

# Bereich Forschung mit Photonen

## Inhalt

Übersicht	115
Hamburger Synchrotronstrahlungslabor HASYLAB	117
Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie EMBL	131
Max-Planck-Gesellschaft Arbeitsgruppen für Strukturelle Molekularbiologie	137



# Übersicht Forschung mit Photonen

Das Jahr 2003 war für die Forschung mit Photonen bei DESY von außerordentlicher Bedeutung. Denn die Bundesregierung hat im Februar 2003 über zwei neue Großgeräte bei DESY entschieden: Den **Umbau des PETRA-Speicherrings zu PETRA III**, einer Synchrotronstrahlungsquelle der dritten Generation für harte Röntgenstrahlung mit einzigartig kleiner Emitanz, und den **Bau des europäischen Röntgenlasers XFEL**, einer Röntgenquelle mit einer extrem hohen Spitzenbrillanz und Zeitauflösung. An den Baukosten des XFEL will sich die Bundesregierung zu 50% beteiligen.

Dank einer neuen globalen Kontrolle konnte auch die Strahlstabilität der Synchrotronstrahlung vom Speicherring **DORIS III** verbessert werden. Im Jahr 2003 konnten an dieser Quelle, die besonders für Experimente mit hohem Photonenfluss geeignet ist, 4891 Stunden planmäßig dedizierte Messzeit für Nutzer mit einer Betriebseffizienz von 95,9% zur Verfügung gestellt werden. Um zeitaufgelöste Messungen zu ermöglichen, wurde DORIS mit etwa 11% der Betriebszeit mit reduzierter Bunchzahl betrieben.

Für Messungen mit extrem intensiver Laserstrahlung im VUV- und weichen Röntgenbereich von 100 bis 6 nm wird ab Frühjahr 2005 der **VUV-FEL** an der TESLA-Testanlage (TTF) zur Verfügung stehen. Nach seinem erfolgreichen Betrieb in der ersten Phase (I), in der auch wegweisende Cluster-Experimente im letzten Jahr durchgeführt werden konnten, befindet sich die Anlage nun in der letzten Ausbauphase (II). Auch das theoretische Verständnis konnte vertieft werden und erlaubt nun eine nahezu vollständige Beschreibung des SASE-FEL-Strahls.

Der Betrieb von **PETRA II** für Testexperimente mit Synchrotronstrahlung war in 2003 auf etwa 915 Stunden begrenzt. Nach dem Umbau zu **PETRA III** im Jahr 2007 soll der PETRA-Speicherring als dedizierte Syn-

chrotronstrahlungsquelle betrieben werden. Der Nutzerbetrieb soll im Frühjahr 2009 beginnen. In einem technischen Design Report (TDR), der im Februar 2004 verfügbar sein wird, sollen die wesentlichen Komponenten beschrieben werden. In 2004 soll ein externes Gutachterkomitee dann auf der Basis dieses TDR Empfehlungen aussprechen, welche der geplanten 13 Strahlführungen und Instrumente in der ersten Projektphase realisiert werden sollten.

Ein geeigneter **Standort für den europäischen Röntgenlaser XFEL** wurde im Oktober 2003 der Öffentlichkeit vorgestellt. Die etwa 3,3 km lange Anlage könnte sich größtenteils unterirdisch vom Injektor auf dem DESY-Gelände über die nordwestliche Stadtgrenze von Hamburg hinaus bis zum Süden der Stadt Schenefeld in Schleswig-Holstein erstrecken, wo die Experimentierhallen errichtet werden könnten. Dieser Standort erlaubt die gemeinsame Nutzung bestehender Infrastrukturen von DESY. Nach 6-jähriger Bauphase soll das Labor im Jahr 2012 seinen Betrieb aufnehmen.

Zur Vorbereitung und Durchführung der hausinternen Forschungsprogramme am VUV-FEL und XFEL soll bei DESY ein neues Zentrum für XFEL-Wissenschaften gegründet werden. Bis zum Jahr 2009 ist geplant knapp 60 Wissenschaftler und Ingenieure hierfür einzustellen. Zusammen mit dem **Laserinstitut der Universität Hamburg**, das seinen Neubau auf dem DESY-Gelände im März 2003 bezogen hat, wird zukünftig viel Laserkompetenz vor Ort gebündelt.

An der Forschung mit Photonen auf dem DESY-Gelände beteiligt sich seit kurzem auch das Forschungszentrum Geestacht (GKSS) in seiner neuen Außenstelle und hat mit dem Bau eines Zentrums für Materialforschung an einer DORIS-Strahlführung begonnen. Zusätzlich errichtet das **Geoforschungszentrum Pots-**

**dam (GFZ)** an dieser Strahlführung auch eine Anlage für Untersuchungen geologischer Proben bei hohen Drücken.

Die **Außenstelle des Europäischen Labors für Molekularbiologie EMBL** wird sich zukünftig verstärkt auch bei den neuen Projekten engagieren, besonders an PETRA III. Geplant ist deshalb die Präsenz auf dem Gelände zu erhöhen, ein erster Schritt ist die Erweiterung des EMBL-Gebäudes auf dem DESY-Gelände. Die **Max-Planck Arbeitsgruppen für strukturelle Molekularbiologie** haben die Experimente an der BW6 Strahlführung weiter optimiert und vor allen Dingen

den Messvorgang stark automatisiert, so dass viele Proteinstrukturen innerhalb eines Tages gelöst werden können.

Im Jahr 2003 wurden zahlreiche **Workshops** sowie Fortbildungsprogramme für Studenten organisiert: ein internationaler Workshop zum Einsatz von harter Röntgenstrahlung für die Textur- und Spannungsanalyse, ein Industrieforum zur In-Situ-Charakterisierung von katalytischen Prozessen, ein Forschungskurs zur Plasmaphysik mit Röntgenstrahlung sowie im Rahmen des DESY-Sommerstudentenprogramms ein Kurs zur Forschung mit Photonen.

# Hamburger Synchrotronstrahlungslabor HASYLAB

**Leiter:** J. R. Schneider, DESY

Das Jahr 2003 war für die Wissenschaftler, die Forschung mit Synchrotronstrahlung durchführen, von besonderer Bedeutung, wie bereits in der Übersicht beschrieben. Im Februar kündigte die Bundesregierung den Bau von zwei neuen Großgeräten bei DESY an, die in diesem Bereich überaus spannende Perspektiven eröffnen:

- **PETRA III:** eine Speicherring-Synchrotronstrahlungsquelle der dritten Generation für harte Röntgenstrahlung;
- Das **europäische Röntgenlaserlabor XFEL** in TESLA-Technologie. Die Bundesregierung hat sich bereit erklärt, 50% der Baukosten für die Anlage zu übernehmen.

Als Synchrotronstrahlungsquelle für harte Röntgenstrahlung mit der weltweit kleinsten Emittanz wird der Ausbau des PETRA Speicherrings zu **PETRA III** Strahlung höchster Brillanz mit einem Grad an Kohärenz liefern, der wesentlich höher ist als heutzutage möglich. Besondere Bemühungen werden dabei darauf verwendet, den Strahl auf Querschnitte im Nanometerbereich zu fokussieren, um Strukturuntersuchungen von Materialien zu ermöglichen, deren physikalische Eigenschaften sich auf diesen Längenskalen verändern. Die geringen Strahlquerschnitte werden es außerdem erlauben, Proteinkristallographie an extrem kleinen Kristallen, wie zum Beispiel Membran-Molekülen, durchzuführen.

Das **europäische Röntgenlaserlabor XFEL** beruht auf einem in supraleitender Technologie gebauten Linearbeschleuniger. Die Undulatoren werden lateral kohärente Röntgenstrahlen mit Wellenlängen von ca. 0,1 nm liefern. Die Spitzenbrillanz des Freie-Elektronen Lasers ist dabei etwa neun Größenordnungen höher als diejenige von Synchrotronstrahlungsquellen der dritten Generation. Da die Photonen in Blitzen von etwa 50 Femtosekunden Dauer abgegeben werden, wird es diese An-

lage erstmals erlauben, Änderungen der lokalen Struktur von Materie mit atomarer Auflösung in Echtzeit zu untersuchen. Damit hat sie das Potenzial, die Forschung mit kurzweiligen Photonen zu revolutionieren.

Auf der Grundlage dieser Entscheidungen der Bundesregierung hat DESY sein Programm für die Forschung mit Photonen in den Jahren 2005 bis 2009 ausgearbeitet. Dieses wird im Rahmen der **Programmorientierten Förderung der Helmholtz-Gemeinschaft (HGF)**, in der 15 Forschungszentren zusammengeschlossen sind, im Frühjahr 2004 einer strategischen Begutachtung durch einen internen Gutachterausschuss unterzogen. Die Forschung mit Photonen bei DESY in den Jahren 2005 bis 2009 beruht auf vier Säulen:

- dem Speicherring DORIS III, vor allem für Experimente, die einen hohen Photonenfluss benötigen;
- dem Speicherring PETRA III, der für kleinste Emittanz und höchste Brillanz optimiert ist;
- der Freie-Elektronen Laser VUV-FEL, der lateral kohärente, extrem intensive Laserstrahlung im Wellenlängenbereich von 6 bis 100 nm mit Pulsdauern von ca. 100 fs liefern wird;
- dem europäischen Röntgenlaserprojekt XFEL, dessen Bau voraussichtlich 2006 beginnen wird und dessen Strahlführungen im Jahr 2012 in Betrieb genommen werden können.

Damit wird DESY nationalen und internationalen Wissenschaftlern ein einzigartiges Spektrum von herausragenden Anlagen für die Forschung mit Photonen bieten. Der Beschleuniger-Bereich bei DESY wird sich mehr und mehr auf die Entwicklung, den Bau und den Betrieb von beschleunigerbasierten Lichtquellen konzentrieren. Gestützt auf das starke Engagement der Nutzerschaft verfügt DESY zusammen mit seinen internationalen Partnern über außergewöhnliche Möglichkeiten, Fortschritte im Bereich von beschleunigerbasier-

ten Lichtquellen und der Forschung mit Photonen zu erzielen.

In Vorbereitung auf die strategische Evaluierung durch die Helmholtz-Gemeinschaft hat ein Unterkomitee des Erweiterten Wissenschaftlichen Rats (ESC) von DESY die DESY-Aktivitäten im Bereich des Baus und der Nutzung von beschleunigerbasierten Photonenquellen in der Zeit von 2000 bis 2003 begutachtet und das für den Zeitraum 2005–2009 vorgeschlagene Programm evaluiert. Zusätzlich begutachtete das *Machine Advisory Committee* (MAC) von DESY im Juni 2003 die Aktivitäten des Beschleuniger-Bereichs. Beide Beurteilungen fielen sehr positiv und anregend aus, sie waren überaus hilfreich für die Ausarbeitung der DESY-Strategie für die Zeit bis 2009. An dieser Stelle sei den Mitgliedern beider Gutachtergruppen für ihr beeindruckendes Engagement und ihre Hilfe gedankt.

DESY wird **DORIS III** weiterhin mit den gleichen grundlegenden Parametern betreiben, dabei jedoch versuchen, die Brillanz durch Verringerung der Kopplung zu erhöhen. Wartungsarbeiten und stufenweise Verbesserungen der Leistung der Maschine sollen im Bereich der Strahlstabilität durchgeführt werden; zudem werden ältere Beschleunigerkomponenten und Infrastrukturelemente rechtzeitig ausgetauscht, um die Effizienz des Betriebes bei über 95% zu halten. Im Jahr 2003 lieferte DORIS III 4891 Stunden planmäßiger dedizierter Messzeit für Nutzer bei einer Betriebseffizienz von 95,9%. Für Experimente, die eine spezielle Zeitstruktur benötigen, wurde der Speicherring während etwa 11% der Betriebszeit mit reduzierter Bunchanzahl betrieben. Im Frühjahr wurden in einer Betriebsunterbrechung von 16 Wochen Arbeiten am Linearbeschleuniger des Injektors und am Interlock-System durchgeführt und drei neue Injektions-Kickermagnete im DORIS-III-Speicherring installiert. Damit sind nun alle Quadrupolmagnete von den Vakuumkammern entkoppelt. Dank einer neuen globalen Kontrolle der Strahlposition konnte die Stabilität des Strahls deutlich verbessert werden. Der Betrieb von **PETRA II** als Synchrotronstrahlungsquelle für Testexperimente war auf etwa 915 Stunden begrenzt.

Der Technische Design Report für **PETRA III** wird das Injektionssystem, den Aufbau des Speicherrings und der Experimentierhalle sowie die vorgeschlagenen Strahlführungen und Instrumente beschreiben. Der Bericht soll ab Februar 2004 verfügbar sein. Im Rahmen

des PETRA-III-Projekts plant DESY, sieben von 13 verfügbaren Undulatorstrahlführungen zu bauen und zu betreiben. Es wird damit gerechnet, dass der Bau und der Betrieb der übrigen sechs Strahlführungen durch andere Forschungseinrichtungen wie GKSS, EMBL und die Max-Planck-Gesellschaft finanziert und durchgeführt werden. Im Jahr 2007 wird der Umbau des PETRA-Rings beginnen, die Inbetriebnahme von Speicherring und Strahlführungen ist für Herbst 2008 vorgesehen. Der Nutzerbetrieb wird voraussichtlich im Frühjahr 2009 beginnen. Eine mit Experten von kürzlich gebauten Speicherring-Synchrotronstrahlungsquellen besetzte Untergruppe des *Machine Advisory Committee* von DESY wird den Technischen Design Report evaluieren und den Bau und die Inbetriebnahme von PETRA III begleiten. Nach einer ersten Begutachtung von PETRA III beschrieb die MAC-Untergruppe das Projekt als ein konzeptuell sehr kluges Design und eine kosteneffiziente Lösung für eine Weltklasse-Speicherringanlage der dritten Generation im Bereich der harten Röntgenstrahlung. Anfang 2004 soll ein externes Gutachterkomitee gebildet werden, das eine Empfehlung für die in der ersten Phase von PETRA III zu realisierenden Strahlführungen und Instrumente ausarbeiten soll. Laufende Diskussionen mit dem Management der ESRF werden sicherstellen, dass sich die beiden Anlagen weitgehend ergänzen.

Am **VUV-FEL** an der TESLA-Testanlage (TTF) richteten sich die wesentlichen Bemühungen in der Phase I auf den Bau und den verlässlichen Betrieb des in TESLA-Technologie gebauten Linearbeschleunigers und auf die Realisierung der Photonendiagnostik mit einer Puls-zu-Puls Messung der Intensität, der spektralen Verteilung sowie des Kohärenzgrades. Theoretische Simulationen beschreiben alle gemessenen Größen mit großer Präzision. Das vollständige theoretische Verständnis der statistischen Intensitätsschwankungen des SASE-FEL-Strahls erlaubt es, die Dauer der Photonenpulse zuverlässig auf indirekte Art und Weise zu bestimmen. In Zusammenarbeit mit einigen Gruppen werden weitere direkte Diagnoseinstrumente entwickelt. Ein erfolgreiches Experiment, in dem die Coulomb-Explosion von Xenon-Edelgasclustern unterschiedlicher Größe bei unterschiedlichen Intensitäten untersucht wurde, stellte einen Meilenstein für SASE-FELs dar. Es regte eine Reihe von theoretischen Arbeiten zur Erklärung der Ergebnisse an und wird in der wissenschaftlichen Gemeinschaft breit diskutiert.

Es wird erwartet, dass der **VUV-FEL in Phase II**, der sich derzeit im Bau befindet, zu einem Durchbruch sowohl bei der Technologie als auch bei den wissenschaftlichen Anwendungen führt. Erstes Ziel ist es, mit Hilfe des SASE-Prinzips Laserstrahlung im Wellenlängenbereich von 100 bis 6 nm zu erzeugen; die Sättigung bei 30 nm wird im Frühjahr 2005 erwartet. Für fast alle zu testenden technischen Komponenten werden rasche Fortschritte erwartet. Anfangs wird ein wesentlicher Teil der Betriebszeit für Forschungs- und Entwicklungsarbeiten am Beschleuniger und FEL benötigt werden. Hauptziel ist es jedoch, den Nutzern in festgelegten Zeitintervallen den bestmöglichen Laserstrahl zur Verfügung zu stellen. Die Wissenschaftler sind sich einig darüber, dass diese neuartigen Experimente, die die außerordentlichen Eigenschaften von Freie-Elektronen-Lasern nutzen, ebenso neue technische Ansätze erfordern. Demzufolge ist es notwendig, auch verstärkt Forschungs- und Entwicklungsarbeiten im Bereich der Röntgenoptik, der Photonenstrahldiagnostik, der Detektoren und der Datenverarbeitung durchzuführen.

Der Erfolg der SASE-FELs hängt stark von der Leistung des Elektronen-Injektors ab, der kurze Pulse mit hoher Ladungsdichte und sehr kleiner transversaler Emittanz erzeugen muss. Verschiedene Einrichtungen weltweit verfolgen diesbezüglich ein rigores Forschungs- und Entwicklungsprogramm, und auch DESY hat entschieden, in seinem zweiten Standort in Zeuthen bei Berlin eine Photoinjektor-Testanlage (**PITZ**) aufzubauen und zu betreiben. In enger Zusammenarbeit ist es DESY, dem Max-Born-Institut, BESSY und der TU Darmstadt bereits gelungen, eine erste Elektronenquelle erfolgreich zu entwickeln. Mit einer normierten mittleren Emittanz von 1,7 mm mrad entspricht sie den Spezifikationen für die VUV-FEL-Anlage.

Das **europäische Röntgenlaserprojekt XFEL** ist im Ergänzungsband zum Technischen Design Report für den TESLA-XFEL, der unter [http://tesla.desy.de/new\\_pages/tdr\\_update/start.html](http://tesla.desy.de/new_pages/tdr_update/start.html) zu finden ist, beschrieben. Derzeit wird das XFEL Projekt zusammen mit europäischen Partnern diskutiert, Änderungen im Vergleich zum ursprünglichen Vorschlag sind dabei zu erwarten. Im Auftrag des Europäischen Strategieforschums zur Forschungsinfrastruktur (*European Strategy Forum on Research Infrastructure* ESFRI) organisierte

DESY am 30. und 31. Oktober einen Workshop zu den „Herausforderungen des vorgeschlagenen europäischen Röntgenlaserlabors XFEL“. An dem Workshop nahmen 30, von acht ESFRI-Delegationen nominierte Experten aus dem Ausland teil. Sie kamen zu dem Schluss, dass zwar noch mehr Forschungs- und Entwicklungsarbeiten notwendig sind, die technischen Lösungen jedoch in Reichweite sind, um die Parameter des vorgeschlagenen europäischen Röntgenlaserlabors XFEL zu gegebener Zeit zu erreichen. Am Vorabend des Workshops wurde der neue Standort für den XFEL im Hamburger Rathaus der Öffentlichkeit vorgestellt. Beginnend mit dem Injektor, der sich auf dem DESY-Gelände befindet, erstreckt sich die ungefähr 3,3 Kilometer lange Anlage in nordwestlicher Richtung bis zur Stadt Schenefeld in Schleswig-Holstein, in deren Süden die Experimentierhalle errichtet wird. Dieser Standort wird die Bildung von Synergien zwischen DESY und dem europäischen XFEL Röntgenlaserlabor begünstigen und es ermöglichen, die bestehende Infrastruktur zu nutzen. Das Gelände ist groß genug für spätere mögliche Erweiterungen der Anlage, und die Bodenvibrationen im Bereich des Switchyards und der Experimentierhalle sind sehr gering.

Der Bau und die wissenschaftliche Anwendung von Freie-Elektronen-Lasern im Röntgenbereich stellen eine große und spannende Herausforderung sowohl für die Beschleunigerspezialisten als auch für den potenziellen Nutzer dar. Deshalb verfolgt DESY für die Realisierung des europäischen Röntgenlaserlabors XFEL ein schrittweises Vorgehen, das in enger Zusammenarbeit mit dem *Stanford Linear Accelerator Center* (SLAC) erfolgt. Bei SLAC befindet sich die Strahlungsquelle *Linac Coherent Light Source* (LCLS) im Bau, ein SASE-FEL, der Röntgenstrahlen von 0,15 nm erzeugen und im Oktober 2008 betriebsbereit sein soll. Ein Vorläufer dieser Anlage ist die *Sub-Picosecond Light Source* (SPPS), die Röntgenstrahlungspulse von 80 fs Dauer erzeugt. An dieser Anlage wurden bereits erste Experimente erfolgreich durchgeführt, an denen auch Wissenschaftler von DESY beteiligt waren. Insgesamt werden bis Ende 2005 17 Monate Strahlzeit zur Verfügung stehen.

Die Gründung eines neuen **Zentrums für XFEL-Wissenschaften bei DESY** wird die hausinternen Forschungsaktivitäten im Bereich der Forschung mit Photonen in der bis 2009 laufenden Förderperiode

wesentlich verstärken. Dieses Zentrum wird als Ankerpunkt für die Vorbereitung der wissenschaftlichen Programme am VUV-FEL und dem geplanten europäischen XFEL Röntgenlaserlabor dienen und die Koordination der notwendigen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten für Undulatoren, Strahlführungen, Instrumentierung, Detektoren und Datenverarbeitung übernehmen. Die aktuellen Planungen sehen vor, bis zu 55 Wissenschaftler und Ingenieure einzustellen, darunter weitere Leitende Wissenschaftler (C4-äquivalent).

Neben der Realisierung der neuen Projekte PETRA III und XFEL behält der **HASYLAB-Nutzerbetrieb** inklusive der Aktivitäten am VUV-FEL höchste Priorität. Da die Fördergelder für den Betrieb bestehender Experimentierstationen durch die Verbundforschung drastisch gekürzt wurden, hat sich DESY bereit erklärt, den Betrieb einiger der Experimentierstationen zu übernehmen, die bisher sehr erfolgreich von externen Einrichtungen betrieben wurden. Das Forschungszentrum Geesthacht (GKSS) hat seine Außenstelle bei DESY eingerichtet und mit dem Bau des Zentrums für Materialforschung an der neuen HARWI-Strahlführung begonnen. An dieser errichtet das Geoforschungszentrum Potsdam (GFZ) außerdem eine Anlage zur Untersuchung von großvolumigen Proben bei hohen Drücken. Auf dem DESY-Gelände gab es noch weitere Bauaktivitäten: die EMBL-Außenstelle hat die Erweiterung ihrer Gebäude fertig gestellt und das Laserinstitut der Universität Hamburg ist in ihr neues Gebäude gezogen.

Im Jahr 2003 wurde eine Reihe von äußerst erfolgreichen **Workshops** und Fortbildungskursen für Studierende durchgeführt. Im Rahmen einer Serie von Forschungskursen über neue Forschung mit Röntgenstrahlung zog ein Kurs zur *Plasmaphysik mit Röntgenstrahlung* 42 junge Wissenschaftler und 13 hochkarätige Vortragende an. Das DESY-Sommerstudentenprogramm wurde 2003 in zwei Teile geteilt, deren Schwerpunkt jeweils auf der Elementarteilchenphysik bzw. der Forschung mit Photonen lag. Zu HASYLAB kamen 24 Studierende von insgesamt 56 Bewerbern, die sich für die Forschung mit Synchrotronstrahlung interessiert hatten. Ein internationaler Workshop zum *Einsatz von harter Synchrotron-Röntgenstrahlung für die Textur- und Spannungsanalyse*, ein DESY-ESRF-Treffen zu *Röntgendetektoren* sowie ein Industrieforum zur *In-Situ-Charakterisierung*

*von katalytischen Prozessen* wurden von HASYLAB-Wissenschaftlern organisiert.

Dr. Andreas S. Schwarz, Leitender Wissenschaftler bei DESY auf dem Gebiet der Teilchenphysik, übernahm wesentliche Verantwortlichkeiten im Projektmanagement des europäischen Röntgenlaserlabors XFEL, darunter die Vorbereitung für das Planfeststellungsverfahren für den neuen Standort. Dr. Gerhard Grübel von der ESRF in Grenoble wechselte zu DESY auf eine Stelle als Leitender Wissenschaftler im Bereich der Forschung mit Photonen. Sein Interesse gilt der Erforschung der Struktur und Dynamik von Systemen aus kondensierter Materie mit Hilfe von kohärenten Röntgenstrahlen, insbesondere der Untersuchung von langsamer Dynamik in komplexen Flüssigkeiten. Sein Aufgabenfeld umfasst dabei auch die Entwicklung von kohärenten Techniken und ihre Anpassung an Synchrotronstrahlungsquellen der dritten Generation und FELs.

Die im Jahr 2003 erzielten Erfolge waren nur möglich dank der hohen Motivation der HASYLAB-Mitarbeiter, aller Kollegen bei DESY und der Mitarbeiter der verschiedenen Außenstationen bei DORIS. Die Zusammenarbeit mit unseren Nutzern und deren starkes Engagement für die Forschungseinrichtung sind entscheidend für den Erfolg des Labors und werden von uns hoch geschätzt. Gemeinsam sehen wir faszinierenden Zeiten für die Forschung mit Photonen bei DESY entgegen.

## **Präzisionsmessung der Gitterparameter von Saphir ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ) im Temperaturbereich 4,5 K bis 250 K mit dem Mößbauer-Wellenlängensstandard**

Saphir ist ein viel versprechendes neues Material für Röntgenoptik, besonders attraktiv für Anwendungen wie exakt rückreflektierende Spiegel in Interferometern, Monochromatoren und Analysatoren mit hoher Energieauflösung. Aus Gründen der Kristallgittersymmetrie ermöglicht Saphir, im Gegensatz zu Silizium, exakte Rückstreuung mit hoher Reflektivität für Röntgenstrahlen im Energiebereich von 10 bis 50 keV.

Um reflektierte Strahlung mit einer bestimmten, vorgegebenen Energie zu erhalten, ist es erforderlich, die Gitterparameter des Saphirs und ihre Temperaturabhängigkeit genau zu kennen. Die bisherigen Messungen hierzu weisen jedoch große Abweichungen bis zu  $10^{-4}$  auf. Damit ist die Vorauswahl der geeigneten Reflexe und der erforderlichen Kristalltemperatur recht unsicher. Das bei PETRA II durchgeführte Experiment [1] der Forschungsgruppe von Yu. V. Shvyd'ko (Universität Hamburg) erweitert die früheren Ergebnisse der Gitterparameter für den Bereich von 286 K bis 374 K [2] zu tieferen Temperaturen. Die Messungen haben eine Unsicherheit von weniger als  $6 \times 10^{-6}$  und ermöglichen daher eine wesentlich präzisere Vorauswahl geeigneter Reflexe. Der Temperaturbereich unterhalb 250 K ist besonders interessant, weil hier die thermische Ausdehnung von Saphir wesentlich geringer ist als bei Raumtemperatur. Dies führt zu weniger strengen Anforderungen an die Temperaturregelung, was vor allem für den Energiebereich oberhalb 30 keV wichtig ist. Weiterhin steigt die Wärmeleitfähigkeit von Saphir bei tiefen Temperaturen sehr stark an, mehr als bei jedem anderen für Kristalloptik geeigneten Material. Dadurch wird Saphir interessant als Material für Monochromatoren, die auch unter großer Wärmebelastung stabil arbeiten müssen. Solche werden bei den Synchrotronstrahlungsquellen der 4. Generation (XFEL, LCLS) erforderlich sein.

Die experimentelle Methode nutzt aus, dass der Zusammenhang zwischen der Wellenlänge  $\lambda$  der reflektierten Strahlung und dem Abstand der Gitterebenen  $d_{hkl}$  im Kristall durch das Bragg'sche Gesetz  $\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$  gegeben ist, welches sich bei exakter Rückstreuung, d.h. Reflexionswinkel  $\theta = 90^\circ$  vereinfacht zu  $\lambda = 2d_{hkl}$ . Die Gitterparameter werden ermittelt aus Messungen der Wellenlänge exakt rückreflektierter Strahlung. Zu diesem Zweck verwenden wir im Experiment einen *channel-cut*-Kristall aus Silizium, das so genannte  $\lambda$ -meter. Durch Rotation dieses Kristalls um den Winkel  $\psi$  ändert sich die Wellenlänge der transmittierten Strahlung. Dieses Instrument wird während des Experiments in Einheiten der Wellenlänge  $\lambda_M$  der Mößbauer-Strahlung des Eisenisotops  $^{57}\text{Fe}$  [2] kalibriert. Der experimentelle Aufbau ist in Abbildung 59 gezeigt (Yu. V. Shvyd'ko et al., *J. Synchrotron Rad.* 9, 17 (2002)). In dem Experiment sind 3 unbekannte Größen zu bestimmen: die beiden Gitterparameter  $a$  und  $c$  des Saphir-Kristalls, sowie der Gitterebenenabstand im *channel-cut*-Kristall.

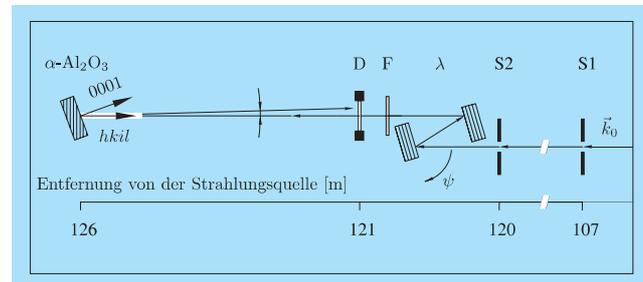


Abbildung 59: Aufbau des Experiments.  $\vec{k}_0$ : einfallende Synchrotronstrahlung; S1, S2: Spalte zur Kollimierung des Stahls;  $\lambda$ : *channel-cut*-Kristall aus Silizium ( $\lambda$ -meter);  $\psi$ : Rotationswinkel des  $\lambda$ -meters; F:  $^{57}\text{Fe}$ -Folie; D: semitransparenter Detektor;  $\text{Al}_2\text{O}_3$ : Saphir-Einkristall; 0001: parallel zur Oberfläche stehende Gitterebenen,  $hkil$ : senkrecht zum Strahl stehende Gitterebenen.

Daher sind mindestens drei Messungen der Differenz der Rotationswinkel, bei denen das  $\lambda$ -meter die rückreflektierte Strahlung von drei verschiedenen Bragg-Reflexen mit unterschiedlichem  $d_{hkl}^1$  im Saphir oder die Mößbauer-Strahlung des  $^{57}\text{Fe}$  durchlässt, erforderlich.

Man erhält ein nichtlineares Gleichungssystem, aus dem mittels numerischer Verfahren die drei Unbekannten aus den drei Winkeldifferenzen berechnet werden können. Die Messungen und Berechnungen werden für mehrere Temperaturen im gewünschten Bereich wiederholt. Als Ergebnis erhält man zunächst den jeweiligen Gitterparameter in Einheiten der Mößbauer-Wellenlänge  $\lambda_M$ . Zur Umrechnung in SI-Einheiten wird der bekannte Wert  $\lambda_M = 86,025474(16)$  pm verwendet (Yu. V. Shvyd'ko et al., *Phys. Rev. Lett.* 85, 495 (2000)). Die Ergebnisse sind in Abbildung 60 gezeigt. Die relativen Messfehler sind kleiner als  $6 \times 10^{-6}$ . Im Rahmen der Messgenauigkeit folgt die thermische Ausdehnung dem Debye-Modell, nach welchem der lineare Ausdehnungskoeffizient bei tiefen Temperaturen proportional zu  $T^3$  und bei hohen Temperaturen konstant ist. Die Ergebnisse ermöglichen die Auswahl von Bragg-Reflexen und geeigneten Temperaturen für einen hochauflösenden rückstreuenden Saphir-Monochromator. Für Temperaturen oberhalb 50 K ist es nun möglich, durch Auswahl eines Reflexes mit  $2d_{hkl}$  in der Nähe der

<sup>1</sup>In der hexagonalen Gitterstruktur gibt man üblicherweise vier Indizes an, wobei gilt  $h+k+i=0$ .

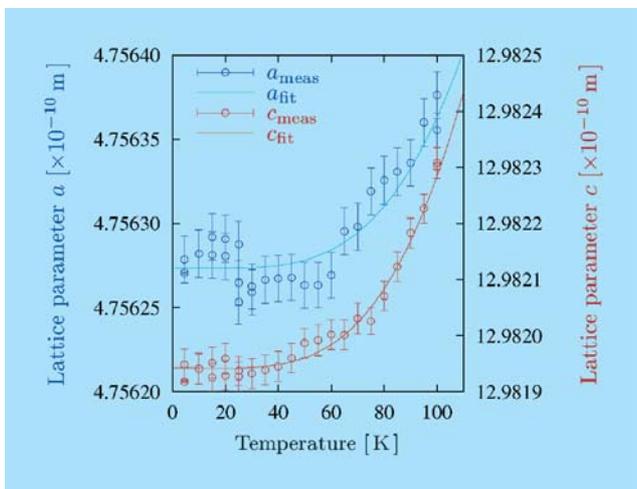


Abbildung 60: Gitterparameter von Saphir im Temperaturbereich unterhalb 100 K. Durchgezogene Linien: Debye-Modell der thermischen Ausdehnung.

gewünschten Wellenlänge  $\lambda$  und Feineinstellung der Temperatur, jede beliebige Energie zwischen 10 keV und 50 keV auszuwählen. Bei Temperaturen unterhalb 40 K sind die Gitterparameter von Saphir annähernd konstant, so dass man einen Satz fester Wellenlängen erhält, welche selbst bei größeren Temperaturschwankungen oder hoher Wärmebelastung stabil reflektiert werden.

- [1] M. Lucht et al., J. Appl. Cryst. 36, 1975 (2003)
- [2] Yu.V. Shvyd'ko et al., J. Synchrotron Rad. 9, 17 (2002)
- [3] Yu.V. Shvyd'ko et al., Phys. Rev. Lett. 85, 495 (2000)

## Status des VUV-FEL

Nach Abschluss der Experimente an der Phase I der TESLA Test Facility (TTF) im November 2002 ist die gesamte Beschleunigeranlage für den Betrieb des VUV-FEL neu aufgebaut worden. Der VUV-FEL wird der erste Freie-Elektronen-Laser weltweit sein, der ultrakurze Strahlungspulse vom Vakuum-Ultraviolett (VUV) bis in den weichen Röntgenbereich mit Wellenlängen zwischen etwa 100 und 6 nm erzeugt und für wissenschaftliche Anwendungen zur Verfügung stellt.

Der Aufbau des Beschleunigers und des FEL ist schematisch in Abbildung 61 dargestellt, umgeben von einer Reihe von Photographien, die im Oktober und November 2003 entlang des Beschleunigers aufgenommen wurden und den Stand der Aufbauarbeiten zeigen. Abbildung 62 ist eine Photographie eines 1:50-Modells der Experimentierhalle und vermittelt einen Eindruck davon, wie es gegen Ende 2005 im Inneren der Experimentierhalle mit ihren fünf Experimentierplätzen aussehen wird.

Der gesamte Beschleuniger ist neu aufgebaut worden und enthält nun eine Reihe von wesentlichen Neuentwicklungen: Für die Injektion und Kompression der Elektronenpakete wurde ein völlig neues Konzept entwickelt, ein speziell entwickeltes Kollimatorsystem schützt den Undulator vor Beschädigung durch Strahlverlust, die Fokussierung des Elektronenstrahls im FEL erfolgt durch separate Quadrupoleinheiten zwischen den Undulator-Modulen und ist nicht mehr in die Magnetstrukturen der Undulatoren integriert, und für den Elektronen- und den Photonenstrahl wurden verbesserte und teilweise standardisierte Diagnostikeinheiten entwickelt. Nähere Einzelheiten finden sich in den HASYLAB Jahresberichten 2001 bis 2003.

Die neue Elektronenkanone wurde vor dem Einbau intensiv am Photoinjektor Teststand bei DESY Zeuthen (PITZ) getestet. Sie wurde bei maximalem Strom und den für den VUV-FEL nötigen Feldgradienten betrieben, und es wurde eine normierte mittlere Emittanz von 1,7 mm mrad gemessen. Dies ist deutlich kleiner als der Wert von 2 mm mrad, der für den VUV-FEL benötigt wird. Das Lasersystem für den Photoinjektor wurde ebenfalls erheblich verbessert, um einen stabilen, zuverlässigen Dauerbetrieb zu gewährleisten. Der Injektor wird zunächst ohne das 3,9 GHz-Beschleunigermodul betrieben werden, das für eine optimale Bunch-Kompression benötigt wird; es wird z. Zt. am Fermi National Laboratory entwickelt und voraussichtlich Anfang 2006 nachgerüstet. Dadurch wird der Wellenlängenbereich des FEL zunächst auf etwa 20–60 nm beschränkt sein. Aus diesem Grund wird anfangs auch nicht die volle Elektronenstrahlenergie benötigt, und es wurde daher beschlossen, zunächst nur fünf Beschleunigermodule einzubauen und das sechste ausschließlich mit den besten Hochgradienten-Resonatoren auszurüsten und dann später zusammen mit dem 3,9 GHz-Modul einzubauen.

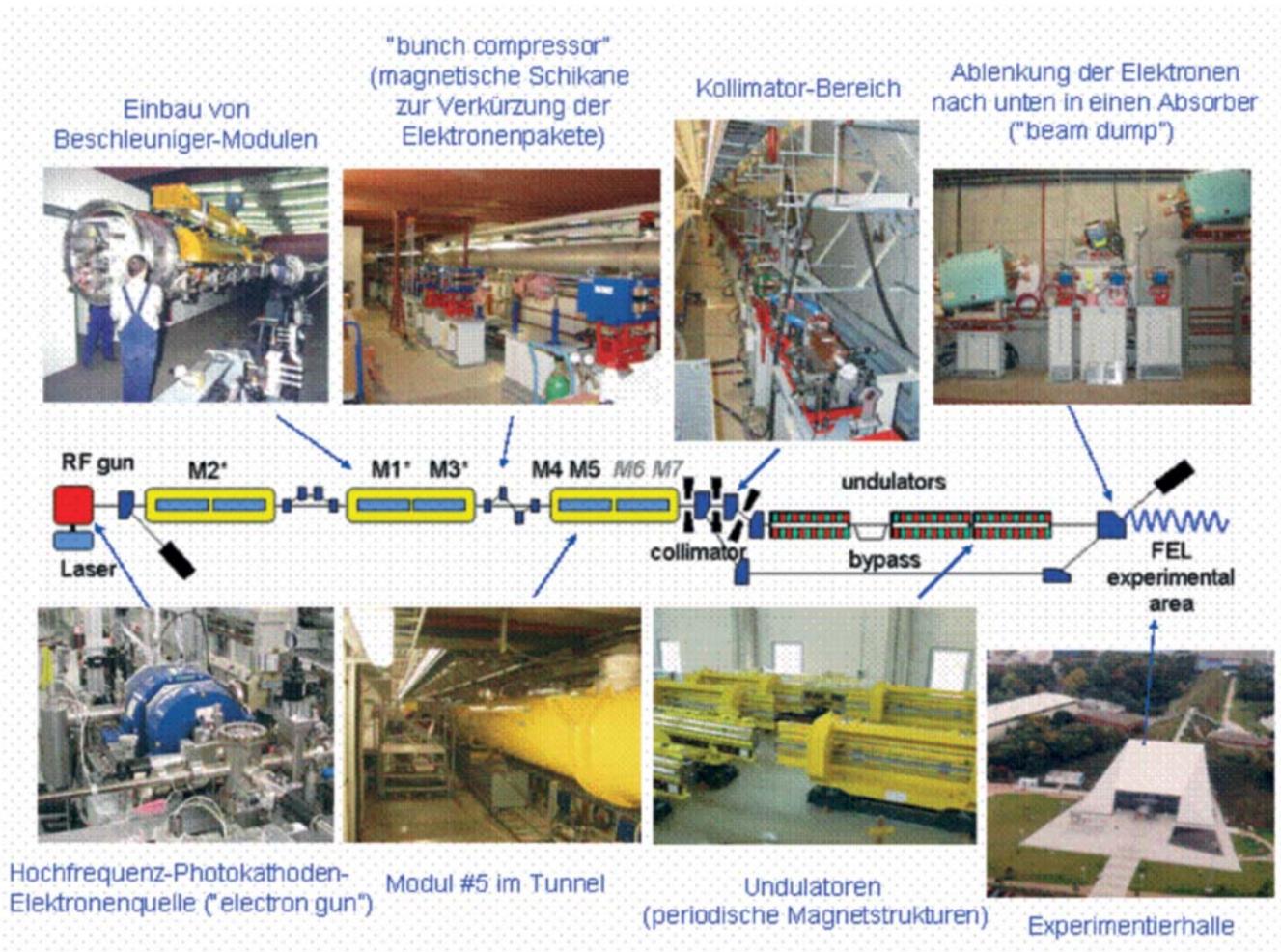


Abbildung 61: Schematischer Aufbau des Linearbeschleunigers und des FEL (Mitte) mit Photographien einzelner Komponenten und Abschnitte in der Einbauphase (Stand: Oktober 2003).

Die Komponenten der Photonenstrahldiagnostik, die schon in der Phase I zur Messung der Strahlintensität und des Strahlprofils benutzt wurden, sind für den VUV-FEL modifiziert worden und werden ganz am Ende des Beschleunigertunnels eingebaut, um die Inbetriebnahme des FEL zu erleichtern. Zusätzlich wird an dieser Stelle für die Inbetriebnahmephase ein Gitterspektrometer eingebaut, das den neuen Spektralbereich abdeckt und von der Universität Padua entsprechend umgebaut und leihweise zur Verfügung gestellt wird. Sobald der FEL stabil läuft, wird die Strahlung in die Experimentierhalle zu den Experimenten geführt. Die Strahlintensität und Position wird dort dann mit einem neu entwickelten Gas-Ionisationsdetektor gemessen, der den FEL-Strahl kaum merklich absorbiert

und praktisch unverändert zum Experiment durchlässt. Ebenso wird einer der Ablenkspiegel durch ein Beugungsgitter ersetzt, das 90% der Strahlung unverändert zum Experiment ablenkt und den Rest dispergiert und fokussiert, so dass gleichzeitig die spektrale Verteilung der Strahlung gemessen werden kann. Weitere Apparaturen zur Messung der Zeitstruktur sind in der Entwicklung.

Die Installationen werden im Sommer 2004 abgeschlossen, danach werden dann der Beschleuniger und der FEL in Betrieb genommen. Es wird erwartet, dass der FEL gegen Ende 2004 zum ersten Mal Laserstrahlung mit einer Wellenlänge von etwa 30 nm abstrahlt, so dass nach einer gründlichen Charakterisierung der Ei-

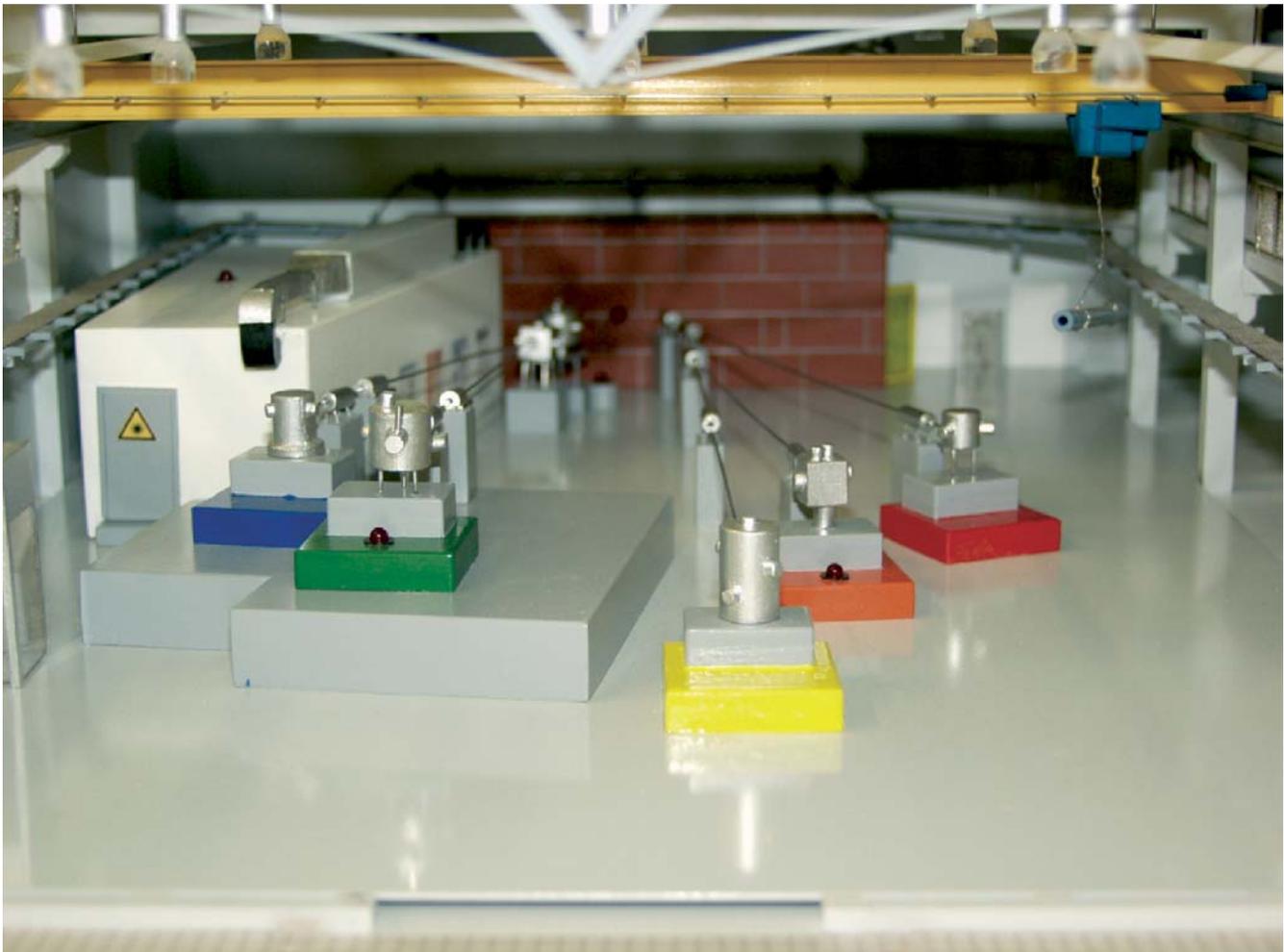


Abbildung 62: Blick in die Experimentierhalle (Photographie eines 1:50 Modells).

genschaften erste Nutzerexperimente im Frühjahr 2005 möglich wären. Bis dahin sollen zwei Experimentierstationen betriebsbereit sein: eine hinter einem hochauflösenden Plangitter-Monochromator und eine hinter einem Ellipsoidspiegel, der die Strahlung mit einem Durchmesser von etwa  $20\ \mu\text{m}$  auf die Probe fokussiert. Zwei weitere Messplätze sollen bis Ende 2005 zur Verfügung stehen, um den FEL-Strahl optimal für verschiedene Experimente auszunutzen.

## Status des PETRA III Projekts

Während des vergangenen Jahres wurden eine Reihe wichtiger Meilensteine auf dem Weg des Ausbaus

von PETRA III zu einer dedizierten Synchrotronstrahlungsquelle erreicht. Besonders hervorzuheben ist hier die Entscheidung des BMBF vom 5. Februar 2003, das PETRA III Projekt mit einer Fördersumme von 120 Mio. € zu unterstützen.

Die grundlegenden Parameter sowie das technische Design von PETRA III wurden bereits im Jahr 2002 festgelegt. In 2003 wurden die technische Planung des Speicherrings, der Strahlführungen und der Experimentierhalle im Detail ausgearbeitet und im PETRA III *Technical Design Report* (TDR) zusammengefasst, der Anfang 2004 fertiggestellt und veröffentlicht werden soll. Die Lage der neuen Experimentierhalle auf dem DESY-Gelände ist in Abbildung 63 skizziert.

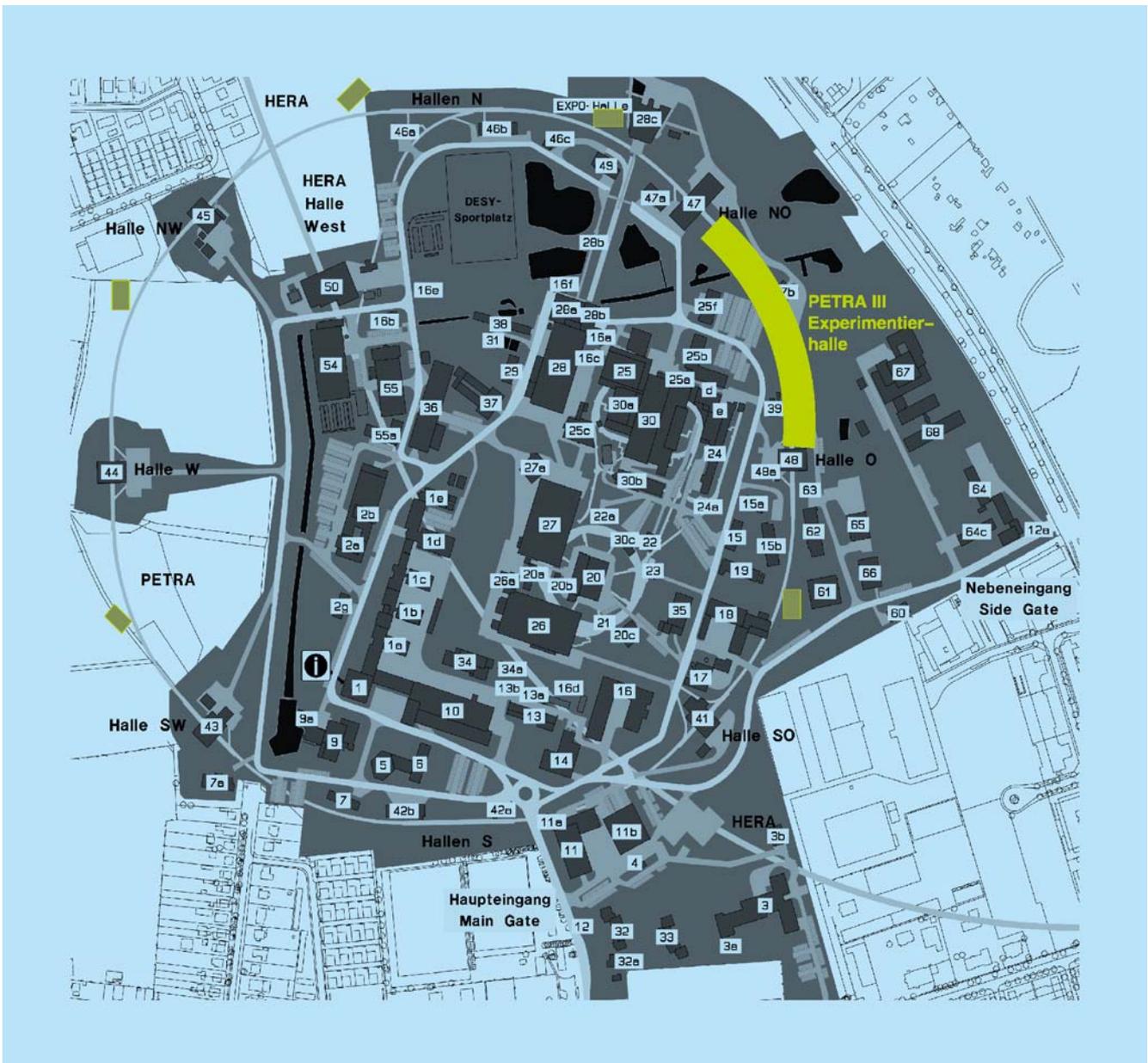


Abbildung 63: Lage der neuen Experimentierhalle von PETRA III zwischen den Gebäuden 47 und 48.

Ein weiteres wichtiges Ergebnis für das PETRA III Projekt war die Festlegung der zukünftigen Stellenverteilung bei DESY im Rahmen des langfristigen Personalentwicklungsplans. Dies wird einen effizienten Betrieb der Strahlführungen und Experimente an PETRA III ermöglichen, ähnlich wie an der Europäischen Synchrotronstrahlungsquelle ESRF in Grenoble.

Im November 2003 wurde das Konzept des zukünftigen PETRA III Speicherrings der DESY Beschleunigerkommission MAC sowie zwei auswärtigen Gutachtern von Synchrotronstrahlungsquellen der dritten Generation vorgelegt und im Rahmen eines Workshops diskutiert. Nach dem Urteil dieses Gremiums ist der Ausbau des PETRA Speicherrings ein „konzeptionell sehr geschickter Entwurf sowie ein kostensparender

Entwurf für eine weltweit einzigartige Synchrotronstrahlungsquelle der dritten Generation zur Erzeugung harter Röntgenstrahlung“. Die Kommission wird dem PETRA III Projekt während der Planungs- und Umbauphase beratend zur Seite stehen.

## Vorschläge für Strahlführungen an PETRA III

Im Rahmen von fünf Workshops im Jahr 2002 wurden Arbeitsgruppen gebildet, um Vorschläge für künftige Strahlführungen auszuarbeiten. Die Ergebnisse wurden im Rahmen eines großen Workshops mit dem Titel *PETRA III Workshop on Experimental Stations* zusammenfassend dargestellt, der vom 26.–28. Mai 2003 mit insgesamt 140 Teilnehmern abgehalten wurde. Das Ergebnis dieses Workshops sind die folgenden Strahlführungen und Messplätze, die im *Technical Design Report* (TDR) zur Realisierung an PETRA III vorgeschlagen werden, hier eingeteilt in fünf Kategorien:

1. **Röntgenbeugung und Bildgebende Verfahren:** Hochenergetische Röntgenbeugung, kohärente Röntgenstreuung, hochauflösende Röntgenbeugung, Mikro- und Nanotomographie
2. **Hochauflösende Spektroskopie:** Unelastische Röntgenstreuung, Kernresonanzstreuung
3. **Materialwissenschaften:** Untersuchungen mit hochenergetischer Röntgenstrahlung, Pulverdiffraktometrie, Kleinwinkelstreuung, mikrofokussierte Strahlen zur Untersuchung weicher Materie
4. **Röntgenabsorption und Resonante Streuung:** Absorptionsspektroskopie, hochenergetische Photoelektronenspektroskopie, Röntgen-Mikrosonden, weiche Röntgenstrahlung mit variabler Polarisierung
5. **Strukturelle Molekularbiologie:** Makromolekulare Kristallographie (3 Messplätze vorgeschlagen vom EMBL, 2 Messplätze vorgeschlagen von der MPG), Kleinwinkelstreuung und Absorptionsspektroskopie an biologischen Materialien.

## Künftige Entwicklungen

Die Anzahl der im PETRA III *Technical Design Report* vorgeschlagenen Messplätze ist größer als die Anzahl der verfügbaren Undulatoren. Eine externe Gutachterkommission wird daher die Vorschläge bewert-

ten und Empfehlungen aussprechen, welche Messplätze vorrangig gebaut werden sollten und ob eventuell einzelne der oben aufgeführten Messplätze an einer Strahlführung zusammengefasst werden können. Da die ausgezeichneten Strahleigenschaften von PETRA III den Betrieb von mehreren Messplätzen entlang einer Strahlführung erlauben, können in einer zweiten Ausbauphase weitere Messplätze errichtet werden. Auf diese Weise entsteht eine hohe Flexibilität im Hinblick auf die Entwicklung neuer experimenteller Techniken.

Sobald die Empfehlung der Gutachterkommission vorliegt, wird mit der Planung der Messplätze im Detail begonnen. Um dabei die Anforderungen der Nutzerschaft zu berücksichtigen, werden in der zweiten Jahreshälfte 2004 eine Reihe von Workshops organisiert, in deren Rahmen das Design der einzelnen Strahlführungen erarbeitet und festgelegt werden soll. Parallel dazu werden alle kritischen Komponenten der generischen Strahlführung konzipiert und in Prototypen getestet. Bis Ende 2006 werden die detaillierten Entwürfe für alle Strahlführungen festliegen und es wird mit den Ausschreibungen für die Komponenten begonnen. Bei der Konstruktion wird ein hoher Grad an Standardisierung angestrebt. Auf diese Weise kann der Aufwand für die Entwicklung von Einzelkomponenten erheblich minimiert werden. Die Komponenten für alle Strahlführungen sollen im Jahr 2008 fertig zur Installation sein.

Nach der derzeitigen Planung soll im Jahr 2007 mit dem Umbau von PETRA begonnen werden. Die neue Experimentierhalle soll noch vor dem Winter 2007/2008 fertiggestellt sein. Die Inbetriebnahme des neuen Speicherrings soll Ende 2008 beginnen, sodass der Nutzerbetrieb im Jahr 2009 anlaufen kann, nachdem auch die Strahlführungen in Betrieb genommen wurden.

## Das europäische Röntgenlaserprojekt XFEL

Am 5. Februar 2003 hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) entschieden, dass der Röntgenlaser XFEL bei DESY als europäisches Projekt realisiert werden soll. Das Ministerium teilte auch mit, dass Deutschland, Bezug nehmend auf den Stand-

ortvorteil bereit ist, die Hälfte der Investitions- und Personalkosten von 684 Mio. € (basierend auf dem Preisniveau des Jahres 2000) zu tragen. Dieser Betrag beinhaltet die Kosten für den supraleitenden Linearbeschleuniger, drei Freie Elektronen Laser Undulatorstrecken, zwei Undulatorstrecken für spontane Strahlung und 10 Messplätze [1]. Gleichzeitig wurde mit dieser Entscheidung festgestellt, dass eine Entscheidung zum TESLA Projekt auf eine unbestimmte Zeit verschoben wird.

In der Folge konzentrierte sich die Arbeit am DESY auf die folgenden Gebiete: die Einsetzung einer organisatorischen Struktur für die Vorbereitung des Projektes am DESY, Diskussionen mit europäischen Partnern auf den verschiedenen Ebenen, die Auswahl einer neuen Trasse für das XFEL Projekt, sowie vorbereitende Arbeiten für das Planfeststellungsverfahren zum XFEL.

## Organisationsstruktur für die Vorbereitung des XFEL am DESY

Das Röntgenlaser Projekt XFEL wird als europäisches Projekt realisiert werden. Parallel zum politischen Entscheidungsprozess zur Formation einer Kollaboration mit europäischen Partnern wurde am DESY für die vorbereitenden Arbeiten zur Realisierung des Projektes eine lokale Organisationsstruktur ins Leben gerufen, mit dem Ziel, in naher Zukunft eine Bauentscheidung für die Anlage treffen zu können. Schematisch ist die Organisationsstruktur in Abbildung 64 dargestellt.

Das Projekt ist in 38 individuelle Arbeitspakete unterteilt [2]. Jedes Arbeitspaket wird von einem Leiter des Arbeitspaketes organisiert. Die Leiter der Arbeitspakete formen, zusammen mit der XFEL Projektleitung, die DESY XFEL Projektgruppe. Diese trifft sich einmal pro Woche, um den Status und Fortschritt der vorbereitenden Arbeiten für den XFEL zu diskutieren. Die XFEL Projektgruppe ist offen für Repräsentanten der TESLA Kollaboration und neue, internationale Gruppen. Zwei Projektleiter (mit den Schwerpunkten Beschleuniger bzw. Laborkomplex) leiten die XFEL Projektgruppe, initiieren die wöchentlichen Treffen und kontrollieren den allgemeinen Arbeitsfortschritt. Sie sind dem DESY Direktorium direkt verantwortlich.

Aspekte finanzieller, vertraulicher und politischer Natur werden in einer separaten Gruppe, der DESY

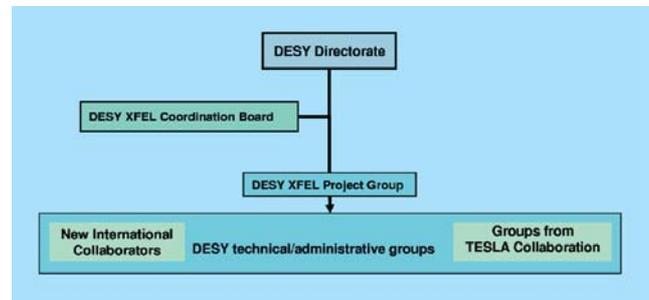


Abbildung 64: Schema der Organisationsstruktur am DESY für die Vorbereitung des Europäischen XFEL.

XFEL Koordinationsgruppe, diskutiert. Diese Gruppe wird gemeinsam geleitet von den DESY FS- und M-Bereichsleitern. Weitere Mitglieder sind: Repräsentanten des XFEL Projektmanagements, des VUV-FEL Projektmanagements, Vertreter der Nutzergruppen und Vertreter verschiedener DESY Dienstleistungsgruppen. Des Weiteren haben Vertreter internationaler Institutionen, die zu dem Projekt beitragen, einen Sitz in dieser Kommission.

## Kontakt zu Potentiellen Europäischen Partnern

In enger Abstimmung mit dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) wurden mögliche internationale Partner auf verschiedenen politischen und wissenschaftlichen Ebenen kontaktiert. Die Ministerin für Bildung und Forschung Edelgard Bulmahn hat Briefe an ihre Kollegen in Kernländer der Europäischen Gemeinschaft sowie die Schweiz, Russland und die USA geschickt mit der Bitte, Repräsentanten für zwei hierarchisch hoch angesiedelte Gruppen zu entsenden. Die eine Gruppe soll sich im Wesentlichen um die administrativen Aspekte eines solchen internationalen Gemeinschaftsprojektes kümmern, die andere Gruppe soll im Wesentlichen die technischen und wissenschaftlichen Aspekte des XFEL bearbeiten. Erste positive Antworten der internationalen Partner sind eingegangen.

Zusätzlich zu diesen Aktivitäten haben mehrere Länder begonnen, Treffen für potentielle Nutzer eines Europäischen XFEL Labors zu organisieren. Auf einem Treffen des *European Strategy Forum for Research Infrastructures (ESFRI)* in Brüssel im April wurde das

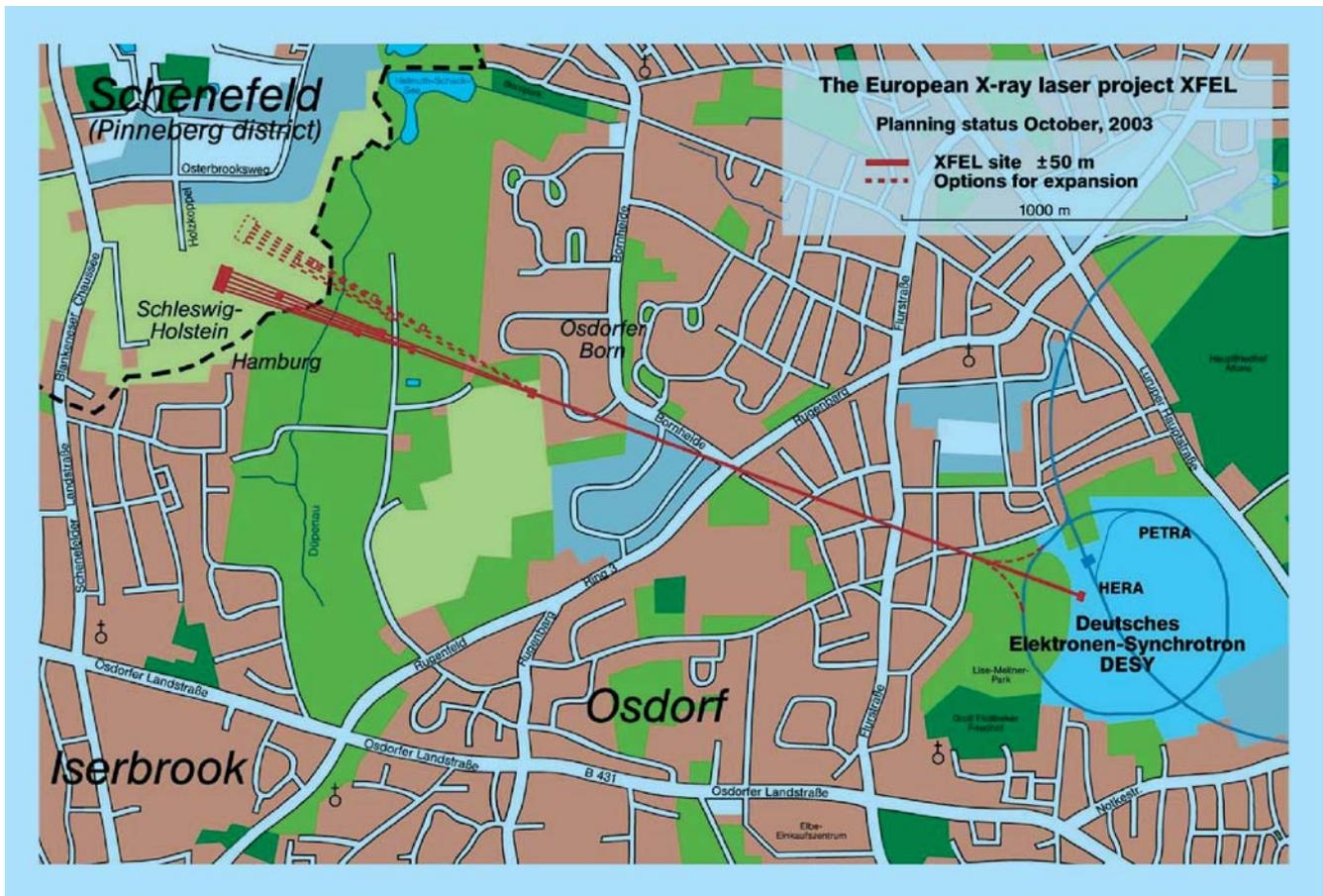


Abbildung 65: Die neue Trassenführung für das geplante XFEL Projekt.

XFEL Projekt vorgestellt und es wurde daraufhin vorgeschlagen, am 30. und 31. Oktober 2003 ein spezielles Arbeitstreffen am DESY zu organisieren, auf welchem die wesentlichen technischen Herausforderungen für die Realisierung des XFEL Projektes diskutiert werden sollten. Als ein wesentliches Ergebnis dieses Treffens unter Experten konnte festgestellt werden, dass im technischen Entwurf für den XFEL keine grundsätzlichen Hindernisse für die Realisierung des Projektes identifiziert werden konnten [3].

### Auswahl einer neuen Trasse für den Europäischen XFEL

Die Entscheidung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung im Februar 2003 machte deutlich, dass der Freie Elektronen Laser XFEL und das TESLA Pro-

jekt nicht auf der gleichen Zeitskala realisiert werden können, wie dies ursprünglich vorgesehen war. Die wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Synergieeffekte eines gemeinsamen Forschungsgeländes 20 km entfernt vom DESY Gelände können somit zu diesem Zeitpunkt nicht realisiert werden. Aus diesem Grunde hat sich DESY entschieden, die Möglichkeiten einer neuen Trassenführung für die XFEL Anlage zu prüfen, welche eine möglichst enge Anbindung an das bestehende DESY Gelände mit seiner Infrastruktur ermöglichen sollte.

Auf einer Pressekonferenz am 29. Oktober 2003 gab DESY im Beisein von Ute Erdsiek-Rave, Wissenschaftsministerin des Landes Schleswig-Holstein und Jörg Dräger, Hamburger Wissenschaftssenator den neuen Vorschlag für die Trasse des geplanten XFEL Projektes bekannt. Die 3,3 km lange Anlage beginnt

am DESY Gelände in Hamburg-Bahrenfeld und verläuft in nordwestlicher Richtung zur Stadt Schenefeld (Kreis Pinneberg), welche an die Stadt Hamburg angrenzt (siehe Abb. 65). Auf einem Gelände südlich der Stadt Schenefeld wird die Experimentierhalle mit den Messstationen errichtet. Das geplante Gelände ist groß genug, eine weitere Experimentierhalle derselben Größe zu errichten, welche zu einem späteren Zeitpunkt gebaut werden könnte.

### **Vorbereitung des Planfeststellungsverfahrens**

Zur Erlangung der Baugenehmigung der XFEL Anlage ist ein Planfeststellungsverfahren vorgesehen. Dies wird in einem Staatsvertrag zwischen den Bundesländern Hamburg und Schleswig-Holstein, welcher momentan in Vorbereitung ist, festgelegt. Für das Planfeststellungsverfahren muss eine relativ detaillierte Beschreibung der einzelnen Gebäude und Tunnelbauten

erstellt werden. Eine entsprechende Arbeitsgruppe ist am DESY eingerichtet worden. Es wird angestrebt, die Unterlagen für das Verfahren zum Ende des Jahres 2004 fertig gestellt zu haben. Die Begutachtung des Plans von den zuständigen Behörden wird dann voraussichtlich bis zum Ende des Jahres 2005 erfolgt sein, sodass erste Arbeiten zum Bau des europäischen Röntgenlasers XFEL im Jahre 2006 beginnen könnten.

[1] Pressemitteilung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung vom 5. Februar, 2003. <http://www.bmbf.de/presse01/798.html>

[2] Die Liste der einzelnen Arbeitspakete, die Protokolle der Treffen der XFEL Projektgruppe und viele andere Informationen über die Vorbereitung des Projektes können auf der Web Seite <http://xfel.desy.de> eingesehen werden.

[3] Weitere Informationen über das Treffen und das auf dem Treffen gezeigte Material sind unter <http://xfel.desy.de/content/xfel/e106/e293/> zu finden.



# Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie EMBL –Außenstation Hamburg–

**Leitung:** M. Wilmanns, V. Lamzin

**Forschungsgruppenleiter:** C. Hermes, M. Koch, W. Meyer-Klaucke, J. Müller-Dieckmann, D. Svergun, P. Tucker, M. Weiss

Das Jahr 2003 stand im Zeichen der Vorbereitung für die Planung des Aufbaus von Messstationen mit biologischen Applikationen am PETRA III Ring, und EMBL ist mit einem eigenen Beitrag am TDR für PETRA III beteiligt. Die Umbauten am Fächer K wurden weitgehend abgeschlossen, und wir hoffen, noch dieses Jahr die neue MAD-Messstation X12 endgültig in Betrieb nehmen zu können. Unserem Mitarbeiter Dr. Dmitri Svergun wurde inzwischen eine volle Gruppenleiterstelle im Bereich der Kleinwinkelstreuung von biologischem Material angeboten, die er auch angenommen hat. Insbesondere bedingt durch eigene Entwicklungsarbeiten, ist das Interesse für Experimente an der von ihm betreuten Messstation enorm gestiegen. Sie soll in naher Zukunft von Grund auf renoviert werden. Seit Beginn des Jahres 2003 wird ein neues Integriertes Projekt (IP) der Europäischen Union, „BIOXHIT“ von EMBL-Hamburg unter der Leitung von Dr. Victor Lamzin koordiniert. Damit hat unser Institut eine leitende Rolle für die Weiterentwicklung von Technologien im Zusammenhang von Synchrotron-Messstationen mit Anwendungen in den Lebenswissenschaften übernommen. Ein weiteres Projekt, das vom BMBF gefördert wird, wird ebenfalls von EMBL-Hamburg koordiniert. Es hat zum Ziel, mit Hilfe von Proteinstrukturen neue Leitverbindungen gegen Tuberkulose zu finden. Außerdem wird im Rahmen dieses Projektes eine Hochdurchsatz-Kristallisationseinheit von EMBL aufgebaut.

Wir danken DESY und HASYLAB für die Bereitstellung der Infrastruktur und Synchrotronstrahlung im Jahre 2003. Im weiteren Teil des Berichtes sind die wissenschaftlichen Aktivitäten der Forschungsgruppen aus den Bereichen Instrumentierung (Christoph Hermes), Biokristallographie (Victor Lamzin, Paul Tucker, Manfred Weiss, Matthias Wilmanns, Paul Tucker) und Kleinwinkelstreuung (Dmitri Svergun) zusammengefasst.

## Instrumentelle Entwicklungen

Die Hauptaktivitäten der Instrumentierungsgruppe waren im letzten Jahr auf die Fertigstellung der Strahlführungen am Fächer K konzentriert. Die beiden neu aufgebauten Stationen X11 und X13, die bei konstanter Wellenlänge von etwa 0.8 Å für Experimente in der Proteinkristallographie genutzt werden, arbeiteten das ganze Jahr über sehr zufriedenstellend. Im Folgenden soll kurz der Fortgang der Arbeiten an der Strahlführung X12 beschrieben werden, die den zentralen Teil des Fächers K darstellt und an der Experimente mit variabler Wellenlänge geplant sind (MAD).

Im März 2003 konnte an X12 erstmals die Intensität eines monochromatischen Röntgenstrahls gemessen werden. Die Messung erfolgte mittels einer Ionisationskammer, die an der Stelle aufgestellt war, an der sich später der Proteinkristall befinden wird. Für diese ersten Tests wurde anstelle des sehr komplexen horizontal fokussierenden Monochromators ein einfacher Doppelkristallmonochromator (DCM) mit zwei flachen Si (111) Kristallen verwendet. Damit konnten sowohl die gesamten mechanischen Komponenten des Monochromatoraufbaus als auch die entsprechende Kontrollsoftware charakterisiert werden. Bis auf geringfügige Korrekturen an der Software arbeiteten alle Motorsysteme, Intensitätsmonitore und fernbedienbaren Sichtschirme zuverlässig und den Spezifikationen entsprechend. Die Charakterisierung des vertikal fokussierenden Röntgenspiegels von X12 wurde ebenfalls mit Hilfe dieses vereinfachten Monochromatoraufbaus mit sehr zufriedenstellenden Ergebnissen durchgeführt. Identische Spiegel werden bereits erfolgreich an den Strahlführungen X11 & X13 eingesetzt. Ein weiterer wichtiger Schritt im Hinblick auf die Fertigstellung von X12 war der Austausch der zwei flachen Monochromator Kristalle durch die endgültige Konfiguration, die aus einem wassergekühlten, flachen ersten und einem horizontal fokussierenden zweiten Si-Kristall besteht. Die

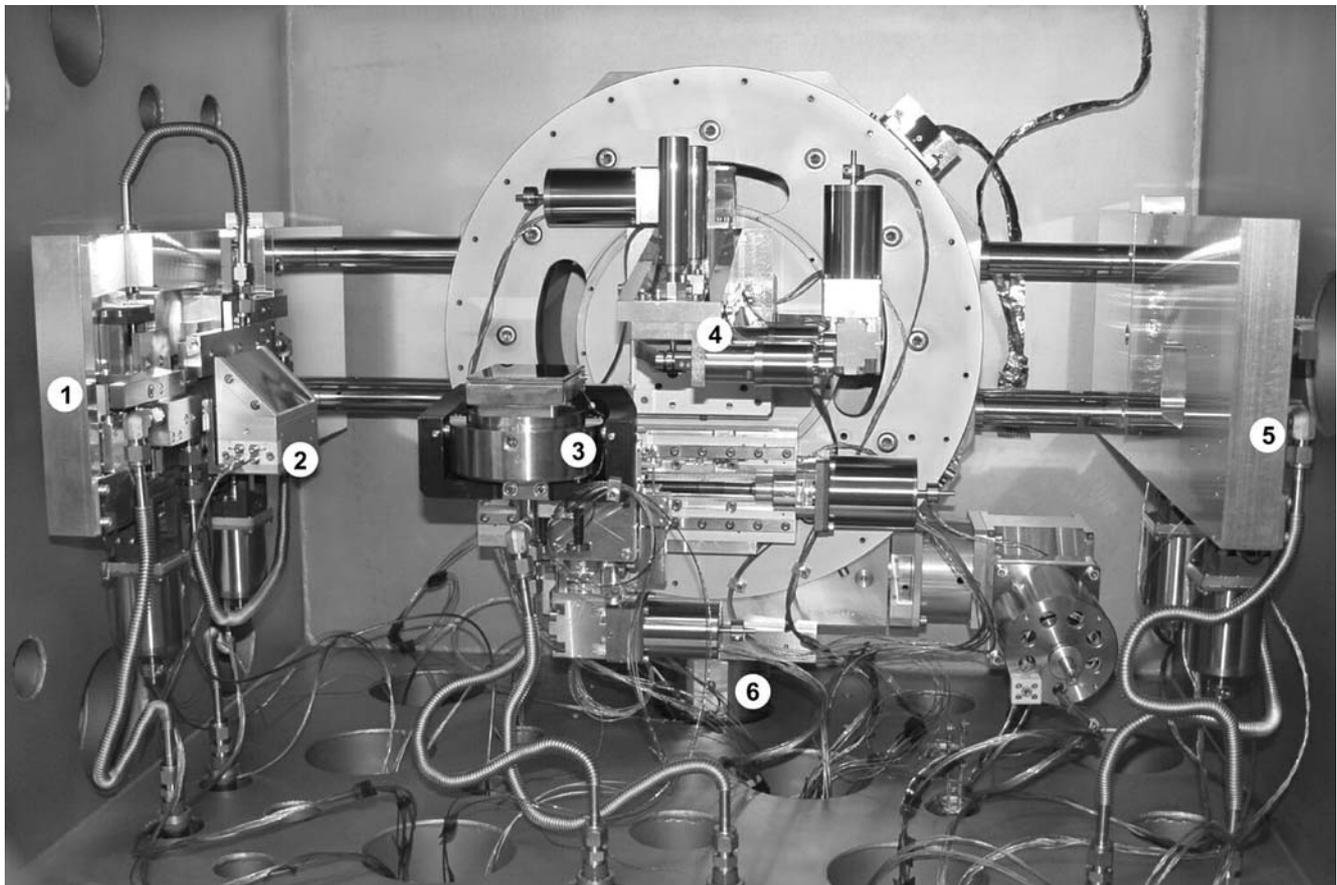


Abbildung 66: Doppelmonochromator im Vakuumtank. 1) Eingangsblende (wassergekühlt), 2) Intensitätsmonitor (PIN-Diode), 3) wassergekühlter, erster Si(111) Kristall montiert auf kardanischer Feinjustiervorrichtung, 4) zweiter, fokussierender Monochromatorkristall mit Biegemotoren, 5) Ausgangsblende, 6) Hubsäule zur vertikalen Translation des gesamten Aufbaus.

exakte gegenseitige Positionierung der beiden Kristalle zueinander erfolgt durch eine Kombination von hochpräzisen Picomotoren und einem dynamisch regelbaren Piezokristall. In guter Übereinstimmung mit den Strahlparametern von DORIS konnte weiße Synchrotronstrahlung von 50 mm Breite zu einem monochromatischen Strahl von etwa 1.5 mm (fwhm) Breite fokussiert werden. Ein Problem ergab sich, wenn die Energie des Röntgenstrahls über einen sehr großen Bereich variiert wurde: Dann konnte zwar die vertikale Position des Strahls durch das Verfahren des zweiten Kristalls konstant gehalten werden (constant exit), in horizontaler Richtung ergaben sich aber inakzeptable Strahlver-

schiebungen. Dies soll zukünftig durch eine bessere, verspannungsfreie Fixierung der Kristalle und durch eine noch genauere relative Positionierung zueinander vermieden werden.

## Strukturen aus dem Proteom des Tuberkulosebakteriums

Vor einigen Jahren ergaben Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation WHO, dass ca. ein Drittel

der Weltbevölkerung mit „Mycobacterium tuberculosis“, dem Erreger der Tuberkulose, infiziert ist. Jedes Jahr kommen mehr als 8 Millionen neue Fälle hinzu, und mehr als 2 Millionen Menschen sterben jährlich an der Krankheit. Koinfektion mit HIV, eine Zunahme an resistenten „Mycobacterium tuberculosis“-Stämmen und die zunehmende Mobilität auf globaler Ebene bewirken, dass Tuberkulose zu einem zunehmenden globalen Problem wird, was wiederum zu einem revitalisierten Interesse an der über Jahrzehnte vernachlässigten Tuberkuloseforschung führt.

Im Rahmen eines vom BMBF geförderten Strukturgenomik-Projektes ([www.xmtb.org](http://www.xmtb.org)) arbeiten verschiedene Arbeitsgruppen der EMBL Außenstelle in Hamburg (Wilmanns, Tucker, Weiss, Groves, Song) sowie der strukturbioologisch orientierten Hamburger Max-Planck-Gruppen (Bartunik) an der Strukturaufklärung von etwa 150 Proteinen aus „Mycobacterium tuberculosis“. Die Selektion der Zielproteine umfasst Proteine der Leu- und Lys-Biosynthese (Weiss), der His-Biosynthese (Wilmanns), allgemeiner Aminosäurebiosynthesewege (Bartunik), Zweikomponentensysteme (Tucker), sowie eine Reihe von Proteinen, die in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Arbeitsgruppe für Infektionsbiologie (Kaufmann) in Berlin auf der Basis von Protein- und RNA-Expressionsprofilen ausgewählt wurden. Speziell die letzteren haben eine große Chance, sich als neue Zielproteine für neue Anti-Tuberkulosemedikamente herauszukristallisieren, da sie in unterschiedlichen Lebenszyklen von „Mycobacterium Tuberculosis“ von dem Bazillus in unterschiedlichem Ausmaß produziert werden.

Von den insgesamt 147 ausgewählten Proteinen, konnten bisher 106 erfolgreich exprimiert werden, 53 davon konnten in gereinigter Form dargestellt werden, von 13 konnten Kristalle gezüchtet werden, und von neun der kristallisierten Proteine wurden die drei-dimensionalen Strukturen bestimmt. Dabei handelt es sich um ein Protein aus der Leu-Biosynthese (Rv2995c), drei Proteine aus der Lys-Biosynthese (Rv1293, Rv2753c and Rv2773c), einer Receiverdomäne eines Zweikomponentensystems (Rv1626), einer ATPase-Domäne eines Zweikomponentensystems (Rv0902c), sowie ein Protein aus der Lipidbiosynthese (Rv2217). Nach erfolgter Strukturaufklärung gehen die Bestrebungen nun da-

hin, Inhibitoren aufzufinden, die möglicherweise als neue Leitverbindungen für die Entwicklung neuer Anti-Tuberkulose-Medikamente dienen können.

## Kleinwinkelstreuung an Nicht-kristallinen Systemen

Die Kleinwinkelstreuanlage X33 an DORIS III ist – einzigartig in Europa – spezialisiert auf die Untersuchung von biologischen Makromolekülen in Lösung. Die Kleinwinkelstreuung liefert dabei komplementäre Daten zur hochaufgelösten Proteinkristallographie. Von besonderem Interesse sind strukturelle Umfaltungsprozesse, deren Konformationen meist nicht kristallographisch untersucht werden können. Die Systeme variieren dabei von kleineren einzelnen Proteinen (z. B. native Prionen) und deren Konformationsänderungen bis zu Untersuchungen von Protein-Protein, Protein-DNS(RNS) Wechselwirkungen und Komplexbildung. Messungen an biologisch aktiven Peptid-Lipidmembran Systemen, Polymeren sowie Mikroemulsionen erweiterten das Profil der Kleinwinkelstreuanlage. Um den Nutzern optimale Bedingungen zu garantieren stehen speziellen Probenumgebungen zur Verfügung die es erlauben präzise Streudiagramme zu messen. Die bestehenden Datenaufnahmeprogramme wurden erweitert, um zukünftigen Anforderungen von neuen elektronischen Komponenten gerecht zu werden. Zur Zeit ist der Upgrade von optischen und mechanischen Komponenten der Kleinwinkelstreuanlage projektiert.

Der Zahl die Kleinwinkelstreuprojekte ist in letzten fünf Jahren kontinuierlich (um 20 Prozent pro Jahr) gestiegen. Verschiedene Projekte konnten 2003 in Kooperation mit Nutzern erfolgreich zu Ende gebracht werden. Von besonderem Interesse war dabei die Untersuchung von der Proteinquartärstruktur und Komplexbildung. Der Vorteil der Kleinwinkelstreuung ist hierbei, dass vorhandene, hochaufgelöste makromolekulare Strukturen der einzelnen Komponenten zur Verwendung kommen um den gesamten Komplex zu Rekonstruieren. Dazu wird zunächst die Form der Komplexe mit Hilfe der Kleinwinkelstreuung genau bestimmt und dann die resultierenden Daten mit den einzelnen Proteinkomponenten verglichen.

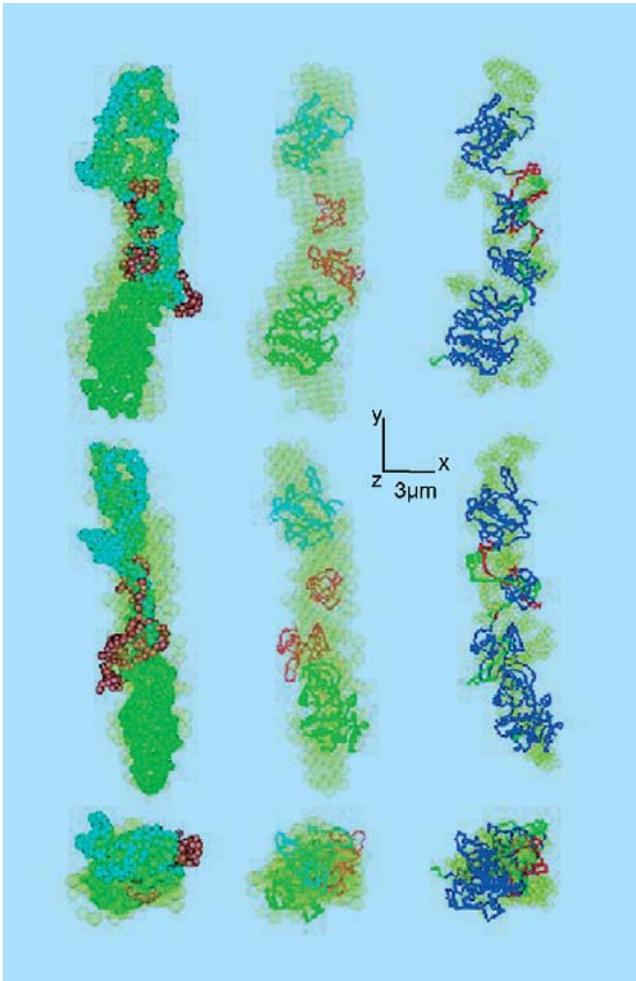


Abbildung 67: Der Vergleich der durch Kleinwinkelstreuung erhaltenen Modelle mit niedriger Auflösung (helle Kugelstruktur) mit ebenfalls durch Lösungstreuung erhaltenen Strukturen der einzelnen Proteinkomponenten (links). Die verfeinerte Struktur auf Basis der Proteinkristallstrukturdaten der Tyrosinkinase ist in das Lösungsmodell eingebettet dargestellt (Mitte). Die fehlenden Verbindungstücke zwischen den einzelnen Proteindomänen sind mit Hilfe des Programms CREDO hinzugefügt worden (rechts).

Diese Interpretation der Kleinwinkelstreuendaten erfolgt mit speziellen Softwarepakete, die am EMBL in Hamburg entwickelt und gepflegt wird. Schnelle Algorithmen erlauben es dabei die Hülle eines Proteins „ab initio“ zu berechnen. Die Programme GASBOR und DAMMIN wurden dazu erweitert und neue Funktio-

nen hinzugefügt. So kann nun die Symmetrie der Moleküle in der Modellverfeinerung berücksichtigt, sowie Modelle symmetrischer Proteinuntereinheiten interaktiv durch das Programm MASSHA berechnet werden. Einen neuen Ansatz in der Modellierung von Kleinwinkelstreuendaten benutzt das Programm GLOBSYMM. Hierbei werden speziellen Eigenschaften der Quartärstruktur des Proteins verwendet um durch einen Suchalgorithmus Übereinstimmung mit den experimentellen Daten zu ermitteln. Das komplette Programmpaket ATSAS zur Analyse und Interpretation von Kleinwinkelstreuendaten steht akademischen Anwendern als Freeware für alle gängigen Betriebssysteme zur Verfügung (<http://www.embl-hamburg.de/software.html>). Zur weiteren Vereinfachung der Dateninterpretation von Lösungsstreuexperimenten ist der Prototyp einer Datenbank, die eine schnelle Klassifikation der untersuchten Proteine erlaubt im Aufbau. Hintergrund dabei ist, dass strukturelle Übereinstimmung von Proteinen ein Hinweis auf gemeinsame Funktionalität sein kann. Ein Vergleich von experimentellen Daten mit theoretisch bestimmten Proteindaten (z. Z. ca. 15 000 Datensätzen) vermittelt somit eine schnelle Zuordnung des untersuchten Proteins zu einer bestimmten Proteinfamilie.

Durch die Verbesserungen der experimentellen Aufbauten und der Datenanalysesoftware war es möglich, ein Modell für die Tyrosinkinase Btk („Burtons tyrosine kinase“) zu entwickeln (Abbildung 67). Dieses spezielle Enzym ist eine nicht Rezeptor gebundene Tyrosinkinase, die eine wichtige Rolle bei der Bereitstellung von Lymphozyten des Immunsystems bei Menschen und Mäusen innehat. Dabei zeigt die Burtons Tyrosinkinase einen ähnlichen strukturellen Aufbau wie andere Proteine dieser Familie, besitzt aber im Gegensatz zwei weitere Proteindomänen. Diese Proteindomänen wurden mit Hilfe der Röntgenkleinwinkelstreuung bestimmt. Überraschenderweise zeigte der Proteinkomplex eine lineare Anordnung der Domänen, die keine oder nur geringe Wechselwirkungen mit den anderen Proteindomänen haben. Allerdings zeigen biochemische Daten, dass die ein einfaches Abschneiden der Domänen keinen Einfluss auf die enzymatische Aktivität hat. Die Daten der Röntgenkleinwinkelstreuung weisen damit darauf hin, dass – im Unterschied zu anderen Vertretern aus der Familie der Tyrosinkinase – die Regulation der enzymatischen Aktivität keinen vollständig assemblierten Komplex benötigt.

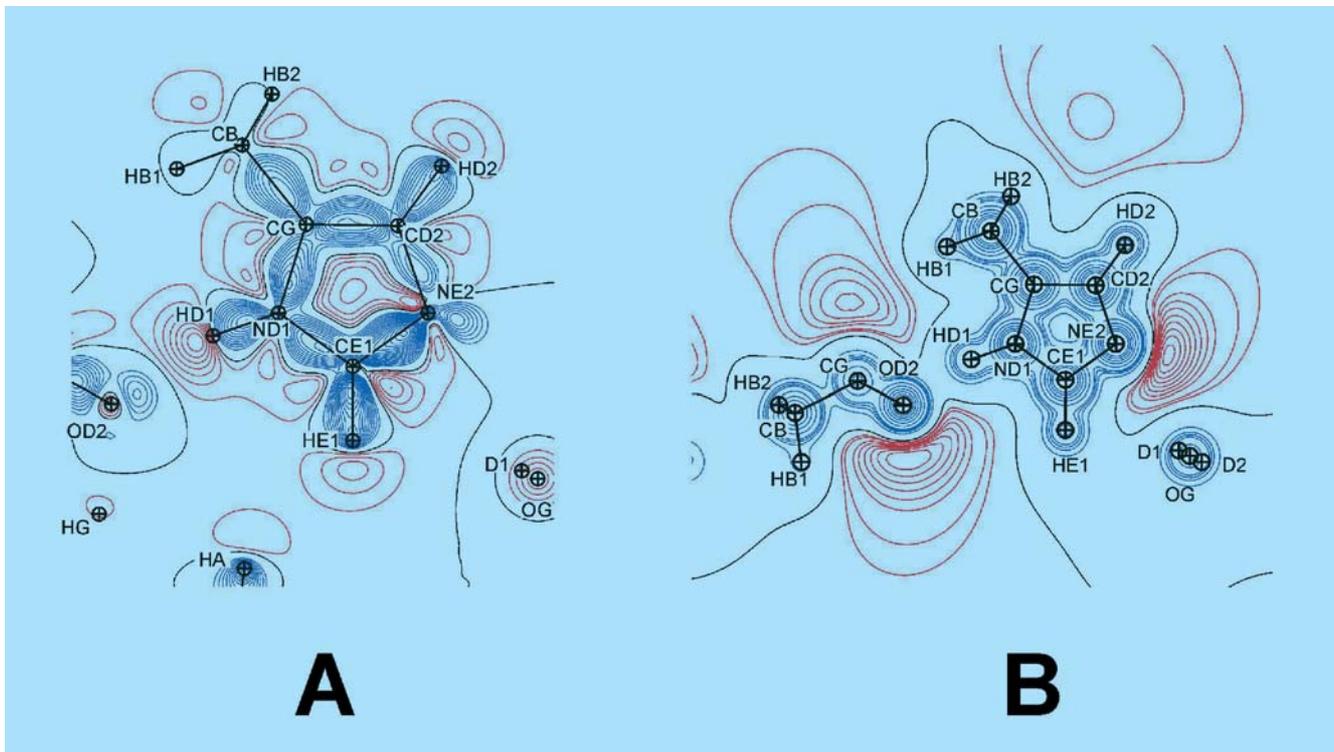


Abbildung 68: Deformationselektronendichte (A), die die nicht-Kugelförmigkeit der Atome zeigt, und die Ladungsverteilung (B) um das katalytisch aktive Histidin 56, die wichtige Oberflächeneigenschaften zeigt.

## Kristallographie zu atomarer Auflösung deckt Geheimnisse der Katalyse auf

Eine Reihe von Kristallstrukturen von Trypsin, die entweder ein Peptidfragment oder einen kovalent gebundenen Inhibitor enthalten, wurden zu atomarer und ultra-hoher Auflösung bestimmt und „ab initio“ quantenchemischen Rechnungen und Multipol-Verfeinerungen unterzogen. Trypsin spaltet Peptide am C-terminalen Ende nach Arginin oder Lysin. In den Strukturen von Trypsin aus „*Fusarium oxysporum*“ kann immer ein Peptidfragment im aktiven Zentrum beobachtet werden (Rypniewski, Ostergaard et al. 2001). Dies und die Tatsache, dass die Kristalle zu sehr hoher Auflösung streuen, machen Trypsin besonders interessant für Studien des Mechanismus und sind ein

exzellentes Mittel für die Untersuchung der katalytischen Aktivität auf Elektronenniveau (Meijers, Morris et al. 2000; Schmidt and Lamzin 2002).

Die Katalyse findet in einer Spalte, von der eine Bindungstasche (specificity pocket) ins Innere des Enzyms ragt. Eine katalytische Triade (Ser 195 – His 56 – Asp 99) formt den Kern des aktiven Zentrums. Ein sogenanntes „oxyanion-hole“ stabilisiert die Ladungen, die sich an den Zwischenprodukten während der Reaktion bilden. Die Bindungstasche bevorzugt lange, basische Aminosäureseitenketten. Der Unterschied in den Substratspezifitäten zwischen verschiedenen Trypsinen ist durch die Form und Größe der Bindungstasche gegeben (Lu, Apostol et al. 1997; Brandsdal, Aqvist et al. 2001).

Das Substrat ist nur teilweise gebunden, und seine Besetzung scheint mit der Besetzungsverteilung der ver-

schiedenen Konformationen in der Proteinstruktur zu korrelieren. Dem Arginin in der Bindungstasche fehlt das zweite Carboxyl-Sauerstoffatom, und die C=O Bindungslänge ist mit 1.48 Å extrem lang. Das Molekül liegt in mindestens zwei Konformationen vor, in der Struktur bei pH 4 überlappt es sogar mit einem Lysin. Zwei Wassermoleküle (W1 und W2) befinden sich in unmittelbarer Nähe. W2 befindet sich nahe am Carboxyl-Sauerstoffatom im Arginin. Das Carboxyl-Kohlenstoffatom hat Kontakt zu W1 (1.87 Å) und dem Ser 195 Og. (2.05 Å). Die Koordination um den Kohlenstoff ist tetraedrisch.

Eine gute Übereinstimmung zwischen der Kristallstruktur und dem theoretischen Modell aus den *ab initio* quantenchemischen Rechnungen konnte nur unter der Annahme erreicht werden, dass das katalytisch aktive Serin de-protoniert ist und das angreifende Wassermolekül (W1) ein Wassermolekül und kein Hydroxylion ist, was den Schluss nahelegt, dass die Kristallstruktur einen Zustand nahe am tetraedrischen Übergangszustand darstellt. So konnte bewiesen werden, dass die Trypsin-Deacylierung tatsächlich einem S<sub>N</sub>2 Mechanismus folgt. W1 ist für die Hydrolyse verantwortlich, während W2 als Aktivator funktioniert.

Multipoleverfeinerung zeigte die Ladungsverteilung im aktiven Zentrum und die Richtigkeit der „*ab initio*“ Berechnungen. Die Strukturen stellen Schnappschüsse entlang des Reaktionweges dar. Die Kombination dieser Methoden ist ein gutes Mittel, um biologische Prozesse zu verstehen.

## Wie kleine strukturelle Unterschiede die Funktion von Enzymen bestimmen können

Metallo-beta lactamasen sind Enzyme, die die Resistenz von Bakterien gegen Antibiotika verursachen. Nur in wenigen Fällen gibt es geeignete Medikamente, die diese Enzyme inhibieren, so dass sie nicht die Antibiotika in der Wirksamkeit behindern. Leider ist zu beobachten, dass durch kleine Veränderungen der Enzyme ständig neue Resistenzen entstehen. Es gibt nun mehrere Ansätze, wie man sich mit diesem Themen-

komplex auseinandersetzen kann. Zum einen können alle neu gefundenen Lactamasen sofort charakterisiert werden, zum anderen kann man versuchen, die Flexibilität innerhalb dieser Enzymfamilie zu verstehen. Den zweiten Weg haben wir gewählt. Zu diesem Zweck wurden auf Basis der Aminosäuresequenz, die in Datenbanken gespeichert sind, Enzyme identifiziert, die eine ähnliche Struktur besitzen könnten, aber aufgrund ihres Vorkommens im Menschen oder in Pflanzen vermutlich eine andere Funktion ausüben: Glyoxalase II und Zinc Phosphodiesterase (ZiPD). Während Glyoxalase II für die Entgiftung von Zellen sehr wichtig ist, scheint ZiPD an der Bearbeitung von tRNA beteiligt zu sein. Obwohl alle Enzyme eine sehr ähnliche Struktur bzw. Faltung haben, zeichnen sie unterschiedliche Metallspezifitäten aus. Metallo-beta lactamase sind abhängig von der Gegenwart von mindestens einem Zinkion im aktiven Zentrum, während ZiPD derer zwei benötigt. Glyoxalase II ist im Gegensatz dazu nicht nur mit Zinkionen, sondern auch mit Mischungen aus Mangan- und Eisenionen aktiv. Um die Ursachen hierfür festzustellen, wird die Koordination der Metallionen in Lösung bestimmt. Die ideale Methode hierzu ist die Röntgenabsorptionsspektroskopie. Mit Hilfe dieser Technik, für die EMBL Hamburg einen Messplatz an DORIS III betreibt, kann die Metallumgebung und die elektronische Konfiguration des Metallions unabhängig vom Probenzustand bestimmt werden. Für die Enzyme dieser Superfamilie wurden so die Metallbindungsmotive bestimmt und es sind kleine, vermutlich entscheidende Unterschiede festzustellen. So sind nicht immer alle Metallbindungspartner oder Liganden identisch. Dies verändert die elektronische Konfiguration der Metallionen. Die Molekularbiologie erlaubt den Austausch dieser Aminosäuren (Mutation). Stellt man so wieder das Standardmotiv her, bietet sich die Chance den Einfluss der einzelnen Liganden zu verstehen. Um die Metallspezifität zu beleuchten, wurden die Metallbindungskonstanten für die Enzyme und Mutanten bestimmt und mit Röntgenabsorptionsspektroskopie die Bindung an das aktive Zentrum verifiziert. Die marginalen Unterschiede hierbei zeigen klar auf, dass es neben den strukturellen Eigenschaften noch andere, vermutlich globale, Faktoren gibt, die diese Metallspezifität beeinflussen. Für die beta-lactam spaltenden Enzyme heißt dies, dass wir eine neue Sichtweise gewonnen haben und in Zukunft diese Enzyme auch andere Metalle nutzen könnten, was vermutlich andere Arten der Inhibition (Medikamente) notwendig macht.

# Max-Planck-Gesellschaft

## Arbeitsgruppen für Strukturelle Molekularbiologie

**Leiter:** H.-D. Bartunik, E. Mandelkow (Sprecher), A. Yonath

**Die Max-Planck-Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit den Beziehungen zwischen der Struktur und der Funktion von biologischen Makromolekülen. Thematische Schwerpunkte sind**

- die Enzyme und ihr katalytischer Mechanismus,
- das Zytoskelett und seine Rolle in Zellbewegung und Alzheimer-Krankheit,
- das Ribosom und seine Funktion in der Proteinbiosynthese.

**Die Proben werden mit biochemischen Methoden isoliert oder mit molekularbiologischen Methoden synthetisiert. Die wesentliche Methode der Strukturuntersuchung ist die Röntgenbeugung von Proteinkristallen, Fasern oder Lösungen; daneben werden weitere biophysikalische Analyseverfahren wie Spektroskopie, Elektronenmikroskopie, Bildverarbeitung und andere eingesetzt. Schwerpunkte methodischer und instrumenteller Entwicklungen sind neue Kristallisationsverfahren, Einsatz von elektronischen Detektoren, Laue-Methoden und eine Messstrecke für die Proteinkristallographie.**

## Forschungsschwerpunkte

### Proteindynamik

Die MPG-Arbeitsgruppe für Proteindynamik untersucht die Struktur und Dynamik von Proteinen in Beziehung zur biologischen Funktion. Darüber hinaus entwickelt sie Methoden der Proteinstrukturanalyse. Dazu gehören insbesondere Verfahren zur Nutzung anomaler Röntgenbeugung sowie zur Auswertung und Interpretation diffuser Streuung von Proteinkristallen.

Verfahren der Kristallstrukturanalyse wurden zur de-novo-Bestimmung einer Reihe wichtiger Proteinstrukturen eingesetzt. Alle Röntgenbeugungsmessungen wurden an der Beamline BW6 an DORIS durchgeführt, die von MPG und GBF gemeinsam betrieben wird. Ein Beispiel dieser kollaborativen Arbeiten stellt die Aufklärung der Struktur des Enzyms Furin der Maus dar (Henrich et al., 2003). Furin gehört zur eukaryontischen Subtilisinfamilie der Proprotein-Konvertasen, die viele Sekretproteine und Peptidhormone aus größeren Vorläufermolekülen ausschneiden und aktivieren. Furin ist etwa an der Embryogenese, aber auch an einer Reihe pathologischer Prozesse beteiligt. Es ist u.a. ein Schlüsselenzym der Aktivierung von Glykoproteinen vieler lipidumhüllter pathogener Viren. Die Beugungsmessungen und die Lösung der Kristallstruktur von Furin wurde durch die große Länge einer Achse ( $c = 473 \text{ \AA}$ ) der hexagonalen Kristallform kompliziert. Durch Einsatz eines  $T_6Br_{12}^{2+}$ -Clusters als anomaler Referenzstreuer gelang es, in einem ersten Schritt MAD-Phasen bis zu einer Auflösung von  $4 \text{ \AA}$  zu bestimmen. Die Phasen konnten anschließend bis  $2.7 \text{ \AA}$  erweitert werden. Abbildung 69 zeigt die Kristallstruktur. Sie bildet nun den Ausgangspunkt für eine gezielte Suche nach Substratanalogen zur Hemmung von Furin und damit für die Entwicklung potentieller Therapeutika. Ein weiteres Beispiel einer Anwendung, die sowohl für die biologische Grundlagenforschung als auch für mögliche medizinische Anwendungen von erheblicher Bedeutung ist, stellt die Aufklärung der Reifung und Regulierung des 20S-Proteasoms, des katalytischen Kernbereichs eines multifunktionalen Proteasekomplexes, dar. In Fortsetzung früherer Arbeiten an BW6, die zur Bestimmung der dreidimensionalen Strukturen der 20S-Proteasomen von Archaeobakterien und Hefe führten, wurde nun mit einer archaeobakteriellen  $\beta\text{Thr1Gly}$ -Mutante ein spätes Intermediat des Reifungsprozesses des Multiproteinkomplexes identifiziert und seine Kristallstruktur aufge-

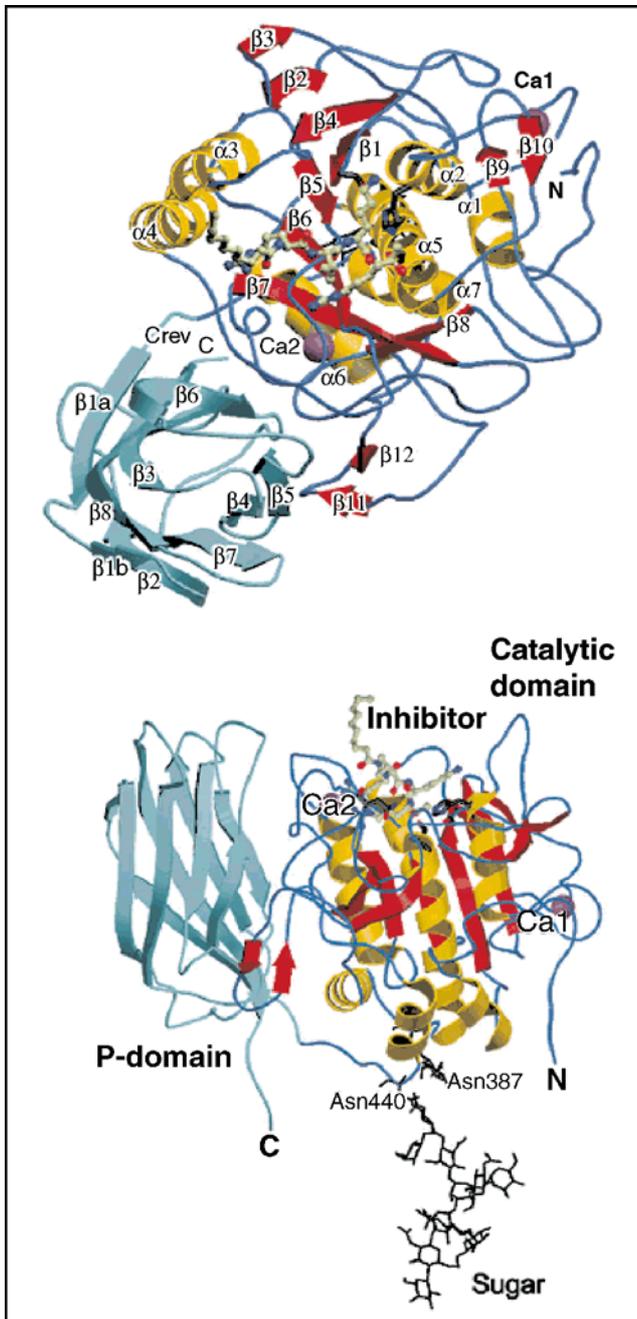


Abbildung 69: Kristallstruktur des Enzyms Furin der Maus in zwei alternativen Orientierungen (Henrich et al. (2003), *Nature Struct. Biol.* **10**, 520-6).

klärt (Groll et al., 2003). Der Vergleich zum Wildtyp zeigt in der Intermediatstruktur einen Verlust struktureller Ordnung an der  $\beta$ - $\beta$ -Trennfläche und lediglich lose assoziierte Proteasomhälften (Abb. 70). Zur Bil-

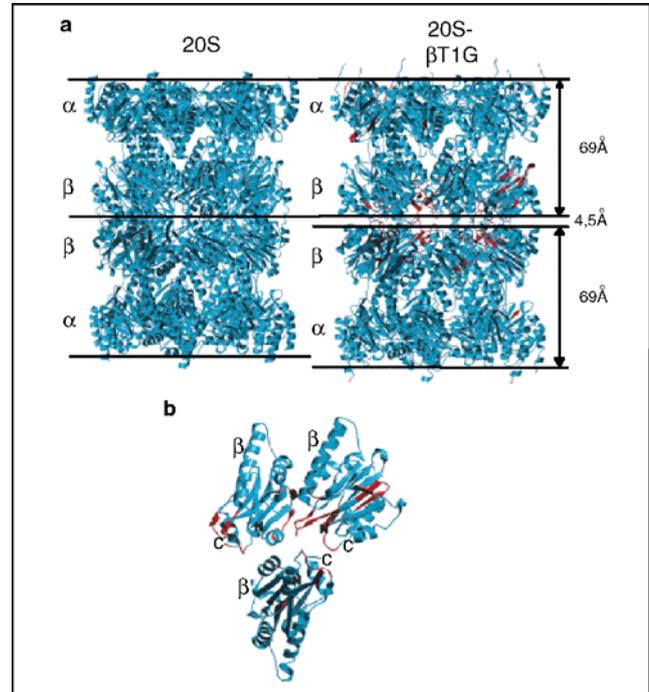


Abbildung 70: (a) Kristallstrukturen des Wildtyps (20S) und der  $\beta$ Thr1Gly-Mutante (20S- $\beta$ T1G) des 20S-Proteasoms von *A. fulgidus*. Im Mutanten sind die beiden Proteasomhälften durch eine Lücke von 4,5 Å getrennt. (b) Die  $\beta$ - $\beta$ -Grenzfläche von 20S- $\beta$ T1G weist keine strukturelle Ordnung auf (Groll et al. (2003), *J. Mol. Biol.* **327**, 75-83).

dung des reifen 20S-Proteasoms ist ein autokatalytischer Prozess als weiterer und letzter Schritt erforderlich.

Ein neuer weiterer Schwerpunkt der Forschung und Entwicklung wurde durch die Beteiligung an dem nationalen X-MTB-Konsortium gebildet. Ziel ist die Aufklärung der Kristallstruktur von Proteinen von *Mycobacterium tuberculosis* sowie die Untersuchung von Komplexen mit Liganden als Grundlage für eine gezielte Suche nach Wirkstoffen.

## Zytoskelett

Mikrotubuli sind Proteinfasern, die zusammen mit anderen Komponenten das innere Gerüst der Zellen, das „Zytoskelett“, bilden. Sie sind für die äußere Gestalt und für die innere Organisation der Zellen verant-

wortlich. Die MPG-Arbeitsgruppe „Zytoskelett“ befasst sich mit der Untersuchung der Mikrotubuli und der damit assoziierten Proteine. Mikrotubuli sind dynamische Strukturen und unterliegen einer strengen Regulation. Andererseits dienen Mikrotubuli vielen zellulären Bewegungsprozessen als Transportschienen und nehmen daher selbst wiederum Einfluss auf die Dynamik der Zelle. Die Motorproteine Kinesin und Dynein sind die aktiven Elemente, die die Bewegung der zu transportierenden Zellbestandteile entlang der Mikrotubuli bewerkstelligen. Fehlfunktionen bei der Regulierung weiterer Mikrotubuli-assoziiierter Proteine können zu krankhaften Veränderungen führen. Im Falle der Alzheimer-Krankheit zum Beispiel kommt es zu einer Aggregation des Proteins Tau, das an der Regulation des Transports durch Kinesin beteiligt ist.

Kinesin besteht aus zwei schweren und zwei leichten Peptidketten. Die leichten Ketten sind für die spezifische Bindung des Kinesin an die zu transportierenden Objekte verantwortlich. Jede der beiden schweren Ketten hat eine etwa 350 Aminosäuren umfassende globuläre Motordomäne („Kopf“), welche an die Oberfläche der Mikrotubuli binden kann und für die Umwandlung von chemischer Energie in gerichtete Bewegung verantwortlich ist. Das so genannte konventionelle Kinesin bewegt sich in Schritten von 8 nm. Das entspricht dem Abstand benachbarter Mikrotubuli-Untereinheiten. Ein einzelnes Kinesin-Molekül, das aus zwei schweren Ketten besteht und daher zwei Köpfe besitzt, kann mehrere hundert Schritte laufen, ohne sich vom Mikrotubulus zu lösen. Eine solche Bewegung erfordert, dass das Molekül zu jedem Zeitpunkt mit mindestens einem Kopf am Mikrotubulus gebunden ist. Das setzt eine strikte Koordinierung der chemomechanischen Prozesse in beiden Motordomänen voraus. Diese Koordinierung erfolgt vermutlich über den gemeinsamen „Hals“, der von helikalen Abschnitten an den Enden der beiden Köpfe gebildet wird und der zur Dimerisierung der Motordomänen führt.

Mittlerweile sind etwa 20 Strukturen von Motordomänen verschiedener Kinesine bekannt, unter anderem von menschlichem Kinesin sowie von nicht-konventionellen Kinesinen aus verschiedenen Organismen. Es gibt jedoch zur Zeit nur eine einzige Struktur eines konventionellen Kinesin im dimerisierten Zustand. Um die Interaktion der beiden Köpfe von konventionellem Kinesin zu untersuchen, wurden in der Arbeitsgruppe

Zytoskelett verschiedenen Konstrukte des schnellen konventionellen Pilzkinesin (*Neurospora crassa*) hergestellt, darunter auch solche mit Hals-Region, die Dimere bilden können. Zwei der Konstrukte wurden kristallisiert und durch Röntgenmessungen an Beamline X13 charakterisiert.

Neben den Motorproteinen gibt es eine Reihe anderer Proteine, die an der Oberfläche der Mikrotubuli binden und daher als "Mikrotubuli-assoziierte Proteine" oder kurz „MAPs“ bezeichnet werden. Eines dieser MAPs ist das Tau-Protein. Durch die Beobachtung der Bewegung einzelner Kinesin-Moleküle mit und ohne Tau konnte nachgewiesen werden, dass Tau nicht nur die Mikrotubuli stabilisiert, sondern auch die Wechselwirkung von Kinesin mit Mikrotubuli beeinträchtigt und damit direkt Einfluss auf den Transport von Vesikeln und anderen Zellorganellen entlang der Mikrotubuli nimmt.

## Struktur der Ribosomen

Der genetische Code ist auf den ersten Blick nur eine Abfolge von vier unterschiedlichen Nukleinsäuren. Jeweils drei Nukleinsäuren (ein Codon) kodieren eine Aminosäure. Die Übersetzung des genetischen Codes und die Verknüpfung der einzelnen Aminosäuren zu einer Proteinkette wird durch eine universelle Zellorganelle, das Ribosom geleistet – und zwar in atemberaubender Geschwindigkeit und einer sehr geringen Fehlerrate. Dieser Prozess der Proteinbiosynthese ist außerordentlich komplex und erfordert eine Vielzahl verschiedener Co-Faktoren, die einzelne Schritte der Proteinsynthese regulieren.

Das Ribosom besteht aus zwei verschiedenen ribosomalen Untereinheiten, die jeweils verschiedene Funktionen im Rahmen der Protein-Biosynthese erfüllen. Die kleine Untereinheit (30S in Prokaryonten bestehend aus der 16S rRNA und 20 ribosomalen Proteinen) ist für die Interpretation des genetischen Codes, dessen Blaupause auf der mRNA abgelegt ist, verantwortlich. Die große Untereinheit, (50S in Prokaryonten bestehend aus 5S rRNA, 23S rRNA und 33 ribosomalen Proteinen) fügt die einzelnen Aminosäuren zu einer langen Peptid-Kette entsprechend des Bauplanes zusammen. Aufgrund der zentralen Rolle des Ribosoms

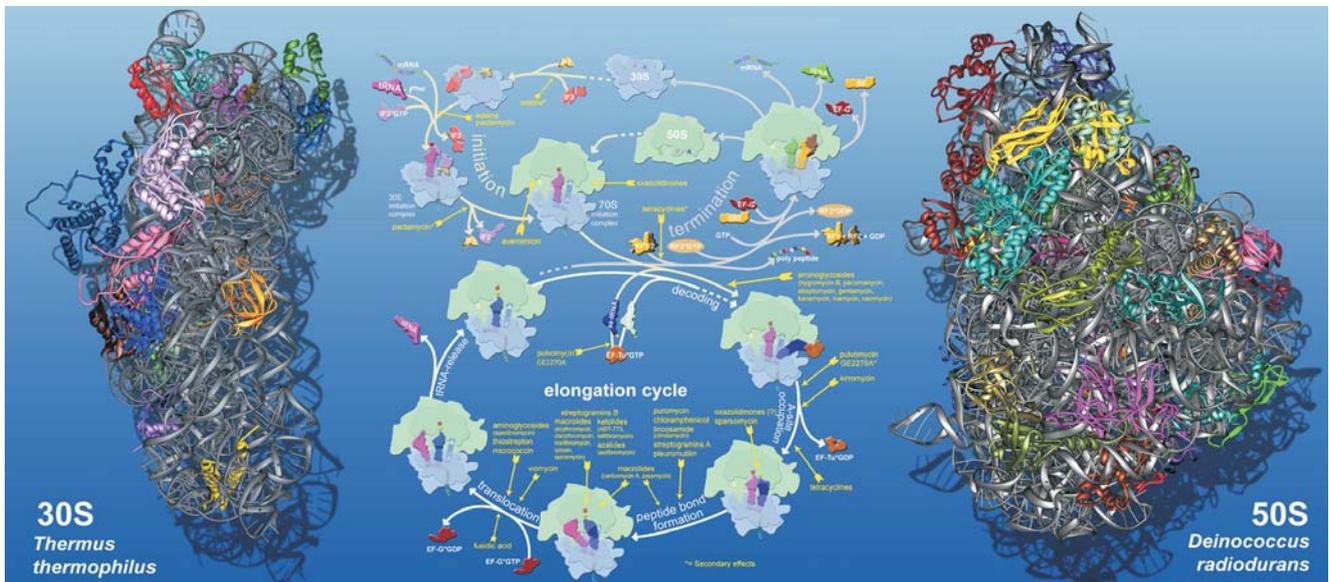


Abbildung 71: Überblick über die verschiedenen Schritte der Proteinsynthese, der beteiligten ribosomalen Untereinheiten und Co-Faktoren, sowie der Angriffsziele der Antibiotika.

in der Protein-Biosynthese ist das Ribosom zugleich das primäre Target vieler Antibiotika.

Basierend auf den strukturellen Untersuchungen der 50S ribosomalen Untereinheit von *Deinococcus radiodurans* konnten in den vergangenen Jahren einige wichtige Mechanismen der ribosomalen Protein-Synthese erfolgreich charakterisiert werden. Im Wesentlichen handelt es sich dabei um drei eng miteinander verbundene Themenbereiche: die Katalyse der Peptid-Bindung durch die 50S Untereinheit; Regelmechanismen innerhalb des ribosomalen Tunnels; die Wirkungsweise von Antibiotika, die an der 50S Untereinheit angreifen. Abbildung 71 gibt einen kleinen Überblick über die verschiedenen Schritte der Proteinsynthese, der involvierten ribosomalen Untereinheiten und Co-Faktoren sowie der Angriffsziele der Antibiotika.

## Katalyse der Peptid-Bindung

Dieser primäre Mechanismus des Ribosoms – die Bildung der Peptid-Bindung aufeinander folgender Ami-

nosäuren – erfolgt im Peptidyl-Transferase-Zentrum (PTC) der 50S Untereinheit. Das PTC ist ausschließlich aus 23S rRNA Nukleotiden aufgebaut. Dieser Bereich des Ribosoms ist phylogenetisch konserviert, d. h. dass alle Organismen im Wesentlichen dieselbe Struktur des katalytischen Zentrums aufweisen. Strukturelle Untersuchungen an bakteriellen Ribosomen geben daher nicht nur Aufschluss über die ribosomale Proteinsynthese von Mikroorganismen, sondern lassen sich direkt auf höhere Organismen bis zum menschlichen Ribosom übertragen.

Der Aufbau des PTC ergibt sich direkt aus der 50S Struktur von *Deinococcus radiodurans* (D50S). Der präzise katalytische Mechanismus war jedoch spekulativ, und verschiedene, widersprüchliche Vorschläge über den Ablauf der enzymatischen Reaktion wurden in den vergangenen zwei Jahren publiziert. Um einen besseren Einblick zu erhalten, haben wir Komplexe mit unterschiedlichen PTC Substraten strukturell untersucht. Es hat sich gezeigt, dass die Wahl des Substrates entscheidenden Einfluss auf die Wechselwirkungen mit dem Ribosom haben. Nur solche Substrate, die ausreichend strukturelle Ähnlichkeit mit der tRNA haben, binden in produktiver Art und Weise. So weisen

kleine Substrate eine andere Orientierung im PTC auf als ein volles Acceptor-Stem-Analog (ASM). Basierend auf diesen strukturellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine aktive Katalyse basierend auf dem Beitrag einer einzelnen 23S rRNA Base nicht möglich ist. Die primäre Funktion der 50S Untereinheit besteht also in der korrekten Positionierung der Substrate in beiden Bindungsstellen (A-site und P-site). Die Bildung der Peptid-Bindung erfolgt demnach – als thermodynamisch günstig – spontan.

Als wesentliches Element erwies sich dabei eine ausgedehnte symmetrische Region innerhalb der 50S Untereinheit, die die beiden tRNA Bindungsstellen in A- und P-site strukturell miteinander verknüpft. Die Bestimmung der Symmetrie war nur anhand der Bindung des ASM möglich, da andere Substrate die Symmetrie nicht erfüllen, was wiederum ein Indiz für die Bedeutung des Aufbaus des Substrates ist. Dies wird auch durch die universelle Konservierung des 3'-Endes aller tRNA Moleküle sowie praktisch aller symmetrischen 23S rRNA Nukleotide reflektiert.

## Regelmechanismen im ribosomalen Tunnel

Es wurde angenommen, dass der ribosomale Tunnel ein statisches Element innerhalb des Ribosoms darstellt, und sich primär durch ein Fehlen spezifischer Wechselwirkung mit dem naszierenden Protein auszeichnet. Dieser Tunnel durchläuft fast die gesamte 50S Untereinheit und schützt das neu erzeugte, naszierende Protein vor vorzeitiger Proteolyse. Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass die Produktion spezifischer Protein-Sequenzen innerhalb des Tunnels reguliert wird. Die Untersuchungen an einem Makrolid-Antibiotikum, Troleandomycin, haben neue Einblicke in den regulativen Charakter des ribosomalen Tunnels erlaubt. Troleandomycin induziert eine Konformationsänderung im phylogenetisch konservierten Bereich des ribosomalen Proteins L22. Diese Konformationsänderung führt zu einer Beschränkung des Durchgangs durch den ribosomalen Tunnel. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Regulierung von Proteinen wie SecM (Secretory Monitoring Protein M) durch genau diesen Mechanismus erfolgt. Aktuelle kristallographische Untersuchungen an ribosomalen Komplexen, die zum einen den

Trigger Factor, zum anderen kurze, innerhalb des ribosomalen Tunnels gebundene Peptid-Ketten enthalten, scheinen diesen Mechanismen zu unterstützen.

## Wirkungsweise verschiedener Antibiotika

Wie erwähnt konnten wir die Strukturen einer Vielzahl verschiedener D50S-Antibiotika Komplexe aufklären, herausragend dabei die Struktur von D50S mit 3 verschiedenen Makroliden, Chloramphenicol und Clindamycin. Die Makrolide binden am Eingang des ribosomalen Tunnels. Da die Makrolide nicht direkt im PTC wirken, kann das Ribosom auch in der Anwesenheit der Makrolide noch eine Anzahl von Peptid-Bindungen erzeugen, also ein Protein-Fragment von 3–7 Aminosäuren erzeugen, bevor die Protein-Biosynthese zum Erliegen kommt. Die Bindungsstellen der Makrolide unterliegen einigen Variationen. Es zeigt sich, dass die hydrophoben Wechselwirkungen die Bindungsstellen bestimmen, die verschiedenen funktionellen Gruppe der Makrolide die präzise Orientierung geben. So sind zum Beispiel Azalide und Ketolide semi-synthetische Varianten des Erythromycin, die wesentliche Modifikationen aufweisen. Das Einfügen von Azo- oder Keto-Gruppen in den Lacton-Ring führt zu einer Veränderung der Kontakte mit dem Ribosom. Obwohl die Position der wichtigsten funktionellen Gruppe, dem Desosamine-Zucker praktisch unverändert bleibt, wird die Konformation und Orientierung der Antibiotika vergleichsweise stark beeinflusst. Im Falle von Azithromycin wurden sogar zwei Bindungsstellen gefunden, was bis zu dem Zeitpunkt aufgrund biochemischer Daten nicht erwartet worden war. Die zweite Bindungsstelle basiert stark auf der Wechselwirkung zwischen den beiden Molekülen induziert durch die Azo-Gruppe.

Die in Zusammenarbeit mit der Firma Enanta untersuchten Makrolide (EP1112, 1304, 1350, 12398) weisen im Vergleich zu anderen Makroliden – mit Ausnahme von Azithromycin – eine Besonderheit auf: es finden sich mehrere Bindungsstellen innerhalb des ribosomalen Tunnels. Dies bestätigt zum einen die unerwarteten Ergebnisse in Bezug auf Azithromycin, ist zum anderen im Einklang mit neueren pharmakokinetischen (Enanta Pharmaceuticals Inc.) und NMR-spektroskopischen (Vertex Pharmaceuticals, Inc.)

Untersuchungen. Auf der Basis der strukturellen Untersuchungen konnten Vorschläge für neue Antibiotika entwickelt werden, deren Realisation zurzeit untersucht wird.

Strukturelle Untersuchungen an Ribosomen aus *Deinococcus radiodurans* und *Haloarcula marismortui* haben inzwischen die Wirkungsweisen praktisch aller Antibiotika, die die 50S Untereinheit angreifen, aufgeklärt. Die neueste dieser Untersuchungen befasst sich mit der einzigartigen synergistischen Wirkung der Streptogramine. Streptogramine bestehen genau genommen aus zwei chemisch nicht verwandten Komponenten, die üblicherweise als Streptogramin A und B bezeichnet werden. Beide Komponenten werden von *Streptomyces* Bakterien produziert. So wurde Pristinamycin bereits vor rund 40 Jahren als Stoffwechselprodukt von *pristiniae spiralis* isoliert. Die Besonderheit der Streptogramine, bisweilen auch als Synergimycine bezeichnet, ist ihre synergistische Wirkung: die beiden Komponenten können wechselseitig ihre Wirkung potenzieren, und sind dadurch sogar in der Lage, weitgehend resistente Erreger zu eliminieren. Die potentesten Vertreter der Streptogramine sind Dalfopristin und Quinupristin, halbsynthetische Derivate der Pristinamycine. In einer 30:70-Mischung stehen sie seit einigen Jahren unter dem Handelsnamen Synercid® zur Verfügung. Aufgrund der synergistischen Wirkung durchbricht Synercid® die zunehmende Resistenz von *Enterococcus faecium* gegen das Reserveantibiotikum Vancomycin. Ebenso ist es indiziert bei schweren Staphylokokken-Infektionen (einschließlich Methicillin-Resistenz).

Bemerkenswert ist zunächst, dass es eine enge Wechselwirkung zwischen den beiden Molekülen gibt. Diese Wechselwirkung ist primär für die synergistische Wirkung der Antibiotika verantwortlich, denn um beide Antibiotika gleichzeitig an die 50S Untereinheit zu binden, muss eine rRNA Base (A2045) eine ganz spezifische Konformation einnehmen. Da beide Moleküle von dieser vergleichsweise kleinen Änderung der rRNA Struktur profitieren, erhöhen sie auch wechselseitig ihre Affinität. Die Aktivitäten der beiden Moleküle ergänzen sich aber auch in ihren Angriffspunkten. Quinupristin (die Streptogramin B Komponente) bindet in ähnlicher

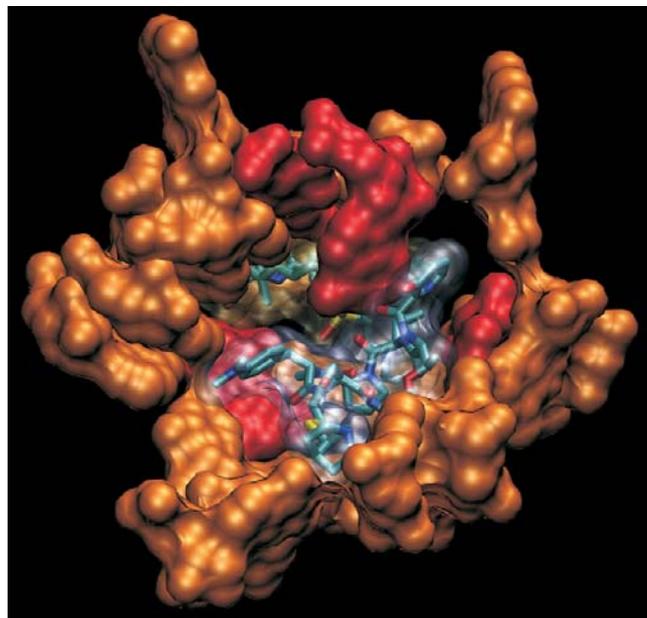


Abbildung 72: Streptogramine (in transparenter Hülle) in ihrer lokalen Bindungstasche (RNA in gold und rot).

Weise wie die Makrolide Antibiotika im Tunnel der 50S Untereinheit, so dass ein Ribosom nur sehr kurze Polypeptidketten erzeugen könnte. Dalfopristin (die Streptogramin A Komponente) verhindert sogar dieses, denn es bindet direkt im Peptidyl-Transferase-Zentrum, so dass tRNA-Moleküle, die die Aminosäuren anliefern, nicht produktiv binden können. Von besonderer Bedeutung ist aber eine andere Änderung der rRNA Struktur, die in erster Linie von Dalfopristin verursacht wird. Eine rRNA Base (U2585) wird unter der Wirkung der Antibiotika um 180 Grad geklappt. Es ist gerade diese Base, die für die Aktivität des Ribosoms in der Bildung der Peptidkette von herausragender Bedeutung ist. Durch die induzierte Änderung, kann die Base nicht mehr aktiv am Geschehen Teil nehmen, und hinterlässt ein inaktives Ribosom. Die Inaktivierung des Ribosoms ist sogar dann noch von Dauer, wenn das Streptogramin A schon nicht mehr gebunden ist. Abbildung 72 zeigt die beiden Streptogramine in ihrer lokalen Bindungstasche.