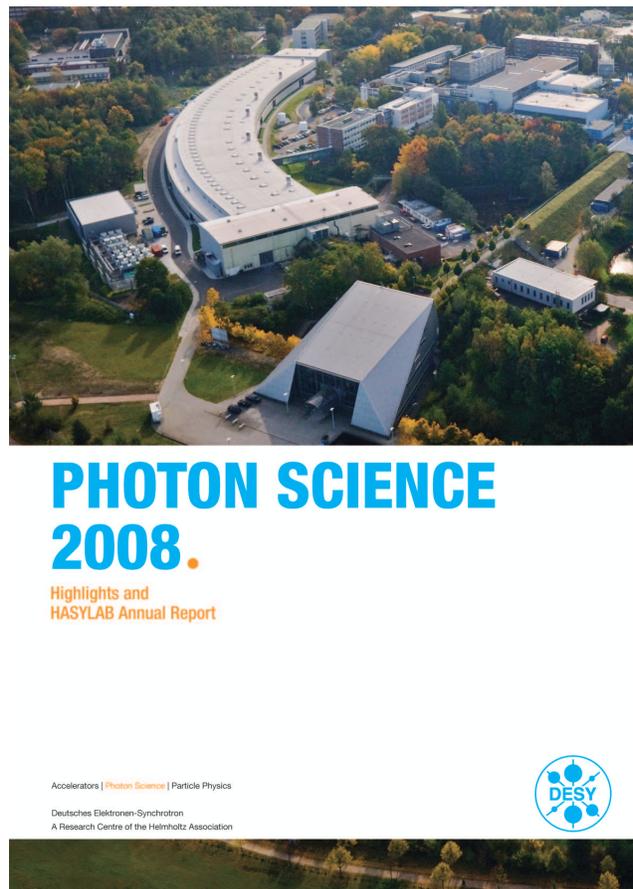




(a)



(b)

Abbildung 7: Der traditionelle HASYLAB Jahresbericht (a), der im Jahr 2007 auf 2500 Seiten angewachsen war, wird durch den neuen Photon Science 2008 Report (b) ersetzt, dessen erste Ausgabe im Januar 2009 erscheint. Die wichtigsten Informationen wie aktuelle Forschungsergebnisse, Informationen zu Lichtquellen und Außenstellen, neue technologische Entwicklungen sowie Zahlen und Fakten werden in diesem neuen Format auf 110 Seiten konzentriert.

# Forschung mit Photonen

## HASYLAB

Die Liste der Gruppen, die im Jahr 2008 bei HASYLAB Experimente vorbereiteten und durchführten, umfasst rund 1390 Wissenschaftler, darunter etwa 220 Nutzer bei FLASH. Im Bereich Strukturbiologie nutzten rund 260 Wissenschaftler/-innen, vornehmlich aus Europa, die Strahlführungen und Anlagen von EMBL und MPG bei DESY.

Einige herausragende Forschungsergebnisse dieser Experimente sowie Berichte über den aktuellen Stand der Lichtquellen bei DESY werden im neuen *Photon Science 2008 – Annual Report and Highlights* - Bericht präsentiert, der den traditionellen HASYLAB Jahresbericht in gekürzter Fassung und neuem Layout fortführt (siehe CD). Nach über 30 Jahren ersetzt dieser Report den HASYLAB Jahresbericht, der im Jahr 2007 auf 2500 Seiten angewachsen war.

## DORIS III

Der Wiederanlauf von DORIS III im Jahr 2008 nach einer neunmonatigen Betriebsunterbrechung verlief erfolgreich. Diese Unterbrechung war notwendig geworden, um die im Rahmen des PETRA-III-Projektes geplanten Umbauarbeiten an den DESY-Vorbeschleunigern durchführen zu können. Obwohl zahlreiche Komponenten ausgetauscht wurden, konnten bereits kurz nach dem Wiederanlauf verlässliche Strahlbedingungen wie geplant zur Verfügung gestellt werden. Der Nutzerbetrieb begann am 22. September und endete am 22. Dezember 2008. Damit stand DORIS III insgesamt 1873 Stunden für geplante Nutzerexperimente zur Verfügung, die von etwa 1170 Wissenschaftlern genutzt wurden. Bei DORIS III konnte 2008 eine durchschnittliche Verfügbarkeit von 97.2 % erreicht werden.

Während der Betriebspause im Winter 2008 wurden an einigen Strahlführungen Umbauten bzw. Erweiterungen vorgenommen, um die wissenschaftlichen Messmöglichkeiten zu verbessern. Im Wesentlichen handelte es sich dabei um die Verbesserung der Röntgenoptik an einigen Experimenten und um die Komplettierung eines Schwerlastdiffraktometers an einer GKSS Strahlführung.

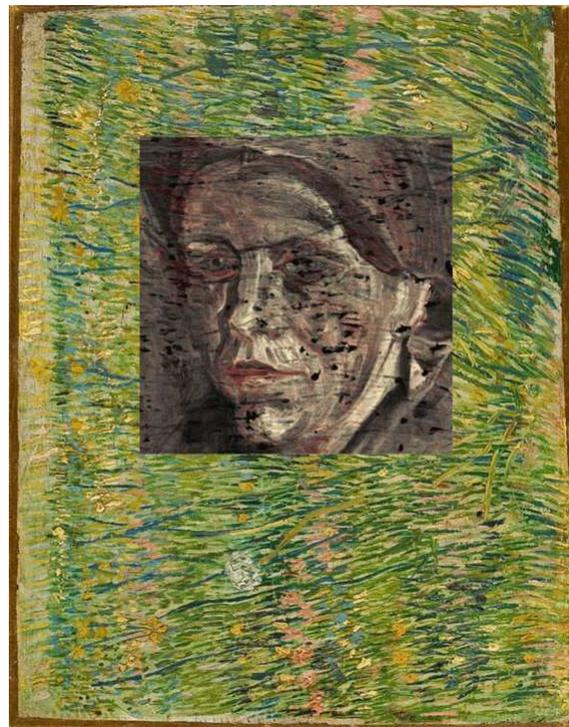


Abbildung 8: Das Werk *Grasgrund*, das heute dem Kröller-Müller Museum gehört, malte Vincent van Gogh 1887 in Paris. Zwei Tage lang wurde die den Frauenkopf bedeckende Fläche von 17.5x17.5 cm an der Synchrotronstrahlungsquelle DORIS III mit einem Röntgenstrahl abgerastert, bis das Frauenporträt zum Vorschein kam.

Zusätzlich zu der traditionellen Nutzung von Synchrotronstrahlung kommen für diese Quellen vermehrt Nutzer mit Problemstellungen aus vollständig neuen Anwendungsfeldern hinzu. Ein besonders gelungenes Beispiel hierfür ist das Sichtbarmachen eines verborgenen Portraits unter einem van Gogh Landschaftsgemälde (Abbildung 8).

Eine Gruppe von Wissenschaftlern von DESY, der Universität Antwerpen, dem Kröller-Müller-Museum in Amsterdam und der ESRF unter der Leitung von Materialexperte und Kunsthistoriker Dr. Joris Dik von der TU Delft haben das Gemälde, *Grasgrond* mit dem DORIS-III-Röntgenstrahl durchleuchtet und die Fluoreszenz der einzelnen Farbschichten gemessen. Die Forscher konnten so das verborgene Bild, ein Frauenportrait, in bisher unerreichter Detailgenauigkeit rekonstruieren. Dabei lieferte die Kombination der Verteilung der Elemente Quecksilber und Antimon, die in speziellen Farbpigmenten enthalten sind, ein *Farbfoto* des Portraits, das übermalt worden war. Die Veröffentlichung der Ergebnisse hat für ein weltweites Presseecho gesorgt.

Die Planung für den zukünftigen Betrieb von DORIS III ist nun abgeschlossen. Es ist vorgesehen, DORIS III nur solange in dem momentanen Modus zu betreiben, bis PETRA III in vollen Betrieb geht. Danach soll die Anzahl der Strahlführungen reduziert werden, wobei die zu PETRA III komplementären Techniken zunächst beibehalten werden sollen. Unter der Voraussetzung, dass die Kapazitäten an PETRA III um die bei DORIS III verfügbaren Techniken erweitert werden, die nicht bereits Teil der ersten Phase von PETRA III sind, ist geplant, DORIS III in der zweiten Hälfte der nächsten HGF-Förderperiode (2010-2014) endgültig abzuschalten.

## PETRA III

Die offensichtlichste Veränderung auf dem DESY Gelände ist die neu gebaute PETRA-III-Experimentierhalle (Abbildung 9). Am 30. Juni 2008 wurde nach exakt einem Jahr Bauzeit diese Halle an DESY übergeben. Bis auf Restarbeiten im Außenbereich und in den

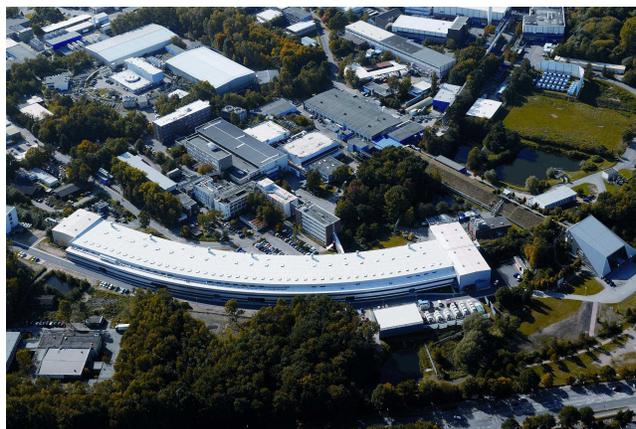


Abbildung 9: Im Vordergrund ist die neue PETRA-III-Experimentierhalle links neben dem FLASH Beschleuniger zu sehen. Die Halle ist 280 m lang. (Foto mit freundlicher Genehmigung der Ed. Züblin AG.)

Laboren konnte der Generalunternehmer das Projekt in der vorgegebenen Zeit abschließen.

Unmittelbar nach Übergabe der Halle wurde damit begonnen, die hauseigene Infrastruktur zu installieren. Im Bereich der Experimente wurden im Sommer die ersten fünf Schwerbeton-Strahlenschutzhütten aufgebaut. Danach folgten die ersten Experimentehütten aus Stahl-Blei-Sandwich. Mittlerweile sind die Schwerbetonstrahlenschutzhütten für alle vierzehn Strahlführungen aufgebaut. Gleiches gilt für ca. die Hälfte der restlichen Strahlenschutzhütten zur Aufnahme der einzelnen Experimente. Für die Experimente wurde eine Reihe von Komponenten bereits fertiggestellt, während sich ein Großteil in der Fertigung oder in der Ausschreibung befindet. Neben den drei Undulator-Prototypen wurden die ersten Exemplare der Kleinserie geliefert. Auf diesen wurden die entsprechenden Magnetstrukturen montiert, vermessen und abgestimmt. Die ersten zwei Prototypen mit flüssigem Stickstoff gekühlter Doppel-Kristall-Monochromatoren wurden bereits ausgeliefert. Einer von ihnen wurde an der Strahlführung ID6 der ESRF (Grenoble) unter hoher Wärmelast getestet. Am zweiten Prototyp führte die HASYLAB-Vermessungsgruppe umfassende mechanische Tests durch. Die Serienfertigung der restlichen Monochromatoren wurden ebenfalls in Auftrag gegeben, so dass wie geplant im Laufe des ersten Halbjahres 2009 et-

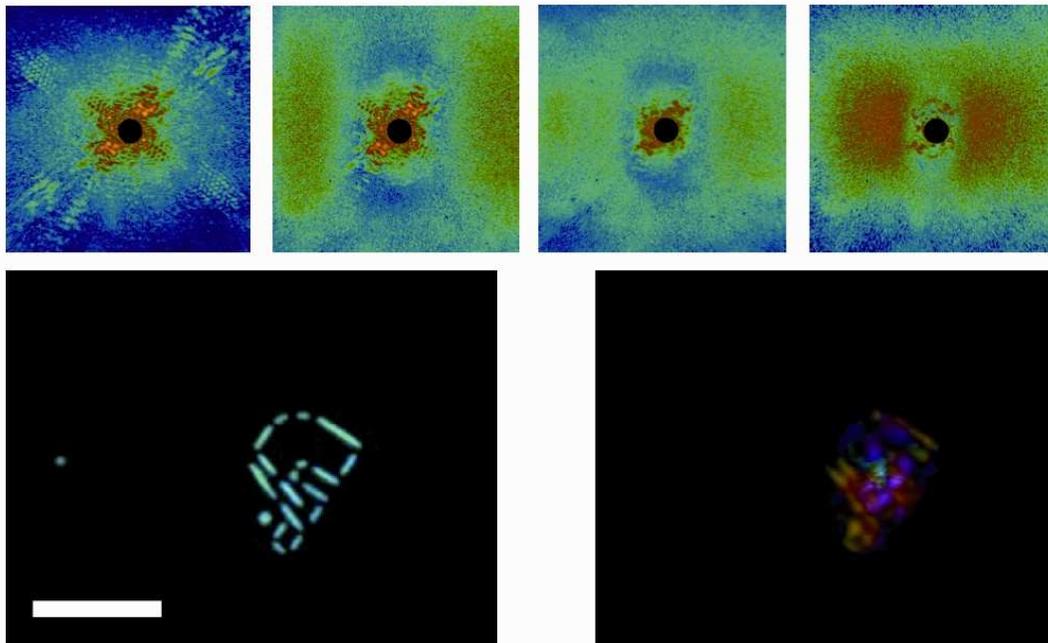


Abbildung 10: (Oben) Kohärente Beugungsmuster aufgenommen nach -5, 10, 15 und 40 ps nach einem optischen Laserpuls, der zum Abtragen des Materials führt. (Unten) Das Bild zeigt die Rekonstruktion der unbeschädigten Probe (links) und das Bild der Probe nach 15 ps (rechts). Der weiße Balken entspricht eine Länge von 2  $\mu\text{m}$ . Erst ca. 15 ps nach der Einwirkung des optischen Laserpulses ist mittels des VUV-Pulses eine signifikante Änderung der Positionen der Atome auf der untersuchten Längenskala nachweisbar. (veröffentlicht in *Nature Photonics* 2008)

wa an sechs Strahlführungen mit der Inbetriebnahme begonnen werden kann. Die verbleibenden acht Strahlführungen folgen dann im zweiten Halbjahr bzw. zu Beginn des Jahres 2010. Ein regulärer Nutzerbetrieb wird für die ersten Experimente Anfang 2010 aufgenommen werden können. PETRA III wird eine Synchrotronstrahlungsquelle der dritten Generation mit der weltweit höchsten Brillianz im Bereich der harten Röntgenstrahlung (ca. 6 bis 30 keV) werden.

## FLASH

Im Jahr 2008 standen 3636 Stunden Messzeit bei FLASH für Nutzerexperimente zur Verfügung, das entspricht etwa 42 % der gesamten zur Verfügung stehenden Laufzeit. Die restliche Zeit wurde zu 42 %

für FEL- und Beschleunigerstudien, sowie zu 16% für Wartungsarbeiten genutzt. Gut 220 Nutzer haben Experimente bei FLASH durchgeführt und zahlreiche interessante Ergebnisse veröffentlicht. Ein Großteil der angewendeten Techniken nutzen dabei die besonderen Eigenschaften des Freie-Elektronen-Lasers (FEL) – seine hohe Spitzenleistung und die Kohärenz der Pulse – voll aus. Beispiele für Experimente umfassen die Messungen von Mehr-Photonen-Ionisationen, Dissoziationsprozesse, sowie kohärente bildgebende und holografische Verfahren. Über die Hälfte der Experimente nutzen dabei die Anregungs-Abfragetechnik (Pump and Probe). Hierbei werden FLASH Photonenpulse mit denen von optischen Lasern zeitlich versetzt kombiniert, um Information über das dynamische Verhalten auf Zeitskalen bis in den 30 - 100 fs Bereich der zu untersuchenden Proben zu erhalten.

Ein interessantes Forschungsergebnis ist von der Gruppe um Henry Chapman (DESY CFEL) und Kollegen aus USA, Schweden, England und Deutschland an der Strahlführung BL2 bei FLASH erzielt worden (Abbildung 10). Sie haben nach Beschuss mit einem optischen Laser eine Serie von Einzelbeugungsbildern eines Festkörpers zeitlich verzögert mit einem FLASH-Puls aufgenommen. Die dabei erzielte zeitliche Auflösung von unter 10 ps bei gleichzeitiger räumlicher Auflösung von 50 nm eröffnet den Zugang zu Zeitskalen, die der von Atombewegungen entsprechen und ermöglicht Aussagen darüber, wie schnell sich die in eine Probe durch einen Laserpuls eingebrachte Energie auf die geometrische Anordnung der Atome in der Probe auswirkt.

Neuartige Forschungsmöglichkeiten bei FLASH bietet auch die neue THz -Experimentiereinrichtung, die im Februar 2008 in Betrieb genommen wurde. Eine knapp 70 Meter lange Strahlführung transportiert dabei die THz Strahlung direkt in die FLASH-Experimentierhalle. Die Strahlung mit einer Wellenlänge zwischen einem und 200 Mikrometern (Terahertz (THz) oder so genannte Ferninfrarot-Strahlen (FIR)) wird in einem im Beschleunigertunnel zusätzlich installierten Undulator erzeugt und ist somit perfekt mit den VUV - und weichen Röntgen-Pulsen synchronisiert. Diese Kombination ermöglicht kombinierte THz-XUV - *Pump and Probe* Experimente.

Der FLASH-Betrieb hat inzwischen einen hohen Grad an Stabilität erreicht, so dass mittlerweile eine Verfügbarkeit von ca. 95 % erreicht worden ist. Experimente mit Pulsen kürzer als 50 fs sind sogar unter Ausnutzung der dritten und fünften Harmonischen der fundamentalen Laserlinie möglich. Die dabei verfügbaren  $10^{10}$  bzw.  $5 \times 10^8$  Photonen pro Puls liegen immer noch um fünf Größenordnungen oberhalb der Werte, die mit der sogenannten *slicing*-Methode bei Ring basierten Synchrotronquellen erreicht werden können, wenngleich auch im Vergleich bei etwas niedrigerer Wiederholfrequenz.

Es ist geplant, die zweite Runde des Nutzerbetriebs im Wechsel mit Beschleuniger- und FEL-Studien zur Verbesserung des Strahlbetriebs bis Anfang 2009 fortzusetzen.

Die geplante Betriebsunterbrechung im Jahr 2009 wurde um einige Wochen verschoben, so dass den Experimenten der zweiten Nutzerperiode jetzt zwischen November 2007 und April 2009 etwa 455 Schichten zu je 12 Stunden zur Verfügung stehen werden.

Um die Kapazitäten von FLASH deutlich zu erweitern, ist es geplant, FLASH durch einen zweiten FEL zu ergänzen. Dies beinhaltet einen weiteren Undulator-Tunnel und eine neue Experimentierhalle FLASH II. Dabei sollen auch unterschiedliche *seeding*-Techniken angewendet werden. Vorausgesetzt, dass es möglich sein wird, dieses Projekt über Helmholtz-Ausbaumittel zu finanzieren, könnte mit den ersten Arbeiten Ende 2009 begonnen werden mit dem Ziel, ab 2013 den Nutzerbetrieb aufzunehmen.

## European XFEL

Das European-XFEL-Projekt hat im Jahr 2008 wichtige Meilensteine erreicht: die internationalen Verhandlungen, die der Gründung der European XFEL GmbH vorausgehen, sind nahezu abgeschlossen. DESY leitet ein internationales Konsortium für den Bau des Beschleunigerkomplexes, die zukünftige European XFEL GmbH wird die Realisierung der Photonenstrahlführungen von den Undulatoren bis zu den Instrumenten in der Experimentierhalle leiten. Die Verträge über Sachleistungen sind unterschriftsreif. Dennoch ist die Unterzeichnung des European-XFEL-Vertrages erst für das Jahr 2009 geplant, da die administrativen Prozeduren in einigen Partnerländern länger als erwartet dauern. Ein weiterer wichtiger Meilenstein ist noch im Dezember 2008 erreicht worden: Der Vertrag für den Bau der unterirdischen Gebäude wurde unterzeichnet. Mittlerweile haben die Bauarbeiten begonnen und die Konturen der künftigen Bauten zeichnen sich bereits ab.

## CFEL

Das *Centre for Free Electron Laser Science* (CFEL) ist eine gemeinsame Aktivität der Universität Hamburg,

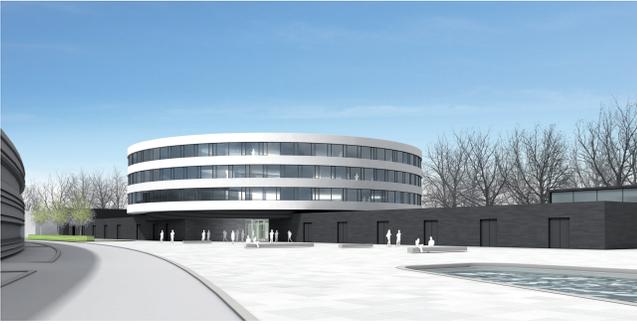


Abbildung 11: *Der Architekturentwurf des neuen CFEL Gebäudes, das neben der PETRA-III-Experimentierhalle stehen wird. (Foto mit freundlicher Genehmigung von: hammeskrause architekten)*

der MPG und des DESY (siehe Abbildung 11). Januar 2008 hat Prof. Henry Chapman als Leiter der ersten DESY Arbeitsgruppe seine Arbeit auf dem DESY Campus aufgenommen, und seit Mitte des Jahres hat auch der Leiter der ersten MPG-Forschungsgruppe im CFEL, Prof. Andrea Cavalleri, seine Arbeit in Hamburg begonnen. Beide sind derzeit dabei, Mitarbeiter für ihre Gruppen einzustellen. Die Verfahren zur Anstellung der Leiter von drei weiteren Arbeitsgruppen laufen noch.

Das Gebäude 49, das für die ersten CFEL-Gruppen momentan als Büro- und Laborgebäude dient, soll um weitere Büroarbeitsplätze erweitert werden, um auch die in Kürze eintreffenden weiteren Gruppen unterbringen zu können. Experimentierflächen für die CFEL-Kerngruppen und den beiden *Advanced Study Group* (ASG) der MPG und der Universität Hamburg werden von Seiten der Universität Hamburg im ehemaligen Zyklotrongebäude und von DESY in der neuen PETRA-III-Experimentierhalle für eine Übergangszeit zur Verfügung gestellt.

Im Jahr 2009 wird die Grundsteinlegung für das neue CFEL-Gebäude stattfinden, das von der Stadt Hamburg finanziert wird. Auf den 8600 Quadratmetern Nutzfläche sollen bis zu 300 Wissenschaftler arbeiten können. Die Bauzeit wird etwa 30 Monate betragen.

Neben den FLASH-Forschungsaktivitäten ist die CFEL-Gruppe von DESY auch an Anträgen für zukünftige FEL-Experimente am LCLS (Standford, USA) beteiligt. Die Anträge sind für Experimente an der

*Atomic and Molecular Optics* (AMO) und der SXR-Strahlführung der LCLS gestellt worden, die ihren Betrieb in 2009 aufnehmen soll. An der Ausstattung der SXR-Experimentiereinrichtung haben sich das BMBF, die Universität Hamburg, die MPG und CFEL-DESY finanziell beteiligt, um zu einem möglichst schnellen Zugang zu härter FEL-Strahlung zu gelangen.

Besonders die im Bau befindlichen Strahlführungen an PETRA III, aber auch die sich entwickelnden Messmöglichkeiten an den Freien-Elektronen-Lasern stellen ideale Bedingungen für strukturbiologische Fragestellungen dar. Aus diesem Grund hat eine Kollaboration von Arbeitsgruppen aus zwei Helmholtz-Zentren, drei Leibniz-Zentren, sechs Universitäten und dem EMBL unter Federführung des Helmholtz Zentrums für Infektionsforschung aus Braunschweig die Gründung eines *Centre for Structural Systems Biology* (CSSB) auf dem DESY Campus vorgeschlagen. Diskussionen zur Realisierung eines Gebäudes für dieses Zentrum dauern noch an. Mittlerweile wurde bereits die erste Junior-Professorin für das CSSB berufen. Die Verhandlungen mit einem Kandidaten für den Gründungsdirektor dauern an.

Das Jahr 2008 war geprägt durch viele Veränderungen. Die Sichtbarste war sicherlich der fertig gestellte Bau der PETRA-III-Experimentierhalle. Aber auch die zunehmenden Aktivitäten bei FLASH und die wachsenden CFEL-Gruppen tragen jetzt merklich zur Forschung mit Photonen bei DESY bei und liefern gleichzeitig die Basis für kommende Projekte am European XFEL, dessen Bau gerade begonnen hat. Experimente an DORIS III liefern weiterhin sehr gute Ergebnisse, wie beispielsweise das Sichtbarmachen eines verborgenen Portraits unter einem van Gogh Landschaftsgemälde neben vielen weiteren Arbeiten zeigt. Mit der Aufnahme des Messbetriebes bei PETRA III werden sich für die Zukunft vollkommen neue Möglichkeiten vor allem bei der Untersuchung kleinster Proben und Probenbereiche eröffnen und man darf jetzt schon gespannt sein, zu welchen neuen Erkenntnissen uns das führen wird.

In der Leitung des Bereichs Forschung mit Photonen hat es einen Wechsel gegeben: Edgar Weckert

übernimmt die Leitung von Jochen Schneider, der seit 1993 sehr viel zu den oben beschriebenen Veränderungen beitrug. Für seine Arbeit bei DESY wurde Jochen Schneider im Oktober 2008 mit dem Bundesverdienstkreuz geehrt. Er wird neue Aufgaben bei SLAC (Stanford) übernehmen.

Insgesamt ist die Forschung mit Photonen bei DESY auf einem sehr guten Weg und für die zukünftigen Aufgaben dieses Forschungszweiges, auch über die Grenzen von DESY hinaus, bestens vorbereitet.

## EMBL

Die Außenstelle des Europäischen Molekularbiologie Laboratoriums (EMBL) befindet sich derzeit in dem größten Umstrukturierungsprozess seit seiner Gründung. Das Projektteam unter der Leitung von Dr. Thomas Schneider (Koordination) und Dr. Stefan Fiedler (Instrumentierung) für die Konstruktion von drei strukturellen Experimentierstationen an PETRA III wurde erweitert und umfasst nun ca. 15 Personen. Die Etablierung dieses Teams erfordert eine erhebliche Umschichtung von bestehenden Ressourcen. Aus diesem Grund wurde die Zahl der für externe Projekte bereitgestellten Messstationen an DORIS III von 8 auf 4 reduziert. Weiterhin betrieben werden die Experimentierstationen am Fächer K (X11, X12, X13) für Applikationen in der Proteinkristallographie und X33 am Fächer D für Kleinwinkelstreuungs-Experimente von biologischen Proben. Die anderen beiden Messstationen am Fächer D wurden geschlossen. Damit musste bedauerlicherweise die Bereitstellung von Einrichtungen für Röntgenabsorptionsspektroskopie von biologischen Proben aufgegeben werden. Wir bedanken uns bei den Forschungsgruppen aus diesem Bereich für die erfolgreiche Benutzung unserer Einrichtungen in der Vergangenheit. Die beiden Messstationen am Wiggler BW7 werden nun für Testexperimente für die zukünftigen Experimentierstationen am PETRA-III-Ring benutzt. Darüber hinaus werden eine Einrichtung zur automatischen Kristallisation sowie eine Reihe von Software-Paketen, die von EMBL-Gruppen entwickelt wurden, zur Benutzung angeboten.

In den bestehenden Forschungsanstrengungen konzentrieren sich die Arbeitsgruppen von EMBL-Hamburg sowohl auf methodische Entwicklungen als auch auf Strukturbestimmungen komplexer biologischer Systeme, für die die Verwendung von Synchrotronstrahlung essenziell ist. Trends aus den letzten Jahren lassen erkennen, dass die Kombination der in Hamburg zu Verfügung stehenden Methoden mit anderen komplementären strukturellen biologischen Techniken wie z. B. Elektronenmikroskopie und NMR-Spektroskopie und zellbiologischen *in vivo* Methoden immer notwendiger wird. Aus diesem Grund beteiligt sich EMBL-Hamburg intensiv an der Planung des vorgeschlagenen Forschungszentrums für Strukturelle Systembiologie auf dem Gelände des DESY. Die Etablierung eines solchen Zentrums wird sicherstellen, dass die zukünftig führenden Einrichtungen an PETRA III mit biologischen Applikationen optimal genutzt werden können und wird helfen, dass sich Hamburg zu einem international führenden Zentrum in der Strukturbiologie entwickeln wird.

## Konstruktion von Experimentierstationen für Anwendungen in der Strukturbiologie am PETRA-III-Ring

EMBL baut derzeit eine integrierte Einrichtung mit drei neuen Messstationen für Anwendungen in der Strukturbiologie am PETRA-III-Ring: *EMBL@PETRA3* (siehe Abbildung 12). In 2007 und 2008 wurden die Technical Design Reports für die zu errichtenden Strahlführungen fortgeschrieben und weiterentwickelt. Die Pläne wurden im April und Mai 2008 vom Scientific Advisory Board des *EMBL@PETRA3* Projekts bzw. durch das DESY Photon Science Committee (PSC) begutachtet. Beide Komitees stimmten den Planungen zu, so dass mit der Beschaffung der Strahlführungs-komponenten in der zweiten Hälfte von 2008 begonnen werden konnte.

Als zentrale optische Elemente werden in den EMBL Strahlführungen PETRA III Doppelkristall-Monochromatoren und adaptive Röntgenspiegel in Kirkpatrick-Baetz Geometrie zum Einsatz kommen. Diese Elemen-

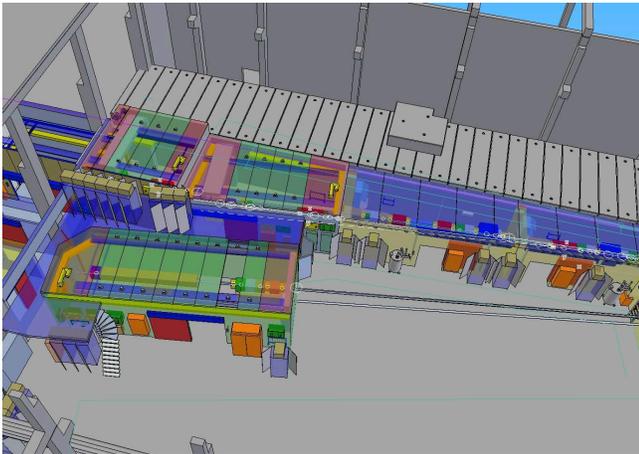


Abbildung 12: CAD Zeichnung der drei im Bau befindlichen EMBL Strahlführungen an PETRA III. Im Vordergrund ist die Strahlführung für Röntgenkleinwinkelstreuung in Sektor 8 dargestellt. Im benachbarten Sektor 9 sind die beiden Strahlführungen für Röntgenkristallographie zu sehen.

te werden es ermöglichen, die hohe Brillanz der von PETRA III erzeugten Röntgenstrahlung optimal für Kleinwinkelstreuung an Biomolekülen in Lösung und Röntgenbeugung an Kristallen aus Biomolekülen zu nutzen. Insbesondere wird es möglich sein, mithilfe der adaptiven Röntgenspiegel den Fokus und die Strahldivergenz exakt auf einzelne Proben abzustimmen – diese Möglichkeit ist vor allem für Experimente *am Limit* von größter Bedeutung und wird die Anwendbarkeit von Kleinwinkelstreuung und Kristallographie in der Biologie erweitern.

In Vorbereitung auf den Aufbau der Strahlführungen an PETRA III wurden Komponenten auf den EMBL Strahlführungen an DORIS erprobt und die Entwicklung von Prototypen vorangetrieben. Von besonderer Bedeutung ist hier die Entwicklung eines Montierroboters für Proteinkristalle – ohne die Automatisierung des Aufsetzens empfindlicher Kristalle in großer Zahl ist eine effiziente Nutzung der PETRA III Strahlung kaum möglich. Auch im Bereich der Kleinwinkelstreuung strebt das EMBL einen hohen Automatisierungs- und Miniaturisierungsgrad an: In Zusammenarbeit mit der EMBL Außenstelle in Grenoble und dem ESRF wird

derzeitig ein neuartiger Probenwechsler für Lösungen von Biomolekülen entwickelt.

EMBL wird neben den Strahlführungen auch Labore und Geräte zur Vorbereitung der Proben und zur Auswertung der Daten in unmittelbarem Anschluss an das Experiment zur Verfügung stellen. Die hierzu notwendigen Räumlichkeiten werden in unmittelbarer Nähe der EMBL-Strahlführungen in einem Anbau an die PETRA III Halle angesiedelt sein. Die Planungen zur Errichtung dieses Anbaus wurden in 2008 abgeschlossen und die Baumaßnahme wurde Anfang 2009 begonnen.

## Kristallographische Strukturbestimmung bei extrem niedriger Auflösung

Obwohl mehr als 85 % der bekannten drei-dimensionalen Strukturen mit den Methoden der makromolekularen Kristallographie gelöst wurden, können viele hoch interessante Projekte nicht weitergeführt werden, da insbesondere die Kristalle großer Proteine oder von Proteinkomplexen nur bis zu einer geringen Auflösung streuen. Aktuelle Methoden sind in der Regel daraufhin optimiert hoch aufgelöste Strukturen zu bearbeiten, so dass nur ein geringer Anteil der gemessenen Daten auch tatsächlich zu 3D Strukturen führt. Die Arbeitsgruppe von Dr. Victor Lamzin hat eine neue Methode entwickelt, um Strukturinformationen aus kristallographischen Daten bei sehr niedrigen Auflösungen zu erhalten (Abbildung 13). Die bekannte Struktur des trimeren Komplexes eines bakteriellen Genotoxins wurde exemplarisch genutzt, um ein Strukturmodell ausgehend von simulierten, sehr schlecht aufgelösten Daten ohne jegliches Vorwissen bezüglich der Struktur zu erstellen. Die Elektronendichte wurde anhand von Dichteunterschieden in Segmente unterteilt, die den einzelnen Domänen des Komplexes entsprechen. Durch eine genaue Beschreibung von Form und Dichteverteilung in diesen Segmenten und die Anwendung von Mustererkennungsmethoden können diesen Segmenten bekannte Proteindomänen zugewiesen werden. Die identifizierten Domänen haben zwar eine abweichende atomare Struktur, allerdings entspricht die jeweilige

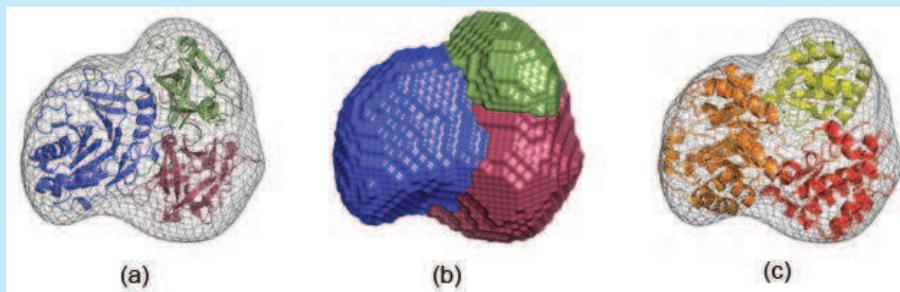


Abbildung 13: *Interpretation niedrig aufgelöster Elektronendichte. (a) Struktur des Heterotrimeren (Protein Data Bank Code, 1sr4) und die berechnete Dichteverteilung bei 20 Å Auflösung; (b) Ergebnis der Segmentierung der Dichteverteilung; (c) künstlicher Komplex aus drei Domänen, deren Form den Dichte-Daten bei 20 Å Auflösung am besten entspricht.*

Form bei 20 Å Auflösung sehr gut den Suchsegmenten. Durch das Platzieren der identifizierten Domänen in der Elektronendichte konnten Phasen bis zu einer Auflösung von 10-14 Å berechnet werden, was die Grenzen der zur Interpretation genutzten Informationen erheblich erweitert. Mittels einer iterativen Prozedur und geeigneter Dichtemodifikation kann es mit dieser Methode möglich sein, auch bei 20 Å Auflösung ein Strukturmodell automatisch zu erstellen. Die Anwendungsmöglichkeiten dieser Methode erstrecken sich auch auf die Bereiche der Elektronenmikroskopie und der Interpretation von Strukturen biologischer Proben in zukünftigen FEL Strahlen.

## Biologische Kleinwinkelstreuung

Die Aktivitäten der Arbeitsgruppe Biologische Kleinwinkelstreuung (Bio-SAXS) unter der Leitung von Dr. Dmitri Svergun beinhaltete in den Jahren 2008/2009 sowohl die Wartung und Weiterentwicklung der SAXS-Beamline X33 am DORIS-III-Ring als auch die der verwendeten Software. ATSAS, ein Programmpaket für Kleinwinkelstreuung, das derzeit in mehr als 700 Laboren weltweit Anwendung findet, wurde beständig verbessert und erweitert. Insbesondere wurden die Möglichkeiten zur Analyse flexibler Makromoleküle deutlich überarbeitet. Des Weiteren wurde der Ausbau der Experimentierstation X33 vorangetrieben. Hierbei sind insbesondere der automatische Probenwechs-

ler und die Einführung des neu entwickelten Pixel-Detektors Pilatus 1M (hergestellt und vertrieben von DECTRIS, Schweiz) zu erwähnen. Beide Neuerwerbungen haben dazu beigetragen, die Leistungsfähigkeit und die Stabilität von X33 zu verbessern. Ein *Beamline Meta Server* (BMS) zur automatischen Datenerfassung und Analyse wurde ebenfalls entwickelt. Dieser ermöglicht erstmalig den fern gesteuerten Zugriff auf die Messstation. X33 ist damit weltweit die erste SAXS Beamline, die solche Möglichkeiten anbietet.

In 2008 wurden trotz einer neunmonatigen Wartungsphase von DORIS III über 110 Projekte von etwa 80 Nutzergruppengedurchgeführt. Die meisten Messungen werden mit gelösten biologischen Makromolekülen (Proteine, Nukleinsäure und deren Komplexen) ausgeführt. Diese Projekte beinhalten (i) Form und quaternäre Strukturanalyse in niedriger Auflösung, (ii) Validierung von Modellen die mit höher auflösenden Verfahren gewonnen wurden sowie Analyse ihrer strukturellen Veränderungen, (iii) Studien makromolekularer Komplexe, (iv) Charakterisierung biologisch aktiver Oligomere, Mischungsverhältnisse sowie kinetischer Prozesse, (v) quantitative Analyse flexibler Makromoleküle. Die Mehrheit der im Jahre 2008 durchgeführten Experimente entstand in Kollaboration mit externen Nutzergruppen. Dies führte im Laufe des Jahres zu insgesamt 61 wissenschaftlichen Veröffentlichungen. In 14 ist eines der kollaborativen Projekte dargestellt, die es auf die Titelseite der entsprechenden Zeitschrift geschafft (Abbildung 14).



Abbildung 14: Titelseite von Molecular Microbiology März 09. Dargestellt ist ein aus SAXS-Daten gewonnenes Modell des Komplexes bestehend aus zwei Proteinen (graue und rote Kugeln) auf der Oberfläche des Bakteriums *Clostridium difficile*, eingebettet die Kristallstruktur eines Teiles eines der Proteine (goldene Farbe).

## Die Architektur des peroxisomalen Translocons

Peroxisomen sind Zellenorganellen, die in Zellen einer großen Zahl von Organismen – von der Bäckerhefe bis zum Menschen – vorkommen. Die wesentliche Funktion von Peroxisomen ist es, biochemische Prozesse in abgesonderter Umgebung zu erlauben, die für die restliche Zelle ansonsten sehr toxisch wären. Fehlfunktionen von Peroxisomen sind mit einer Reihe genetischer Erkrankungen assoziiert, so dass die systematische Untersuchung dieser Organellen von großer Bedeutung für die biomedizinische Forschung ist. Wie bei anderen

Zellorganellen müssen die Akteure, im Wesentlichen Enzyme, in das Innere dieser Peroxisomen durch ein *Translocon* geschleust werden. Derzeit ist allerdings über die Gesamtarchitektur von peroxisomalen Translokationssystemen nur sehr wenig bekannt, bis auf die Tatsache, dass sie ihre Zusammensetzungen ständig ändern und dynamische Abordnungen aufweisen.

Die Gruppe von Dr. Matthias Wilmanns hat sich zum Ziel gesetzt, die Gesamtarchitektur von peroxisomalen Translokationssystemen zu untersuchen. Da es derzeit weltweit noch kein Reinigungsprotokoll für ein gesamtes Translocon gibt, hat die Arbeitsgruppe begonnen, eine Reihe von Substrukturen zu bestimmen. Im Rahmen von Projekten aus jüngerer Zeit wurden dafür Proteinkristallographie, Kleinwinkelstreuung (in Zusammenarbeit mit Dr. Svergun, EMBL Hamburg), NMR Spektroskopie (Zusammenarbeit mit Prof. Michael Sattler, TUM München) und zellbiologische Methoden (Zusammenarbeit mit Dr. Wolfgang Schliebs, Ruhr Universität, Bochum) verwendet. Im letzten Jahr gelang es, die Struktur eines Komplexes des derzeit am besten charakterisierten peroxisomalen Rezeptors Pex5p in Gegenwart eines Proteins mit einer entsprechenden Erkennungssequenz für diesen Rezeptor, Alanine-Glyoxylate Aminotransferase, aufzuklären (Fodor et al., unpubliziert). Dieses Targetprotein hat den Vorteil, dass es eine enzymatische Funktion hat und somit sehr gut funktionell charakterisiert werden kann. Der Arbeitsgruppe gelang es darüber hinaus, basierend auf der hoch aufgelösten Struktur, das Target so zu verändern, dass es aufgrund einer fehlerhaften Erkennung in Mitochondrien fehlgeleitet wird. Weitere Komponenten und Komplexe wurden strukturell bestimmt und funktionell charakterisiert: Der komplette Pex5p Rezeptor mithilfe von Röntgenkleinwinkelstreuung und biophysikalischen Methoden (Shiozawa et al., eingereicht), eine Signal-Peptid bindende Domäne eines weiteren peroxisomalen Rezeptors Pex19p (Holton et al., eingereicht); Komplexe einer Domäne eines Scaffold-Proteins Pex14p, in Gegenwart von Peptiden der beiden Rezeptoren Pex5p und Pex19p (Neufeld et al., EMBO Journal, 2009).

## Max-Planck-Gesellschaft

### Arbeitsgruppen für strukturelle Molekularbiologie

Voraussetzung für ein Verständnis biologischer Prozesse auf zellulärer und molekularer Ebene ist die Kenntnis der Struktur und der Dynamik der an den Prozessen beteiligten Biomoleküle. Mithilfe der Synchrotronstrahlung lassen sich Strukturanalysen von Biomolekülen schneller, schonender und in höherer Auflösung als mit konventionellen Röntgenquellen durchführen. Vor dem Hintergrund der bevorstehenden Inbetriebnahme von PETRA III als weltweit modernster Synchrotronstrahlungsquelle bei DESY werden dazu die vorhandenen Methoden weiterentwickelt und neue Techniken der Strahlführung, der Probenbehandlung, sowie der Datenerfassung und -verarbeitung erprobt. Nur so lässt sich der steigende Bedarf an Strukturanalysen in der biologischen Grundlagenforschung, wie auch in Biotechnologie, Medizin und Pharmazie bewältigen.

Die Arbeitsgruppe Proteindynamik (H.-D. Bartunik) entwickelt neue Verfahren der Röntgenstrukturanalyse mit Synchrotronstrahlung und macht sie für die Analyse der Struktur-Funktionsbeziehungen von Proteinen nutzbar. Thematischer Schwerpunkt ist die Untersuchung der Reaktionsmechanismen von Enzymen. Schnelle Konformationsänderungen sind für die biologische Funktion der Enzyme ausschlaggebend und bilden die Grundlage vieler biotechnologischer Anwendungen.

Die Arbeitsgruppe Zytoskelett (E. Mandelkow) untersucht den Struktur-Funktions-Zusammenhang der Mikrotubuli und der mit diesen assoziierten Proteine. Mikrotubuli sind intrazelluläre Proteinfasern, die zusammen mit Motor-Molekülen und verschiedenen Klassen regulatorischer Proteine für die Bewegung der Zellen, für ihre Teilung und Differenzierung, sowie für den intrazellulären Transport verantwortlich sind. Einige dieser Mikrotubuli-assoziierten Proteine spielen eine Rolle in neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit.

## Aktuelle Forschungsschwerpunkte

### AG Proteindynamik

Prokaryontische Organismen setzen Restriktions-Modifikations-Systeme (RM-Systeme) zum Schutz ihrer Genome gegen das Eindringen fremder DNA ein. Insbesondere zerstören sie virale DNA, um Infektionen zu widerstehen. Jedes RM-System enthält einen Satz von Methyltransferasen und Restriktionsendonucleasen, die eine definierte Nucleotidsequenz erkennen. Dabei unterscheiden sich Zahl und Organisation der funktionalen Einheiten für verschiedene Typen (I-IV) des RM-Systems. Das Modifikationsenzym methyliert Wirts-DNA an der Erkennungsstelle und verhindert so einen Abbau durch die entsprechende Restriktionsendonuclease (RE). Typ-II REn erkennen nichtmethylierte DNA-Sequenzen und schneiden an festen Positionen innerhalb oder außerhalb der Erkennungssequenz. Ihre hohe Spezifität macht sie zu wichtigen biochemischen Werkzeugen rekombinanter DNA-Technologien.

Die meisten Typ-II REn sind als Homo- oder Heterodimere tätig, wobei beide Untereinheiten Doppelstrang-DNA erkennen und spalten. Die Funktionsweise der heterodimeren Endonuclease R.BspD6I von *Bacillus species* D6 unterscheidet sich davon jedoch wesentlich. Die große Untereinheit (Nt.BspD6I) allein stellt eine monomere Typ-IIS Nickase dar, die eine asymmetrische Sequenz erkennt und einen Strang der Doppelstrang-DNA außerhalb der Erkennungssequenz schneidet. Die kleine Untereinheit (ss.BspD6I) enthält keine Erkennungsdomäne und ist auf sich allein gestellt inaktiv. Im Komplex mit der großen Untereinheit spaltet sie jedoch den zweiten DNA-Strang. Im Rahmen eines gemeinsamen Projektes der Max-Planck-Arbeitsgruppe für Proteindynamik und Instituten der Russischen Akademie der Wissenschaften wurden die dreidimensionalen Strukturen beider Untereinheiten bei hoher Auflösung unter Einsatz von Synchrotronstrahlung aufgeklärt. Die Kristallstruktur der großen Untereinheit stellt die erste bekannte Struktur einer monomeren Nickase dar. Ein Modell des ternären Komplexes mit einem spezifischen DNA-Segment (Abbildung 15) zeigt, dass der Abstand zwischen der Erkennungsdomäne und

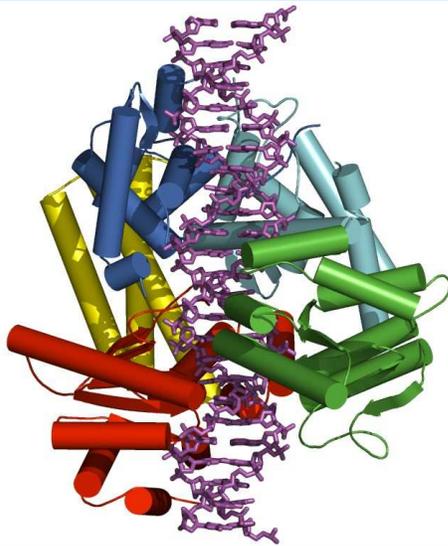


Abbildung 15: Strukturmodell von *Nt.BspD6I* im Komplex mit *ss.BspD6I* (grün) und spezifischer DNA (magenta). *Nt.BspD6I* enthält eine Erkennungsdomäne (blau) mit zwei Subdomänen, eine Spaltungsdomäne (rot) und eine rigide Linkerdomäne (gelb) zur Justierung des Abstands zwischen den Erkennungs- und Spaltungsstellen. (Kachalova et al., 2008, *J. Mol. Biol.* 384, 489-502)

der Spaltungsdomäne von *Nt.BspD6I* durch eine Linkerdomäne präzise eingestellt wird. Die Gesamtstruktur des Komplexes lässt mögliche Wechselwirkungen zwischen den beiden Untereinheiten erkennen, die für die Kontrolle der enzymatischen Aktivität von *ss.BspD6I* von Bedeutung sein können. Zur weiteren Erforschung der Struktur-Funktionsbeziehungen werden Mutationsstudien in Kombination mit weiteren Strukturanalysen eingesetzt. Die Ergebnisse sind auch von potenzieller praktischer Bedeutung für die Entwicklung neuartiger Nickasen hoher Spezifität.

### AG Zytoskelett

Das Mikrotubuli-assoziierte Protein Tau hat wesentlichen Einfluss auf die Stabilität und die Dynamik der Mikrotubuli. Es reguliert den Mikrotubuli-abhängigen Transport von Proteinen, Vesikeln und Zellorganellen durch Motorproteine der Kinesin-Familie. Veränder-

te Bindungseigenschaften von Tau können Transportprobleme verursachen, die besonders bei Nervenzellen aufgrund ihrer speziellen Form (kleiner Zellkörper mit extrem langen Fortsätzen für Reizleitung und Signalverarbeitung) leicht zu Funktionsstörungen führen können. Zur Untersuchung des Zusammenspiels von Mikrotubuli, Mikrotubuli-assoziierten Proteinen wie Tau und dem Motorprotein Kinesin benutzt die AG Zytoskelett verschiedene biophysikalische Analyseverfahren wie Spektroskopie, konfokale Mikroskopie,

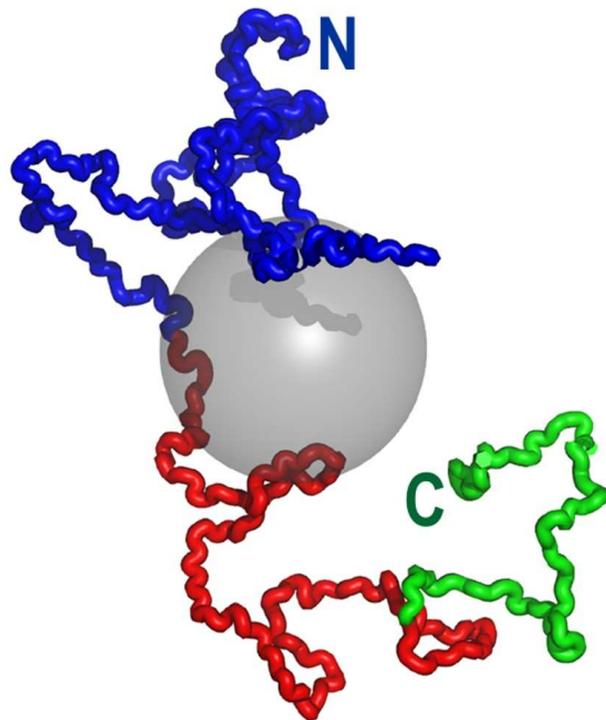


Abbildung 16: Das nativ-ungefaltete Protein Tau hat keine bestimmte Struktur, es ändert vielmehr ständig seine Form, wobei es zwischen vielen, weitgehend zufälligen Konformationen wechselt. Das Modell (blau N-terminaler Bereich, rot Mikrotubulus-bindende Domäne, grün C-terminaler Bereich) zeigt eine typische Zufallskonformation von Tau. Die graue Kugel veranschaulicht das Volumen, das Tau einnehmen würde, wenn es wie die meisten Proteine kompakt gefaltet wäre (Mylonas et al., 2008, *Biochemistry* 47, 10345-10353).

Elektronenmikroskopie und Bildverarbeitung. Die wesentliche Methode zur Strukturbestimmung besteht in der Röntgenbeugung an Proteinkristallen, Fasern und Lösungen.

Die Alzheimer Krankheit ist eine von vielen *Tauopathien*, die dadurch charakterisiert sind, dass das Tau-Protein sich von den Mikrotubuli ablöst und Ablagerungen im Gehirn bildet. In der gesunden Zelle reguliert Tau die Funktion des Motorproteins Kinesin. Überexpression von Tau verringert den anterograden Transport von Vesikeln und Mitochondrien vom Zellkörper zu den Enden der Zellfortsätze. Die Bindung von Tau an Mikrotubuli wiederum wird durch Phosphorylierung reguliert, wobei die Kinase MARK eine wichtige Rolle spielt: Phosphorylierung von Tau durch MARK führt zur Ablösung von den Mikrotubuli und zur Stimulierung des Transports durch Kinesin.

Tau ist ein gut lösliches, hitzestabiles Protein. Es gehört zu den sogenannten nativ-ungefalteten Proteinen, die in Lösung keine bestimmte Struktur annehmen. Tau bleibt auch bei Bindung an Mikrotubuli weitgehend strukturlos. Bei der Alzheimer-Krankheit dagegen wird Tau hyperphosphoryliert und bildet sogenannte *neurofibrilläre Tangles*, schwer lösliche Aggregate, die hauptsächlich aus helikalen Tau-Fasern (PHFs, paired helical filaments) bestehen. Eine der Herausforderungen im Hinblick auf die Alzheimer-Krankheit besteht darin, zu verstehen, warum und unter welchen Bedingungen dieses Protein zu unlöslichen Ablagerungen aggregiert.

Die Konformation von Tau in Lösung wurde nun mithilfe der Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) näher bestimmt (Abbildung 16). Es stellte sich heraus, dass kurze Konstrukte des Tau-Proteins, welche die Mikrotubuli-Bindungsdomäne enthalten, weiter gestreckt sind als es für Zufallsknäuel zu erwarten wäre. Dagegen sind längere Tau-Konstrukte, ebenso wie das vollständige Tau-Molekül, in ihrer Ausdehnung vergleichbar mit Zufallsketten entsprechender Länge. Dies deutet darauf hin, dass es bei längeren Konstrukten bevorzugt zu einer Rückfaltung der N- und C-terminalen Bereiche kommt, so dass die vergleichsweise weite Ausdehnung der Mikrotubuli-Bindungsdomäne kompensiert

wird. Zwischen Konstrukten von Tau und solchen von speziellen Tau-Mutanten, die zur Aggregation neigen, wurden keine signifikanten Konformationsunterschiede in Lösung gefunden. Es scheint daher, dass die pathologische Aggregation von Tau nur dann eintritt, wenn bereits geeignete Aggregationszentren vorhanden sind.