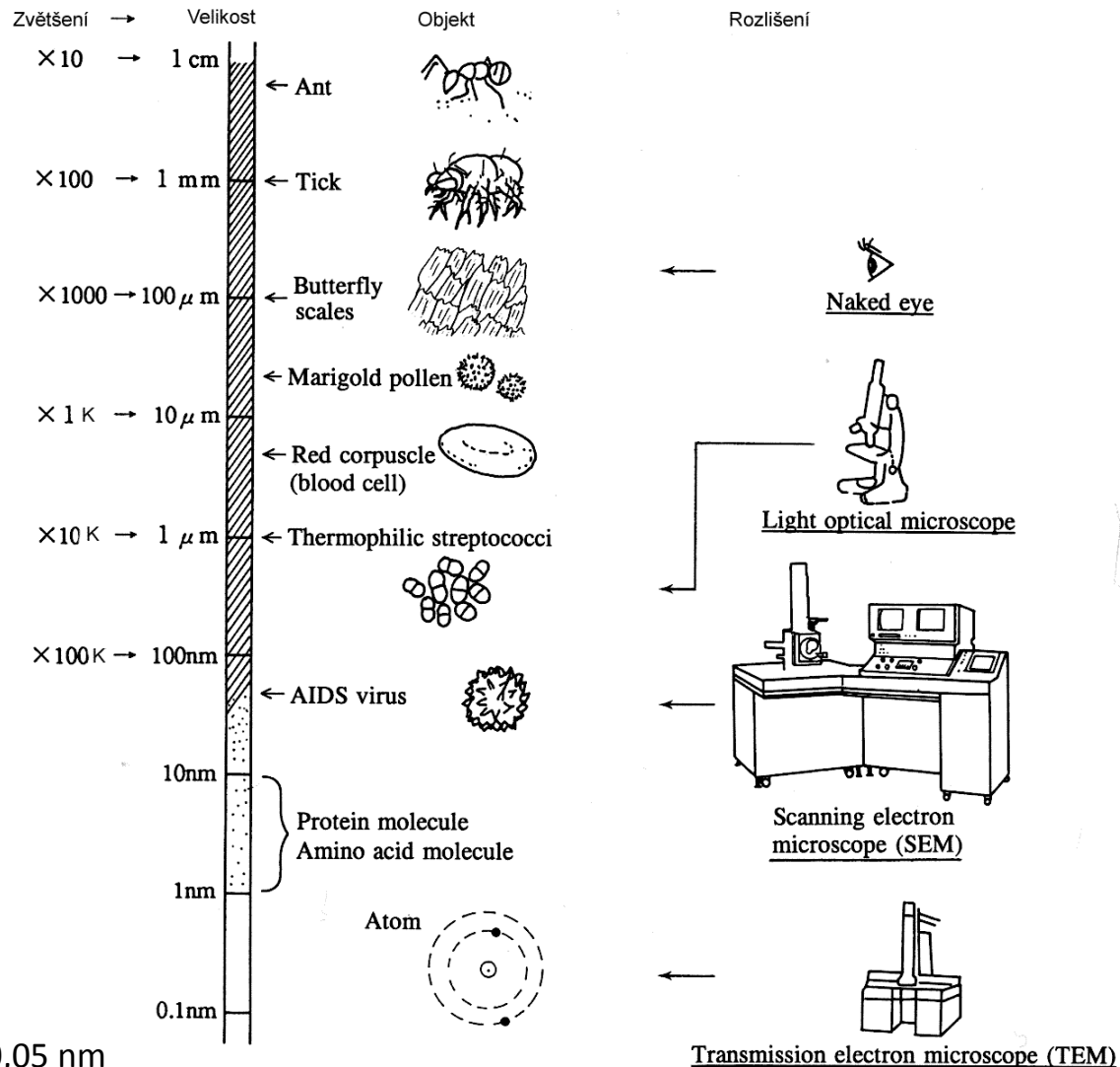


# Úvod do elektronové mikroskopie, TEM

Bi8920 Pokročilé mikroskopické metody

Josef Jaroš  
Ústav histologie a embryologie  
Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

# Srovnání rozměrů a rozlišení



Atom vodíku =  $0,529 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 0,05 \text{ nm}$

Jádro atomu =  $10^{-15} \text{ m} = 1 \text{ fm}$

# Co je elektronová mikroskopie

- EM je diagnostický nástroj , který umožňuje unikátní vhled do
  - morfologie vzorku
    - tvar a velikost částic (TEM)
  - topologie
    - povrchové vlastnosti (SEM)
  - struktury, uspořádání
    - krystalografické vlastnosti (Elektronová difrakce)
  - složení materiálů
    - prvkové složení (Analytická EM)

Elektronová mikroskopie, spolu s využitím rentgenového záření a dalších technik, významně podpořila vznik oboru **molekulární biologie.**

# Mikroskop musí poskytnout

## Rozlišení

Schopnost přenést informaci o jemných detailech ze vzorku do obrazu



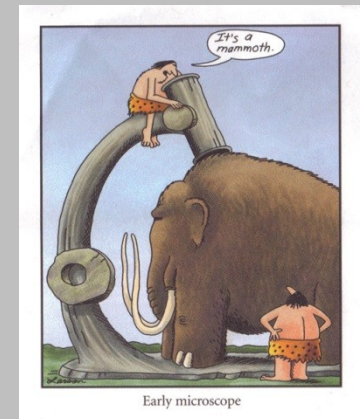
## Kontrast

Rozdíly v obrazu mezi hlavním prvkem a pozadím



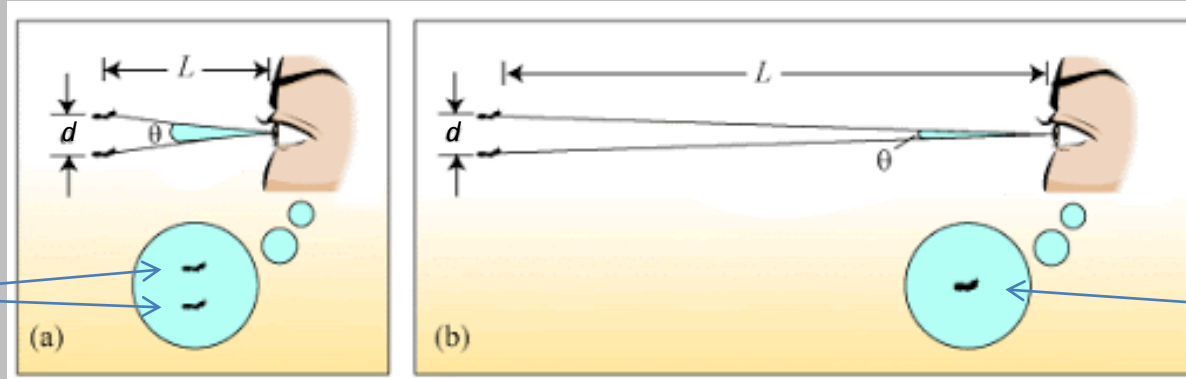
## Zvětšení

Vytvořit obraz dostatečné velikosti, aby byly okem rozeznatelné podrobnosti.



# Rozlišovací schopnost lidského oka

Oko je schopno rozlišit 2 objekty – „mravence“



Oko není schopné rozlišit 2 objekty

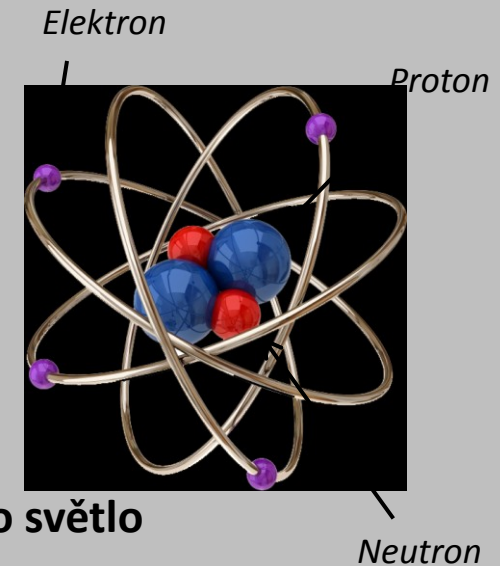
Lidské oko	0,2 mm
Světelný mikroskop	0,2 $\mu\text{m}$
Skenovací elektronový mikroskop	2,5 nm
Transmisní elektronový mikroskop	1 nm

Rozlišovací schopnost  $d$  je minimální vzdálenost pro rozlišení dvou bodů – „mravenců“). Čočkou, či soustavou čoček lze objekty a tuto vzdálenost zvětšovat, čili je pak možné rozlišit body, které jsou si blíže.

Rozlišovací schopnost však pro optické systémy souvisí s vlnovou délkou světla  $\lambda$ . Abbe odvodil rovnici, ze které vyplývá, že R.S.  $\approx 0,5 \lambda$ . Čili pro modré světlo (400 nm) platí, že ani silnější světelný mikroskop neumožní rozlišit body vzdálené méně než 200 nm.

# Proč elektrony?

- Elektron má náboj – negativní
- Elektron je velmi lehký - 1800x lehčí než jaderné částice
- Je výrazně jednodušší elektrony uvolnit z orbitalů
- => je možné elektrony urychlit v elektrickém poli
- **Když se uvolní elektrony z atomů ve vakuu, chovají se jako světlo**
- **Napětím lze regulovat délku vlny elektronu**
- Při 100 kV je vln délka 0,0038 nm.
- Ačkoliv v současnosti jsou TEMy využívány s rozlišením 0,1 nm. Vyšší rozlišení znamená technické obtíže.



$$\lambda = 1,226 / U^{1/2}$$

Atom vodíku =  $0,529 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 0,05 \text{ nm}$   
Jádro atomu =  $10^{-15} \text{ m} = 1 \text{ fm}$

# Vlnové vlastnosti

- V roce 1924 de Broglie postuloval dualitu částice a vlnění, tzn. každá částice se může projevovat jako vlnění a naopak.
- Veškerá pohybující se částice má vlastnosti vlny s vln. délkou  $\lambda$ , která je nepřímo úměrná momentu hybnosti částice  $p$ .

$$\lambda = h / p = h / mv$$

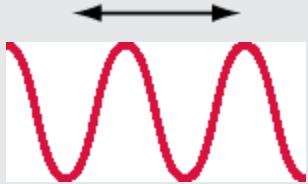
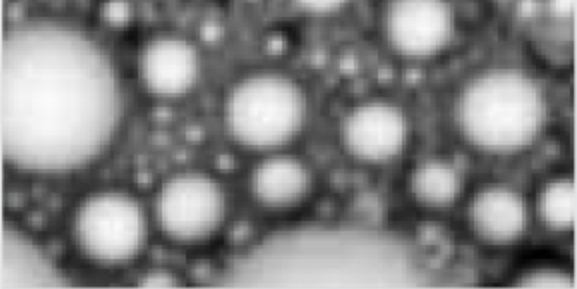
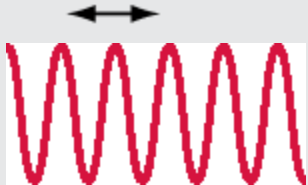
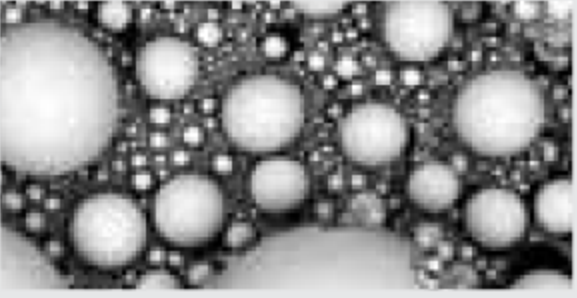
( $h$  - Planckova konstanta;  $m$  - hmotnost;  $v$  - rychlost)

- *Myšlenku duality částic a vlnění zavedl v roce 1905 Albert Einstein pro objasnění fotoelektrického jevu. Později byla experimentálně potvrzena i v souvislosti s jinými jevy.*

[https://cs.dbpedia.org/page/Dualita\\_%C4%8D%C3%A1stice\\_a\\_vln%C4%9Bn%C3%AD](https://cs.dbpedia.org/page/Dualita_%C4%8D%C3%A1stice_a_vln%C4%9Bn%C3%AD)

[https://www.wikiskripta.eu/w/Vlnov%C4%9B-korpuskul%C3%A1rn%C3%AD\\_dualismus](https://www.wikiskripta.eu/w/Vlnov%C4%9B-korpuskul%C3%A1rn%C3%AD_dualismus)

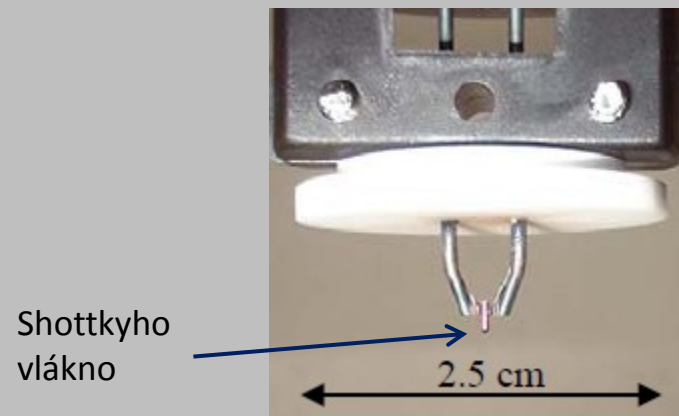
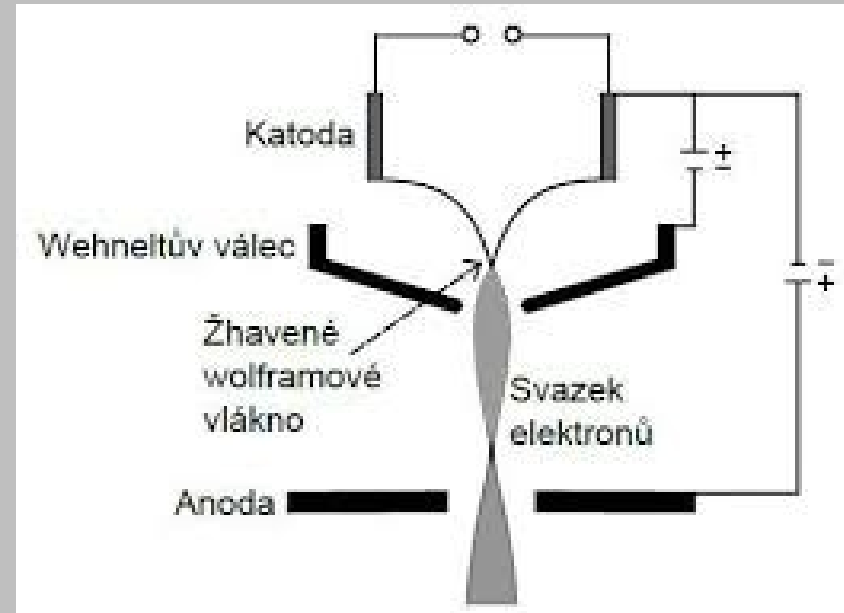
# Jak je rozlišovací schopnost ovlivněna vlnovou délkou

dlouhá vlna	 <p>wavelength</p>	<p>poor resolution</p> 
krátká vlna	 <p>wavelength</p>	<p>good resolution</p> 



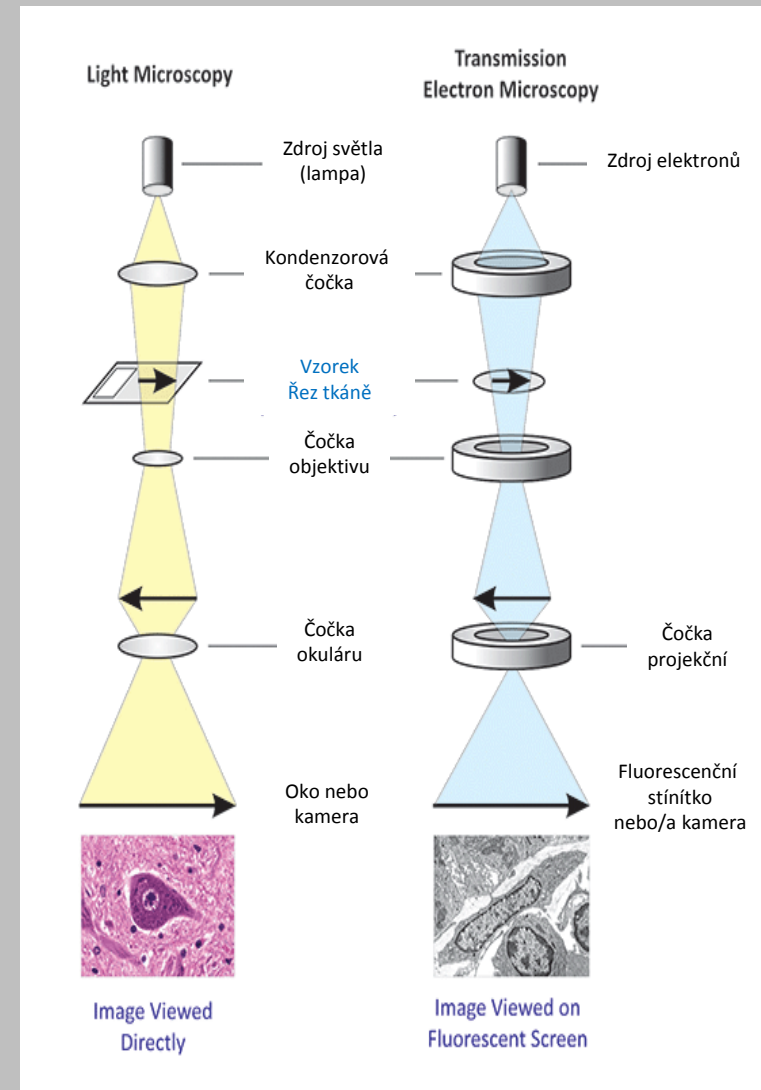
# Zdroj elektronů (elektronové dělo)

- Zdrojem elektronů je ohnutý vodičvlákno, kterým protéká proud – to je katoda
  - Nejčastější materiály vlákna
    - Wolfram (W)
    - Thermionin ( $\text{LaB}_6$ )
    - Schottky ( $\text{ZrO}/\text{W}$ )
  - Rozdíly jsou v ceně a vlastnostech – zejména jas
- Elektrony v ohybu vypadávají, proletují štěrbinou a následně jsou urychleny směrem k anodě



# Směřování elektronového paprsku

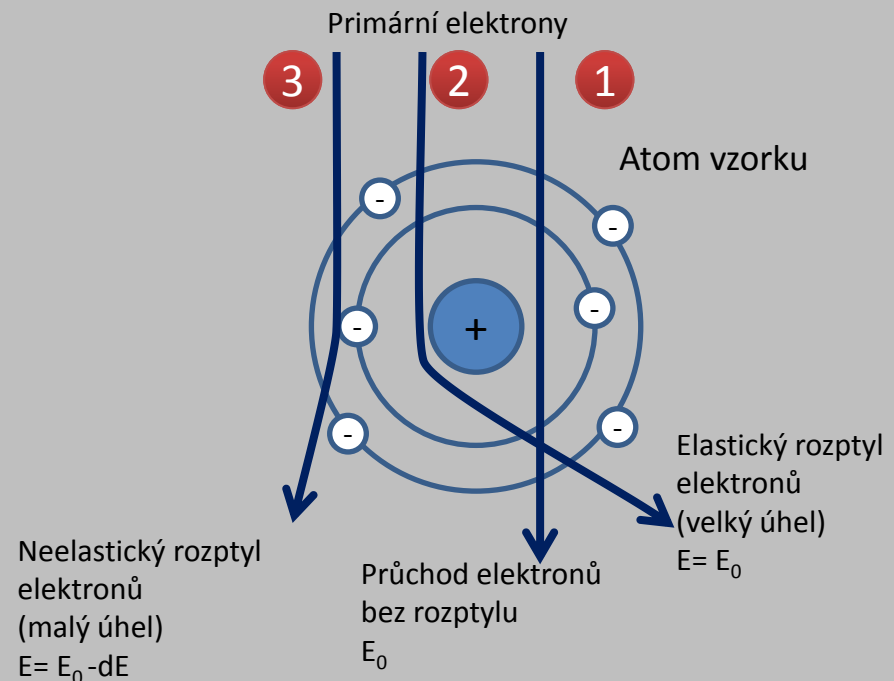
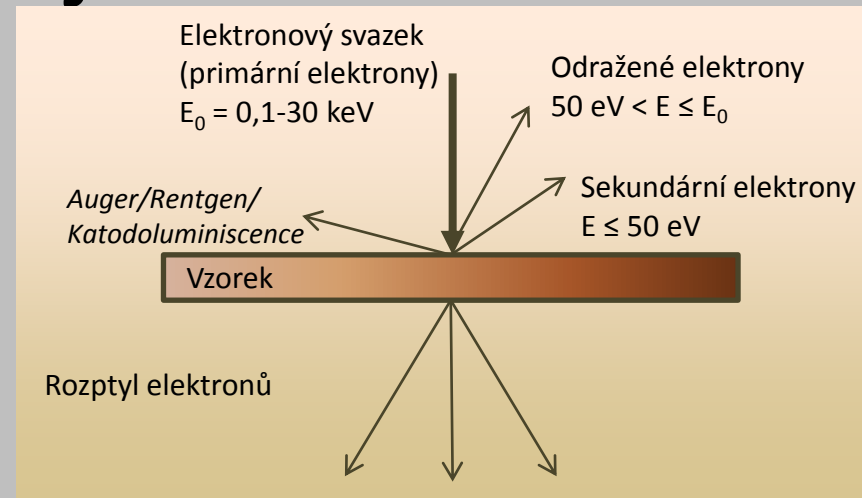
- **kondenzorová „čočka“** (elektromagnetická cívka) soustředí svazek elektronů na preparát
- „čočky“ **objektivu** a **projektivu** (další elektromagnetické cívky) směřují elektrony, které prošly preparátem, na fluorescenční stínítko nebo speciální kameru, kde se vytváří obraz.
- Stínítko umožňuje převedení elektromagnetického vlnění na světlo.



# Elektrony dopadají na vzorek

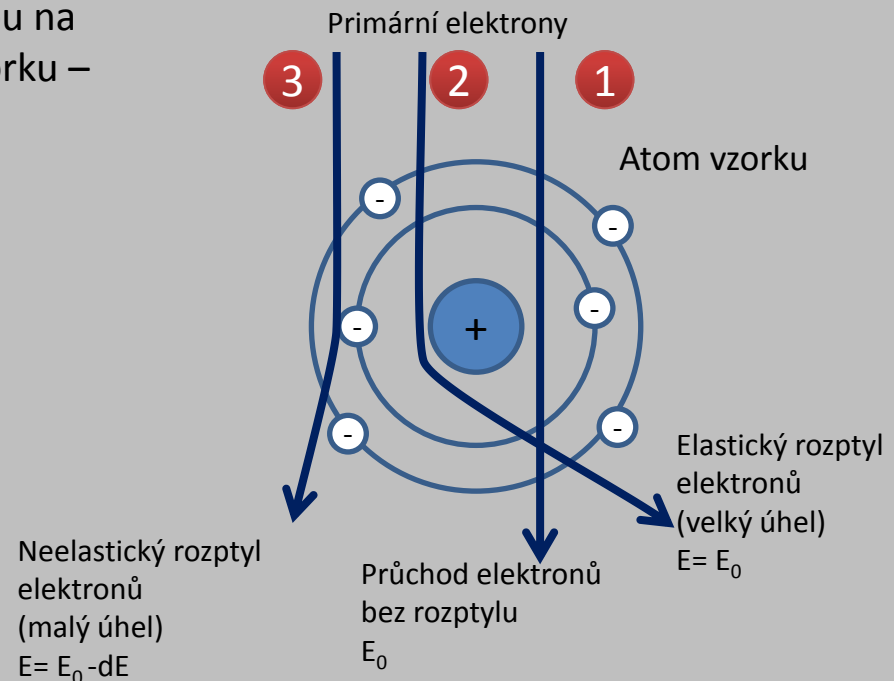
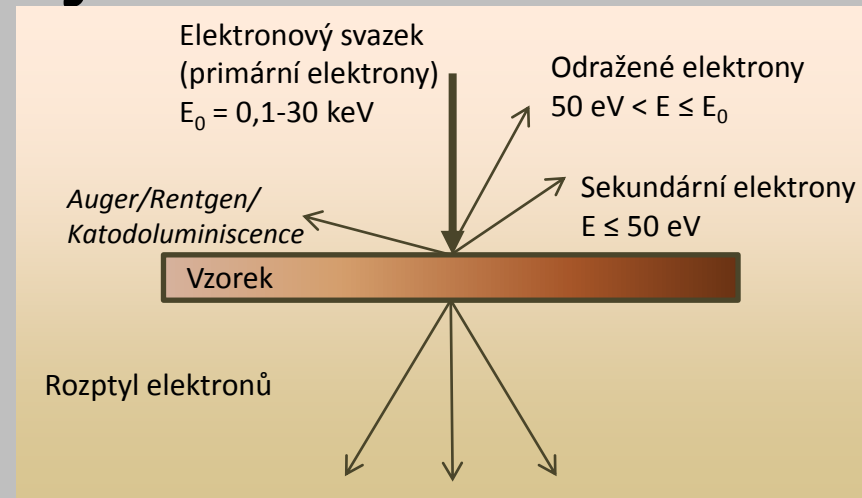
- Schémata interakce elektronů s hmotou po jejich dopadu
- Pro TEM musí být preparát dostatečně tenký, aby elektrony prošly

- 1 Elektrony, která vzorkem projdou – ale nereagují s ním, vytváří na fluorescenčním stínítku / kameře světlé body



# Elektrony dopadají na vzorek

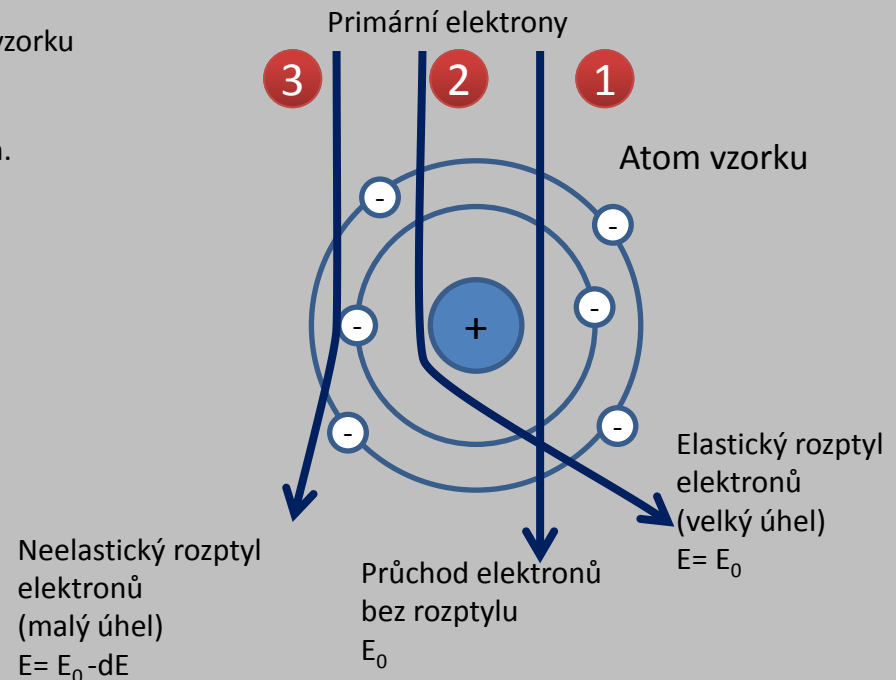
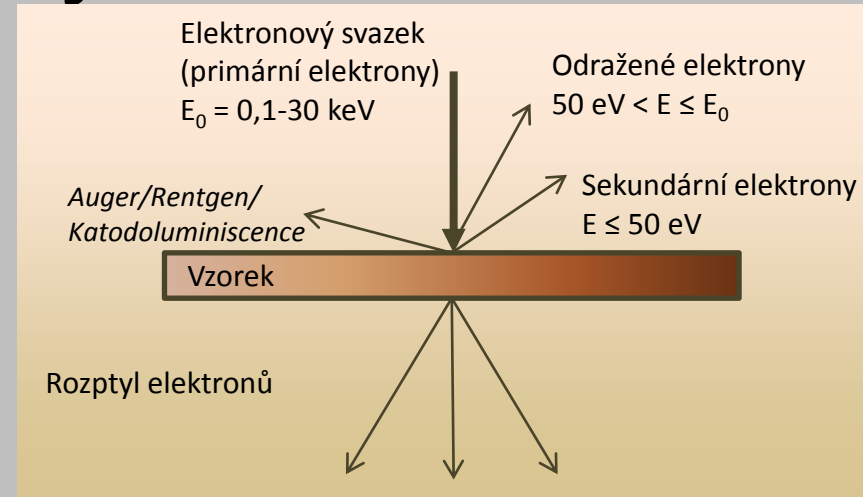
- Schémata interakce elektronů s hmotou po jejich dopadu
- Pro TEM musí být preparát dostatečně tenký, aby elektrony prošly
- 2 Elastický rozptyl ohybem dráhy v blízkosti jádra způsobí odklonění elektronů – žádná energie není z elektronu přenesena do vzorku – el. nedopadnou na stínítko a jsou registrovány jako tmavá místa vzorku – tento rozptyl je pro TEM zásadní



# Elektrony dopadají na vzorek

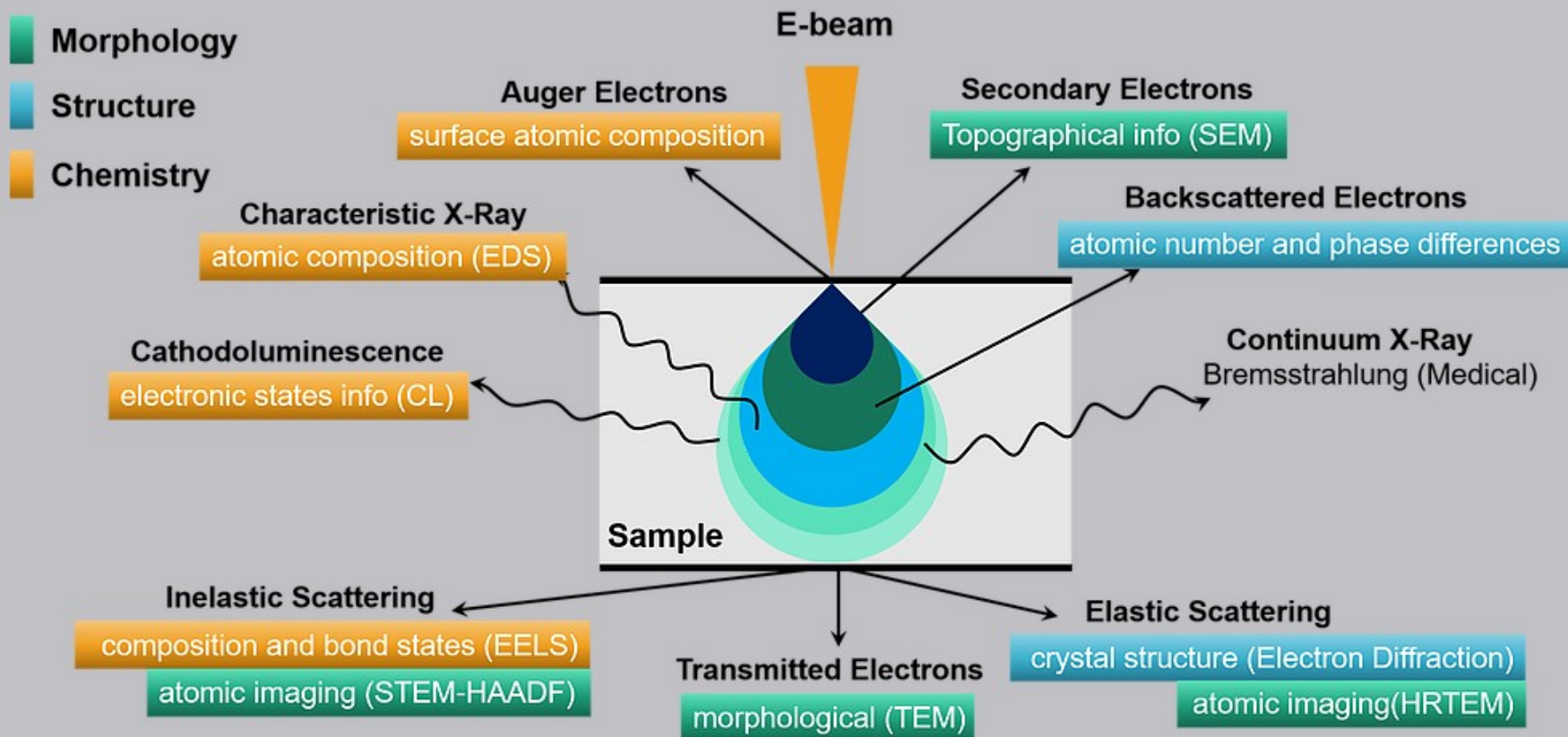
- Schémata interakce elektronů s hmotou po jejich dopadu
- Pro TEM musí být preparát dostatečně tenký, aby elektrony prošly
- 3 Neelastický rozptyl elektronů – reakce s elektrony vzorku

- způsobuje malý odklon elektronu a tyto vytváří v obraze vzorku nespécifické rozmazání – pro TEM je nežádoucí
- navíc část energie z elektronu je přenesena do vzorku, tzn.
- změní se vlnová délka elektronu



# Druhy signálů

vznikající při interakci pevné látky se svazkem urychlených elektronů, informace které poskytují a metody, kterými je možné je zachytit a analyzovat

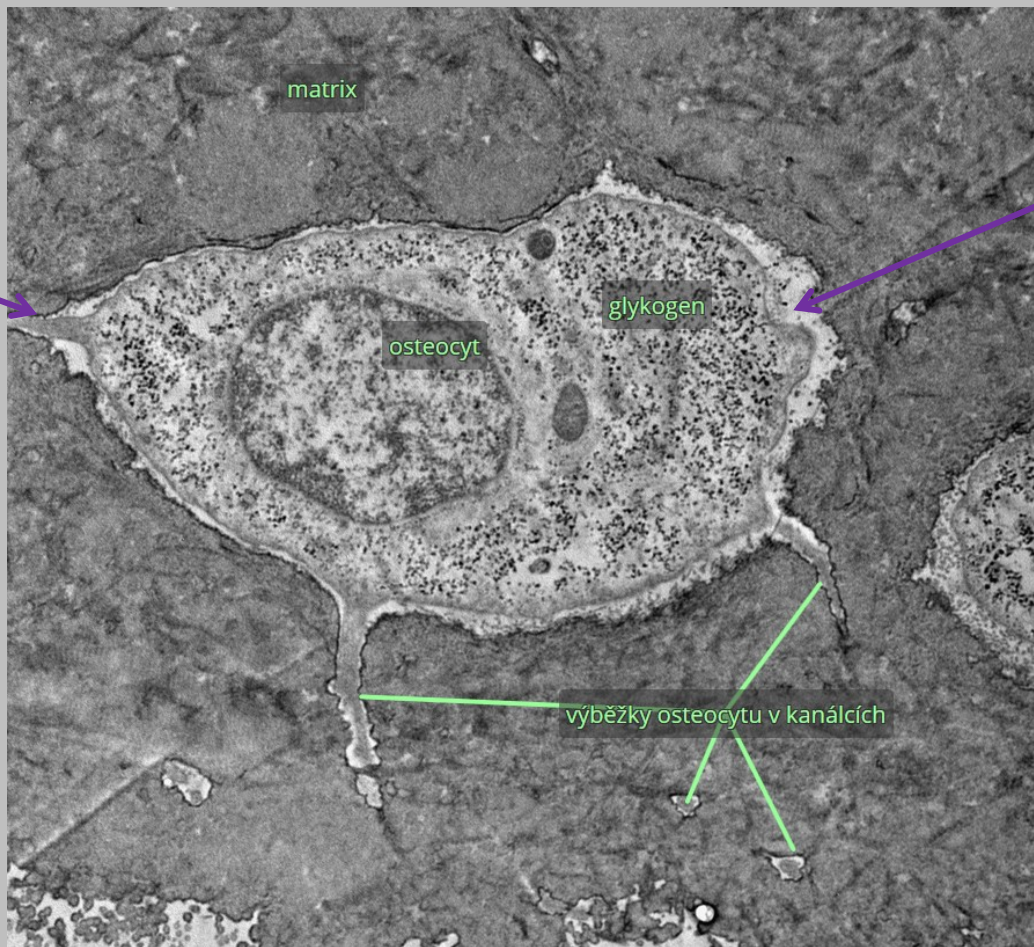




# TEM vzorku kosti

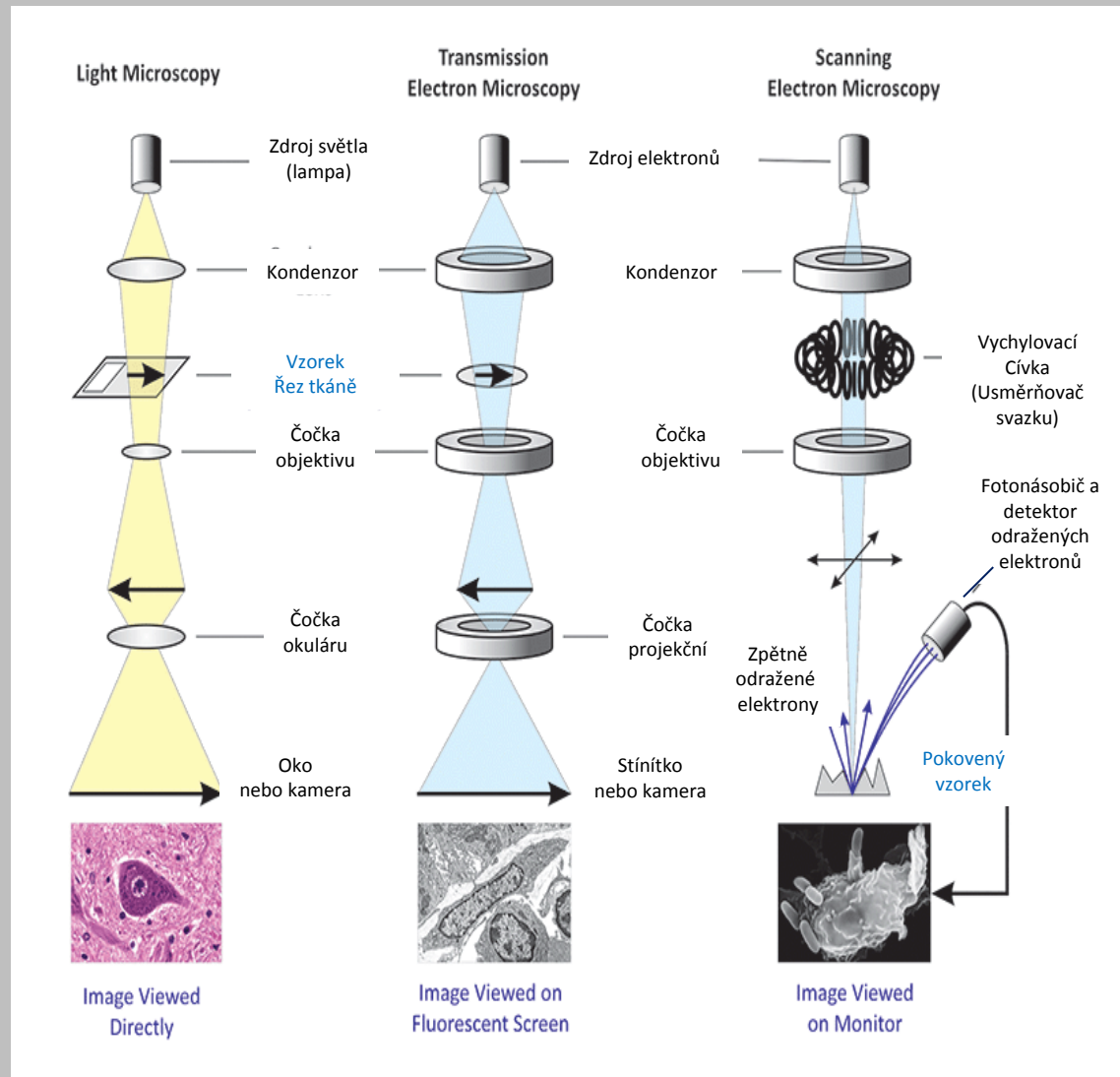
(tkáň byla kontrastována těžkými kovy)

V místě membrány buňky je vyvázán těžký kov, který způsobil odklon většiny elektronů, nebo jeho pohlcení



Většina eletronů prošla tímto místem až na stínítko

# Skenovací elektronový mikroskop (SEM)





# Směřování paprsku u SEM

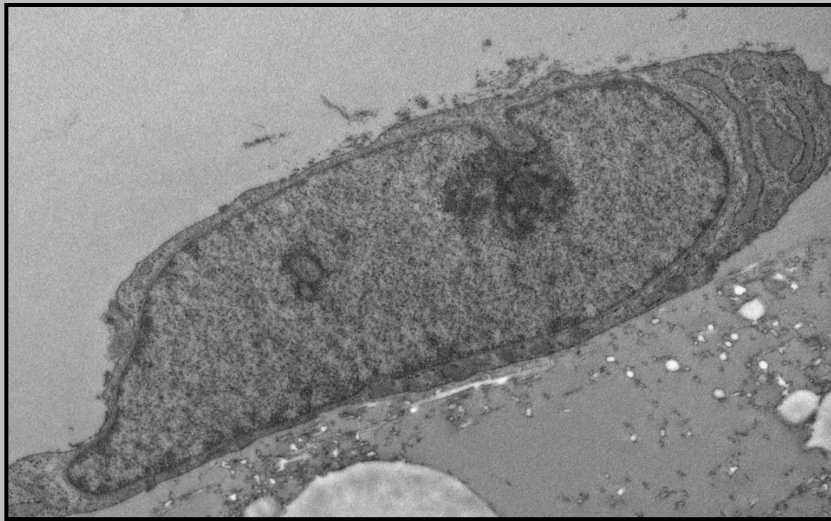
- kondenzorová „čočka“ (elektromagnetická cívka) soustředí svazek elektronů do malého místa (méně než 4 nm v průměru) na preparátu
- směřování svazku elektronů je regulováno **usměrňovačem svazku**, což umožňuje skenování preparátu **řádek po řádku**
- z povrchu pozorovaného objektu jsou vyráženy sekundární elektrony, které jsou zaznamenávány detektorem elektronů a zesilovány fotonásobičem
- obraz povrchu pozorovaného objektu vzniká podobně jako u skeneru – rastrováním povrchu elektronovým svazkem

# Srovnání TEM a SEM

	TEM	SEM
<i>Elektronový svazek</i>	široký, statický	fokusovaný do bodu, vychylovaný řádek po řádku
<i>Urychlovací el. napětí</i>	v rozsahu 60-300.000 voltů	Urychlovací napětí mnohem nižší, netřeba penetrovat vzorek (100 V)
<i>Interakce elektronů</i>	Vzorek musí být velmi tenký (50 nm)	Možné skenovat široké spektrum vzorků - jednoduchá příprava
<i>Snímání</i>	Elektrony musí projít skrze vzorek	Potřebná informace je získána v blízkosti povrchu vzorku
<i>Vyobrazení</i>	Svazek elektronů je zaostřený na stínítko čočkou objektivu a zvětšeny k vytvoření obrazu	Obraz je vytvářen v průběhu rastrování (řádkování) povrchu vzorku

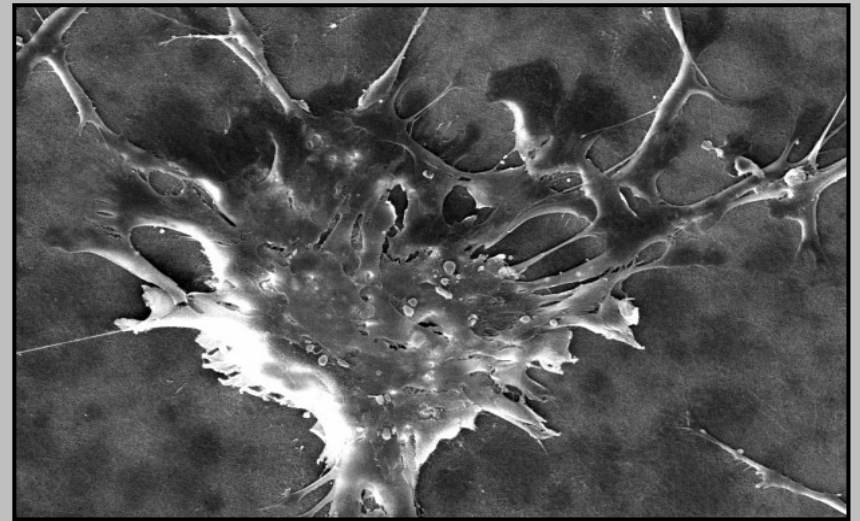
# Elektronová mikroskopie buňky

Transmisní



↔  
2 μm

Skenovací



↔  
50 μm

# 1934 - první TEM

- 1934 první TEM
- Ernst Ruska - University of Berlin
- 1938 – první obrázek viru
- 1986 – Nobelova cena
  
- Rozlišení 100 nm



SONDERDRUCK AUS  
**KLINISCHE  
WOCHENSCHRIFT**

ORGAN DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER NATURFORSCHER UND ÄRZTE  
VERLAG VON JULIUS SPRINGER, BERLIN, UND J. F. BERGMANN, MÜNCHEN

JAHRG. 17

2. JULI 1938

Nr. 27, S. 921/925

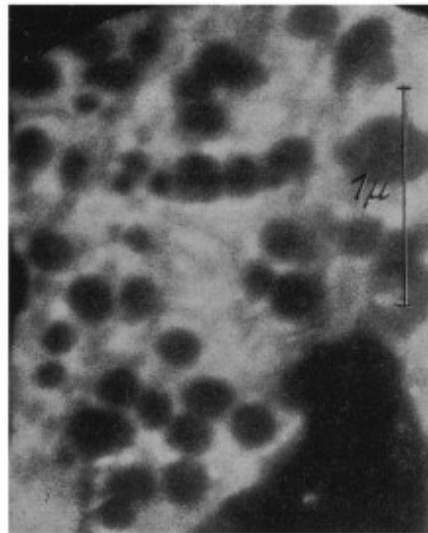
**BAKTERIEN UND VIRUS IN ÜBERMIKRO-  
SKOPISCHER AUFNAHME**  
(mit einer Einführung in die Technik des Übermikroskops).

Von

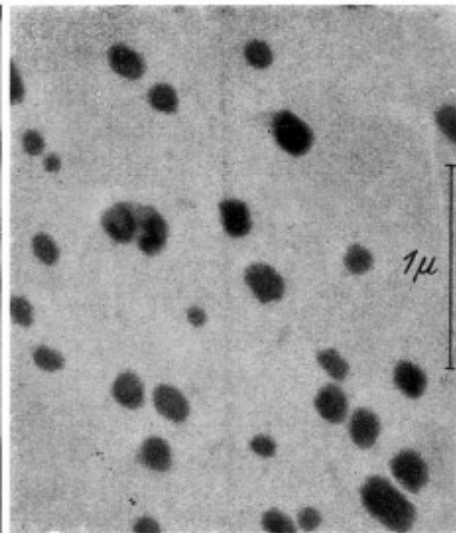
**B. VON BORRIES, E. RUSKA und H. RUSKA.\***

Aus dem Laboratorium für Elektronenoptik des Wernerwerks F der Siemens & Halske.  
Aktiengesellschaft und der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité.

**(a)**



**(b)**

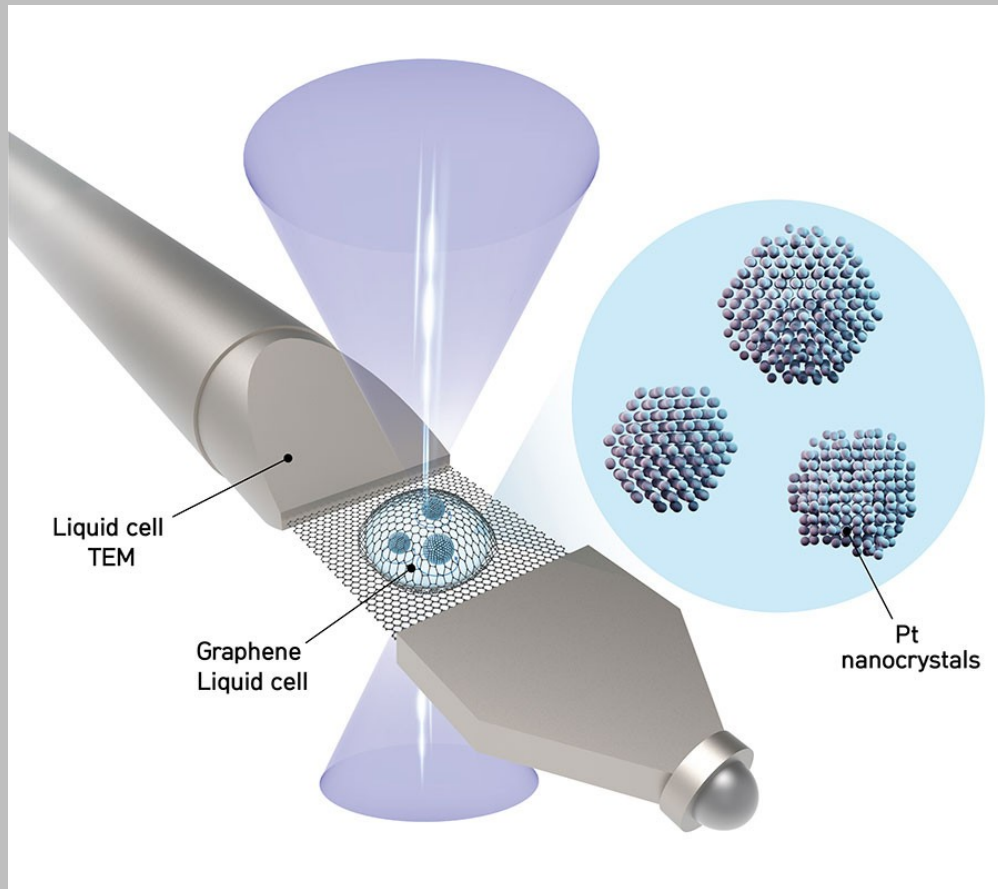


# 2020 – TEM – Titan FEI

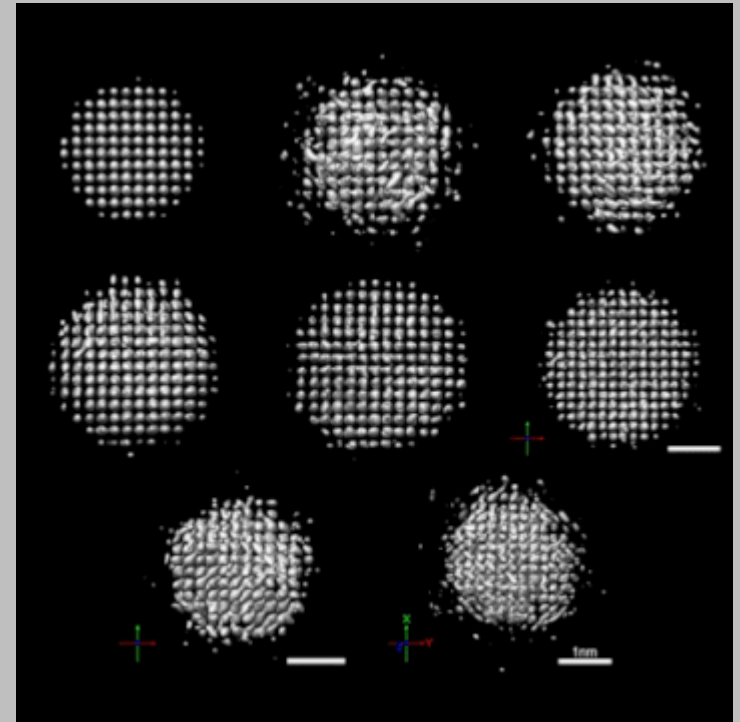
- Precizně nastavitelné parametry pro specifická vlákna, řízení vakua, napájení
- Zpřesnění manipulace se svazkem elektronů – kolimátory, redukce sférické a chromatické aberace
- Digitální kamery, fotonásobiče
- Rozlišení 0,05 nm



# 2020 - TEM detects critical differences in nanoparticles



Animated gif  
spust' prezentaci „shift+F5“

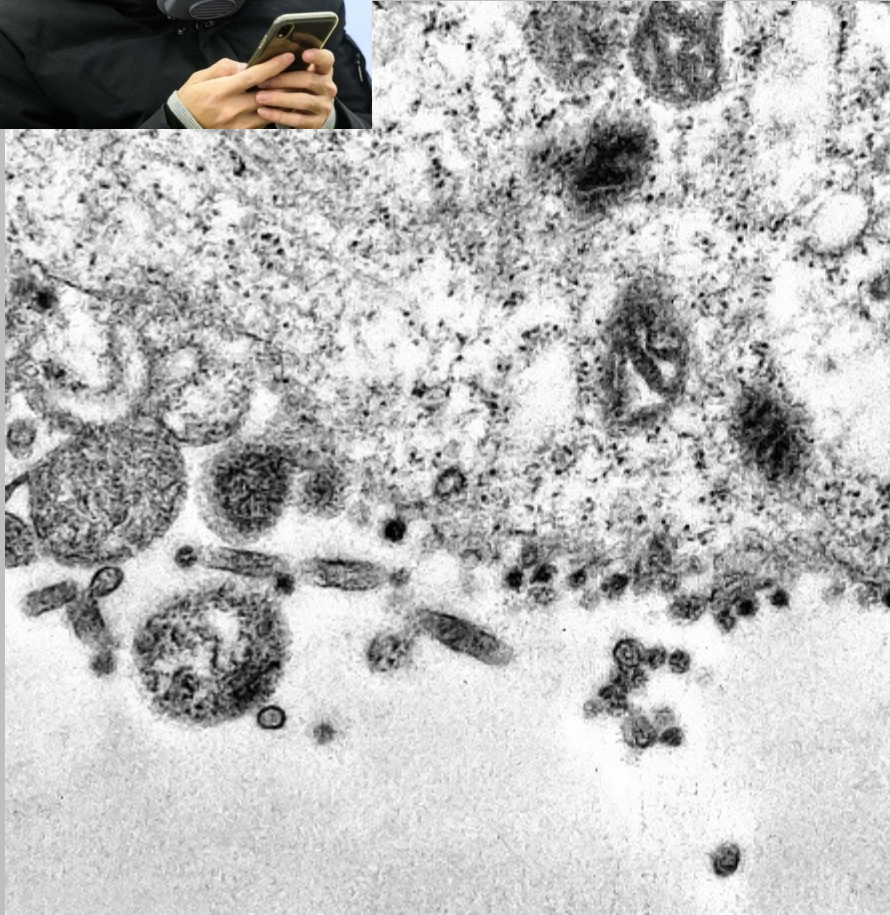


*Obtaining 3D structures at atomic resolution in a liquid. The schematic shows a liquid sample contained between two sheets of graphene. Nanoparticles in the liquid freely rotate while a TEM takes thousands of images of the nanoparticles. The images are then analyzed to determine the location of every atom in each nanoparticle.*

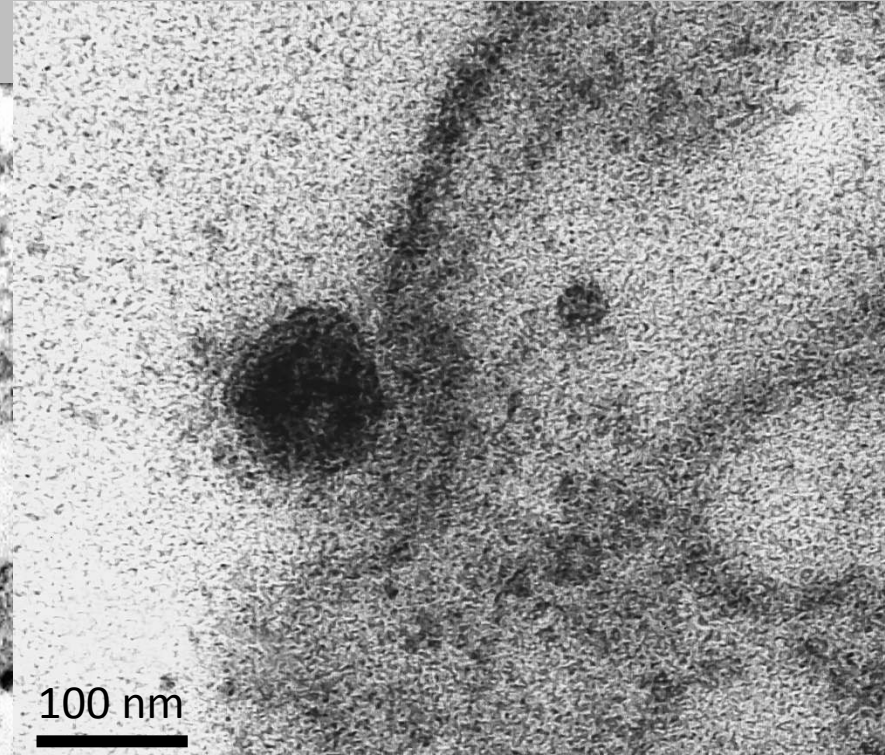
*3D images of platinum particles between 2-3 nm in diameter shown rotating in liquid under an electron microscope. Each nanoparticle has approximately 600 atoms. White spheres indicate the position of each atom in a nanoparticle. Scale bar 1 nm.*



# TEM and COVID-19



*Coronavirus particles (black) attempting to enter the cytoplasm of the cell. [Debora F Barreto-Vieira/IOC/Fiocruz]*

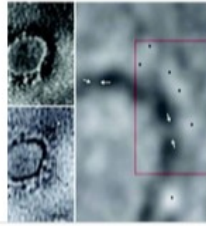


*The virus (black blob) as it entering the nucleus membrane. [Debora F Barreto-Vieira/IOC/Fiocruz]*

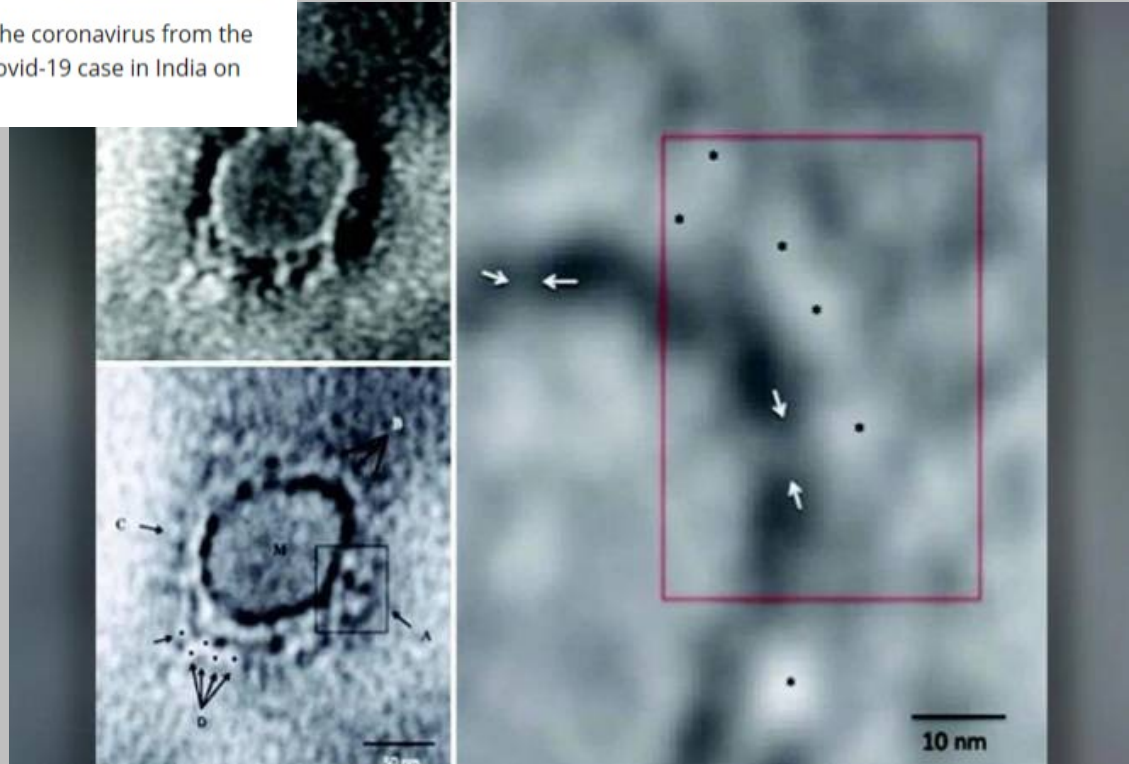


# TEM captures coronavirus particles

Rebecca Pool



India-based researchers have released TEM images of the coronavirus from the throat swab sample of the first laboratory-confirmed Covid-19 case in India on January 30th.

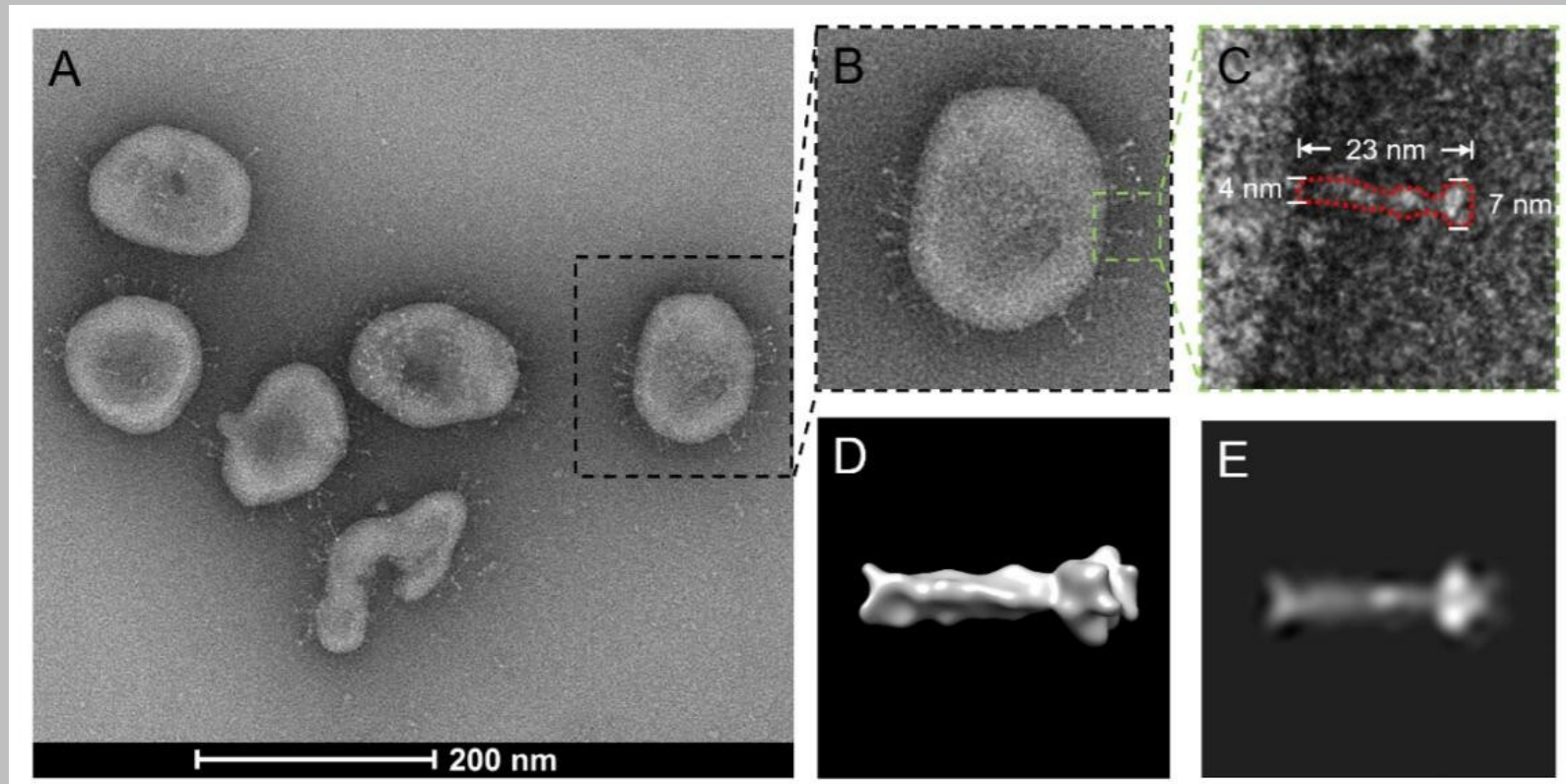


"To the best of our knowledge, this is the first report from India detecting the SARS-CoV-2 virus using TEM directly in a throat swab specimen confirmed by PCR," says Basu. "Although TEM imaging was limited by particle load in the specimen, we could still detect morphologically identifiable intact particles in stored clinical sample without initial fixation."

"This finding emphasizes the merit of the use of conventional negative-stained TEM imaging in clinical samples along with other diagnostic tests in parallel," he adds.

## Viral Architecture of SARS-CoV-2 with Post-Fusion Spike Revealed by Cryo-EM

Chuang Liu<sup>1,3\*</sup>, Yang Yang<sup>2,\*</sup>, Yuanzhu Gao<sup>1,3\*</sup>, Chenguang Shen<sup>2,\*</sup>, Bin Ju<sup>2</sup>, Congcong Liu<sup>3,5</sup>, Xian Tang<sup>2</sup>, Jinli Wei<sup>2</sup>, Xiaomin Ma<sup>1,3</sup>, Weilong Liu<sup>2</sup>, Shuman Xu<sup>3</sup>, Yingxia Liu<sup>2,4,5</sup>, Jing Yuan<sup>4</sup>, Jing Wu<sup>3</sup>, Zheng Liu<sup>3</sup>, Zheng Zhang<sup>2,5†</sup>, Peiyi Wang<sup>1,3†</sup>, Lei Liu<sup>2,5,6†</sup>



A Chinese research team obtained biological samples from clinical Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) pneumonia cases. For the first time, the true morphology of Covid-19 after inactivation was observed using a cryo-electron microscope, providing an important ultra-microscopic imaging basis for the identification, identification and clinical research of Covid-19.

# Molecular structure of the 2019-nCoV spike protein

News | Microscopy Light Microscopy

## COVID19 – Precautions of imaging core facilities

Imaging & Microscopy

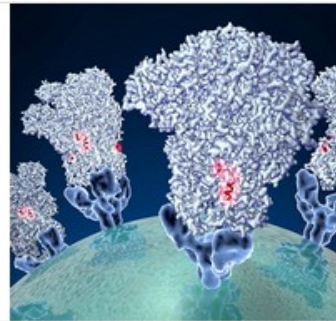
18 March



News | Microscopy X-Ray Analysis  
Electron and Ion Microscopy

## Cryo-EM captures coronavirus structure

01 March 2016

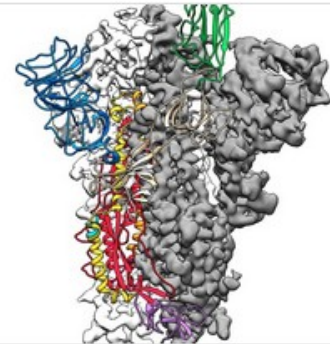


News | Microscopy Electron and Ion Microscopy

## First 3D map of coronavirus protein opens door to vaccine

Microscopy and Analysis

19 February



# Metody přípravy biologického materiálu pro TEM

Standardní metody:

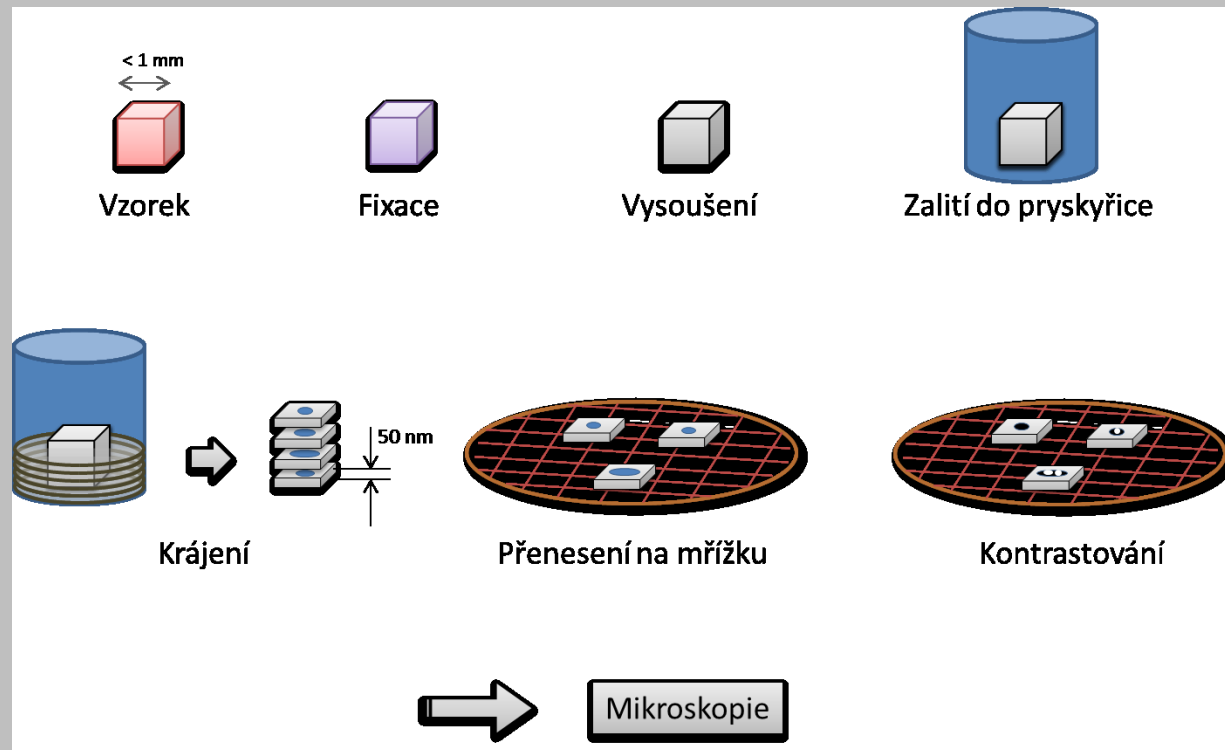
- **ultratenké řezy**
- **metoda negativního kontrastování**
- **imunoznačení**
  
- **freeze fracture and etching** (mrazové lámání a leptání)
- **stínění kovem**

Specializované metody:

- **kryo- transmisní elektronová mikroskopie**

# Příprava vzorků pro TEM

- Vzorek musí být velmi tenký a pro elektrony prostupný
- Nejčastěji se připravuje zaléváním do pryskyřice a poté se upravuje krájením řezů o požadované tloušťce, které se „dobarvují“ těžkými kovy, či protilátkami s navázanými nanočásticemi kovu (Au, Ag)



# Příprava vzorků pro TEM

**Fixace** - aldehydy (glutaraldehyd, formaldehyd) - cílem je stabilizovat preparát co nejlíže nativnímu stavu

**Postfixace** - OsO<sub>4</sub> – šetrně a jemně gelifikuje intracytoplazmatické proteiny, dobře zachovává strukturu biologických membrán a nadto stabilizuje a kontrastuje lipidy - vysoce toxická látka

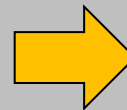
**Odvodnění** - vzestupná řada alkoholu, aceton

**Prosycení a zalévání** - rostoucí koncentrací pryskyřice. Dle typu tkáně a použité techniky snímání.

- na epoxidové bázi – e.g. Durcupan
- na akrylátové bázi – e.g. LR White
- na polyesterové bázi - Vestopal W

Nejčastěji LRW.

**Polymerace** – teplem nebo ozářením UV světlem





# Příprava vzorků pro TEM

**Krájení** – vzorku v pryskyřici ultramikrotomem na hladinu dH<sub>2</sub>O.

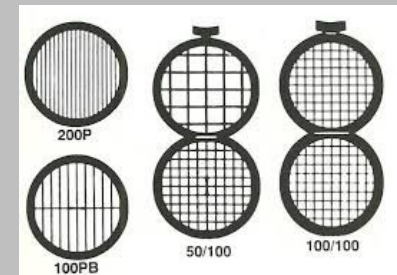
**Přenesení** – Na sítiky potažené formvarovou blánou se naberou z hladiny ultratenké řezy.

## (Pozitivní) Kontrastování ultratenkých řezů

Ultratenké řezy mají minimální kontrast. Ten zvýšíme navázáním těžkých kovů na buněčné struktury.

Provádí se nakápnutím roztoku na mřížku se vzorkem.

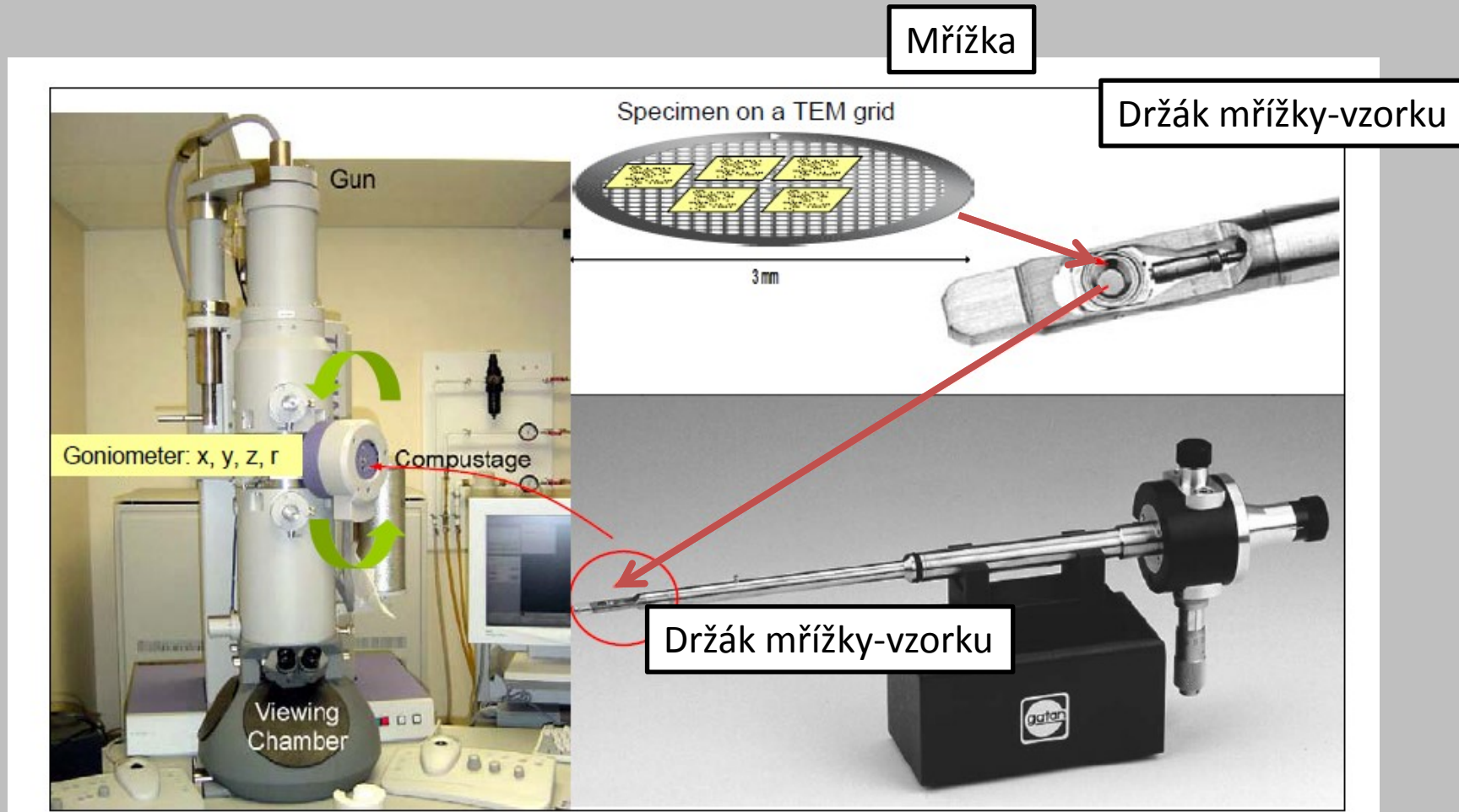
Protože těžké kovy blokují a rozptylují tok primárních elektronů, místa, kde se navázaly jsou tmavá.



Nosné mřížky (sítiky)

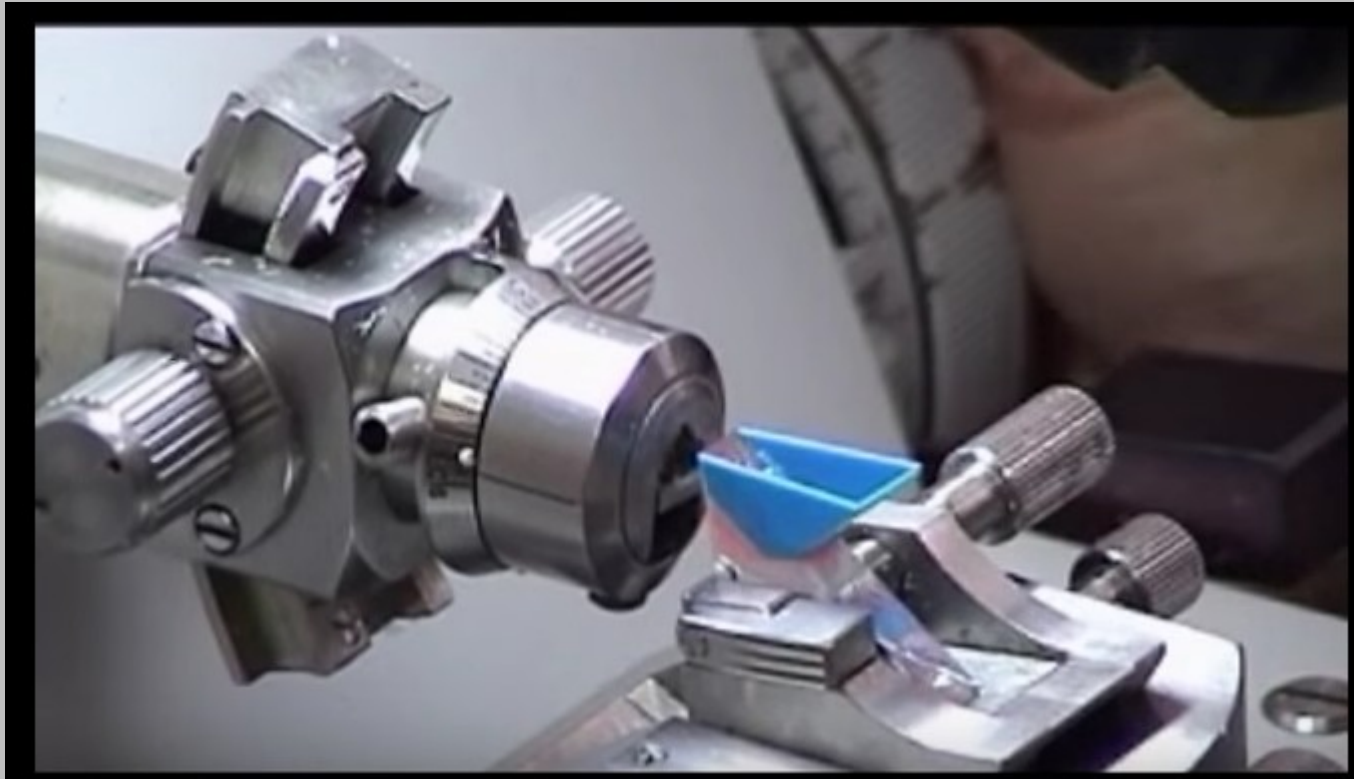


# Příprava vzorků pro TEM





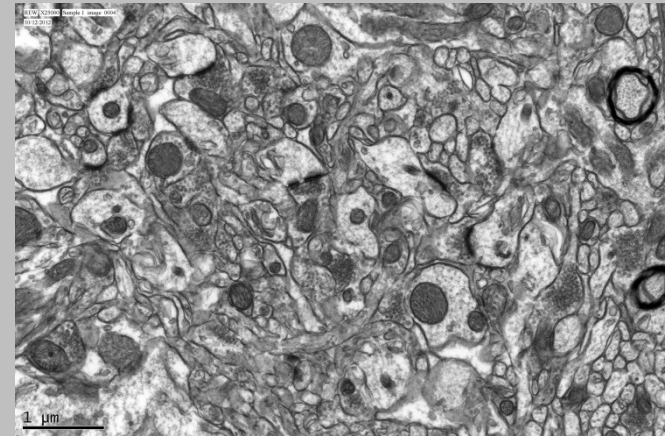
# Příprava vzorků pro TEM – video



<https://www.youtube.com/watch?v=Ad5VGbA- vk>

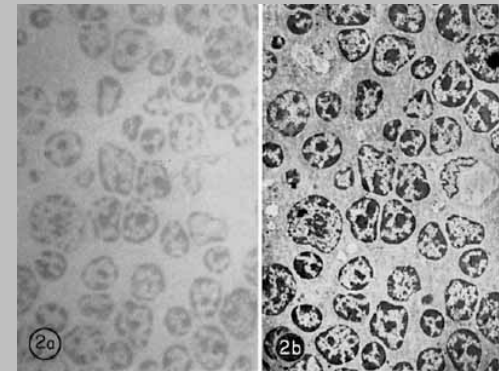
# Kontrastovací látky

Oxid osmičelý – lipidy (membrány)  
 Feroxyanid

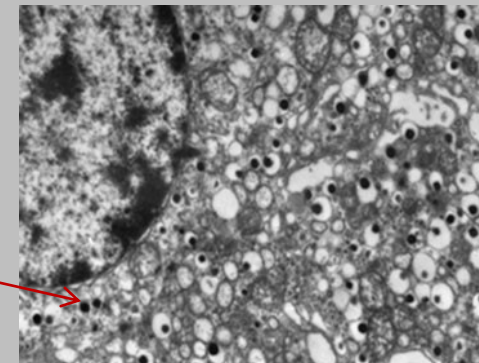


Octan uranylu - nukleové kyseliny a proteiny

Bez s kontrastováním

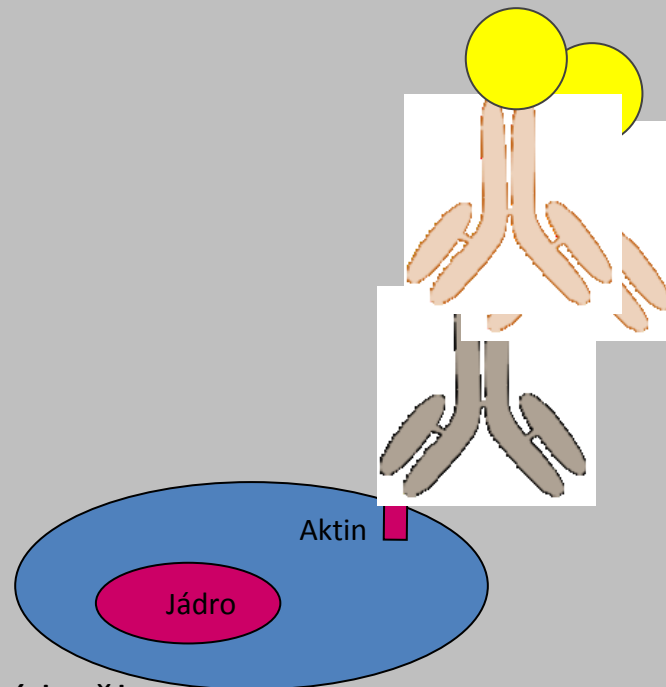


Citrát olova – (precipitát, zrna) – membrány,  
 nukleové kyseliny, glykogen



# Imunoznačení pro TEM

- lokalizace antigenu na vzorku probíhá navázáním specifické primární protilátky a následně označený pomocí sekundární **protilátky značené těžkým kovem** (ferritin, částice koloidního zlata, stříbra. aj.)
- Značeny jsou ultratenké řezy – vzorky fixovány, odvodněny a zality do hydrofilních pryskyřic
- velikost částic 3-40 nm



Anti-myší sekundární protilátka  
značená částicemi koloidního zlata

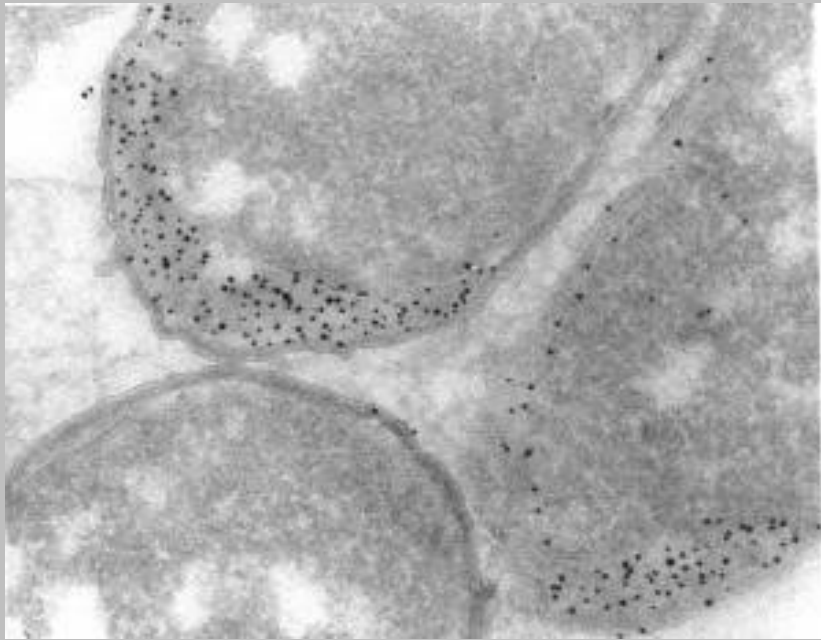
Primární protilátka anti-aktin  
produkovaná v myši

Vzorek tkáně - Lidská buňka

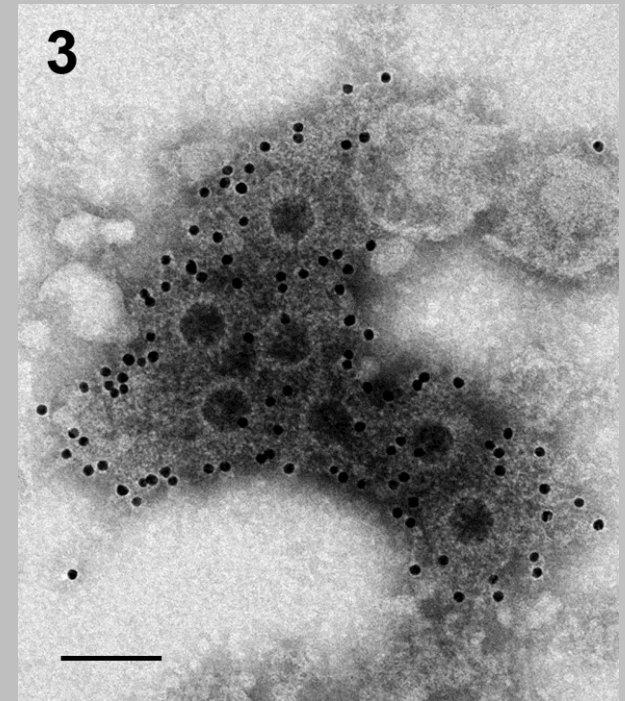
Imunoznačení v EM

# Imunocytochemie

Imunoznačení zlatem - lokalizace specifického antigenu pomocí částic koloidního zlata (5-40 nm) navázaných na sekundární protilátku



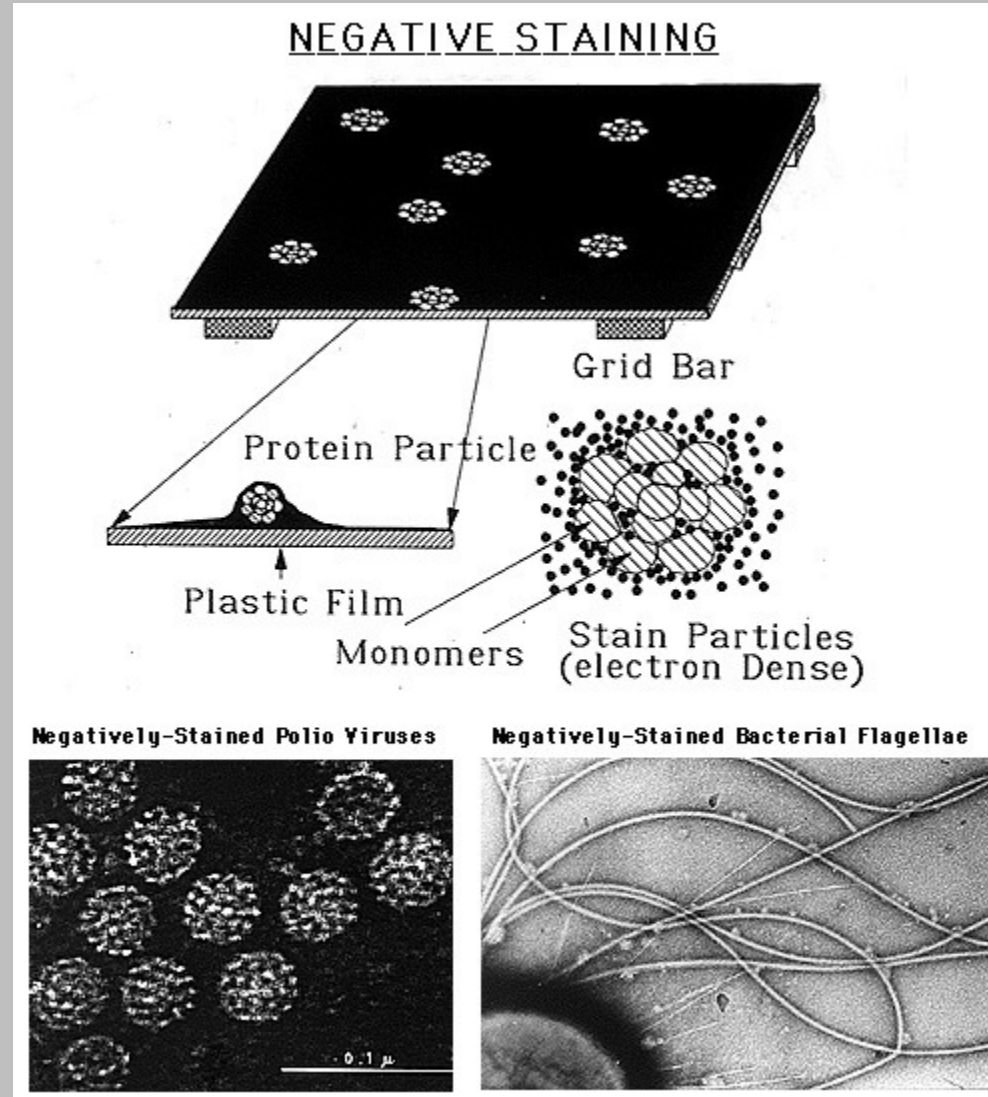
Immunolabeling of the periplasmic space in ultrathin cryosections of *Escherichia coli* with a protein A gold conjugate. Courtesy M. de Jong



Immunogold staining of sample of Rotavirus-like particles in transduced cells RVLs using a polyclonal anti-rotavirus serum and a secondary antibody coupled to 12 nm colloidal gold. Scale bar = 100 nm.

# Negativní kontrastování

- Je určena pro pozorování vzorků jejichž velikost je hluboko pod tloušťkou ultratenkých řezů, např. různých biologických makromolekul (proteinů, lipoproteinů, polysacharidů, nukleoproteinových komplexů), izolovaných buněčných organel (mitochondrie, membránové systémy) a celých buněk (bakterie, viry).
- Smíchání vzorku v roztoku s fixačním roztokem
  - kyselina wolframová
  - uranyl acetát, etc.
- Nanesení na mřížku, zaschnutí, pozorování
- Rychlá metoda
- Kontrastovací látka obalí a zčásti penetruje vzorek. Díky rozdílu hustoty ve vrstvě kontrastovací látky na vzorku a v okolí se pak částice jeví v některých oblastech transparentní. Okolo částic je charakteristické tmavé ohraničení způsobené vzlínáním kontrastovací látky



# Freeze fracturing and etching

## Mrazové lámání a leptání

- Fixace, nahrazení části vody v preparátu kryoprotektivem (PEG)
- **Zmrazení** v tekutém freonu (-160°C), přenesení do tekutého dusíku (-196°C)
- **Lom vzorku** (aparatura pro mrazové lámání, vakuum, -190°C)
- Odsublímování části vody z lomné plochy při (etching, -100°C)
- **Pokovení lomné plochy:** Pt (pod úhlem 45°) a C (pod úhlem 90°)
  - vytvoření tzv. uhlíkové **repliky** (20 nm)
- Čištění replik - odstranění veškerého biologického materiálu kyselinami
- Přenos řezů na nosné sítěky s formvarovou blánou, pozorování

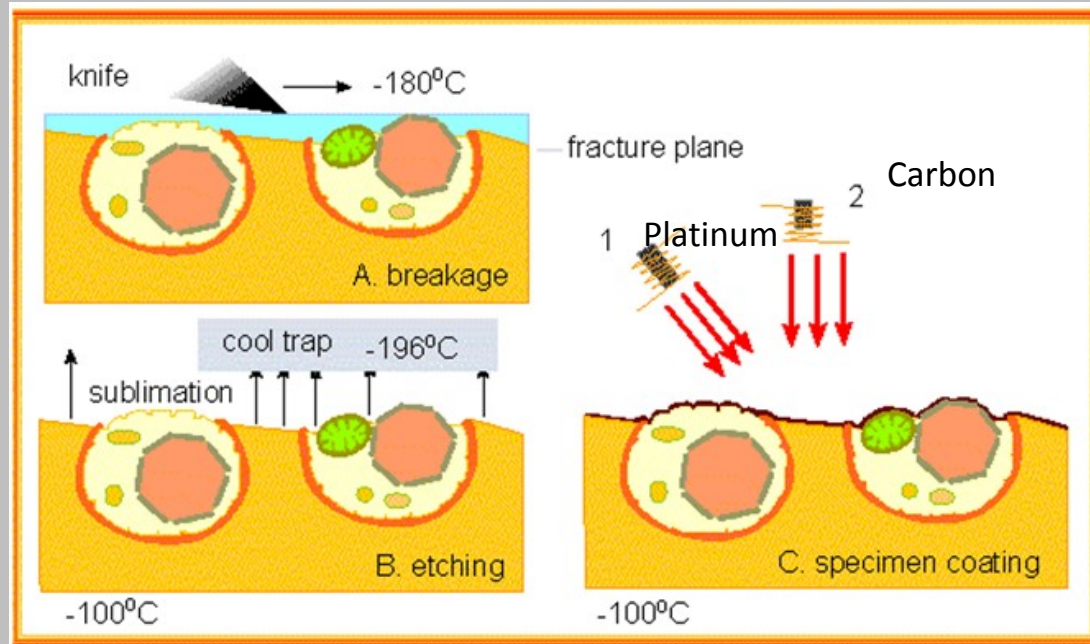
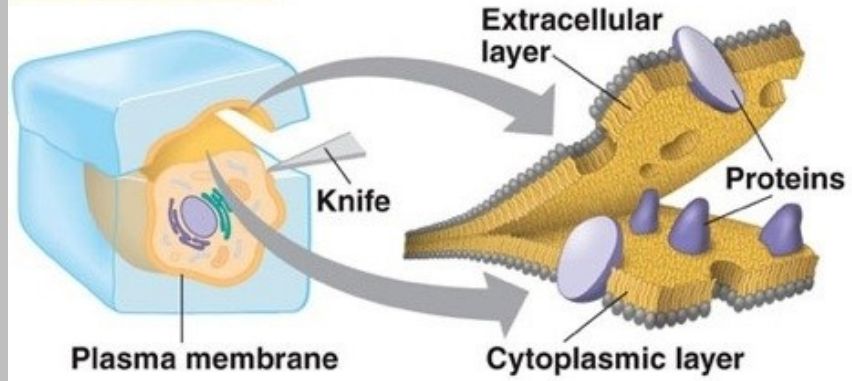


<http://www.tobiasrose.co.uk/mrbevis/ebpf.html>

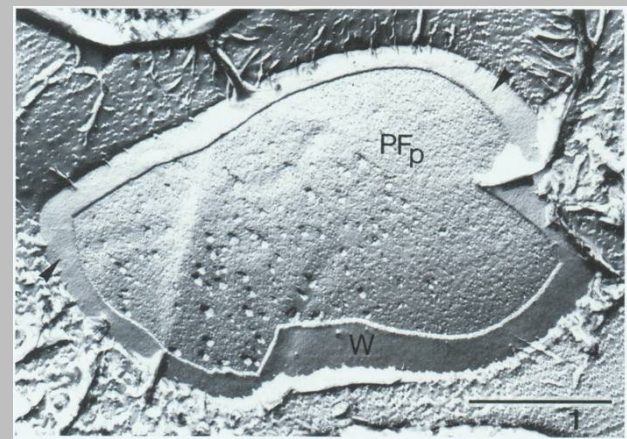
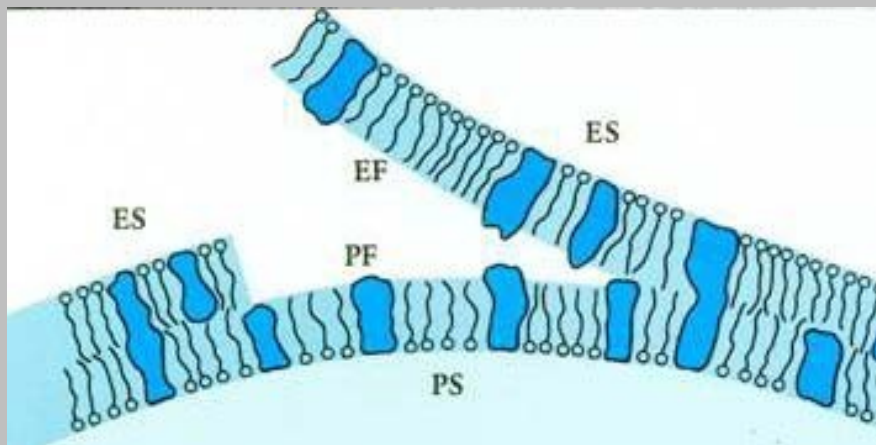
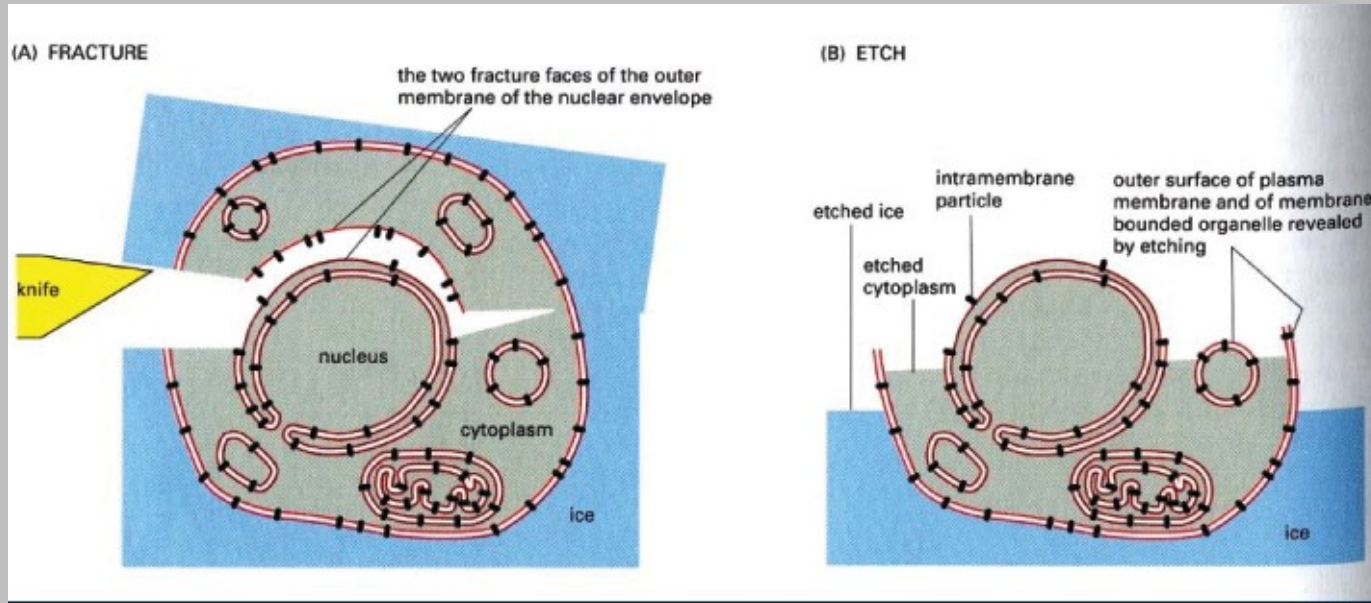
Metoda pro zobrazování povrchu lomných ploch membránových struktur



**TECHNIQUE**



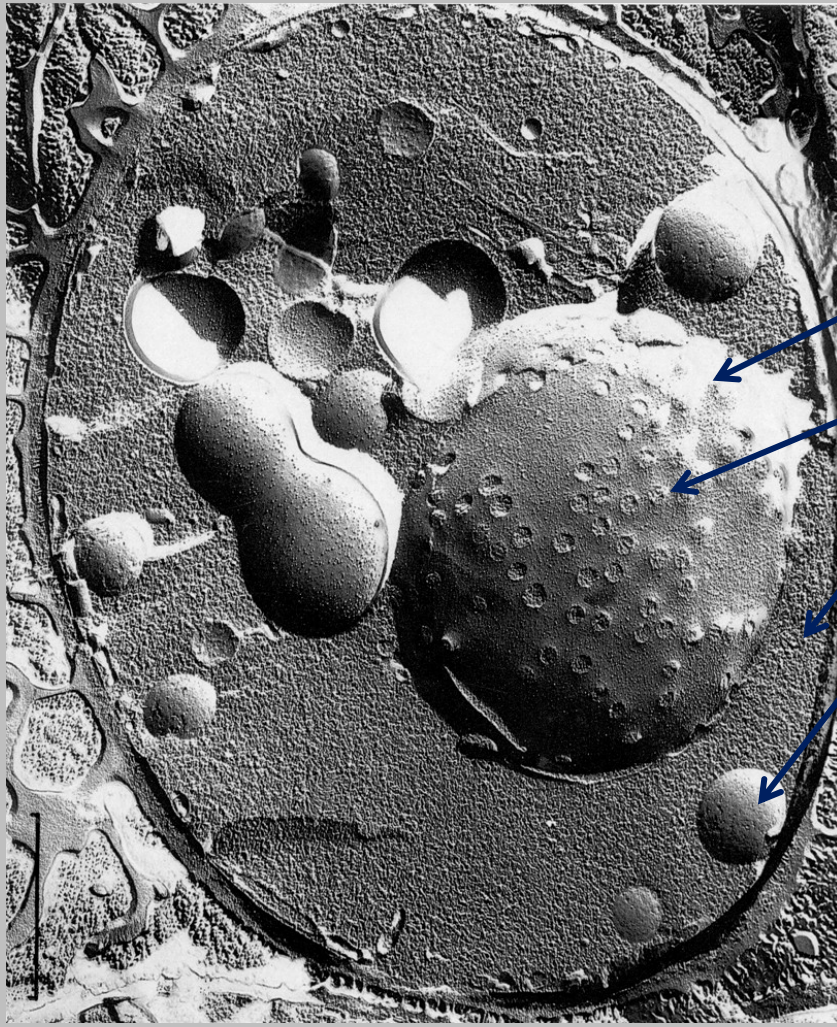
# Freeze fracturing and etching Mrazové lámání a leptání



Chlamydomonas (měřítko 1  $\mu\text{m}$ )



# Freeze fracturing and etching - výsledný obraz



jádro

póry v jaderné membráně

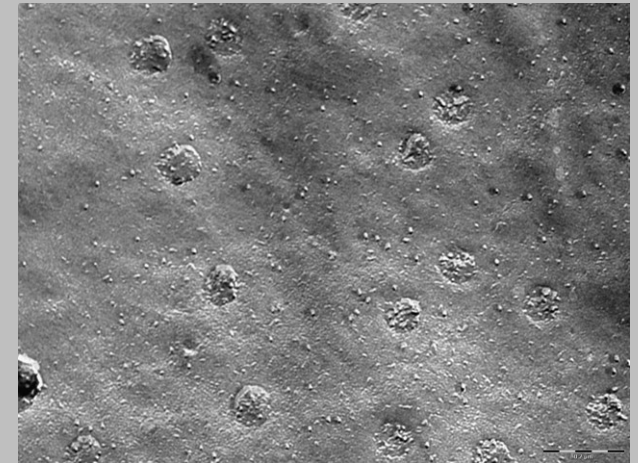
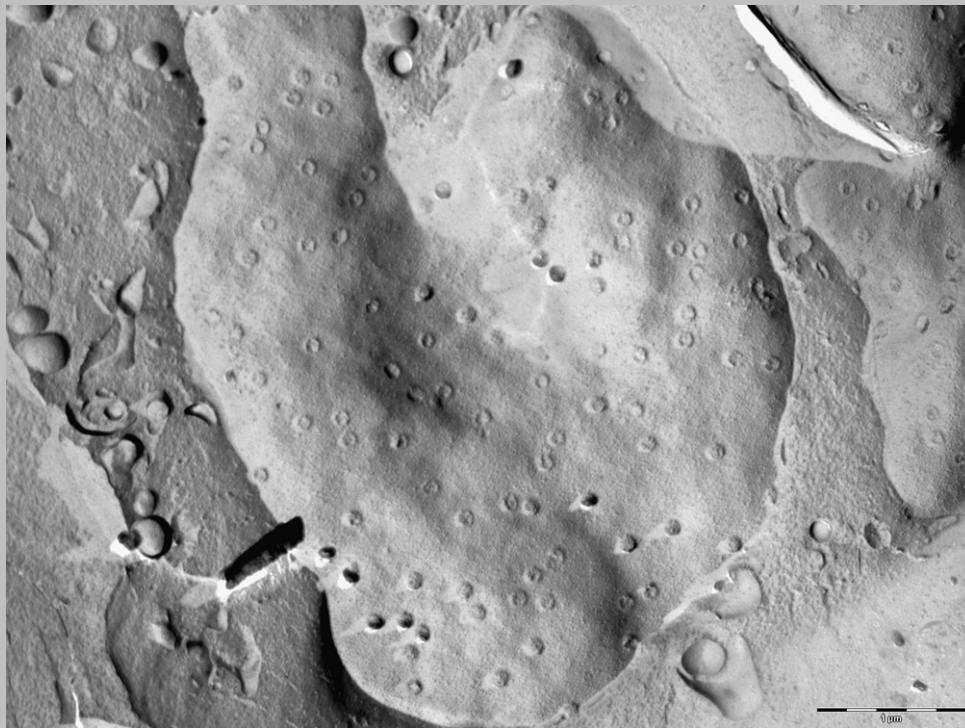
cytoplasma

mitochondrie

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*

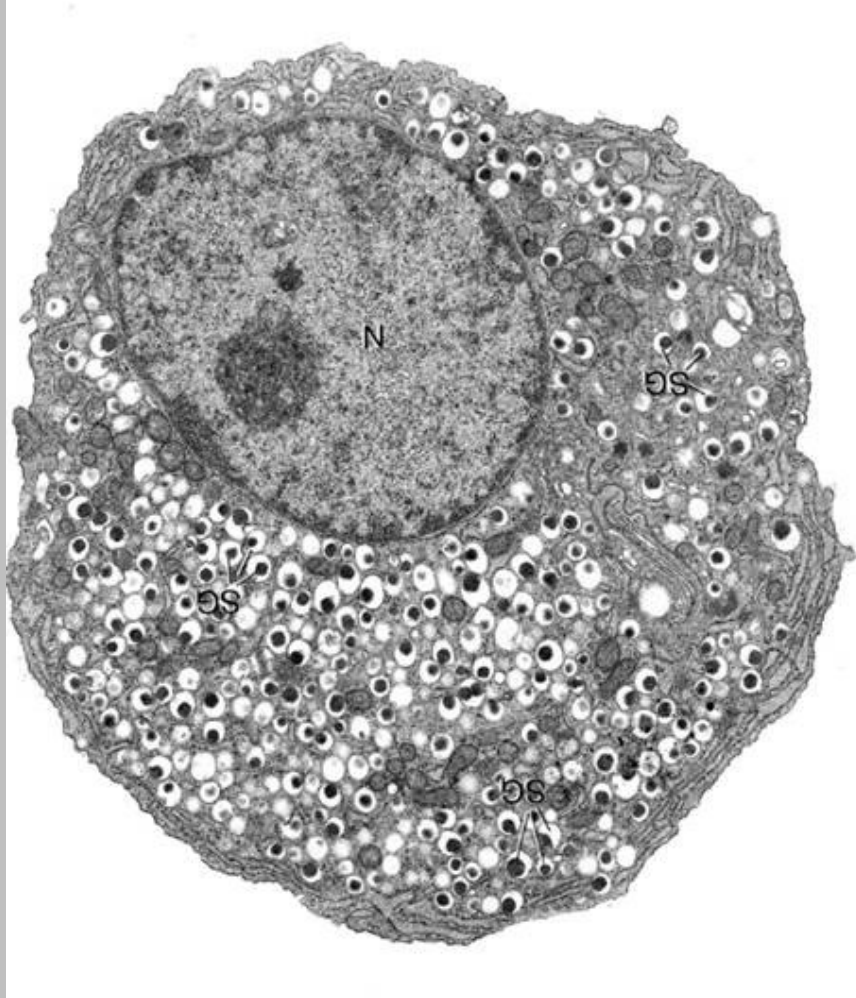
# Freeze fracturing and etching - výsledný obraz

detailního pozorování povrchu jaderné membrány

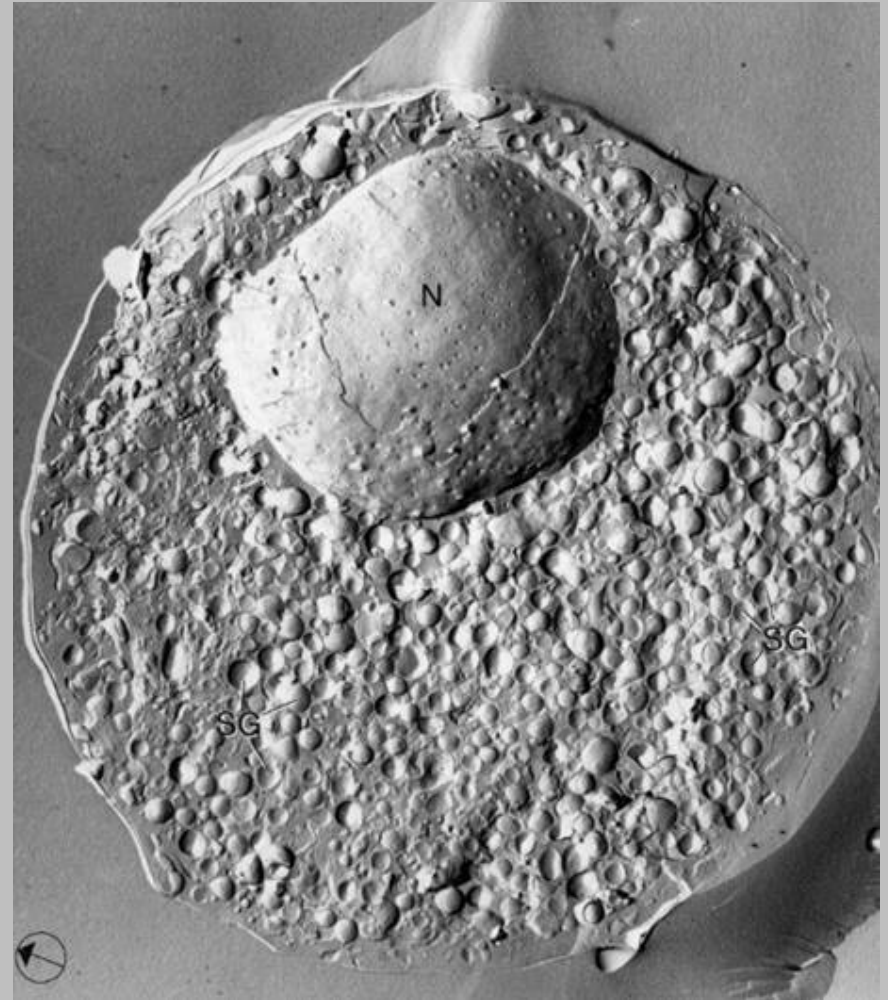


Leukemická buněčná linie HL-60

# Srovnání ultratenkého řezu a repliky z freeze-etching



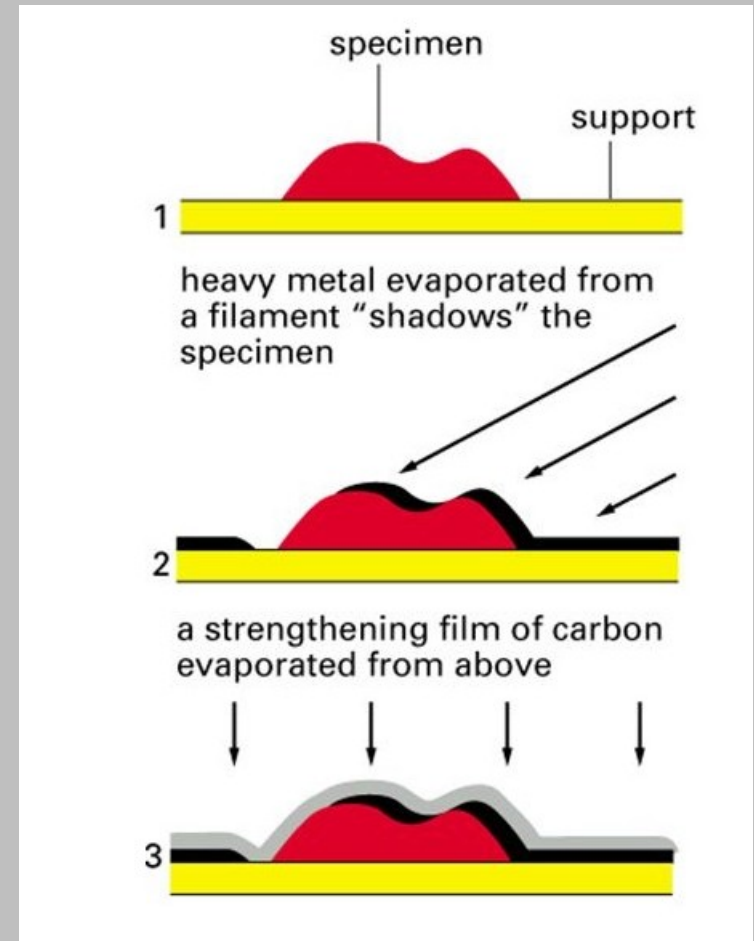
živočišná buňka - ultratenký řez



živočišná buňka - freeze-etching

# Stínění kovem

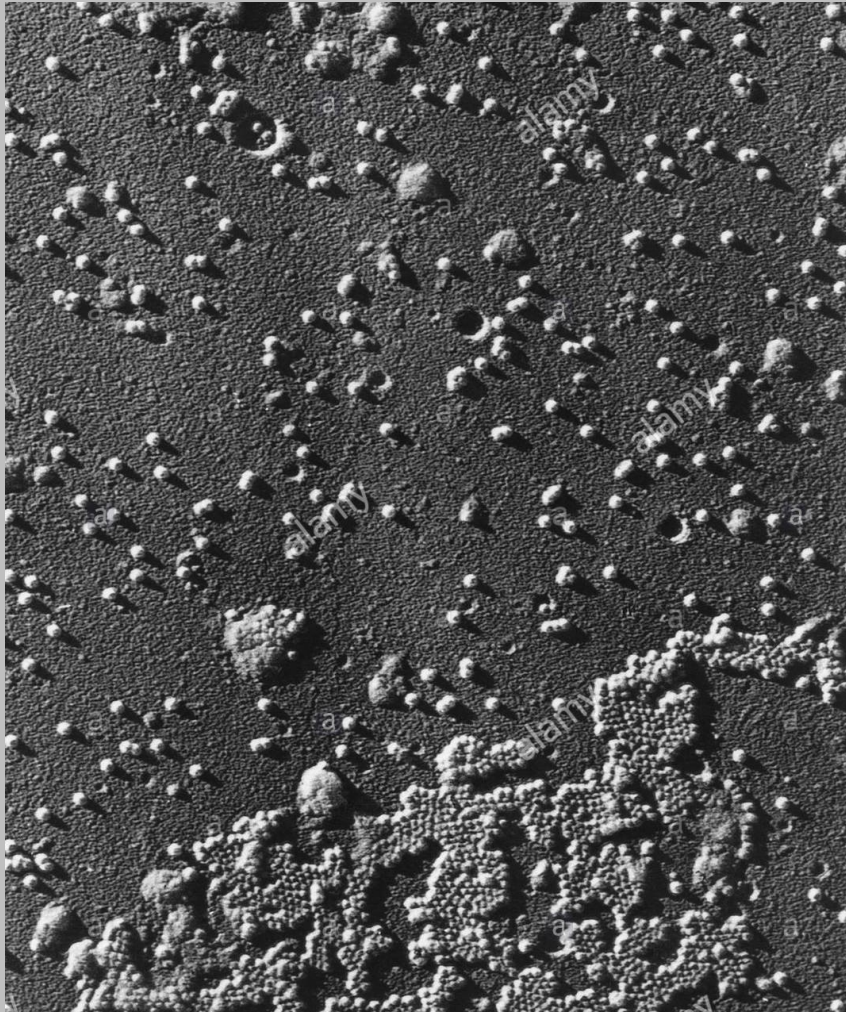
- Stínování spočívá v pokrývání preparátu tenkou vrstvou kovu. Při pokovování je preparát nakloněný, což zajistí zvýraznění jemných fibrilárních struktur a detailů malých makromolekul, např. kolagenu, DNA, RNA, ribozomů nebo buněčné stěny.
- pokovování se provádí ve vakuu ( $10^{-4}$  Pa)



pokovovačka s komorou pro vytvoření podtlaku



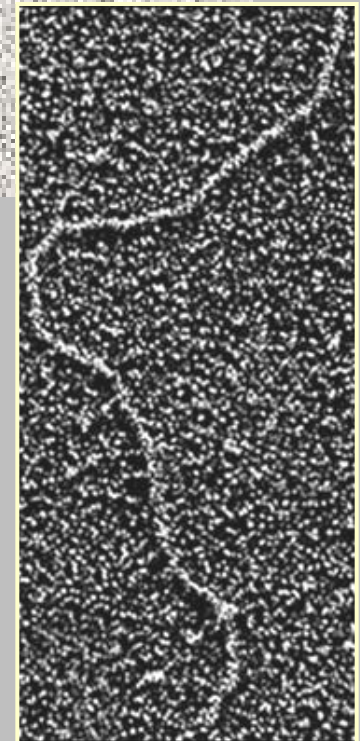
# Stínění kovem - výsledný obraz



Polio virus



DNA



(C)

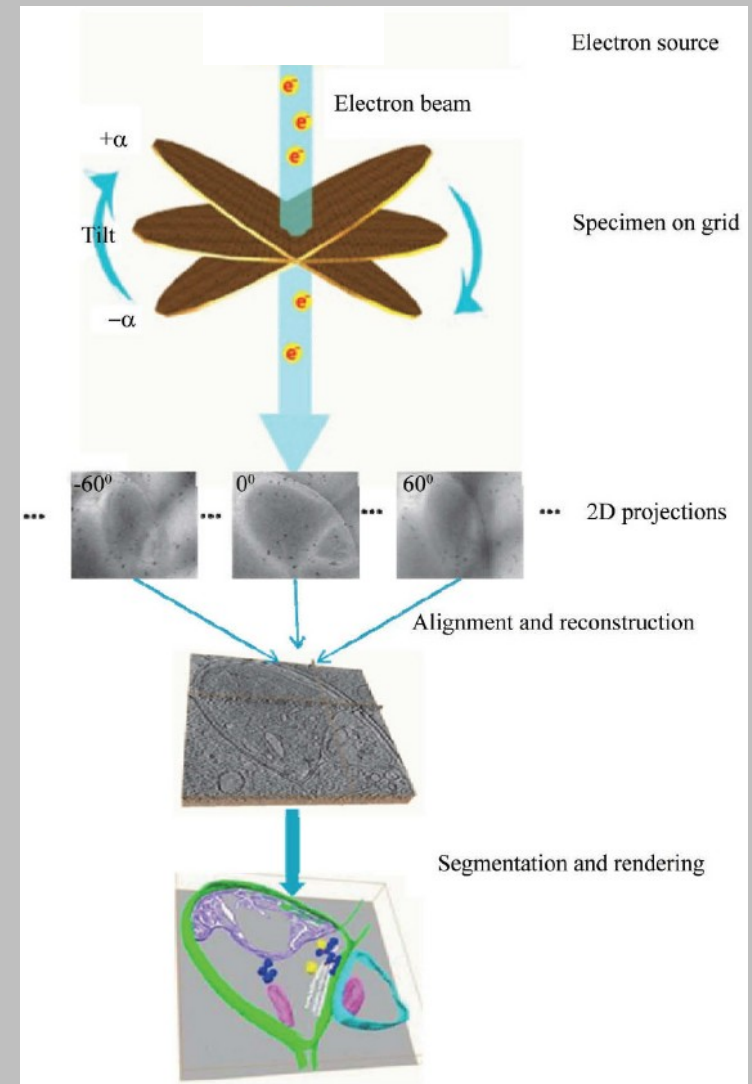
200 nm

# 3D elektronová mikroskopie

## TEM tomografie

Nakláněním (otáčením) vzorku v mikroskopu a následným prosvěcováním elektronovým svazkem, je získána série obrazů, ze kterých je zpětnou projekcí vytvořena 3D morfologie objektu. Technika poskytuje vysoké rozlišení, ale je limitována velikostí analyzovaných objektů. Řádově desítky nm. Proto se využívá pro analýzy struktury molekul, proteinů, krystalů. Zejména pro krystalografii má své výhody vzhledem k tomu, že lze vynechat nezbytný krok krystalizace vzorku.

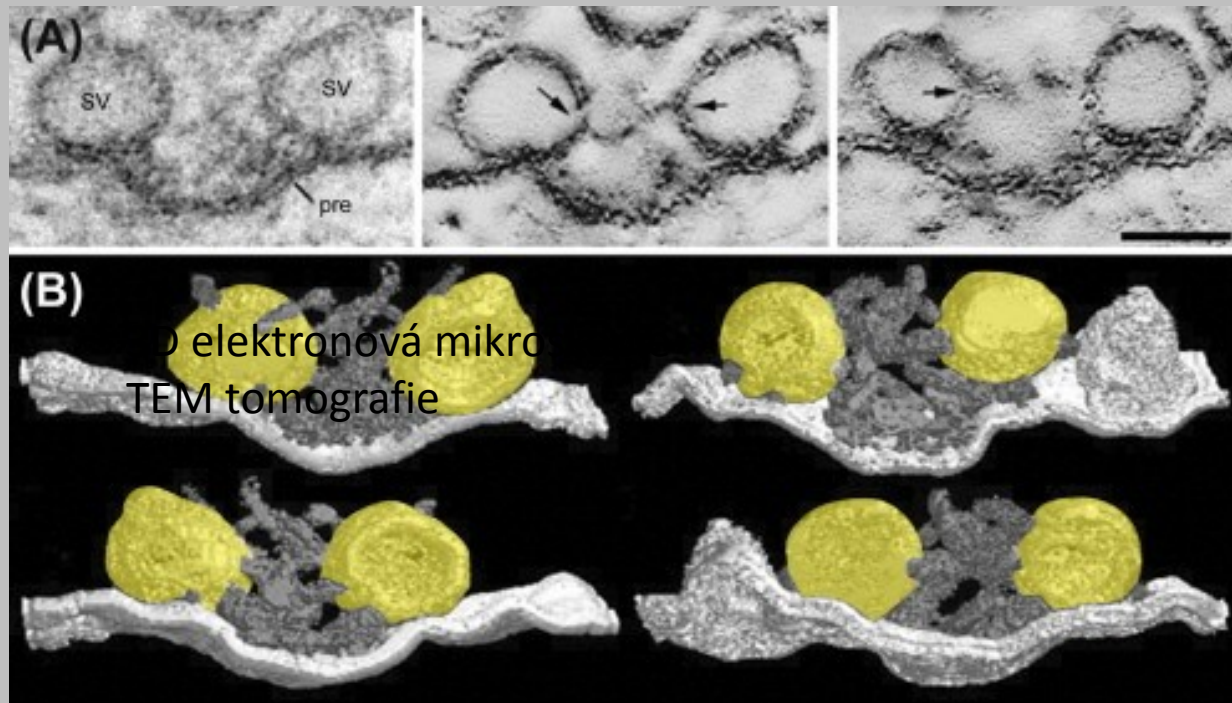
Při využití technik kontrastování biologických vzorků dochází ke vzniku množství artefaktů. Proto se v současnosti technika tomografie využívá nejvíce v souvislosti s Cryo-elektronovou mikroskopií, při které je vzorek pozorován za nízkých teplot (-180oC) bez nutnosti kontrastování. Viz následující přenášky.





# 3D elektronová mikroskopie

## TEM tomografie

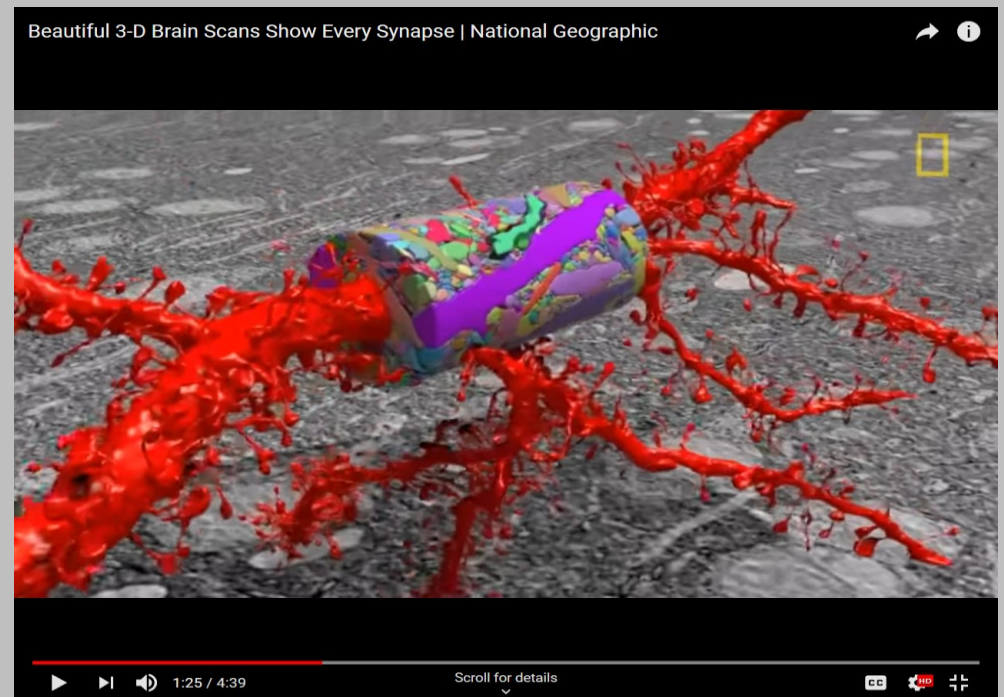
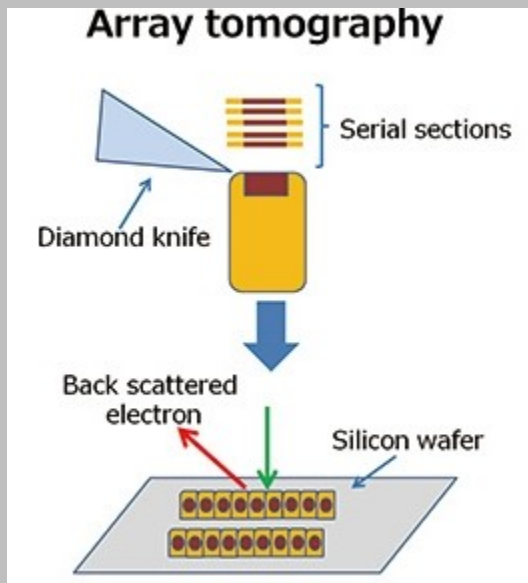


Example of an electron tomography image: synaptic vesicles docking at release sites in the neuromuscular junction. (A) Two-dimensional TEM images used in the ET volume reconstruction. Scale bar, 50 nm. (B) Three-dimensional surface-rendered, docked vesicles, and presynaptic membrane that allow the shape, size, and associations of different components to be examined.

# 3D elektronová mikroskopie

## Array tomography

Příprava vzorku je obdobná jako pro transmisní EM, avšak řezy jsou kladeny na fólii jeden za druhým. Z milimetru tkáně je získáno více než 10 tisíc vzorků. Tyto jsou následně skenovány pomocí SEMu a z obrazů je vytvořena 3D rekonstrukce.



<https://www.youtube.com/watch?v=nvXuq9jRWKE&feature=youtu.be&t=40>

# Využití EM

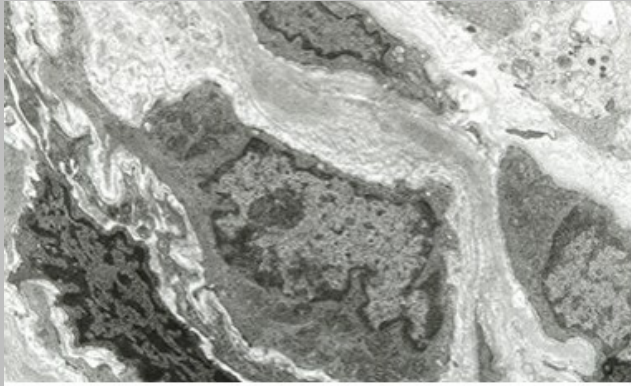
- Věda (biologie, chemie – např. ke kvantitativní
- prvkové analýze, geologie ...)
  
- Lékařství (studium bakterií a virů ...)
  
- Soudní lékařství (forensní EM)
  
- Metalurgie (studium vlastností materiálů)
  
- V mikroelektronice (studium čipů, mikroprocesory)

# Nevýhody EM

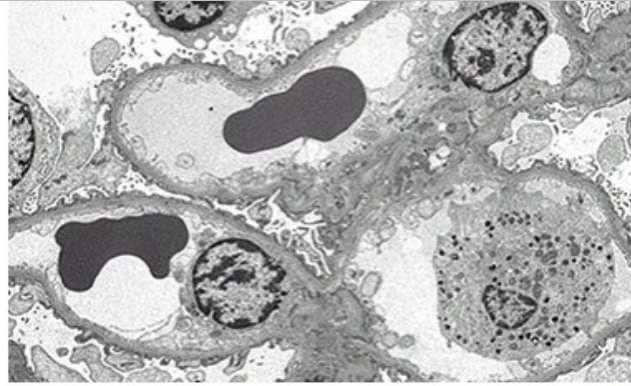
- Drahý a prostorově náročný přístroj
- Pozorování jen ultratenkých řezů (náročné na přípravu preparátů)
- Umístění preparátu ve vakuu znemožňující
- pozorování živých organismů

# Příklady využití elektronové mikroskopie v medicíně (užíváno jako doplňková metoda upřesnění diagnózy)

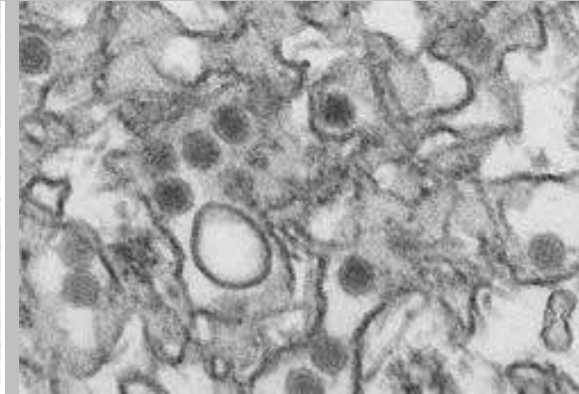
- Diagnostika nemocí ledvin – detekce strukturních změn glomerulu, detekce depozit imunokomplexů
- Diagnostika svalových onemocnění
- Diagnostika poruch metabolismu
- Detekce virů



Lupu nephritis of kidney imaged with TEM



Renal biopsy of diseased kidney tissue



TEM of Zika Virus. Virus particles are 40 nm in diameter, with an outer envelope and an inner dense core.  
Courtesy of Cynthia Goldsmith, CDC.

# Reference

- [https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js19/mikroskopicky\\_atlas/web/index.html](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js19/mikroskopicky_atlas/web/index.html)
- <http://triton.paru.cas.cz/old-lem/book/index.html>
- <http://www.fei.com/introduction-to-electron-microscopy/>
- [http://www.nanotechftm.tmf.bg.ac.rs/images/stories/dokumenti/lecture\\_book\\_em\\_school/aleksandra%20korac.pdf](http://www.nanotechftm.tmf.bg.ac.rs/images/stories/dokumenti/lecture_book_em_school/aleksandra%20korac.pdf)