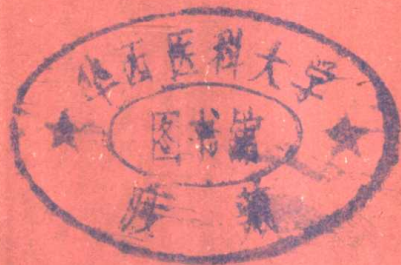


# 细胞超微结构基础

裴正礼 编



兰州医学院

1986

56

# 前 言

本世纪30年代电子显微镜发明以来的半个多世纪内，对于细胞的超微形态结构、大分子组成及其功能的深入研究，已成为生物医学领域各个分支学科继续发展和现代化的一项必不可少的内容。因此、细胞超微结构学，也像组织学那样，成为医学各专业学科都需要的基础知识。考虑到细胞超微结构学应单独视为医学基础课之一，于1985年开设了“细胞超微结构基础”课，作为医疗系学生的选修课，各学科研究生的必修课，及以教师的更新知识课；并为此编写了“细胞超微结构基础”一书作为教材。

本书有三个主要内容：电子显微镜的基本原理和主要结构、电子显微镜医学用样品的制备技术和细胞超微形态结构的基础知识。为了有助于学员在实际工作中能够应用所学基础知识，本书除了描述细胞正常的超微形态结构以外，还编入了常见的生理和病理的变异。

由于知识水平不高，又缺乏实践经验，所编书中缺点和错误在所难免，希望批评指正。本书编写过程中，在底稿抄写、校阅等方面得到卜积康等同志的大力协助，谨致谢意。

编 者

兰州医学院

兰州医学院印刷厂印

1986年元月

# 目 录

第一章 导言	
一、分辨能力	1
二、细胞超微结构	2
三、电子显微镜技术中所用的度量单位	4
第二章 电子显微镜的基本原理和主要结构	6
第一节 电子显微镜的工作原理	6
一、复式光学显微镜和电磁式电子显微镜的比较	6
二、热电子发射	8
三、电子透镜	9
四、电磁透镜的缺陷	11
五、场深(景深)和焦深	13
六、电子显微镜中的成像原理	13
第二节 电子显微镜的结构	17
一、镜筒	20
二、真空系统	27
三、供电系统	29
四、JEM-100CX电子显微镜成像操作程序简介	31
第三章 电子显微镜生物医学样品制备技术概述	36
第一节 准备工作	38
第二节 取材和固定	43
一、取材	43
二、固定和固定液	45
三、组织块染色	52
第三节 脱水	53
第四节 浸透和包埋	54
一、环氧树脂包埋剂	55
二、浸透和聚合	58
第五节 超薄切片技术	60
一、载网和支持膜	61
二、超薄切片刀	62
三、浮片槽(刀槽,收集槽)	68
四、超薄切片机	70
五、半薄切片	71

	六、包埋块的修整	75
	七、超薄切片	79
	八、超薄切片的常规染色	92
	九、带有超薄切片的载网的保存	96
第六节	一般生物组织常规超薄切片制备程序摘要	96
第七节	生物样品的其它制备技术	98
	一、负染色技术(阴性反差染色)	98
	二、扫描电子显微镜样品制作技术	100
	真空喷镀技术	106
	喷碳技术	107
	三、冷冻蚀刻技术	108
第四章	细胞超微结构基础	115
第一节	概述	115
	一、细胞的功能和分化	118
	二、细胞超微结构的化学组成	119
	三、电子显微镜观察的基本要领	124
第二节	细胞核	128
	一、细胞核的形态	129
	二、核被膜和核孔	131
	核纤维层	135
	三、核仁	135
	四、染色质	139
	染色体	142
	五、核基质及以染色质间颗粒和染色质周围颗粒	148
	六、核内包含物	149
	七、核体	151
第三节	细胞膜	152
	一、膜的结构	153
	二、膜的主要功能	157
	三、细胞外衣和基层	160
	游离表面的外衣	161
	基层	161
	外层	164
	基层的变化	164
	球状微粒	165
第四节	细胞连接	166
	一、紧密连接	167

二、中间连接	169
三、桥粒	169
四、裂隙连接	170
五、交错对合或镶嵌连接	171
瘤形成中细胞连接的改变	171
结缔组织和造血组织内的细胞连接	172
第五节 细胞表面的特化结构	173
一、微绒毛和静纤毛	173
微绒毛的形态变化	174
二、细胞内褶	175
三、纤毛和鞭毛	176
少数纤毛	179
非典型性纤毛	179
四、细胞表面的其它突起	180
1、伪足或假足	181
2、毛细管白血病里的细胞突起	181
3、蠕虫样伪足	182
4、球棒状伪足	182
5、淋巴细胞的尾状伪足	183
6、足突细胞的足突	183
五、细胞内摄活动	184
1、内摄作用或内吞作用	184
蠕虫样微饮液作用	186
郎罕氏细胞颗粒	186
2、外放作用	187
3、内移作用	187
第六节 细胞质	188
一、线粒体	189
1、线粒体的形态结构	190
2、线粒体的化学成分及多种酶系	193
3、线粒体的主要功能	195
4、线粒体分布及其它	196
5、线粒体嵴	197
6、线粒体形态的变异	200
肿胀或水肿的线粒体	200
线粒体的肥大和增生	203
7、新生物里线粒体的变化	205

8、线粒体内包含物	206
9、线粒体对缺氧性损伤的反应	208
二、核糖体	209
三、内质网	212
1、糙面内质网或“有颗粒内质网”	214
2、滑面内质网或“无颗粒内质网”	216
3、内质网扩张和囊泡化	219
4、糙面内质网脱粒和多核糖体解聚	220
5、内质网的增生和肥大	221
6、内质网同心膜体	222
7、内质网里的包含物	223
8、细胞分化和瘤形成中的内质网和核糖体	225
9、细胞致死性缺血损伤时内质网的变化	226
四、环孔板	226
1、胞质内环孔板	227
2、核内环孔板	227
3、功能	227
4、形态发生	228
五、高尔基复合体	228
1、高尔基复合体的超微结构	229
2、高尔基复合体的功能	231
(1)与细胞分泌有关	231
分泌的细胞学基础	232
①分泌的基本的过程	232
②各种分泌细胞活动的特殊性	233
(A)内分泌细胞的分泌	233
(B)粘液颗粒和浆液(酶原)颗粒	233
(C)脂质和脂蛋白的分泌	235
(D)肾上腺素和去甲肾上腺素颗粒	236
(E)肥大细胞和嗜碱性白细胞的颗粒	236
(F)浆细胞的分泌	237
(2)与溶酶体的形成有关	237
3、细胞分化和瘤形成时的高尔基复合体	238
4、高尔基复合体形态的异常改变	238
5、正常和新生物的APUD颗粒	239
(1)胰岛及其肿瘤内的APUD颗粒	240
(2)类癌瘤里的APUD颗粒	243

六、溶酶体	245
1、溶酶体的超微形态结构	246
2、溶酶体的分类	247
(1)初级溶酶体	247
(2)次级溶酶体	247
3、几种常见的次级溶酶体	251
(1)多泡小体	252
(2)脂褐素	252
(3)髓鞘形像和髓鞘小体	253
(4)噬红细胞小体和噬红细胞溶酶体	254
(5)含铁小体	255
4、溶酶体的功能	255
5、有粒白细胞内的胞质颗粒	257
(1)嗜中性白细胞内的溶酶体	257
(2)嗜酸性白细胞内的溶酶体	258
6、单核细胞和巨噬细胞内的溶酶体	259
7、溶酶体在细胞超微结构病理学上的意义	261
(1)溶酶体膜的稳定性	261
(2)自溶	262
(3)溶酶体过载	263
(4)溶酶体与肿瘤	264
七、微体	264
1、微体的超微结构	264
2、微体数目、大小和形态的病理性变化	266
八、中心粒	267
九、杆状微管小体	270
十、黑素体	271
十一、微管	275
十二、微丝	276
1、肌微丝	277
2、非肌微丝	277
十三、胞质包含物	279
1、糖原	279
2、脂质	281
3、蛋白质	282
4、病毒包含物	282
主要参考资料	283

# 第一章 导言

## 一、分辨能力

在微观领域里，人眼能够见到的最小物体的能力是有限的。在适宜条件下，如环境的照明、物体与背景之间的黑白对比（“反差”）、物体与人眼之间的距离（“视距”），……等等，都处于最佳时，人眼对25公分远处的两个点（或两条线）能够辨认出为两个个别点（或线）间的最短距离一般为0.2毫米，不能小于0.1毫米。相距0.2毫米以下的两个点，由于物理学的原因被看成是一个点。人们把正常眼睛能进行正常工作的最短距离——25公分定义为“明视距离”（Distance of distinct vision）或称近点；把两个点（或两条线）仍能分辨出是两个点时，它们之间的最短距离——0.2毫米定义为人眼的“分辨能力”或“分辨本领”（Resolving power），通常又称“分辨率”（Resolution）。

图像的质量通常以分辨率来表明。严格地说，仪器的“分辨能力”和照片上相的“分辨率”不同。一台分辨能力为5埃的仪器在大多数情况下，拍摄不出5埃细节的照片。这是因为制造厂家所给出的仪器的分辨本领，只有在仪器的最理想条件（如保证仪器处于最佳工作状态，用特殊制备的检测标本，由技术最熟练，包括照像技术在内的操作者操作）下，才能表现出来。在照片上看不到5埃的细节，并不表明仪器达不到5埃的分辨能力。实际上，在常规电镜观察中，用常规技术制作的样品（标本），在电镜常规操作下所拍摄的照片的相的分辨率往往要比电镜的分辨能力低的多，对于生物医学样品来说，特别是这样。因此，分辨能力为一台仪器所能达到的最佳性能，而分辨率则表示一张照片的质量。由此可见，评价一台显微镜的性能时，分辨能力应视为一项最主要的指标。

随着人类社会生产力的提高，科学技术的不断发展，人类有可能借助于人造工具——仪器以增进自己探索微观世界的的能力，分辨出人眼分辨能力所不及的细节，并把它放大到人眼可以看到的的地步。十七世纪中叶，光学显微镜（Optical microscope，简称光镜，OM）的发明，使人眼第一次看到了过去从未见到过的软木塞的细微构造，蜂窝样的小房，即“细胞”（Cell）。以后，把用人眼观察不到的物体细微结构分辨出来并放大到视力所及范围以内的工具，统称为“显微镜”（Microscope）。

光学显微镜问世以来，经过三百多年的改进和发展，其分辨能力达到了物理学的理论极限，约为0.2微米，不能小于0.1微米。但是，相距0.2微米的两个点还需放大1,000倍（即0.2毫米）才能成为人眼所见的像点。计算显微镜“放大倍数”（Magnification，或称放大率，放大倍率，倍率，简称M）的公式如下：

$$M = \delta(\text{眼}) / \delta(\text{仪器})$$



式中  $\delta(\text{仪器})$  为显微镜的分辨能力,  $\delta(\text{眼})$  为人眼的分辨能力。一台分辨能力为 0.2 微米的光学显微镜, 其放大倍数  $M = 0.2 \text{ 毫米} / 0.2 \text{ 微米} = 0.2 \times 1,000 \text{ 微米} / 0.2 \text{ 微米} = 1,000$  倍。用这个公式求得的放大倍数通常称为“有效放大倍数”  $M(\text{有效})$ 。有效放大倍数取决于显微镜的分辨能力, 在  $\delta(\text{眼})$  不变时,  $\delta(\text{仪器})$  愈小,  $M(\text{有效})$  愈大。反之, 若  $\delta(\text{仪器})$  一定 \* 时, 比  $M(\text{有效})$  更高的放大倍数, 只不过把显微镜分辨不清楚的细节 (一个模糊的斑点) 再放大, 在人眼视网膜上得到一个仍然模糊不清的放大图像而已, 这样的放大倍数, 又称“空放大”。由此可见, 具有高分辨能力的放大倍数才是有意义的, 而评价一台显微镜的优劣时, 分辨能力比放大倍数更重要。

二十世纪三十年代, 克诺尔 (Max Knoll) 和卢斯卡 (Ernst Ruska) 在电子光学发展的基础上发明了“电子显微镜” (Electron microscope, 简称电镜, EM)。电子显微镜的分辨能力比光学显微镜的分辨能力提高了约 1,000 倍, 为 2 埃。当代最佳性能电子显微镜的分辨能力 1.41 埃, 已经在原子间距 (1~2 埃) 范围以内。但在实际应用中, 具有 1.41 埃的电子显微镜不仅分辨不出原子, 而且间距小于 20 埃的大分子也往往看不清楚。这是因为, 第一, 1.41 是显微镜制造厂家的“广告”分辨能力, 即使要达到厂家对顾客的“保证”分辨能力 5 埃左右, 也还需保证电镜具有发挥最佳性能的条件; 第二, 除了和电镜本身的分辨能力有关外, 还与电子束照明状态, 样品性质, 细节形状与位置, 以及反差条件等有关。

## 二、细胞超微结构

在光学显微镜尚未发明之前, 人类对于生物机体结构的研究仅限于用刀切割生物体, 对肉眼所能观察到的部分进行形态结构的研究, 建立起早期的生物形态学, 即“大体解剖学” (Macroscopical anatomy)。有些动物的卵是人眼当时唯一能够察觉到的细胞。光学显微镜问世以后, 协助人眼突破了观察物体细节的限制, 看到了 0.1 毫米以下的物质, 使人类对生物体结构的研究出现了第一次飞跃, 用它先后发现了植物和动物细胞。随着光镜的不断改进和完善, 对于细胞形态的研究也逐渐深入和系统, 及至十九世纪遂建立起“显微解剖学” (Microscopical anatomy), 即“组织学” (Histology)。不仅如此, 光镜的发明对生物体活动规律的研究, 即“生理学” (Physiology) 也起了很大的推动作用, 使生物科学, 医学和生产实践向前迈进了一大步。但是, 和人眼视力一样, 光镜揭示物质细节的能力也是有个极限的, 它对于 0.1 微米以下的细微结构的观察, 也是无能为力的。电子显微镜的出现, 突破了这一界限, 当前电镜观察物质细节的能力比光镜提高了约一千倍, 使人类对生物体结构的研究出现了第二次飞跃, 用它观察到了光镜所见不到的或看不清楚的生物体结构的细节, 发展起了所谓“生物医学超微结构学”, 也可叫做“超微解剖学”, 或“超微组织学”, 即以电子显微镜技术为主要工具对生物体细微结构进行研究的科学。

\*实际上, 不同的显微镜, 分辨能力有着不同的极限值, 这取决于作为显微镜成像媒介的照明辐射的波长。

“超微结构” (Ultrastructure) 一词的含义, 目前在生物医学领域里还没有统一的认识, 形成公认的概念, 从而应用也就有些混乱, 给初学者造成一定的困难。问题在于人们所研究的生物体结构客观上有着细微程度的不同, 用不同的研究技术对生物体结构所能揭示的细微程度也不同, 这就从两个方面提出了“水平”问题。一是就生物体结构细微程度而言的不同水平, 一是就研究技术所能达到的细微程度而言的不同水平。前者由大到小包括: 器官、组织、细胞、亚细胞结构、分子、原子、……等等; 后者有: 肉眼直接可见的器官和组织, 光镜所及的组织、细胞和某些亚细胞结构, 以及电镜下观察到的亚细胞结构、分子和原子。

表 1 生物体结构和不同研究技术水平及相应学科

生物体结构	细 微 程 度	研 究 技 术	学 科
器 官	0.1毫米(100微米)或更大	肉眼或简单透镜(放大镜)	大体解剖学
组 织	100微米—10微米	各种光学显微镜	组织学
细 胞	10微米—0.2微米(2,000埃)	各种光学显微镜	细胞学
细胞的细微成分, 病毒	2000埃—10埃	X 射线显微镜 偏振光显微镜, 电子显微镜, 高性能电子显微镜	亚显微结构形态, 超微结构形态(分子生物学)
分子和原子	小于10埃	电子显微镜, X 射线衍射	分子和原子结构

严格地说, “亚显微结构”是指在普通性能级(普通分辨本领级, 分辨能力 $>20$ 埃)电镜下观察到的生物体的形态结构, 是介于细胞水平和分子水平之间的细微结构, 称为“亚显微结构”(Submicroscopic structure), 简称“亚微结构”或“亚细胞结构”(Subcellular structure), 也称“细微结构”(Fine structure)。而超微结构则指用高性能级(高分辨本领级, 分辨能力 $10-20$ 埃)电镜所能观察到的分子水平的结构, 包括构成生物体的主要物质, 如蛋白质、核酸、脂质等大分子结构, 即化学上由原子组成的集合体——分子。还有人把构成亚显微结构的更细微的形态结构视为“分子”。但是, 在一般的生物医学书刊里, 在亚微结构和超微结构之间

并未划出明确的界限，而把光镜分辨能力所不及的细微结构、亚微结构和超微结构通称为超微结构。本文所用“细胞超微结构”一词即为后一含义。

细胞是生物形态结构和生命活动的基本单位，是现代生物界里可以独立生存的最小生命体。细胞超微结构主要描述细胞的各种“细胞器”（Organelle）、细胞之间的连接和间质成分等的超微结构。这些结构在不同的器官与组织的细胞和间质中表现的形式不同，它们决定着器官、组织和细胞所特有的结构形态和生理功能。同时，这些结构的异常改变与疾病的发生、发展和转归也有密切关系。因此，细胞超微结构的研究对生物科学、医学理论和临床都有重要意义。

运用电镜研究细胞超微结构，发现了以往光镜下未能见到的一些构造，如内质网、溶酶体、微体、核孔、细胞外衣，以及某些生物结构的大分子的形态；对一些结构的真实情况有了进一步的认识，如细胞膜的三层结构，线粒体的细微构造，纹状缘和刷状缘的基本结构是不同形式的微绒毛，等等；对过去长期有争论的问题，如高尔基复合体的存在与否，沉清了问题，统一了认识。总之，半个多世纪以来，随着电镜本身设备和电镜样品制作技术的不断改善和发展，以及“扫描电子显微镜”（Scanning electron microscope，简称“扫描电镜”，SEM），超高压电子显微镜等新型电镜的先后出现，不但推动着细胞超微结构的研究向纵深发展，而且在细胞生理和细胞化学的研究上开辟了不少新领域，使人们对于生物体“基本结构单位”有可能从亚细胞水平、分子水平、甚至元素分析水平上进行愈益深入的探讨和了解。

展望细胞超微结构研究的未来，提出以下几个可能的发展方向，供参考：

- 一、对细胞超微结构的形态研究从二维像向三维像发展，即从平面形态向立体形态发展。
- 二、从单纯的超微结构形态观察，深入到研究其功能、化学组成和元素分布。
- 三、从超微结构的定性研究向定量测定的方向发展。
- 四、从研究经化学固定的超微结构向研究整体活细胞的方向发展。

### 三、电子显微镜技术中所用的度量单位

在生物科学和医学的研究中，除用肉眼观察以外，还应用了光镜、电镜等观察工具，它们的分辨能力不同，适用的范围也不同，对研究对象细节所能揭示的大小水平亦各异，所用测量长度等的单位也不一样。（见表2、3）

一般小于0.1mm（100 μm）而大于0.1 μm的结构，包括细胞、细胞核和其它一些较大的细胞器（如线粒体、高尔基复合体、植物细胞的细胞壁等），主要在光镜下进行观察；小于1 μm（1,000nm）而大于数个nm的结构，包括亚细胞结构、细菌、病毒和大分子等，主要在电镜下进行观察。

表2 研究细胞显微和亚显微结构所用单位英汉对照表

英语名称	缩写或符号	汉语名称	相应线度	应用范围和用途
centimeter	cm	厘米(公分)	= 0.39时(in) = 0.01米(m)	肉眼范围。巨大的卵细胞。
millimeter	mm	毫米	= 0.1cm	肉眼范围。极大的细胞。
micron (micrometer)	$\mu\text{m}$ ( $\mu$ )	微米	= 0.001mm	光镜技术范围。大多数细胞和较大的细胞器。
nanometer (millimicron, millimicrometer)	nm (m $\mu$ , m $\mu\text{m}$ )	毫微米	= 0.001 $\mu\text{m}$	电镜技术范围。较小的细胞器, 最大的分子。
Angstrom unit*	$\text{\AA}$	分毫微米, 埃	= 0.1nm	电镜技术, X射线方法。分子和原子。

\* 系波长单位

表3 电镜观察常用度量单位 ( $\mu\text{m}$ , nm和 $\text{\AA}$ ) 换算表

$\text{\AA}$ (埃)	nm (毫微米)	$\mu\text{m}$ (微米)	mm (毫米)
1	0.1	0.0001	0.0000001
10	1.0	0.001	0.000001
10,000	1,000.0	1.0	0.001
10,000,000	1,000,000.0	1,000.0	1.0

## 第二章 电子显微镜的

### 基本原理和主要结构

光镜和电镜都是用以使微小物样(样品)放大成像,来观察物体细微结构的仪器。为了形成放大像,在光镜和电镜中,包括所用折射原件或“透镜”在内,就广义而言,其基本光学原理是相似的。但是,这种相似性不能涉及太远,对于生物医学电镜工作者来说,所具有的知识也不允许“穹根究底”太深。这里只是在已有的光镜知识基础上,综合简述最基本的电镜构造原理和结构要点,以使初学者易于理解,而有助于对电镜的实际操作。

#### 第一节 电子显微镜的工作原理

##### 一、复式光学显微镜和电磁式电子显微镜的比较

由两个光学透镜串联组成的光镜和由一套电磁透镜组成的电镜的最重要的基本区别之一是,分辨本领在光镜中受到衍射效应的限制,而在电镜中则为透镜缺陷(像差

等)所限。四个多世纪以来,物理学的研究使光学透镜缺陷的矫正,达到理论上最完善程度,结果光镜成像质量主要为衍射效应所限,达到分辨本领的极限值,即光波波长之半,约 $0.2\ \mu\text{m}$ 。如果电磁透镜的缺陷能矫正到相同程度,则电镜的分辨本领也应是电磁波波长之半,即接近 $0.02$ 埃,比目前实际所能达到的最佳分辨本领——约 $2$ 埃,还要好 $100$ 倍。

可以参考下述方程式(Abbe公式)来理解电镜所根据的原理。

$$\delta = \frac{K \times \lambda}{n \sin \alpha}$$

式中 $K$ 为常数 $0.612$ ,  $\lambda$ 为入射光束波长,  $n$ 为透镜和样品间介质的折射系数,  $\alpha$ 为物镜所能接受从物体(点)发出的光线入射的圆锥(“孔径角”)之半(图1)。

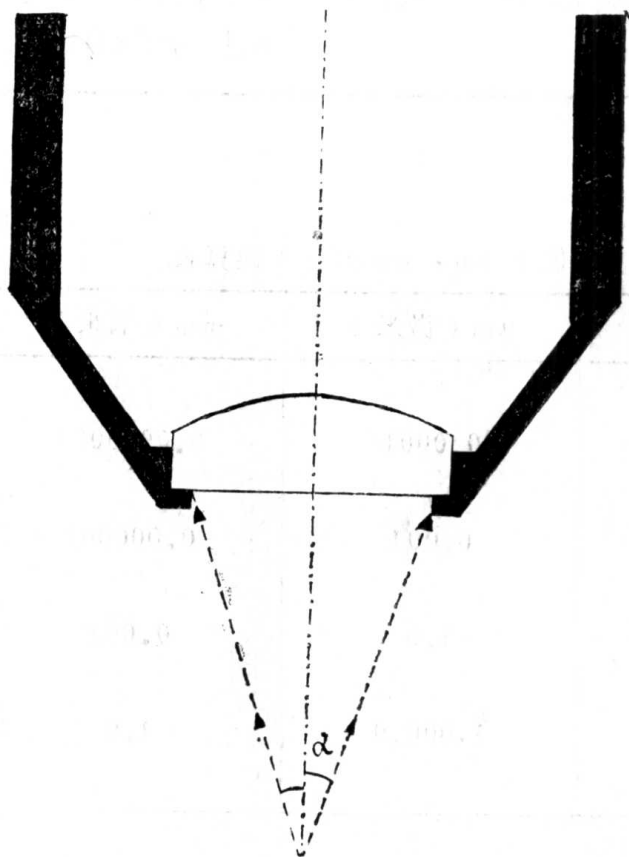


图1 光束进入物镜以示孔径半角

$n\sin\alpha$  为“数值孔径” (Numerical aperture, 简称NA)。

对于普通光镜来说,  $\alpha$  的最大值是  $90^\circ$ , 则  $\sin\alpha = 1$ ; 油渍镜头的  $n = 1.4 - 1.6$ ; 用可见光作照明时, 其平均光波长  $\lambda = 5000$  埃;  $NA = n\sin\alpha = 1.6 \times 1 = 1.6$ , 此光镜的分辨本领为  $\delta = \frac{0.612\lambda}{NA} = \frac{0.612 \times 5000}{1.6} \text{埃} = 2000$  埃。在电镜, 由  $60\text{KV}$ \* 加速

的电子束的波长约  $0.05$  埃, 电磁透镜的  $n = 1$ ,  $n\sin\alpha = 10^{-2} - 10^{-3}$ , 则此电镜给出极高的理论分辨本领 (约  $3$  埃)。实际上, 在观察组织切片时, 电镜能达到  $10$  埃的分辨本领, 就十分令人满意了, 因为这已经比光镜的分辨本领高出了  $200$  倍。

电镜起作用的原理是, 电子束能以玻璃透镜内光束偏转的类似方式被电磁场所偏转。电子由金属丝 (阴极) 在真空内高温加热产生后, 受到阴极和阳极之间约  $60 - 100\text{KV}$  的电位差的加速 (图 2)。阳极为中心具有小孔的金属板, 电子被加速从阴极

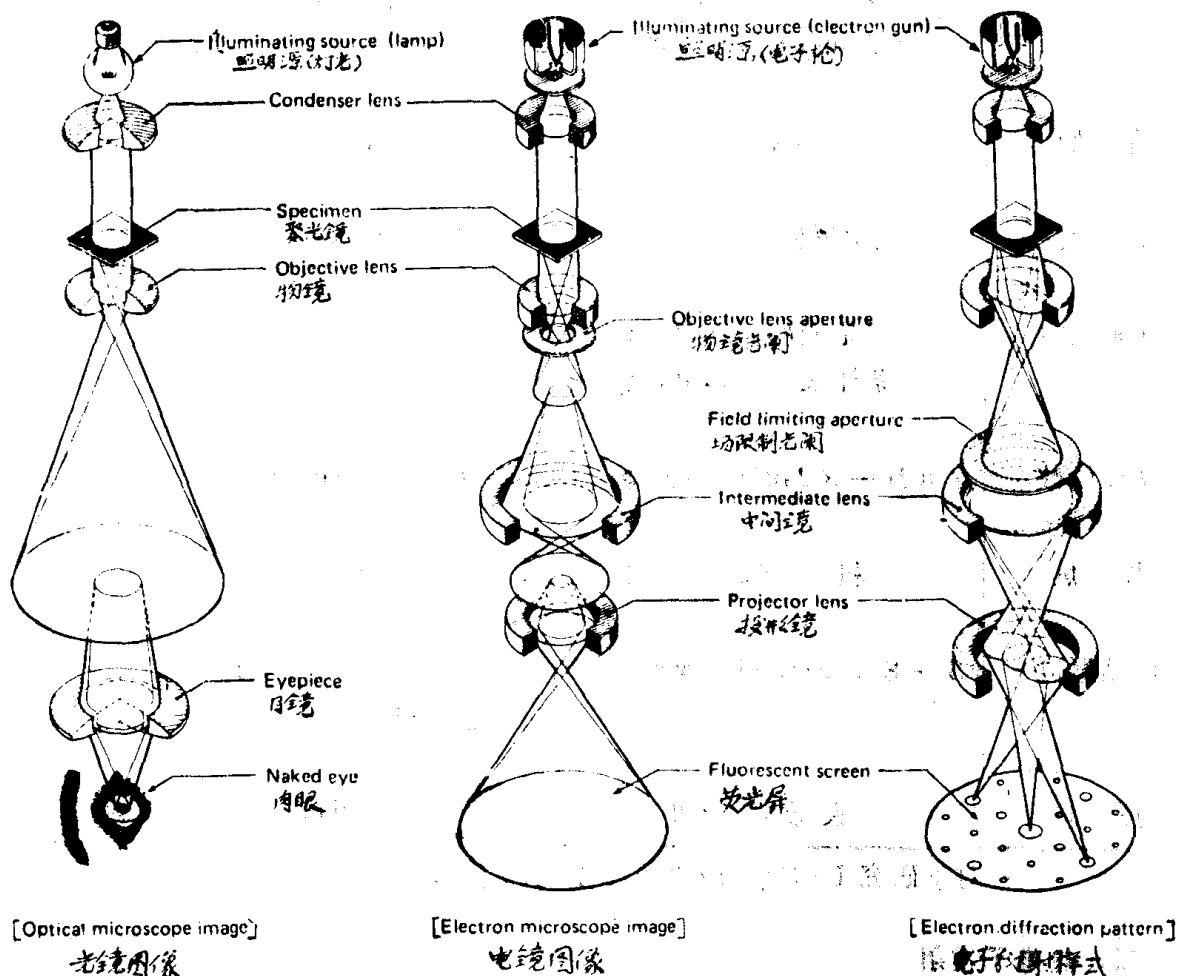


图 2 光镜和电镜成像比较

\* KV 为 Kilovolt 的缩写, 即仟伏。

到阳极，电子中的一些通过阳极的中心孔后形成一个恒定的“电子束”（Beam of electrons或Electron beam）。“电磁透镜”（Electromagnetic lens）以在光镜里光学透镜所发生的大概类似的方式使电子束偏转。这就是“聚光镜”（Condenser lens，简称CL）把电子束聚焦到物平面后，穿经物平面再通过“物镜”（Objective lens，简称OL）形成物像。经物镜放大的像再由“中间镜”（Intermediate lens，简称IL）和“投影镜”（Projector lens，简称PL）进一步放大，最后成像于荧光屏或照相底片上。

表4 光镜和电镜比较表

	光 镜	电 镜
照明束(照明源)	光束(光源：阳光或人工光)	电子束(电子源：热灯丝等)
波 长	7,500埃(可见光) ~2,000埃(紫外线)	0.0859埃(20KV) ~0.0370埃(100KV)
介 质	大气(空气)	真 空
透 镜	光学透镜(玻璃的)	电子透镜(电磁的或静电的)
分辨能力	可见光的：2,000埃 紫外线的：1,000埃	点到点：3埃 晶 格：1.4埃
放大倍数	×10—×2,000(掉换透镜)	×90—×800,000(连续可变)
聚 焦	机 械 的	电 力 的
样品厚度	3—8 μm*厚的普通组织切片	0.02—0.1 μm(埃—埃)厚的 超薄组织切片
反 差	吸收，反射	散射吸收，衍射，相位

\* 对于研究工作这个厚度可在1—20 μm之间。

## 二、热电子发射

金属的一个特点是，它们含有阳离子和自由电子(Electron)，自由电子虽然能在金属内自由运动，但由于阳离子的吸引力而阻止电子离开金属表面。要使电子离开金属表面，就要增高金属的温度，以增加电子的动能。温度愈高，电子的动能愈大，当金属中的自由电子获得大于阳离子吸引力的能量(动能)时，电子就能脱出表面。

金属中这种电子因受热而脱出表面的现象称“热电子发射”（或热发射，“热离子发射”）。由此可见，要使阴极金属丝的电子完全脱出金属的表面，必须对吸引力作一定的功，这就叫做“脱出功”（逸出功）。脱出功 $W$ 可用下述关系式（Richardson公式）定义：

$$J = AT^2 e^{-\frac{W}{KT}} \text{安[厘米}^{-2}\text{]}$$

式中 $J$ 为阴极发射的电流密度（即金属表面每单位面积所发射的电子数）， $T$ 为阴极的绝对温度 $= (t + 273) \text{K}$ （其中 $t$ 为阴极的摄氏温度）， $A$ 和 $K$ 为常数， $e$ （exp）为自然对数的底。由式可见，当阴极发射温度增加时， $J$ 将随着 $T$ 以指数方式增加。因此，随阴极温度的上升而电流密度将迅速上升。电流密度 $J$ 是决定亮度的一个因素，当 $J$ 愈大时，则亮度就高。电镜中的照明源是电子枪，电子枪亮度的高低是评价其性能的一个重要参量。电子枪中阴极（金属丝，即灯丝）的热电子发射量又是亮度强弱的决定因素，为了获得大量的热电子发射，应选用电子脱出功小，熔点高的阴极材料。在实际工作中除了考虑阴极灯丝的高亮度外，还应兼顾合理的灯丝“寿命”。所谓灯丝“寿命”是指三分之一的金属丝（如钨丝）腐蚀掉以后，寿命就算结束。灯丝的寿命除了与阴极电流密度有关外，还决定于气体对灯丝的侵蚀和灯丝加热所引起的热蒸发。目前电镜中常用的灯丝有纯钨丝阴极，六硼化镧（ $\text{LaB}_6$ ）阴极，场发射钨单晶阴极，钽层钨阴极及氧化物阴极等。

### 三、电子透镜

二十世纪二十年代中期，物理学理论已经判定用波长非常短的电磁波来代替光镜中的光源，可以大大提高分辨本领，但因为没有找到使电子束聚焦的透镜材料，所以未能用电子束形成放大像。直到二十年代后期，科学工作者发现带电粒子的聚焦现象后，才形成了电子透镜的概念，为电镜出现开辟了道路。

对于一个运动着的电子，改变其运动方向的最简单的方法是让它通过电场或磁场。当电子束通过一个磁体的磁场（图3）或用静电方法形成的电场的时候，因为电子束中运动的电子所受到场的力作用和它运动的方向垂直，所以电子束沿着对称轴作螺旋线运动，从场出来后，电子就会聚于轴上一个点。

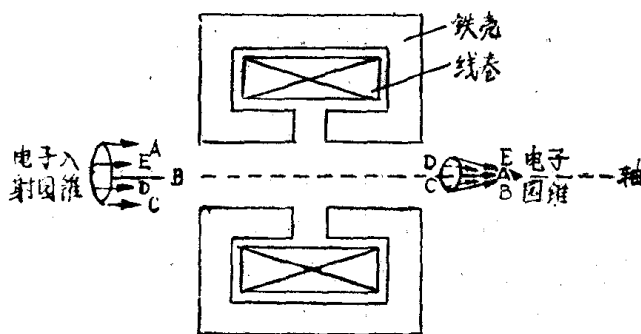


图3 简单磁透镜的会聚特性

电场和磁场应用于电镜中以聚焦电子束，遂产生了两种“电子透镜”（Electron lens）——静电透镜和磁透镜，现代电镜中很少用静电透镜，因此这里我们主要讨论电磁透镜的成像特性。

一束电子穿过电磁透镜时，它的几何光路图同光学透镜的类同。因此可以作下述



的一个光路图（图4），来说明电磁透镜的成像。

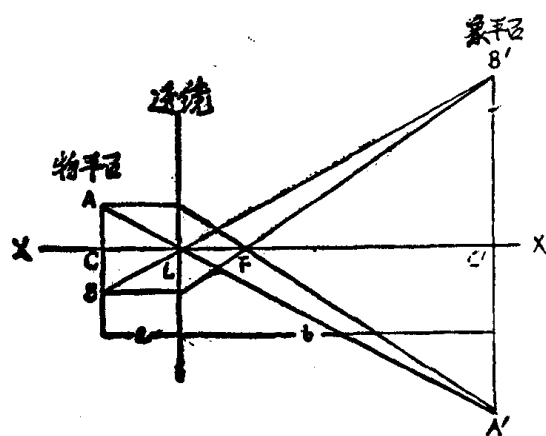


图4.1 电子透镜的成像光路图

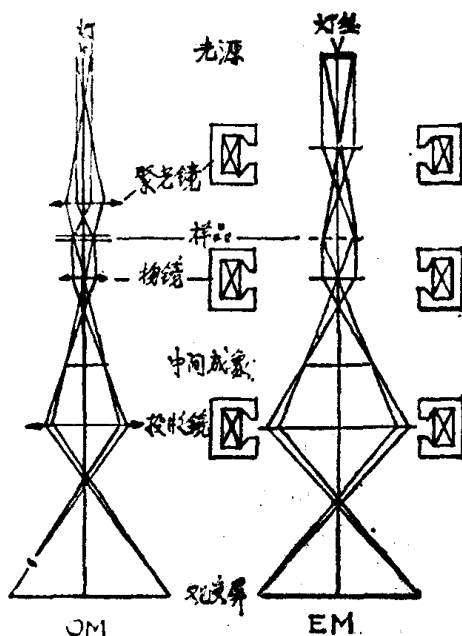


图4.2 OM和EM的比较

图4.1中XX'为透镜轴，AB为物平面，A'B'为像平面，L为透镜，F为焦点，LF表明焦距。从物AB上的一点，例如A点发出穿过透镜中心L的入射光线是不偏转的，平行于透镜轴的入射光线通过透镜时发生偏转而会聚并通过会聚点F。偏转和不偏转的两束光的交点确定了对应于物点A的像点A'；同样，像点B'与物点B相对应。因此，物AB经透镜成像为A'B'。在图4.1的情况下物距和像距分别为a和b，透镜的放大倍数 $M = \frac{b}{a}$ 。还应该注意到的是轴上物平面的一点C也成像在透镜轴上像平面的一点C'。

图4.2为根据光学透镜和电磁透镜在光路图上的相似性，推导出光镜和电镜在几何光学方面同样的相似性。电镜中由照明源电子枪发射出来的电子束，通过聚光镜照射到样品上。电子束在穿经样品后就成了带有样品信息的电子束，通过物镜形成放大像，再经过中间镜和投影镜把已经形成的放大像再进一步放大，最终把像显示在荧光屏上。这里需要提到的是，肉眼不能直接观察到电子，所以由电子束形成的电子像肉眼也是看不到的，从而电镜的投影镜也不能与光镜的目镜直接比较，而它与投影显微镜有些类似。电镜中的电磁透镜之所以采用了与光镜中各个玻璃透镜相应的名称，是因为这样有利于理解它们之间相似的功能。

从图4.1中可见焦距LF愈短时，电磁透镜偏转平行于透镜轴的入射光线的的能力愈强，放大倍数就愈大。电磁透镜由软铁壳包裹的激磁线圈构成。因为焦距与磁场强度成反比，磁场强度愈强则焦距愈短。磁透镜磁场强度又与激磁线圈的安匝数(NI)成正比，线圈的匝数N一定时，线圈的激磁电流I愈大，焦距愈短，透镜放大倍数就愈大。从而只要改变线圈中的电流，就可方便地改变磁场强度，并且可以连续改