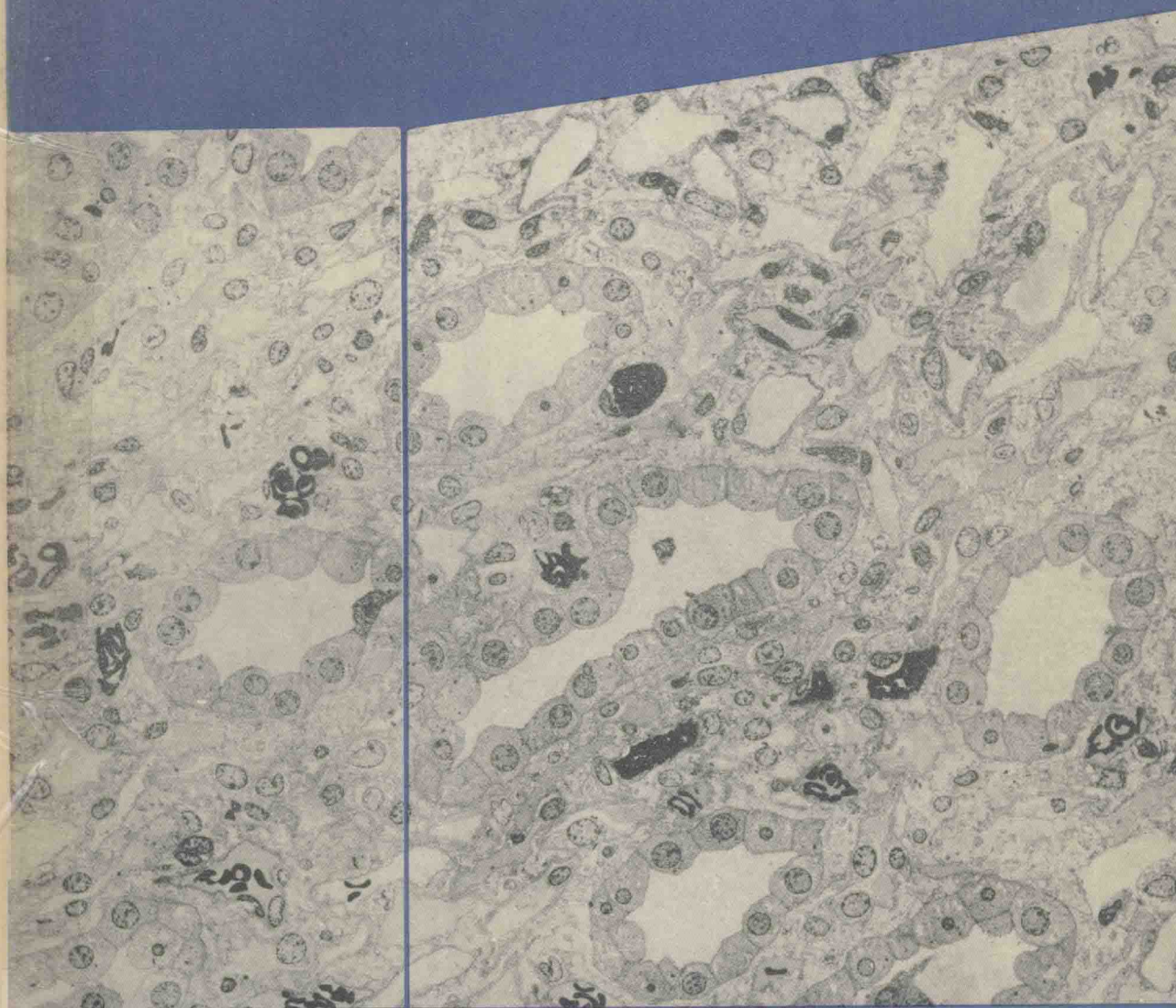


医学 生物学

# 电镜技术与细胞超微结构



应国华 主编

香港现代出版社

# 医学生物学

## 电镜技术与细胞超微结构

主 编:应国华

副主编:李向印 马洪骏 王更新 查世钦

编著者:(按姓氏笔画排列)

马洪骏	王 丽	王更新	王晓英
刘贵生	应国华	李向印	李淑荣
李绍连	杨雅改	宋春风	赵玉珍
张玉英	张中朝	查世钦	韩 伟

主 审:雷建章 李文镇

绘 图:河北医学院 绘图室

香港现代出版社

## 内容提要

本书系由河北医学院电镜实验中心教研人员编写。全书包括四部分:第一部分为电子显微镜(第一章),重点介绍了电镜类型、与电镜有关的基本概念、电镜结构与工作原理等;第二部分为电镜制样技术(第二章至第四章),详细介绍了电镜生物样品的基本制备技术、特殊制样技术、电镜照相与电镜暗室技术;第三部分为细胞超微结构(第五章),重点介绍了细胞核、细胞膜及各种细胞器的超微结构及其与机能的关系;第四部分为附录部分,在附录中除介绍了参考文献及常用溶液配方等内容外,还选出了与本书内容相对应的各种电镜图像 70 幅。

本书可作为医疗卫生、农林水产、畜牧兽医、普通大学及师范院校生物系等专业本科生、专科生、研究生选修课和必修课的教材或参考书,亦可供各种类型电镜与超微结构讲习班、进修班作为讲义和从事医学、生物学教学、科研及电镜工作者的参考资料使用。

### 医学生物学电镜技术与细胞超微结构

应国华 主编

责任编辑 刘卫国 封面设计 程寿根

香港现代出版社 出版发行

(香港荃湾荃德花园 C-10 楼 A 座)

华勤五一七印刷厂印刷

787×1092 16 开本 印张 17.5 插图 32

字数 420 千字 印数 1~3,500 册

1993 年 5 月第 1 版 1993 年 5 月第 1 次印刷

ISBN 962-7586-55-2/Y·03

定价:人民币 16.80 元

港币 60.00 元

## 前 言

电子显微镜的问世,不仅开扩了人们的眼界,丰富和加深了人们对于超微世界的认识,而且大大推动了医学、生物学的发展。特别是近些年来,随着电镜仪器的不断更新和一些新的电镜制样技术的开发与应用,使得电镜技术日趋完善,并在医学生物学科研、教学工作及临床电镜诊断等方面,发挥着越来越显著的作用。

目前,国内许多高等医药院校、普通大学及师范院校生物系本科及研究生班,均把“电镜技术与细胞超微结构”列为一门重要的选修课;在高等院校许多教科书及教学内容上,都编入和讲述与电镜技术与细胞超微结构有关的知识。为了适应国内上述教学情况的需要,我们自1980年开办本科班和研究生班选修课,并作为卫生部“电镜技术与超微结构进修基地”多次举办讲习班,进修班,在教学经验基础上编写了这本《医学生物学电镜技术与细胞超微结构》。另外,作者本着普及与提高相结合的精神,适当增加了部分专业性较强的基本知识(如:电镜照相与电镜暗室技术等),可供从事电镜工作的专业人员参考。

本书所编排的内容包括四部分,第一部分为电子显微镜(第一章),重点介绍了电镜类型、电镜结构及工作原理、电镜室的设计与管理等内容;第二部分为电镜技术(第二章至第四章),该部分详细介绍了电镜样品的基本制备技术、特殊制样技术、电镜照相与电镜暗室技术;第三部分为细胞超微结构(第五章),重点介绍了细胞核、细胞膜及各种细胞器的超微结构;第四部分为附录,该部分除介绍了主要参考文献、电镜发展史、电镜样品制备中的常用配方以外,还选录了与本书内容相对应的透射、扫描及冷冻蚀刻等电镜图像照片70幅。这些电镜照片均为河北医学院电镜实验中心制样、拍摄。

本书系由河北医学院电镜实验中心工作人员编写,雷建章、李文镇二位教授承担了本书的总审校工作。在编写过程中,曾得到河北医学院院长魏宝林教授的大力支持与鼓励,还得到国内电镜同道及我院外籍名誉教授山田英智、永田哲士、田中敬一、牧田登之及赤堀宏等诸位先生和我院组胚教研室、王仲涛教授、袁德霞教授、吴淑兰教授的热情指导和帮助,河北医学院绘图室程寿根、刘斌等同志还为本书绘制了插图,康文华、苏莉英同志提供了细胞化学电镜照片,刘明礼教授绘制了“放大倍数—标尺长度换算表”,特此一并表示衷心的感谢。

日本信州大学前医学部部长、日美组织细胞化学学会会长、日本临床电镜学会会长、河北医学院名誉院长永田哲士教授,中国电镜学会前副理事长、同济医科大学超微病理研究室主任、《病理学》主编武忠弼教授分别为本书写了序言,感谢老一辈科学家对本书的关怀、支持与鼓励。

由于我们的工作经验及水平所限,在本书的编写内容、图片选择等方面,难免存有缺点甚至错误之处,敬请读者批评指正,以便本书再版时修正。

编者 1992年4月于河北医学院(中国·石家庄)

## 序 言 (1)

河北医学院电镜实验中心的应国华教授、马洪骏教授,托请我给《医学生物学电镜技术与细胞超微结构》一书作序,感到十分荣幸。

从寄来的该书印刷中的复印件来看,本书所介绍的内容不仅详细叙述了电镜的原理与结构、电镜生物样品制备的基本技术,而且还对最新开发的电镜制样新技术(冷冻制样、电镜放射自显影、细胞化学、免疫电镜、电镜图像处理等)、电镜室的管理学与电镜暗室技术等作了全面介绍。此外,本书还专设一章——细胞超微结构与功能,较详细的叙述了细胞核、细胞膜和各种细胞器的超微结构及其与功能的关系。本书无论从编写内容、还是从编写形式来说,都有一定独到之处,无疑是一部优秀的重头著作。因此,它对医学、生物学专业的大学生和研究生,都是一部很好的教科书;对于大学或研究单位从事电镜及有关专业人员,亦是一部难得的参考书。

本书的编者是以应国华教授、马洪骏教授为中心的河北医学院电镜实验中心的全体人员,该中心老一辈电镜专家李文镇、雷建章二位教授担当了本书的主审。河北医学院与我所在的日本信州大学医学部,从1985年开始进行了学术交流,1986年两大学签定了友好协定,成为友好的兄弟院校。每年都有数名来自河北医学院的访问讲学教授以及攻读博士学位的留学生。本书的主编应国华教授曾两次访问我校进行学术交流,副主编马洪骏教授从1985年起作为博士研究生在我校留学四年,取得医学博士学位后,又留校继续做博士后研究二年,1991年完成学业返回河北医学院。两位教授都是中国电子显微镜界具有创新进取精神的电镜专家,衷心地期待着他们为中国电子显微镜事业的发展做出更大的贡献。

本书的编者,利用河北医学院电镜实验中心的先进设备,积多年科研、教学之丰富经验,推出了这本新著。我期望本书能成为中国从事医学生物专业电子显微镜工作者的标准教科书,并衷心祝愿河北医学院电镜实验中心的诸位同仁取得更大的成就。

信州大学医学部教授  
信州大学前医学部长  
河北医学院名誉教授  
河北医学院名誉院长  
日本临床电子显微镜学会会长  
日美组织细胞化学会会长  
日本解剖学会理事

永田哲士

1993年1月于日本·松本市



## 序 言 (2)

人类的肉眼是认识客观世界的重要工具,但因受分辨能力的限制,在300年前光学显微镜尚未出世之前,人类对世界的认识只能停留在肉眼水平。光学显微镜的诞生提供了一把金钥匙,为我们打开了微观世界知识宝库的第一道大门,从而出现了组织学、细胞学、细胞病理学等前所未有的新学科,也为医学、生物学各学科,带来了划时代的巨大发展,功不可没。

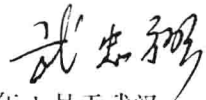
然而,光学显微镜分辨能力的先天极限,决定了人们进一步努力去探索精密的观察工具。于是,本世纪30年代,电子显微镜乃应运而生,它的分辨能力,为我们打开了微观世界知识宝库的第二道大门。仅仅半个世纪,就已为我们发掘出极其丰富的新的知识财富,开创了人类认识微观世界历史的又一个划时代的崭新篇章。在医学、生物学领域,我们才逐步有了深层意义上的细胞学、细胞生物学、细胞病理学或超微病理学,以及由此而衍生的渗透到医学、生物学各个领域的宝贵新知。

我国医学、生物学界自引进电子显微镜暨电镜技术以来,不过30多年的历史,但在各方面都有了突飞猛进的发展。如今电镜技术的应用已经相当普及,而且正在向更深层次发展。但与当前国际先进水平相比,我们在某些方面还有一定差距。目前我们亟待解决的重要问题之一,是如何进一步提高有关人员的知识和技术水平。为此,一本好的专业读物是十分必要的。河北医学院应国华教授等有鉴于此,在总结他们多年来电镜工作丰富经验的基础上,编辑出版的这本《医学生物学电镜技术与细胞超微结构》,可谓应运而生。这本书的出版必将对我国医学、生物学电镜工作的进一步发展,作出新的贡献。

本书从电镜实验室的全面工作出发,结合作者等多年来的实际工作经验,较系统地对电镜及其常规和特殊实验技术、电镜摄影暨暗室工作、以及电镜实验室的设计和管理等等,进行了介绍和评述,可供已建和将建的电镜实验室参考。此外,本书还专辟一章,较详细地阐述了细胞的超微结构及其功能,对从事医学、生物学教学和研究人员,都颇具参考价值,值得在此向广大读者推荐。

欣值本书行将出版之际,谨志数语,向本书作者和读者致以由衷的祝贺。

中国电子显微镜学会前副理事长  
同济医科大学超微病理研究室主任  
全国统编教材——《病理学》主编  
同济医科大学病理学教授



1993年1月于武汉

# 绪 论

300 多年前光学显微镜(简称光镜)的发明,使人眼的分辨力由 0.2mm 提高到 0.2 $\mu\text{m}$ ,提高了一千倍,把医学、生物学研究从宏观水平发展为微观水平,因而促使人类在对客观世界的认识方面产生了一次飞跃。人们利用光镜虽可看到细胞和细菌等,但因受其光源—自然光线波长的限制,使其分辨力只能达到 0.2 $\mu\text{m}$ 、放大倍率只有 1000 倍~1500 倍,很难满足人们揭示超微观世界奥秘的需要。因此,人们开始寻找具有更高分辨力的得力观察工具。

1931 年德国科学家 **Knoll** 和 **Ruska**,在前人发明、创造的基础上,研制出了世界上第一台透射式电子显微镜(**transmission electron microscope, TEM**,简称透射电镜),尽管该电镜放大倍数只有 13 倍,但它为以后电镜的发展和应用奠定了基础。1932 年他们把上述研究成果写成报告并公布于世,因而人们多把 1932 年定为“电镜诞生年”。1934 年还是在 **Ruska** 等人的努力开发下,使电镜的分辨力达到了 50nm。1937 年 **Dulest** 等人(德国),又将电镜的分辨力提高到了 25nm,并利用电镜拍出了细菌微细结构的图象。1939 年 **Ruska** 等在德国 **Siemens** 公司,研制并生产了第一系列商品电镜,其分辨力为 10nm,共生产了 40 台。以后,随着科学技术的发展,电镜的分辨力和放大倍率也随之提高。特别是进入 70 年代以来,电镜设计与电镜制样技术又有了突飞猛进的发展,一些国家已经能生产点分辨力优于 0.3nm,晶格分辨力可以达到 0.1~0.2nm 的高分辨透射电镜,实现了人们直接观察生物大分子结构和重金属原子图像的愿望。因而,使医学、生物学的研究,从细胞学水平提高到分子细胞学—超微结构水平。

此外,在透射电镜发展的同时,扫描式电子显微镜(**scanning electron microscope, SEM**,简称扫描电镜)也相继问世。1935 年 **Knoll**,首先提出了扫描电镜的设计思想和工作原理;1942 年 **M. Mullan**(英国剑桥大学),研制成了世界上第一台 **SEM** 实验室装置;1965 年由英国剑桥大学仪器公司,生产出了第一批商品扫描电镜,分辨力 50~100nm,最高放大倍率为 1 万倍。进入 70 年代以后,**SEM** 得到了迅猛发展。目前,一般扫描电镜的分辨力为 3~6nm,场发射 **SEM** 分辨力可达 0.5~1.5nm,已接近透射电镜水平。1988 年日本鸟取大学医学部田中敬一教授,利用他所研制的 **SEM**,拍出了放大 40 万倍的爱滋病病毒的 **SEM** 图像。

我国的电镜研制工作是从 50 年代开始的。1959 年中科院光学精密机械研究所、上海精密仪器厂等单位,首先研制成功我国第一台透射电镜(**XD—100** 型);1965 年由中科院科学仪器厂(北京)又研制成功 **DX—3** 型透射电镜,其点分辨率为 0.3~0.4nm;继于 1977 年由上海新跃仪表厂成功的设计制造出 **DXB<sub>2</sub>—12** 型透射电镜,该电镜晶格分辨率为 0.2nm,放大倍数最高可达 80 万倍,从而使我国自制电镜的能力跨入世界先进行列。

随着科学技术的发展,电镜样品制备技术也日趋完善。在透射电镜超薄切片技术的基

基础上,又相继出现了负染技术、电镜放射自显影技术、细胞化学和免疫电镜技术等;在扫描电镜常规技术的基础上,又相继出现了生物样品内部结构冷冻割断技术、高分辨扫描电镜技术、管道铸型技术和扫描电镜盐酸化学消化法等。目前,电镜的应用已远远超出了形态学范围,而与物理学、化学、生物化学、计算机等学科发生了内在联系,并已成为生物学、基础医学、临床医学、农林科学等研究领域必不可少的实验手段;此外,电镜在地质、材料、冶金、轻工、纺织、医药以及国防尖端科学等领域,也得到了越来越广泛的开发和利用。特别是近10年来,利用电镜附件-X射线微区分析装置,可以测得样品微区内 $1 \times 10^{-15} \sim 10^{-25}$  g超微量元素。在电镜图像处理方面近几年也有很大发展,除运用数学公式推导以外,还出现了利用电子计算机分析、处理各种电镜图像的“图像分析仪”。电镜X射线微区分析和图像处理技术的出现,使电镜观察从形态学分析阶段提高到定性、定量分析水平,从而更加扩大了电镜的性能及其使用范围。相信,随着科技的发展,电子显微镜的应用及其在各个专业领域所起的作用,将越来越引人注目。



# 目 录

## 绪 论

### 第一章 电子显微镜 (应国华 李向印 刘贵生 王 丽)

#### 第一节 电镜的基本类型及特点

一、透射式电子显微镜 .....	1
二、扫描式电子显微镜 .....	2
三、分析型电镜 .....	2
四、超高压电镜 .....	2

#### 第二节 与电镜有关的几个基本概念

一、电镜的计量单位 .....	4
二、分辨率 .....	4
三、放大倍率 .....	5
四、电镜的照明光源 .....	5
五、电镜的透镜系统 .....	5
六、电镜的像差 .....	6
七、电子束和样品的相互关系 .....	7

#### 第三节 透射式电子显微镜

一、电子光学系统 .....	8
二、真空排气系统 .....	13
三、电气系统 .....	14

#### 第四节 扫描式电子显微镜

一、扫描电镜的结构 .....	15
二、扫描电镜的原理 .....	17
三、扫描电镜的操作 .....	21

#### 第五节 电镜与光镜的比较 .....

#### 第六节 电镜的选择及其主要辅助设备

一、电镜的选择 .....	23
二、电镜主要辅助设备 .....	24

#### 第七节 电镜室的设计与布局

一、电镜室设计的总体要求与房间配置 .....	26
二、电镜室建筑设计的技术要求 .....	26
三、实验室的布局 .....	27

#### 第八节 电镜室的管理和对电镜工作者的要求

一、电镜室的管理 .....	28
二、对电镜工作者的要求 .....	29

## 第二章 电镜样品的的基本制备技术 (应国华 李淑荣 查世钦 李向印

赵玉珍 王晓英)

### 第一节 超薄切片技术

一、取材	31
二、固定	32
三、脱水	38
四、浸透与包埋	39
五、超薄切片	42
六、染色	50

### 第二节 负染色技术

一、负染样品的制备	55
二、染液的配制	56
三、负染色操作方法	56
四、影响负染效果的有关因素	56

### 第三节 微波辐射快速制样技术

一、微波辐射制样技术的原理	58
二、微波辐射快速制样技术的基本程序	58
三、微波辐射制样技术注意事项	58

### 第四节 扫描电镜的生物样品制备技术

一、SEM 生物样品制备的基本要求	59
二、SEM 生物样品制备的基本操作程序	59

### 第五节 几种适应特殊要求的 SEM 制样技术

一、组织细胞内部结构观察法	72
二、高分辨 SEM 样品的制备—ODO 法	75
三、游离细胞样品制备观察法	76
四、管道铸型 SEM 样品制备法	76
五、扫描与透射电镜样品的互补观察法	78
六、SEM 样品的盐酸化学消化法	79

## 第三章 生物样品的特殊制备技术 (应国华 马洪骏 王更新 张玉英

张中朝 李绍连)

### 第一节 冷冻蚀刻电镜技术

一、常用设备器材和技术准备	82
二、基本操作程序	85
三、冷冻蚀刻技术操作中常见问题及预防措施	88
四、冷冻蚀刻法的技术进展	90
五、冷冻蚀刻法细胞劈裂面的命名	91

### 第二节 冷冻超薄切片技术

一、样品取材与预处理·····	95
二、快速冷冻·····	96
三、切片·····	96
四、染色·····	97
<b>第三节 放射自显影电镜技术</b>	
一、放射自显影的种类·····	98
二、放射自显影的原理与操作·····	98
三、放射自显影的特点·····	104
四、全身及器官的放射自显影·····	104
<b>第四节 电镜细胞化学技术</b>	
一、酶电镜细胞化学的程序·····	106
二、电镜酶细胞化学的显示方法及过程·····	108
<b>第五节 电镜免疫细胞化学技术</b>	
一、电镜免疫酶细胞化学技术·····	113
二、免疫电镜胶体金标记技术·····	114
<b>第六节 X 射线显微分析技术</b>	
一、X 射线显微分析法的简明原理·····	117
二、X 射线的收集和检测·····	118
三、生物样品的分析和制备·····	120
四、X 射线显微分析技术的应用·····	122
<b>第七节 超微结构的形态测量法</b>	
一、形态测量的手工操作法·····	123
二、计算机超微结构图像定量分析技术·····	127
<b>第四章 电镜摄影与电镜暗室技术</b>	(应国华 李向印 查世钦 张中朝 韩 伟)
<b>第一节 电镜摄影技术</b>	
一、电镜摄影前的准备工作·····	130
二、透射电镜照像技术·····	130
三、扫描电镜照像技术·····	131
四、衡量电镜底片的客观标准·····	133
五、电镜摄影的注意事项·····	133
<b>第二节 电镜暗室技术的工作内容及基本设备</b>	
一、电镜暗室技术的工作内容·····	134
二、暗室的基本设备与常用器材·····	134
<b>第三节 电镜底片的冲洗</b>	
一、显影·····	135
二、停影·····	138
三、定影·····	138

四、水洗 .....	139
五、干燥 .....	139
<b>第四节 电镜照片的洗印与放大</b>	
一、电镜照片的感光材料 .....	139
二、印相技术 .....	139
三、放大技术 .....	140
<b>第五节 翻拍技术与幻灯片的制作</b>	
一、翻拍技术 .....	144
二、幻灯片的制作 .....	147
<b>第六节 电镜底片、照片常见问题及修片技术</b>	
一、电镜底片、照片常见问题 .....	151
二、修片技术 .....	153
<b>第七节 暗室技术人员的职责范围和暗室工作注意事项</b>	
一、电镜暗室技术人员的职责范围 .....	154
二、暗室工作注意事项 .....	154
<b>第五章 细胞超微结构与功能</b> (应国华 马洪骏 王更新 宋春风 杨雅改)	
<b>概 论</b>	
<b>第一节 细胞核</b>	
一、间期细胞核的一般结构 .....	158
二、细胞核的化学组成 .....	158
三、核被膜 .....	159
四、核仁 .....	161
五、核质 .....	163
六、核内包含物 .....	164
<b>第二节 细胞膜及其特化结构</b>	
一、膜的结构与功能 .....	165
二、细胞衣 .....	171
三、基板 .....	171
四、细胞连接 .....	172
五、微绒毛 .....	175
六、纤毛 .....	176
<b>第三节 内质网</b>	
一、内质网的结构与化学组成 .....	177
二、内质网的类型及功能 .....	178
<b>第四节 高尔基复合体</b>	
一、高尔基复合体的形态结构与化学组成 .....	180
二、高尔基复合体的功能 .....	181
<b>第五节 线粒体</b>	

一、线粒体的结构 .....	182
二、线粒体的功能 .....	184
三、线粒体的半自主作用 .....	185
<b>第六节 核糖体</b>	
一、核糖体的形态结构 .....	186
二、核糖体的存在形式与功能 .....	186
<b>第七节 溶酶体</b>	
一、溶酶体的形态结构及特征 .....	187
二、溶酶体的种类 .....	187
三、溶酶体的性质 .....	189
四、溶酶体的功能 .....	189
五、病理情况下的溶酶体 .....	192
六、溶酶体的形式与更新 .....	193
<b>第八节 微体</b>	
一、微体的结构和性质 .....	193
二、微体的功能 .....	194
三、微体的来源和更新 .....	194
<b>第九节 中心粒</b>	
一、中心粒的分布及光镜结构 .....	194
二、中心粒的超微结构 .....	195
三、中心粒的功能 .....	195
<b>第十节 微管</b>	
一、微管的形态结构 .....	196
二、微管的类型 .....	196
三、微管的功能 .....	197
四、微管的发生 .....	197
<b>第十一节 微丝</b>	
一、微丝的分类 .....	197
二、微丝的超微结构 .....	198
三、微丝的功能 .....	198
<b>第十二节 包含物</b>	
一、糖原 .....	199
二、蛋白质包含物 .....	199
三、脂类 .....	199
四、色素颗粒 .....	200
<b>附录部分</b>	
附录 I . 参考文献 .....	201
附录 II . 电镜发展史 .....	215

### 附录 III. 常用溶液的配制及配方

一、溶液浓度计算法 .....	217
二、生理盐水的配制 .....	217
三、缓冲液的配制 .....	218
四、固定液的配制 .....	221
五、常用的包埋剂及其配方 .....	222
六、染色液配方 .....	224

### 附录 IV. 电镜常用试剂之危险性 .....

### 附录 V.

一、超微结构长度单位换算表 .....	229
二、真空度单位的换算 .....	229
三、放大倍数—标尺长度换算表 .....	229

### 附录 VI. 中英文名词缩写对照 .....

### 附录 VII 图版与说明 .....

图 1. 细胞(FE)	图 25. 纤毛(SEM)
图 2. 细胞(SEM)	图 26. 纤毛
图 3. 细胞核	图 27. 静纤毛(SEM)
图 4. 核孔(FE)	图 28. 静纤毛(SEM)
图 5. 核孔(FE)	图 29. 独纤毛
图 6. 核孔	图 30. 细胞孔(FE)
图 7. 细胞核断面(SEM)	图 31. 细胞孔(FE)
图 8. 核内假性包含体	图 32. 神经髓鞘(FE)
图 9. 核内假性色含体	图 33. 神经髓鞘(FE)
图 10. 连接复合体	图 34. 分泌颗粒
图 11. 紧密连接(FE)	图 35. 分泌颗粒(FE)
图 12. 紧密连接(FE)	图 36. 板层状黄体颗粒(FE)
图 13. 镶嵌连接(FE)	图 37. 板层体(SEM)
图 14. 镶嵌连接(FE)	图 38. 粗面内质网
图 15. 缝管连接(FE)	图 39. 粗面内质网
图 16. 心肌闰盘	图 40. 粗面内质网(SEM)
图 17. 微绒毛	图 41. 粗面内质网(FE)
图 18. 微绒毛(SEM)	图 42. 滑面内质网
图 19. 微绒毛(FE)	图 43. 滑面内质网(SEM)
图 20. 微绒毛(SEM)	图 44. 高尔基复合体
图 21. 微绒毛(SEM)	图 45. 高尔基复合体(SEM)
图 22. 微绒毛(FE)	图 46. 线粒体
图 23. 微绒毛	图 47. 线粒体(SEM)
图 24. 纤毛	图 48. 线粒体(SEM)



图 49. 肌微丝与肌浆网  
图 50. 溶酶体  
图 51. 溶酶体与多泡体  
图 52. 微体  
图 53. 微管  
图 54. 胶原原纤维  
图 55. 糖原及微丝  
图 56. 脂滴与原纤维  
图 57. 细胞内褶(FE)  
图 58. 管道铸型 SEM 图像  
图 59. 管道铸型 SEM 图像

图 60. 盐酸消化法 SEM 图像  
图 61. 盐酸消化法 SEM 图像  
图 62. 盐酸消化法 SEM 图像  
图 63. 放射自显影电镜图像  
图 64. 细胞化学电镜图像  
图 65. 细胞化学电镜图像  
图 66. 细胞化学电镜图像  
图 67. 快速冷冻蚀刻(复型)电镜图像  
图 68. 轮状病毒负染电镜图像  
图 69. 腺病毒负染电镜图像  
图 70. 超低倍超薄切片 TEM 图像

# 第一章 电子显微镜

应国华 李向印 刘贵生 王 丽

电子显微镜(简称电镜)是十九世纪三十年代最突出、最伟大的科学成就之一,其应用技术的飞跃发展,为医学、生物学各个研究领域开辟了广阔前景。电子显微镜具有高分辨、直观性的特点,作为观察微观世界的眼睛,是其它科学仪器所不能取代的。

本章将简要介绍电镜的基本类型及特点,与电镜有关的几个基本概念,透射与扫描电镜的原理、结构及操作,电镜与光镜的比较等问题。

## 第一节 电镜的基本类型及特点

电子显微镜是以电子束作为“光源”,利用电磁透镜成像,并与一定的机械装置、电子和高真空技术相结合,所构成的现代化、综合性精密电子光学仪器。概括起来,电镜的基本类型包括以下几种:

### 一、透射式电子显微镜(图 1.1-1)

(一)概念 这是一种电子束透过样品而直接成像的电镜,其电子束的加速电压一般为 $50\sim 100\text{kV}$ ,样品厚度 $1\sim 100\text{nm}$ (一般为 $50\text{nm}$ 左右)。

#### (二)特点

1. 分辨率极高 点分辨率 $0.2\sim 0.3\text{nm}$ ,晶格分辨率 $0.1\sim 0.2\text{nm}$ ,放大倍数可达80万倍。

2. 制样技术 以超薄切片法为主,此外还有负染法、投影法、复型法等,样品制备比较复杂。

3. 图象特点 视场较小,一般为二维结构平面图像。但也可有超低倍图象,这时视野较大。

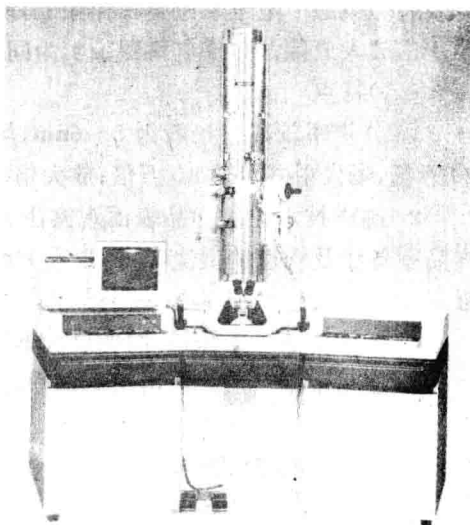


图 1.1-1 日立 H-7000 型透射电镜  
(加速电压  $125\text{kV}$ , 点分辨率  $0.24\text{nm}$ , 晶格分辨率  $0.14\text{nm}$ , 放大倍数  $50\times\sim 600,000\times$ )

4. 应用范围 广泛用于研究生物样品局部切面的超微结构,大分子结构以及冷冻蚀刻复型膜上的生物膜超微结构等。

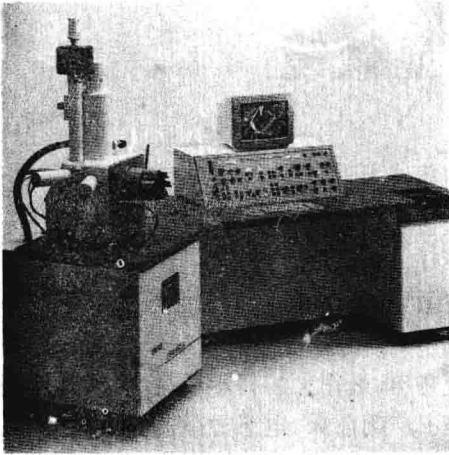


图1.1-2 德国 OPTON 公司 DSM960A 型  
扫描电镜(加速电压 490V~30kV,分辨率 5nm,放  
大倍数  $3\times\sim 200,000\times$ )

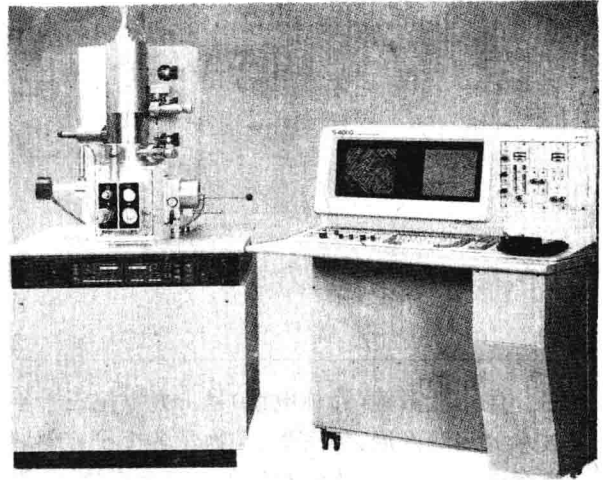


图1.1-3 日立 S-4000 型扫描电镜  
(场发射式,加速电压 1~30kV,分辨力  
1.5nm,放大倍数  $20\times\sim 300,000\times$ )

## 二、扫描式电子显微镜(图 1.1-2、图 1.1-3)

(一)概念 电子束照射在样品上,产生二次电子等信息,而后再将二次电子等信息收集起来放大成像。扫描电镜图像实为间接成像,其加速电压在 1~30kV 之间。

### (二)特点

1. 分辨率较高 一般为 3~6nm,场发射式扫描电镜可达 1~2nm;放大倍数一般为 20 万倍,场发射式可达 40 万倍;放大倍率连续可调。

2. 制样技术 以样品表面观察法为主,此外还有冷冻割断内部结构观察法、高分辨样品制备法及管道铸型法等;可观察大而厚的样品,制备方法较为简单,样品的适应性较强。

3. 图像特点 景深长,图像层次丰富,立体感强,为三维结构图像。

4. 应用范围 广泛应用于生物样品表面及其断面立体形貌的观察,并具有多种分析功能。

## 三、分析型电镜(图 1.1-4)

(一)概念 为装有扫描附件、能谱仪(EDX)和波谱仪(WDX)的透射电镜。

(二)特点 除具有透射电镜和扫描电镜性能以外,还可对样品微区内(几个  $\mu\text{m}^3$ )的元素,进行定性、定量综合分析。

## 四、超高压电镜(HVEM)

(一)概念 为加速电压在 500kV 以上的透射电镜(图 1.1-5),目前世界上超高压电