

2017年诺贝尔化学奖解读——

# 冷冻电子显微学介绍

范 潇 王宏伟

(清华大学生命科学学院 100084; 北京结构生物学高精尖创新中心 100084)

1

## 冷冻电子显微技术与结构生物学

“结构决定功能”——生物体之所以能够有条不紊的进行各种生命活动,和细胞内有着特定结构并承担着各自特有功能的生物大分子(包括蛋白质,核酸等)密切相关。结构与功能之间的关系密不可分,一旦生物大分子的结构发生了改变,其功能往往也会受到一定程度的影响。因此对于生物大分子结构的认识和理解能够让研究者们对生命过程有更深层的认知。结构生物学便是一门通过获取生物大分子的空间结构以及结构的动态变

化来解释大分子的生物学功能产生机制,并以此为基础对特定生命现象进行阐释的学科。而为了有效和精确地获得生物分子的结构及其变化,生物学家们需要依靠先进的物理学仪器和方法。在目前阶段,主要用于获取生物大分子高分辨结构的手段包括X射线晶体衍射技术,核磁共振波谱技术以及本文主要介绍的冷冻电子显微技术。

简单来说,冷冻电子显微技术就是利用透射电子显微镜对迅速被冷冻在液氮温度(-196℃)甚至更低温度的含水生物样品进行拍照(图像收集),并通过后期的图像处理获得目标样品相关结构信息的技术。该技术简称为冷冻电镜(Cryo-EM)。冷冻电镜的总体研究方法可以大致分为以下三个步骤:1)冷冻样品制备;2)冷冻电镜图像收集;3)图像三维重构(图1)。而根据数据收集和处理方式的不同,也可

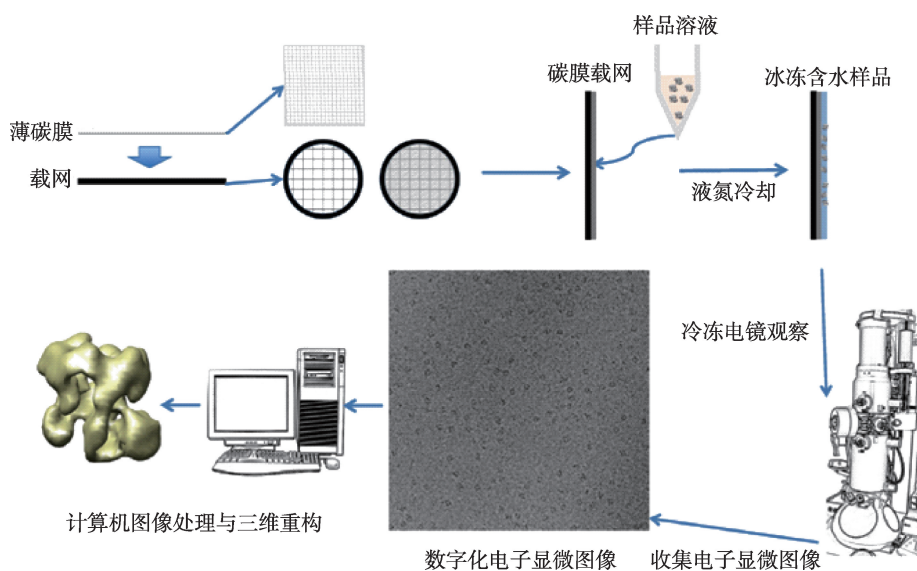


图1 冷冻电镜研究方法示意图

再将冷冻电子显微技术细分为电子晶体学技术,单颗粒技术以及电子断层扫描成像技术。由于近年来的一些在硬件和软件上的突破性发展,冷冻电镜技术也突破了前期的分辨率限制(纳米级别分辨率),将解析样品的分辨率提升至近原子分辨率水平(埃级别分辨率),能够有效地获得生物大分子的高分辨结构。该技术也因这巨大的突破和近年来迅猛的发展,于2017斩获了诺贝尔化学奖。

2

## 冷冻电子显微技术的基本原理和发展过程

在一般的光学成像体系中,根据阿贝衍射极限,图像的分辨率受限于光源的波长。同等情况下波长越长,能够达到的极限分辨率就越低,因此一般可见光直接成像的分辨率极限大约是200纳米。根据德布罗意提出的波粒二象性,电子作为基本粒子也具有一定的(电子波)波长,在经过高加速电压下的电子波长(可达到皮米级别)会远远低于可见光。按照阿贝衍射定律,利用电子波成像能够极大地提高分辨率极限。基于此想法,德国科学家恩斯特利用高速电子在磁场中偏转的特性,于1931年发明了透射电子显微镜。随着透射电镜系统本身的不断完善,在材料科学领域中研究人员最先利用电镜观察高分辨材料结构。生物学家们也在20世纪50至60年代利用重金属染色和包埋等技术观察到叶绿体、线粒体、高尔基体及内质网等细胞亚显微结构。但是由于生物样品的一些特殊性质使得能获得的分辨率较之材料学领域低了很多:(1)生物样品一般含水,但镜筒内的高真空环境却会让水分丢失;(2)生物样品主要由碳氢氧等轻元素组成,容易受到高能电子的辐照损伤;(3)轻元素组成与电子的相互作用较弱,导致生物样品成像衬度低。在当时,这几个问题严重限制了透射电镜能够观察的生

物样品的种类,更别提解析生物大分子的精细结构。为了能够更好地在电镜下观察接近生理状态的生物大分子,研究者们需要新的样品制备及观察方式。1974年格莱泽(R. Glaeser)研究组发现将生物样品冷冻在液氮温度下,可以大大减少电子的辐照损伤;1981年杜波切特(J. Dubochet)(2017年诺贝尔化学奖获得者之一)研究组提出了更实用的在液氮温度下将液态水快速冷冻成为无序冰(非晶体冰)的方法(图2),并于1984年首次发表处于无序冰中的病毒颗粒,这也标志着现代意义上的冷冻电镜观察方法的诞生。由于液氮温度下无序冰的蒸汽压远远低于透射电子显微镜内部的真空度,与此同时将样品置于液氮温度下也可以减少辐照损伤,因此将含水的生物样品快速冷冻于液氮温度下的无序冰中并在此温度下利用透射电子显微镜进行观察,

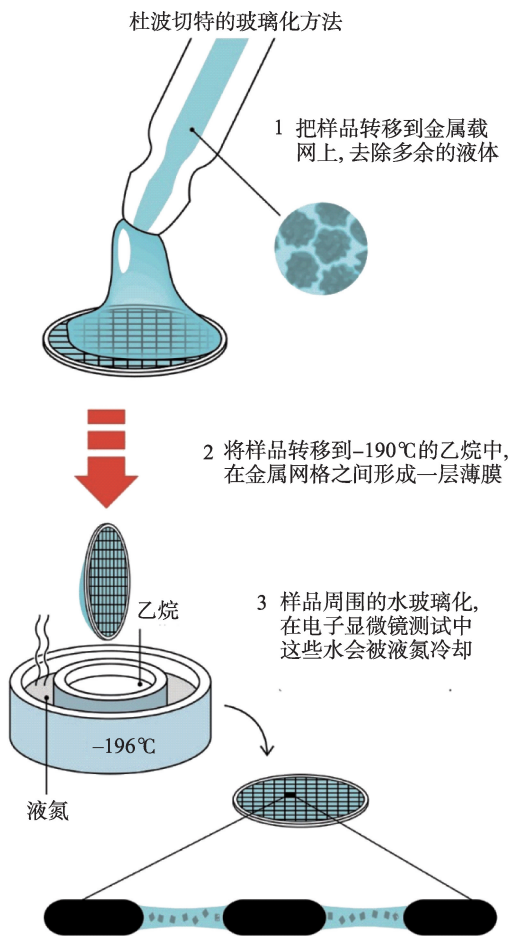


Illustration: ©Johan Jarnestad/The Royal Swedish Academy of Sciences

图2 杜波切特的玻璃化方法示意图

可以同时有效解决上述的(1)和(2)两个技术难题。这种利用低温制备样品及进行透射电子显微镜观察的技术在过去的30年里日臻成熟,发展成为现在的冷冻电子显微学技术。

虽然成熟的冷冻电镜样品制备和观察方法在20世纪80年代才逐渐建立,利用透射电镜对于生物大分子样品进行成像和三维重构的相关理论在更早的时期就已经逐步开始建立。透射电镜成像和光学显微镜成像方式类似但又有着明显的区别,在透射电镜成像过程中电子束会穿透样品,从而将样品的三维电势密度分布函数沿着电子束的传播方向投影至与传播方向垂直的二维平面上,于是透射电镜得到的图像包含了样品内部的电势密度信息,更像是一个沿着特定方向被“拍扁”的样品,而不是一个没有密度信息的二维轮廓(比如“影子”)。在20世纪60年代早期,克卢格(A. Klug)和其同事建立了分析和获取具有高度有序重复排布的样品结构的电子晶体学三维重构方法,他也因此获得了1982年的诺贝尔化学奖。1975年,亨德森(R. Henderson)(2017年诺贝尔化学奖得主之一)与昂温(N. Unwin)利用电子晶体学的技术手段,对细菌视紫红质在细胞膜表面形成的二维晶体结构进行(常温条件下)数据收集,成功解析了第一个膜蛋白的结构(分辨率为7埃),能够清晰地辨认出跨膜螺旋,这也是当时能用电子显微镜获得生物大分子的最高分辨率,震惊整个结构生物学领域。而在此后的十几年里,亨德森为了追求更高的分辨率,又利用逐渐成熟的冷冻制样技术和更加稳定的透射电镜系统,于1990年成功解析了细菌视紫红质3.5埃的结构!这是人类解析出来的第二个膜蛋白的原子结构,也是第一个利用冷冻电镜解析出的蛋白质原子结构!亨德森的工作也证明了,利用冷冻电子显微技术能够获得和X射线晶体学水平相当的高分辨率结构。

除了在电子晶体学方面的贡献,克卢格和德罗西耶(D. DeRosier)在1968年又发现了中心截面定律,提出可以通过获取三维物体在不同角度的二维密度投影,再通过图像处理重构出物体的三维结构

(图3)。根据这一原理,如果可以利用透射电子显微镜获得生物样品在不同角度的放大电子显微图像,就有可能在计算机里重构出它的三维空间结构。

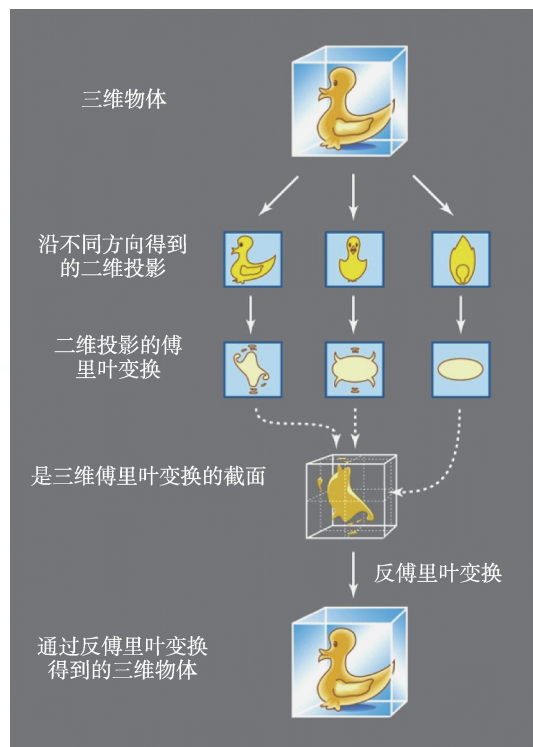


图3 三维重构的基本原理示意图

中心截面定理和电镜成像的相关理论的提出,直接推动了新的电镜数据收集和处理方法的建立。既然它证明了使用同一物体在不同角度的二维投影就能够重构出物体的三维结构,那我们的问题就转变成了如何获取样品在不同角度的投影。最传统的思想就是我们可以转动样品台,来让同一个样品处于不同的角度,并对每个角度进行数据收集,旋转的角度足够多就能够获得足够的信息用于重构,这也就是电子断层扫描成像技术(Electron Tomography)的技术思想(后文还会提到)。而另一种革命性的思想是由弗兰克(J. Frank)(2017年诺贝尔化学奖获得者之一)于1975年提出的单颗粒技术(single particle analysis, SPA):我们既然是需要同一个物体的不同角度的投影信息,那自然可以把“长得一模一样”的多个物体摆成不同的角度,一张照片里就能得到多个不同角度的投影信息,再通过后

期的计算找到这些投影之间的角度关系进行三维重构,而不需要反复地倾转样平台来对同一个区域连续成像(会造成样品的损伤)。而很多生物大分子比如蛋白质正好满足了结构均一性的条件。通常认为蛋白质颗粒在溶液中做布朗运动具有随机的朝向,我们可以直接将纯化好的蛋白质溶液在合适浓度下快速冷冻住,这样原来溶液中成千上万个“长得一样”的蛋白质颗粒就被锁定在了不同的朝向状态中。我们对这些不同朝向的蛋白质颗粒进行数据采集之后就能在计算机中进行分析与重构,得到蛋白质的高分辨结构(图4)。单颗粒技术自提

出以来,经过数十年的发展变得较为完善,在经历了一段时期低分辨率困扰之后随着接下来要介绍的硬件和软件上的突破,能够让近原子分辨率结构的解析变得更加容易。

在冷冻电镜的方法学逐渐建立之后的二十多年里,虽然已经有少数蛋白质结构能够利用冷冻电镜解析到近原子分辨率水平。但是这些蛋白质种类通常是需要能生长成二维晶体或是像病毒一样具有高度对称性的大颗粒。这时的冷冻电镜对X射线晶体学主导的结构生物学研究并没有造成太大的冲击。1991年,弗兰克利用单颗粒技术得到的一个冷冻电镜核糖体结构分辨率为40埃,而冷冻电镜三维重构也被当时的晶体学家们戏称为Blobology(只能看到一坨轮廓的方法)。接下来的一段时期,研究者们收集电镜照片的方式主要是使用胶片,虽然在后期已经有了数字化的CCD相机,但是由于其本身需要经过两次光电转换会影响图片质量等因素,收集的数据质量反而不如直接感受电子的胶片。在2003年,亨德森提出如果能直接有对电子产生响应,而不需要经过两步光电信号转换的相机,即直接电子探测器(direct electron detection device, DDD),能够以快速的速度拍照,就可以极大地提升数据质量用于高分辨率结构解析!他本人也致力于这方面的开发与探索。而这样的硬件革命在他提出的十年之后真的实现了!2013年,UCSF的程亦凡研究组先是利用新型的直接电子探测器对20S蛋白酶体(大小约700 kDa)的冷冻样品进行数据收集并重构得到了近原子分辨率的三维重构,紧接着又于同年12月发表了小分子量膜蛋白Trpv1(约300 kDa)3.4埃的高分辨结构并搭建其原子模型。这个结果震惊了整个结构生物学界!直接电子探测器对于冷冻电镜图像质量有着质的提升,不仅因为省略了两步光电转换大幅减少噪音提升了照片衬度,更是因为其具有了高速的连续成像能力。由于直接电子探测器的成像速度很快,可以将原本连续的曝光分割成很多短时间曝光一帧一帧输出成为一个动态的“电影”。由于电子显微镜样

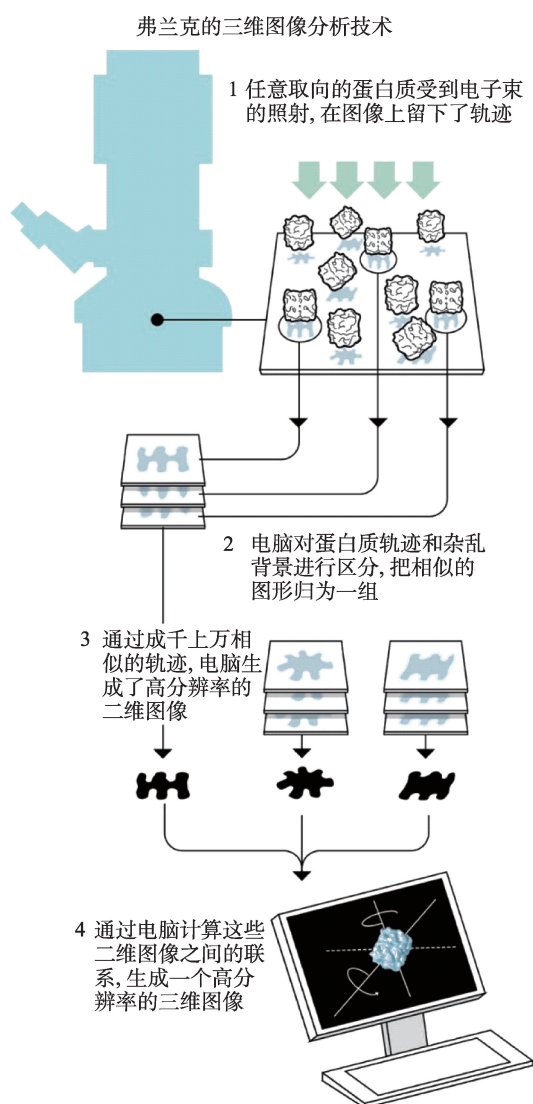


Illustration: ©Johan Jarnestad/  
The Royal Swedish Academy of Sciences

图4 单颗粒技术方法示意图

品台的漂移和蛋白质颗粒在电子束照射下会发生移动使每一帧的照片都有不同程度的漂移(drift),而程亦凡研究组开发出相应的漂移校正(motion correction)程序来对直接电子探测器收集到的“电影”进行校正之后再叠加,从而大大提升了最后输出照片的质量。同时高速的成像可以让直接电子探测器更精确地“数”出短时间内打在相机上的电子,通过相应的算法使得成像的质量能够远远好于传统的底片或者CCD。直接电子探测器的成熟应用直接标志着冷冻电镜领域的又一次重大革命——分辨率革命(resolution revolution),2013年以后各种高分辨率的冷冻电镜结构如雨后春笋般冒出,一个又一个令人激动的无法依靠传统X射线晶体学解析的生物大分子结构也接踵而至。因此2013年也被冷冻电镜领域的研究者称为“电镜元年”,2013年以前是公元前(BC, Before the Camera),而2013年以后是公元后(AD, After DDD)。

直接电子探测器的成功应用标志着冷冻电镜的硬件水平达到了一个较为成熟的水平。推动冷冻电镜领域发展(特别是单颗粒技术)的另一个方面就是软件的不断更新。虽然弗兰克教授在提出单颗粒技术之后开发了SPIDER软件用于数据分析处理,但包括SPIDER在内的一些早期软件的使用界面并不那么友好,需要相对较高的数据分析和计算机软件操作水平。而MRC的史瑞斯(S. Scheres)教授于2012年将基于贝叶斯统计思想的最大似然方法引入到单颗粒数据的分析与重构中,开发出了一种新的重构软件Relion。这一软件不仅拥有简洁明了的图形化操作界面以及详尽的操作手册;更重要的是这一基于最大似然概率的程序拥有强大的分析低信噪比冷冻电镜照片的重构能力和分类能力,不但能够给出高分辨的三维重构结构,还能够通过计算的方法分析出一批数据中蛋白质的不同构象。这使得我们能够用计算的方法对溶液中蛋白质的不同结构进行进一步的“纯化”,解析它们的高分辨率结构。由于这一软件的广泛的适用性和易用性,迅速席卷了几乎整个单颗粒冷冻电镜领域,

也使得冷冻电镜数据处理的门槛迅速降低,极大地推动了冷冻电镜技术的发展。

## 3

## 冷冻电子显微镜的研究对象和方法及其优势

冷冻电镜作为结构生物学的有力武器有很多传统结构生物学方法(如X射线晶体学和核磁共振技术)不具备的优势。

首先,适用于冷冻电镜研究的样品范围很广泛。从微米尺度的细胞结构,到亚细胞尺度的细胞器再到细胞内的各种大分子复合体,都是冷冻电镜的传统研究对象。而随着近年来硬件的发展及方法学的发展,现在已经能够用单颗粒技术对一些小于100 kd的蛋白质进行近原子分辨率的结构解析;另一方面也能够利用电子断层扫描成像技术(Electron Tomography)直接对细胞内的结构做原位的分析。

第二,冷冻电镜的研究对象更接近生理状态。生物样品一般都不能离开水,而含水状态和样品所处的溶液环境(如pH值,离子浓度等)都会影响生物样品的活性。冷冻电镜的样品制备通过快速的冷冻能将样品在合适溶液中的活性状态迅速固定在玻璃态的无序冰中,而不需要通过特殊的溶液体系来结晶或“固定”样品的状态,也使得研究人员能够更好地捕捉天然状态下具有正常活性的生物样品的结构信息。

第三,冷冻电镜的样品需求量相比其他方法更少。无论是X射线晶体学还是NMR技术通常都需要很大量或高浓度的样品用于结晶或检测。而以冷冻电镜单颗粒技术为例:通常制作一个冷冻样品只需要3~5微升的浓度大概为0.1~1微摩的蛋白质溶液。如果样品的生化性质稳定且构象均一,我们只需要几万到十几万个单颗粒的图像(每张电镜

图像通常有几百到上千个颗粒),就有可能获得足够的信息来重构蛋白质近原子分辨率的结构。尤其是对一些本身就具有很高对称性的样品(如病毒),最少只需要几千个甚至几百个颗粒便能够达到近原子线度的分辨率。

第四,冷冻电镜的另一个独特的优势,就是可以在计算水平对不均一的样品进行研究。对于X射线晶体学,同一个晶体里的蛋白颗粒处于同一个构象,通常一颗晶体只能提供某一种构象的结构。但是即使是生物化学性质很均一的蛋白质样品,在溶液中也处于不断变化的状态,可能会有不同的构象。而冷冻电镜通过迅速固定蛋白质颗粒的状态并收集放大数万倍之后的图像,能够收集到溶液中各种不同状态的蛋白质分子。那么研究人员就可以通过统计学的分析,利用Relion这样的软件,对我们的数据进行二维和三维分类,以此来删除“坏”的颗粒(杂质或者噪音)同时将不同构象的蛋白分子区分开,分别进行三维重构。这样的操作也能让一些均一性较差的样品的高分辨率结构得到解析。除了能够直接获得同一样品中的不同分子构象以外,我们还能利用统计学的手段对蛋白分子在不同条件下(如不同温度,不同溶液环境,不同的结合因子或不同的反应时间)的结构变化结合条件的改变进行统计分析,从而获取和结构信息相关的热力学和动力学信息,实现对生物大分子相关功能分子机制的更全面阐释。

### 4

## 冷冻电子显微学的发展现状,技术难点及发展趋势

### 冷冻电镜的发展现状

自从2013年的冷冻电镜“分辨率革命”以来,众

多过去应用其他结构生物学手段无法解析的重要生物大分子复合体的结构被解析出来,如剪接体、光系统-捕光复合物超复合体、呼吸链超复合体和藻胆体。有越来越多的研究组利用冷冻电镜技术去尝试无对称性,低分子量和柔性较大的生物大分子或复合体。目前能够利用冷冻电镜技术解析的最高分辨率是1.8埃(GDH),而能够成功解析到近原子线度的分辨率的最小生物分子是64 kD的血红蛋白。除了解析更小的蛋白质,能够获得更高的分辨率以外,各种新型的辅助程序也被陆续开发出来,如:自动化数据收集软件,能够以更快和更省力的方式进行数据收集;自动蛋白质颗粒挑选软件,省去了大量人工挑选颗粒的时间;GPU加速的重构软件,利用显卡强大的并行计算能力将以前需要在大型计算集群上进行计算的任务“压缩”到可以在实验室内的普通工作站上进行,极大地降低了数据处理的硬件门槛。而随着门槛的降低和技术的推广,越来越多来自不同生物学领域的研究者开始利用冷冻电镜技术来解决他们的生物学问题。这也促进了冷冻电镜技术和其他方面技术的结合,发展出了很多新兴的技术。如将荧光显微镜和冷冻电镜结合的光电耦联技术(correlative microscopy),既能够提供带荧光分子的定位信息,又能够利用电镜获得相对高分辨率的图像来突破光学显微镜成像的分辨率限制。冷冻电子三维断层扫描成像技术(cryo-electron tomography, cryo-ET)领域引入了利用等离子聚焦减薄技术(focused ion beam milling, FIB)来辅助得到更好的用于数据收集的样品。同时冷冻电子三维断层扫描成像技术领域也开始结合单颗粒技术的思想发展出局部三维断层重构平均技术(subtomogram volume averaging),利用多个三维重构来进行平均从而获得更高的分辨率。而利用电子衍射技术对百纳米级别微型晶体进行衍射数据收集和结构解析的微晶电子衍射技术(micro-crystal electron diffraction, micro-ED)也极大地降低了传统蛋白质晶体学对晶体尺寸的要求,可以充分利用小尺寸的晶体进行结构解析。

## 冷冻电镜的技术难点和发展趋势

虽然软硬件的革命让冷冻电镜结构解析的分辨率水平已经进入了近原子分辨率时代,但有很多技术难点和缺陷也逐渐显现出来,成为冷冻电镜技术进一步发展的瓶颈。

冷冻电镜的样品质量是数据收集的关键因素。而现有的制备步骤基本沿用20世纪80年代杜波切特教授发明的方法。对于高分辨的结构研究,样品里需要有分散度合适的蛋白质颗粒包埋在厚度合适的玻璃态冰中。目前普遍采用的冷冻样品制备方法在精确控制样品冰层质量(冰层厚度),制样重复性和通用性上还很很成熟,经常需要制作很多样品,摸索很多条件才能够得到一个适用于高分辨数据收集的冷冻样品,而换成另一种蛋白质之后又需要重新摸索条件。这既浪费了大量珍贵的蛋白样品,而且制样过程也需要一定的人工经验来判断质量好坏,这对高通量与高质量的数据收集和处理来说都形成了极大的瓶颈。除此之外,传统的制样方式会通过滤纸吸去绝大多数的溶液得到薄薄的液膜用于快速冷冻,实际上最后用于制样的蛋白质溶液体积大概只有皮升(pL)水平,这相比上样量仿佛一个游泳池中的一杯水,样品利用率极低。更为严重的问题是,在制样过程中所形成的非常薄的液膜有很大的比表面积,极易导致溶液中的生物大分子吸附于气液界面上而发生部分或全部的蛋白质变性,破坏了结构。冷冻电镜技术要进一步向前推进的当务之急是开发新型的冷冻制样手段,利用更少的蛋白样品,更方便地制备出具有合适冰层厚度的样品,保护生物大分子结构不受气液界面的影响,并能够利用传感器根据不同特性的样品进行参数调整来保证方法的通用性。

生物样品的不均一性也是影响结构解析的一个重要因素。虽然我们已能够对样品进行纯化以及利用最大似然算法对同一蛋白不同的构象进行区分,但对于具有很大构象柔性在溶液中随时变化的生物大分子的结构分析能力还远远不够,这也是限制具有结构柔型的样品分辨率提升的一个重

要原因。发展新的算法与分析手段来对样品的不同构象进行更好的区分并且找到不同构象之间的次序关系是冷冻电镜结构解析迫切需要的;这不仅能提高分辨率,还能够更好地将生物大分子的构象变化与其生物学功能更好地联系起来,从而帮助研究人员更准确地理解生物大分子工作的分子机制。

通过冷冻电镜三维重构得到的是生物大分子的电势密度图,而生物大分子往往是由一个个的基本单元组成(如蛋白质由氨基酸组成),因此我们需要根据三维重构密度图来摆放每个基本单元甚至是每个原子的位置,从而更好地分析生物大分子的组成以及从物理化学角度解释每个部分如何发生相互作用。这个过程称之为模型搭建。通常来说,化学键的长度是埃级别的,如果得到的密度图分辨率足够高(比如1埃),就能够准确地指认每一个原子。但实际上目前的冷冻电镜技术还远没有达到这一水平,目前大部分的高分辨结构只是3~4埃的近原子线度的分辨率水平,并不能做到直接分辨出每一个基本单元的准确信息(如氨基酸的侧链),更不用说直接摆放每个原子了,这时原子模型的搭建很依赖来自其他高分辨结构的相似信息,同时也很依赖于研究者的个人经验。如何利用好已知的结构数据库和结构预测方法,针对冷冻电镜结构的特性来开发出新的算法从较低分辨率的三维重构搭建出相对准确的原子模型将对结构解析以及药物研发具有重要的意义。目前的一些方法如RossetaCM和RossetaES,已经能够从较好的三维重构密度图中自动搭建出相应的原子模型,但其精确性和通用性尚待提高。

目前冷冻电镜的硬件水平(尤其是相机水平)的提高能够让200 kDa以上、生化性质均一的蛋白获得解析。虽然现在已经有报道成功解析的小分子量蛋白结构,但在实际操作上对于小分子量蛋白的解析还十分困难。这一方面是由于生物样品不能承受太多的电子辐照;另一方面是因为分子量越小的蛋白有效信号就越低,同样冰层厚度里样品的衬度就更低。这两个因素综合起来也使得小分子量蛋白的信号往往不足以用于图像的对齐和重构,

就使得小分子量蛋白的高分辨结构解析变得很困难。而未来冷冻电镜技术发展的方向一定是解析更高的分辨率和分子量更小的蛋白。开发更理想的电子显微镜数据采集装置,建立更稳定与理想的电子光学系统都能够进一步提高我们收集到的图像信息质量。近年逐渐开始发展起来的电压相位板(volta phase plate)借鉴传统的光学相位板原理,提供了一个很好的办法来提升电镜图像的衬度,使得研究者能够辨认出更小的蛋白分子。而目前解析出近原子分辨率的最小蛋白(64 kDa)正是利用了这一技术。将类似的电子光学设备包括球差矫正、色差矫正、能量过滤器等装置结合起来,将可能进一步推进冷冻电镜技术解析生物大分子结构的分子量与分辨率极限。

目前冷冻电镜研究的大部分目标还是提纯之后的生物样品,但随着技术的发展,研究者们对以前无法很好研究的细胞内蛋白的原位结构越来越感兴趣,但仅仅依靠现在的冷冻电子断层扫描成像技术还无法得到体内原位样品的近原子分辨率结构。随着快速冷冻技术,等离子聚焦减薄和相位板技术的成熟,以及新型的算法和更强大的计算性能,在未来的某一天这些问题可能会像冷冻电镜单颗粒技术革命一样得到解决,从而是原位结构解析技术得到迅速地推广!在那个时候,冷冻电镜显微学将实现宏观和微观尺度的跨越式结合,填补微观

的结构生物学和宏观的细胞生物学之间的空隙,让研究者们对研究体系有着更加完整的理解和认识。

5

结语

冷冻电子显微镜于20世纪80年代逐渐成型,经历了数次革命之后,终于在近年来逐渐成熟并取得了井喷式的发展。三位为冷冻电镜发展做出奠基式工作的科学家也于2017年被授予诺贝尔化学奖。而随着分辨率革命的到来,冷冻电镜的应用越来越广泛,同时也伴随着更快的发展。各种新的技术方法不断被提出,研究者们也利用更快更强的软硬件技术解决了很多困扰生物学家多年的世界性结构生物学难题。与此同时,越来越多来自于其他非生物领域的研究者也开始进入冷冻电镜领域,以他们的专业视角来对冷冻电镜方法学进行完善和补充。冷冻电镜未来的发展必定离不开交叉领域的合作,同时逐渐发展的技术必将在包括基础研究、药物研发、医疗监测等方面提供更多的支持,为造福全人类做出更大的贡献。



欢迎订阅《现代物理知识》

《现代物理知识》杂志隶属于中国物理学会,由中国科学院高能物理研究所主办,是我国物理学领域的中、高级科普性期刊。

《现代物理知识》设有物理知识、物理前沿、科技经纬、教学参考、中学园地、科学源流、科学随笔和科苑快讯等栏目。

2018年《现代物理知识》每期定价10元,全年6期60元,欢迎新老读者订阅。

邮局订阅 邮发代号:2-824。

编辑部订阅(请通过银行转账到以下账号,并在附言中说明“现代物理知识\*\*年\*\*期”)

银行账号信息

名称:中国科学院高能物理研究所

开户行:工商银行北京永定路支行

账号:0200004909014451557

需要过去杂志的读者,请按下列价格转账。

2010~2017年单行本每期10元;2010~2015年合订本每本60元。