

BRAVO! BRAVO! BRAVO!

Cryo-TEM: alleen als ie ijs- en ijskoud is •••

Raymon Wagner, FEI (NLJ 18-06-1999)

Bij het verschijnen van dit Nat.Lab. Journaal is de eerste Cryo-TEM van Philips inmiddels aan de klant geleverd. 'Cryo-TEM' betekent zoveel als Transmissie-Elektronen-Microscoop bij lage temperatuur.

Ongeveer drie jaar geleden is er een bijeenkomst geweest op het Europese Laboratorium voor Molecuair Biologie (EMBL) in Heidelberg, waar enkele vooraanstaande onderzoekers in de structuurbiologie hebben uitgelegd met wat voor microscopen zij in de nabije toekomst hun onderzoek graag wilden voortzetten. Deze bijeenkomst was georganiseerd door Philips Electron Optics, één van 's werelds grootste leveranciers van elektronenmicroscopen, met de bedoeling om na te gaan of Philips aan de wensen van de onderzoekers kon voldoen. Minder dan een half jaar later was er een samenwerking op touw gezet tussen het Nat.Lab., Philips Electron Optics (sinds ruim twee jaar opererend onder de naam FEI) en het Engelse Oxford Instruments, een bedrijf dat ervaring heeft met zowel lage temperaturen als preparaathouders voor elektronenmicroscopen. Deze samenwerking heeft geleid tot een microscoop waarin het preparaat geobserveerd wordt bij zeer lage temperatuur.

Waarom lagetemperatuur-elektronenmicroscopie?

Elektronenmicroscopen kunnen gebruikt worden voor het bekijken van preparaten op atomaire schaal. Niet alleen natuurkundigen maken hiervan veel gebruik, maar ook veel biologen. Een probleem bij het bekijken van organische materialen met behulp van een elektronen bundel is de stralingsgevoeligheid. Zoals we allemaal weten, is het niet gezond om veel radioactieve straling op te vangen, laat staan om onder een gefocusseerde 300kV-elektronenbundel plaats te nemen. In de microscoop worden biologische moleculen door zo'n bundel dan ook kapotgeschoten, waardoor het niet goed mogelijk is om op atomaire schaal informatie over hun structuur te krijgen. Gedurende de afgelopen tien jaar is uit meerdere metingen gebleken dat dit effect sterk vermindert wanneer de temperatuur verlaagd wordt. De meeste biologische materialen worden daarom tegenwoordig meestal onderzocht met speciale preparaathouders, waarin ze met behulp van vloeibare stikstof gekoeld worden. Deze houders worden gebruikt in 'gewone' transmissie-elektronenmicroscopen. De samenwerking die door Philips is opgezet, had tot doel een fundamentele stap verder te gaan: het realiseren van een microscoop die speciaal bedoeld is om preparaten te bekijken bij een veel lagere temperatuur. Deze temperatuur, te bereiken door het gebruik van vloeibaar helium, biedt een nog hogere weerstand tegen stralingsschade, waardoor er een hogere dosis gebruikt mag worden en er daardoor ook meer hogeresolutie-informatie uit de TEM-beelden verkregen kan worden.

Van eis tot ijs

Hoe zijn de eisen van de klanten uiteindelijk omgezet in een lagetemperatuur-TEM? De eerste fase was de echte Nat.Lab.-fase, waarbij we vooral hebben onderzocht hoe we de preparaathouder goed konden koelen naar een extreem lage temperatuur, terwijl het preparaat toch nog in allerlei richtingen kon worden bewogen. Hierbij is er regelmatig gebrainstormd met Riné Dona, Teun Heijmans en Casper Smit en natuurlijk met de collega's in het SEM/TEM-cluster van de toenmalige groep Viegiers (later groep-Van Loenen). Ook was er vanaf het begin al intensief contact met Philips Electron Optics. Het was duidelijk dat de microscoop daar ook opgebouwd zou gaan worden vanwege de daar aanwezige infrastructuur en kennis. In een iets later stadium is ook contact gezocht met Oxford Instruments, waaraan veel van het gedetailleerde ontwerpwerk uitbesteed is, en waar ook de productie van alle lagetemperatuur-onderdelen en het speciale insluissysteem zou plaatsvinden. Dat betekende in de praktijk dat we eens in de een à twee maanden bij elkaar kwamen, soms in Acht, soms in Oxford. De prototype-microscoop (die nog niet bestond) was inmiddels ook al gekocht door een klant in Londen, wat betekende dat er een volwaardig, veilig en klantvriendelijk apparaat moest komen.



Toen begin 1998 het Oxford-systeem naar Acht kwam, begon het zware werk. Er komt ongelooflijk veel bij kijken om een lagetemperatuursysteem en een speciaal insluissysteem op een goede manier te integreren met een bestaande microscoop: mechanische uitlijning, vacuümdichtheid, trillingsgevoeligheid, röntgenveiligheid, betrouwbaarheid, gebruikersgemak, etc. etc. In deze fase was ik meer en meer in Acht, in plaats van op het Nat.Lab., en heb ik ook ontzettend veel aspecten van de TEM leren kennen dankzij de collega's bij Philips Electron Optics. Heel leuk hierbij was ook dat ik met allerlei verschillende mensen te maken kreeg, zoals mechanici, elektronici, eindcontroleurs (die in de fabriek de microscopen afmaken en uitlijnen), applicanten (experts die demonstraties voor klanten geven), service-mensen en verkopers.

Het laatste half jaar bracht weer andere nieuwe zaken, o.a. het 'afmaken' van allerlei kleine dingen die in het begin minder belangrijk waren, het aantonen van de specificaties (verreweg de meeste van de gestelde doelen zijn gehaald), het demonstreren van het apparaat voor potentiële volgende klanten (stress!) en het trainen

van anderen in het juiste gebruik van het apparaat.

Uiteindelijk heeft dit alles dus geleid tot de levering aan de klant in Londen en een aantal binnengesleepte vervolgorders. Zelf ben ik half maart de microscoop achternagegaan om bij FEI in dienst te treden. In de praktijk kwam dit er eigenlijk alleen nog maar op neer dat mijn bureau 12 km dichterbij mijn werkplek kwam te staan.