

浅谈 X 射线显微镜

方 国 玲

(安徽淮南第一人民医院)

显微技术的每一个进展,都为科学家提供了对生物组织的功能以及物质本性的新透视方法。16 世纪末光学显微镜的发明,使人们能够观察单细胞动植物体。20 世纪初 X 射线晶相学的发展,使人们首次获得原子水平的物质图象。以后几十年电子显微镜的发明,使人们可以直接观察病毒等的表面结构。然而,电子显微镜也有不少难以克服的缺点。例如,电子束要求真空,这就使观察活的、潮湿的生物样品极其困难。同时,高能电子束的轰击,对样品也有明显的损伤,特别是对本身发光的样品,电子显微镜就无可奈何了。

在本世纪 50 年代,出现了一种不用光和电子而用 X 射线的显微镜,它为人们更深入地了解自然界提供了一种细微观察的方法。自 70 年代起,由于高温等离子体、热核聚变能源的研究,以及空间天文学、生物学、材料科学和环境科学发展的需要,又由于强 X 射线光学原理的改进,在技术基础上提供了 X 射线显微镜发展的条件,使其有了高的空间分辨率、能谱分辨和时间分辨能力。近年又出现了闪光软 X 射线显微镜,它可以在生物活细胞被破坏之前得到其内部结构和表面特征的图像,这是现有任何电子显微镜所无法得到的。所以,X 射线显微术,在显微技术中占有独特的地位。

目前出现的 X 射线显微镜有四种类型,即接触型、成像型、扫描型和全息型,均各有特点。

接触型是开发得最充分的一种。它用光敏物质作为抗蚀材料,然后以电子显微镜来观察该材料里 X 射线记录下的影象。这种方法比较简单和方便。

成像型是用聚焦系统将影像放大数百倍,然后将此影象记录下来。聚焦时用分辨率高的波带片。这个方法的优点是可以照射整个样品

并立即成象,迅速得到照片。它有助于解决由于生物样品运动所产生的影像不清晰问题以及最大限度地减少对样品的辐射损伤。这些特点都使得它适合于实际应用。

在扫描 X 射线显微镜中,图像是以一次一个像素的方式形成,很象电视屏上的图像。其成像过程开始于采用一个波带片将 X 射线束聚焦成一个微点,照亮样品上的一个点。其中,一些 X 射线透过样品的这部分确定像素的灰值。聚焦光点成行地在该样品上从左到右、从上到下地来回扫描,记录下一个又一个像素。光点的大小决定了分辨率的高低。虽然这种扫描方法看起来似乎既费时又费力,但是它有其独到之处,适合于计算机图像记录和逐个像素的化学分析。此外,还便于使样品保持在空气中,而几乎所有 X 射线束的路径都处于真空中。扫描还能将样品受到损伤的辐射量减至最小。

全息法是基于波的干涉原理。它不需要聚焦装置,但需要一个强的相干 X 射线源和高分辨率的记录材料,可获得样品的三维全息影像。近年,法国、日本和美国的科学家都已获得了高分辨率的 X 射线全息图。

X 射线显微镜的主要贡献将不再是分辨率极限的突破,而是它在很接近于生物体自然状态的环境下,对改变极少和完全没有改变的生物体样品进行定量测定的能力。这些样品仅在进行较大的化学或物理变化之后,才能用常规电子显微镜加以研究。

目前,X 射线显微镜的应用已卓有成效。人们用它来考察种类繁多的样品:从被重金属污染了的蚯蚓,到人体里的癌细胞;从洋地黄表皮上的细毛,到煤炭、半导体器件和混凝土的养护。许多新成立的研究中心都在探索这种显微镜的能力和应。

同一样品的 X 射线影像和电子显微图看起来不一样。这是由于 X 射线显微镜对特定的元素,常常是碳和氮,较为敏感;而电子显微镜则是将样品染色后显示出其中化学族的分布。它们分别描述出该样品结构的两个不同方面。

X 射线显微镜的一个特别重要的特征就是

它能突出或抑制样品中存在的某一特定元素的可见度。每种元素都以一种特殊的方式吸收 X 射线。对于波长在 23~44 埃之间的 X 射线,氧和水对辐射的透明度比有机物质要大得多,这一事实实现了鉴别某些物理和化学特征的可能性。因水占多数细胞质量的四分之三左右,这一波长范围的 X 射线光谱被称为“水窗”,它对于生物显微术十分有用。X 射线与物质相互作用的这种方式,使 X 射线显微镜有可能对样品的密度和化学成分进行详细的定量测定。对于每一种元素而言,它们都存在着某一临界 X 射线能量,这一能量称为“吸收限”。X 射线能量处在吸收限时,能使元素释放出一个电子。当 X 射线至少具有临界能量时,才会被那种元素有效地吸收。人们可以利用这一性质,在刚刚低于吸收限和高于吸收限的情况下制作一些图象。从高于吸收限得出的图象中扣除低于吸收限得出的图像,就可基本上消除处于那一能量吸收限元素以外的其他元素的信号。这样,X 射线显微镜就能绘制出样品中某单一元素的分布图。

一般说,X 射线显微镜与电子显微镜有相互补充的特点。电子显微镜可达到极高的分辨率(2~20 埃);现有 X 射线显微镜的分辨率是在几百埃的量级。即使对软 X 射线,由于其基本的衍射限度(X 射线半波长),它的分辨率也不可能优于 10~20 埃。所以,X 射线显微镜的主要贡献不在于提高分辨率。

现有的 X 射线显微镜是一个价格昂贵的庞然大物,全套设备价值约 2 亿美元,占地达一个飞机棚大小。美国新泽西州普林斯顿等离子物理实验室和加州劳伦斯利弗莫尔国家实验室的科学家正在改进 X 射线显微镜,以用于规模较小的实验室。这两个机构宣称,X 射线显微镜的体积不久将会缩小到能置于实验室的工作台上,且价格不高于 50 万美元。目前,台式软 X 射线显微镜已由美国斯坦福大学的科学家研制成功。这种显微镜体积很小,一张桌子就能放得下。它避免了使用笨重的同步辐射源来获取软 X 射线的不便,从而大大提高了它的实用性。

该显微镜使用掺钕钇铝石榴石脉冲激光,轰击铜靶以产生软 X 射线。激光器的脉冲很短,约为 10 毫微秒。铜靶置于真空中,以避免软 X 射线被空气吸收。由于激光脉冲很短,聚焦面积很小,在聚焦点上的光强就足以形成等离子体,并使形成的等离子体内的电子能量增加。当这样的电子与离子复合时,就可以发射出软 X 射线。据测,有 50% 的激光能量可以转换成软 X 射线。

日本筑波大学的一研究小组,开发成功另一种新型 X 射线显微镜。据称,该显微镜由 3 组反射镜组合而成。激光等离子体产生的 X 射线经反射镜组反射后使样品成像,可获得 200 倍左右的放大率,分辨率也从以往的 0.5 米提高到 0.2 米。使用这种显微镜就象使用普通的显微镜一样,并能观察生物体的内部。由于该显微镜的透射力强,因而可以把样品内部画面放大。如直接观察活的细胞和细胞中的染色体。

为了发挥 X 射线显微镜的特点,新装置把作为光源的 X 射线的辉度提高了 160 倍左右,大大缩短每次的振荡时间。这样,X 射线的强度就能发挥出鲜明地、短时间地进行观察的效果。脉冲状的 X 射线为观察连续运动的物质发挥了作用。

目前,X 射线显微镜正在不断发展和完善。可以相信,随着研究的不断深入,各种性能更为优异的新型 X 射线显微镜将会相继问世,并在科学研究和科技实践中发挥出重大的作用。

(上接第 29 页)

理学期刊,以及它们的学术地位,就能有一个大致了解了。但必须指出,上述基于核心期刊的评价虽然较客观,但未必是没有缺点的。例如一些专业性较强的期刊,由于读者面窄,引用率低,不一定排在前面,但不能说明水平一定低。又如 SCI 仅收我国 8 种刊物。许多我国优秀刊物未收主要由于语言问题。又如上述核心期刊排序,Physical Review Letters 均未排至首位。但一般公认它属于最能代表物理学发展水平的期刊。