

显微镜的最新突破

王家棋

(美国 Nanodynamics, INC)

一、光学显微镜

光学显微镜的分辨率受到 $0.5\mu\text{m}$ (即 5000Å) 左右可见光波长的限制。共焦显微镜将激光器发出的相干光照射在样品上或透过样品, 结合计算机一起处理波场并从干涉图样中再现象。共焦显微镜能够把普通的光学极限分辨率提高一个数量级以上。它的确是强有力的检测工具, 但不能提供像 X 射线那样的穿透性测量。

二、电子显微镜

过去, 亚微米级的分辨率一直要靠电子显微镜获取。但是, 使用电子显微镜需要将样品置于真空环境, 该环境会迅速破坏必须在潮湿化学状态下才能维持的全部生物活性。此外电子束在细胞组织中穿透深度很短, 因此测量被限制在样品表面, 全部辐射剂量都集中在研究区域。如此高达几百拉德的辐射剂量, 排除了所研究生物体存活的可能性。事实上, 即使对于非生物样品, 如硅器件, 在如此高的辐射剂量下也有可能损坏其有效性能。

三、原子显微镜

最近发展起来的电子隧道显微镜和原子力显微镜首次提供了在亚原子级上研究表面结构的手段。但是, 制备的样品必须置放在有相同平滑度的基片上, 所要求的平滑度适合于导体表面的晶格或生物分子, 从而这一方法不能在材料科学和生物学中广泛地应用。

四、X 射线显微镜

X 射线光子波长比可见光波长短很多。一个 12keV 光子的波长只有 1Å , 此波长小于一个原子的线度。制造 X 射线显微镜始于发明电子显微镜之前。X 射线不能用于折射光学系统, X 射线显微镜用到了掠反射原理, 即软 X 射线光子以掠入射角在光滑的导体表面入射反射 (王, 美国专利 4, 317, 036)。掠射光学在 X 射线望远镜方面已取得了极大的成功, 但对于 X 射线显微镜, 它只是达到了 $1\mu\text{m}$ 的分辨率, 此分辨率通常任意一个好的光学显微镜都能达到。

五、NanoRay™ 系统

显微镜的分辨本领常由其放大率即能分辨的最小细节的放大倍数来衡量。NanoRay™ 系统 (仪器) 的最小分辨长度大约是 X 射线源的光斑线度。对于线度为 20nm 的 X 射线光斑, 若其影象的基本像素线度为 1mm , 则放大率为 $1\text{mm}/20\text{nm}=50000$ 。该仪器的其他特征因子诸如视场和焦深能从显微镜装置的三角测量中得到 (见图 1)。

除样品置放的位置外, 不再移动其他部件, 放大率就仅依赖于样品的位置。当样品紧贴成像器件放置时, 最小分辨长度简单地变为像素线度, 对于只有 256×256 像素的成像器件, 最小分辨长度大约为 $40\mu\text{m}$, 此时系统没有放大。随着样品向 X 射线源逐渐靠近, 系统的放大率从 1 开始按三角测量的规律逐渐增大。当样品完全紧贴 X 射线源时, 被照明的亮斑处的分辨率也达到了系统的最大分辨率。

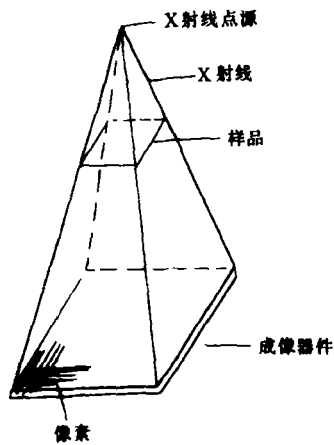


图 1

分辨本领的改善可以通过增加 X 射线源聚焦光斑到底片的距离 [见图 2 (a)]; 减少聚焦光斑尺寸 [见图 2 (b)]; 增加物到底片的距离 [见图 2 (c)].

辐射剂量的降低可以通过 (1) 改善记录 X 射线光子的探测器的量子效率; (2) 选择合适的光子 (线) 能量以便得到最好信噪比下的最低辐射剂量.

系统的 X 射线亮斑是由聚焦的端窗型 X 射线管产生的. 适当地选择端窗材料能够给出清晰的 X 射线谱线. 结合对探测器耗尽层深度和信号识别电平的某种选择 (王, 美国专利 5,044,001), 该谱线提供了区别“功能 X 射线源”和“非功能 X 射线源”的唯一可能性. 处在谱线上的功能 X 射线源实际上与聚焦的电子束有相同的尺寸, 而分散的、能量较低的非功能 X 射线源不提供构成像的信号. 几个成像器件或同一成像器件的几个不同角度的成像能合成三维阴影象. 立体像要用计算机进行图像处理来获取.

成像几何与分辨率

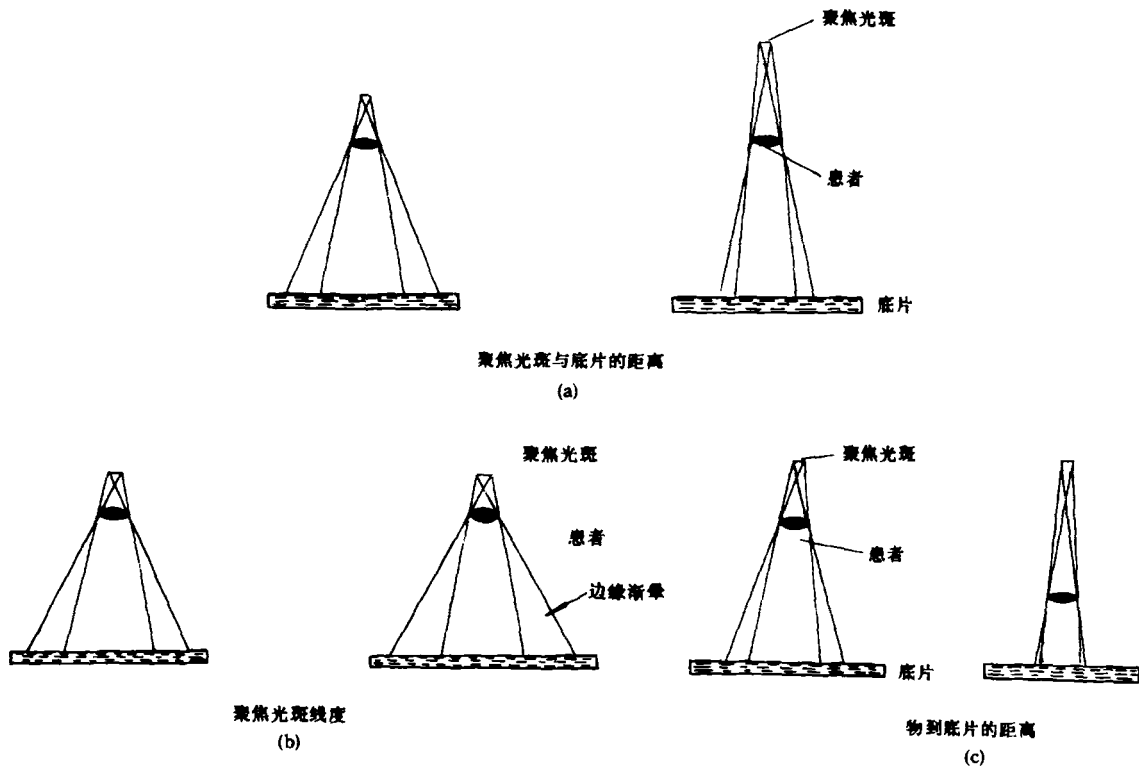


图 2

六、一些潜在应用

上述系统的 X 射线可分别在 4keV, 10keV, 15keV 的各种线元上产生, 每种线元能量在细胞或硅材料中有其特征穿透深度. 在 4keV 能量上, 单细胞或薄的 X 射线掩膜可在良好的衬度下测量. 生物样品一般不能提供足够的 X 射线成像衬度. 因此, 为能成像, 必须以某种选择方式使用衬度增强剂屏蔽 X 射线. 对于活性生物, 还需衬度剂起替代作用. 典型的如核酸, 是用溴脱氧尿苷 (BrdU) 代替没有毒性的胸腺碱 (T), 其中 5-溴代替 5-甲基; 对于蛋白质和肽, 依赖于反应条件, 用氯胺 T 作为氧化剂可将它们与氧化碘化合, 其中阳离子 (I)⁺代替酪氨酸的酚基或组氨酸的咪唑环. 其他重元素,

大部分是有机金属化合物, 不仅能起替代作用而且对 X 射线有相对屏蔽作用.

对于微电子器件, 沉积在薄的硅基片上的金属物对金属沉积图样的成像有足够的屏蔽作用. 较厚的硅基片需要较高的 X 射线能. 出于对 X 射线穿透深度同样的考虑, 较厚的生物样品也需要较高的 X 射线能. 使用 X 射线显微镜最主要的优越性是将每次检测的微电子器件置于相对低的辐射剂量下. 高的辐射剂量会损伤微电子器件, 因而对它们只能实行脱机的抽样统计式检测. 但是, 若在低的辐射剂量下, 就可以实行联机监测, 使监测和各种制造工艺成为完整的一个部分.

(首都师范大学物理系 王荣瑤译)

1993 年第 6 期《物理》内容预告

知识和进展

纪念中国物理学会成立 60 周年邀请报告选登 (IV) 微电子技术的发展展望 (杨之廉);
介电谱研究新进展 (李景德);
孤立子与生命活动 (庞小峰);
光纤孤子通信原理和研究进展 (钟卫平等);
空间 γ 射线谱 (I) (方正知).

物理学和经济建设

外磁场对作物种子萌发与生长的影响及其作用机理 (习岗等);
磁场处理对酒质的影响 (仲维纲等).

实验技术

电子探针定量分析进展 (徐乐英);

相位测量技术的新进展及其应用 (金观昌);
凹形电介质测试腔新的刻度和测试方法 (倪尔瑚);
D2W 型微伽重力仪的原理和特点 (胡国庆).

物理学史和物理学家

X 射线晶体学的起源 (王建安);
吉布斯和他对热力学、统计力学的贡献 (杨建邨等).

问题讨论

怎样才能有效地观察光孤子 (霍华金).

资料

PACS 及其用途用法简介 (赵基明).