diese bei Zeiss gefunden werden. Der dichroitische Teilerspiegel hingegen, der das UV Licht maximal reflektieren, die vom Laserstrahl angeregte Fluoreszenz dagegen für die Beobachtung maximal transmittieren sollte, war nirgends aufzutreiben. Schließlich wurde er uns von der Firma Balzers eigens berechnet, hergestellt und kostenlos zur Verfügung gestellt. Dieses Entgegenkommen verdanken wir den guten Beziehungen der Physikochemikerin Prof. Erika Cremer aus Innsbruck, die uns bei der Lösung dieses schwierigen Problems unterstützte.

Der so fokussierte UV-Laserstrahl erzeugte in der Objektebene einen kleinen fluoreszierenden "Spot" mit einem Durchmesser von etwa 390 nm. Dies war klein genug, um die DNA in einem sehr geringen Teil eines Zellkerns verändern zu können.

Mit diesem Laser-UV-Mikrobestrahlungssystem für 257 nm gingen wir nun ans Werk, unterstützt dabei insbesondere von einem weiteren "physikalischen Leidensgenossen", Christian Zorn (Promotion 1978). Eine wesentliche weitere Hilfe wurde uns bei der Vorbereitung der biologischen Experimente von unserem Veterinärmedizinischen Assistenten Jürgen Zimmer zuteil (später Mitglied des Personalrats der Universität Freiburg sowie des dortigen Universitätsrats). In vielen tausend Zellen wurde ein kleiner Teil des Kerns bestrahlt und so an diesen Stellen eine Modifikation der DNA erzielt (Induktion von Pyrimidin Dimeren); diese Änderungen wurde in der nächsten Zellteilung (Mitose) als Ergebnis von Reparaturvorgängen mithilfe radioaktiver (später nicht radioaktiver) Verfahren sichtbar gemacht. Die Ausbeute war allerdings extrem gering: Nur wenige Zellen überlebten diesen "Beschuss mit schwerer Artillerie". In einigen Fällen jedoch war das Verfahren

erfolgreich, und es gelang, die Chromosomen so bestrahlter Zellen in der nächsten Teilungsphase zu untersuchen (Zorn et al. 1976, 1979; C. Cremer et al. 1980; T. Cremer et al. 1982; T. Cremer & C. Cremer 2006a). Nur wenige Chromosomen zeigten UV-induzierte Markierungen. Dies bedeutete: Das Erbmaterial in lebenden Säugerzellen ist in "Chromosomenterritorien" organisiert. Die Struktur des Zellkerns ist also wesentlich komplexer als bislang angenommen. Das Erstaunen nicht nur vieler Biologen, sondern auch zahlreicher Polymerphysiker war (und ist heute noch) groß: Schließlich sollten flexible langkettige Polymere im thermischen Gleichgewicht sich weitgehend entsprechend dem "Spaghetti-Modell" (Abb. 1aB) verhalten. Die gegenteilige experimentelle Beobachtung zeigte, dass Chromosomen über reine Polymerketten hinausgehende thermodynamische Eigenschaften haben müssen. Heute weiß man, dass mit der DNA interagierende "Histon" Proteine nicht einfach eine Art "Verpackungsmaterial" darstellen, sondern vielfältige strukturbildende Wechselwirkungen verursachen, die für die außerordentlich verwickelte Regulation der Aktivität der vielen tausend Gene von größter Bedeutung sind (T. Cremer et al. 2015).

Die Organisation der Erbinformation im Kern von Säugerzellen in distinkten Chromosomenterritorien war eine wesentliche neue Erkenntnis und Ausgangspunkt einer neuen Forschungsrichtung, die heute in Hunderten von Arbeitsgruppen verfolgt wird.

Bevor ich das Thema der Zellkernstruktur fortsetze, hier ein kurzer Hinweis auf eine weitere Anwendung des Freiburger Laser-UV-Mikrobestrahlungssystems in der Embryonalentwicklung von Insekten. Diese Untersuchungen mit einer damals jungen Kollegin aus dem Freiburger Zoologischen Institut, Christiane Nüsslein-Volhard, waren Thema mehrerer gemeinsamer Publikationen (z.B. Nüsslein-Volhard et al. 1980), u.a. auch in der angesehenen Zeitschrift "Developmental Biology". Auf diese Publikation (Lohs-Schardin et al. 1979) wurde auch in der ein Jahr später erschienenen Arbeit von Christiane Nüsslein-Volhard und Eric Wieschaus in "Nature" hingewiesen, wo sie als erste zitiert wurde. Diese "Nature"

Arbeit von Nüsslein-Volhard und Wieschaus fand große Beachtung, und 15 Jahre später wurden die beiden dafür mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet.

Nach dieser Seitenbemerkung über weitere Anwendungen von Laser-UV-Mikrobestrahlung möchte ich wieder zum Hauptthema zurückkehren, der laseroptischen Strukturanalyse des Zellkerns. Die genannten Mikrobestrahlungsexperimente hatten es erlaubt, die grundsätzliche Organisation des Erbmateri als im Zellkern von Säugerzellen in Chromosomenterritorien nachzuweisen; sie erlaubten aber nicht, weitere Einzelheiten der Struktur zu erkennen. Dies wurde möglich unter Einsatz von "chromosomenspezifischen DNA Bibliotheken". Die Etablierung solcher DNA Bibliotheken durch laseraktivierte Chromosomensortierung war ein Hauptthema meiner PostDoc Zeit am Lawrence Livermore National Laboratory gewesen (Cremer et al. 1984). Meinem Bruder Thomas gelang es einige Jahre später zusammen mit seinem damaligen "Juniorkollegen" Peter Lichter (seit 2000 Professor für Molekulare Humangenetik an der Universität Heidelberg, 2005–2011 Mitglied des Wissenschaftsrats, sowie 2003 Wissenschaftlicher Stiftungsvorstand des Deutschen Krebsforschungszentrums/DKFZ), während eines Gastaufenthaltes an der Yale University mit derartigen Bibliotheken spezifische Chromosomen und ihre Unterstrukturen direkt im Zellkern sichtbar zu machen (Lichter et al. 1988). Diese später "Chromosomen Painting" genannte Methode wird heute in tausenden von biomedizinischen Laboratorien eingesetzt, insbesondere für die Diagnostik von Chromosomenveränderungen in der Humangenetik, nach ionisierender Strahlung und in Krebszellen.

Ein Konzept für die lasergestützte dreidimensionale Fluoreszenzmikroskopie

Für die Analyse der Zellkernstruktur gab es jedoch ein wesentliches Problem: Konventionelle Mikroskopaufnahmen sind zweidimensional, die Zelle aber ist dreidimensional. Um dieses Problem zu lösen, schlugen wir im Jahre 1978 die Entwicklung eines hochauflösenden dreidimensionalen (3D) Lichtmikroskops auf laseroptischer Grundlage vor (C. Cremer & T. Cremer 1978). Die Grundidee war es, mit Hilfe eines fokussierten Laser-Mikrostrahls das Objekt "punktweise" in drei Dimensionen abzuscannen und die "punktweise" induzierte Fluoreszenzemission jeweils mit einem empfindlichen Detektor (damals ein Photomultiplier) zu registrieren. Um Fluoreszenzlicht von Molekülen oberhalb und unterhalb der jeweiligen Objektebene zu eliminieren, war eine kleine Blende ("Pinhole") vor dem Detektor vorgesehen. Mittels geeigneter Elektronik sollten wie beim Fernsehen alle Bildpunkte zu einem 3D Bild zusammengesetzt werden. Ganz neu war die Grundidee nicht, fokussiertes Laserlicht in dieser Weise einzusetzen; aufgrund unserer Erfahrung mit dem Bau und der Anwendung eines beugungsbegrenzt fokussierenden Laser-UV-Mikrobestrahlungssystem mit kontinuierlicher kohärenter Strahlung enthielt unsere in einer mikroskopischen Fachzeitschrift publizierte Arbeit (Cremer & Cremer 1978) jedoch eine Reihe technischer Einzelheiten zu ihrer Realisierung.

Heute ist diese Methode unter dem Namen "Konfokale Laser Scanning Fluoreszenz Mikroskopie" weltweit verbreitet und eine der wichtigsten Verfahren der optischen Analyse in der biomedizinischen Forschung geworden. Natürlich hat es mich sehr gefreut, dass unser Beitrag zu dieser Entwicklung vor drei Jahren anlässlich der Verleihung des Nobelpreises an Eric Betzig, Stefan Hell und William Moerner in hervorgehobener Weise gewürdigt worden ist (Ehrenberg 2014). Weiterentwicklungen der konfokalen Laser Scanning Fluoreszenzmikroskopie erlauben es heute, auch ohne Stimulated Emission Depletion oder andere Methoden der

optischen Isolation (s.u.) eine Auflösung weit jenseits des "Abbe/Rayleigh" Limits zu realisieren.

Einen ganz wesentlichen Anteil an der praktischen Realisierung und kommerziellen Umsetzung der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie hatten meine Kollegen Josef Bille und Siegfried Hunklinger (Institut für Angewandte Physik I/II, heute Kirchhoff-Institut für Physik): Die von ihnen 1984 gegründete Firma "Heidelberg Instruments" ist immer noch international tätig in der Entwicklung und Produktion von komplexen Laser-gestützten Lithographie Verfahren. Der Geschäftszweig Konfokalmikroskopie wurde 1989 ausgegliedert und ist heute unter dem Namen "Leica Microsystems" international auf diesem Gebiet der Hochleistungsoptik führend. Auf wissenschaftlichem Gebiet gab es damals eine enge Kooperation mit der Gruppe von Dr. Roel Wijnandts van Resandt am EMBL, einem der Mitgründer von Heidelberg Instruments. In Zusammenarbeit mit Ernst Stelzer in dieser Gruppe (Promotion 1987 bei Prof. Josef Bille, Institut für Angewandte Physik I; seit 2011 Inhaber des Lehrstuhls für Physikalische Biologie der Universität Frankfurt) konnten wir mit dem dort entwickelten konfokalen Laser Scanning Fluoreszenzmikroskop (Stelzer et al. 1989) erste Untersuchungen zur dreidimensionalen Verteilung von spezifisch Fluoreszenzmarkierten Chromosomenterritorien in menschlichen Zellen durchführen (Popp et al. 1990). Damit begann ein Jahrzehnt fruchtbarer laser-optischer und biophysikalischer Zusammenarbeit mit Ernst Stelzer (s.u.).

Als Beispiel zeigt Abb. 4 links ein dreidimensionales Bild eines menschlichen Zellkerns, aufgenommen mit einem aus den Aktivitäten von Heidelberg Instruments hervorgegangenen konfokalen Laser Scanning Fluoreszenzmikroskop (Leica NT). Zu sehen sind in Rot die beiden durch Chromosomen-Painting markierten Gen-armen Chromosomen #18 und in Grün die beiden Gen-reichen Chromosomen #19 (Cremer & Cremer 2001). Während die Gen-armen #18 (Rot) sich am Rand des Zellkerns befinden, liegen die beiden Gen-reichen # 19 (Grün) im Inneren des Kerns.

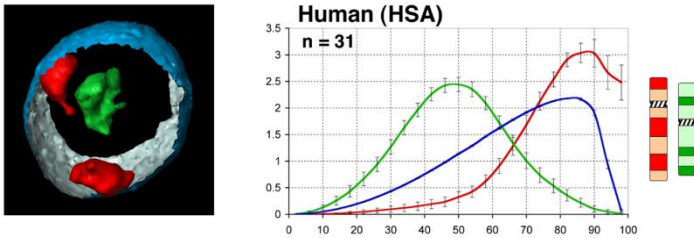


Abb. 4. Quantitative 3D Analyse der Chromosomenverteilung in Kernen menschlicher Zellen (Lymphozyten).

Links: Eine mithilfe von konfokaler Laserscanning Fluoreszenzmikroskopie gewonnene Darstellung der dreidimensionalen Anordnung der Chromosomenterritorien des Gen-armen Chromosoms #18 (rot) und des Gen-reichen Chromosoms #19 (grün) in einer menschlichen Lymphozytenzelle (Bestandteil des Blutes).

Rechts: Quantitative Analyse der räumlichen (3D) Verteilung in insgesamt 31 Zellkernen. Hierfür wurde das Zellkernvolumen auf eine kugelförmige Gestalt normiert; anschließend wurde das Volumen in Schalen eingeteilt und die durch das rote (#18) bzw. grüne (#19) Fluoreszenzsignal gegebene relative DNA Menge von #18 bzw. #19 in dieser Schale bestimmt. Die Ordinate zeigt den normierten DNA Gehalt von #18 (rot) bzw. #19 (grün) als Funktion der Schalenposition (0 Zellkernmittelpunkt, 100 Schale am Zellkernrand). Blau: Gesamt DNA Gehalt in den einzelnen Schalen. Das Auswertungsprogramm wurde von Johann v. Hase (Diplom und Promotion Physik in der Arbeitsgruppe) entwickelt (M. Cremer et al. 2001) und war das erste, das detaillierte quantitative Messungen der räumlichen Chromosomenverteilung in 3D ermöglichte. Aus Cremer & Cremer 2001.

Die quantitative Analyse der 3D Verteilung der DNA der beiden Chromosomenterritorien in einer Reihe von Zellkernen (Abb. 4 rechts) zeigte, dass diese unterschiedliche räumliche Verteilung ein spezifisches Merkmal dieser Kerne war. Weitere Untersuchungen mit derselben Methode (Tanabe et al. 2001) aber von Zellen von verschiedenen Primaten Spezies ergaben, dass diese unterschied-

liche Anordnung evolutiv mindestens 35 Millionen Jahre alt ist. Es stellte sich sogar heraus, dass die räumliche Verteilung der zu den Chromosomen #18/#19 gehörigen Gene sich in den hier relevanten Zelltypen sogar seit mehr als 300 Millionen Jahren nicht mehr wesentlich geändert hat, also schon bestanden hat, als der Himalaya noch nicht existierte. In späteren numerischen Simulationen konnten wir zeigen, dass solche Verteilungen der Chromosomenterritorien im Zellkern recht gut auf probabilistische Ordnungsprinzipien zurückgeführt werden können (Kreth et al. 2004a). Dies ermöglichte es uns, die chromosomenschädigende Wirkung ionisierender Strahlung in Abhängigkeit von der Dosis mit großer Genauigkeit vorauszusagen (Münkel et al. 1995; Kreth et al. 1998, 2004b, 2007). Mit kombinatorischen "Chromosome Painting" Methoden, konfokaler Laser Scanning Fluoreszenzmikroskopie und aufwändiger 3D Bildverarbeitung gelang es, alle Chromosomenterritorien in einer menschlichen Zelle darzustellen und ihre räumliche Verteilung quantitativ zu analysieren (Bolzer et al. 2005). Damit wurde ein Weg eröffnet, wichtige Fragen zur Bedeutung der Chromosomenterritorien für die funktionelle Organisation des Zellkerns, der Steuerzentrale aller Organismen, anzugehen (T. Cremer et al. 1993, 1995, 2000, 2010; 2012, 2014, 2015, 2016; T. Cremer & C. Cremer 2001, 2003, 2006b; Roquette et al. 2010).

Mikroaxialtomographie

Die bisher beschriebene Methode der konfokalen Laserscanning Fluoreszenzmikroskopie erlaubte eine laterale (Objektebene) Auflösung von ~ 200 nm; entlang der optischen Achse betrug sie jedoch nur ca. 500 nm. Eine erste sich anbietende einfache Möglichkeit, die 3D Auflösung der Konfokal- aber auch der Weitfeldmikroskopie erheblich zu verbessern, war die Idee der Mikroaxialtomographie. Dieses seit Beginn der 1990iger Jahre in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Verfahren (Bradl et al. 1992; Staier et al. 2011) beruhte auf der geeigneten Drehung des Objekts um eine Achse, wobei bei jeder Drehung ein Bildstapel aufge-

nommen wird; aus den erhaltenen Bilddatensätzen kann dann ein Bild mit einer effektiven, wesentlich verbesserten 3D Auflösung errechnet werden (Heintzmann et al. 2000). Das Verfahren lässt sich im Prinzip auf beliebige Mikroskopiearten übertragen, z.B. Konfokalmikroskopie, aber auch Weitfeldmikroskopie, oder auch zur weiteren Verbesserung der 3D Auflösung in Techniken der "Focused Nanoscopy" (s.u.) nutzen. Dieses aus der Elektronenmikroskopie bekannte Verfahren wurde von uns erstmals mit hochauflösenden Mikroskopiemethoden verbunden und erfolgreich auf die quantitative Analyse von Chromosomenstrukturen von Kernen menschlicher Zellen angewandt (Dietzel et al. 1995). Ein wichtiger Vorteil derartiger axialtomographischer Ansätze zur Superauflösung (im Sinne einer Verbesserung der 3D Auflösung) besteht darin, dass im Gegensatz zu vielen anderen Verfahren (s.u.) die zur verbesserten 3D Auflösung erforderlichen Beleuchtungsintensitäten sehr viel geringer sein können. Dies vereinfacht ganz erheblich multiple Aufnahmen von lebenden Zellen und Zellverbänden (Richter et al. 2017).

Ein erstes Konzept zur Überwindung der konventionellen Auflösungsgrenze durch "Focused Nanoscopy"

In der Verbindung von quantitativer konfokaler Laser Scanning Mikroskopie und den molekularcytogenetischen Verfahren des "Chromosome Painting" gelang es, wichtige Einzelheiten der "Mesostruktur" des Kerns von menschlichen und anderen Zellen aufzuklären. Die sich nun ergebende große Herausforderung war es nun, die Struktur einzelner Gendomänen (organisatorische Untereinheiten von Chromosomenterritorien) zu analysieren. Dies sollte es ermöglichen, fundamentale neue Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen räumlicher Organisation und Genaktivität zu gewinnen. Wie zu erwarten, sind jedoch bei konventioneller Lichtmikroskopie selbst bei bestmöglicher Auflösung keine Einzelheiten solcher Nanostrukturen mehr erkennbar. Der Grund ist allen Physikern wohl bekannt: Die Auflösungsgrenze der Lichtmikroskopie von etwa einer halben Wellenlänge, ent-

sprechend ca. 200 nm bei Verwendung von Licht im blauen Spektralbereich.

In seiner berühmten Abhandlung von 1873 schrieb Ernst Abbe, "dass die Unterscheidungsgrenze [beim Mikroskop] doch niemals über [den Betrag] der halben Wellenlänge des blauen Lichts um ein Nennenswertes hinausgehen wird" (Abbe 1873). Fast die gleiche Grenze wie bei Abbe ergab sich auch in der Fluoreszenzmikroskopie (Rayleigh 1896). Hier kommt es bei Abständen unterhalb einer halben Wellenlänge zu einer nicht mehr auflösbaren Überlappung der einzelnen Beugungsbilder. Diese auf der Wellentheorie des Lichts beruhende Erkenntnis galt rund ein Jahrhundert lang als eine fundamentale Grenze der Naturwissenschaft. Durch Verwendung von Elektronen- und Synchrotronstrahlen mit sehr viel kürzerer Wellenlänge gelang es zwar, außerordentlich wichtige Grundprinzipien der Verpackung der DNA zu klären; aber aus methodischen Gründen mussten entscheidende strukturelle Fragen offen bleiben.

Fundamentale neue Entdeckungen in Physik, Optoelektronik, Informationsverarbeitung, Chemie und Molekularbiologie haben es heute möglich gemacht, die "Abbe'sche Grenze" der lichtoptischen Naturerkenntnis von ca. 200 nm radikal zu überwinden (Übersicht: Hell 2003, 2007, 2009; Cremer 2008, 2012, 2014; Cremer et al. 2010, 2017; Cremer & Masters 2013; Birk 2017).

Auf der Seite von Physik und Technik gehören hierzu insbesondere Laser, hochempfindliche Detektoren, Physik und Chemie der Moleküle, Digitale Bildverarbeitung und leistungsfähige Computer. Heute gibt es eine ganze Reihe von Möglichkeiten, die Auflösungsgrenze zu überwinden, wie z.B. die konfokale 4Pi Laser Scanning Fluoreszenzmikroskopie; die STED (Stimulated Emission Depletion) Mikroskopie; die Lokalisationsmikroskopie; sowie die Structured Illumination Mikroskopie und ihre Variationen. Bei allen diesen Entwicklungen sind Mitglieder/Associates des Forschungsbereiches "Angewandte Optik und Informationsverarbeitung" in der einen oder anderen Weise beteiligt gewesen.

Im Folgenden möchte ich auf einige dieser Entwicklungen kurz eingehen.

4π (4Pi) Mikroskopie

Die erste tatsächlich realisierte Methode der Superauflösung durch eine Laserscanningmethode beruhte auf dem Prinzip der 4π (4Pi) Mikroskopie.

Die Grundidee der Bildgebung ist dieselbe wie bei der oben beschriebenen konfokalen Laserscanning Mikroskopie: Das Objekt wird punktweise von einem stark fokussierten Laserstrahl abgetastet, und das jeweils erhaltene ortsabhängige Signal wird zur elektronischen Rekonstruktion eines Bildes verwendet. Die Auflösungsverbesserung geschieht hier jedoch durch Abtasten des Objekts mit einem fokussierten Laserstrahl, dessen Fokusedurchmesser kleiner ist als "klassisch" (d.h. nur mit einer Linse) realisierbar, also kleiner als ca. eine halbe Wellenlänge.

Ende der 1960iger Jahre hatten Thomas Cremer und ich die Idee, es sollte möglich sein, einen solchen kleineren Fokusedurchmesser "jenseits des Abbe-Limits" zu erzeugen, indem das Laserlicht aus einem größeren Raumwinkel als bei einer einzelnen Linse fokussiert wird; dies sollte durch spezielle "Punkthologramme" geschehen. Da der größte denkbare Raumwinkel 4π ist (das Laserlicht wird aus allen Raumrichtungen konstruktiv interferierend eingestrahlt), verwendeten wir die Bezeichnung " 4π " zur Charakterisierung. Erste Überlegungen hierzu meldeten wir im Jahre 1971 in einer Schrift " *4π -Punkthologramme: Verfahren zur linsenfremen Erzeugung von Kugelwellen*" zum Patent an (C. Cremer & T. Cremer 1972) wobei uns ein Sohn von Arnold Sommerfeld als Anwalt half. Die in dieser Anmeldung enthaltenen Ideen waren gelinde gesagt sehr spekulativ, und einige auch nicht richtig. Dennoch enthielt diese optische "Jugendsünde" einige wesentliche konzeptuelle Ideen, die zur Entwicklung der supraauflösenden Mikroskopie beigetragen haben.

Zur Realisierung einer solchen "superauflösenden" Laser Scanning 4Pi-Mikroskopie stellten wir uns eine konstruktive Inter-

ferenz des durch eine polyedrische Anordnung von ebenen Punkthologrammen gebeugten Laserlichts vor. Dabei wurden wir von einem vieleckigen Polyeder aus Marmor inspiriert, den wir 1972 auf einer Toskana-Fahrt mit dem damaligen bayerischen Kultusminister Prof. Hans Maier fanden, zu dessen Münchner Studienstiftlergruppe ich gehörte. Wie es sich für eine Patentanmeldung gehört, wiesen wir nach der Beschreibung des 4π -holographischen Verfahrens der "Superfokussierung von Licht" auf einige uns interessant erscheinende Anwendungen hin. Dazu gehörte die Idee, optische Speicher hoher Dichte zu konstruieren, wobei als Speicherelemente organische Moleküle verwendet werden sollten, die "bei geeigneter Wahl der Anordnung reversible oder irreversible schnelle Umwandlungen zulassen, die durch das elektromagnetische Wechselfeld induziert werden". Ferner sollte es möglich sein, "dass in einem Speicherelement sich mehrere molekulare Umwandlungssysteme befinden, deren Umwandlungen durch elektromagnetische Strahlung unterschiedlicher Frequenz induziert werden", und deren "Umwandlungszeit so gewählt ist, dass bei geeigneter Intensität und Frequenz des umwandelnden elektromagnetischen Feldes eine Umwandlung von einer Form in die andere erfolgt". Angesprochen wurde auch die Möglichkeit, dass auf jedem Objektelement mehrere dieser Umwandlungssysteme untergebracht sind, und dass dies auch ein "Lesen" ermöglicht.

Photoinduzierte reversible oder irreversible schnelle Umschaltungen von organischen Molekülen durch elektromagnetische Strahlung geeigneter Intensität und Frequenz sind heute die Grundlage der 'photoswitching' basierten Lokalisationsmikroskopie (s.u.). In Verbindung mit 4π Mikroskopie erlaubt diese heute eine dreidimensionale Auflösung zellulärer Strukturen von 10–20 nm, also 1/60 bis 1/30 der verwendeten Wellenlänge (Huang et al. 2016). Allerdings fehlten in unseren damaligen Überlegungen (1978) noch wesentliche weitere Elemente des Konzepts der Lokalisationsmikroskopie.

In einem Appendix zu der bereits zitierten Publikation zum Design eines konfokalen Laser Scanning Fluoreszenzmikroskops (C. Cremer & T. Cremer 1978) wurde die Idee des 4π holographischen superauflösenden Mikroskops wieder aufgegriffen und durch das Konzept der konfokalen Detektion der durch den 4π -fokussierten Laserstrahl induzierten Fluoreszenzemission ergänzt. Ein weiterer dort ausgesprochener Gesichtspunkt war die Möglichkeit, ein derartiges superauflösendes Konfokalsystem mit sehr viel größerem Arbeitsabstand zu realisieren als dies mithilfe von hochnumerischen Objektiven in der konventionellen Mikroskopie möglich wäre.

Viele Jahre später ausgeführte, ins einzelne gehende numerische Rechnungen auf der Basis von Skalar- und elektromagnetischer Wellentheorie zeigten, dass die 1978 vorgestellten Grundkonzepte einer erheblichen Auflösungsverbesserung durch fokussierte 4π Beleuchtung und die Möglichkeit prinzipiell "beliebig großer" Arbeitsabstände tatsächlich richtig waren: Nach klassischer Theorie der optischen Auflösung (Abbe/Rayleigh) ist der umso schlechter, je größer der Arbeitsabstand ist. Die von uns (Birk et al. 2017a) für große Arbeitsabstände (im Zentimeterbereich) durchgeführten Rechnungen ergaben eine Verbesserung der dreidimensionalen Volumenauflösung um den Faktor 10^4 im Vergleich zur konventionellen Abbe/Rayleigh Auflösung bei demselben Arbeitsabstand. Diese Möglichkeit ist auch heute noch aktuell: Sie würde völlig neue Perspektiven für die lichtmikroskopische Analyse von großen Strukturen eröffnen, z.B. in der Hirnforschung. Experimentell realisiert wurden diese Ideen bislang allerdings noch nicht.

Im Jahre 1992 gab es am damaligen Institut für Angewandte Physik einen jungen Wissenschaftler (Stefan Hell), der gerade bei Siegfried Hunklinger (mit Unterstützung durch Josef Bille) mit einer Arbeit zur konfokalen Laserscanningmikroskopie promoviert hatte; er hatte die entscheidende Idee für das erste experimentell realisierte superauflösende Lichtmikroskop auf der Grundlage der allgemeinen Idee einer starken Vergrößerung des Raumwinkels Ω .

Allerdings wurden hier die für die "Superfokussierung" des Laserlichts erforderlichen hohen Werte von Ω mithilfe konstruktiver Interferenz zweier Laserstrahlen durch zwei gegenüberliegende Objektive hoher numerischer Apertur (also bei einem sehr geringen Arbeitsabstand im 200 μm Bereich) realisiert. Der Raumwinkel für die Fokussierung konnte hierdurch von 1.3π auf 2.6π verdoppelt werden. Dies reichte für eine ganz erhebliche Steigerung der Auflösung in Richtung der optischen Achse.

Stefan Hell verwirklichte seine 4Pi Mikroskopie Idee im EMBL Labor unseres Kooperationspartners Ernst Stelzer (s.o.), zunächst im Rahmen eines meinem Forschungsbereich assoziierten PostDoc Stipendiums der DFG. Diese Arbeiten wurden von meiner Seite aus insbesondere durch gemeinsame Diplomanden befördert. Anschließend ging Stefan Hell mit meiner Unterstützung für einige Jahre an die Universität Turku ans Institut von Prof. Erkki Soini und entwickelte dort seine bahnbrechenden Ideen zur fokussierten Nanoskopie mithilfe von Stimulated Emission Depletion. Er blieb dem Forschungsbereich "Angewandte Optik und Informationsverarbeitung" jedoch bis zu seiner Habilitation (1996) eng verbunden, und die Zusammenarbeit wurde auch darüber hinaus viele Jahre lang weiter fortgesetzt.

Abb. 5 zeigt den optischen Aufbau dieses ersten 4Pi Mikroskops: Der Strahl eines He-Ne Lasers wurde aufgeteilt und durch zwei einander gegenüber liegende hoch numerische Objektive konstruktiv fokussiert. In der Objektebene resultierte hierdurch eine Intensitätsverteilung mit einer axialen Halbwertsbreite des Hauptmaximums weit unterhalb 200 nm. Aufgrund der linearen Anregung traten aufgrund des fehlenden vollen Raumwinkels jedoch erhebliche Nebenmaxima auf, die die durch Dekonvolution erreichbare Auflösung erheblich behinderten. Dieses Problem konnte von Stefan Hell durch Zweiphotonenanregung der Fluoreszenz überwunden werden, wobei er Femtosekundenlaser zur Anregung verwendete (P. E. Hänninen, S. W. Hell, J. Salo, E. Soini, C. Cremer, 1995).

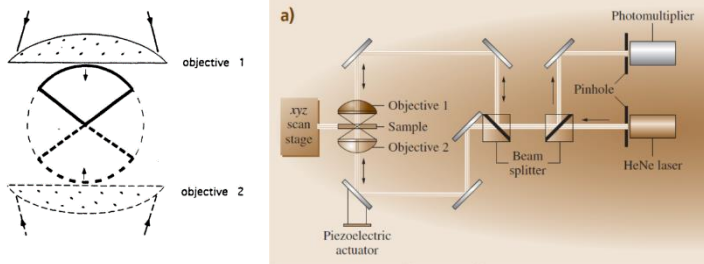


Abb. 5. Realisierung eines supraauflösenden 4Pi Mikroskops.

Links: Schematische Darstellung. Die "4 π " Beleuchtung (gestrichelt) wird hier angenähert durch zwei einander gegenüberliegende Objektive hoher numerischer Apertur (aus Hell et al. 1994).

Rechts: Optischer Strahlengang des ersten 4Pi-Mikroskop Systems (S. Hell, S. Lindek, C. Cremer, E. H. K. Stelzer 1994), aus Cremer (2012).

Das Prinzip der konfokalen Zweiphotonen 4Pi Mikroskopie wurde in den folgenden Jahren von Leica Microsystems (s.o.) zu einem kommerziellen Gerät weiter entwickelt. Eines der ersten dieser Zweiphotonen 4Pi Mikroskope wurde mir von der DFG als einem der Beteiligten der ersten Stunde zur Verfügung gestellt. Mit rund 1,1 Millionen Euro Verkaufspreis war es im Jahre 2004 eines der teuersten Lichtmikroskopiesysteme, die bis dahin jemals verkauft worden waren. Mit einer axialen Auflösung von ca. 100 nm bei Femtosekundenanregung ($\lambda_{exc} \sim 750$ nm) im Zweiphotonenmodus erreichte es eine "Volumenauflösung" (Hell & Stelzer 1992; Lindek et al. 1994, 1996), die um einen Faktor 5–7 besser war als mit konventioneller konfokaler Mikroskopie. Dank dieser erheblichen Steigerung der 3D Auflösung gelang es erstmals, die dreidimensionale Struktur einer wichtigen Untereinheit des Zellkerns lichtmikroskopisch aufzulösen (Lang et al. 2010). Ein weiteres Anwendungsbeispiel war die stark verbesserte Strukturanalyse von Reparaturkomplexen im Zellkern nach Induktion von Chromosomenschäden durch ionisierende Strahlung; dies wurde ermöglicht mit einem Leica 4Pi System, das durch meine

Veranlassung zur gleichen Zeit in einem neugegründeten "Institute of Molecular Biophysics" (University of Maine/Jackson Laboratory, Bar Harbor/ME) installiert und von Joerg Bewersdorf betrieben wurde, der auf diesem Gebiet bei Stefan Hell promoviert hatte. Der University of Maine und dem Jackson Laboratory war ich von 2004 bis 2014 als "Adjunct Senior Staff Scientist" bzw. Adjunct Professor of Physics verbunden gewesen (Gründungsdirektor Prof. Michael Grunze, Phys. Chem. Institut der Universität Heidelberg).

Die oben beschriebene 4Pi Mikroskopie mit zwei Objektivlinsen war der Ausgangspunkt für eine weitere Art der Hochleistungsmikroskopie, die Konfokale Theta-Fluoreszenzmikroskopie (S. Lindek, N. Salmon, C. Cremer, E. H. K. Stelzer, 1994; S. Lindek, C. Cremer, E. H. K. Stelzer, 1996). In dieser von Ernst Stelzer am EMBL mit anfänglicher Unterstützung unserer Arbeitsgruppe entwickelten Methode wird für die Detektion der durch ein erstes Objektiv angeregten Fluoreszenz ein zweites Objektiv eingesetzt, das senkrecht zum Beleuchtungsobjektiv aufgestellt wird. Ursprünglich diente dieses dazu, um die Lösung des Phasenproblems bei der 4Pi Mikroskopie zu erleichtern. In den folgenden Jahren verband Ernst Stelzer diesen Grundgedanken der orthogonalen Detektion mit der Möglichkeit, die laseroptische Anregung der Fluoreszenz mit einem durch eine Zylinderlinse erzeugten dünnen "Lichtblatt" (kleinster Durchmesser im Mikrometerbereich) vorzunehmen, und damit das Objekt abzutasten; diese optische Grundanordnung war ähnlich derjenigen, wie sie von Michael Hausmann (heute Leiter der Experimentellen Biophysik am Kirchhoff Institut) in meiner Arbeitsgruppe Ende der 1980iger Jahre in dem Heidelberger Slit Scan Flußzytometer System realisiert worden war (Cremer et al. 1989). Das von Ernst Stelzer auf der Grundlage von 4Pi- und Thetamikroskopie entwickelte System war die Geburtsstunde einer unter dem Namen "Light Sheet Microscopy" bekannt gewordenen, heute weltweit in der Entwicklungsbiologie angewandten Methode, die es erstmals ermöglichte, große Zellverbände und die Embryonalentwicklung *in vivo* mit großer Zeit- und Ortsauflösung zu verfolgen (Keller et al. 2008).

Anfänge der Auflösungsverbesserung durch STED-Mikroskopie

Die mithilfe der 4Pi Mikroskopie erreichte (axiale) Auflösung betrug ca. 100 nm. Das war ein großer Fortschritt, aber vielfach bei weitem nicht ausreichend. Wie kann man die optische Auflösung darüber hinaus verbessern?

Hierzu hatte Stefan Hell im September 1993 eine geniale Idee: Die Nutzung induzierter Farbänderungen, um zwei nahe beieinander gelegene fluoreszierende Punktlichtquellen voneinander optisch isolieren und damit auflösen zu können. Grundlage für die Verwirklichung war wiederum die Laser Scanning Fluoreszenzmikroskopie mit ihrer punktwisen Abtastung des Objekts, diesmal aber erweitert durch einen zweiten geeignet fokussierten und positionierten Laserstrahl, der die Emission benachbarter Moleküle durch stimulierte Emission so veränderte, dass sie mit geeigneten Filtern von den im Zentrum des Anregungsstrahls befindlichen Molekülen unterschieden und damit "optisch isoliert" werden konnten.

Dieses Konzept publizierte er 1994, zusammen mit Jan Wichmann, einem Doktoranden von Prof. Jürgen Wolfrum am Heidelberger Institut für Physikalische Chemie (Hell & Wichmann 1994). Die experimentelle Realisierung des STED Mikroskopiekonzepts von Stefan Hell wurde von mir nach Kräften unterstützt (Schrader et al. 1995; Hell et al. 1999).

Wie allgemein bekannt, erhielt Stefan Hell für seine grundlegenden Beiträge zur Überwindung der Auflösungsgrenze durch "Focused Nanoscopy" im Jahre 2014 den Nobelpreis für Chemie. Damit ist er nach Theodor Hänsch (Nobelpreis für Physik 2005) das zweite ehemalige Mitglied des früheren Instituts für Angewandte Physik, das diese Auszeichnung im Bereich Optik erhielt.

"Super-Resolution" durch Lokalisationsmikroskopie Grundprinzip

Im Folgenden möchte ich auf komplementäre Ansätze zur Superresolution eingehen, die in meinem Forschungsbereich seit Mitte

der 1990iger Jahre unabhängig von den Arbeiten von Stefan Hell erfolgten.

Der Ausgangspunkt war wiederum die durch die 4Pi Mikroskopie erreichte Verbesserung der Auflösung und Perspektiven einer weiteren Verbesserung.

Neben Stimulierter Emission gibt es noch weitere Möglichkeiten, zwei eng benachbarte fluoreszierende Punktobjekte getrennt voneinander detektieren und damit optisch isolieren, d.h. auflösen zu können. Bereits Rayleigh hatte 1895 darauf hingewiesen, dass das Maximum der Intensitätsverteilung eines Airy Disks die Position der Punktlichtquelle mit "beliebiger Genauigkeit" (d.h. wie in der Strahlengeometrie) wiedergibt. Diese allgemein bekannte Tatsache brachte mich zu folgender Überlegung, die in einer handschriftlichen Notiz vom 7. Dezember 1993, betitelt "Auflösungssteigerung durch Mehrfarbenmarkierung" niedergelegt wurde.

Die Idee war, zur optischen Isolation zweier benachbarter fluoreszierender Punktobjekte Unterschiede in den spektralen Eigenschaften zu nutzen. Als Beispiel ging ich von zwei mit verschiedenen Absorptions/Emissionsspektren fluoreszierenden Punktobjekten in einem Abstand < 80 nm entlang der optischen Achse aus, also weit unterhalb des "Abbe-Limits" von ca. 200 nm sowie der mit Konfokalmikroskopie erreichbaren axialen Auflösungsgrenze von ca. 500 nm. Dann sollte es möglich sein, durch die verschiedenen "Farbzustände" die Positionen der Maxima der beiden Airy Disks getrennt voneinander mit Nanometergenauigkeit zu vermessen und damit optisch aufzulösen. Als Konsequenz wurde postuliert: "Also läßt sich die Distanz d auch auf ± 10 nm genau bestimmen." Das entspricht einer optischen Auflösung von ca. $1/40$ Wellenlänge.

Während der nächsten Jahre wurde dieser Grundgedanke von mir zu einem allgemeinen Konzept der Auflösungsverbesserung in der Fernfeldfluoreszenzmikroskopie (Arbeitsabstände im Bereich mehrerer hundert Wellenlängen und mehr) im 300 Kelvinbereich weiter entwickelt und 1996 zum Patent angemeldet (Cremer et al.

1996, 1998, 1999; Bornfleth et al. 1998). Darin beschrieben wir das Grundprinzip und wiesen darauf hin, dass es im Prinzip auf beliebige Fernfeldmikroskopische Verfahren anwendbar sein; insbesondere sollte es nicht nur in Laserscanningtechniken einsetzbar sein, sondern sogar bei homogener Beleuchtung des Gesichtsfeldes, wie es in der konventionellen, Weitfeldbasierten Fluoreszenzmikroskopie geschieht. Ein wesentlicher Punkt in dieser Anmeldung waren Verfahren zur präzisen Kalibration von chromatischen Aberrationen; ohne diese wäre die tatsächlich erreichbare optische Auflösung auch bei extrem gut korrigierten Objektiven auf Werte oberhalb ca. 30 nm limitiert gewesen. Peter Edelmann, damals wiss. Assistent der Arbeitsgruppe, realisierte Methoden zur Nanometergenauen Korrektur der chromatischen Aberration in 3D (Edelmann et al. 1999a,b).

Wir erhielten sofort weltweite Patente für dieses Konzept: An eine so "triviale" Lösung des Abbe-Problems hatte anscheinend noch (fast) niemand ernsthaft gedacht.

Allerdings hatte Eric Betzig einige Monate zuvor (Betzig 1995) ein verwandtes Konzept der Lokalisationsmikroskopie beschrieben. Im Gegensatz zu unserer Idee bezog es sich aber auf die Verbindung von kryogener Fluoreszenzspektroskopie im 4 Kelvin Bereich und Nahfeld Scanning Mikroskopie (Arbeitsabstand Bruchteile einer Wellenlänge); eine Anwendung in der Fernfeldmikroskopie mit Objektiven hoher numerischer Apertur und im 300 K Bereich wurde als sehr schwierig angesehen und nicht näher diskutiert. Auch wurde nicht auf die Korrektur der chromatischen Aberrationen eingegangen, die bei Verwendung von Farbstoffen mit großem Stokesshift auch bei sehr gut korrigierten Objektiven von essentieller Bedeutung für die Anwendung des Prinzips der Lokalisationsmikroskopie wird.

Abb. 6 zeigt das Prinzip des von uns "Spektrale Präzisionsmikroskopie" (SPDM) genannten Konzepts der Fernfeldbasierten Lokalisationsmikroskopie, wie es in einem Vortrag von mir im Jahre 2002 am Jackson Laboratory dargestellt wurde. In dieser numerischen (skalaren) Simulation (P. Edelmann) vom Ende der

1990iger Jahre wurden drei fluoreszierende Moleküle im Abstand von 50 nm angenommen. Bei Markierung mit derselben spektralen Signatur können die Positionen natürlich nicht einzeln detektiert (aufgelöst) werden. Bei Markierung mit unterschiedlichen Signaturen und jeweils optisch getrennter Detektion können die Mittelpunkte der Airy Disks unabhängig voneinander bestimmt werden. Die so mit Nanometergenauigkeit gefundenen Positionen werden dann in eine gemeinsame Lokalisationskarte eingetragen.

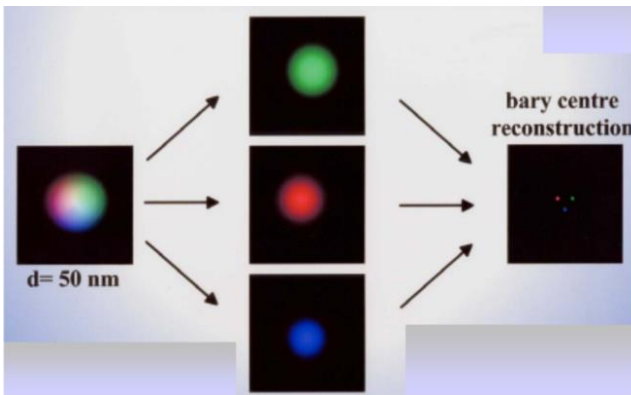


Abb. 6. Grundprinzip der Fernfeld basierten Lokalisationsmikroskopie.

Links: Drei Moleküle (fluoreszierende Punktlichtquellen) werden mit jeweils verschiedenen "spektralen Signaturen" ("Grün"; "Rot"; "Blau") markiert (z.B. Unterschiede in Absorptions/Emissionsspektrum, Fluoreszenzlebensdauer, Lumineszenz); die Detektionsoptik "sortiert" die emittierten Photonen gemäß ihrer "Signatur" e.g. durch geeignete Emissionsfilter;

Mitte: bei der jeweils ausgewählten Signatur werden drei "optisch isolierte" Beugungsbilder (Airy Disks) registriert.

Rechts: Die mithilfe verschiedener Auswertungsalgorithmen erhaltenen Mittelpunkte der Airy Disks werden mit Nanometergenauigkeit (in Objektkoordinaten) bestimmt und in eine gemeinsame Lokalisationskarte eingetragen (Cremer et al. 1996, 1999; Bornfleth et al. 1998).

Lokalisationsmikroskopie mit photostabilen "spektralen Signaturen"

Für die experimentelle Realisierung ist es entscheidend, verschiedene Moleküle mit unterschiedlichen Signaturen versehen zu können. Eine erste Lösungsidee (Cremer et al. 1996) war es, permanente Signaturen zu verwenden, z.B. photostabile Unterschiede im Absorptions/Emissionsspektrum, Lebensdauer etc.

Die erste biophysikalische "Proof-of-Principle" Anwendung dieses lokalisationsmikroskopischen Ansatzes wurde in Zusammenarbeit mit einer Arbeitsgruppe am Tel Hashomer Hospital (Tel Aviv University/Israel) durchgeführt (Esa et al. 2000). Hier haben wir zum erstenmal in Zellkernen von Leukämie Patienten quantitative Messungen zur Nanostruktur der mit diesem Blutkrebs verbundenen Chromosomenveränderung durchgeführt. Dabei wurden drei Fluoreszenzfarbstoffe mit verschiedenen Absorptions/Emissionscharakteristiken verwendet, die jeweils an bestimmte kurze DNA Abschnitte verschiedener Sequenz gebunden wurden; die in jedem Zellkern nach sorgfältiger chromatischer Korrektur erhaltenen "Positionsdreiecke" (s. Abb. 6) wurden mit numerischen Simulationen dieser Nanostrukturen auf der Basis eines Polymermodells verglichen und zeigten, dass diese chromosomale Nanostruktur im Zellkern eine nicht-stochastische Struktur hat. Die erreichte 3D optische Auflösung (entsprechend der Definition von Rayleigh als kleinste detektierbare Distanz zwischen zwei selbstleuchtenden Punktquellen) betrug ca. 40 nm, etwa 1/12–1/15 der verwendeten Wellenlängen. In einem gemeinsamen DFG Projekt mit Kollegen des Phys.Chem. Instituts der Universität Heidelberg wurden weitere "Proof-of-Principle" Experimente realisiert (Heilemann et al. 2002), in denen erstmalig gezeigt wurde, dass die Zeitdomäne – in diesem Falle Messungen der Fluoreszenzlebensdauer durch "Time Correlated Photon Counting" zu einer drastischen Verbesserung der optischen Auflösung von einzelnen Molekülen (ca. 20 nm, ~1/30 der verwendeten Anregungswellenlänge) herangezogen werden konnte.

Für viele Fragestellungen sind wenige "spektrale Signaturen" mit hoher optischer Auflösung ausreichend, wie das o.g. Beispiel zeigt. Für andere Probleme aber ist es wünschenswert, über die *optische* Auflösung hinaus auch die *strukturelle* Auflösung zu erhöhen, d.h. die *Dichte* der unterscheidbaren Positionen über das mit konventioneller Mikroskopie mögliche Maß zu steigern. Je mehr unterschiedliche "spektrale Signaturen" verwendet werden können, desto höher ist diese Dichte und damit die erreichbare strukturelle Auflösung. Ferner war es wünschenswert, das oben beschriebene Lokalisationsmikroskopieverfahren auch auf die verbesserte Auflösung von Molekülen *desselben* Typs anwenden zu können. In einer Patentanmeldung von 2002 (Cremer et al. 2002) haben wir erste Vorschläge hierzu gemacht, die auf einer stochastischen Bindung von Fluorophoren verschiedener spektraler Signatur beruhten.

Zu den Möglichkeiten dieser Methode gibt Abb. 7 ein numerisches Simulationsbeispiel mit 30 photostabilen Fluorophoren bei stochastischer Bindung an die Zielmoleküle (Birk et al. 2017b). Im Vergleich zur konventionellen Grenze ist eine erhebliche Verbesserung der Strukturauflösung erkennbar.

Die experimentelle Realisierung einer so hohen Zahl von photostabilen Signaturen wäre physikalisch möglich, jedoch sehr aufwändig. In den Jahren 2004–2006 war ich an einem Kooperationsprojekt mit dem Jackson Laboratory und der University of Maine beteiligt, wo wir versuchten, diese Art von Multiplex Lokalisationsmikroskopie mithilfe von Raman Signaturen zu realisieren. Unter anderem war daran Samuel Hess beteiligt (heute Professor of Physics an der University of Maine), dessen Mentor ich damals sein durfte, und der ganz wesentlich zur methodischen Weiterentwicklung der Lokalisationsmikroskopie beitrug (s.u.).

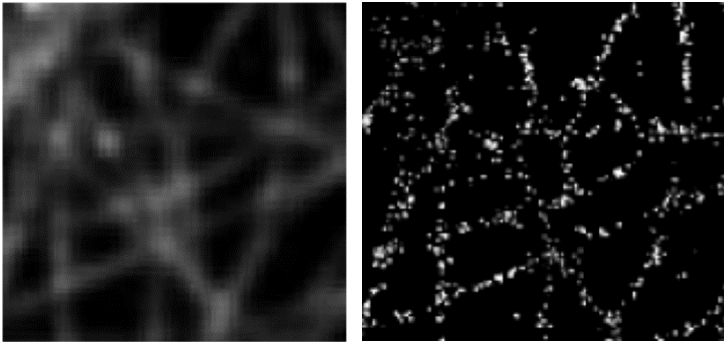


Abb. 7. Lokalisationsmikroskopie mit photostabilen Fluorophoren und erhöhter optischer und struktureller Auflösung.

Annahmen: Stochastische Bindung von Fluorophoren mit 30 verschiedenen "spektralen Signaturen" an zelluläre Protein-Polymere (Mikrotubuli).

Rechts: Lokalisationsbild. Jeder einzelne kleine "Spot" repräsentiert ein einzelnes gebundenes Fluoreszenzmolekül nach "Blurring" mit der Lokalisationsgenauigkeit.

Links: dieselben Strukturen bei konventioneller Höchstauflösung. Aus Birk et al. (2017b).

Lokalisationsmikroskopie mit "blinkenden" Nanodots und Proteinen

Eine alternative Lösung des o.g. Problems einer Lokalisationsmikroskopie mit erhöhter *struktureller* Auflösung, war es, *zeitlich nacheinander* pro Airy Disk immer nur ein einzelnes Molekül zu registrieren, und die anderen für den Detektor "im Dunkel" zu lassen, indem die Moleküle räumlich *und zeitlich* stochastisch verteilt zum 'Blinken' gebracht werden. Ich selbst wurde im Dezember 1999 zu einer solchen Idee angeregt von der Welt der blinkenden Weihnachtsbäume in San Francisco, fand damals aber keinen Weg, wie eine solche Idee unter Verwendung nur eines einzigen Fluorophortyps realisiert werden könnte.

Rainer Heintzmann, ein ehemaliger Doktorand (Physik) meines Heidelberger Forschungsbereichs (damals Group Leader am King's College London, derzeit Lehrstuhlinhaber an der Universität Jena) war der erste, der das oben skizzierte Grundkonzept der lokalisationsmikroskopischen Superauflösung mit laserinduziert blinkenden Halbleiter "Nanodots" experimentell in der Weitfeldfluoreszenzmikroskopie realisierte und im September 2005 in einer optischen Fachzeitschrift publizierte (Lidke et al. 2005). Er machte auch detaillierte Vorschläge, wie diese Idee auf die Lokalisationsmikroskopie zellulärer Nanostrukturen mithilfe fluoreszierender Proteine angewandt werden könnte. Samuel Hess und seine Kollegen aus dem von mir erwähnten Lokalisationsmikroskopieprojekt an der University of Maine haben diese Idee der Arbeitsgruppe Heintzmann aufgegriffen und derartige Experimente zur 'Blinking' basierten Superauflösung mit photoschaltbaren Proteinen im Dezember 2006 publiziert (Hess et al. 2006), leider einige wenige Monate zu spät: Die Idee von Rainer Heintzmann (2005) zur Verwendung blinkender fluoreszierender Punktlichtquellen wurde unmittelbar nach seiner Veröffentlichung durch eine Kollaboration von Kollegen am Howard Hughes Institute Janelia Farm und am National Institute of Health/Bethesda in den USA aufgenommen und experimentell realisiert; am 10. August 2006 wurde sie in "Science" publiziert und fand sofort große Beachtung (Betzig et al. 2006). Eric Betzig, der Erstauteur dieser Arbeit und ein Pionier suprauflösender Lichtmikroskopiemethoden seit den 1980iger Jahren (s.o.), erhielt dafür 2014 zusammen mit Stefan Hell ebenfalls den Nobelpreis für Chemie. Als dritter Preisträger wurde William Moerner (Stanford) geehrt, der in den 1990iger Jahren die photophysikalischen Grundlagen der "photoswitching" basierten Lokalisationsmikroskopie gelegt hatte.

***Photoswitching* basierte Lokalisationsmikroskopie mit synthetischen Fluorophoren**

Ein Nachteil der "Betzig-Methode" in der biomedizinischen Forschung war die Notwendigkeit, sehr spezielle photoschaltbare Proteine verwenden zu müssen. Dies bedeutete zahlreiche Beschränkungen und schloss z.B. praktisch alle Anwendungen in der medizinischen Diagnostik aus, dem größten Anwendungsgebiet der Lichtmikroskopie.

In meinem Labor gehörten wir im Herbst 2007 zu den allerersten, die Wege fanden, das Grundprinzip der "Blinking" basierten Superauflösung mit ganz normalen einzelnen Standard Fluorophoren in effektiver und methodisch einfacher Weise zu realisieren. Dies ermöglicht es heute, die Verteilung beliebiger Proteine, der DNA oder spezifischer DNA/RNA Sequenzen in der Zelle mit molekularer Auflösung quantitativ analysieren und bildlich sichtbar machen zu können.

Die Grundidee hierzu war die Beobachtung, dass viele Moleküle nicht einen einzigen "Dunkel"zustand haben, sondern mehrere. Durch geeignete Induktion dieser Dunkelzustände durch spezifische Kombinationen von Laserfrequenz, Intensität und chemischer Umgebung fanden wir Wege, eine effektive optische Isolation und lokalisationsmikroskopische Superauflösung zu realisieren. Von größter Bedeutung war hier in vielen Fällen eine sehr viel höhere Beleuchtungsintensität, als sie typischerweise in der konventionellen Weitfeldmikroskopie genutzt wird und als sie in den lokalisationsmikroskopischen Experimenten von Betzig und Hess verwendet wurde. Während eines Ferienaufenthaltes im September 2007 stellte ich erste Überlegungen in dieser Richtung an, die wir nach meiner Rückkehr nach Heidelberg realisierten. Dazu fügten wir eine langbrennweitige Linse (zu Beginn eine einfache Leselupe) in den Strahlengang eines unter Federführung von Dr. Udo Birk in den Jahren 2003–2004 konstruierten Mikroskopsystems zur Auflösungsverbesserung mit Axial Strukturierter Beleuchtung (s.u.) ein. Die hierdurch erzielte Steigerung der Anregungsintensität von ca. 0.5 kW/cm^2 auf etwa $5\text{--}25 \text{ kW/cm}^2$

reichte aus, zusammen mit Standardeinbettungsmedien und unter Verwendung nur einer einzigen Laserwellenlänge die gewünschte effiziente stochastische optische Isolation in Raum und Zeit zu realisieren. Im Rückblick ist es erstaunlich, dass eine derartig einfache Realisierung einer Lichtmikroskopie mit molekularer Auflösung nicht sehr viel früher gefunden worden ist, weder von uns noch von anderen.

Bei dieser von uns erstmals so realisierten Lokalisationsmikroskopie war in vielen Fällen eine einzige Laserwellenlänge pro Molekültyp ausreichend. Die in vielen tausenden von Einzelbildern gemessenen "optisch isolierten" Einzelmolekülpositionen wurden in eine gemeinsame Lokalisationskarte eingetragen, entsprechend dem Grundprinzip der Fernfeld-basierten Lokalisationsmikroskopie (Abb. 6). Am Schluss ergab sich ein Gesamtbild mit ganz erheblich gesteigerter optischer und struktureller Auflösung. Wie bei anderen Methoden der Superauflösung galt auch hier, dass jedes aufgenommene Einzelbild dem Abbe/Rayleigh Limit genügt. Die Steigerung der Auflösung ergab sich erst aus der Kombination vieler solcher Einzelbilder. Alle beruhen sie auf der Kombination von vielen Fluoreszenzsignalen, wobei jedes Einzelsignal den wellentheoretischen Auflösungskriterien genügt; da sie aber tatsächlich in der Lage sind, z.B. die räumliche Verteilung einzelner Moleküle mit Abständen weit unterhalb des Abbe-Limits korrekt zu vermessen und als Bild darzustellen, hat sich der Ausdruck "Super-Resolution Microscopy" oder "Nanoscopy" durchgesetzt.

Die von uns im Herbst 2007 experimentell erstmals durchgeführte, und im Frühjahr 2008 erstmals publizierte Methode einer effizienten, einfachen, Einzelmolekülbasierten Lokalisationsmikroskopie insbesondere von Standardfluorochromen (Reymann et al. 2008; Lemmer et al. 2008, 2009; Kaufmann et al. 2009;) hat unter verschiedenen Namen jetzt allgemeine Anwendung gefunden (Übersicht: Cremer 2011; Cremer et al. 2010, 2011; Cremer & Masters 2013; Cremer et al. 2017).

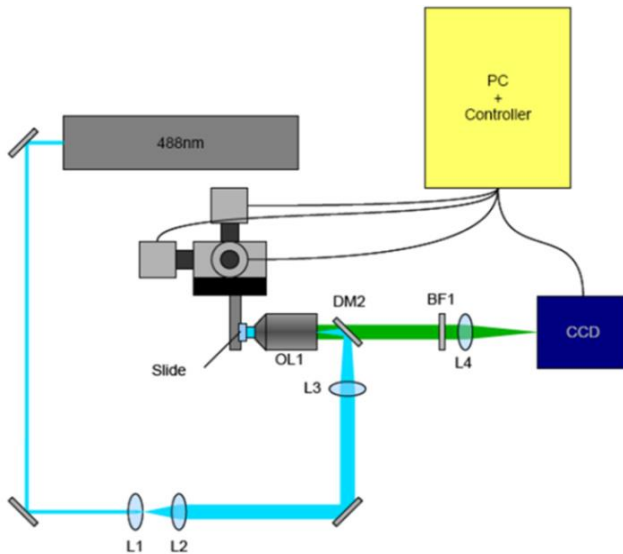


Abb. 8. Ein minimales laseroptisches System für Lokalisationsmikroskopie mit 'blinkenden' Fluorophoren.

OL1 Objektiv hoher numerischer Apertur, *CCD* Kamera, *L1–L4* Linsen, *DM2* Dichroitischer Teilerspiegel, *BF1* Emissionsfilter, *Slide*: Objekt-position (Reymann et al.,2008; Lemmer et al, 2008, 2009; Kaufmann et al., 2009).

Abb. 8 zeigt ein von uns im Herbst 2007 erstmals realisiertes minimales laseroptisches System für Super-Resolution mit Standardfarbstoffen. Wesentliche Elemente sind eine effiziente geeignete intensive Lichtquelle (in diesem Beispiel ein Argon Laser mit $\lambda_{\text{ex}} = 488 \text{ nm}$), eine abbildende Optik und eine schnelle und sensitive Registrierung. Dieses System erlaubte uns im Weitfeldmodus (homogene Beleuchtung des Gesichtsfeldes) eine optische intrazelluläre Auflösung von Proteinkomplexen der Kernhülle von ca. 40 nm oder 1/15 der verwendeten Wellenlänge zu realisieren. Die dazu erforderlichen Computerprogramme für rasche Bildfolge der Mikroskopieaufnahmen (50 und mehr pro

Sekunde) und lokalisationsmikroskopische Datenverarbeitung sind heute allgemein verfügbare Routine; damals waren sie Neuland. Zu ihrer Entwicklung haben in der Arbeitsgruppe insbesondere Dr. David Baddeley (heute Assistant Professor an der Yale University), Dr. Udo Birk (heute Privatdozent für Experimentalphysik Universität Mainz und Dozent an der Hochschule für Technik und Wirtschaft in Chur/CH), Dr. Paul Lemmer und Dr. Rainer Kaufmann (später Oxford, seit 2017 Universität Hamburg) beigetragen.

Die hinter diesem Lokalisationsmikroskopieverfahren stehende Photophysik ist außerordentlich komplex und stark von den jeweils untersuchten Farbstoffen abhängig. Wesentliche Beiträge zur Aufklärung dieser Mechanismen haben dabei Michael Heilemann (heute Professor an der Universität Frankfurt) und Markus Sauer (heute Professor an der Universität Würzburg) geleistet, zwei Kollegen aus dem Phys. Chem. Institut der Universität Heidelberg, die an dem o.g. Kollaborationsprojekt zur Lokalisationsmikroskopie mit Molekülen verschiedener Lebensdauer (Heilemann et al. 2002) beteiligt gewesen waren.

Ein wesentlicher Vorteil des beschriebenen Verfahrens zur fernfeldmikroskopischen Superauflösung einzelner Moleküle war die Möglichkeit, auf einfache Weise sehr viele verschiedene Standardfluorochrome einsetzen zu können. Hierzu haben wir das in Abb. 8 gezeigte System um verschiedene Laserfrequenzen erweitert. Die mit dieser Methode von uns erreichte Bestauflösung beträgt derzeit ca. 5 nm, entsprechend 1/100 der Anregungswellenlänge. Durch Nutzung astigmatischer Aberrationen gelang es uns, die Einzelmolekülauflösung auch entlang der optischen Achse erheblich zu steigern, gegenwärtig auf ca. 50 nm, oder 1/10 der Anregungswellenlänge.

Die vorgehend beschriebenen supraauflösenden Mikroskopiemethoden erlaubten nunmehr die lichtmikroskopische Erforschung von Nanostrukturen des Genoms im Zellkern. Dies eröffnete vielfältige Anwendungsperspektiven, wie die Diagnostik von Genomschäden durch ionisierende Strahlung und chemische

Mutagene; die Biophysik der Genregulation; die Entwicklung von Arzneimitteln zur direkten Kontrolle einzelner Gene; die Analyse der zellulären Verteilung von Pharmaka mit molekularer Auflösung; oder die Nanostrukturanalyse von Viren und Bakterien (Cremer 2011; Cremer et al. 2010, 2011, 2014, 2017).

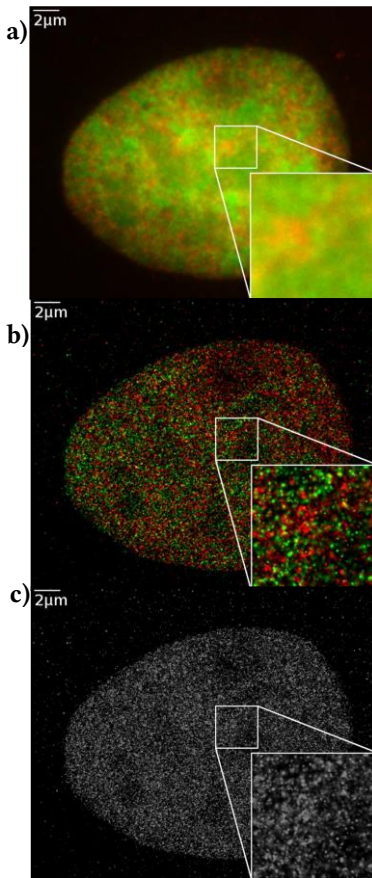
Lokalisationsmikroskopie von Nanostrukturen des Zellkerns

Zweifarbigen-Lokalisationsmikroskopie von Kern-Proteinen

Im Folgenden sollen einige Beispiele der mit den oben skizzierten lokalisationsmikroskopischen Verfahren erzielten Bilder "vom Innersten des Zellkerns" vorgestellt werden.

Abb. 9a zeigt ein konventionelles Bild einer Knochenmarks-Krebszelle mit zwei Proteinsorten, die für Verpackung und Regulation des Genoms wichtig sind. Die zwei Molekülsorten sind in unterschiedlichen Farben dargestellt.

Die Abbe'sche Auflösungsgrenze ergibt ein verwaschenes Bild mit sehr geringer Strukturinformation. Das in Abb. 9b gezeigte Lokalisationsbild hingegen zeigt klar die Positionen der einzelnen Moleküle. Diese können nun in vielfältiger Weise quantitativ analysiert werden, wie in der Astrophysik die einzelnen Sternpositionen. Zum Beispiel kann man die aus den Einzelmolekülpositionen berechneten Distanzverteilungen und Clusterbildungen zur Charakterisierung von unterschiedlichen Zelltypen nutzen, sowie sie mit numerischen Modellen der Chromatinstruktur vergleichen (Münkel et al. 1995; Kreth et al. 2004a,b). Mit solchen Untersuchungen haben wir begonnen, u.a. in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dieter Heermann am Theoretisch Physikalischen Institut der Universität Heidelberg (Bohn et al. 2010). Hätte man wie bei der ursprünglich von Betzig publizierten "PALM" Methode (Betzig et al. 2006) nur eine einzige Farbe zur Verfügung (siehe Abb. 9c), so ergäbe sich zwar eine Superauflösung im optischen Sinne, aber keine Steigerung der biophysikalisch nutzbaren Bildinformation: "Blinking" und "Farbe" gehören also eng zusammen.



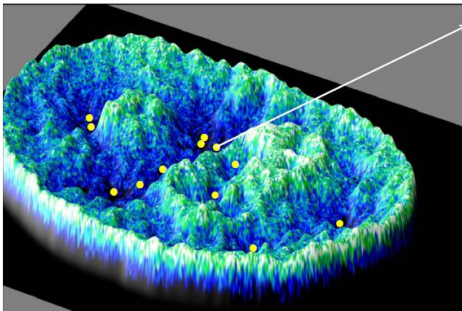
a) Konventionelle Mikroskopieaufnahme (hohe numerische Apertur)
b) Derselbe Kern mit demselben Objektiv aber mit dem Verfahren der Lokalisationsmikroskopie (Abb. 8). Die kleinsten Punkte repräsentieren die Positionen von einzelnen Histon (rot) bzw. SnfH2 (grün) Molekülen. Um die durch die Lokalisationsgenauigkeit σ_{loc} gegebenen Grenzen der Auflösung bildlich darzustellen, wurden die einzelnen Molekülpositionen mit einer σ_{loc} entsprechenden Gaussfunktion "verwaschen".
c) Wie b) aber hier wurde die Farbinformation beseitigt, entsprechend dem ursprünglichen monochromatischen Verfahren von Betzig et al. (2006).
Aus Gunkel et al. 2009, modifiziert.

Abb. 9. Lokalisationsmikroskopie der Verteilung individueller Proteine im Kern einer menschlichen Knochenmarks-Krebszelle. Rot: Histon H2 Moleküle (positiv geladene Verpackungsmoleküle der negativ geladenen DNA. Die Markierung erfolgte mithilfe der Kopplung der Histonmoleküle an ein "rot fluoreszierendes Protein" (mRFP) Grün: SnfH2 (Proteine, die die Verpackung der DNA beeinflussen). Die Markierung erfolgte mithilfe der Kopplung der SnfH2-Moleküle an ein "grün fluoreszierendes Protein" (GFP).

Die in Abb. 9 dargestellten Ergebnisse waren die letzten, die noch vor meiner im August 2009 erfolgten Emeritierung erzielt wurden. Dank des Entgegenkommens meiner Kollegen vom Kirchhoff-Institut für Physik durfte ich aber noch bis Ende 2011 meine dortigen Untersuchungen zur Superauflösenden Lichtmikroskopie weiterführen. Dann siedelte die Arbeitsgruppe teilweise an das Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie (IPMB) der Universität Heidelberg über; vor allem aber ergab sich dank des Angebots (2010) von Prof. Christoph Niehrs die Möglichkeit, diese hoch spannenden Forschungsarbeiten an dem von ihm neugegründeten Institut für Molekulare Biologie (IMB) in Mainz fortzusetzen (Arbeitsgruppe "Super-Resolution Microscopy"). Das IMB wurde im Jahre 2011 aufgrund einer großzügigen Donation (100 Mio €) der Böhlinger Stiftung an die Universität Mainz gegründet und fand Platz in einem neuerrichteten Gebäude gegenüber dem dortigen Physik Department. Die folgenden Ergebnisse wurden teilweise bereits am IMB/IPMB erzielt, sollen aber der Vollständigkeit des Überblicks halber hier ebenfalls aufgenommen werden, zumal gemäß Landesgesetz und Grundordnung ja auch ein Heidelberger Emeritus weiterhin ein volles, zu Lehre und Forschung berechtigtes Mitglied seiner Universität bleibt.

Mit verbesserten Methoden gelang uns in den letzten Jahren eine erhebliche Steigerung der strukturellen Auflösung: Abb. 10 zeigt die 3D Verteilung der DNA im Kern einer anderen menschlichen Krebszelle.

Es ergibt sich das Bild einer "Nanoschweiz", mit Bergen hoher DNA Dichte und tiefen Tälern sehr geringer DNA Dichte. Gemäß einem Modell der funktionellen Struktur des Zellkerns (T. Cremer et al. 2015) sind diese großen Dichteunterschiede (bis zu mehreren Größenordnungen) wesentlich für die Funktionen des Zellkerns: In den Tälern geringer DNA Dichte liegen die aktiven Gene und die dafür erforderlichen Proteine.



(•) Die Orte der Genablesung (Transkription), Genverdopplung (Replikation), DNA Reparatur sind in den "Tälern" lokalisiert (geringe DNA Dichte).

Abb. 10. Lokalisationsmikroskopie der Dichtverteilung der DNA in einem "optischen Schnitt" eines menschlichen Zellkerns.

Die "Berge" zeigen hohe DNA Dichten an (bis $\sim 3 \times 10^3$ Molekülpositionen/ μm^2), die "Täler" geringe DNA Dichten. (Szczurek et al. 2014).

Lokalisationsmikroskopie des Zellkerns unter Infarktbedingungen

Herzinfarkt und Schlaganfall gehören zu den häufigsten Todesursachen weltweit. In Deutschland sind dies etwa 160,000 Todesfälle pro Jahr. Ihre physiologische Ursache haben beide "Killer" in einer Unterversorgung von Herzmuskel- bzw. Gehirnzellen mit Sauerstoff/Nahrungsstoffen; solche Ischämiebedingungen lösen eine Kettenreaktion aus, die zum Untergang des Gewebes führt.

In einer Zusammenarbeit mit dem Biochemiker und Molekularbiologen Dr. George Reid (IMB; heute EMBL Heidelberg) haben wir erstmals erforscht, wie Sauerstoff und Nahrungsstoffmangel die Nanostruktur des Zellkerngenoms beeinflusst.

Abb. 11a zeigt ein supraaufgelöstes Lokalisationsbild des Kerns einer Herzmuskelzelle bei normaler Zufuhr von Sauerstoff und Nährstoffen. In Purpur sind einzelne kompakte Bereiche der Kern DNA dargestellt; blau gefärbte Bereiche stellen einzelne aktive Gendomanen dar. Nach Sauerstoffmangel wie bei Infarkt oder Schlaganfall ändert sich die Nanostruktur des Zellkerngenoms ganz drastisch, wie Abb. 11a rechts zeigt. Wir sind die ersten gewesen, die dies beobachten konnten.

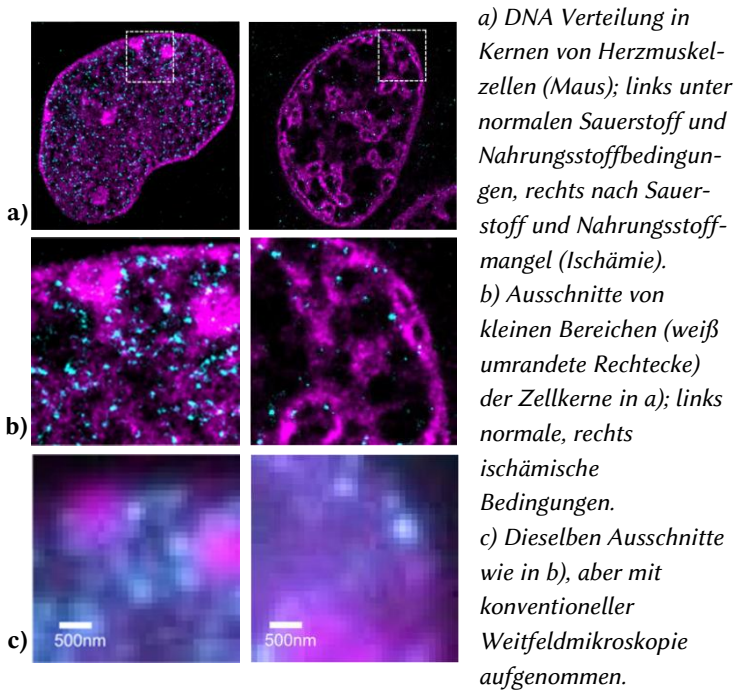


Abb. 11. Lokalisationsmikroskopie von Herzmuskelzellen unter Infarktbedingungen.

Purpur: DNA hoher Dichte; Blau: Bereiche mit aktiven Genen in Bereichen niedriger DNA Dichte. Die Skala (500 nm) in c) gilt auch für b). Aus Kirmes et al. (2015), modifiziert.

Die in b) gezeigten Ausschnitte lassen erkennen, dass die aktiven Gendomanen sich in Zonen niedriger DNA befinden, am Rande von Bereichen hoher DNA Dichte. Dies ist ein weiteres Beispiel für die auch durch elektronenmikroskopische Befunde unterstützte Hypothese, dass die Verteilung der aktiven und inaktiven Zonen auf der Nanostrukturebene im Zellkern von bestimmten Ordnungsprinzipien bestimmt ist. Diese Ordnungsprinzipien bleiben offenbar auch unter Infarktbedingungen (Abb. 11a,b rechts) erhalten. Auch hier befinden sich die wenigen noch aktiven

Gendomänen in Bereichen niedriger DNA Dichte am Rande der Zonen hoher DNA Dichte (Purpur). Schauen wir uns die kleinen Ausschnitte in Abb. 11b) aber mit konventioneller Auflösung an (Abb. 11c), so wird das Bild extrem verschwommen.

Bei Wiederherstellung des normalen Sauerstoffgehalts wurde die normale Nanostruktur ebenfalls wieder weitgehend hergestellt: Es handelt sich also um zumindest teilweise reversible Änderungen der Genom-Nanostruktur! Hieraus ergeben sich Perspektiven zur Entwicklung neuer Pharmaka durch Kontrolle der Zellkern-Nanostruktur für die Therapie von Infarkt und Schlaganfall. Da den in Abb. 11 gezeigten Bildern in Wirklichkeit pro Zelle die Ortskoordinaten von vielen hunderttausenden von Einzelmolekülpositionen zugrunde liegen (Szczurek et al. 2014, 2016, 2017; Zurek-Biesiada et al. 2015, 2016), können Veränderungen der Genom-nanostruktur jetzt bis in den Bereich weniger Nanometer analysiert werden (Perez et al. 2016; Hausmann et al. 2017). Mit Lokalisationsmikroskopie werden also nicht allein sehr viel besser aufgelöste Bilder von zellulären Nanostrukturen erhalten (Prakash et al. 2015), sondern kleinste Strukturveränderungen werden messbar. Wie in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Michael Hausmann am Kirchhoff Institut gezeigt werden konnte, genügen in vielen Fällen bereits wenige tausend Einzelmolekülpositionen pro Zellkern, um quantitative Veränderungen der Zellkernstruktur nachzuweisen, wie sie z.B. als Folge von Reparaturprozessen nach ionisierender Strahlung (Zhang et al. 2015), aber auch bei Vitaminmangel auftreten (Bach et al. 2017). Eine Abschätzung zeigt, dass die Lokalisationsmikroskopische in der Lage sein sollte, noch kleinste Molekülkonzentrationen nachweisen zu können, bis in den Bereich von subattomolaren Konzentrationen (Oleksiuk et al. 2015; Stuhlmüller et al. 2015). Damit erreicht die Lokalisationsmikroskopie Nachweisgrenzen, wie sie bislang nur mit radioaktiven Verfahren realisiert werden konnten.

Gegenwärtig (2017) haben wir die oben skizzierten Verfahren der Lokalisationsmikroskopie zur Analyse der Nanostruktur des Genoms im Kern menschlicher Zellen zu einem Verfahren weiter

entwickelt, das es uns möglich gemacht hat, in einem einzelnen Kern die dreidimensionalen Positionen von vielen Millionen einzelnen DNA gebundenen Farbstoffmolekülen mit einem 3D Fehler von wenigen 10 nm zu vermessen; lokal konnten bis zu 70,000 individuelle Moleküle/ μm^2 lokalisiert werden, also pro kleinstem Airy Disc (200 nm Durchmesser) mindestens tausend mal mehr als mit konventioneller Auflösung möglich. Dies eröffnet völlig neue Möglichkeiten nicht nur für empirische Korrelationen zwischen Kerngenomstruktur und Genregulation, sondern auch für die theoretische Biophysik dieser Informations- und Steuerzentrale aller höheren Organismen.

Superauflösende Lichtmikroskopie mit strukturierter Beleuchtung ("optische Gitter")

Die bisher dargestellten supraauflösenden Verfahren wie 4Pi, STED und Lokalisationsmikroskopie haben die Nanowelt sichtbar werden lassen. Sie haben aber auch verschiedene Probleme, wie z.B. relativ kleine Gesichtsfelder, kleiner Arbeitsabstand, oder hohe Bestrahlungsintensitäten. Diese Probleme können mit einem alternativen Supermikroskopie Verfahren überwunden werden, das zum Schluß noch kurz skizziert werden soll: Die strukturierte Beleuchtung. Diese Alternative zu STED und Lokalisationsmikroskopie wurde von uns seit Mitte der 1990iger Jahre entwickelt.

Die erste von uns realisierte Methode war die axial strukturierte Beleuchtung ("Spatially Modulated Illumination"/SMI). Bei dieser wurden wie bei der 4Pi Mikroskopie zwei gegenläufige Mikroskopobjektive hoher numerischer Apertur verwendet. Diesmal aber wurde durch Fokussierung des Laserlichts in die Detektorseitigen Fokalebene der Objektive im Objektraum zwischen den Objektiven ein stehendes Wellenfeld erzeugt (Hausmann et al. 1997; Schneider et al. 1999, 2000; Baddeley et al. 2007, 2010); Wird ein kleines fluoreszierendes Objekt in präzisen Schritten (z.B. 10 nm) entlang der optischen Achse durch dieses Wellenfeld bewegt und bei jedem Schritt mit einer empfindlichen

CCD Kamera ein Bild aufgenommen, so ergibt sich als Resultat ein Bildstapel, aus dem die Position des Objekts mit hoher Lokalisierungsgenauigkeit (Bestwert 0.7 nm) bestimmt werden konnte (Albrecht et al. 2001). Bei "optisch isolierten" Objekten war ferner eine Größenmessung bis hinunter zu ca. 30 nm (1/20 der Anregungswellenlänge) möglich (Failla et al. 2003; Cremer et al. 2017); mittlere Veränderungen der Größe sollten mit diesem Verfahren bis in den 1 nm Bereich durchführbar sein. Mit diesem Verfahren gelang es uns erstmals, die Größe verschiedener "biomolekularer Maschinen" (BMMs) und Gendomänen im Zellkern sehr viel genauer abzuschätzen, als dies bislang lichtmikroskopisch möglich gewesen war (Martin et al. 2004; Hildenbrand et al. 2005; Mathee et al. 2006; Baddeley et al. 2010). Im Gegensatz zur typischerweise auf wenige kleine Ausschnitte beschränkten Elektronenmikroskopie erlaubte das SMI Verfahren, in wenigen Stunden viele tausende von solchen BMMs in intakten Zellkernen zu vermessen.

Im Rahmen seiner Doktorarbeit in meinem Forschungsbereich hat Rainer Heintzmann Ende der 1990iger Jahre Möglichkeiten realisiert, das Prinzip der strukturierten Beleuchtung auf die laterale Auflösungsverbesserung von fluoreszenzmarkierten Strukturen in der Objektebene zu übertragen (Heintzmann & Cremer 1999). Abb. 12 zeigt die erste hierzu im Jahre 1998 realisierte Versuchsanordnung.

Aus den unter verschiedenen Phasen und Richtungen aufgenommenen Einzelbildern konnte dann durch ein außerordentlich komplexes Verfahren im Fourierraum ein Bild mit erhöhter lateraler Auflösung rekonstruiert werden. Die Theorie besagte, dass bei linearer Fluoreszenzanregung eine Auflösungsverbesserung um den Faktor 2 möglich sein sollte. Mit einem verbesserten Gerät, das auf einer interferometrischen Modulation von kohärentem Licht beruhte, haben wir diesen theoretischen Grenzwert fast erreichen können (Best et al. 2011; Best et al. 2013). Mit nichtlinearer Anregung der Fluoreszenz (Heintzmann et al. 2002) sollte es sogar möglich sein, eine Auflösung bis hinunter zu

wenigen zehn Nanometer zu erreichen, ähnlich derjenigen in der STED Mikroskopie realisierten.

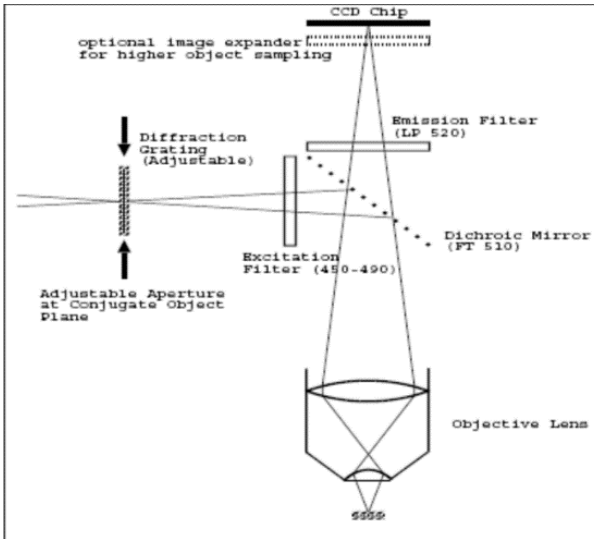


Abb. 12. Auflösungsverbesserung durch laterale strukturierte Beleuchtung: Proof-of-Principle Anordnung (1998).

Die durch Beleuchtung eines Gitters mit einer Hg-Lampe erzeugten Beugungsstrahlen 1. Ordnung erzeugten in der Objektebene eine periodische Intensitätsverteilung; die hierdurch angeregte Fluoreszenz-emission wurde von einer CCD Kamera registriert. Mithilfe eines Präzisionstisches wurde das Objekt relativ zum "optischen Gitter" in definierten Schritten bewegt. Aus Heintzmann & Cremer (1999).

Das in Abb. 12 skizzierte Verfahren der Verbesserung der Auflösung durch laterale Modulation wurde von uns erstmals auf einer Optik-Tagung in San Jose im Dezember 1998 vorgestellt und im zugehörigen Tagungsband publiziert (Heintzmann & Cremer 1999). Dies war im Rückblick gesehen eine gute Entscheidung: Denn gleichzeitig mit uns wurde ein ähnliches Verfahren auch von

Mats Gustafsson in der Arbeitsgruppe von John Sedat in San Francisco verwirklicht (Gustafsson 1999, 2000). Wir haben uns sehr gefreut, dass unser Beitrag von 1999 (obwohl in einem technisch orientierten "Low Impact Journal" erschienen), in der Rechtfertigung des Nobelpreises für Chemie (2014) an Eric Betzig, Stefan Hell und William Moerner zusammen mit dem von Gustafsson als ein wesentlicher Beitrag zur Entwicklung der supraaufgelösten Fluoreszenzmikroskopie erwähnt wurde (Ehrenberg 2014).

In den letzten Jahren haben wir auf der Grundlage des Structured Illumination Microscopy (SIM) Konzepts von 1999 ein stark verbessertes Mikroskop mit lateraler strukturierter Beleuchtung entwickelt und auf die Analyse von Geweben angewandt (Best et al. 2011); eine Modifikation dieses Systems erlaubte die direkte Verbindung von SIM und Lokalisationsmikroskopie (Rossberger et al. 2013). Erstmals wurde das Prinzip der Auflösungsverbesserung durch laterale Modulation der Fluoreszenzbeleuchtung auch zur Entwicklung eines Structured Illumination Ophthalmoskops genutzt, das supraaufgelöste Bilder der Retina noch aus einem Arbeitsabstand von mehreren cm zulässt (G. Best 2014). Damit ist es möglich geworden, die Retina in Patienten schonend mit bislang nicht erreichter Auflösung zu untersuchen. Diese noch im Gang befindlichen Untersuchungen wurden in enger Zusammenarbeit und mit großzügiger Unterstützung von Prof. Stefan Dithmar (Universitätsklinikum Heidelberg; Augenklinikum Wiesbaden) realisiert.

Super-Resolution bei "beliebigem Arbeitsabstand":

Ein Ausblick

Zum Schluss möchte ich noch einmal auf die ursprüngliche 4π -Mikroskopie Idee zurückkommen: Damals (Cremer & Cremer 1978) haben wir spekuliert, sie sollte eine "Superauflösung" auch bei sehr großen Arbeitsabständen zulassen.

In den letzten Jahren haben wir diese Idee wieder aufgegriffen und umfangreiche numerische Rechnungen hierzu angestellt (Birk et al. 2017). Im Unterschied zu dem Konzept von 1978 haben wir

hier aber in Position und Phase frei variierbare kollimierte Laserstrahlen angenommen, die konstruktiv im Fokus zur Interferenz gebracht werden. Die Rechnungen zeigen, dass mit diesem "Distributed Aperture Verfahren" ein isotroper Fokusbereich von ca. 140 nm möglich ist, und zwar bei grundsätzlich beliebigen Arbeitsabständen (minimaler Abstand Objekt – optische Elemente des Anregungs/Detektionssystems). Bei einem Arbeitsabstand von z.B. 5 cm ergäbe sich im Laserscanningverfahren daraus eine etwa 10,000mal bessere Volumenauflösung als mit der herkömmlichen Konfokalmikroskopie. Auch der STED Modus kann implementiert werden; hierdurch könnte bei "beliebig großen" Arbeitsabständen eine 3D Auflösung von wenigen 10 nm realisiert werden. Dies würde ganz neue Anwendungen ermöglichen, zum Beispiel in der Hirnforschung, oder in den Materialwissenschaften.

Im September 2009 wurde ich emeritiert. Über Forschung und Lehre hinaus habe ich mich in verschiedenen Gremien der Selbstverwaltung engagiert, insbesondere seit 1999 im Senat der Universität, von 2006–2009 als dessen Zweiter Sprecher. Auch nach meiner Emeritierung bin ich der aktiven Forschung eng verbunden geblieben.

Schlussbemerkungen

Kulturgeschichtlich haben Auflösungssteigernde Systeme eine Jahrtausende lange Geschichte und erreichten einen scheinbar nicht mehr zu überbietenden Höhepunkt in den Zeiten von Abbe und Rayleigh. In den letzten Jahrzehnten konnte die für unverrückbar geglaubte Grenze jedoch durch verschiedene Verfahren überwunden werden; gegenwärtig wird der 1 Nanometer Bereich der Auflösung angesteuert, entsprechend 1/500 der Anregungswellenlänge; die Weiterentwicklung ist immer noch in vollem Gange (Birk & Cremer 2016).

Superauflösende Lichtmikroskopiemethoden wurden mit den Worten gewürdigt, diese seien geeignet, Biologie und Medizin zu revolutionieren (Ehrenberg 2014). Den Grund hierfür sprach ein großer Naturdenker und Optik-Pionier bereits vor 200 Jahren aus,

als er auf die enge Verbindung zwischen Nanostrukturen und Leben hinwies. Er schrieb: "Wäre die Natur in ihren leblosen Anfängen nicht so gründlich stereometrisch, wie wollte sie zuletzt zum unberechenbaren und unermeßlichen Leben gelangen?" (J.W. Goethe "Aus Makariens Archiv").

Danksagung

Dem Stile von "Erinnerungen" entsprechend, habe ich mich hier auf wissenschaftliche Beiträge aus meiner Arbeitsgruppe fokussiert. Für allgemeine Übersichten des Forschungsgebietes verweise ich auf einige Reviews (siehe "Literaturhinweise").

Zunächst einmal danke ich ganz herzlich den Kolleginnen und Kollegen der Fakultät für Physik und Astronomie, die meine Arbeiten unterstützt haben; mein großer Dank gilt insbesondere den etwa 240 Alumni und Associates aus den Jahren 1983–1999/2011, die zum Forschungsbereich "Angewandte Optik und Informationsverarbeitung" am Institut für Angewandte Physik/Kirchhoff-Institut mit insgesamt rund 300 gemeinsamen Publikationen und rund 50 gemeinsamen Patenten beigetragen haben. Ihre Namen sind zu finden unter

http://www.kip.uni-heidelberg.de/AG_Cremer/de/content/mitarbeiter und

http://www.kip.uni-heidelberg.de/AG_Cremer/de/content/ehemalige-diplomanden-doktoranden-und-wissenschaftliche-mitarbeiter

Viele von ihnen haben später eine brillante akademische Karriere gemacht. Für die effektive Organisation der Arbeitsgruppe bin ich vor allem Michael Hausmann, Gregor Kreth und Margund Bach zu großem Dank verpflichtet.

Hinzu kommen noch ca. 50 weitere Mitwirkende aus den Jahren 1970–1979 an der Universität Freiburg; 1980–1982 am Lawrence Livermore National Laboratory (hier sei insbesondere Prof. Mort Mendelsohn, Dr. Marvin van Dilla und Prof. Joe Gray gedankt); 2011–2017 am Institut für Molekulare Biologie (IMB) Mainz bzw. am Institut für Pharmazie und Molekulare

Biotechnologie (IPMB) Univ. Heidelberg. Leider war es unmöglich, ihre Beiträge im Einzelnen hier aufzuführen. Als Beispiele mögen hier zwei "Erinnerungsphotos" genügen (Abb. 13). Zur Würdigung ihrer Leistungen soll aber im Anhang eine Zusammenstellung der gemeinsamen Publikationen dienen. Diese Liste enthält Hinweise auch auf weitere Forschungsaktivitäten, die hier nicht beschrieben werden konnten.



Abb. 13. Die Arbeitsgruppe "Angewandte Optik und Informationsverarbeitung" im Jahre 2004.

Vordere Reihe: Udo Birk-Spöri, David Baddeley, Jutta Finsterle, Christian Wagner, Helmut Schneider, Jürgen Reymann, Gregor Kreth, Susanne Fenz; Hintere Reihe: Heinz Eipel, Claudia Batram, Johann v. Hase, Hans Mathee, Constance Grossmann, Christian Carl, Margund Bach, Stefan Stein, Senthilkumar Pazahanisamy, Andreas Schweitzer, Werner Stadter, Nick Kepper (von links).

Ebenfalls möchte ich den Mitgliedern/Associates meiner Arbeitsgruppe am IMB/IPMB (2010–2017) herzlich für ihre großartige Arbeit danken: Es sind dies Priv. Doz. Dr. Udo Birk, Sven Beichmanis, Shih-Ya Chen, Maxim Gachkivsky, Amine Gourram, Irma Gryniuk, Fabian Jung, Hyun-Keun Lee, Dongyu Ma, Jan Neumann, Paulina Nowak, Alexander Al Saroori, Dr. Wladimir Schaufler, Florian Schock, Abhijit Marar, Dr. Ramon Lopez Perez,

Dimka Pieper-Kastreva, Dr. Franziska Polanski, Dr. Kirti Prakash, Mariia Rybak, Dr. Aleksander Szczurek, Dr. Johann von Hase, Dominik Waibel, Yangyi Wang, Ada Wawrzyniak, Julita Wesolowska, Jun Xing, Mei Yu, Aneliya Yoveva, Sebastian Zeis, und Dominika Zurek-Biesiada, siehe auch Abb. 14.



Abb. 14. Die Arbeitsgruppe "Super-Resolution Microscopy" im Jahre 2016.

Von links: Jan Neumann, Amin Gourram, Udo Birk, Shiy-Ya Chen, Aleksander Szczurek, Florian Schock, Yangyi Wang, Christoph Cremer, Maxim Gachkivsky, Wladimir Schaufler; nicht im Bild: Johann v. Hase, Paulina Nowak, Ada Wawrzyniak.

Sehr herzlich danken möchte ich den vielen Förderern meiner akademischen Laufbahn, allen voran meinem Vater Prof. Hubert Cremer (RWTH Aachen), sowie Prof. Werner Heisenberg (MPI für Plasmaphysik München) und Prof. Carl-Friedrich v. Weizsäcker (München). Ihnen verdanke ich es, dass ich nach einigem Schwanken der Faszination der Physik erlegen bin. Vielfältige weitere Unterstützung erfuhr ich auch von Prof. Helmut Baitsch (DFG/Univ. Ulm); Prof. Herbert Fischer (MPI Immunbiologie Freiburg); Prof. Siegfried Flügge (Univ. Freiburg); Prof. Wolfgang Grassmann (MPI Biochemie München); Prof. Joe Gray (U California); Prof. Michael Grunze (Univ. Heidelberg); Prof. Barbara Knowles (Jackson Laboratory/ME); Prof. Winfried Krone (Univ. Ulm); Prof. Hans Maier (Univ. München); Prof. Mort Mendelsohn (Univ. California/Livermore); Dr. Lili Schoeller (Freiburg);

Prof. Christian Streffer (Univ. Freiburg/Essen); Prof. Ted Young (Univ. Delft); Prof. Udo Wolf (Univ. Freiburg). Danken möchte ich auch den Förderinstitutionen (insbesondere BMBF, DFG, EU, Keck Foundation, Land Baden-Württemberg, National Institutes of Health/USA, National Science Foundation/USA, Carl Zeiss), die meine wissenschaftliche Arbeit über die Jahre mit insgesamt vielen Millionen DM bzw. Euro großzügig unterstützt haben.

Ganz besonderer Dank gebührt meinem Bruder Prof. Dr. med. Thomas Cremer (1995–2010 Lehrstuhl für Anthropologie und Humangenetik LMU München), meinem lebenslangen Hauptforschungspartner. Ihm verdanke ich ganz wesentliche, heute noch fortdauernde Anregungen zu meiner wissenschaftlichen Arbeit, mit rund hundert gemeinsamen Publikationen. Als weitere Hauptkooperationspartner möchte ich nennen: Marion Cremer, U München (LMU); Stefan Dithmar, U Heidelberg; Jurek Dobrucki, U Cracow; Joe Gall, Carnegie (USA); Joe W. Gray, Livermore/San Francisco; Michael Hausmann, U Heidelberg; Rainer Heintzmann, U Jena; Stefan Hell, MPI Göttingen/U Heidelberg; Peter Huber/DKFZ, Christiane Nüsslein-Volhard (Tübingen); Rainer Kaufmann, Oxford/U Hamburg; George Reid, IMB/EMBL; Karsten Rippe (DKFZ); Markus Sauer (U Würzburg); Ernst Stelzer (EMBL/U Frankfurt); L. Trakhtenbrot (Tel Hashomer/Israel).

Vortrag gehalten an der Fakultät für Physik und Astronomie der Universität Heidelberg am 29. Juni 2017.

Literaturhinweise

- C. Cremer (2008), Vorstoß in den Nanokosmos: Neue Mikroskope überschreiten für bislang unüberwindlich gehaltene Grenzen. *Ruperto Carola* (Forschungsmagazin Universität Heidelberg) 3/2008: 4–12.
- C. Cremer (2011), Lokalisationsmikroskopie – Lichtmikroskopie unterhalb des Abbe-Limits. *Physik in unserer Zeit* 42: 21–29.

- C. Cremer (2011), Mikroskope und Mikroben. In: Karlheinz Sonntag (Hg.) Viren und andere Mikroben: Heil oder Plage? Zum 100. Todestag von Robert Koch, 99–135. Universitätsverlag Winter, Heidelberg.
- C. Cremer, R. Kaufmann, M. Gunkel, S. Pres, Y. Weiland, P. Müller, T. Ruckelshausen, P. Lemmer, F. Geiger, S. Degenhard, C. Wege, N. A. W. Lemmermann, R. Holtappels, H. Strickfaden, M. Hausmann (2011), Superresolution imaging of biological nanostructures by spectral precision distance microscopy, *Biotechnology* 6: 1037–1051.
- C. Cremer, B. R. Masters (2013), Resolution enhancement techniques in microscopy. *Eur. Phys. J. H* 38: 281–344.
- C. Cremer, A. Szczurek, F. Schock, A. Gourram, U. Birk (2017), Superresolution microscopy approaches to nuclear nanostructure imaging. *Methods* 123: 11–32.
- T. Cremer, M. Cremer, C. Cremer (2016) Chromosomenterritorien und Chromatindomänen. *Biologie in unserer Zeit* 5: 290–299.

Für eine vollständige Liste der in dem Beitrag genannten Veröffentlichungen und weitere Informationen siehe

<http://www.imb-mainz.de/en/research-at-imb/cremer/research/>
sowie www.optics.imb-mainz.de

Albrecht Winnacker



Albrecht Winnacker

Albrecht Winnacker wurde 1942 in Frankfurt/M geboren, sein Abitur legte er 1961 am Taunusgymnasium Königstein ab. Es folgte das Studium der Physik an den Universitäten Freiburg, Göttingen, Paris und Heidelberg. Er promovierte in Heidelberg. Nach einer Postdoczeit von 1970 – 72 an der University of California, Berkeley, habilitierte er sich 1976 in Heidelberg, wo er seine erste Professorenstelle (Experimentalphysik) innehatte. Nach einem Forschungsaufenthalt in den IBM Forschungslaboratorien in San Jose, California, wechselte er 1986 in die Zentralen Forschungslaboratorien der Siemens AG, wo er zuletzt die Fachabteilung Verbindungshalbleiter und Leuchtstoffe leitete. Im Jahr 1991 übernahm er den Lehrstuhl "Werkstoffe der Elektrotechnik" an der Universität Erlangen. Er war engagiert in der akademischen Selbstverwaltung und von 2001 bis 2005 Dekan der Technischen Fakultät der Universität. Durch Betreuung von Doktorarbeiten in der Zentralen Forschung von Siemens und jährliche Forschungsaufenthalte in den Forschungslaboratorien der IBM in San Jose blieb er weiterhin der Industrieforschung verbunden. Nach seiner Pensionierung in Erlangen im Jahr 2009 wurde er als Gründungsdirektor des entstehenden "Centres for advanced materials (CAM)" mit dem Status eines "Seniorprofessors" an die Universität Heidelberg berufen. Nach Fertigstellung des Instituts im Sommersemester 2017 wurde er zu dessen Ehrendirektor ernannt.

Der Schwerpunkt von Winnackers Arbeiten liegt auf dem Gebiet der Halbleitermaterialien, insbesondere der Verbindungshalbleiter und der Organischen Halbleiter. Eine Ausgründung aus seinem Erlanger Lehrstuhl, die SiCrystal AG, ist heute einer der beiden führenden Lieferanten des Halbleitermaterials Siliziumkarbid auf dem Weltmarkt, das eine wichtige Rolle für die moderne Leistungs- und Hochtemperaturelektronik spielt.

Albrecht Winnacker

1984 erschien von ihm das Buch "Physik von Maser und Laser".
Albrecht Winnacker ist Mitglied der Heidelberger Akademie der
Wissenschaften und der nationalen Akademie für Technikwissen-
schaften acatech.

Albrecht Winnacker

Vom Physiker zum Materialwissenschaftler

Genau besehen muss ich wohl mit einer Rechtfertigung beginnen, warum ich in dieser Reihe "Heidelberger Physiker berichten" überhaupt zu Wort kommen darf. Schließlich haben die meisten der Kollegen, die hier berichtet haben, die längste Zeit ihres beruflichen Lebens als Hochschullehrer an der Universität Heidelberg verbracht. Ein entsprechendes Kriterium würde mich nicht als "Heidelberger Physiker" ausweisen, aber vielleicht darf ich zu meiner Rechtfertigung zunächst auf folgenden Umstand verweisen: Als mir im Jahre 2010 Rektor Eitel in seinen Amtsräumen in der Alten Universität meine Ernennungsurkunde zum Seniorprofessor der Universität Heidelberg übergab, konnte ich auf den vermutlich nicht alltäglichen Umstand verweisen, dass dies das vierte Mal war, dass ich eine Ernennungsurkunde zum Heidelberger Physikprofessor in diesen Räumlichkeiten entgegennahm. Das erste Mal geschah dies mit der Ernennung zum "Professor der Experimentalphysik" als Extraordinarius im Jahre 1980, zum zweiten Mal bei der Ernennung zum apl. Professor bei meinem Wechsel in die Siemens Forschungslaboratorien, das dritte Mal bei der Auszeichnung als Honorarprofessor der Fakultät für Physik und Astronomie im Jahre 2004, und dann eben die Ehrung als Seniorprofessor im Jahre 2010. Schon diese "Eckpunkte", so denke ich, deuten auf eine wechselvolle Laufbahn hin, wie es auch in dem Titel "Vom Physiker zum Materialwissenschaftler" anklingt, aber eben auch auf eine fortdauernde, in verschiedenen Funktionen immer wieder erneuerte Verbindung zur Heidelberger Universität und Physik. Schon vor dem Empfang meiner ersten Professoren-

urkunde hatte ich übrigens prägende Jahre an der Fakultät für Physik verbracht. Aber immer der Reihe nach!

Ich wurde in Frankfurt/M geboren. Wenn man an frühkindliche Prägungen glaubt, dann ist vielleicht meine Neigung zur industriellen Anwendung der Wissenschaft, von der noch die Rede sein wird, eine Folge der Tatsache, dass ich meine ersten Lebensjahre innerhalb eines Industriegeländes verbrachte. Mein Vater war Chemiker in dem Werk Höchst der damaligen IG Farbenindustrie, und damals war es üblich, dass die Leiter von Betrieben in Häusern auf dem Firmengelände wohnten. Die Chemiedämpfe waren erheblich, ich warte noch auf die Spätschäden. Aufgewachsen bin ich aber in der guten Taunusluft, im Luftkurort Königstein. Am dortigen Taunusgymnasium legte ich 1961 mein Abitur ab.

Dass ich wohl schon recht früh ein Studium der Physik ins Auge gefasst hatte, spiegelt sich in der Tatsache wider, dass ich für die Oberstufe des Gymnasiums den sprachlichen, nicht den mathematischen Zweig wählte, den klugen Rat befolgend, dass ich die Physik und Mathematik ja im Studium später sowieso lernen würde. Ein wenig mag freilich bei dieser Entscheidung auch der Umstand eine Rolle gespielt haben, dass die attraktiven Mädchen unseres Jahrgangs alle den sprachlichen Zweig wählten.

Bei der Entscheidung für ein naturwissenschaftliches Studium spielte sicherlich das Elternhaus eine wichtige Rolle. Mein Vater war Chemiker, und obwohl in leitender Funktion in der Chemischen Industrie tätig, gehörte seine Liebe der Wissenschaft, in deren Organisationen und Gremien er sich in seinen vielen ehrenamtlichen Nebenämtern betätigte, so dass er viel aus der Welt der Wissenschaft berichten konnte. Mein älterer Bruder hatte sich schon für die Chemie als Studienfach entschieden. Er dürfte vielen bekannt sein als langjähriger Präsident der Deutschen Forschungsgemeinschaft und erster Generalsekretär des European Research Councils.

Jedenfalls begann ich also im Jahr 1961 mein Studium der Physik. Bis zum Vordiplom studierte ich in Freiburg, dann in Göttingen und Paris, ehe ich zur Diplomarbeit nach Heidelberg

kam. Es gab damals noch keine getrennten Mathematikvorlesungen für Physiker und Mathematiker. Wie ähnlich das Grundstudium der Physik dem der Mathematik war, geht aus der Tatsache hervor, dass ich erst bei der Anmeldung zum Vordiplom in Freiburg bemerkte, dass ich mich irrtümlich für Mathematik eingeschrieben hatte. Ich dachte, das sei das gleiche Studium, hatte ich doch an der Schule immer nur von Leuten gehört, die "Mathematik und Physik" studierten. So ahnungslos war man seinerzeit.

Als ich 1965 nach Heidelberg kam, war die Erinnerung an den kurz zuvor verstorbenen Hans Kopfermann als Direktor des 1. Physikalischen Instituts noch sehr lebendig. Seine engsten Mitarbeiter, Ernst-Wilhelm Otten und Gisbert zu Putlitz, setzten seine Arbeiten auf dem Gebiet der optischen Doppelresonanz fort. Ich begann meine Arbeit bei Otten, der damals im Endstadium seiner Habilitationsschrift stand, und so war auch meine Diplomarbeit seinem Habilitationsthema der "Kohärenten Vielfachstreuung" gewidmet. Meine erste Aufgabe bestand in der Inbetriebnahme eines Pumpstandes, einer Quecksilberdiffusionspumpe. In seiner wortkargen Art instruierte mich Otten kurz dahingehend, ich solle in die Glashähne zuerst noch einen Faden einlegen. Ich grübelte, warum man wohl in die Glashähne zur Dichtung einen Faden einlegen müsse, bis ein Labornachbar mich aufklärte, Otten hätte vermutlich einen Faden aus Vakuumfett gemeint.

In dieser Zeit war Joachim Heintze neu ans Institut als Nachfolger von Kopfermann gekommen. Er kam aus Genf vom Cern und vertrat ein völlig anderes Fachgebiet, die Elementarteilchenphysik, und so kam es, dass er, obwohl ursprünglich aus Heidelberg stammend, den jungen Leuten völlig unbekannt war. So konnte man sich den Scherz erlauben, dass kurz vor seiner Ankunft ein älterer Besucher durch die Labors geführt wurde, der sich als der neue Institutschef Heintze ausgab, die dümmsten Fragen stellte und die sonderbarsten Kommentare von sich gab. Es wurde dann heimlich auf Band aufgenommen, was die Leute sagten, als der

merkwürdige Besucher das Labor verlassen hatte. Ich habe diese lustigen Aufzeichnungen noch zu hören bekommen.

Es ging überhaupt damals recht lustig zu, Herr zu Putlitz hat diese Atmosphäre in seinem Vortrag in dieser Reihe¹ treffend geschildert. Das Institut war eigentlich unser Zuhause, und irgendwann abends gegen 10 Uhr begab sich einer der Jungphysiker auf einen Rundgang durchs Institut und suchte einen Gefährten, der noch mit in die Dorfschänke zu einem Glas Bier ging. Aber natürlich wurde auch bei diesem Glas Bier über Physik gesprochen. Einen Schluck Wein hatte es bei diesem Rundgang vorher vielleicht auch schon im Labor des Kollegen von Sichart gegeben, ein Pfälzer, der hinter den Aufbauten seiner Apparatur stets eine Kiste Pfälzer Weins stehen hatte, von welchem er sich bei abendlichen Messungen immer mal ein Schlückchen gönnte. Das war der berühmte von Sichartsche Messwein.

Meine Doktorarbeit führte ich in der Arbeitsgruppe von Hans Ackermann durch, später Professor in Marburg. Mich reizte an seinem Thema, dass es aus der Welt des Laboratoriums hinausführte in die Welt der großen Forschungsmaschinen, in diesem Fall kein Beschleuniger, sondern der Forschungsreaktor 2 im Kernforschungszentrum Karlsruhe. Es ging darum, die magnetischen Kernmomente kurzlebiger Betastrahler zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde durch unsere fünfköpfige Arbeitsgruppe, zu der auch Dirk Dubbers gehörte, ein gewaltiges Experiment in der Reaktorhalle aufgebaut, bestehend aus einem Strahl spinpolarisierter thermischer Neutronen, einem geeigneten Target, in dem die kurzlebigen Kerne durch Neutroneneinfang erzeugt wurden, einem Heliumkryostaten, β -Zählern, Auslese- und modernster Steuerelektronik.

Abb. 1 zeigt das Team des Aufbaus des FR2 Karlsruhe Experiments. Es fehlt unser Karlsruher Kollege P. von Blanckenhagen.

Es stand uns dauerhaft, für Jahre, ein Neutronenstrahlrohr des Instituts für Angewandte Kernphysik, damals geleitet von Prof.

¹ S. Bd. 2

Beckurts, zur Verfügung, eine noble Gabe, wenn man bedenkt, dass solche Strahlzeiten oft nach Stunden oder Tagen bemessen sind. Ganz so dauerhaft hatte es sich der Spender wohl nicht vorgestellt. Es begab sich, dass zu Beginn unserer Aufbauarbeiten Beckurts zu einem Sabbatical nach USA aufbrach. Als er nach etwa $\frac{3}{4}$ Jahren zurückkehrte, zeigten wir ihm stolz den imposanten Aufbau, den wir inzwischen errichtet hatten und erwarteten, dass er in bewundernde Rufe ausbrechen würde. Er sagte aber nur, nach einer Zeit nachdenklicher Betrachtung: "So leicht kann man das ja gar nicht wieder abbauen!"

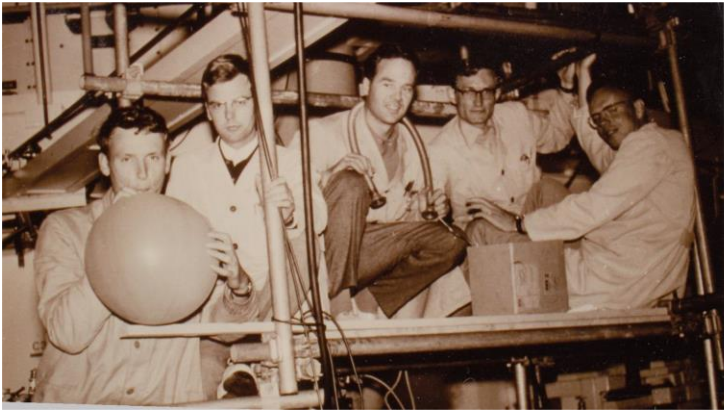


Abb. 1. Team des Aufbaus des FR2 Karlsruhe Experiments: Dirk Dubbers, Paul Heitjans, Hans Ackermann, Jost Mertens, Albrecht Winnacker (von links).

Für den Erfolg des Experimentes und der Doktorarbeit hing alles daran, die Kernresonanz des instabilen Kerns zu entdecken, und eines nachts, als Dubbers und ich in der Reaktorhalle neben der laufenden Apparatur standen, erschien auf der Zählelektronik des β -Zerfalls das sehnlich erwartete Spinresonanzsignal und wir konnten Ackermann, der gerade Winterferien auf einer tief verschneiten Alpenhütte machte, per Telegramm mit dem Text:

$$\mu(^{116}\text{In}) = 2,7 \mu_K$$

das magnetische Moment des Indiumisotops ^{116}In (Halbwertszeit 14 sec) übermitteln. Es folgte die Bestimmung des magnetischen Momentes des β -Strahlers ^{110}Ag . Das Rennen war, wie man so sagt, gelaufen.

Nach der Promotion 1970 ging ich für etwa $1\frac{1}{2}$ Jahre als Postdoc an die Universität von Berkeley, Kalifornien. In zweierlei Hinsicht war dies eine wichtige Zeit. Erstens arbeitete ich dort tagtäglich im Labor mit einem großen Meister der Experimentalphysik zusammen, Linn Mollenauer. Das war zugleich lehrreich und ergiebig. Zum zweiten erhielt ich dort wichtige Anregungen für mein zukünftiges Arbeitsgebiet. Ähnlich wie die Doppelresonanzgruppe in Heidelberg führte Mollenauer spektroskopische Untersuchungen durch mittels kombinierter Anwendung von Licht- und Mikrowellenstrahlung, aber nicht angewandt auf Atome, sondern auf Punktdefekte in Festkörpern. Seine Experimente galten dem Prototyp eines solchen Defektzentrums, dem F-Zentrum.

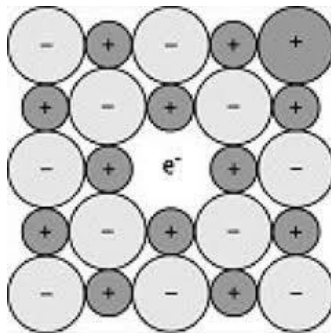


Abb. 2. Das F-Zentrum in Alkalihalogeniden, ein "atomähnliches" System.

Abb. 2 zeigt schematisch die Struktur des F-Zentrums in Alkalihalogeniden. Ein Elektron ersetzt ein fehlendes Halogen-Ion.

Mollenauer untersuchte die Eigenschaften der F-Zentren in Alkalihalogeniden, den g -Faktor in Grund- und Anregungszustand,

die räumliche Ausdehnung der Wellenfunktion, Hyperfeinwechselwirkung mit den umliegenden Kernen etc.

Diese spektroskopischen Arbeiten über die Punktdefekte in Kristallen standen noch am Anfang. Etwa zeitgleich mit meiner Rückkehr nach Heidelberg verließ auch Mollenauer Berkeley und trat in die Bell Labs ein, wo er in der Folge wichtige Entdeckungen machte, wie die abstimmbaren Farbzentrenlaser und die Solitonenausbreitung in Lichtleitern. Für mich war die Konsequenz, dass ich dieses neue und vielversprechende Arbeitsgebiet mitnehmen konnte, d.h. es ging um die in der Doppelresonanzgruppe im Prinzip geläufigen Methoden, aber um ihre Anwendung nicht mehr auf Atome, sondern auf Punktdefekte in Festkörpern. Dies war mein Einstieg in die Festkörperphysik, und im Grund auch in die anwendungsbezogene Materialphysik, da Punktdefekte häufig maßgebend sind für die Eigenschaften der Festkörper, und für Funktionen aller Art, z.B. elektronische Anwendungen, genutzt werden können. So konnte ich mich schon bald nach meiner Rückkehr, nämlich im Jahr 1976, habilitieren mit einer Arbeit aus diesem Gebiet. Sie hatte zum Thema "Optisches Pumpen von Farbzentren". Ich baute in diesen Jahren eine Arbeitsgruppe auf, die sich dann nach meiner Ernennung zum Professor der Experimentalphysik im Jahr 1980 weiter vergrößerte. Als Inhaber einer Dauerstelle als Professor der Existenzsorgen enthoben, war dies eine fruchtbare Zeit, in der man gelegentlich auch ganz andere Themen als die der Punktdefekte aufgreifen konnte. Zum Beleg für das freie Walten des Forschergeistes zeige ich die Titelseiten einiger Veröffentlichungen aus dieser Zeit, die mit meinem Hauptarbeitsgebiet kaum etwas zu tun hatten.

Die Arbeit "Dynamic Nuclear Polarization of Irradiated Targets" (Abb. 3) kam so zustande. Vernon Hughes von der Yale University, über Jahrzehnte ein enger Kooperationspartner von Prof. zu Putlitz, war in Heidelberg zu Besuch und berichtete dort von seinen Versuchen zur Streuung hochenergetischer Elektronen an polarisierten Protonentargets in Stanford. Wegen dessen hohen Protonenanteils verwendete er gefrorenes Ammoniak als Target,

wobei die Protonen nach der Methode der dynamischen Kernpolarisation (Dynamic nuclear polarization DNP) polarisiert werden sollten, eine Methode, die mir seit meiner Postdoczeit in Berkeley gut bekannt war, da mein dortiger "Gastgeber" C. D. Jeffries der Erfinder der DNP war.

DYNAMIC NUCLEAR POLARIZATION OF IRRADIATED TARGETS

M.L. SEELY, A. AMITTAY, M.R. BERGSTRÖM, S.K. DHAWAN, V.W. HUGHES,
R.F. OPPENHEIM, K.P. SCHÜLER and P.A. SOUDER
Yale University, New Haven, CT 06520, U.S.A.

K. KONDO and S. MIYASHITA
University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

K. MORIMOTO
KEK, Tsukuba, Japan

S.J. St. LORANT
Stanford Linear Accelerator Center, Stanford University, Stanford, California 94305, U.S.A.

Y.-N. GUO
Institute of High Energy Physics, Beijing, China

A. WINNACKER
University of Heidelberg, Heidelberg, W. Germany

Received 15 January 1982

We report studies of dynamic nuclear polarization of irradiated targets. The polarized target operated at a magnetic field of 5 T and a temperature of 1 K, and was irradiated with the 20 GeV electron beam at the Stanford Linear Accelerator. Our results indicate that the temperature at which the target is irradiated is important. The maximum proton polarization attained with radiation was measured for some seven hydrogen-rich compounds. Irradiated NH_3 and ND_3 were polarized to high values of $P_p \approx 0.75$ and $P_p \approx 0.25$ with short values of polarization growth time T_p , and with radiation resistance of the polarization about a factor of 30 greater than for normal chemically-doped hydrocarbons. Hence, irradiated NH_3 and ND_3 appear very promising as practical polarized target materials.

1. Introduction

Polarized nucleon targets used in high energy physics

The earliest work on the use of radiation to produce a polarizable target was done on HD at Yale [3], using a bremsstrahlung beam with a maximum energy of 60

Abb. 3. Arbeit zur dynamischen Kernpolarisation.

Bei der DNP geht es darum, die bei hohen magnetischen Feldern und tiefen Temperaturen sich einstellende Gleichgewichtspolarisation elektronischer (paramagnetsicher) Spins durch einen Hochfrequenzprozess auf die Atomkerne, in diesem Fall Protonen, zu übertragen, da die Kerne wegen ihres 1000mal kleineren Kernmomentes von sich aus nur eine verschwindend kleine Gleich-

gewichtspolarisation annehmen. Bei dem Versuch der Anwendung auf das Ammoniak ergab sich das Problem, in das gefrorene Ammoniak paramagnetischen Spins einzubauen. Mein Vorschlag war nun der, die unvermeidlichen Strahlenschäden, die sich im Target bilden, als die paramagnetischen Spins zu nutzen, um die DNP herbeizuführen. Vernon Hughes hatte eine gründliche Abneigung gegen experimentelle "Vorschläge" von Experimentalphysikern, er sagte in einem solchen Fall: *Dann komm doch und mache es!* So nahm ich an zwei Strahlzeiten am Linearbeschleuniger in Stanford für jeweils einige Wochen teil und "beaufsichtigte" dort die sehr erfolgreiche Erzeugung eines Ammoniaktargets mit polarisierten Protonenspins. Es war für mich eine besonders schöne Zeit auch deshalb, weil ich unter all den Teilchenphysiker der Einzige war, der den komplexen DNP-Prozesses durchschaute und ich mich so als Meister einer geheimnisvollen Kunst präsentieren konnte.

In der Arbeit der Abb. 4 geht es um einen Vorschlag zur Erzeugung von Antiwasserstoff, also dem aus einem Antiproton und einem Positron gebildeten "Gegenstück" des Wasserstoffs. Durch Präzisionsexperimente an diesen Antiwasserstoffatomen würde man dann das CPT-Theorem, also, vereinfacht gesagt, die Gleichheit von Materie und Antimaterie untersuchen können. Der Vorschlag beruhte auf dem Gedanken, Antiprotonen, wie sie damals in einem Speicherring am Cern zur Verfügung standen, und Positronen, die als Strahl dem Antiprotonenstrahl zugesellt werden sollten, durch einen Laser zur Rekombination zu stimulieren mittels des Prozesses der "stimulierten Emission". Ungewohnt an dem Projekt war die Nutzung der stimulierten Emission für den Übergang aus einem Kontinuumszustand in einen gebundenen Atomzustand, statt des vertrauten Übergangs zwischen zwei gebundenen Zuständen. Die Idee dürfte darauf zurückgegangen sein, dass ich damals eine Vorlesung "Physik von Maser und Laser" hielt und an einem Buch dieses Titels schrieb. Zusammen mit meinem Kollegen R. Neumann aus der Atom-physikgruppe und den Kollegen H. Poth und A. Wolf, denen die "Strahlphysik" von

Antiprotonen und Positronenstrahlen geläufig war, berechneten wir dann die zu erwartenden Rekombinations-raten.

Z. Phys. A - Atoms and Nuclei 313, 253- 262 (1983)

Zeitschrift
für Physik A **Atoms
and Nuclei**
© Springer-Verlag 1983

Laser-Enhanced Electron-Ion Capture and Antihydrogen Formation

R. Neumann¹, H. Poth^{2*}, A. Winnacker¹, and A. Wolf^{2*}

¹ Physikalisches Institut, Universität Heidelberg, Federal Republic of Germany

² Kernforschungszentrum Karlsruhe, Institut für Kernphysik,
Federal Republic of Germany

Received June 3, 1983

The electron-ion capture rate for low electron energies is calculated for various electron velocity distributions. Capture rates for electron-ion recombination stimulated by irradiation with light are evaluated. The results are applied to electron cooling and to positron-antiproton recombination to form antihydrogen. It is shown that laser-induced capture is a powerful method to study the electron cooling process and to maximize the antihydrogen rate. With this technique a pulsed antihydrogen beam of selectable energy and well collimated with an intensity of a few atoms per second can be anticipated.

I. Introduction

The present paper is partly motivated by the fact that in the near future the Low Energy Antiproton Ring (LEAR) [1] will come into operation at CERN. Electron cooling will be an important part of that facility [2]. Moreover, the availability of a low energy antiproton beam may open up a possibility to produce, by radiative capture, antihydrogen atoms for spectroscopic studies.

The radiative capture of an electron by an ion

$$A^{+(n)} + e^- \rightarrow A^{+(n-1)} + h\nu$$

is an important process in the electron cooling of ion beams [3, 4]. The analogous reaction

$$\bar{p} + e^+ \rightarrow \bar{H} + h\nu$$

is the basic formation mechanism of antihydrogen.

Here we consider these processes in more detail with the idea of using them as diagnostics for the investigation of electron cooling [2]. Furthermore we are interested in the production of antihydrogen for

proton beam, all aspects of the antihydrogen formation can be studied in this process.

The capture of an electron (positron) can be stimulated by irradiation with light corresponding to a transition from the continuum into a bound atomic state

$$p + e^- + h\nu \rightarrow H + 2h\nu.$$

This opens up the possibility of studying in detail the cooling electron beam, particularly its velocity distribution, of enhancing the antihydrogen production rate, and of defining the final atomic state. Our consideration can also be applied to formation of other exotic atoms (e.g. $\bar{p}p$, e^+e^- , μ^+e^- , μ^-p , ...). In the following, we recall the basic principles of electron cooling before calculating the electron capture rates and we use our results for the application outlined above.

2. Electron Cooling

Abb. 4. Antiwasserstoff.

Das Projekt gelangte zwar als Vorschlag in die höheren Gremien des Cern, mehrfach trug ich auch dort darüber vor, aber es kam nicht zur Verwirklichung, da es doch tiefe Eingriffe in die damaligen Pläne zur Speicherringentwicklung am Cern erfordert hätte. Aber ein origineller Gedanke und eine anregende

physikalische Geistesübung war es dennoch. Auch haben später die Kollegen Poth und Wolf den Gedanken der "lichtstimulierten Rekombination" am MPI für Kernphysik in Heidelberg zur Anwendung gebracht.

Hingegen entstand aus der Idee einer Spektroskopie von Ionen im flüssigen Helium eine eigene Aktivität zusammen mit meinem Mitarbeiter H. Reyher und weiteren Doktoranden, die sich bis zu meinem Weggang aus Heidelberg recht vielversprechend weiter entwickelte:

Ein aktuelles Gebiet der Atom- und Molekülphysik war in den 80iger Jahren die sog. Matrixspektroskopie. Bei diesem Verfahren wurden reaktive Moleküle für spektroskopische Untersuchungen dadurch stabilisiert, dass sie bei tiefer Temperatur und in hoher Verdünnung in ein festes Edelgas, gelegentlich auch in festen Stickstoff, eingebaut wurden. Bei derartigen Untersuchungen spielte natürlich immer die Frage nach der Wechselwirkung mit der Matrix, also auch die Struktur der Matrix eine Rolle. Daraus ergab sich der Gedanke, geeignete Ionen nicht in feste Edelgase, sondern in flüssiges Helium einzubringen, um auf diese Weise Einblick in die subtilen Fragen der Struktur des flüssigen Heliums zu erhalten. In der Tat gelang es, verschiedene, im Titel der Veröffentlichung genannte Ionen in flüssiges Helium, insbesondere auch superfluides Helium einzubringen und daran optische Untersuchungen durchzuführen. Wir blickten schon deshalb mit einer gewissen Befriedigung auf diese Experimente zurück, weil sie im Sinne der am 1. Physikalischen Institut gepflegten wissenschaftlichen Ambitionen eine hohe experimentelle Raffinesse erforderten. Abb. 5 zeigt schematisch den experimentellen Aufbau des flüssig-He Experimentes und eine Veröffentlichung dazu

Etwa 2–3 cm über dem superfluiden Helium mit seiner Temperatur von weniger als 2,2 K befand sich der Verdampfungs-ofen für die jeweiligen Atome bei einer Temperatur von typischerweise 600° C. Die Atome wurden dann z.B. durch Laserbestrahlung ionisiert, und die vor dem Ofen befindliche

Ionenwolke wurde durch ein elektrisches Feld in das flüssige Helium hineingezogen. Nach meinem Weggang aus Heidelberg Ende 1985 wurden diese Experimente unter der Leitung von Prof. zu Putlitz fortgeführt.

**IMPLANTATION OF IMPURITY IONS INTO He II
FOR OPTICAL SPECTROSCOPY PURPOSES**

H. BAUER, M. HAUSMANN, R. MAYER, H.J. REYHER, E. WEBER and A. WINNACKER

Physikalisches Institut der Universität Heidelberg, Philosophenweg 12, D-6900 Heidelberg, Fed. Rep. Germany

Received 4 April 1985; accepted for publication 13 May 1985

An experimental arrangement for implantation and handling of high densities of alkaline earth ions in He II is described. First results, including mobility measurements of Sr^+ , Ba^+ , Zn^+ and Cd^+ ions as well as optical detection of Ba^+ ions, are reported.

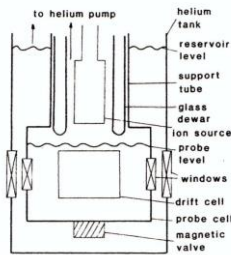


Fig. 1. Cross section of the cryostat. A third set of windows at right angle is not drawn in.

Abb. 5. Arbeit zur Untersuchung von Ionen in flüssigem Helium, mit experimentellem Aufbau.

Die erfolgreiche Bearbeitung so verschiedener Themen stellt sich mir in der Erinnerung als Resultat einer kreativen Stimmung dar, wie sie sich in einer Atmosphäre wissenschaftlicher Freiheit und Freiheit von Stellen- und Existenzsorgen einstellen kann. Schwerpunkt meiner wissenschaftlichen Arbeiten blieb aber, ungeachtet solcher Einfälle, die Spektroskopie von Punktdefekten in Festkörpern.

In der Lehre genossen Dirk Dubbers und ich das Privileg, dass man uns junge Sprinter die eigentlich den hohen Herren vorbehaltenen großen Vorlesungen Physik III, IV oder V halten ließ. Für mich kam noch dazu, dass ich neben meiner "kleinen" C2-Professur den Lehrstuhl von Herrn zu Putlitz während seiner Zeit als Geschäftsführender Direktor der GSI und der anschließenden Zeit als Rektor vertreten durfte, was mir neben manchen Einsichten und Erfahrungen über die akademischen Prozesse ein C4-Gehalt einbrachte, das für den jungen Familienvater hochwillkommen war, freilich ohne die Zulagen eines C4-Gehaltes; aber über deren Bedeutung wurde ich sowieso erst später aufgeklärt.

Obwohl also beruflich und privat etabliert und abgesichert, machte sich in diesen Jahren eine innere Unruhe bemerkbar, das Gefühl, ich müsse noch einmal aus dem Heidelberger Umfeld, in dem ich sozusagen automatisch Stufe für Stufe aufgestiegen war, hinausgehen. Ich dachte dabei vor allem an einen Wechsel in die Industrie, von den entsprechenden Prägungen durch das Elternhaus war ja schon die Rede. Ein erster Schritt in diese Richtung war in den Jahren 1984/85 die Annahme eines Stipendiums als Visiting Scientist in den Forschungslaboratorien der IBM in San Jose, Kalifornien.

Die IBM Laboratorien boten damals ein wunderbares Umfeld für die Forschung. Es waren die reichen Jahre der IBM nach Erfindung des PC bei gleichzeitiger Quasi-Monopolsituation bei den Großrechnern, und die Forscher dort genossen große Freiheit und üppige Forschungsmittel. Ich selbst wurde entsprechend meiner Arbeitsrichtung der optischen Datenspeicherung zugeteilt. Man verfolgte damals in San Jose ein neues Verfahren, das sog. Spektrale Lochbrennen, mit dem man hoffte, die Speicherdichte bei der optischen Datenspeicherung um 2, vielleicht gar 3 Größenordnungen steigern zu können. Das Verfahren funktionierte auch im Prinzip, nur hatte es beim damaligen Erkenntnisstand noch eine Schwäche: Die eingeschriebene Information wurde bei einmaligem Auslesen wieder gelöscht. Das war natürlich für die Praxis unbrauchbar. Das große Thema, von dem alles zur Zeit meines

Eintreffens im Frühsommer 1984 sprach, war: *Wie kann man vermeiden, dass die durch einen Laserstrahl eingeschriebene Information beim Auslesen gleich wieder gelöscht wird?* Mit dem Übermut der Jugend sagte ich mir: *Das ist ein Thema für mich hier in San Jose.* Und in der Tat fand ich nach einigen Monaten ein wunderbares Material, man konnte die durch spektrales Lochbrennen eingeschriebene Information buchstäblich tausende von Malen auslesen ohne sie zu löschen. Der Trick war der, dass man die Information mit zwei Laserstrahlen einschrieb, der eine trug die Information, der andere sorgte für die Fixierung. Beim Auslesen aber nutzte man nur den einen, so dass die einmal erfolgte Fixierung nicht gestört wurde. Es war eigentlich die einzige Entdeckung in meinem wissenschaftlichen Leben im Sinne einer plötzlichen Erleuchtung, alles andere waren mehr kontinuierliche Entwicklungen. Ich zeigte den Effekt zuerst meinem Labornachbarn, dieser holte den Gruppenleiter, dieser den Abteilungsleiter und der dann den Leiter des gesamten San Jose Labs, welcher dann die Gruppe zu Bier und Pizza einlud. Unerhört an letzterem Vorgang war der Genuss von Bier, denn alkoholische Getränke waren bei geschäftlichen Anlässen der IBM verpönt.

Photon-gated hole burning: a new mechanism using two-step photoionization

A. Winnacker,* R. M. Shelby, and R. M. Macfarlane

IBM Research Laboratory, San Jose, California 95193

Received March 15, 1985; accepted April 5, 1985

We have observed photon-gated spectral hole burning, i.e., hole burning that occurs only in the presence of an additional gating-light source. Gating enhancement factors of 10^4 were observed. In BaClF:Sm^{2+} this involves two-step photoionization of Sm^{2+} and leads to persistent holes in the ${}^4F_0 \rightarrow {}^2D_0$ (687.8-nm) and ${}^1F_0 \rightarrow {}^2D_0$ (629.7-nm) absorption lines. The hole widths of 25 MHz at 2 K are much narrower than the inhomogeneous broadening of 16 GHz. The action spectrum of the gating shows a threshold behavior around 2.5 eV. Erasing studies show that Sm^{2+} acts as a trap for the released electrons. A remarkable and novel feature is that the holes can be recovered after temperature cycling to 300 K.

We report the first observation to our knowledge of photon-gated spectral hole burning, i.e., hole burning that occurs at a specific laser frequency ω_0 only in the presence of a second gating light source, ω_g . The significance of this mechanism is that persistent spectral holes burned in this way are not degraded by probing with photons at ω_0 . This is useful in high-resolution

structure. We have observed such a process of photon-gated hole burning in BaClF:Sm^{2+} . Subsequently a two-color hole-burning process was also observed in an organic system: carbazole in boric acid glass.¹² Figure 1 shows the level scheme of BaClF:Sm^{2+} .¹³ The ground state is $4f^6 {}^7F_0$, and the lowest three excited levels $5D_0$, $5D_1$, and $5D_2$ are metastable with lifetimes

Abb. 6. Veröffentlichung zum "Photon gated holeburning".

Die daraus resultierende Veröffentlichung Abb. 6 "Photon gated holeburning" ist bis heute mein meistzitiertes Paper. Diese Entdeckung förderte natürlich mein Ansehen in der Community des IBM Research Labs und hatte zur Folge, dass ich später als Lehrstuhlinhaber an der Universität Erlangen Jahr für Jahr die Sommerferien mitsamt Familie in den IBM Laboratorien verbringen konnte. Ich ging ins Labor, meine Familie erfreute sich an der Sonne und den Schönheiten Kaliforniens, das dadurch, so darf man wohl sagen, zu unserer zweiten Heimat wurde.

Zunächst freilich trat eine andere Wendung in meinem beruflichen Weg ein. Während dieses IBM-Jahres betrieb ich ernsthaft meinen Übertritt in die Industrie. Trotz der Annehmlichkeiten des Lebens einer jungen Familie, unsere kleinen ersten zwei Kinder begleiteten meine Frau und mich, wollten wir nicht in Amerika bleiben. Ich kam auf die Idee, einen Brief an Prof. Beckurts zu schreiben, der uns damals in Karlsruhe ein Strahlrohr zur Verfügung gestellt und uns, wie ich mich erinnerte, mit Wohlwollen in sein Institut aufgenommen hatte. Er war seitdem zunächst Leiter des Großforschungszentrums Jülich und dann Leiter der Forschung und Vorstandsmitglied von Siemens geworden. Einige Wochen lang hörte ich nichts auf meinen Brief hin, ich dachte, der große Manager habe sicherlich anderes zu tun, aber eines Tages geschah das Erstaunliche, das auf meinem Schreibtisch bei der IBM das Telephon klingelte und Prof. Beckurts selbst direkt am Apparat war. *Ich bin demnächst bei Ihnen in der Nähe, sagte er, in Dallas in Texas. Da können wir uns treffen. Ihre Reiserechnung schicken Sie an mein Sekretariat.* Schon an dieser Vorstellung der geographischen Nähe von San Jose und Dallas merkte man, dass Beckurts inzwischen in größeren Maßstäben dachte.

Die Siemens AG unternahm damals unter seiner außerordentlich tatkräftigen Leitung eine gewaltige Anstrengung, den Rückstand gegenüber Japan auf dem Gebiet der Mikroelektronik aufzuholen und stellte um diese Zeit einen großen Prozentsatz der Physikerjahrgänge ein. Beckurts sagte zu mir bei unserem

Gespräch: *Wir können diese große Aufgabe ja nicht nur mit lauter Grünschnäbeln anpacken.* Auf diese Weise konnte ich also in schon fortgeschrittenem Stadium meines Berufslebens in das traditionsreiche Unternehmen überwechseln und wurde mit Aufgaben zur Entwicklung der Verbindungshalbleiter betraut. Es musste schon einer so hoch über den Dingen stehen wie Beckurts, um jemandem mit meinem fachlichen Hintergrund dieses Thema anzuvertrauen. Immerhin waren ja unter den Materialien, deren Punktdefekte ich untersucht hatte, einige Halbleiter gewesen. Eine Ermutigung erhielt ich aber bei einem Gespräch mit Dirk Dubbers, der um diese Zeit herum einen Ruf an das Forschungszentrum Grenoble als Leiter der Kernphysik erhalten hatte. Als ich zu ihm sagte: *Es ist doch komisch, Du gehst als Leiter der Abteilung Kernphysik nach Grenoble und verstehst eigentlich wenig von Kernphysik, und ich gehe als Fachmann für Verbindungshalbleiter zu Siemens und verstehe doch herzlich wenig von Verbindungshalbleitern,* da sagte Dubbers: *Du, das merken die nicht!* Hochmut der Jugend!

Das Gebiet der Verbindungshalbleiter hatte in Erlangen eine große Tradition, die Verbindungshalbleiter waren ja dort von Heinrich Welker erfunden und jahrzehntelang mit großem Erfolg bearbeitet worden. Zunächst war ich nur für die Untersuchung ihrer Eigenschaften zuständig, aber bald wurde mir auch die Kristallzüchtung anvertraut. Es ging damals vorrangig um GaAs und InP. Und schließlich kam noch das Gebiet der Leuchtstoffe hinzu, und das kam so: Es ging um die sog. Röntgenspeicherleuchtstoffe. Mit Beschichtungen aus sog. Röntgenspeicherleuchtstoffen sollte eine neuartige Art von Röntgenfilmen erzeugt werden. Es sei an dieser Stelle darüber nur gesagt, dass dieses neue Speicherprinzip eine Digitalisierung von Röntgenbildern ermöglichte, die bisher ja auf Filmen festgehalten wurden, die nasschemisch entwickelt und dann vor dem Lichtkasten betrachtet werden mussten. Nun aber konnten Röntgenbilder auf elektronischen Medien gespeichert und damit auch einer Bildverarbeitung unterzogen werden. Das war seinerzeit sehr innovativ und sollte der Siemens-Medizintechnik zugutekommen.

Der Zufall (oder die Festkörperphysik) wollte es, dass die besten Speicherleuchtstoffe Materialien ganz ähnlich denjenigen sind, die mir in den IBM Laboratorien beim Spektralen Lochbrennen begegnet waren. Dazu kam noch, dass bei den Speicherzentren, die durch die Röntgenstrahlung gebildet werden, meine geliebten F-Zentren eine zentrale Rolle spielen, so dass ich mich in meiner neuen Siemens-Umgebung sehr rasch als Experte auf diesem Gebiet präsentieren konnte, einem Gebiet zumal, das sich unter den Erlanger Halbleiterforschern nicht allzu großer Beliebtheit erfreute. So wurde mir dieses stark geförderte Arbeitsgebiet der Röntgenspeicherleuchtstoffe bald übertragen zusätzlich zu den Verbindungshalbleitern. Die neuartigen Röntgenfilme haben auch bald Anwendung gefunden, vor allem in der Zahnmedizin, wobei allerdings das Verfahren bald an Agfa und Fuji verkauft wurde. Daran muss sich ein Forscher in einem großen Technologiekonzern gewöhnen, dass ein Verfahren, welches mit großem Aufwand zur Produktreife entwickelt wurde, anschließend verkauft oder stillgelegt wird. Dies gehört zu den Geheimnissen der hohen Firmenstrategie, die sich mir nie ganz erschlossen haben! Bei IBM war es genauso!

Interessant für meine Situation in der Siemens-Forschung war es, dass die Leuchtstoffe über ihre Rolle in der Röntgentechnik hinaus bald eine weitergehende Bedeutung erringen sollten. Zu Beginn der 90iger Jahre tauchte nämlich eine neue Lichtquelle für die allgemeine Beleuchtungstechnik auf, die von hohem Interesse für die Tochterfirma Osram war, nämlich die sog. "LUCOLED", die "Luminescence-Conversion-Light-Emitting Diode". Dabei handelt es sich um die weiße Leuchtdiode, die wohl langfristig die Glühlampe ersetzen wird. In der LUCOLED wird das Licht einer blauen Leuchtdiode durch einen Leuchtstoff teilweise in oranges Licht verwandelt, derart dass die Überlagerung des blauen Lichtes und der Komplementärfarbe Orange durch das Auge als Weiß wahrgenommen wird. Dieser Vorgang eröffnet natürlich ein weites Feld für die Leuchtstoffforschung.

So war mir also schließlich die Leitung der Fachabteilung "Verbindungshalbleiter und Leuchtstoffe" und damit ein interessantes, aktuelles Aufgabengebiet der Siemensforschung zugeordnet. Es wäre also der Grund gelegt gewesen für eine sehr befriedigende berufliche Situation, wenn sich nicht für die Siemens Forschung eine Katastrophe ereignet hätte. Zweimal in meinem Leben haben tragische Todesfälle auf meinen Lebensweg nachhaltigen Einfluss genommen. Der erste war der Tod von Karl Heinz Beckurts, dem großen Forschungsvorstand von Siemens. Er fiel am 6. Juli 1986 einem Attentat der Rote Armee Fraktion RAF zum Opfer, eine Tragödie für Siemens, aber darüber hinaus generell für die Hochtechnologie in Deutschland. Die unmittelbare Folge bei Siemens war ein gewisser Niedergang der Forschung. Es geschieht in diesen großen Unternehmen oft, dass einer starken Persönlichkeit in einem wichtigen Ressort eine schwache folgt, da die erstere vermeintlich zu viele Ressourcen des Unternehmens auf sich gezogen hat, eine Situation, die dann auf ein Normalmaß zurückgefahren wird, oder darüber hinaus. So erging es auch der Zentralen Forschung von Siemens. Ich kenne so manchen Kollegen auf den Lehrstühlen der Materialwissenschaften und Elektrotechnik in Deutschland noch aus meiner Siemens Zeit, die sich, wie ich, in dieser Phase des Niedergangs wieder aus dem Staube machten und an die Universität zurückkehrten.

Für mein Leben hat in dieser Zeit ein zweites Mal ein allzu früher Tod eine Rolle gespielt, der meines Fachkollegen Zschauer vom Lehrstuhl Werkstoffe der Elektrotechnik der Universität Erlangen, mit dem ich in meiner Siemenszeit engen fachlichen und freundschaftlichen Kontakt pflegte. Im Jahre 1992 folgte ich einem Ruf auf diesen vakant gewordenen Lehrstuhl. Dies geschah in gutem Einvernehmen mit der Siemens Forschungsleitung. Gewisse Arbeitsthemen nahm ich mit an die Universität, darüber hinaus habe ich seit etwa 1998 regelmäßig drei oder vier Doktoranden betreut, die nicht in den Labors meines Instituts, sondern in den Siemens Forschungslaboratorien tätig waren.

Ein Arbeitsgebiet, das ich von Siemens mit an meinen Lehrstuhl nahm, war der neuartige Halbleiter SiC, der damals für die Optoelektronik große Bedeutung erlangte und heute in Leistungs- und Hochtemperaturelektronik zunehmend eine wichtige Rolle spielt. Das SiC ist schwer herzustellen, es kann nicht wie GaAs und InP aus der Schmelze gezogen werden, weil nämlich SiC auch bei hohen Temperaturen nicht schmilzt, sondern sich in flüssiges Si und festen Kohlenstoff zerlegt. Wir arbeiteten also an einem anderen Verfahren, der Physical Vapour Deposition, das nach Jahren der Forschung und etlichen Doktorarbeiten zum Erfolg führte. So konnten wir mit zunächst 4 Mitarbeitern eine Firma zur Herstellung von SiC ausgründen, die SiCrystal AG. Der große Durchbruch für das Start-up Unternehmen kam, als unsere SiC-Scheiben von der Firma Osram als Substrate für deren blaue Leuchtdioden auf Basis GaN qualifiziert wurden. Mit einem Schlag musste die Zahl unserer Kristallzüchtungsanlagen von 4 auf 40 erhöht werden! Das war natürlich nur möglich durch einen massiven Kapitalzufluss, der durch einen Einstieg von Siemens realisiert wurde. Die Firma mit Sitz in Nürnberg hat heute mehr als 70 Mitarbeiter und ist einer der beiden großen Lieferanten von SiC-Wafern für den Weltmarkt. Besonders schmeichelhaft war es, dass Siemens die eigene, inzwischen groß aufgezugene Entwicklung einer SiC-Kristallzüchtung einstellte – die Grundsteinlegung mit dem sächsischen Ministerpräsidenten für ein großes Fabrikationsgebäude in Freiberg war schon terminlich festgelegt – um in unser kleines Unternehmen einzusteigen.

Abb. 7 belegt den großen Fortschritt in der SiC-Kristallzüchtung in diesen Jahren. Sie zeigt rechts einen 3 Zoll SiC-Wafer moderner Art und links einen Acheson Kristall, wie er bei der großtechnischen Synthese von SiC aus Quarzsand und Koks anfällt. Die kleinen, kümmerlichen Achesonscheiben dienten in meiner Siemens Zeit als Substrat für die Herstellung blauer Leuchtdioden.

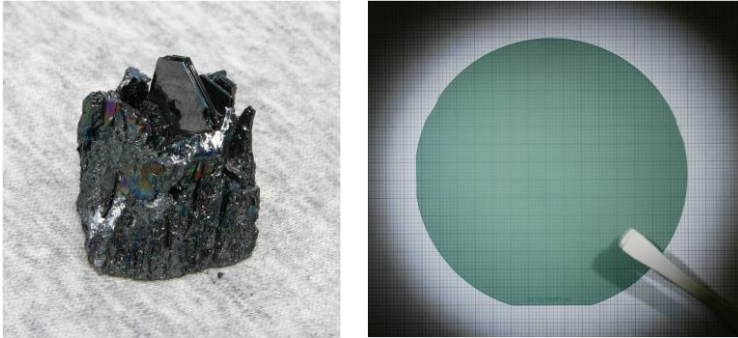


Abb. 7. Fortschritte der SiC- Kristallzüchtung.

Nach erfolgreicher Entwicklung der SiC-Kristallzüchtung und Ausgründung der SiCrystal AG konzentrierten wir unsere Anstrengungen auf die Herstellung von AlN-Einkristallen, die vor allem als Substrate für kurzwellige UV-Leuchtdioden von Interesse sein sollten. Auch das AlN kann nach dem Physical Vapour Deposition Verfahren hergestellt werden, wie das SiC (Abb. 8):

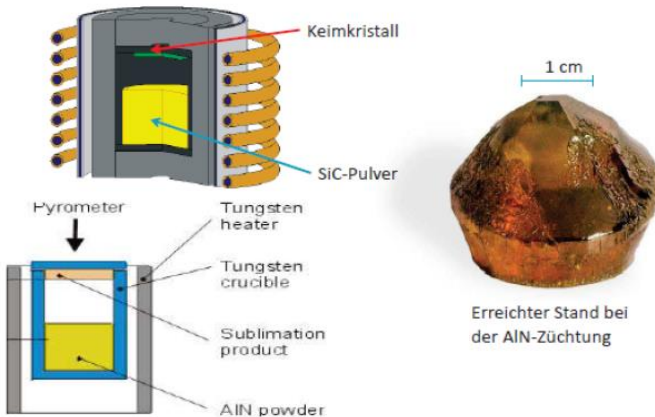


Abb. 8. Verfahren der "Physical Vapour Deposition" (links) und AlN-Kristall, erreichter Stand der Technik.

Bei diesem Verfahren wird bei hoher Temperatur der aus dem Vorratspulver aufsteigende Dampf des Materials auf einem Keimkristall abgeschieden, der so zu einem größeren Kristall heranwächst. Das spezielle Problem beim AlN war, dass dieses bisher überhaupt nicht als Einkristall hergestellt werden konnte, also auch kein Keimkristall zur Verfügung stand. Unser Beitrag zur Lösung des Problems bestand darin, dass wir herausfanden, dass man SiC-Wafer als Keimkristalle für das AlN-Wachstum verwenden konnte. Dies war freilich nur auf einer gewissen exotischen Orientierung des SiC möglich, die wir als SiC-Züchter uns selbst herstellen konnten, das begründete einen Vorsprung vor der Konkurrenz. Freilich hatte der Einsatz eines Fremdsubstrates als Keim eine Reihe von Problemen hinsichtlich Reinheit und Qualität des wachsenden AlN-Kristalls zur Folge, die nicht befriedigend gelöst werden konnten, so dass die angestrebte Kommerzialisierung des Verfahrens nicht gelang, wir konnten den kommerziellen Erfolg des SiC nicht wiederholen. Immerhin wurde eine Vielzahl von Erkenntnissen zum Wachstum und zur Defektstruktur des AlN erzielt, die in zahlreichen Publikationen und Dissertationen ihren Niederschlag gefunden haben.

Abb. 8 zeigt rechts den erzielten Stand der AlN-Kristallzüchtung, der sich auch auf internationalem Niveau heute noch sehen lassen kann.

In Erlangen war ich Mitglied einer Technischen Fakultät geworden, bewegte mich also in einem stark von Ingenieuren geprägten Umfeld. Die Wechsel von der Fakultät für Physik und Astronomie der Universität Heidelberg, die ganz dezidiert der Grundlagenforschung gewidmet war und ist, über die Siemens Forschungslaboratorien in eine ingenieurwissenschaftliche Fakultät gaben mir reichlich Gelegenheit und Anschauungsmaterial, um über das Verhältnis von Grundlagenforschung und Angewandter Forschung nachzudenken. Das erste, was mir nach meiner Ankunft in den Siemens Forschungslaboratorien auffiel war dies: Während wir an einem universitären Forschungsinstitut ständig mit grüblerischen Leuten zu tun haben, die sagen: *Ich*

versteh' das nicht, wie soll das gehen, das ist mir ein Rätsel, begegnete ich bei Siemens nur Leuten die sagten: *Das wissen wir, das verstehen wir genau, das haben wir voll im Griff*. Wenn hochqualifizierte Fachleute sich so unterschiedlich zu ihrer Forschungstätigkeit äußern, so muss das mit einem unterschiedlichen Begriff des Verstehens, mit einer unterschiedlichen Erwartung an das Verstehen zu tun haben. Und in der Tat ist es wohl so, wie es sich mir im Rückblick darstellt: Grundlagenforschung und Angewandte Forschung unterscheiden sich entgegen landläufiger Ansicht primär nicht nach den Gegenständen, mit denen sie sich befassen. Wir wissen doch, wie viele praktisch nutzbare Erfindungen aus Grundlagenforschung hervorgegangen sind, während umgekehrt zahlreiche bedeutende Grundlagenkenntnisse sich aus ganz praktischen Fragestellungen ergeben haben. Der Unterschied liegt in der Erwartung an das Verstehen. Für den Grundlagenforscher heißt Verstehen die Rückführung der Prozesse auf ein System von Ursachen und Wirkungen. Für den Ingenieur heißt verstehen, die Voraussetzungen für das Funktionieren eines technischen Systems, einer Maschine oder eines Prozesses zu durchschauen. Grundlagenforschung oder Angewandte Forschung ist also nicht so sehr eine Frage des Gegenstandes sondern des Blickwinkels. Man kann das F-Zentrum, mit dem Mollenauer und ich uns befassten, unter Grundlagen-Gesichtspunkten als Prototyp eines elektronischen Punktdefektes im Festkörper sehen, zugleich ist es aber auch unter praktischen Gesichtspunkten das optimale Speicherzentrum in den Speicherleuchtstoffen, und nur seinen grundsätzlichen Eigenschaften ist es zu danken, dass es für diesen medizintechnischen Zweck das ideale Zentrum ist. Die gegenseitige Wertschätzung beider Disziplinen, der Naturwissenschaften und der Ingenieurwissenschaften, muss aus der Einsicht resultieren, dass in beiden Facetten sich wichtige und legitime Anliegen der Wissenschaft spiegeln. In den 17 Jahren, die ich dem Lehrstuhl Werkstoffe der Elektrotechnik vorstand, haben wir uns beiden Anliegen gewidmet, dem physikalischen Verständnis und der technischen Umsetzung.

In meiner Tätigkeit als Leiter eines Universitätsinstituts habe ich auch die Basis für weitergehende Aktivitäten gesehen, sicherlich in diesem Punkt stark vom Beispiel meines Doktorvaters zu Putlitz beeinflusst. Ich habe eine von der DFG finanzierte Zusammenarbeit zum Thema Halbleitermaterialien mit der Sowjetischen Akademie der Wissenschaften ins Leben gerufen, noch in der Zeit der alten Sowjetunion, aus der Einsicht heraus, dass die Wissenschaft noch am ehesten vielleicht einen Ansatz öffnet, auch verkrustete Systeme aufzubrechen. Auf diesem Felde sind Herr zu Putlitz und ich viel später noch einmal gemeinsam tätig gewesen mit unseren Kontaktnahmen zu Nordkorea, s. Abb. 9.



Abb. 9. Eröffnung des 5. gemeinsamen Seminars in Pjöngjang im Jahr 2007, rechts von mir Dr. Jörg Klein von der Daimler-Benz-Stiftung, mit Bildern von Staatsgründer Kim Il Sung und Nachfolger Kim Jong Il.

Ich habe auch die Verpflichtung gesehen, mich in der akademischen Selbstverwaltung zu betätigen. Vier Jahre lang war ich Dekan der Technischen Fakultät. Die Technische Fakultät der Universität Erlangen heißt zwar Fakultät, ist aber mit ihren über 50 großen Lehrstühlen de facto die Technische Hochschule Nordbayerns, es gibt ja in Bayern sonst nur die TU München, und sie muss den Ehrgeiz entwickeln, so war mein Bestreben, sich als solche auch selbst zu sehen und darzustellen. Bleibende Fortschritte in dieser Richtung wurden auch dadurch erreicht, dass es durch meine Verbindung zu Siemens ermöglicht wurde, die interne Unternehmensberatung der Siemens AG probeweise einmal auf eine Universität loszulassen. Man darf natürlich nicht alles glauben, was aus einer solchen Analyse professioneller Unternehmensberater herauskommt. Da aber die Siemens Unternehmensberatung schon viel undurchschaubarere Unternehmen als eine Universität analysiert hatte, z.B. den Jesuitenorden, konnten wir daraus manches lernen über das ich einen ganzen Vortrag halten könnte, und das Bestand hatte für Struktur und Selbstverständnis der Fakultät als Technische Hochschule Nordbayerns.

Als sich mit meinem 67ten Geburtstag meine Pensionierung anbahnte, hatte ich angesichts der vielfältigen Interessen und Aktivitäten, die ich hier angesprochen habe, keine Schwierigkeit, mir einen aktiven und tätigen Ruhestand vorzustellen. Überraschend war aber die Wendung, die durch einen Anruf aus dem Rektorat der Universität Heidelberg kurz nach dem Eintritt in den Ruhestand eintrat. Die Universität hatte beschlossen, ein materialwissenschaftliches Zentrum zu gründen, das Centre for Advanced Materials (CAM), das sich mit einer neuen Entwicklung auf dem Gebiet der elektronischen Materialien, der Organischen Elektronik, befassen sollte. Ich übernahm die Aufgabe eines Gründungsdirektors dieses Instituts und fühle mich geehrt, dass mir auf diese Weise der Status eines Seniorprofessors der Universität Heidelberg zuteilwurde. Die Arbeit begann 2010 mit dem überaus kritischen Schritt der Genehmigung durch den Wissenschaftsrat und endete

kürzlich mit der feierlichen Einweihung des neu errichteten Instituts (Abb. 10).



Abb. 10. Nordseite des CAM-Gebäudes.

Wie weiter oben ausgeführt, beschäftigt mich mein Berufsleben lang die Frage der rechten Balance zwischen Grundlagenforschung und Angewandter Forschung. Ich denke, dass ich im Kontext des CAM einen Beitrag zu dieser Diskussion auch an dieser Universität liefern konnte und vielleicht weiterhin liefern kann. Das neue Zentrum kann in diesem Konflikt ein Zeichen setzen. Vielleicht habe ich in meiner Ansprache bei der feierlichen Eröffnung des Instituts ein wenig zu stark den Akzent auf das Faktum gesetzt, dass mit dem Eintritt in die Materialwissenschaften die Universität

Heidelberg sich zu den Ingenieurwissenschaften hin öffnet. Die Materialwissenschaft ist Naturwissenschaft insofern, als sie sich dem Verständnis der Prozesse in den Materialien widmet, sie ist Ingenieurwissenschaft insofern, als es ihr immer auch um die Funktion und die Nutzung solcher Vorgänge in Bauelementen und technischen Systemen geht. Die Rhein Neckar Zeitung RNZ veranlassten diese Hinweise am folgenden Tag zu der in Abb. 11 gezeigten Schlagzeile



Abb. 11. Bericht der RNZ über die CAM-Eröffnung am 24.5.2017.

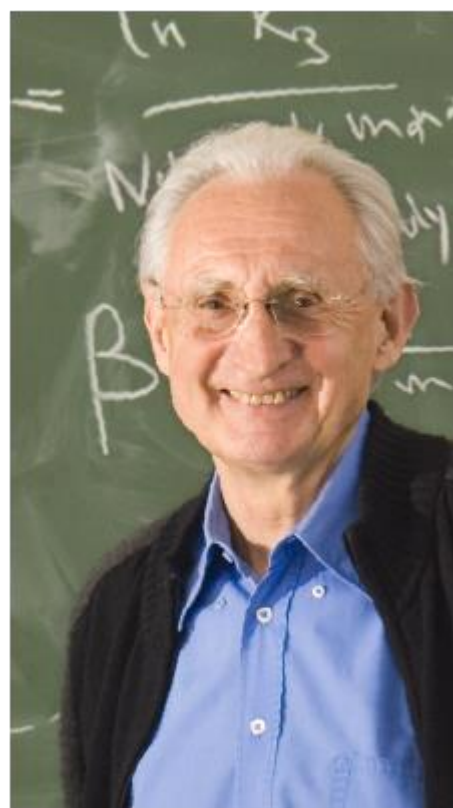
Das war seitens der Zeitung eine Überinterpretation und etwas dick aufgetragen, Ingenieure produziert die Universität Heidelberg im CAM nicht. Aber ich freute mich trotzdem daran, dass der Kern meiner Botschaft offenbar herausgekommen war. Es ist auch für eine Universität wie die Heidelberger, die sich als "Comprehensive University" sieht, wichtig, dass sie sich verstärkt den beiden Aspekten der Wissenschaft widmet, dem Verstehen und dem Gestalten

unserer Welt. Auch der Heidelberger Physik kann das nicht schaden.

Als ein Element der Bindung an Heidelberg und seine Wissenschaft sehe ich auch meine Mitgliedschaft in der Heidelberger Akademie der Wissenschaften. Diese aktive Mitgliedschaft, die Weiterführung und Weiterentwicklung meiner Vorlesung "Physik und Technologie der Halbleiter" und meine beratende Mitwirkung als Ehrendirektor des CAM sollen die Basis für den Fortbestand einer lebenslangen Verbindung bilden.

Vortrag gehalten an der Fakultät für Physik und Astronomie der Universität Heidelberg am 13. Juli 2017

Jürgen Wolfrum



Jürgen Wolfrum

Jürgen Wolfrum wurde 1939 in Jena (Thüringen) geboren. Nach dem Abitur wurde ihm aus politischen Gründen die Zulassung zum Physikstudium verwehrt, so dass er zunächst als Hilfslaborant am Institut für Wärmetechnik und Automatisierung in Jena tätig war. Nach Übersiedlung nach Göttingen und Anerkennungsprüfung für das Abitur in der DDR studierte er in Göttingen und Hamburg Physik und schloss das Studium 1965 mit einer Diplomarbeit über elektrisch erzeugte Stoßwellen ab. Nach seiner Promotion 1968 in physikalischer Chemie forschte er zunächst an der Universität Bochum und anschließend am Max-Planck-Institut für Strömungsforschung in Göttingen in der Abteilung Reaktionskinetik. Nach einem Postdoc Aufenthalt 1974 an der UC Berkeley habilitierte er sich 1975 in der Physikalischen Chemie und war 1978 Mitbegründer des SFB 93 "Photochemie mit Lasern" an der Universität Göttingen. Einen Ruf an die Universität Bielefeld lehnte er ab. 1982 wurde er auf den Lehrstuhl für Physikalische Chemie der Universität Heidelberg berufen. 1984 gründete er mit Kollegen aus Heidelberg, Karlsruhe und Stuttgart die Arbeitsgemeinschaft "TECFLAM – Mathematische Modellierung und Lasermeßtechnik von Verbrennungsvorgängen". 1987 war er Mitbegründer des Interdisziplinären Zentrums für wissenschaftliches Rechnen (IWR) der Universität Heidelberg. Ab 1990 war er Vorsitzender des Beirates des Farkas Center of Light-Induced Processes an der Hebrew University of Jerusalem (Israel), ab 1992 Auswärtiges Mitglied des Max-Planck-Instituts für Biophysikalische Chemie in Göttingen, und ab 1997 Vorsitzender des Beirates des Instituts für Molekulare Biotechnologie IMB (Jena). 1999 Gastprofessor an der UC Berkeley (Russell Severance Springer Professorship). 2000 wurde er Mitglied des Hochschulrates der Universität Heidelberg. Ab 2001 Mitglied des International Space Station (ISS) Review Panel sowie des Beirates des Forschungszentrums Karlsruhe und

Gutachter der Helmholtz Gesellschaft. 2005 Gründungsdirektor von BIOQUANT – ein neues Forschungsnetzwerk der Universität Heidelberg.

Für seine wissenschaftlichen Arbeiten erhielt Jürgen Wolfrum zahlreiche Preise: Nernst-Haber-Bodenstein-Preis der Deutschen Bunsengesellschaft (1978), Philip-Morris-Forschungspreis (1987), Max-Planck-Forschungspreis gemeinsam mit G. C. Schatz (1993), Hoyt C. Hottel Lecture Award (1998), Karl Heinz Beckurts-Preis für die Entwicklung von neuen Meßverfahren mit Hilfe der Lasertechnologie (1998), BMW Scientific Award zusammen mit Dr. Christof Schulz (1999), Polanyi Medal der Royal Society of Chemistry, London (2000), Bunsen-Denkmünze der Deutschen Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie (2003), Bernard Lewis Goldmedal, Peking (2010), Dr.-Ing. E.h. Universität Duisburg-Essen (2014). Jürgen Wolfrum ist Mitglied der Heidelberger Akademie der Wissenschaften, der New York Academy of Sciences, der National Academy of Sciences India und der Deutschen Akademie für Technikwissenschaften acatech.

Jürgen Wolfrum

Das Feuer im Laserlicht: Theoretische Grundlagen und praktische Anwendungen

Es ist mir eine große Freude und Ehre als Physikochemiker im Kreis der Heidelberger Physiker etwas über mein Leben und meine Arbeit berichten zu dürfen. Ich wurde am 23. September 1939 in Jena (Thüringen) geboren. Mein Vater hatte an der Friedrich-Schiller-Universität eine Professur für Pädagogik. Gleichzeitig war er als Schüler von Peter Petersen Leiter der sogenannten "Jena-Planschule", die ich bis zu deren politisch bedingten Auflösung als Schüler besuchte. Diese Experimentalschule der Universität folgte dem von Peter Petersen entwickelten reformpädagogischen Konzept, welches dem einzelnen Schüler große Freiheiten und Entwicklungsmöglichkeiten eröffnet. So musste man als Schüler der 3. Klasse einem Patenschüler in der ersten Klasse Lesen und Schreiben beibringen, in dem man eine individuelle Lesefibel erstellte und die Fortschritte des Zöglings genau beobachtete und dokumentierte, wobei man selbst die eigenen Fähigkeiten verbesserte. Man konnte Dinge für die man sich stark interessierte intensiv weiterverfolgen. So gelang es mir, in der 4. Klasse den Rechenstoff bis zur 8. Klasse durchzuarbeiten und dann im Kurs für Geometrie die Grenzen meiner damaligen Fähigkeiten auszuloten. Der Wechsel in das doktrinäre Schulsystem der DDR war für mich ein echter Schock, der in der 10. Klasse durch das Auftreten des neuen Physiklehrers Dr. Erich Hasenöhrle endlich gemildert wurde. So faszinierte mich seine Aussage: "Jungs, heute machen wir Quantenmechanik, die kann man nicht verstehen, aber daran kann man sich gewöhnen". Sein Onkel war der berühmte Friedrich Hasenöhrle (1874–1915), der Lehrer von Erwin Schrödinger. Neben

den spannenden Fragen der Physik war für mich und manchen Klassenkameraden auch die Tatsache, dass die SED viele Dinge des täglichen Lebens bestimmen und ändern konnte nicht jedoch die physikalischen Gesetze, eine gewisse innere Beruhigung. Allerdings gefolgt von der Enttäuschung, dass mein Antrag, als Student der Physik an der Universität Jena zu beginnen abgelehnt wurde mit dem Hinweis, dass ich mich als engagierter Bürger des Staates für 3 Jahre in der sozialistischen Produktion bewähren könne und danach einen neuen Antrag stellen. Durch Fürsprache meines Vaters erhielt ich dann im Institut für Wärmetechnik und Automatisierung in Jena Burgau eine Stelle als Hilfslaborant. Meine Aufgabe war die Automatisierung der Zementmühle in Jena Göschwitz. Hier sollte ein elektronisches Gerät zur Füllstandskontrolle entwickelt werden. Der Füllstand in solchen Kugelmühlen lässt sich aus dem akustischen Frequenzspektrum ermitteln. Die hierfür eingesetzten Zementmüller wurden im Rahmen ihrer Berufsausübung meist taub aufgrund der extrem hohen Schallpegel beim Betrieb der Mühlen. Als Radiobastler besorgte ich mir eine Schaltung zur elektronischen Frequenzanalyse der akustischen Signale, die ich mit Hilfe eines Tonbandgerätes in der Zementmühle aufnahm. Durch Vermittlung von Prof. Dr. Harald Costa, einem bekannten Regelungstechniker und Leiter des Instituts, konnte ich bereits 1957 an Transistoren und andere Halbleiterkomponenten der Fa. Philips kommen, so dass mir die Realisierung eines kompakten, temperaturstabilen und staubdicht eingeschweißten Halbleitergerätes gelang. Dies erregte Aufsehen im Institut, so dass kurz danach eine Delegation aus der Sowjetunion erschien und dem Institut den Auftrag zur Automatisierung der sowjetischen Zementwerke erteilte. Nach diesem Erfolg bekam ich weitere Aufträge im Bereich der Glasindustrie. Besonders interessant war die Bitte des Parteileiters des Instituts, seinen Fernseher etwas zu modifizieren, d.h. von der extrem schmalbandigen Richtantenne mit der man in Jena nur den DDR-Fernsehsender Inselsberg empfangen konnte durch Umstellung des koaxialen Antenneneingangs auf ein Breitbandkabel und

Herstellen einer Dipolantenne mit der Wellenlänge des Senders Ochsenkopf einen Empfang des Bayerischen Fernsehens möglich zu machen. Nachdem ich ein Gespräch mit den Anwerbern für die Nationale Volksarmee (NVA) hatte, die mir in Aussicht stellten, nach 3 Jahren Dienst für den Frieden an der Waffe eine bessere Chance auf Zulassung für ein Physikstudium zu haben, entschloss ich mich, beim Parteileiter Einsicht in meine Kaderakte zu beantragen. Er meinte dies sei nicht erlaubt, darauf entgegnete ich, es sei auch nicht erlaubt die Fernsehantenne zu modifizieren. In seinem Büro las er mir einige Sätze aus meiner Kaderakte vor. Nach dem Satz "Wolfrum ist das Zentrum der Konterrevolution, man kann ihm aber nichts nachweisen" meinte er: "Mit einer derartigen Beurteilung hätte ich selbst bei hervorragenden Leistungen keinerlei Chancen in der DDR, gehen sie in den Westen". Das tat ich dann auch, wie auch der Rest unserer Familie, da mein Vater auch aus politischen Gründen Vorlesungsverbot an der Universität Jena erhielt. Der damals noch mögliche Wechsel an eine westdeutsche Universität erlaubte ihm, eine Stelle an der Universität Göttingen anzutreten. Der Nachteil war, dass ich 1958 wieder zur Schule gehen musste. Diesmal in das Felix Klein Gymnasium in Göttingen, um eine Anerkennung für das Abitur der DDR zu bekommen. Dabei ergab sich die Möglichkeit durch eine Anerkennungsprüfung im Ministerium in Hannover bereits im WS 1958/59 mit dem Studium der Physik in Göttingen zu beginnen. Insbesondere der marginale Lateinunterricht der DDR bereitete mir Sorgen, so dass ich Caesars "Gallischen Krieg" in Deutsch mehr oder minder auswendig lernte, um die entsprechende Übersetzung aus dem Latein zu bewerkstelligen. Etwas fassungslos betrachtete ich dann einen Brief aus Hannover, in dem mir mitgeteilt wurde, dass ich leider die Prüfung nicht bestanden habe. Das konnte ich mir eigentlich nicht vorstellen und nach erneuter Nachfrage stellte sich heraus, dass meine Ergebnisse mit einem anderen Kandidaten verwechselt worden waren. Nach diesem langen Anlauf konnte ich dann endlich mein Physikstudium in Göttingen beginnen. Bei der Suche nach einer Diplomarbeit stand insbesondere das 2. Physi-

kalische Institut mit kernphysikalischen Themen von Professor Arnold Flammersfeld im Zentrum des Interesses. Allerdings bot die langweilige Vorlesung von Flammersfeld und das Bonmot unter den Studenten "Was ist der Unterschied zwischen einem Zyklotron und einem Opel Kapitän" (diesen PKW benutze Professor Flammersfeld). Antwort: "Es gibt keinen Unterschied, denn beide dienen der Beschleunigung kleinster physikalischer Größen" kaum Anreiz zur Arbeit in diesem Institut. Vorlesung und Atmosphäre des Instituts für Angewandte Physik mit Professor Erwin Meier als Direktor fand ich viel interessanter. Hier waren wir als Studenten oft Testpublikum zur Untersuchung von Konzertsaalakustik. Dort wurden Antisonarbeschichtungen zur Tarnung von U-Booten entwickelt und Schwingungsphysik in einem sehr breiten Rahmen betrieben. Insbesondere stand dort einer der erste Laser in Göttingen. Meine Diplomarbeit beschäftigte sich dann mit elektrodynamisch erzeugten Stoßwellen bis zur Machzahl 100. Dies war interessant für die Kommunikation beim Wiedereintritt von Satelliten in die Erdatmosphäre, aber auch im Zusammenhang mit Experimenten zur kontrollierten Kernfusion. Das Angebot von Erwin Meyer, auf dem Gebiet der Kernfusion weiterzuarbeiten lehnte ich ab. Das Ziel schien mir in weiter Ferne zu liegen und auch heute ist der Abstand zur praktischen Nutzung der Kernfusion immer noch 50 Jahre. Realistischer erschien mir ein anderen Bereich der Energieforschung: Das Feuer. Ich wechselte dazu in das Göttinger Institut für Physikalische Chemie unter Wilhelm Jost und Heinz Georg Wagner. Wilhelm Jost hatte bereits in den 30er Jahren ein sehr bekanntes Lehrbuch über Verbrennungsprozesse verfasst und das Göttinger Institut war weltweit führend auf diesem Gebiet. Ich interessierte mich für eine möglichst vollständige Beschreibung der Verbrennungsprozesse mit Hilfe der darin ablaufenden chemischen Elementarreaktionen und erkannte bald, dass es hierfür nur sehr wenige quantitative Daten gab. Solche Daten wie die Reaktionen chemisch instabiler Teilchen insbesondere von Atomen und freien Radikalen konnte man in einer erstmals 1924 von Bonhoeffer und Wood beschriebenen

Strömungsanordnung gewinnen. Hier werden freie Atome und Radikale in einer Gasströmung mit Hilfe einer elektrischen Entladung erzeugt und ihre Reaktionszeit durch variable Zugabe des Reaktanten in der Strömung variiert. Zur Analyse des Reaktionsablaufs und der entstehenden Produkte benutzte ich einmal ein Elektronenspinspektrometer (ESR) kombiniert mit einem Atlas-Massenspektrometer (MS). Daneben konstruierte ich ein Molekularstrahlprobennahmesystem für ein Flugzeitmassenspektrometer (TOF). Nach meiner Promotion wurden diese Messanordnungen (siehe Abb. 1). noch in weiteren Diplom- und Promotionsarbeiten eingesetzt, um Daten für die zahlreichen Elementarreaktionen in Verbrennungsprozessen zu erhalten. Hierdurch ergab sich auch eine interessante Zusammenarbeit mit Jürgen Warnatz, der weltweite Pionierarbeit leistete indem er erstmals kinetische Gesamtsysteme für die Verbrennungsprozesse aufstellte. Selbst bei der Verbrennung des einfachsten Kohlenwasserstoffs Methan (CH_4) spielen über 400 Elementarschritte eine Rolle. Neben dem Reaktionsweg über Methylradikale (CH_3), Formaldehyd, Kohlenmonoxid und schließlich Kohlendioxid können CH_3 -Radikale auch zum Aufbau höherer Kohlenwasserstoffe dienen und so zahlreiche weitere Reaktionsschritte bis hin zur Erzeugung aromatischerer Verbindungen und Rußteilchen induzieren. Gemeinsam mit Jürgen Warnatz und anderen Kollegen waren wir dann als wissenschaftlicher Assistent beteiligt am Aufbau des Lehrstuhls für Physikalische Chemie (Prof. Dr. Dres. h.c. Heinz Georg Wagner) an der neu gegründeten Ruhruniversität Bochum. In diese Zeit fiel auch die Umstrukturierung des Max-Planck-Instituts für Strömungsforschung in Göttingen. Herr Wagner bot mir an, als wissenschaftlicher Mitarbeiter die neue Abteilung Reaktionskinetik mit aufzubauen. Dies eröffnete mir sehr gute experimentelle Möglichkeiten für mein neues Arbeitsthema "Einfluss von Schwingungsanregung auf die mikroskopische Kinetik von elementaren Gasreaktionen".

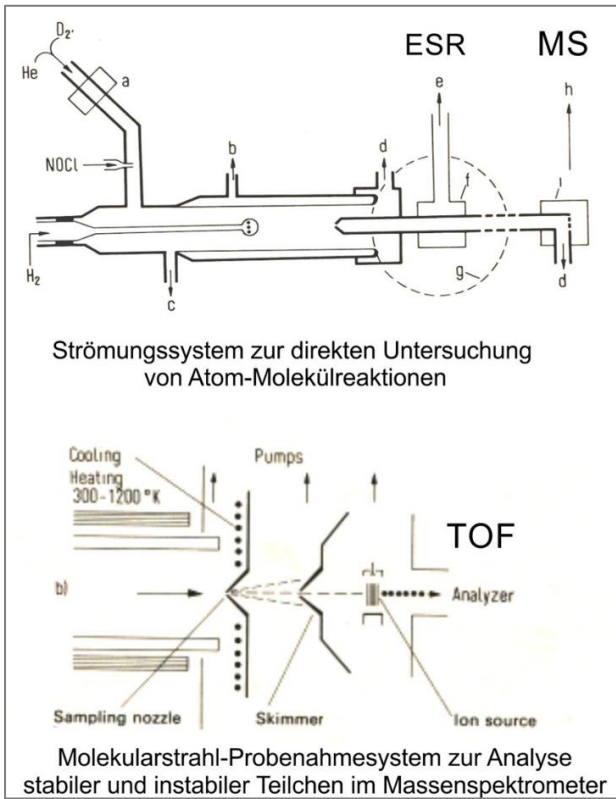


Abb. 1. Molekularstrahlprobennahmesystem für ein Flugzeitmassenspektrometer (TOF).

George Pimentel hatte in Berkeley den ersten chemischen Laser über die stimulierte Emission schwingungsangeregter HCl-Moleküle realisiert und ich hatte Gelegenheit, als Postdoc in die Arbeitsgruppe von C. B. Moore in Berkeley zu wechseln. Zurückgekehrt nach Göttingen kombinierte ich den chemischen Laser von George Pimentel mit meiner Strömungsanordnung und Molekularstrahlprobenahme für die Massenspektrometrie. Damit gelang mir die Untersuchung verschiedener Reaktionen schwingungsangeregter

Moleküle. Eifriger Leser meiner Veröffentlichungen auf diesem Gebiet war Angela Merkel, die mir bei einem persönlichen Gespräch in Heidelberg sagte: "Jetzt weiß ich wenigstens einmal, wie Sie aussehen, denn ich habe immer so gerne aus ihren Arbeiten für meine Doktorarbeit zitiert". Besonders spannend war damals, ob es gelingt, mit Hilfe der Laserchemie eine selektive Steuerung des Reaktionsweges zu erreichen.

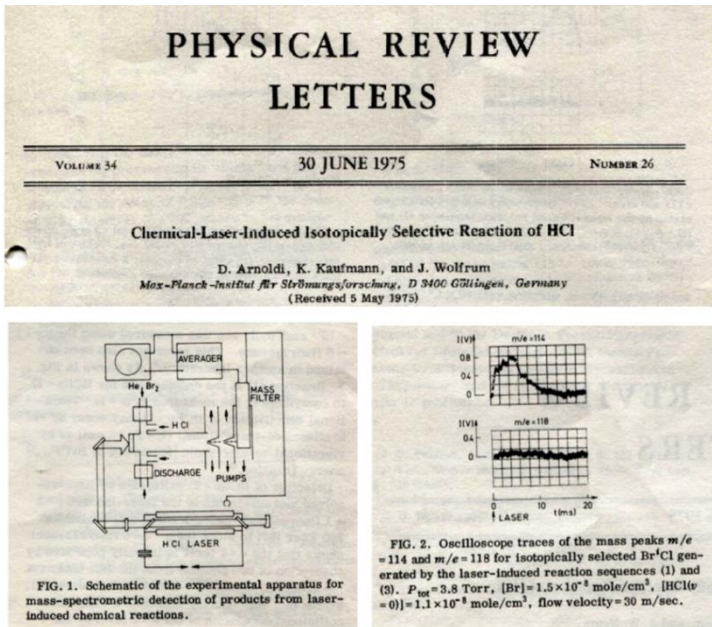


Abb. 2. Laserinduzierte isotopenselektive Gasreaktion.

Wie in Abb. 2 dargestellt, konnten wir erstmals zeigen, dass eine isotopenselektive chemische Reaktion durch Schwingungsanregung möglich ist. Durch Absorption von 2 Photonen lässt sich für die Reaktion von Bromatomen mit Chlorwasserstoff die Reaktionsgeschwindigkeit um über 12 Größenordnungen steigern und so selektiv das Chlor-35-Isotop in Bromchlorid anreichern. Mit

dem Thema der Reaktionen selektiv schwingungsangeregter Moleküle konnte ich mich dann erfolgreich habilitieren. 1978 wurden diese Arbeiten mit dem Nernst-Haber-Bodenstein Preis der Deutschen Bunsengesellschaft ausgezeichnet.

Neben der Schwingungsanregung interessierte mich auch die Bestimmung absoluter Reaktionsquerschnitte als Funktion der relativen Translationsenergie der Reaktanten. Dies konnte einmal mit sehr aufwendigen Molekularstrahlapparaturen, aber auch eleganter und kostengünstiger mit Hilfe der UV-Laserphotolyse erreicht werden. Vergleichbar der Rolle des Wasserstoffatoms in der Physik ist die Wasserstoffaustauschreaktion in der physikalischen Chemie das einfachste Modell für die Lösung einer chemischen Bindung unter dem Einfluss einer Bindungsneubildung.

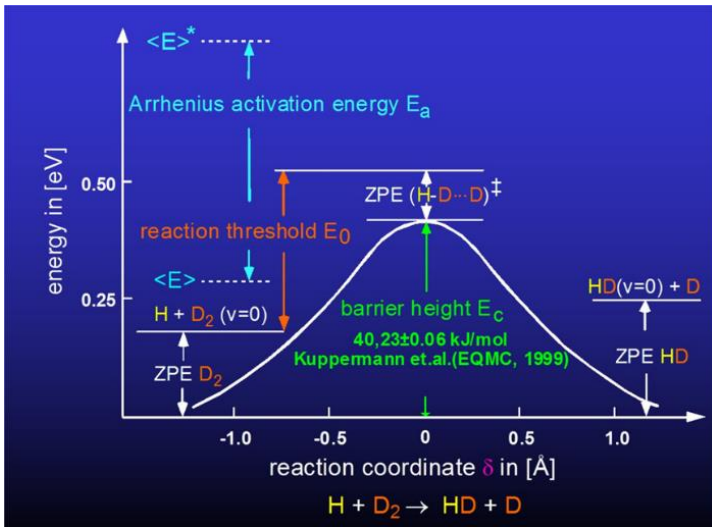


Abb. 3. Potentialenergiendiagramm der Reaktion $\text{H} + \text{D}_2 \rightarrow \text{HD} + \text{D}$.

Wie in Abb. 3 gezeigt, spielen bei der Überwindung der Energiebarriere der Reaktion $\text{H} + \text{H}_2$ die Nullpunktenergien von Reaktanten

und Übergangszustand eine wichtige Rolle. Es war daher die Frage, inwieweit eine solche Reaktion mit Hilfe quasiklassischer Trajektorien beschrieben werden kann oder ob eine vollständige quantenmechanische Behandlung durch Lösung der zeitabhängigen Schrödinger Gleichung notwendig ist. Wasserstoff lässt sich spektroskopisch nur schwer nachweisen.

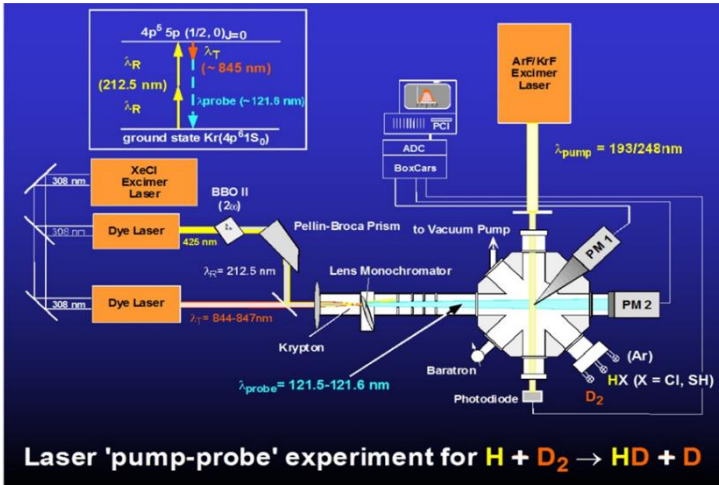


Abb. 4. 4-Wellenmischprozess zum Nachweis von H-Atomen.

Doch gelingt mit Hilfe eines 4-Wellenmischprozesses der empfindliche Nachweis von Wasserstoffatomen über die Lyman- α -Linie (Abb. 4). Über die UV-Laserphotolyse von Halogenwasserstoffen können gezielt Atome mit hoher Translationsenergie erzeugt werden. Durch Zugabe von Edelgasen als Stoßpartner erfolgt eine kontinuierliche Abkühlung, wobei der gesamte Energiebereich der Anregungsfunktion für den reaktiven Querschnitt durchlaufen wird. Dabei zeigt sich eine überraschende Übereinstimmung von unseren Experimenten sowohl mit den Ergebnissen quasiklassischer wie auch exakter quantenmechanischer Berechnungen (Abb. 5).

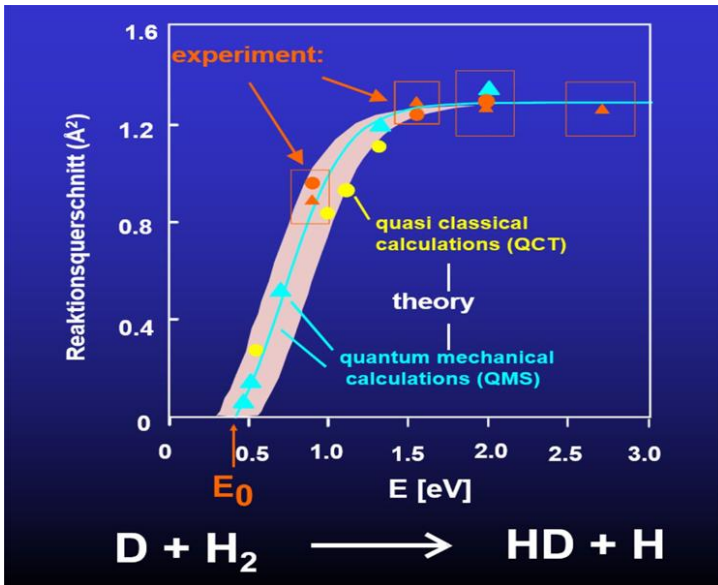


Abb. 5. Experimentelle und theoretische Reaktionsquerschnitte der Reaktion $\text{D} + \text{H}_2 \rightarrow \text{HD} + \text{H}$.

Dies lässt sich möglicherweise durch die Kombination eines Doppelfehlers in der quasiklassischen Rechnung erklären. Bei der quasiklassischen Behandlung gibt es keine Nullpunktsenergie im Übergangszustand, andererseits wird auch der Tunneffekt nicht berücksichtigt. Für meine Untersuchungen der kinetischen Kinetik elementarer Gasreaktionen wurde mir 1993 gemeinsam mit G. C. Schatz (Evanston, USA) der Max-Planck-Forschungspreis und im Jahre 2000 die Michael Polanyi Medal der Royal Society of Chemistry London verliehen.

Neben der eigenen Biochemie gehört die Verbrennung zu den ältesten chemischen Prozessen, denen sich der Mensch bedient und ohne die man sich seine Existenz nicht vorstellen könnte. Derzeit werden durch die Erdbevölkerung jährlich fossile Energievorräte verbraucht, die sich in der Erdgeschichte in etwa einer Million

Jahren gebildet haben. Die hierbei entstehenden Schadstoffe führen zu unerwünschten Veränderungen in der Atmosphäre und Biosphäre der Erde. Auch das freigesetzte CO₂ wird nur relativ langsam wieder aus der Atmosphäre entfernt. Trotz aller Bemühungen um alternative Energiequellen beruhen immer noch über 80 Prozent der Weltenergieversorgung auf der Nutzung von Verbrennungsprozessen. Durch entschlossenes Handeln bei der Optimierung von technischen Verbrennungsprozessen können langfristige Folgen noch abgemildert werden. Die Entwicklung umweltfreundlicher und effizienter neuer Verbrennungsverfahren kann jedoch kaum noch auf überwiegend empirische Weise rasch genug vorangebracht werden. Es ist vielmehr ein radikal neuer Ansatz notwendig. Dieser Ansatz besteht darin, Verbrennungsvorgänge nicht mehr summarisch zu beschreiben, sondern aus den mikroskopischen Prozessen zusammenzusetzen und daraus die sichtbaren Wirkungen abzuleiten. Auf diese Weise ist es möglich, die Bildung von Schadstoffen oder den unvollständigen Ablauf der Verbrennung von den Ursachen her zu erkennen und aufgrund dieser Kenntnisse mithilfe mathematischer Modelle rationale Wege zu optimalen Lösungen zu finden. Der Einsatz der Laserspektroskopie erlaubt nun sowohl eine Überprüfung der Modellvorhersagen als auch eine direkte Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeiten der während der Verbrennung ablaufenden chemischen Elementarreaktionen (Abb. 6). Aus diesem Konzept ergab sich die Notwendigkeit einer engen interdisziplinären Zusammenarbeit zwischen Chemie, Physik, Mathematik und Ingenieurwissenschaften. Hierzu bildeten wir 1984 die Arbeitsgemeinschaft TECFLAM (Mathematische Modellierung und Lasermetestechnik von Verbrennungsvorgängen) mit über 200 Wissenschaftlern aus Heidelberg, Stuttgart, Karlsruhe und Darmstadt und Kaiserslautern. Außerdem gründeten Herr Jäger und ich im Jahre 1997 an der Universität Heidelberg das Interdisziplinäre Zentrum für Wissenschaftliches Rechnen (IWR). Dabei waren einige Widerstände zu überwinden. Die reine Mathematik fand das IWR sei keine Mathematik mehr, die Physik sagte sie

rechne selber, die Chemie wollte nicht rechnen und die Biologie auf keinem Fall etwas mit der Mathematik zu tun haben.

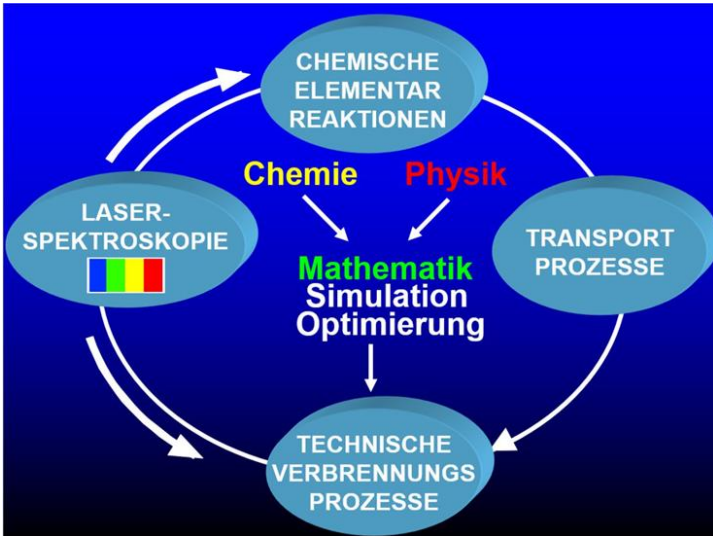


Abb. 6. Die Laserspektroskopie erlaubt eine Überprüfung der Modellvorhersagen der während der Verbrennung ablaufenden chemischen Elementarreaktionen.

Nun zu einem Beispiel dieser Zusammenarbeit: Aufregend in der Verbrennungsforschung ist natürlich immer eine Explosion. Eine Gasexplosion ist auch bei der Nutzung der Kernenergie nicht unbedeutend. Nach dem Reaktorunfall in Three Mile Island war klar, dass bei Ausfall der Reaktorkühlung durch eine Reaktion an den Zirkonstäben Wasserstoffbildung einsetzen kann. Beim Unfall in Fukushima wurde nach einigen Tagen so die Explosionsgrenze der Knallgasexplosion erreicht mit den bekannten Folgen. Durch Einblasen von Luft hätte man durch Verdünnung das Erreichen der Explosionsgrenze verhindern können. In deutschen Kernkraftwerken hat man immerhin für diesen Fall vorgesorgt, in dem mit den sogenannten "Töpferkerzen" ein katalytischer Wasserstoff-

abbau und durch das "Wallmannventil" eine Entlastung bei Überdruck möglich ist. Wie kann man nun verstehen, was bei einer Explosion genau passiert. Das Prinzip unserer Zusammenarbeit mit dem IWR und TECFLAM war, dass sich jede Wissenschaft der anderen annähert, d.h. wir mussten von der Chemieseite her ein möglichst einfaches chemisches System anbieten, ebenso für die Strömungsbedingungen und die Geometrie, sodass Peter Deuffhard in der angewandten Mathematik numerische Lösungsmethoden für die partiellen Differentialgleichungen, die man für diese Kopplung von Chemie und Transport braucht, entwickeln konnte. Als einfaches chemisches System haben wir dann Ozonexplosionen betrachtet. Da gab es dann Studenten, die mit einem gefüllten flüssigen Ozonbehälter über den Flur liefen. Wir haben dies ohne ungewollte Explosionen überstanden.

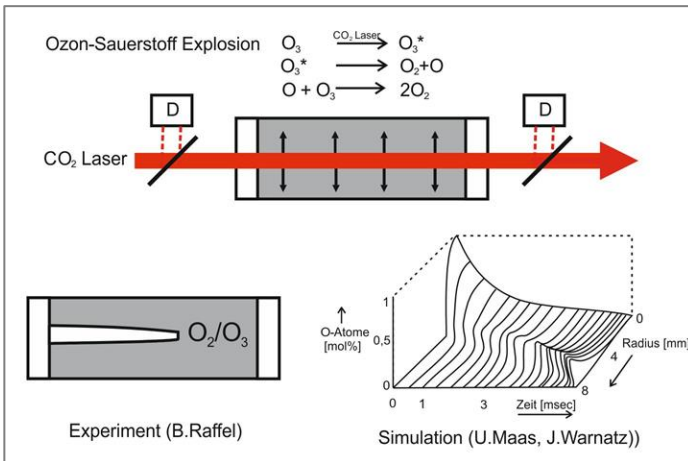


Abb. 7. Experiment und Simulation thermischer Zündprozesse.

Als Experimentalanordnung (s. Abb. 7) wählten wir einen Zylinder und einen CO₂-Laser dessen Strahl wir sehr gut homogenisiert haben. Dieser CO₂-Laser kann das Ozon in höhere Schwingungszustände anregen und damit zu höheren Temperaturen bringen.

Dabei zerfällt das Ozon und es gibt eine Kettenreaktion, bei der atomarer Sauerstoff mit O_3 zu O_2 reagiert. Wir erwarteten, dass die Anregung mit dem CO_2 -Laser zu einer Reaktionsfront führt, die sich radial nach außen bewegt. Stattdessen beobachteten wir eine 10–20-fach beschleunigte Ausbreitung der Flammenfront in dem vorerhitzten Kanal und erst danach eine radiale Ausbreitung, die auch in der numerischen Simulation sehr gut reproduziert wurde.

LASER STIMULATION AND OBSERVATION OF IGNITION PROCESSES
IN CH_3OH/O_2 -MIXTURES

A. ARNOLD, R. HEMBERGER, R. HERDEN, W. KETTERLE, and J. WOLFRUM
Physikalisch-Chemisches Institut der Universität
Im Neuenheimer Feld 253, D-6900 Heidelberg
Fed. Rep. Germany

Proceedings of the Combustion Institute, Vol. 23, pp.1783-1788 (1990)

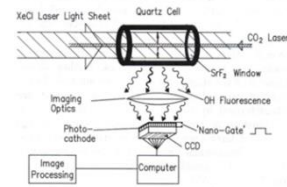


FIG. 2. Experimental arrangement for 2D-LIF detection of OH radicals formed in CO_2 laser induced ignition

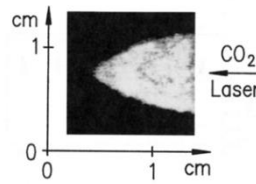


FIG. 3. 2D-LIF image of OH showing the flame propagation in laser ignited mixture of methanol (100 Torr) and oxygen (400 Torr)

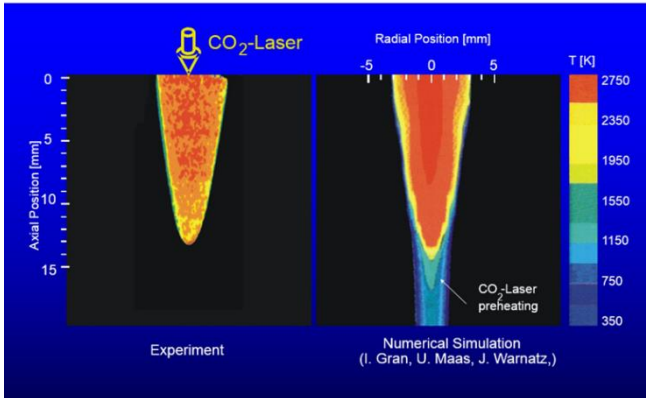


Abb. 8. CO_2 -laserinduzierte Zündung von Methanol-Sauerstoffgemischen.

Dann haben wir uns hin zu komplizierterer Chemie bewegt: Methanol-Sauerstoff-Mischungen (s. Abb. 8). Hierbei wirkte Wolfgang Ketterle als ein herausragender Postdoktorand mit. Zur Aufnahme der Fluoreszenz brauchten wir bildverstärkte CCD-Kameras mit einem Nanosekundengate und digitale Bildverarbeitung. Hierfür hätte man für 500000 DM einen Vax-Computer kaufen müssen. Wir haben dies selbst gebaut, nachdem zwei Doktoranden aus der Astronomie abgeworben werden konnten. Zusätzlich braucht man eine lichtstarke UV-Optik. Man konnte diese bei Nikon kaufen, aber Herr Ketterle meinte, die Photonen sind eigentlich das Teuerste was wir hier haben, gibt es nicht eine bessere Optik? Wir haben dann bei der Fa. Halle angefragt. Die auf unser Risiko zunächst für 20000 DM eine Berechnung anboten, ob sie ein besseres Objektiv für UV bauen können. Das Objektiv wurde für uns gebaut und wir hatten 10mal mehr Photonen, als unsere Konkurrenten und damit wirklich schöne Bilder (s. Abb. 8).

Wolfgang Ketterle baute außerdem einen 2-Frequenzexcimerlaser. Damit konnten wir zwei unterschiedliche Rotationslinien des OH-Radikals anregen und daraus das Temperaturfeld und die Flammenfront erfassen. Das Experiment stimmte sehr gut mit den Rechnungen von Jürgen Warnatz und Mitarbeitern überein. Durch diese Experimente konnte schließlich ein über 100 Jahre ungelöstes Phänomen, nämlich das Motorklopfen, verstanden werden. Wie in Abb. 9 gezeigt, wird bei der motorischen Verbrennung das unverbrannte Gas gleichzeitig durch den Kolben und die Flammenfront weiter komprimiert. Kleine Temperaturinhomogenitäten von ca. 10–20 K induzieren dann den Effekt der Beschleunigung der Flammenfront, die dann in eine Detonation übergeht.

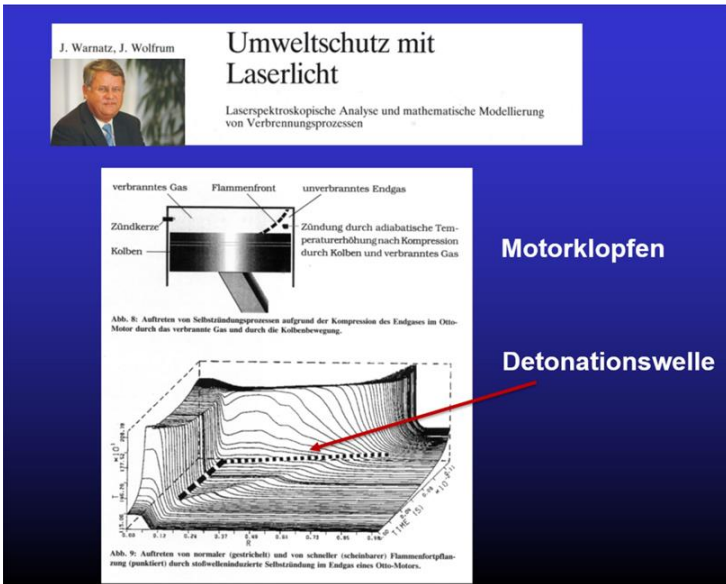


Abb. 9. "Motorklopfen". Modellierung.

Wolfgang Ketterle wechselte dann von Heidelberg nach Boston. Während seiner Experimente zur Bose-Einstein-Kondensation am MIT schrieben die konkurrierenden Arbeitsgruppen von Eric Cornell und Carl E. Wieman schon an ihrer Publikation über die experimentelle Beobachtung des Effektes in einem Laserfokus. Wolfgang Ketterle hatte zur selben Zeit einen Defekt in seinem Vakuumsystem. Durch Einsatz des Laserlichtschnittverfahrens konnte er schließlich die Laserkühlung zweidimensional gestalten und so 700mal mehr Atome abkühlen und damit den ersten "Atomlaser" realisieren.



Abb. 10. Spiegel Titel über den Mord an Karl-Heinz Beckurts.

Im Rahmen meiner Experimente zur Laserchemie und Realisierung neuer chemischer Laser war ich oft Teilnehmer in classified meetings in den USA. Eines Tages wurde ich daher in Deutschland zu einem Treffen mit Edward Teller und anderen Vertretern des SDI-Projektes eingeladen. Edward Teller bot mir an, in seinem Labor ein Röntgenlaserexperiment zu machen und meinte: "I tell you a secret. I have got all my best ideas from the open Russian literature". Er konnte Russisch, da brauchte man keinen Geheimdienst. Auf dem Treffen saß ich neben Karl-Heinz Beckurts, dem Forschungsleiter der Siemens AG. Einige Zeit später berichtete der Spiegel über den Mord an Karl-Heinz Beckurts. Unter dem Titel "Mord nach Liste" fand ich auch meinen Namen (s. Abb. 10).

Dann erschien das LKA und ich bekam Personenschutz und dachte zunächst, dass kann ja nicht so schlimm sein. Zurück in Heidelberg sah ich Plakate, dass es ein "go in" in meiner Vorlesung geben würde. Ich habe meine Werkstatt gebeten in die erste Reihe zu kommen, falls ich hier noch verprügelt werde. Das Institut wurde dann sehr oft bedroht und wir hatten verschiedene Wach-

dienste in Form von Studentenpärchen im Einsatz, die in der Nacht das Institut beobachteten und erzählten, dass die Personen in unbeleuchteten PKW kamen und fragten, ob Wachen mit Hunden und Waffen im Institut seien. Die wahrscheinlich für uns vorgesehene Bombe wurde dann im Gebäude der IBM im Neuenheimer Feld eingeworfen. Als Direktor bekommt man von der Polizei die Information, verantwortlich für die Räumung des Gebäudes zu sein. Hier möchte ich Herrn Axel Jacobs sehr danken, der das damals wirklich toll organisiert und mit Übungen getestet hat. Die ganze Geschichte ging dann vorbei und jetzt kommt etwas, wo man sagen würde, wenn es in einem Roman geschrieben wird, dann wirkt es total erfunden.

Ich fuhr viele Jahre im Frühling nach Gomera in das Haus eines Architekten. Etwa 20 Jahre nach dem Mord an Beckurtz, traf ich morgens am Pool in Gomera einen Mann, der nach Nennung meines Namens fragte, ob ich etwas mit der Universität Heidelberg zu tun habe. Dieser Mann war bei der GSG 9 und erzählte mir, dass ein Eisdielenbesitzer mir kurz nach dem Mord an Beckurtz das Leben gerettet hat. Diesem italienischen Besitzer einer kleinen Eisdielen in Rüsselsheim fielen 3 Personen an einem Tisch auf, die mit Bauplänen hantierten und sich intensiv unterhielten. Er hat dann nicht telefoniert, sondern seine Frau zur Polizei geschickt. Es gab damals Geld zur Belohnung für Terroristen, die man erfolgreich anzeigte. Allerdings meinte die Polizei zunächst er sei ein Berufsverdächtiger, der sich schon oft gemeldet hatte. So verdanke ich schließlich mein Leben der Entscheidung der Polizeidienststelle zwei Beamte in Zivil in dieses Eiscafé zu schicken. Die beiden Beamten haben dann den Verdacht bestätigt und die GSG 9 alarmiert. Die GSG 9 konnte dann drei Terroristen der dritten RAF-Generation festnehmen und auch die konspirativen Wohnungen durchsuchen. Dabei entdeckten sie ein Ringbuch mit einer mysteriösen Namensliste und auf dieser Liste war ich Nr. 1 (Abb. 11). Der GSG 9 Mitarbeiter meinte auch bei umfangreichen Personenschutz hätte ich nicht überlebt, wenn die Liste nicht gefunden worden wäre.



TERRORISTEN
Augen offen
 Nach den jüngsten RAF-Festnahmen setzen die Fahnder neue Betchnungen aus.

Der Tipgeber war „eine Tante Emma von nebenan“, wie Alexander Prechtel, Sprecher der Bundesanwaltschaft, verriet. Ein „Kommissar Bürger“ hat-

Vorletzten Samstag, kurz vor 16 Uhr, wurde in einer Rüsselsheimer Eisdielerie Eva Sybille Hauke-Frimpong, 32, festge-

Damals schon wurde versucht, Bürger mit Bargeld zu locken. Inzwischen funktioniert die Methode „cash“ reibungslos: Nur vier Tage nach den Festnahmen von Rüsselsheim konnte der Tipgeber 100 000 Mark abbassieren, 50 000 Mark für Hauke-Frimpong, je 25 000 für die Begleiter. Das Geld entstammt dem

nommen, steckbrieflich gesucht als Mitglied der „Roten Armee Fraktion“ (RAF) - verdächtigt, am missglückten Bombenanschlag auf die Nato-Schule in Oberammergau mitgewirkt zu haben und in die Ermordung des Rüstungsmanagers Ernst Zimmermann und des Siemens-Managers Karl Heinz Beckurts verstrickt zu sein.

Dem Tipgeber von Rüsselsheim hätte die Wachsamkeit um ein Haar nichts genutzt. Er war der örtlichen Polizei als „Oberverdachtsschöpfer“ bekannt, wie ein Fahnder sich ausdrückt, hatte die Beamten schon des öfteren mit Tips genervt, die sich als Flop erwiesen.

So wurde der vage Hinweis auf „verdächtige Personen im Eiscafé Dolomiti“ zunächst mit Zweifeln aufgenommen, wurden zwei „ganz normale Kriminalbeamte vom Schichtdienst“ (so Hessens Innenminister Horst Winterstein) zum Eisessen ins Café beordert. Erst als die Kriminalisten ebenfalls Verdacht schöpften, wurde die Fußgängerzone abgesperrt. Kripo und Schutzpolizisten überwältigten das Trio.

erbeutet wurde. Wohnungsschlüssel, die in ihrer Handtasche gefunden wurden, deuten für Experten auf die Existenz konspirativer Wohnungen hin. Rätsel bereiten der Polizei dagegen Eintragungen in einem schwarzen Ringbuch, darunter eine mysteriöse Namensliste.

Abb. 11. Spiegelartikel über die "mysteriöse Namensliste".

Jetzt zu einem aktuellen Thema: Stickoxide. Während am Beginn des vergangenen Jahrhunderts die katalytische Spaltung des Luftstickstoffes zur NH_3 -Synthese mit dem Haber-Bosch-Verfahren eine chemisch-technische Großtat war, wurde am Ende des Jahrhunderts in Deutschland etwa doppelt so viel Luftstickstoff in Verbrennungsprozessen gespalten wie auf technischem Wege. Wie in Abb. 12 gezeigt, lässt sich damit die Autobahn nicht nur mit dem GPS sondern auch mit einem NO_2 -Detektor finden.

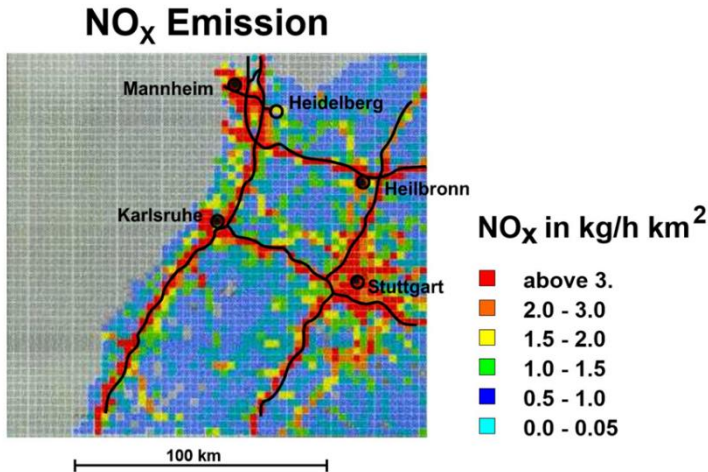


Abb. 12. Stickoxidemissionen (kg/Stunde km²) in Baden-Württemberg 1990 (Daten F. Fiedler, Karlsruhe und A. Voß, Stuttgart).

Die Spaltung des atmosphärischen Stickstoffs kann in Verbrennungsprozessen auf drei unterschiedlichen Wegen erfolgen (s. Abb. 13). Einmal in der von Zeldovich erstmals anlässlich der NO-Bildung nach Kernwaffenexplosionen in der Atmosphäre beschriebenen Kettenreaktion, bei der die Luft "verbrennt". Weitere Wege sind die Bildung von CN-Verbindungen durch die Reaktion mit Kohlenwasserstoffradikalen. und die Addition von atomarem Sauerstoff an Stickstoff unter die Bildung von N₂O. Eine weitere NO-Quelle sind Stickstoffverbindungen im Brennstoff ("fuel NO_x").

Möchte man mit Hilfe dieser Elementarreaktionen die Stickoxidbildung in technischen Verbrennungsprozessen beschreiben, so muss die komplexe mehrdimensionale und zeitabhängige Wechselwirkung zwischen diesen und einer großen Zahl weiterer chemischer Elementarreaktionen mit Transportvorgängen für Masse, Impuls und Energie quantitativ betrachtet werden. Zur

Erhöhung der Geschwindigkeit des chemischen Umsatzes werden meist turbulente Strömungen eingesetzt.

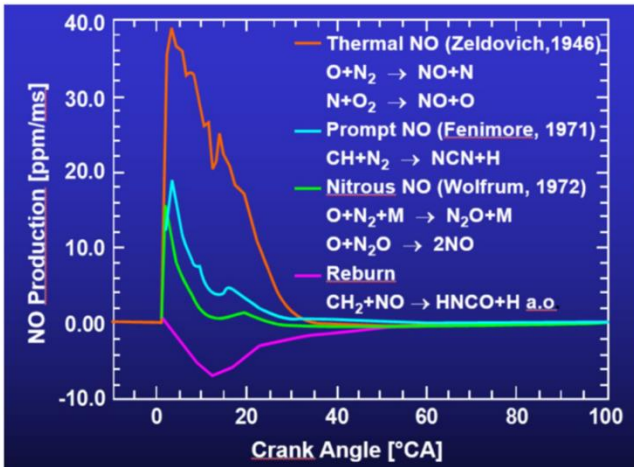


Abb. 13. Modellierung von Bildung und Verbrauch von Stickoxid in einem Dieselmotor (N. Peters, Aachen).

Turbulente reaktive Strömungen lassen sich, in Analogie zum laminaren Fall, durch Lösung der Erhaltungsgleichungen für Masse, Impuls, Energie und Teilchenmassen simulieren (Navier-Stokes-Gleichungen für chemisch reagierende Strömungen). Erste Modellvorstellungen über die Struktur turbulenter Flammen stammen von Damköhler. Mit Hilfe der Damköhler-Zahl $Da = \tau_t / \tau_c$ lässt sich das Verhältnis einer charakteristischen turbulenten Zeit τ_t (Umdrehungszeit eines großen Turbulenzelementes mit dem integralen Längenmaß L und der turbulenten Schwankungsgeschwindigkeit v') zu einer charakteristischen chemisch-kinetischen Zeit τ_c (Kehrwert des globalen Geschwindigkeitskoeffizienten der ablaufenden chemischen Reaktion) beschreiben. Für große Damköhler-Zahlen $Da \gg 1$ (d.h. schnelle chemische Reaktion) findet die Verbrennung dann in dünnen Flammenfronten

statt. Nach dem Vorschlag von Damköhler können Wirbel, deren Abmessungen größer als die laminare Flammenfrontdicke δ_l sind, die Flammenfront verwinkeln und auffalten, so dass eine Vergrößerung der Brennfläche erreicht wird, ohne dass die lokalen Prozesse in der Flammenfront wesentlich geändert werden. Mit steigender turbulenter Reynolds-Zahl $Re_t = v'L / \nu$ (wobei ν die temperaturabhängige kinematische Viskosität ist) erwartet man dabei eine zunehmende Zerklüftung der Flammenfront.

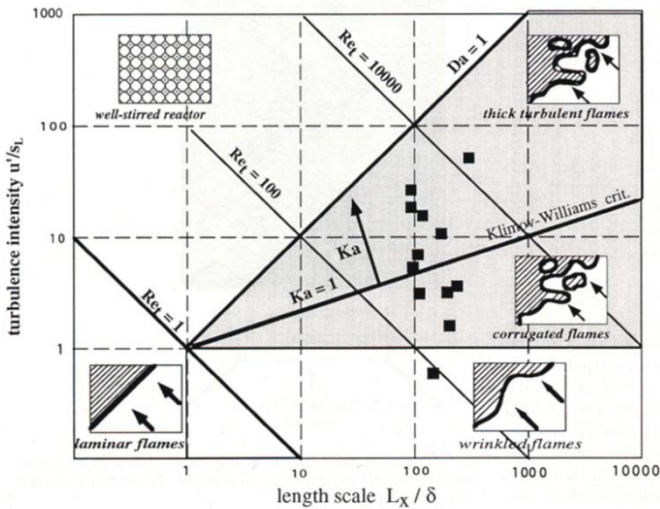


Abb. 14. Borghi-Peters Diagramm zur Klassifizierung turbulenter vorgemischter Flammen.

Auf der anderen Seite können die kleinsten Wirbel in der Skala der Energiekaskade der turbulenten Strömung mit der Kolmogorov-Länge η , deren Abmessungen kleiner als die laminare Flammenfrontdicke δ_l sind, in die Flammenfront eindringen und zu einer Störung der laminaren Verbrennung führen. Der Übergang zwischen diesen beiden Bereichen wird durch die Karlovitz-Zahl $Ka = (\delta_l / \eta)^2$ beschrieben; das Gebiet mit $Ka < 1$ wird Flamelet-

Bereich genannt, in dem die turbulente Flammenfront durch ein Ensemble gewinkelter und gestreckter Flämmchen (engl. "flamelets") repräsentiert wird.

Auf diese Weise können technisch wichtige turbulente Flammen, wie sie z.B. in der motorischen Verbrennung auftreten mit einer eindimensionalen Behandlung der Flammenfront berechnet werden.

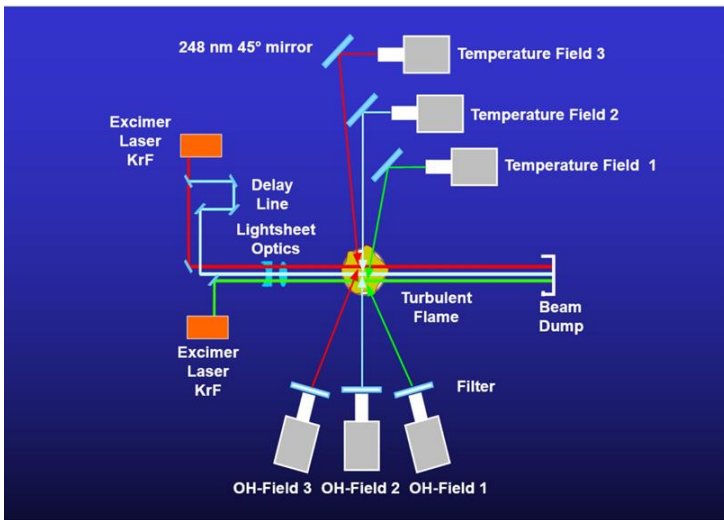


Abb. 15. 3D-Laserdiagnostik von hochturbulenten Flammen (TEFLAM Drallbrenner).

Durch mehrfache Anwendung der Laserlichtschnitttechnik kann die dreidimensionale Struktur turbulenter Flammen erfasst und so der Gültigkeitsbereich des Flameletkonzepts ermittelt werden (s. Abb. 15).

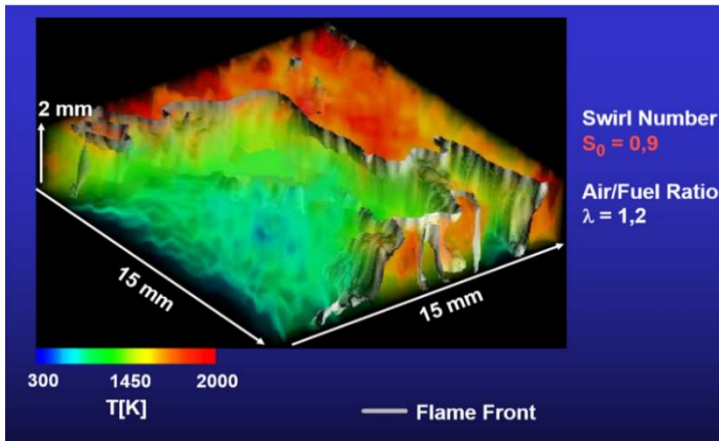


Abb. 16. 3D-Temperaturfeld und Flammenfrontstruktur im TECFLAM Drallbrenner.

Laserexperimente an turbulenten Flammen (s. Abb. 16) zeigen, dass der Gültigkeitsbereich des Flameletkonzeptes über die in Abb. 14 gezeigte Grenze bei der Karlovitz-Zahl 1 ausgedehnt werden kann. In Abhängigkeit von der skalaren Dissipationsgeschwindigkeit können nun Bibliotheken laminarer Flammenstrukturen erstellt werden, deren Ergebnisse dann unmittelbar in der Strömungsberechnung verwendet werden. In Arbeiten von Jürgen Warnatz und Mitarbeitern zur Modellierung der Stickoxidbildung bei der motorischen Verbrennung umfasst der detaillierte Reaktionsmechanismus für die Verbrennung von n-Oktan als Kraftstoff 64 Spezies und 732 Elementarreaktionen. Die Flamelet-Bibliothek besteht aus 128 Flammenstrukturen.

Abb. 17 zeigt, dass experimentelle Ergebnisse der absoluten NO-Konzentrationen, die im Rahmen einer europäischen Zusammenarbeit mit der Firma Volvo (Schweden) an einem Ottomotor erhalten wurden, gut mit den Resultaten der Modellrechnungen übereinstimmen.

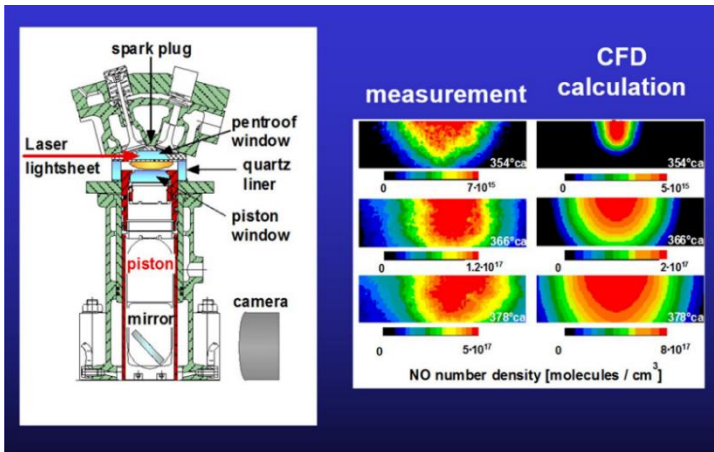


Abb. 17. Mathematische Modellierung und experimentelle Bestimmung der lokalen NO-Verteilung in einem seriennahen Ottomotor (Volvo, Göteborg; PCI, Heidelberg).

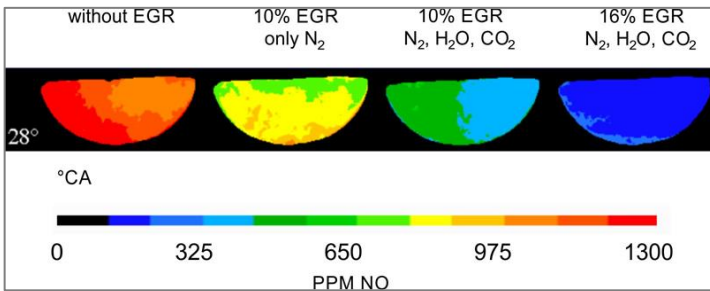


Abb. 18. Quantitative NO-Verteilungen in einem direkt einspritzenden Ottomotor mit unterschiedlicher Abgasrückführung (BMW, München; PCI, Heidelberg).

Aus der Analyse dieser Ergebnisse ergibt sich, dass bei der Verbrennung im Ottomotor der NO-Bildungsmechanismus nach Zeldovich eine dominante Rolle spielt, der eine sehr starke Temperaturabhängigkeit zeigt. Durch teilweise Rückführung des

kühleren Abgases in den Motorbrennraum können die Spitzentemperaturen gesenkt und die primäre NO-Bildung um fast eine Größenordnung reduziert werden. (s. Abb. 18).

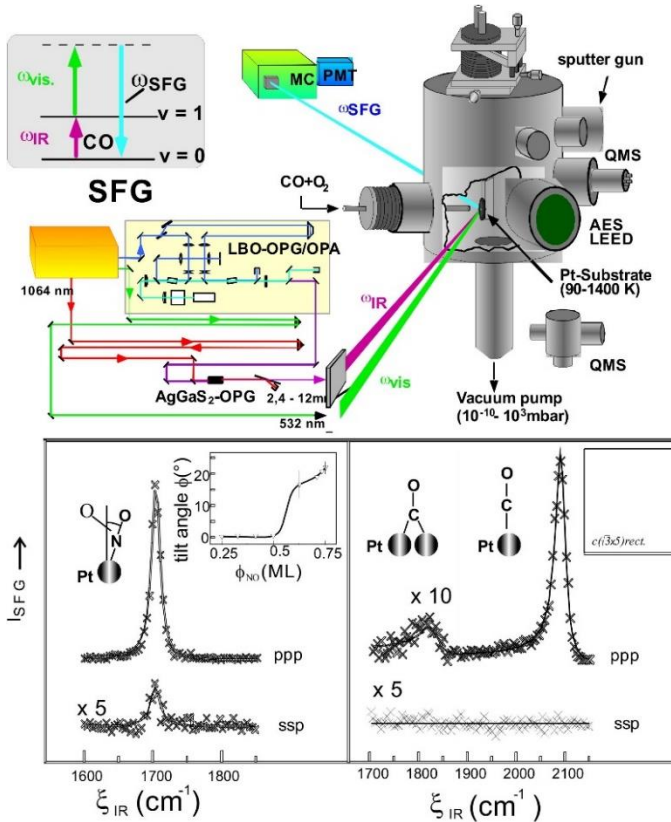


Abb. 19. Nachweis von NO und CO auf einer Pt (111) Oberfläche mit polarisationsabhängiger SFG-Spektroskopie.

Wenn Ottomotoren mit Hilfe einer λ -Sonde (λ = Brennstoff/Luftverhältnis) unter nahezu stöchiometrischen Bedingungen ($0,990 < \lambda < 1,003$) betrieben werden, dann können die Schadstoffe

NO, CO und unverbrauchte Kohlenwasserstoffe (HC) nahezu vollständig mit dem Dreiwegekatalysator (TWC) auf Basis von Pt-, Pd- und Rh-Nanopartikeln auf einem Trägermaterial beseitigt werden. Eine direkte Beobachtung der Adsorption von CO und NO auf der Katalysatoroberfläche ist auch bei realistischen Drücken mit der SFG-Spektroskopie möglich (s. Abb. 19).

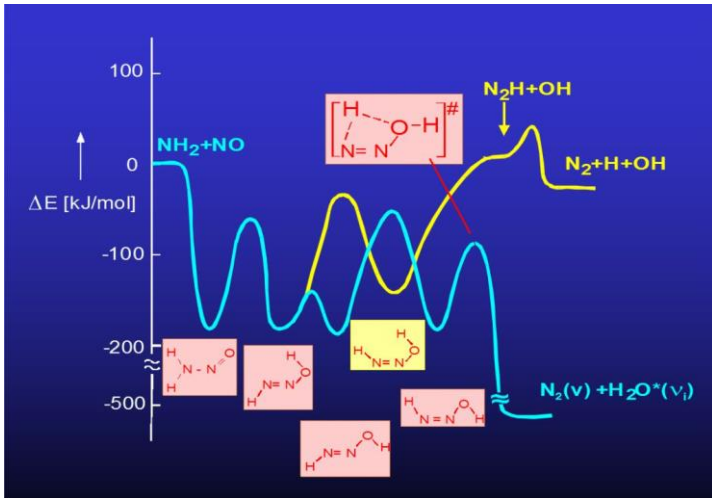
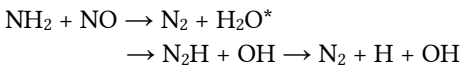


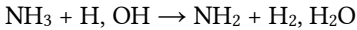
Abb. 20. Potential-Energiediagramm für die Reaktion $\text{NH}_2 + \text{NO}$.

Eine überraschend effektive chemische Elementarreaktion, die erstmals von unserer Arbeitsgruppe beschrieben wurde, ist die Umsetzung von NO mit NH_2 -Radikalen, die bereits bei Zimmertemperatur in nur wenigen gaskinetischen Stößen NO zu N_2 reduzieren kann (s. Abb. 20).



Die H_2O^* -Moleküle nehmen die freiwerdende Reaktionswärme in Form von Schwingungsanregung auf ($T_{\text{vib}} \sim 10^4 \text{ K}$).

Bei höheren Temperaturen nimmt der Anteil des freien H und OH-Radikale bildenden Reaktionsweges zu, so dass in einer Kettenreaktionen mit NH_3



wieder NH_2 -Radikale nachgebildet werden. Modellierung und Experimente zeigen, dass über diese Kettenreaktion in einem "Temperaturfenster" eine nichtkatalytische Reduktion von NO möglich ist. Bei Anwesenheit von Kohlenwasserstoffen kann der Reduktionsbereich noch etwas zu tieferen Temperaturen verschoben werden.



Abb. 21. Müllverbrennungsanlage der Stadt Wien.

Für eine in-situ NH_3 -Konzentrationsmessung im Rauchgaskanal einer Müllverbrennungsanlage wurde in meiner Arbeitsgruppe auf der Basis eine $^{13}\text{CO}_2$ -Wellenleiterlasers ein Laser-Messsystem entwickelt. Durch Auswahl eines spektralen Fensters (geringe

Absorption von H_2O und $^{12}\text{CO}_2$ im Rauchgas), Ausnutzung der Koinzidenz zwischen der $^{13}\text{CO}_2$ -Laserlinie und der NH_3 -Absorptionslinie sowie Einsatz der differentiellen Absorption können NH_3 -Konzentrationen von 1 ppm (10^{-6}) berührungsfrei kontinuierlich nachgewiesen werden. Die gegenüber einer chemischen Analyse wesentlich verkürzte Messzeit ermöglicht den Einsatz des Gerätes zur Regelung der Reduktionsmittelzugabe bei den stark schwankenden Verbrennungsbedingungen, wie sie in Müllheizkraftwerken vorkommen. Auf diese Weise konnten NO-Reduktionsgrade von über 90% auf nichtkatalytischem Wege in zahlreichen Müllverbrennungsanlagen weltweit erreicht werden (s. Abb. 21).

Für einige Jahre gehörte ich zu einer Gutachtergruppe der Stadt Wien, wo es nach einem Brand in der Kontrollzentrale der städtischen Müllverbrennung zu einer heftigen politischen Diskussion über die Schließung der Müllverbrennung gekommen war. Wir haben in diesem Zusammenhang als Delegation verschiedene Müllverbrennungsanlagen in zahlreichen Ländern besichtigt. Im Großraum Tokio mit mehr als 30 Millionen Einwohnern, bemühte sich jeder Stadtbezirk um die Errichtung einer solchen Anlage, da sie durch ihre Abwärme Infrastrukturobjekte wie Schwimmbäder, Kindergärten und Altenheime mit Wärme versorgten. Aus dieser Erfahrung hatte auf dem Flug von Tokio Senatsrat Löffler die Idee "Wir lassen das den Hundertwasser anstreichen" und so sehen sie in Abb. 21 das Ergebnis. Es ist eine Touristenattraktion und die politische Diskussion über Müllverbrennung war damit plötzlich beendet.

Für die Arbeiten zur quantitativen Bestimmung und Reduktion von Stickoxiden in Verbrennungsprozessen wurde mir 1987 der Philip Morris Forschungspreis, 1999 zusammen mit Herrn Dr. Christof Schulz der BMW-Scientific Award und 2010 die Bernard Lewis Goldmedal als höchste internationale Auszeichnung auf dem Gebiet der Verbrennungsforschung verliehen.

Nach meinen Vortragsreisen in die USA fürchteten meine Mitarbeiter sich immer vor der großen Zahl neuer Ideen. Sie haben

mir später gestanden, dass sie meist einige Wochen abwarteten bis auch bei mir eine Klärung über neue Projekte erfolgt war. Eines dieser Projekte war 1990 die Begegnung mit der Gruppe von R. A. Keller in Los Alamos, die gezeigt hatte, dass einzelne Moleküle nicht nur bei extrem tiefen Temperaturen sondern auch bei Zimmertemperatur in Lösungen detektiert werden könne. Allerdings war der experimentelle Aufwand in Los Alamos unter Einsatz mehrerer Argonionenlaser und Reinraumbedingungen sehr hoch. Wir hatten nur sehr viel bescheidenere Finanzmittel. Schließlich gelang es uns durch den Einsatz kostengünstiger Diodenlaser im roten Spektralbereich in Kombination mit einem konfokalen Mikroskop einzelne Moleküle in normalem ungereinigtem Leitungswasser zu detektieren. Dabei kamen neue Farbstoffe, die in der Arbeitsgruppe von K. Drexhage an der Universität Siegen entwickelt worden waren, in Kombination mit der Technik des zeitkorrelierten Einzelphotonenzählens (TCSPC) und hochrepetierenden gepulsten Diodenlaser im Pikosekundenbereich zum Einsatz. Zur Detektion unterschiedlicher Farbstoffe benutzten wir ein Mustererkennungsverfahren für die experimentell beobachteten Fluoreszenzabklingkurven. So konnte z. B. mit zwei unterschiedlichen Farbstoffen mit Fluoreszenzlebensdauern von einer und vier Nanosekunden bereits bei 30 detektierten Fluoreszenzphotonen ein Zuordnungsfehler unter 1 Promille erreicht werden, so dass wir in einem gemeinsamen Projekt mit M. Eigen (Göttingen) und R. Rigler (Stockholm) wir bereits 2001 über die erfolgreiche Sequenzierung eines einzelnen DNS-Moleküls berichten konnten. Hierzu mussten mehrere Hürden überwunden werden. Von der zu sequenzierenden DNS muss mit Hilfe von farbstoffmarkierten DNS-Bausteinen und einer Polymerase ein farbstoffmarkierter komplementärer Gegenstrang synthetisiert werden. Dabei reichen 2 Markierungen, wenn man Strang und Gegenstrang einzeln sequenziert. Der einzelne farbstoffmarkierte DNS-Strang muss selektiert und in eine Detektionsapparatur überführt werden. Durch Zugabe einer Exonuklease muss der DNS-Strang von einem Ende her unter Wahrung der Reihenfolge

der DNS-Bausteine abgebaut und zum Detektionsvolumen transportiert und über das Farbstoffsignal identifiziert werden. Abb. 22 zeigt den experimentellen Aufbau.

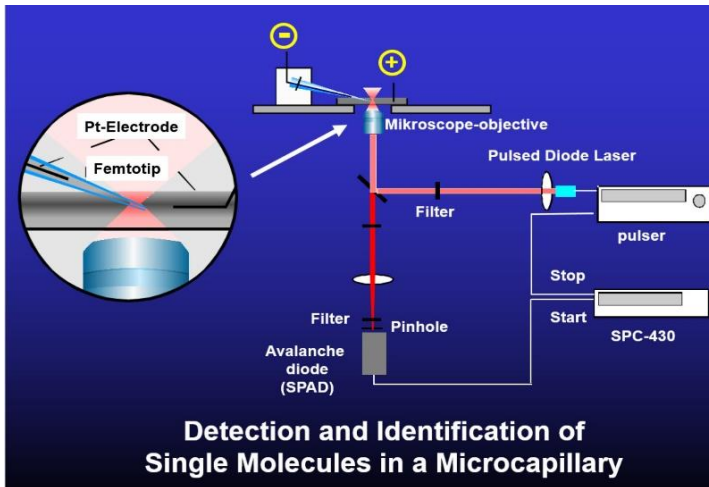


Abb. 22. Experimentellen Aufbau zur DNS-Sequenzierung.

Das biotungebundene DNS-Molekül wird an einer optischen Faser selektiert und immobilisiert und in eine Submikrometerkapillare (Femtotip) eingebracht. Nach Aktivierung des Schneideenzym durch Magnesiumionen in der Mikrokapillare werden die einzelnen abgespaltenen DNS-Bausteine aufgrund ihrer negativen Ladung durch ein angelegtes elektrisches Feld aus der Kapillare heraus zur Anode gezogen und über ein konfokales Beobachtungsvolumen detektiert und aufgrund der charakteristischen Fluoreszenzabklingdauer der angebrachten Farbstoffe identifiziert (siehe Abb. 23).

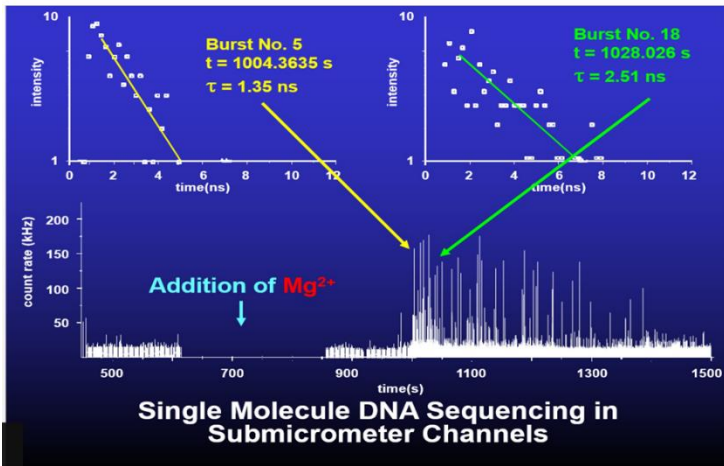


Abb. 23. Einzelmolekül DNA-Sequenzierung über die charakteristischen Fluoreszenzabklingdauer der angebrachten Farbstoffe.

Die Erfolge unserer Arbeiten zur Einzelmoleküldetektion führten dann zur Gründung der Fa. ATTO TEC in Siegen, die inzwischen den Weltmarktführer der Hochgeschwindigkeitssequenzierung (Fa. ILLUMINA) mit Farbstoffen beliefert. Während Ende des letzten Jahrhunderts die Sequenzierung des menschlichen Genoms im Human Genom Projekt mehrere Milliarden Dollar kostete, kann nunmehr mit den Geräten der Firma ILLUMINA ein Genom für 500–1000 € mehrfach überdeckt sequenziert werden.

Unsere Entwicklung neuer Messverfahren mithilfe der Lasertechnologie in Chemie und Biologie wurde 1998 mit dem Karl Heinz Beckurts-Preis und 2003 mit den Bunsen Denkmünze der Deutschen Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie ausgezeichnet.

Meine Hinwendung zu molekularbiologischen Themen führte dazu, dass nach meinem Ausscheiden aus dem aktiven Dienst mir durch Herrn Rektor Hommelhoff eine Seniorprofessur angetragen wurde, mit der Aufgabe, als Gründungsdirektor für das BioQuant

(Quantitative Analyse molekularer und zellulärer Biosysteme) tätig zu sein. Dieses Netzwerk zur quantitativen Analyse molekularer und zellulärer Biosysteme sollte dazu dienen, die Verbindung zwischen Mathematik den Lebenswissenschaften sowie der Medizin herzustellen. Ähnlich wie bei der Gründung des IWR, ging es auch hier wiederum um eine weit gespannte interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Mathematikern, Informatikern, Physikern, Chemikern, Biochemikern, Biologen und Medizinern, um eine gemeinsame Sprache zu finden, die geeignet ist, komplexe Lebensvorgänge adäquat mit quantitativen Modellen zu beschreiben.

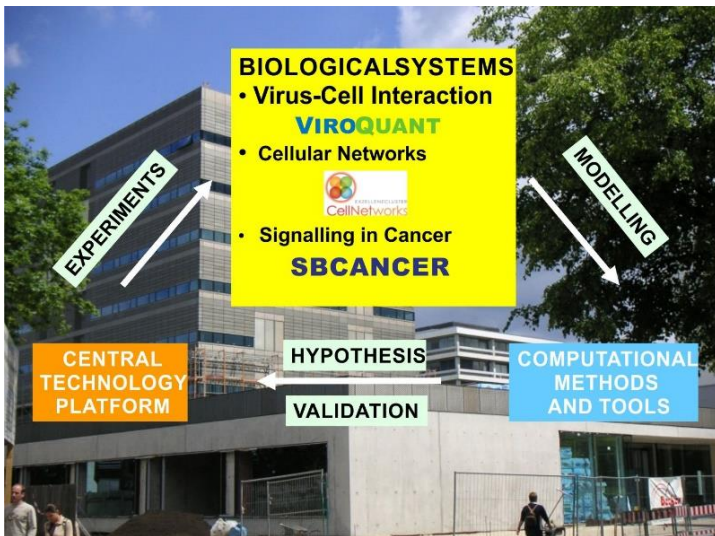


Abb. 24. Konzept BioQuant.

Das von Berliner Architekten Volker Staab entworfene BioQuant-Forschungsgebäude bietet sehr gute räumliche Voraussetzungen für das enge Verzahnen biologisch medizinischer Grundlagenforschung mit mathematischer Modellierung. Wie auch in der Verbrennungsforschung setzte ich stark auf optische, insbesondere

mikroskopische Techniken, die in verschiedenen biologischen Systemen quantitative Daten für die mathematische Modellierung liefern sollen (s. Abb. 24).

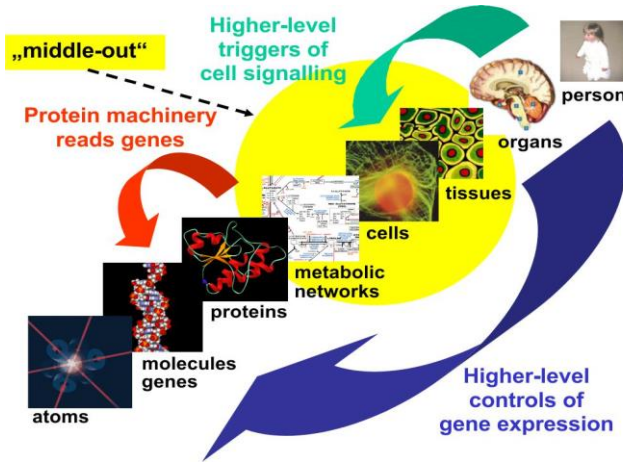


Abb. 25. Kontrollmechanismen der Genregulation.

Verglichen mit der Verbrennungsforschung ergibt sich bei der Analyse lebender Systeme aufgrund der komplexen Rückkopplungsmechanismen der genetischen Information zwischen den Ebenen der Moleküle, Zellen, Gewebe und Organe ein sehr viel komplexeres Bild (siehe Abb. 25).

Als Basis wurde das weltweit nach Tokio und Havard dritte Nikon-Center im BioQuant installiert. Parallel dazu gibt es Arbeitsgruppen zur Hochdurchsatzmikroskopie und der ultrahochauflösenden Nanoskopie für die Speicherung der hohen anfallenden Datenmengen konnte eine large scale data facility (LSDF) mit einer PB-Speicherkapazität im BioQuant installiert werden (siehe Abb. 26).

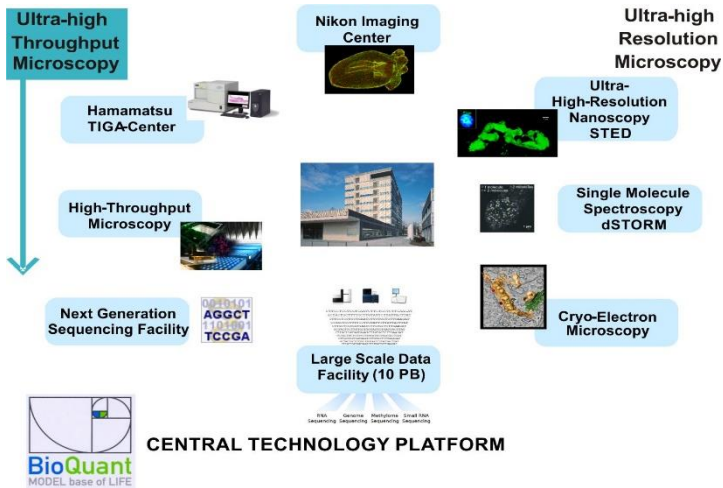
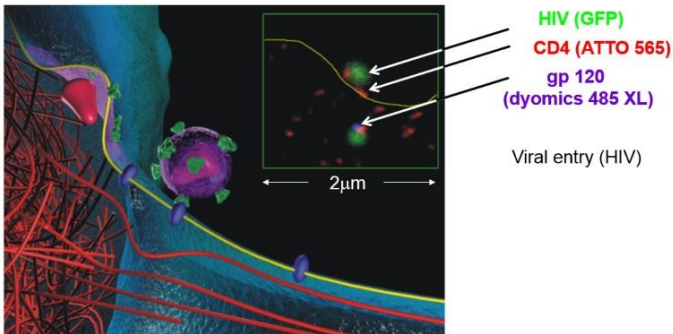


Abb. 26. Die zentrale Technologie-Plattform von BioQuant.

Zur Entwicklung der ultrahochauflösenden Mikroskopie ("Nanoskopie") hat Anfang der 90er Jahre einer meiner Diplomanden (Jan Wichmann) einen wichtigen Beitrag geleistet. Er kam eines Tages zu mir und berichtete von einem Freund (Stefan W. Hell), der eine neue Idee für die Überwindung der klassischen Auflösungsgrenze des Mikroskops hätte, dem aber kaum jemand glaubte. Ich ermunterte ihn, die Ideen doch einmal auszuprobieren. Das erfolgte dann in einem dreimonatigen Aufenthalt an der Universität in Turku (Finnland). Jan Wichmann kehrte zurück mit einer Publikation und einem Patent, welches ich durch das damals noch bestehende Professorenprivileg für Erfinder freigeben konnte. Die erste Publikation über die STED-Mikroskopie war dann das vom Nobelpreiskomitee zitierte paper bei der Verleihung des Chemienobelpreises an Stefan Hell. In der Arbeitsgruppe von Stefan Hell am BioQuant konnte die STED-Mikroskopie in zahlreichen Anwendungen eingesetzt werden. Ein Beispiel zeigt Abb. 27 bei der Untersuchung des Zelleintritts des HI-Virus.



STED-Nanoscopy

Science 2012
J. Chojnacki, T. Staudt, B. Glass, P. Bingen, J. Engelhardt,
M. Anders, J. Schneider, S. Hell, H.G. Krausslich

Abb. 27. Untersuchung des Zelleintritts des HI-Virus mittels STED-Mikroskopie.

Der gegebene Rückblick erfüllt mich mit großer Freude und Dankbarkeit. Dankbar bin ich den zahlreichen Diplomanden und Doktoranden und Postdoktoranden, die große Ausdauer und Begeisterung bei der Lösung manch schwieriger Probleme zeigten. Eine ganze Reihe von ihnen ist inzwischen auf Lehrstühlen im In- und Ausland tätig. Darunter auch zwei "wissenschaftliche Enkel" auf den Lehrstühlen für physikalische Chemie in Frankfurt und München. Dankbar bin ich auch den zahlreichen Förderorganisationen im In- und Ausland für die großzügige Unterstützung unserer Forschungsideen. Dankbar bin ich der Universität Heidelberg und zahlreichen Kollegen für eine freundschaftliche und produktive Zusammenarbeit und Ihnen für Ihr Kommen zu dem heutigen Vortrag.

Vortrag gehalten an der Fakultät für Physik und Astronomie der Universität Heidelberg am 30. November 2017.

Auch in diesem Band 4, dem nach derzeitiger Planung vorletzten der Reihe „Heidelberger Physiker berichten“, blicken Heidelberger Hochschullehrer der Physik und, in diesem Band, auch der Physikalischen Chemie auf ihren wissenschaftlichen Lebensweg und die Entwicklung ihres Fachgebietes zurück. Eine besondere Note erhält dieser Band durch den bereits im Titel angesprochenen Bezug zur Anwendung, die in der Heidelberger Physiktradition eher eine Randstellung einnimmt. Der Untertitel des Bandes weist einerseits auf eine persönliche fachliche Entwicklung des jeweiligen Vortragenden hin, kennzeichnet aber auch eine allgemeine Tendenz von Grundlagenforschung, sich zur Anwendung hin zu öffnen. In den vorliegenden Texten erfolgt diese Annäherung auf methodischer Basis, sie ergibt sich also aus der Möglichkeit, hochentwickelte Methoden der Laserspektroskopie, der modernen Optik oder der Spinresonanz auf praktische Fragestellungen oft interdisziplinären Charakters anzuwenden, in Biologie und Medizin, in Verfahrenstechnik und Materialwissenschaften. Gerade auch der interdisziplinäre Charakter der vorgestellten Forschung ist bezeichnend für einen Trend unserer heutigen Wissenschaft.



**UNIVERSITÄT
HEIDELBERG**
ZUKUNFT
SEIT 1386

ISBN 978-3-946531-83-8



9 783946 531838