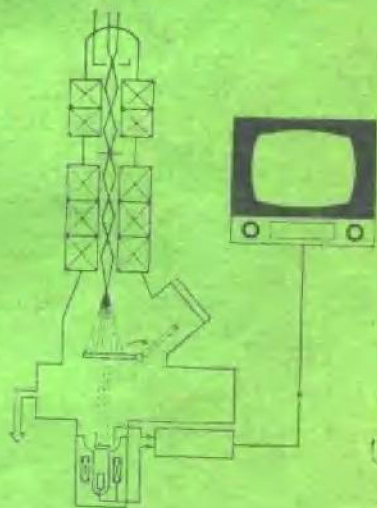


〔日〕东昇 著

电子显微镜的世界

011



科学出版社

79.871
316

电子显微镜的世界

(日) 东 昇 著

董 炯 明 译



内 容 简 介

本书是一本介绍电子显微镜和在电子显微镜下所看到的细胞、病毒等的科学普及读物。全书共分十四章，前几章，以浅近易懂的语言，深入浅出地介绍了从光学显微镜到电子显微镜的发展过程，以及电子显微镜的基本原理。后几章，讲述了利用电子显微镜来观察研究细胞、机体组织、病毒以及原子等微观世界的情况。

本书可供广大工农兵及青年阅读，也可供有关科技人员作为参考读物。

東 昇 著

電子顯微鏡の世界

岩 波 書 店

1973

电子显微镜的世界

〔日〕东 昇 著

董 炯 明 译

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

北 京 印 刷 二 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1977年2月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1977年2月第一次印刷 印张：4 1/2

印数：0001—74,500 字数：84,000

统一书号：15031·128

本社书号：696·15—4

定 价： 0.33 元

序

很早就想写一本关于电子显微镜的世界的小册子。但最后完成此稿,却还是在前不久的一个晚上。

电子显微镜下的世界是“埃”的世界。一埃仅仅是一毫米的一千万分之一。读者们能想象得出,在电子显微镜下展现出来的以埃作单位的世界,将是一个怎样的极微世界。

今天,在电子显微镜的帮助下,不用说观察数百埃至数十埃的分子世界,就连三埃的世界也可以用肉眼直接进行正确无误的观察。三埃正好与原子的大小相当,而且是较小的原子。所以说,人类已迎来了用肉眼直接观察逐个原子的时代。

如果回顾一下,以 1932 年创制成功的只有 12 倍放大率(与放大镜的放大倍数相当)的世界上第一台电子显微镜为起点,以后,几乎动员了自然科学各个领域的科技工作者,为之不断探索和研究,终于获得了能识别原子真面目的具有数百万倍放大率的优质电子显微镜。电子显微镜的分辨本领已经迫近了它的理论极限值。然而,这三十三年间走过来的道路是一条布满艰辛的不平坦的道路。读者将在本书的前半部分了解到这一点。

从光学显微镜的世界,转变、发展到能观察分子、原子的电子显微镜的世界,在这个飞跃过程中必定是解决了某些技

术上的难题。到底解决了哪一些难题呢？在本书的前半部分也作了稍为详细的叙述。

这种能见到原子的崭新的“科学之眼”，给我们阐明了包括病毒在内的，从低等动植物直至人类，也包括有机与无机物质，在物质深处隐藏着的极有规则的分子水平的结构。这可以称之为朴素的自然界的“极微之美”。读者将在本书的后半部分领略到这个“极微之美”。当目不转睛地看着这瑰丽无比的自然界的丰姿，没有一个人会不感到神往。

凡是物质的“结构”，好象总是适应其“功能”而组成必要而且充分的结构。电子显微镜下显现出来的分子水平上的结构，不仅仅是单纯的“结构”，而是与分子水平上的“功能”直接相联。这不随电子显微镜学者是否以物质的“功能”为研究目标而转移。尽管光学显微镜和电子显微镜都是显微镜，但电子显微镜所具有的特点是光学显微镜的研究成果无法与之比拟的。如果，这里仍沿袭(光学显微镜时代的)形态学的经典表示形式，那么就应改称为生物化学乃至物理化学的“超形态学”了。

最近，奋战在化学、生物化学或生物物理学的第一线的科学工作者都用电子显微镜从事他们的研究工作。这是十分引人注目的，是在光学显微镜时代所看不到的情况。可以说，今天的化学家、生物化学家和生物物理学家都随时随刻注意着在电子显微镜下取得的每一个新成果。电子显微镜已成为今天科学研究中极为有力的武器。

所谓结构，是“功能”的别名。对于结构与“功能”的相互

关系这一复杂的问题，我们将通过一些有趣的例子作尽可能通俗易懂的说明。细心的读者将在本书的后半部分了解到这一些。

即使是随便浏览一下，当你看到在电子显微镜下展现出来的微观世界的“极微之美”，也将会使你产生一种赏心悦目的感觉。

东 昇

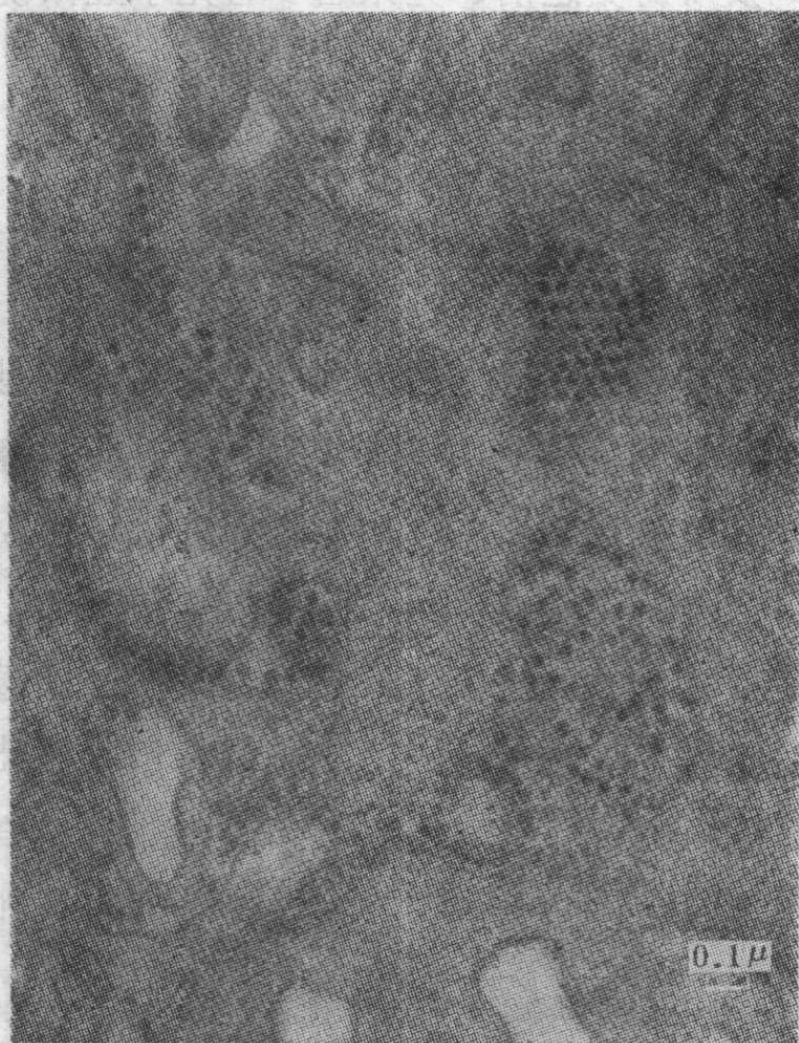
一九六五年春

目 录

序

一	从光学显微镜到电子显微镜	1
二	电子显微镜的原理	10
三	电子显微镜的发明和制造	21
四	我的研制历程	26
五	电子显微镜的观察极限	36
六	样品制备方法的进步	39
七	被重新描述的细胞的基本结构	57
八	机体组织	70
九	观察分子	81
十	观察病毒繁殖的机制	99
十一	在电子显微镜下探索生命的秘密	116
十二	肉眼见到的原子世界	120
十三	150 万伏电子显微镜的威力	123
十四	电子显微镜的未来	129
	译后记	134

一 从光学显微镜到电子显微镜



在细胞质中形成的日本脑炎病毒晶体(右上)。
构成晶体的病毒粒子具有很整齐的纵横排列

这张电子显微镜照片显示出日本脑炎病毒在试管内培养的猪肾细胞上进行繁殖的地方。病毒粒子呈六角形,其大小为380埃(这是著者确定的值)。由于粒子大小一致,可看到照片右上方所示的二维结晶构造。从进一步放大的像(卷首图之二)来看,粒子内部的电子密度大(颜色深暗),其外侧隔着一层明亮的空隙,这里存在着膜(称做“界限膜”)。

观察微小物体的历史是从放大镜开始的，然后进入显微镜的时代。当光学显微镜达到了分辨本领的极限时，仍然满足不了人们对于观察愈来愈小的微观世界的强烈要求，这样便促成了电子显微镜的发明。我们在介绍电子显微镜的原理和回顾它的发展历史之前，先来看一看光学显微镜的发展及其界限。

光学显微镜的发展

对于微小物体能予以方便地观察的最简单工具是放大镜。但是放大镜的放大能力毕竟非常有限。显微镜的设计思想也很简单，就是用观察物体的放大像来代替用放大镜直接观察的物体本身。为此，需要有两块透镜组合起来。首先用第一块透镜产生物体的放大像，然后通过第二块透镜来看这个放大像。第二块透镜叫目镜，所起的作用与放大镜完全一样，它实际上无非就是一个放大镜，所以是非常简单的。但是作为物镜的第一块透镜，为了获得今天我们所达到的优秀性能，经历了一个世纪以上的时间。

显微镜的进步，正在于这两块透镜的组合。由于映入人眼的物体像的放大率是这二块透镜放大率之积，这样就大幅度地提高了放大能力。如此说来，为了进一步提高放大率，只要增加透镜的数目就行了。然而，放大率一增大，便将遇到透镜像差这个障碍。

所谓透镜的像差，是透镜本身存在的缺陷。例如，使所成

的像产生畸变或弯曲,点像不成为点以及有某种程度的扩展,等等。所以,当放大率增大时,透镜的这些缺陷也随之扩大,物像也就变得模糊起来,这样就失去了增大放大率的意义。

要完全消除透镜的像差是做不到的。不过,今天的技术水平有可能使像差保持一个很小的值,从而使现代光学显微镜可达到一千多倍的放大率。

光学显微镜的界限

如前所述,通过提高和改善透镜的性能(使透镜的像差减小到接近极限值),可以使光学显微镜的放大率达到1000—1500倍左右。这个放大率是光学显微镜放大本领的极限。不管再如何来改良透镜,也不可能进一步提高放大率了。否则映像将变得极不清晰。这个结论,是埃贝、海仑霍尔茨等人在十九世纪中叶通过研究而获得的。

那么,光学显微镜的性能为什么会有这个难以超越的界限呢?决定这个界限的因素是什么?问题并不出在显微镜本身,而在于作为成像媒介的光线身上。

光线是具有一定波长的波。为了便于叙述,我们把湖面上产生的水波比拟成光波,把浮露在湖面上的岩石比拟成利用显微镜看到的粒子。当在水波的行进方向上有一块尺寸大于水波波长的岩石时,岩石的后方会出现一块形如岩石的平静无波的地方。与此相反,如果遇上一块尺寸小于水波波长的岩石时,水波会绕过它,后面不产生形如岩石的平静无波的

地方,就象没有遇到什么障碍似的。光波遇到粒子也存在着这种现象。当粒子大于光的波长时,形成粒子的阴影;当粒子小于光的波长时,不产生粒子的阴影,换言之,就是看不到这个粒子。

因为光学显微镜是利用光线来看物体的,为了要看到物体,物体的尺寸就必须大于光的波长。从理论上说,是无法看到尺寸小于光的波长的物体的。光的波长所给予光学显微镜的这种无法克服的限制,就是光学显微镜所以会有界限的原因。

显微镜的界限可用“分辨本领”来作定量的表示。观察相邻两个物点时,随着两点的接近,逐渐变模糊而直至分辨不清两个点,其道理与上述的水波和岩石的关系是一样的。所谓分辨本领,就是显微镜能够分辨得出尽可能靠近的两点的能力。把在这样意义上的两点间的最短极限距离用来表示分辨本领。

根据埃贝作出的方程式表明,光学显微镜的分辨本领不超过 200 毫微米。这个值是通过严密计算得出的理论值,它同由实验得出的极限值相一致。在实际观察中,正好处在能辨别细菌中一些最小的细菌和立克次氏体这样的界限附近。

分辨本领和放大率的关系

利用显微镜观察物体时,把物体的像放大到超过肉眼已能详细辨认细节的程度是没有必要的。所以,有效放大率应

该是,把由显微镜的分辨本领所分辨开的两点间的距离,放大成相当于人眼分辨本领的距离。这样,便可定义如下:有效放大率是人眼分辨本领除以显微镜分辨本领之值。因为人眼的分辨本领大致为 0.1 毫米,所以分辨本领为 200 毫微米的显微镜,它的有效放大率是 $0.1 \times 10^6 / 200 = 500$ 倍。

但在实际使用上,为了操作方便起见,通常把前面定义的有效放大率再提高一至二倍,这样可使操作者感到得心应手。这是因为没有必要使眼睛经常处于最高分辨能力的状态(否则易使眼睛疲劳)。举例来说,直径 200 毫微米的粒子,放大 500 倍后成为 0.1 毫米大小的像,如放大 1000—1500 倍,则造成 0.2—0.3 毫米的像。分辨本领大致为 0.1 毫米的肉眼,观察 0.2—0.3 毫米的像就显得毫不吃力了。

埃 贝 的 推 想

埃贝等人从理论上证明了决定光学显微镜分辨本领界限的因素是光线的波长(衍射效应),这个极限值如前所述,在 200 毫微米左右。实验证实了这个结论。不管光学显微镜做得如何精巧,都无法突破这个极限。

确立了光学显微镜的基础理论、然后促成了复消色差透镜的发展并奠定了紫外显微镜基础的埃贝,差不多在一个世纪以前(1878 年)就发表了如下具有科学预见的话:

“在今天的科学视野中,我们的视觉所能达到的观察范围,由于受到光的本性的制约而具有某种界限。由今天的知

识获得的任何一种武器都不能突破这个界限。不言而喻,在这个世界上,凭现在我们所掌握的知识,自然界还存在着许多为我们想象不到的东西,然而,今天无法突破的界限,到明天有可能用崭新的方法来超越它。这是我的信念。我相信,将来在追究物质世界的本质时,必然会出现远比今天的显微镜更强有力的有效观察器械。但是这种器械,除了它的名称以外,将与显微镜没有共同之处。”

超越光学显微镜界限的方法

埃贝从理论上表明,如果利用波长更短的波来作为像的形成源,显微镜的分辨本领有可能进一步提高。自从十九世纪导出这个理论以来,人们一直在致力于制作尝试用比普通光线波长更短的波作为光源的显微镜。

如所周知,光线与无线电波一样,都是一种电磁波。表 1 所列的是各种电磁波的波长。波长范围十分宽广,从最长的 100 万毫米到最短的 1 亿分之 1 毫米。在可见光线 (7600—

表 1 各种电磁波的波长

电 磁 波	波 长 (埃)
电 波	10,000,000,000,000—10,000,000
红 外 线	5,000,000—10,000
可 见 光 线	7,600—3,900
紫 外 线	3,900—130
X 射 线	100—0.5
γ 射 线	1—0.05

3900 埃)后面,波长按紫外线(3900—130 埃),X 射线(100—0.5 埃)的顺序缩短。

紫 外 显 微 镜

读者们从表中不难看出,紫外线具有提高显微镜分辨本领的可能性。紫外线的波长比可见光线的波长短,这固然是一个必要条件,但要实际制作出显微镜,还需要有另一个重要的条件,即必须能制作出适宜于紫外线用的透镜。

为此,需要寻找适宜于紫外线用的透镜材料。紫外线不能通过普通的玻璃透镜。例如,火石玻璃只能透过波长比 390 毫微米长的波,紫外玻璃所能透过的波长充其量达 300 毫微米。作为初期的一个有意义的尝试,是廿世纪初恰伊斯制作的由 275 毫微米的单色紫外光源与结晶石英透镜组合而成的紫外显微镜,镉电极之间的高压放电作为放出单色紫外线的光源。此后经过改良,紫外显微镜的分辨本领达到了 100 毫微米。就是说,与普通的光学显微镜相比,分辨本领提高了一倍。但不可能再进一步提高了。它还是满足不了生产和科研的需要。

这里让我们稍微离开一下话题。尽管从提高分辨本领的角度来说,紫外显微镜并没有取得很大的成绩。但是进入四十年代以后,紫外显微镜开辟了其它很有意义的领域。

某些化学物质,特别是核酸(其中的嘌呤环和嘧啶环)在紫外线区域显示出特殊的吸收效应,所以使用紫外显微镜可

以观察到这些化学物质的存在。例如,可以用来调查研究细胞内核酸的分布状况和细胞发育中核酸的变化等。它还可以容易地区别出没有被染色的活细胞中的细胞质和细胞核。在今天说来,紫外显微镜的价值并不在于提高分辨本领方面,而在于利用这个吸收效应来研究某些细胞成分,成为生物学研究中的一个锐利武器。

电子束和电子显微镜的诞生

埃贝的理论和实验都表明,利用波长愈短的波,分辨本领就越高。然而,如前所述,要利用电磁波来大幅度提高分辨本领看来是完全没有希望了。埃贝曾说,将来或许会有崭新的方法来超越光学显微镜的界限。如果能设法找到和利用一种波长比电磁波短得多的波,就会打开一个新的局面来。

进入二十年代后,发现到电子流(即电子束)也具有波动的性质。发现者是法国科学家德布罗意,所以也有人把它称作德布罗意波。这种电子波的波长远比光波的波长短,也比X射线的波长要短。于是人们就想到是不是可以用电子束来代替光波?这是电子显微镜即将诞生的一个先兆。

为了便于对电子显微镜的理解,这里我们对电子束作一简单的介绍。电子束与电视机中阴极射线管(显象管)发射出来的阴极射线是一样的东西。

电子从被加热到高温的金属丝表面飞出来。因为电子带有负电荷,所以如果施加一个正电压,电子即能被加速到与电

压相应的速度。如图 1 所示,加热位于 K 处的金属(例如把钨丝弯曲成如图所示的 V 字形),在钨丝的前方设置一块有小孔的金属板 A,如在 A 上施加一个正电压,从炽热钨丝中飞出的带有负电荷的电子就往 A(阳极)方加速前进,通过 A 的小孔时,电子运动速度大致与电压的平方根成正比。



图 1 电 子 枪

开有小孔的圆筒(圆筒形控制极)包围着 V 字形钨丝(阴极),当在圆筒上施加一个比阴极稍低的负电压时,能使电子成为细束射出圆筒。图 1 所示的装置总称为电子枪,它是电子显微镜中作为成像的电子束的发生源。

那么,电子束的波长有多短呢? 电子束的波长与其运动速度成反比。因为电子束的运动速度是与电压的平方根成正比的,所以电子束的波长与电压的平方根成反比。

电子束的波长如表 2 所示,远比可见光线和紫外线的波长短。这正是被显微镜研究者看

表 2 波 长 的 比 较

名 称		波 长 (埃)
可见光线		7,600—3,900
紫 外 线		3,900—130
电 子 束	100 伏	1.23
	10,000 伏	0.122
	100,000 伏	0.0387

中的地方,也是电子显微镜得以打破光学显微镜分辨本领极限的关键所在。

二 电子显微镜的原理



天花病毒的幼弱形。箭头所指的是病毒的核

这张照片显示了天花病毒的发育过程。左面两个病毒粒子是均质的。但在右上方那一个中，如箭头所示，粒子内部形成黑块(电子密度大)。这个黑块叫做核样体。这表示在其发育过程中比左面两个粒子进了一步。如发育更进一步，在这个核样体周围将形成双层膜，至此，便成了所谓成熟型。