

的图象,同时可作快动作、慢动作和静止图象的表演,可大量复制,价格便宜,可用于电视广播、文化教育、军事训练、资料和数据贮存等。

#### 4. 磁性卡片

磁性卡片是在纸或塑料软片、薄片表面上局部或全部涂复、印刷、复制或贴附磁性层而形成,按其不同用处可制成各种形状和尺寸的产品,使用的范围亦相当广泛,可用作购货卡、身份证、磁性车票、各种证券、音卡、简易保险收费卡、电子灶控制卡、现金卡片、信用卡、磁性存折、低速音卡和高速公路收费系统使用的公路通行证等。

总之,磁记录是一门历史较长但近来又发展异常迅速的科学技术,它的应用范围很广,在

我国的“四化”建设中无疑会起到重要的作用。

磁记录的发展和原材料的性能密切相关,需要多学科配合。为了适应我国“四化”建设和人民生活水平不断提高的需要,如何加速发展我国的磁记录科技工作和生产是一个很值得重视的问题。

#### 参 考 文 献

- [1] Г. И. Брагинский, Е. Н. Тимофеев, *Технология Магнитных Лент*, Издательство «Химия» Ленинградское Отделение, (1974).
- [2] S. I. Iwasaki, Y. Nakamura, *IEEE Trans. Magn.*, **MAG-13** (1977), 1272.
- [3] F. E. Lubosky et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **8** (1978), 318.
- [4] I. S. Jacobs, *J. Appl. Phys.*, **50**(1979), 7294.

## 生物电镜的应用及其前途

洪 涛 楚 雍 烈

(中国预防医学中心病毒学研究所)

电镜,这个观察微观世界的“眼睛”问世已经五十多年了,它把人类的视力带进了超微世界,为人们开辟了许多新的领域。生物医学是研究生命的一个科学,它在现代科学中占有十分重要的位置,正在向分子水平的方向迅速发展。

生物医学是使用电镜最多、而且受益最大的一个领域,是生物医学得助于物理学的突出的事例。现已公认,生物医学是电镜技术发展潜力最大的一个学科。

我国目前电镜的配备和电子显微技术的建立已初具规模,它们正在生物医学的各个领域中发挥着作用。为了交流经验,促进电镜技术的广泛应用,本文对电镜及其相关技术在生物医学中的应用概况作了简要介绍,并举例介绍了我国生物医学工作者应用电镜技术所取得的一些成绩。我们希望物理学工作者参加协作,

使电镜技术在生物医学中发挥更大的作用。有关电镜本身的原理、操作及生物医学超微结构的详细内容,我们已写有专著“生物医学超微结构与电镜技术”,此处不再赘述。

### 一、电子显微术及其在生物医学中的应用概况

各类电镜的特点及应用见表1。

表1 各类电镜的特点及应用

电镜类型	主要特点	主要用途
透射电镜 (TEM)	1. 电子束透过样品成象,要求超薄切片,负染和复型; 2. 分辨率高; 3. 视场较小,样品制作繁	应用广,主要观察生物样品某部位的切面或断面的超微结构

续表 1

电镜类型	主要特点	主要用途
扫描电镜 (SEM)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 电子束与样品作用, 利用产生的二次电子等信息成像;</li> <li>2. 景深长, 富立体感;</li> <li>3. 样品制作简单, 可看大块样品(约 10mm);</li> <li>4. 样品可动范围大(倾斜、旋转), 样品损伤小</li> </ol>	主要看形貌, 如样品表面(用临界点干燥)、管腔内表面(用铸形扫描术)、样品断面(用冷冻断面技术)
分析电镜	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 加上能谱(或波谱)分析仪, 能作微区结构和元素的定性定量分析及分布;</li> <li>2. 可观察较厚样品, 约为 TEM 可观察样品的 2—3 倍;</li> <li>3. 可看低衬度样品</li> </ol>	对样品中某些化学元素进行定位、定性、定量分析, 灵敏度可达 $10^{-10}g$ 。具有 TEM 和 SEM 的双重功能, 可同时看样品的表面和内部结构形态
超高压电镜	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 加速电压高、穿透力强、分辨率高;</li> <li>2. 可用厚切片和含水样品;</li> <li>3. 可同时看细胞表面、内部结构, 如细胞骨架</li> </ol>	观察保持活体结构的样品(冷冻、超薄切片), 费用昂贵

主要电子显微术的特点及应用见表 2。

表 2 主要电子显微术的特点及应用

主要电子显微术	主要特点	主要用途
超薄切片术 (正染色)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 易为电子穿透, 染色剂与结构颗粒结合, 正象;</li> <li>2. 操作繁, 样品不能保持活体结构;</li> <li>3. 分辨率受限制, 低于 25 Å</li> </ol>	观察内部结构, 如某部分切面上的结构细节, 应用广
负染技术 (阴性反差)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 染色剂加强背景散射电子能力, 反差相对增大;</li> <li>2. 操作简便快速, 样品不丧失生物活体结构;</li> <li>3. 反差好, 分辨率高</li> </ol>	主要用于悬滴和分散的颗粒性生物样品的染色, 可看结构细节, 如病毒、纤维、大分子结构的观察
冷冻蚀刻技术	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在超低温条件下拆裂、复型, 超微结构保存好;</li> <li>2. 图象立体感强, 视场较大;</li> <li>3. 可看样品的表面和断面的三维结构</li> </ol>	主要观察生物膜表面、断面、特别是膜内部的超微结构, 亦用于血管、各组织的研究
电镜细胞化学	利用细胞化学反应把结构、化学组成和功能结合起来研究, 并可定性和定量(与 X 射线微区分析结合)	多用于研究某一超微结构的化学组成、元素分布、酶定位等

续表 2

主要电子显微术	主要特点	主要用途
电镜放射自显影	利用同位素自显影技术研究化学成份的定位和动态变化, 使结构和功能结合起来	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 定位研究, 例如确定外源物质的位置</li> <li>2. 动态研究: 物质转运和大分子合成</li> </ol>
免疫电子显微术	把免疫反应引进电子显微术, 使灵敏度和特异性提高	主要追踪抗原(抗体)物质, 提高检出率, 也用于研究免疫反应
核酸电子显微术	将提取的核酸展开, 直接在电镜下观察	研究核酸种类、长度、分子量测定核酸杂交, 基因工程等

电子显微术在生物医学中应用情况, 见表

3。

表 3 电子显微术在生物医学中应用情况

学科领域	应用举例
细胞生物学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 研究亚细胞超微结构, 弄清了光学显微镜不能解决的细胞功能与结构的关系问题;</li> <li>2. 发现了许多新的亚微结构, 奠定了现代细胞学的基础;</li> <li>3. 利用冷冻蚀刻技术, 获得生物膜结构资料, 支持了膜的流动镶嵌学说</li> </ol>
分子生物学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 核酸、蛋白质大分子形态观察;</li> <li>2. 测定大分子物质长度、分子量;</li> <li>3. 研究核酸分子碱基的缺失等</li> </ol>
植物学动物学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 细胞超微结构的研究, SEM 在植物分类学上的应用及鉴定;</li> <li>2. 利用 SEM 研究体表、外表形态, 为研究动物分类、进化提供形态学资料</li> </ol>
遗传学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 染色体、染色体的超微结构, 遗传病的研究;</li> <li>2. 核酸复制、转录、翻译在分子水平上的观察;</li> <li>3. 遗传工程, 分子遗传学的研究, 核酸分子杂交、编接基因缺失观察</li> </ol>
组织学	机体各组织、器官超微结构的研究不断有新的发现
微生物学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 细菌、支原体等微生物超微结构的研究;</li> <li>2. 病毒结构、形态发育的研究, 新病毒和类病毒发现</li> </ol>
病理学	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 细胞、组织、器官超微结构的研究, 超微病变的研究, 如 SEM 对癌细胞浸润现象的研究;</li> <li>2. 分子病理学的产生</li> </ol>

续表 3

学科领域		应用举例
生物医学的基础学科	免疫学	1. 研究免疫反应, 抗原和抗体分子结合的图象; 2. 抗原定位; 3. 抗原抗体复合物与补体结合对细胞和组织的损伤作用
	药理学	1. 药物作用机制和疗效观察(如抗菌素); 2. 分子药理学研究, 受体的研究
临床应用	临床诊断	病毒性肝炎, 病毒性腹泻的病原学诊断, 血液病的 SEM 诊断
	快速诊断	利用免疫电镜可对某些病在数分钟内作出诊断, 如天花等
	疗效、愈后估价	如对某些血液病治疗效果的观察, 医学工程对机体影响的观察
	病理诊断	配合光学显微镜对疑难肿瘤的诊断, 对肾病、肝病的诊断
中医	1. 针刺理论的研究; 2. 中药作用机制的研究, 如对补气药和活血化瘀药引起的超微结构改变的观察	

## 二、电镜技术在生物医学中的应用

### 1. 在肿瘤研究中的应用

癌瘤严重地威胁着人类的健康与生命, 尽快地控制肿瘤已成为生物医学工作者的当务之急。人们渴望利用电镜能对癌瘤病因、癌变机制的研究和早期诊断作出贡献。经过多年的研究, 取得了一些成绩。

#### (1) 为肿瘤病理、病因学的研究提供线索

多年来, 经过对各种肿瘤细胞的观察, 已对癌细胞的超微结构特点有了一定的了解, 并能对诊断提供依据。特别是近年来将新出现的形态学测定和立体分析学技术引入到超微结构研究中, 使我们能对病变细胞与正常细胞的超微结构作出定量的测定和统计学分析比较, 从而得到较为客观的结果。电镜在肿瘤病因的研究中也在发挥其独特的作用, 如电镜已证实许多动物的肿瘤是由病毒引起的。近两年来对人肿瘤病毒病因的研究取得进展, 如国外已报道, 在经特殊培养的人的白血病 T 淋巴细胞中, 利用

电镜观察对逆转录病毒颗粒, 引起医学界的重视。

#### (2) 研究肿瘤细胞的基本性状

电镜技术在研究肿瘤细胞的社会活动性、细胞抗原及癌细胞浸润、转移机制等课题中也作出了很有价值的工作。

#### (3) 有助于某些疑难肿瘤的诊断

当前, 光学显微镜虽仍是诊断肿瘤的主要工具, 但据统计, 约 30% 经光镜诊断的肿瘤需用电镜作出鉴定, 约 5% 的病理活检病例, 单靠光镜无法确诊。因而, 电镜在癌瘤病理诊断上是有很大的实用价值的。值得提出的是, 电镜在鉴别低分化的癌与肉瘤、低分化的鳞癌与腺癌、低分化的癌和淋巴瘤及黑色素瘤上有很大的帮助。在确定类癌和有神经分泌颗粒的肿瘤上电镜亦有独到之处, 电镜技术还能在明确转移灶的性质、查明原发灶的工作中作出贡献。

### 2. 在病毒学研究中的应用

1939 年, 人们利用电镜第一次直接观察到病毒的形态。从此, 病毒学家就和电镜建立了密切的关系。四十多年来, 他们运用这个唯一直观病毒的工具, 在病毒学的研究中取得了丰硕的果实, 推动了病毒学的发展。特别是近年来, 由于病毒成为研究细胞超微病理的最好探针, 更加扩大了电镜技术在病毒学中的应用范围。可以说, 病毒学又是生物医学领域内应用电镜技术最多受益最大的学科。

#### (1) 发现和鉴定新病毒

许多病毒都是在电镜下或在电镜配合下发现的, 如肝炎病毒、伯基特淋巴瘤内的 EB 病毒等。在病毒分类学中, 除了核酸类型等标准外, 主要还是根据病毒的大小、形状、有无囊膜、核壳体的对称型和在细胞中的发育等形态学标准进行快速而准确的诊断。

#### (2) 研究病毒结构、形态发育和病毒与细胞相互作用的必备工具

联合应用电镜的负染技术、超薄切片技术, 能够看到病毒表面和内部的详细结构。通过对感染细胞的电镜研究, 能观察到病毒生长发育情况, 明确包涵体的性质, 同时还可以知道病毒

在细胞中的定位(核内或胞浆中,散在或呈晶格排列)。此外,从感染细胞的超微结构改变的资料中,能得到病毒与细胞相互作用的大量佐证。所以电镜在加深对病毒本质的认识、探讨病毒致病机理方面发挥着很大作用。

例如,造成人类广泛感染的疱疹病毒,除了急性感染外,还会引起胎儿畸形,导致持续感染,并可能与某些肿瘤的发生有关,因而受到病毒学家的重视。

### (3) 配合生物学、免疫学进行病毒病因的研究

随着现代医学的不断发展,病毒性疾病不断被发现,电镜在此往往起着先锋作用。如近年发现的病毒性出血热,慢病毒引起的神经系统疾病和各种动物白血病的C型病毒等。

我国在利用和发展免疫电镜方面已取得一些成就,例如最近洪涛等利用改进的酶标电镜技术对我国肾病综合症出血热(HFRS)病原进行了鉴定。HFRS是一种非常严重的传染病,威胁着包括我国在内的世界许多地区人民的生命。国际上经过半个世纪的研究,于1978年分离到病毒,我国在1982年也将该病毒分离成功。虽然血清学有充分的证据说明本病毒的存在,但对此病毒的形态和归属问题一直未能解决,国内外学者虽经多年的努力,但始终未能在感染细胞中见到病毒形态。去年,中国医学科学院病毒所形态室与流行病组协作,对HFRS病毒感染细胞作了酶标免疫电镜研究,首次在感染细胞上发现了HFRS病毒,并从形态上认定与布尼亚病毒相似。同时他们还首次发现我国轻型HFRS与经典的HFRS病毒形态基本一致。

### (4) 有助于临床病毒病的诊断

近十几年来,医务工作者对使用电镜为临床诊断服务颇感兴趣,随之出现了诊断电镜技术(Diagnostic Electron Microscopy)。这主要是采用简单快速的负染技术,特别是免疫电镜技术,通过对临床标本的检查,常使某些病毒病在数分钟内作出诊断(如天花和水痘的诊断)。对一些难以组织培养的病毒(如肝炎、轮状病毒

等)和不引起明显细胞病变的病毒(风疹、鼻病毒等),电镜也往往是诊断的可靠手段。

最近几年,电镜技术在流行性腹泻的病原诊断上作出了贡献。这种疾病在世界各地都有流行,由于难以利用细胞培养方法分离得到病毒,开始只能靠免疫电镜做出病原诊断。如利用电镜发现了造成婴幼儿腹泻的轮状病毒,引起成人和小儿腹泻的一类小病毒——Norwalk组因子。

值得注意的是,最近在我国许多省市陆续暴发成人非菌性腹泻,由于该病来势凶,传播快,又主要侵袭青壮年,故对人民健康和生产造成严重威胁。中国医学科学院病毒所病毒形态室与兰州、锦州和黑龙江等防疫站协作,对这种成人病毒性腹泻作了研究,发现了新的轮状病毒。

## 3. 电镜技术在病理学方面的应用

现今的医学研究已进入分子研究水平,医务工作者已不再满足利用光镜得来的病理学知识。随着电镜技术的问世与发展,出现了超微病理学。这不但使普通病理学增添了丰富的内容,而且为病因和临床诊断提供了线索。

### (1) 肾病病因和病理学的研究

在国外,已普遍开展肾穿刺活检标本的电镜观察。由于不同肾病的超微结构有各自的特征性改变,所以对诊断帮助较大。目前在肾脏超微病理的研究中已积累了丰富的资料,并已有专著。例如,根据肾小球基底膜的改变,再参考其他组织的改变,就可将肾小球肾病进行新的分类。又如,在电镜下,依据肾病的某些特征来进行鉴别诊断。目前,利用电镜能较准确地把硬化性肾炎、先天性肾炎和抗原、抗体复合物所致的免疫肾病区分开来。如若在电镜下看到大量高电子致密度沉着物时,即能排除脂肪性肾病的诊断。

### (2) 肝脏疾病的超微结构研究

对肝脏活检和尸体肝脏材料的电镜观察,不但能补充光镜看到的资料,而且能为研究发病机制乃至病因诊断提供线索。例如病毒性肝炎中的甲型、乙型和非甲、乙型之间的病理改变存在着差别,而且在乙型肝炎患者的肝细胞内

可见到核心抗原。我国学者对肝脏的超微病理也作了大量研究。

#### (3) 其他活检材料的研究

胃肠活检, 气管支气管镜活检及气道脱落细胞的材料均可进行电镜观察, 若和光学显微镜配合起来研究, 对疾病诊断, 尤其是对原因不明的疾病诊断有很大的实用价值。皮肤取材容易, 已有不少研究, 可望在湿疹、牛皮癣和红斑狼疮的研究中取得成绩。

#### (4) 血液病理研究

扫描电镜在一些血液病的研究中发挥着较大作用, 也具有一定的诊断价值。如毛细胞白血病、恶性贫血和涉及红血球的许多溶血性疾病, 均可根据血细胞的典型特征作出诊断。此外, 电镜还能对一些贫血性疾病、白血病的病因学研究作出贡献。

#### (5) 实验病理学的研究

在现代医学的研究中, 利用动物模型进行病理、病因学的研究相当普遍。若把电镜技术与之结合起来共同研究, 将会得到一些新的资料。

### 4. 电镜技术在生物学方面的应用

#### (1) 奠定了现代细胞学的基础

电子显微镜技术与其它实验手段相结合, 推动了细胞生物学的发展, 使许多在光学显微镜下争论不休的问题得到了明确解答。尤其是对线粒体、内质网、高尔基复合体等细胞器的结构与功能的关系了解得比较清楚, 发现了新的细胞器和结构, 如微管、微丝、过氧化酶小体等。突出的是, 线粒体内膜上“基本颗粒”的发现, 为阐明线粒体的基本功能——氧化作用及与 ATP 合成偶联, 提供了形态学基础。近来, 对细胞之间的连接装置, 对细胞骨架成分的定位和形态观察, 以及对细胞膜系统的研究; 电镜技术也都作出了重要贡献。

#### (2) 分子生物学不可缺少的工具

(A) 利用高分辨电镜对染色质、染色体进行超微结构的研究是近年来分子生物学取得的新进展。它为分子遗传学提供了大量形态学依据。例如 Miller 等利用电镜直接拍下 DNA 转

录 mRNA 过程的电镜照片。不久, 人们通过对灯刷染色体和巨大多线染色体的电镜观察, 结合电镜放射自显影和电镜细胞化学技术, 明确了伸展开的单链 DNA 具有复制、转录的活性, 而高度螺旋化卷曲部分则无活性, 这就从形态学上对基因表达中心法则的解释提供了依据。此外, 在弄清楚染色体的分子结构方面也取得了进展, 电镜下发现其为串珠样结构, 染色质纤维上有间隔球形核小体, 它由 DNA 和组蛋白构成。现在已经证明核小体由四种组蛋白分子 ( $H_{2a}$ ,  $H_{2b}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$ ) 两两相对组成两层, 构成一八聚体。DNA 分子链在八聚体上盘绕近两周, 由组蛋白分子上的臂状分枝固定, 而两个相邻小体间的 DNA 键则由组蛋白 ( $H_1$ ) 与之结合。

(B) 近年来, 分子生物学的另一大的进展是核糖体及蛋白质合成机制的研究, 而电镜为此作出了重要贡献。电镜观察到核糖体由大小亚单位组成, 拍出了 mRNA 翻译时把核糖体串连成多聚核糖体的电镜照片, 并利用免疫电镜等技术, 确定了这些亚单位的一些分子团是 mRNA 密码翻译蛋白质的功能位点, 以及这些功能位点在翻译过程时的动态过程。

(C) 基因工程大分子结构的形态学图象是基因工程课题不可少的内容。电镜下可测量核酸分子的大小, 观察其编接、杂交、基因缺失等情况, 有人正在设法用标记手段深入研究核酸的碱基顺序和蛋白质氨基酸序列。

值得指出的是, 近年来已拍摄到血红蛋白分子结构的电镜照片, 甚至得出一些特殊化合物的原子柱排列的图象(原子结构象), 这是电子显微术的一大进展, 对解决生物分子结构与功能的关系和分子生物物理方面的问题非常有利。

### 5. 电镜在其他方面的应用

在生物医学的其他领域中, 电子显微术也在发挥着作用。在药理学方面, 国内许多单位通过电镜来观察用药前后某些细胞组织的超微结构改变, 试图为研究药物的作用机制和评价

(下转第 144 页)