

簡介電顯技術之運用及病毒外殼結構形態介紹

郭舒亭

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

緒言

光學顯微鏡有其物理學上的極限，無法滿足人類對於無限小的世界無止境的探索，因而才有了電子顯微鏡的產生。第一台電子顯微鏡於 1933 年由 Ruska 所發明並於 1986 年得到諾貝爾物理獎。

電子顯微鏡的成像原理，簡而說之，即以電子槍與聚光鏡取代一般光學顯微鏡的光束來呈現影像，也因為成像原理不同，物體影像在電子顯微鏡中經過各式透鏡放大之後，影像可以放大數十萬倍甚至數百萬倍以上，因此利用電子顯微鏡來觀察光學顯微鏡所無法觀察到的病原結構，對於臨床疾病可視為一重要快速檢診工具。穿透式電子顯微鏡負染色法操作步驟簡單而快速，送檢檢體可於 1 小時內得到依照觀察病原外觀結構之差異，對於臨床檢診可獲得初步判定的方向。尤其是應用在病毒性疾病，病毒的結構多為對稱性，包含立方對稱、螺旋對稱及複合性對稱結構。除了對稱性結構不同可做區別外，病毒結構構成單位如蛋白衣之數量及其排列疏密之不同，也會造成病毒顆粒的大小由 15 nm 至 450 nm 等不同的差異。此外病毒封套之有無或其它病毒結構特性之差異，都可以利用負染色法在電子顯微鏡下觀察到，進而達到病毒科別的區分及初步診斷的目地。

除了負染色法常應用在輔助疾病診斷上外，超薄切片法也是另一個穿透式電顯技術，運用在觀察組織顯微變化及病原在細胞內增殖複製過程等現象的利器。其操作流程繁瑣、複雜且耗時較久，不利於臨床上疾病診斷在時間上的要求，但對於疾病發生之後，有助於探討檢體組織細胞顯微變化及病原與組織之間的關係。

此次報告的重點，即是整理本實驗室利用不同的電子顯微鏡技術，對檢診過的各種不同的 DNA 病毒及 RNA 病毒檔案照片，其形態結構作一個簡單介紹。

材料與方法

檢體前處理：

送檢檢體（組織塊、病材乳劑、糞材、培養液、尿囊液或組織液）

電顯負染色法處理：

檢體以 2% PTA (phospho-tungstic acid；磷鎢酸) 染色劑處理再以 Hitachi-600 穿透式電顯加以觀察。

電顯超薄切片技術處理：

按照超薄切片技術處理步驟固定好之檢體經鉛鉍雙重染色後，再以 Hitachi-600 穿透式電顯加以觀察。

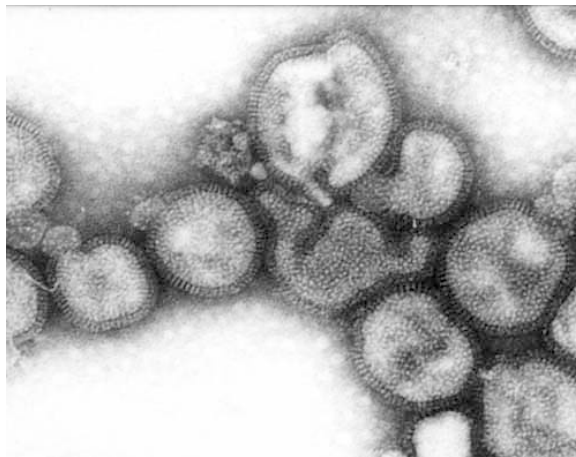
電顯免疫膠體金技術處理：

檢體與特異之抗血清作用過後再依照電顯負染色法處理，再以 Hitachi-600 穿透式電顯加以觀察。

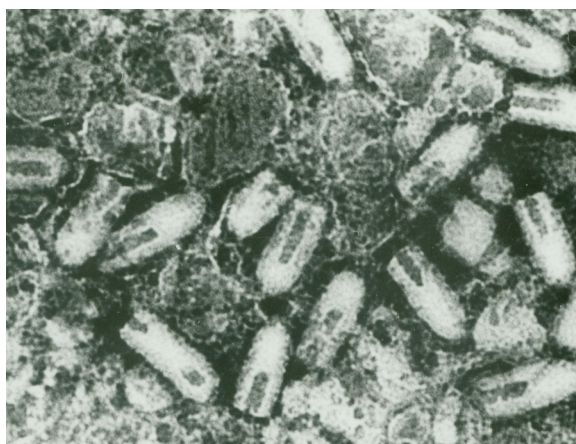
結果與討論

當面對新的疾病發生時或不能確定為何種病原時，電子顯微鏡技術的各種檢驗方法往往可以在最短的時間內，提供一些診斷的方向及依據。

與其它的疾病診斷檢驗方法比較起來，電顯技術（如負染色法）在檢驗速度上、準確度及敏感度（與中和試驗敏感度相近）上都有很好的表現，此外電顯所得到的數據及資料都是具有高教學價值，例如病原圖像的呈現，也是極具說服力的診斷依據之一（如圖一及圖二）。



圖一 家禽流行性感冒病毒（負染色法）



圖二 狂犬病疫苗毒病毒（負染色法）

然而昂貴的機器設備、嚴格的設施環境要求及專業操作人員培訓不易，這也是電顯技術在實際運用上的困境。