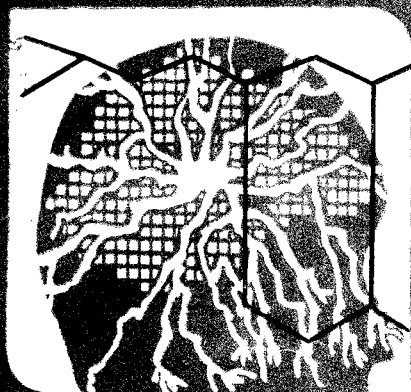
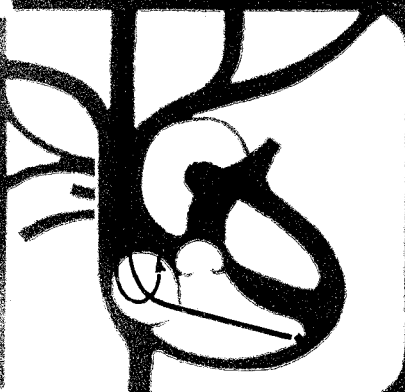


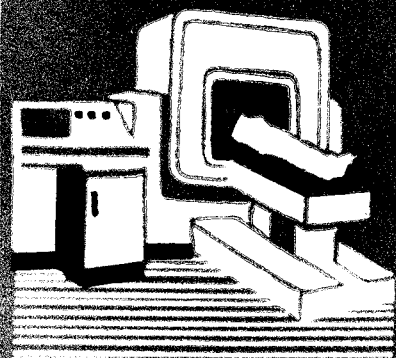
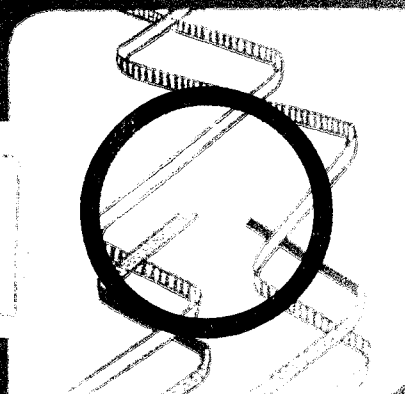
电子显微镜 与超微结构



3



科学出版社



医学新知丛书 3
电子显微镜与超微结构

郭仁强 编著

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)
北京密云县卫新综合印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米 32开本 4 $\frac{1}{4}$ 印张 90千字
1985年11月第1版 1985年11月第1版第1次印刷
印数: 00,001—3,240
统一书号: 14048·5075 定价: 0.95元
〔科技新书目106—45〕

《医学新知丛书》前言

医学科学在现代科学技术的推动下飞速发展,知识更新的速度不断增加。非生命科学与生命科学相结合,社会科学与自然科学相结合,宏观和微观的新概念不断进入医学领域,新兴学科、边缘学科不断出现,医学科学研究在深度和广度上不断取得进展,为揭示人的生命现象、探索疾病规律提出了很多新理论,为临床防治工作提出了很多新的途径和方法。为帮助广大医务人员学习、运用新理论、新技术、新方法,以更新五、六、七十年代相对过时的知识,我们组织出版《医学新知丛书》。

《医学新知丛书》以丛书的形式按学科或专题分册陆续出版,它将反映近年来国内外在医学领域中的新知识、新进展、新课题和新学科。丛书以医学院校毕业后从事多年医学工作的人员为主要读者,亦可供其它各级医务人员以及医药卫生界业务领导干部、医学生阅读参考。丛书各分册的作者都是从事各项专业工作的专家。我们要求各分册都能以精辟的语言表达出本学科(专题)的基本理论、主要问题、特点及发生发展规律,深入浅出,联系临床实际,以便从事医学不同专业工作人们学习和运用,并从中了解医学发展的动向,扩大眼界,开阔思路。全套丛书计划编写约一百种,力求达到每门新学科都有一本普及性的读物。

丛书自组稿以来,受到了医学界老一辈科学家和有关学科中青年技术骨干人员的关心和支持,在此谨致谢意。并欢迎广大读者对已出版的丛书分册提出意见和建议。

我们热忱地希望,《医学新知丛书》能为我国医药卫生事业的现代化建设作出贡献。

《医学新知丛书》编委会

陈文杰 王宝恩 余铭鹏

周佳音 杨国忠 李兰山

南 潮

一九八三年九月

医学新知丛书书目

1. 遗传与疾病 李 璞编著 1984.5 出版
2. 免疫与疾病 张定凤编著 1985
3. 电子显微镜与超微结构 郭仁强编著 1986

前 言

面临着医学知识的爆炸，如何进行知识更新是当前每一个医务工作者迫切需要解决的问题。作者凭借从事电镜超微结构方面多年教学工作的经验，编写了这本高级科普读物。内容包括电子显微镜的结构与技术，细胞的超微结构与功能，各种分化细胞的超微结构与功能，并适当地联系病理与临床。本书以通俗易懂的文字，深入浅出地介绍了近十数年来的进展，并配合有较多的电镜照片和超微结构模式图。能充分说明超微结构与功能的关系。本书适于医学院校及专科毕业的广大医务工作者作为知识更新的自学读物，亦可作为医学院校的在校生、普通中学生物教师的课外自学参考读物。

1984年春 作者

目 录

第一章 电子显微镜.....	(1)
一、人类对有机体结构的认识过程.....	(1)
二、光镜和电镜常用的长度单位.....	(5)
三、电镜的主要结构及成像原理.....	(7)
四、超高压电镜.....	(13)
五、扫描电镜及其特点.....	(14)
六、超薄切片制作法.....	(16)
七、冷冻蚀刻标本制作法.....	(20)
八、扫描电镜标本的制作.....	(23)
九、电镜照相中常见的人工假像.....	(23)
第二章 细胞的超微结构.....	(25)
一、概说.....	(25)
二、细胞膜的超微结构与功能.....	(29)
三、核糖体的结构与功能.....	(41)
四、粗面内质网的结构与功能.....	(44)
五、高尔基复合体的结构与功能.....	(48)
六、滑面内质网的结构与功能.....	(50)
七、线粒体的结构与功能.....	(51)
八、溶酶体的结构与功能.....	(57)
九、微体的结构与功能.....	(60)
十、中心体与纤毛的结构与功能.....	(61)
十一、微管、微丝与中间丝的结构与功能.....	(65)
十二、细胞核的结构与功能.....	(69)
十三、癌细胞的超微结构特征.....	(75)

第三章 分化细胞的超微结构	(77)
一、成纤维细胞与细胞间质的形成	(77)
二、神经元的超微结构与信息控制	(82)
三、肌细胞的超微结构与收缩机理	(89)
四、毛细血管的超微结构与透性	(97)
五、胃腺与胃上皮细胞的超微结构与功能	(102)
六、肠上皮三种细胞的超微结构	(106)
七、肝的超微结构与功能	(110)
八、肺泡上皮的超微结构	(115)
九、肾小球滤过膜的超微结构	(117)
十、甲状腺细胞的超微结构与甲状腺激素的合成	(122)
十一、肾上腺细胞的超微结构与功能	(125)

第一章 电子显微镜

一、人类对有机体结构的认识过程

随着科学的发展，仪器设备和研究方法的不断改进，使人类对有机体这一复杂的结构的认识也逐步深入而精细。回顾近数百年来形态学的发展，可划分为三个不同的水平。①肉眼观察的解剖学水平；②光学显微镜观察的显微结构水平；③电子显微镜观察的超微结构水平。三个阶段密切相关，相互促进；从发展的速度看，其趋势为愈来愈快。

（一）肉眼观察的解剖学水平

三百年前，只能用人眼来观察和解剖机体的各种结构，逐步建立了解剖学，认识到机体是由许多器官及系统所构成的。由于人眼的分辨力是很有限的。在最适宜的条件下，能够区分的两点间其最小距离为0.1毫米，因此对许多微细的结构是无法辨认的。

（二）光学显微镜观察的显微结构水平

1665年英国的物理学家胡克（Robert Hooke）发明了显微镜，从软木塞的薄片上看到了长方形的小格子，定名为细胞。实际上所看见的只是死亡的细胞壁，既没有细胞核，也没有细胞质。那时的显微镜不过放大12倍，但这已经是轰动全世界的大事了。随着工业的发展，显微镜制作技术和制片技术的不断改进，约经历了150年，显微镜的分辨力已提高到1微米，有效放大400倍左右，这时才真正发现一切有机体，包括各种动物与植物，都是由细胞所构成的，才认识到

细胞的形态是多种多样的，但它们均具有细胞膜、细胞质和细胞核。在1838~1839年德国植物学家施莱顿(Schleiden)和动物学家许旺(Schwann)几乎同时发表了观点相同的细胞学说。认识到从最低等的单细胞生物到最高等的动物和植物都是由细胞构成的。细胞是构成有机体的基本单位，在结构上和功能上均有其相对的独立性。细胞学说的建立打破了对自然界不可知论的神秘观。使人们认识到多样化的生物世界具有内在的统一性，巩固了唯物主义的自然观。因此，恩格斯对细胞学说的评价极高，认为这是十九世纪的三大发现之一（另外两项为能量守恒定律和达尔文进化论）。

光学显微镜（简称光镜）的发明与改进使形态学产生了一次飞跃式的进展。精密的光学显微镜的分辨力可达0.2微米，放大率可达1000~1500倍。认识到人体的各种器官都是由组织构成的，组织又是由形态相似或功能相关的细胞及细胞间质所构成的。所有的细胞间质都是细胞产生的，包括坚硬的骨质，柔韧的纤维和液态流动的血浆等。它们在支持、连接与营养各种细胞及构成细胞生存的环境中具有重要作用。于是从解剖学中发展了组织学和细胞学二大分支。所有由显微镜能见到的组织结构，细胞结构，以及细胞内的一些结构，如中心体、高尔基体、线粒体、核仁、染色质及染色体等，统称为显微结构（microstructure）。它标志着人对机体认识的一个水平。

可见光的波长为760~390纳米。光镜无法看见小于光波1/2的结构，这就限制了光镜的放大率。若想制作放大率高于1500倍的显微镜，必需寻找波长更短的光源。由于紫外线波长较短（390~13纳米），曾一度掀起了研制紫外光显微镜的热潮，结果分辨力也只能达到0.1微米，放大率2000倍左

右，但紫外线显微镜的出现创立了分光光度术；以紫外线为光源的荧光显微镜促进了免疫荧光术等先进技术，进一步推动了形态学科的发展。

(三) 电子显微镜观察的超微结构水平

1923年发现电子束具有波动性。1926年德国布施(Busch)从理论上提出可利用磁场改变电子束行径制造电磁透镜的设想。在真空环境中，在高电压的条件下从阴极发射至阳极的一束电子流称为电子束，它的波长可随电压的升高而缩短，100伏时电子束的波长为0.123纳米，10千伏时波长为0.0122纳米，100千伏时波长仅为0.00387纳米。因此电压愈高，电子束的波长愈短，电子流的速度加快，穿透力也增强。这一设想为电子显微镜的诞生奠定了基础。1931年德国克诺耳(Knoll)和鲁斯卡(Ruska)制成了第一台电子显微镜(简称电镜)，仅有一个电磁透镜，只能放大12倍。但电镜的改进比光镜快，1933年鲁斯卡制造了具有二级放大的电镜，即已达到一万倍。1937年电镜的分辨力达到25纳米，首次拍摄了细菌的电镜照相。1939年电镜的分辨力达到3纳米，于是电镜开始成批生产进入国际市场，电镜的使用也逐渐推广。1946年电镜的分辨力达到1纳米，且超薄切片的技术也逐渐建立，使电镜开始广泛地应用于生物学和医学。此后各种组织细胞超微结构的研究逐渐发表于很多形态学杂志及教科书中。目前的商品电镜可安装扫描附件大角度倾斜样品台，X光微区分析装置，并能使用电子计算机自动调控。分辨力已达0.14纳米，电压200千伏，具有7组电磁透镜，使电镜技术达到了一个新的水平(图1—1)。

在光镜的基础上，电镜进一步观察发现的许多微细结构统称为超微结构。电镜的发明及广泛应用，使细胞学，组织

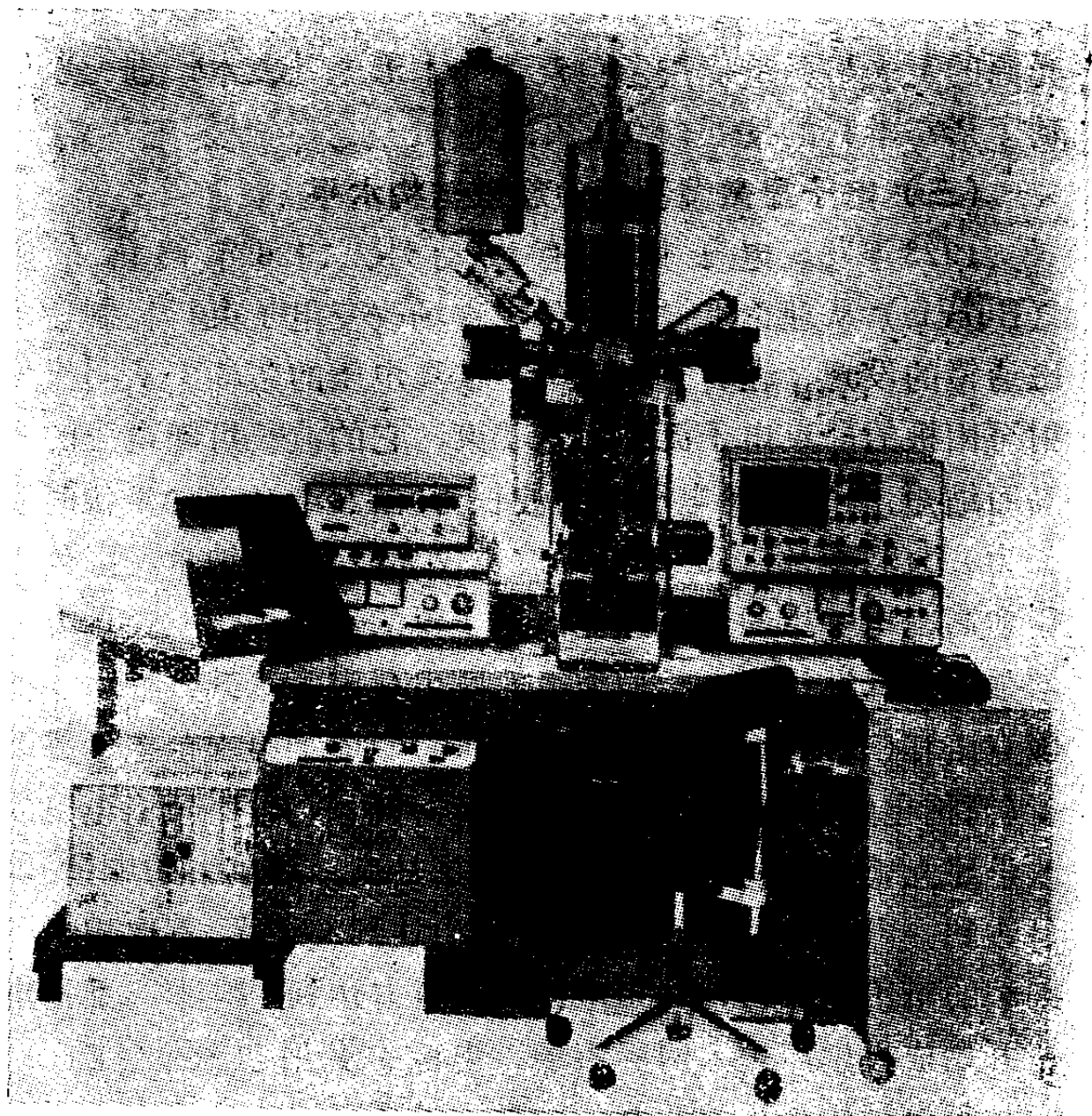


图1—1 近代的精密透射电子显微镜Opton 10C型

学及病理学等形态学科的进展出现了又一次飞跃，解决了许多长期争论不休的问题，纠正了许多错误的概念，例如细胞膜究竟是否存在？膜上面究竟有没有小孔等。一般细胞膜厚10纳米，经电镜放大一万倍再加电镜上的实体显微镜放大10倍，就可看到 $10\text{纳米} \times 10000 \times 10 = 1\text{毫米}$ 的细胞膜。这样就使细胞学和组织学达到了超微结构的水平。今天已能用电镜分辨出抗体球蛋白分子和铁蛋白分子等，这就接近了分子水

平。由于人们对超微结构有了进一步的认识，这样就能更确切地解释许多生理功能，如肌肉的收缩、神经的传导和细胞的分泌等。总之，今天对细胞各种结构与功能的认识已深刻得多。五十年代讲细胞学基本上可以用3~5小时讲完，可是今天用40~60小时还不一定能讲得十分详尽呢。

有人错误地认为到达超微结构的时代今后光学显微镜将被逐步淘汰。事实并不如此，光学显微镜制片容易、视野广阔、使用方便，价格便宜，故仍为医学上研究与检验所必不可少的重要工具。近年来将电镜的制片方法制作半薄切片，厚仅0.5~1微米，以苏木素伊红染色后作光镜观察。其切片的结构十分精细，宜于与电镜所观察的超微结构作对比性研究。因此电镜技术并不能代替光镜，而只不过是丰富了光镜所见的显微结构内容。

形态学的发展已经历了三个不同的水平。解剖学的水平，最适宜于以肉眼观察人体各个系统及各器官的大体结构及相互关系。显微结构的水平则适宜于以光镜观察器官、组织及细胞的结构与组成以及它们的功能关系。现代的形态学已达到超微结构的水平，正向分子水平发展，使形态学科与生理学，生物化学更加接近，能使人更进一步理解生物结构与生命活动的关系。三者是相辅相成，都是现代科学研究的重要组成部分。

二、光镜和电镜常用的长度单位

光镜常用的长度单位为微米，以 μm 代表，应读为micron meter。是一毫米的千分之一。人最大的细胞是卵细胞，直径约120 μm 。红细胞的直径约为7 μm （图1—2），由于红细胞是光镜切片中最常见的细胞，可以将它作为标准

以测量其它细胞的相对大小。电镜由于放大倍数高，所看见的结构十分微细。因此常用的长度计量单位为纳米，以nm代表，应读为nano meter。它是微米的千分之一(另一个长度计量单位为埃，以Å代表，读作angström。为纳米的1/10。根据国际单位制的规定应采用纳米而不用埃)。纤毛粗约120纳米(图1—2)，核糖体粗约15纳米，细胞膜厚约7~10纳米。均可作为电镜下长度的参考。

1毫米 (mm) = 1000微米 = 10^{-3} 米

1微米 (μm) = 1000纳米 = 10^{-6} 米

1纳米 (nm) = 10 Å = 10^{-9} 米

1埃 (Å) = 10^{-10} 米

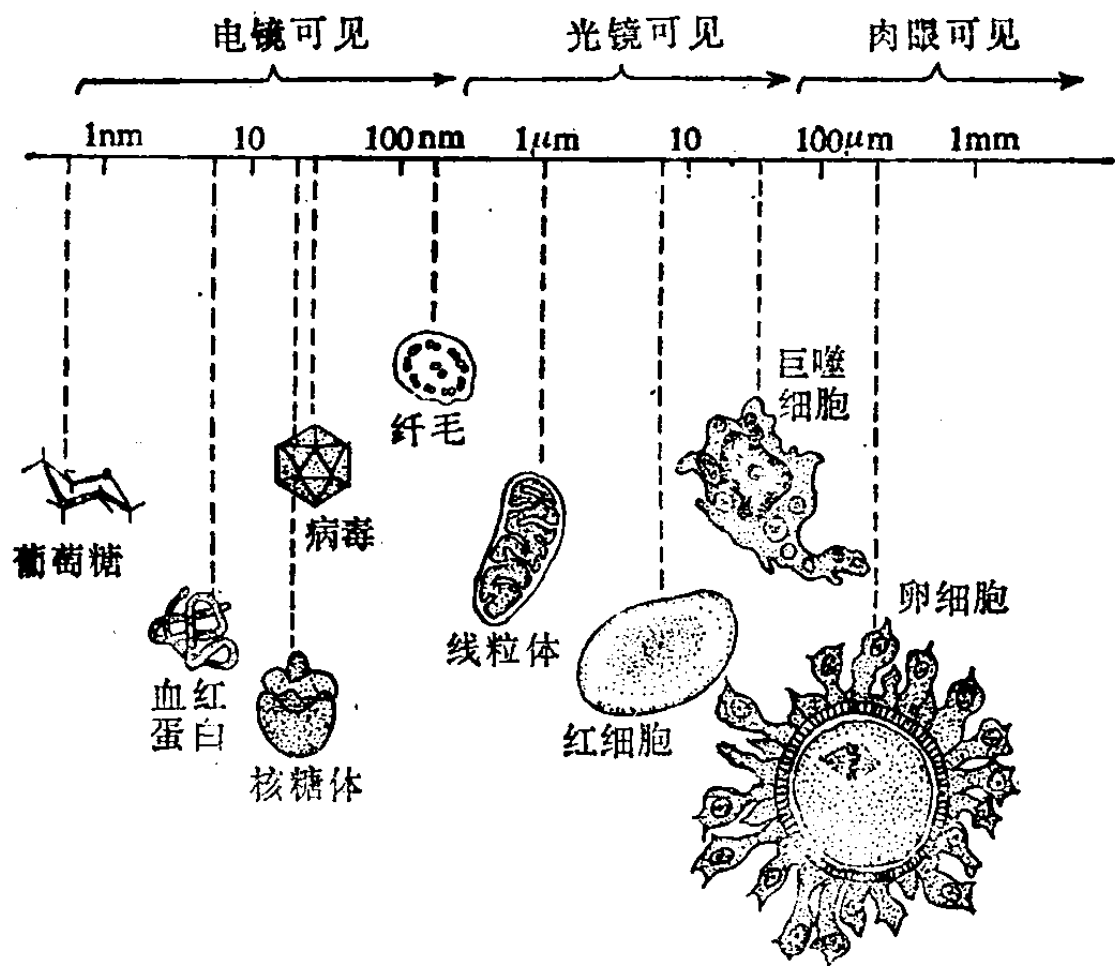


图1—2 肉眼、光镜及电镜的可见范围示意图

三、电镜的主要结构及成像原理

一般称为电子显微镜的系指透射电镜 (transmission electron microscope, TEM), 它占当前使用电镜的80%。此外, 还有扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM), 超高压电镜 (ultrahigh voltage electron microscope) 和扫描透射电镜 (scanning transmission electron microscope, STEM)等。电镜主要由电子光学系统, 真空系统和电源系统三部分构成。若将电镜的电子光学系统和成像与光镜的作一比较, 是有许多相似之处的。电镜的电子枪能发射出电子束, 相当于光镜的光源。电磁透镜相当于光镜中的透镜, 同样可区分为聚光镜、物镜和投射镜。电子束通过样品经放大后就能在荧光屏上显示图像, 也可以拍摄成照片保存和研究。

电子光学系统是电镜的主体, 它由电子枪、电磁透镜及观察室等部构成。

(一) 电子枪 (electron gun)

位于电镜的顶端, 是发射电子束的重要装置。在一般的商品电镜中电子束的发射需要50~200千伏的高压。用V字型钨灯丝作为阴极, 在阴极的下面为栅极, 是一个前方具有孔的金属圆筒。栅极又称负偏压栅极, 带有负电压, 可以控制从阴极发射电子束的大小和强度(图1—3)。在栅极之前有一接地线的金属板, 为阳极, 此处的电压为0伏。板的正中有一小圆孔, 可让电子束通过。电子束中的自由电子是带负电荷的粒子, 当它遇到物体时会与该物质内的电子或原子核发生撞击而产生散射。空气对光似无阻挡, 但空气对电子束的阻挡是十分严重的。因此电子枪以及电子束的通路都必需是

高度的真空，在每次电镜使用时都要先抽真空，一般要达到 10^{-5} 托（1托=1mmHg），好的电镜使用离子聚集泵可达 10^{-7} 托。真空度的高低是影响电镜能否正常工作的关键，在高度的真空中加上50~200千伏的高压才能从钨丝向阳极金属板孔发射出高速的自由电子束。电子枪可控制电镜成像的亮度和稳定度，电子枪的好坏与电镜的质量密切相关。

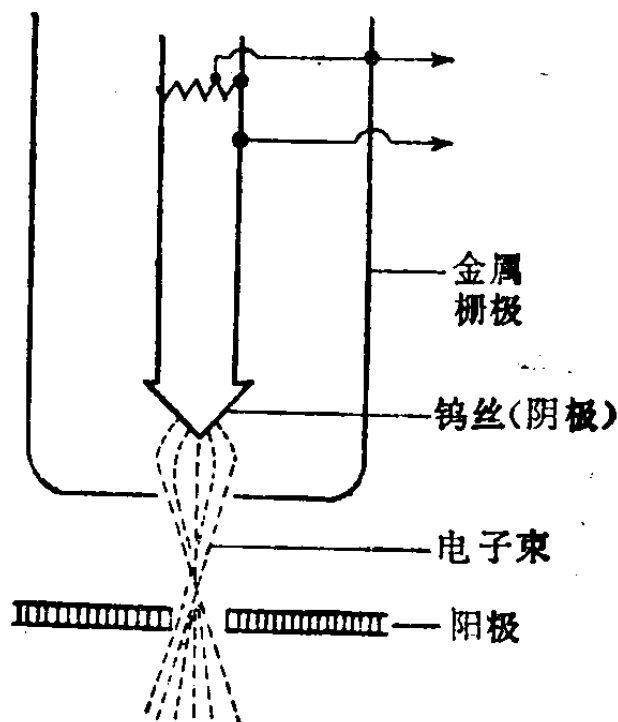


图1—3 电子枪的模式结构

(二) 电磁透镜 (electromagnetic lens)

电子穿越阳极板孔向前行进中若受到周围电磁场的影响，可改变电子行进的方向，这一改变好像光学透镜对光产生折射一样有聚焦的作用。因实际上电磁透镜中央是空的，并没有透镜，只是利用轴对称性弯曲磁场使电子束产生聚焦的效应与透镜的聚光相似，故称电磁透镜。它有软铁制造的外壳，其中里面包绕着线圈，透镜的中央是极靴，极靴是轴对称的，加工非常精密，铁壳外罩及上下极靴间仅有一小的间隙由非磁性材料充填，因此极靴有上极与下极之分

(图1—4)。当极靴间隙小及内孔小时则该电磁透镜的放大率就高。当电流改变磁场强度大时，焦距变短放大倍数也随即增高。因此电磁透镜比光学透镜有利之处在于改变放大倍数时不用调换镜头，只要调节电流控制磁场强度就行了。还有一点应加以说明的是，从电子枪发射出的电子束是波动前进的，经过电磁透镜后则变为向右呈螺旋状依光轴前进，但不影响成像的清晰度。现代高精密度的电镜一般有5~7组电磁透镜（图1—5）。

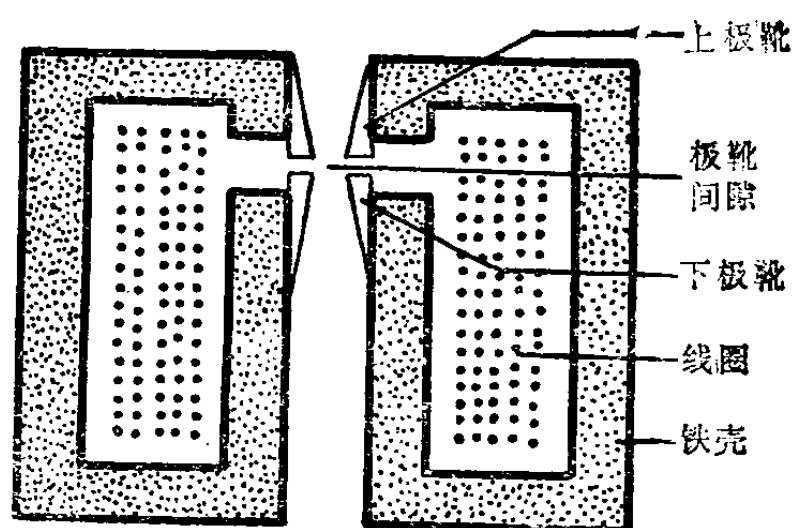


图1—4 电磁透镜的模式结构

电子束最先通过聚光镜，聚光镜无放大作用，而有聚集电子束调节亮度的作用，一般有二组聚光镜，第一聚光镜是强磁力短焦距透镜，用以集中电子束，将束斑缩至1微米。第二聚光镜是长焦距透镜（图1—5），将电子束调节为平行的强电子束，直径约2微米。这样细的电子束透过标本可避免标本温度的升高和电子对标本的击伤。电子束通过标本时，电子与标本结构中的原子发生碰撞从而产生电子的散射，不同的结构成分对电子有着不同的散射程度。结构致密的，特别是被重金属盐着色或被钨固定的部分对电子的散射