



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I463128 B

(45) 公告日：中華民國 103 (2014) 年 12 月 01 日

(21) 申請案號：100123728

(22) 申請日：中華民國 100 (2011) 年 07 月 05 日

(51) Int. Cl. : G01N1/28 (2006.01)

H01J37/02 (2006.01)

(71) 申請人：國立交通大學 (中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)

新竹市大學路 1001 號

(72) 發明人：陳智 CHEN, CHIH (TW) ; 杜經寧 TU, KING-NING (US)

(74) 代理人：蘇建太；陳聰浩；蘇清澤

(56) 參考文獻：

TW 200723344A

審查人員：林佑霖

申請專利範圍項數：21 項 圖式數：6 共 23 頁

(54) 名稱

一種電子顯微鏡樣品盒

SAMPLE BOX FOR ELECTRON MICROSCOPE

(57) 摘要

本發明係有關於一種電子顯微鏡樣品盒，包括：一第一基板、一第二基板、及一金屬黏著層。該第一基板具有一第一表面、一第二表面、一第一凹槽、及一或以上之第一導孔，該第一導孔係貫穿第一基板。該第二基板具有一第三表面、一第四表面、及一第二凹槽。另外，該金屬黏著層，係設置於該第一基板與該第二基板間以形成一空間，使樣品容置於其中，此外，本發明更包括一或以上之栓塞，係可密封第一導孔，使本發明之樣品盒密封並以電子顯微鏡即時觀測。

The present invention relates to a sample box for an electron microscope, which comprises a first substrate, a second substrate, and a metal adhesion layer. The first substrate has a first surface, a second surface, a first concave, and one or more first through holes, wherein the first through holes penetrate through the first substrate. The second substrate has a third surface, a fourth surface, and a second concave. Besides, the metal adhesion layer is disposed between the first substrate and the second substrate to form a space, for a sample placed therein. In addition, the sample box of the present invention further comprises one or more plugs. When the plugs are assembled into the first through holes to seal the sample box, the in-situ observation can be accomplished by use of the present electron microscope.

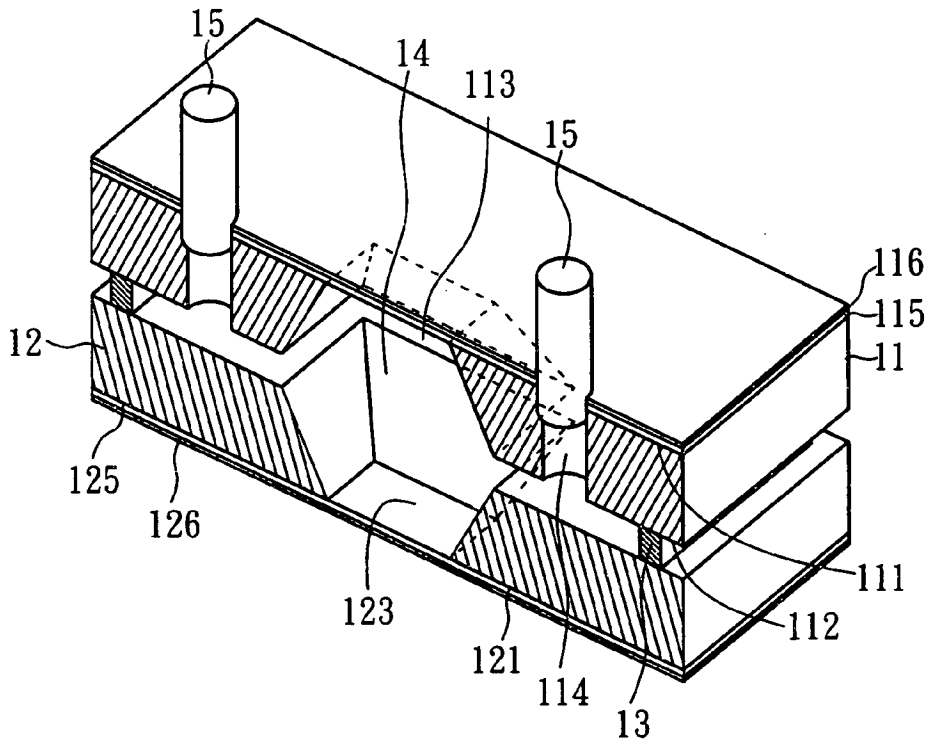


圖2

- 11 . . . 第一基板
- 12 . . . 第二基板
- 13 . . . 金屬黏合層
- 111 . . . 第一表面
- 112 . . . 第二表面
- 113 . . . 第一凹槽
- 114 . . . 第一導孔
- 115 . . . 第一薄膜
- 116 . . . 第一保護層
- 121 . . . 第三表面
- 122 . . . 第四表面
- 123 . . . 第二凹槽
- 125 . . . 第二薄膜
- 126 . . . 第二保護層
- 14 . . . 空間
- 15 . . . 栓塞

公告本

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100123728

GolN 1/28 (2006.01)

※申請日：100. 7. 05

※IPC 分類：

H01J 37/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

一種電子顯微鏡樣品盒

SAMPLE BOX FOR ELECTRON MICROSCOPE

二、中文發明摘要：

本發明係有關於一種電子顯微鏡樣品盒，包括：一第一基板、一第二基板、及一金屬黏著層。該第一基板具有一第一表面、一第二表面、一第一凹槽、及一或以上之第一導孔，該第一導孔係貫穿第一基板。該第二基板具有一第三表面、一第四表面、及一第二凹槽。另外，該金屬黏著層，係設置於該第一基板與該第二基板間以形成一空間，使樣品容置於其中，此外，本發明更包括一或以上之栓塞，係可密封第一導孔，使本發明之樣品盒密封並以電子顯微鏡即時觀測。

### 三、英文發明摘要：

The present invention relates to a sample box for an electron microscope, which comprises a first substrate, a second substrate, and a metal adhesion layer. The first substrate has a first surface, a second surface, a first concave, and one or more first through holes, wherein the first through holes penetrate through the first substrate. The second substrate has a third surface, a fourth surface, and a second concave. Besides, the metal adhesion layer is disposed between the first substrate and the second substrate to form a space, for a sample placed therein. In addition, the sample box of the present invention further comprises one or more plugs. When the plugs are assembled into the first through holes to seal the sample box, the in-situ observation can be accomplished by use of the present electron microscope.

#### 四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖( 2 )。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

11 第一基板	12 第二基板	13 金屬黏合層
111 第一表面	112 第二表面	113 第一凹槽
114 第一導孔	115 第一薄膜	116 第一保護層
121 第三表面	122 第四表面	123 第二凹槽
125 第二薄膜	126 第二保護層	14 空間
15 栓塞		

#### 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種電子顯微鏡樣品盒，尤指一種具有導孔之電子顯微鏡樣品盒。

### 【先前技術】

習知技術中，於操作電子顯微鏡觀查樣品時，其電子顯微鏡內之真空環境，對於樣品觀測之解析度及正確度來說相當重要。故習知電子顯微鏡多半觀察固態物體結構，或觀察如生物組織、或病毒脫水處理後之樣品，因而侷限了樣品之選擇性，亦無法觀察樣品之動態狀態。

於此樣品選擇性受限之情況下，其電子顯微鏡所能應用之範圍顯然同步受到限制。為解決此狀況，先前研究者係發明一種可觀察存放於氣體或液體之樣品之電子顯微鏡樣品裝置，其中該樣品可為化學粒子、生化分子、或生物組織。該電子顯微鏡樣品裝置，係將該樣品容置於一樣品盒中，並以密封膠、或高分子密封膠進行密封。然而，該密封膠卻易吸收樣品中之水分，且高分子密封膠則易使樣品之水分蒸散，故降低了電子顯微鏡之真空度，且影響樣品之解析度及觀察效率。

為解決以上之問題，目前更發展一種電子顯微鏡樣品盒，其中，此樣品盒除了具有一樣品容室之外，另設一氣室及一緩衝室。而此樣品盒解決樣品之氣體溢散或液體蒸散之方法，係將氣室填充惰性氣體至一預定壓力，以減緩

氣態樣品之溢散或液態樣品之蒸發情形。然而，此樣品盒雖解決了密封度之問題，但氣室中所填充之惰性氣體卻可能影響樣品觀察之解析度，此外，此樣品盒之組成甚為繁複，故亦可能增加其成本。

更甚者，該習知之電子顯微鏡樣品裝置，係將存放於氣體或液體之樣品置入後，再進行完全之密封，且密封後即無法再度開啟。然而，於此完全密封之環境下，對於組織或細胞活體之觀察顯然受到限制，因為該密閉之空間僅具有有限之氧氣及緩衝液，使得該組織或細胞之活體樣品存活時間縮短，進而導致無法長時間的觀察該樣品之動態變化。

不僅於此，習知電子顯微鏡樣品裝置之密封方式乃係以密封膠或高分子膠進行密封，然而其密封膠或高分子膠皆會吸收樣品中之水分，而蒸散至電子顯微鏡之真空環境中，此現象不但破壞了電子顯微鏡之真空度，亦破壞了樣品原本的儲存環境。

有鑑於此，開發一種具有高度密封度，且可重複開啟之電子顯微鏡樣品盒，有助於進一步更精確的以電子顯微鏡觀測存放於氣體或液體之樣品，並且可增加適用於電子顯微鏡觀察之樣品種類。

#### 【發明內容】

本發明之主要目的係提供一種具有導孔、及栓塞之電子顯微鏡樣品盒，俾能使該樣品盒重複開啟，以通入樣品所需之氣體或液體，延長樣品動態觀測之時間。

本發明之另一目的係提供一種具有高密封度之電子顯微鏡樣品盒，俾能在不破壞電子顯微鏡真空度之情況下，使存放於氣體或液體之樣品完全密封於本發明之樣品盒中。

為達成上述目的，本發明提供一種電子顯微鏡樣品盒，包括：一第一基板，其具有一第一表面、一第二表面、一第一凹槽、及一或以上之第一導孔，其中第一凹槽係設置於第二表面，而第一表面上設有一第一薄膜，其係對應於第一凹槽，且一或以上之第一導孔係設置於第一凹槽之外圍，並貫穿第一基板；一第二基板，其具有一第三表面、一第四表面、及一第二凹槽，其中第二凹槽係設置於第四表面，而第三表面上設有一第二薄膜，其係對應於第二凹槽；以及一金屬黏著層，係設置於第一基板與第二基板間；其中第一基板、第二基板、及金屬黏著層間係形成一空間，以容置一存放於氣體或液體之樣品。而該樣品係可為化學原子、分子、化合物、混合物，或生物領域之組織、細胞、酵素等，基本上，只要樣品符合電子顯微鏡觀察之要求者，並無特別限制。

上述之第一導孔較佳係可貫穿第一薄膜，並穿透該第一基板，以使第一基板、第二基板、及金屬黏著層所形成



之空間與外界連通，可使樣品由其第一導孔置入樣品盒之空間中，亦可使氣體或液體由其第一導孔導入其中。

上述之第一凹槽及第二凹槽較佳係由黃光微影製程、再加上濕式蝕刻製程、乾式蝕刻製程、或深式離子蝕刻技術(Deep reactive-ion etching)形成其凹槽之結構。其中，第一凹槽及第二凹槽之形體係無特別限制，可以為規則或不規則之形體，亦可為一圓柱體、一錐體、一正方體、或一長方體，而較佳情況下，第一凹槽及第二凹槽係可各自獨立為一圓柱體、一錐體、一正方體、或一長方體。

而上述之金屬黏著層係可設置於第二表面與第四表面之間、第二表面與第二薄膜間、或第一薄膜與第二薄膜間，以形成不同體積及形狀之樣品盒內部空間，以因應不同體積之樣品以及不同解析度之觀察需求而有所調整。其中該空間之體積係為0.01至100立方公釐，較佳係為0.05至50立方公釐，更佳係為0.1至10立方公釐，而該空間之高度係為10微米至1000微米之間，較佳係為20至700之間，而更佳係為30至550之間。

如前述之金屬黏著層中，其材料較佳係包含一金屬材料，以形成一金屬鍍料，而此金屬材料係選自：鈦、錫、鉻、鎳、鋅、金、鈮、鈹、銅、銀、鈦鎢合金、或其組合所組成之群組，而較佳金屬材料係為錫、鎳、鋅、金、鈮，更佳之金屬材料係為錫、金。然而，於此金屬黏著層中，其組成更可包含一接著層、一冶金層與一鍍錫層，其中接著層係為鈦、鈦鎢合金、或鉻；冶金層係為鎳、銅、或金。

其中，本發明所適用之金屬材料具有防水性佳、密封度佳且不具生物排斥性之優點，然而卻需於高溫下才具有黏合之特性，因此於上、下基板黏合時，可能會有導致樣品盒內之樣品變質之風險。故操作方法上，較佳係先於70°C以上之高溫下，以金屬黏著層進行第一基板及第二基板之黏合後，再將樣品置入樣品盒中。

而前述之第二基板可更包括一或以上之第二導孔，其中第二導孔較佳係設置於第二凹槽之外圍，並貫穿該第二基板，以使其第一基板、第二基板、及金屬黏著層所形成之空間與外界連通，而使樣品由該第二導孔置入該空間，亦可使氣體或液體由第二導孔導入其中。

其中，前述之第一導孔之孔徑係為10至1000微米，較佳係為50至700微米，更佳係100-500微米；而第二導孔之孔徑則係為10至1000微米，較佳係為50至700微米，更佳係100-500微米，其中，各別導孔之孔徑大小可依照觀察需求而不全相同，於不妨礙電子顯微鏡操作、或觀察之情況下，可逕行調整。製法上，第一導孔及第二導孔較佳係以深式離子蝕刻技術(Deep reactive-ion etching)或雷射鑽孔技術所製成。基本上，其導孔之功能係用以置入存放於氣體或液體之樣品，且亦可導入樣品所需之氣體或液體，如氧氣、氮氣、緩衝液、培養液等，以延長樣品動態觀測之時間。如以細胞樣品來說，該導孔係可導入該細胞所需之氧氣以及培養液，於延長該細胞樣品之存活之同時，進而即時觀察該細胞樣品之動態變化。

本發明之電子顯微鏡樣品盒可更包含一或以上之栓塞，其係容置於第一導孔以及第二導孔。該栓塞之材料無特別限制，可為金屬、記憶金屬、聚合物、塑膠、陶瓷、壓克力、或其組合。其中，該栓塞之材料較佳係為：記憶金屬、聚合物、塑膠、陶瓷、或其組合，而更佳係為：記憶金屬材料。而其記憶金屬之材料係可選自：鈦鎳合金、銅基合金、銅鋅合金、銅鋁錳合金、銅鋁鎳合金、銅鋁鈹合金、銅鋁鈹銻合金、銅鋁鎳鈹合、及其組合所組成之群組，而較佳係為鈦鎳合金、銅鋅合金、銅鋁鎳合金、及其所組成之群組，然更佳係為鈦鎳合金。此外，由於上述之記憶金屬材料具有熱脹冷縮之記憶特性，故若以此較佳之材料作為栓塞，來密封該導孔，則可使本發明之電子顯微鏡樣品盒達更高之密封度要求。

如前述之電子顯微鏡樣品盒，其中第一薄膜及第二薄膜之材料係各自獨立為二氧化矽( $\text{SiO}_2$ )、氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )、或其組合。其可用以增加製程中之蝕刻選擇性，且亦增強第一基板、第二基板之表面硬度。另外，其第一薄膜、及第二薄膜之厚度係分別為1至100奈米，較佳係為5至80奈米。

而第一薄膜之外層係可再設置一層第一保護層，同理，第二薄膜之外層亦可再設置一層第二保護層。第一保護層及第二保護層之材料較佳係為氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )，因為氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )材料具有較堅硬之特性，如此，可用防止第一薄膜以及第二薄膜破裂，亦可更進一步增加製程中之蝕刻選擇性。

如前述本發明之第一基板及第二基板，其中第一基板及第二基板係各自獨立為矽基板、玻璃基板、或聚合物基板，較佳為矽基板。另外，第一基板及第二基板之厚度係介於10至1000微米，較佳介於為100-250微米。

綜上所述，本發明電子顯微鏡樣品盒中，具有一金屬黏著層，且於樣品置入樣品盒前，係預先以金屬黏著層黏合第一基板及第二基板。此外，本發明之樣品盒使用時，可具有一或以上之第一導孔、一或以上之第二導孔，係可將樣品由樣品盒之第一導孔、第二導孔置入後，再以栓塞密封第一導孔、第二導孔，使本發明之樣品盒最後呈現完全密封之狀態，以便於電子顯微鏡中進行動態觀測。其中，本發明之栓塞係可重複使第一導孔、第二導孔開啟，故可由第一導孔、第二導孔再導入氣體或液體，如氧氣或緩衝液，以延長樣品之動態觀測時間。

另外，本發明之電子顯微鏡樣品盒結構及製作上，較習知之樣品盒簡單，且本發明所選用之材料及製作方法亦為所屬技術領域中，所易於取得及易於瞭解。故呈上所述，本發明可使存放於氣體或液體之樣品，以電子顯微鏡即時地觀測樣品之動態變化、及延長樣品之觀測時間，並以簡單之樣品盒結構，改善習知電子顯微鏡樣品盒之密封度問題。

為使本發明之上述目的、特徵和優點能更明顯易懂，下文特舉實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下。

## 【實施方式】

以下係將以具體實施例結合所附之圖式，更詳細地說明本發明之實施方式。

### 實施例一

首先，請參考圖1、圖2、及圖3，圖1係為本實施例電子顯微鏡樣品盒之俯視圖；圖2係為圖1之本實施例電子顯微鏡樣品盒俯視圖中，沿A-A'剖面線之立體剖視圖；而圖3係為圖1之本實施例電子顯微鏡樣品盒俯視圖中，沿A-A'剖面線之剖視圖。如圖1、圖2、及圖3所示，本發明之電子顯微鏡樣品盒係包含：一第一基板11、一第二基板12、以及一金屬黏著層13。於本實施例中，第一基板11及第二基板12之材質係為矽基板。並且，第一基板11之厚度係為250微米，而第二基板12之厚度係為250微米。

更詳細地說，該第一基板11具有一第一表面111、一第二表面112、一第一凹槽113、及兩個第一導孔114。其中，第一凹槽113係設置於第二表面112，且第一表面111上設有一第一薄膜115，其係對應於第一凹槽113。另外，上述之第一導孔114係設置於該第一凹槽113之外圍，並貫穿該第一基板11。

上述之第二基板12具有一第三表面121、一第四表面122、以及一第二凹槽123。其中，第二凹槽123係設置於第四表面122；且於第三表面121上另設有一第二薄膜125，其係對應於第二凹槽123。

此外，上述之金屬黏著層13係設置於第一基板11之第二表面114，以及第二基板12之第四表面122之間。其中，第二表面112、第四表面122、及金屬黏著層13之間圍繞形成一空間14，以將存放於氣體或液體之樣品，容置於此空間14中。於本實施例中，樣品之種類並無特別侷限，凡存放於氣體或液體之樣品，在符合電子顯微鏡觀察之要求上，皆可為本實施例所適用。

另外，本實施例係以黃光微影及濕式蝕刻製程於第二表面112形成上述之第一凹槽113，並於第四表面122上形成上述之第二凹槽123，使第一凹槽113及第二凹槽123之形體均形成為錐體。

此外，本實施例之第一導孔114是以深式離子蝕刻技術(Deep Reactive Ion Etching)所製成，以使第一導孔114貫穿第一薄膜115，進而貫穿第一基板11，並使本實施例之第一導孔114孔徑係為250微米。

而該第一導孔114之功能係將欲觀測之樣品由此導孔置入空間14中，且亦可由第一導孔114導入所需之氣體(如氧氣、氮氣等)或液體(如緩衝液、或酸、鹼溶液等)，以進一步地動態觀察欲觀測之樣品。

上述之第一薄膜115及第二薄膜125之材料於本實施例中，係為二氧化矽( $\text{SiO}_2$ )。其功能係為增加第一基板11及第二基板12之硬強度，使其基板不易破裂，且可增加本實施例蝕刻過程中之蝕刻選擇性。

而上述本實施例之金屬黏著層13係由一接著層、一冶金層與一鍍錫層所形成，其中接著層係為鈦鎢合金，而冶金層係為銅。且於本實施例中，其係先於約130°C之高溫下，利用自動對準封裝法，以金屬黏著層13進行第一基板11及第二基板12之黏合後，再將樣品置入樣品盒空間14中。

於本實施例中，金屬黏著層13、第二表面112、及第四表面122間所形成之一空間14，可使電子顯微鏡之電子束，沿著第一基板11之第一凹槽113穿透至空間14，再穿透至第二基板12之第二凹槽123。其中，該空間14之體積係為4立方公釐，而其空間14之高度係為550微米。再則，於本實施例中，為了增強該基板之硬強度及蝕刻過程之蝕刻選擇性，故於第一薄膜115之外層另設一第一保護層116，且於第二薄膜125之外層另設一層第二保護層126。其中，第一保護層116及第二保護層126之材料係為具有較強硬度之氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )。

最後，本實施例另具有兩個栓塞15，其係可將第一導孔114密封，以形成完全密封之電子顯微鏡樣品盒。除此之外，由於栓塞15係可由第一導孔114拔起，故可使樣品盒依觀察需求而重複地開啟或密封。而本實施例之栓塞15係以記憶金屬之鈦鎳合金為材料，其係將栓塞15置於冰點溫度下一段時間後，使鈦鎳合金的溫度降至冰點以下，再拿出來插入至於室溫中樣品盒之第一導孔114中，此時因為鈦鎳合金的溫度會漸漸升高到室溫，使栓塞15膨脹而密封第一導孔114，進而使樣品盒完全密封。

以觀測一細胞樣品來說明本實施例之使用方式。將細胞樣品由第一導孔114置入空間14後置於室溫，將置於冰點溫度下之鈦鎳合金之栓塞15拿出，封塞第一導孔114，以使栓塞15密封第一導孔114，此時本實施例之樣品盒係呈現完全密封之狀態。接著，將其完全密封之樣品盒置入電子顯微鏡中，觀察細胞之即時動態狀態。隨後，可視觀察之需求，以栓塞15將第一導孔114重複開啟，並置入所需之氧氣或培養液，以進一步觀測細胞樣品之動態狀態。

### 實施例二

如圖4所示，圖4係為本發明實施例二之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖，本實施例與實施例一大致相同，差別僅在於金屬黏著層13係設置於第二表面112及第二保護層126間，且本實施例之金屬黏著層係為共晶錫銻銲錫。

而本實施例空間14之體積係為2立方公釐，其相較實施例一空間14之體積小。雖然本實施例之樣品盒所能容置之樣品體積小於實施例一，然而，本實施例之解析度卻較實施例一佳。因此，可依照欲觀察樣品之體積大小、以及所需電子顯微鏡之解析度大小，選擇不同空間14體積之電子顯微鏡樣品盒。

### 實施例三

如圖5所示，圖5係為本發明實施例三之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖，本實施例與實施例一、實施例二大致相同，差別在於金屬黏著層13係設置於第一保護層116及第二保護層126間，以形成為0.2立方公釐之空間14。其中，本實施



例之空間14體積相較實施例一及實施例二之空間14體積小。雖然本實施例之樣品盒所能容置之樣品體積更小於實施例一及實施例二，然而，本實施例之解析度卻較實施例一及實施例二佳。因此，同樣可依照欲觀察樣品之體積大小、以及所需電子顯微鏡之解析度大小，選擇不同空間14體積之電子顯微鏡樣品盒。

另外，本實施例以深式離子蝕刻技術(Deep Reactive Ion Etcher)於第二基板12上，設置兩個之第二導孔124，使其第二導孔124貫穿第二薄膜125，進而貫穿第二基板12，而形成250微米孔徑大小之第二導孔124。

此外，本實施例之第二導孔124是以鈦鎳合金之栓塞15進行密封，且其第二導孔124之功能亦與第一導孔114相同。

#### 實施例四

如圖6所示，圖6係為本發明實施例四之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖，本實施例亦大致與實施例三相同，差別僅在於本實施例之第一薄膜115、第一保護層116、第二薄膜125、及第二保護層126係僅覆蓋於該第一凹槽113及第二凹槽123之底部，以增強第一凹槽113及第二凹槽123之結構強度，而防止凹槽破裂而使樣品溢出，此外，亦可增加蝕刻之選擇性。

另外，本實施例中，係以雷射鑽孔技術，於部份無覆蓋上述薄膜之第一表面111及第三表面121之上，以形成第一導孔114及第二導孔124，使第一導孔114及第二導孔124係只貫穿第一表面111及第三表面121，且形成孔徑係為250

微米之第一導孔114，及孔徑係為250微米之第二導孔124。  
最後，本實施例皆以鈦鎳合金之栓塞15，密封第一導孔114及第二導孔124。

上述實施例僅係為了方面說明而舉例而已，本發明主張之權利範圍自應以申請專利範圍所述為準，而非僅限於上述實施例。

### 【圖式簡單說明】

- 圖1係本發明電子顯微鏡樣品盒之俯視圖。  
圖2係本發明實施例一之電子顯微鏡樣品盒之立體剖視圖。  
圖3係本發明實施例一之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖。  
圖4係本發明實施例二之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖。  
圖5係本發明實施例三之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖。  
圖6係本發明實施例四之電子顯微鏡樣品盒之剖視圖。

### 【主要元件符號說明】

11第一基板	12第二基板	13金屬黏合層
111第一表面	112第二表面	113第一凹槽
114第一導孔	115第一薄膜	116第一保護層
121第三表面	122第四表面	123第二凹槽
124第二導孔	125第二薄膜	126第二保護層
14空間	15栓塞	

## 七、申請專利範圍：

103年5月21日修正頁(減)  
對線

1. 一種電子顯微鏡樣品盒，包括：

一第一基板，其具有一第一表面、一第二表面、一第一凹槽、及一或以上之第一導孔，其中該第一凹槽係設置於該第二表面，而該第一表面上設有一第一薄膜，其係對應於該第一凹槽，且該一或以上之第一導孔係設置於該第一凹槽之外圍，並貫穿該第一基板；

一或以上之栓塞，係容置於該第一導孔；

一第二基板，其具有一第三表面、一第四表面、及一第二凹槽，其中該第二凹槽係設置於該第四表面，而該第三表面上設有一第二薄膜，其係對應於該第二凹槽；以及

一金屬黏著層，係設置於該第一基板與該第二基板間；

其中該第一基板、該第二基板、及該金屬黏著層間係形成一空間。

2. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一導孔係貫穿該第一薄膜。

3. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該金屬黏著層係設置於該第二表面與該第四表面之間。

4. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該金屬黏著層係設置於該第二表面與該第二薄膜間。

5. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該金屬黏著層係設置於該第一薄膜與該第二薄膜間。

6. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第二基板更包括一或以上之第二導孔，其中該第二導孔係設置於該第二凹槽之外圍，並貫穿該第二基板。

7. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一導孔之孔徑係為10至1000微米。

8. 如申請專利範圍第6項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第二導孔之孔徑係為10至1000微米。

9. 如申請專利範圍第6項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中更包含一或以上之栓塞，係容置於該第二導孔。

10. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一薄膜及該第二薄膜之材料係各自獨立為二氧化矽( $\text{SiO}_2$ )、氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )、或其組合。

11. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一薄膜、及該第二薄膜之厚度係為1至100奈米。

12. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一薄膜之外層設有一第一保護層。

13. 如申請專利範圍第12項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一保護層之材料係為氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )。

14. 如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第二薄膜之外層設有一第二保護層。

15. 如申請專利範圍第14項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第二保護層之材料係為氮化矽( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )。

16.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一基板及第二基板係各自獨立為矽基板、玻璃基板、或聚合物基板。

17.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一基板及該第二基板之厚度係介於10至1000微米。

18.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該金屬黏著層係包含一金屬材料，其中該金屬材料係選自：鈦、鉻、錫、銻、鈹、銅、銀、鎳、鋅、金、鈦鎢合金、或其組合所組成之群組。

19.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該栓塞之材料係選自：鈦鎳合金、銅基合金、銅鋅合金、銅鋁錳合金、銅鋁鎳合金、銅鋁鈹合金、銅鋁鈹銻合金、銅鋁鎳鈹合、及其組合所組成之群組。

20.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一凹槽及該第二凹槽之形體係各自獨立為一圓柱體、一錐體、一正方體、或一長方體。

21.如申請專利範圍第1項所述之電子顯微鏡樣品盒，其中該第一基板、該第二基板、及該金屬黏著層所形成該空間之體積係為0.01至100立方公釐。

八、圖式 (請見下頁)：

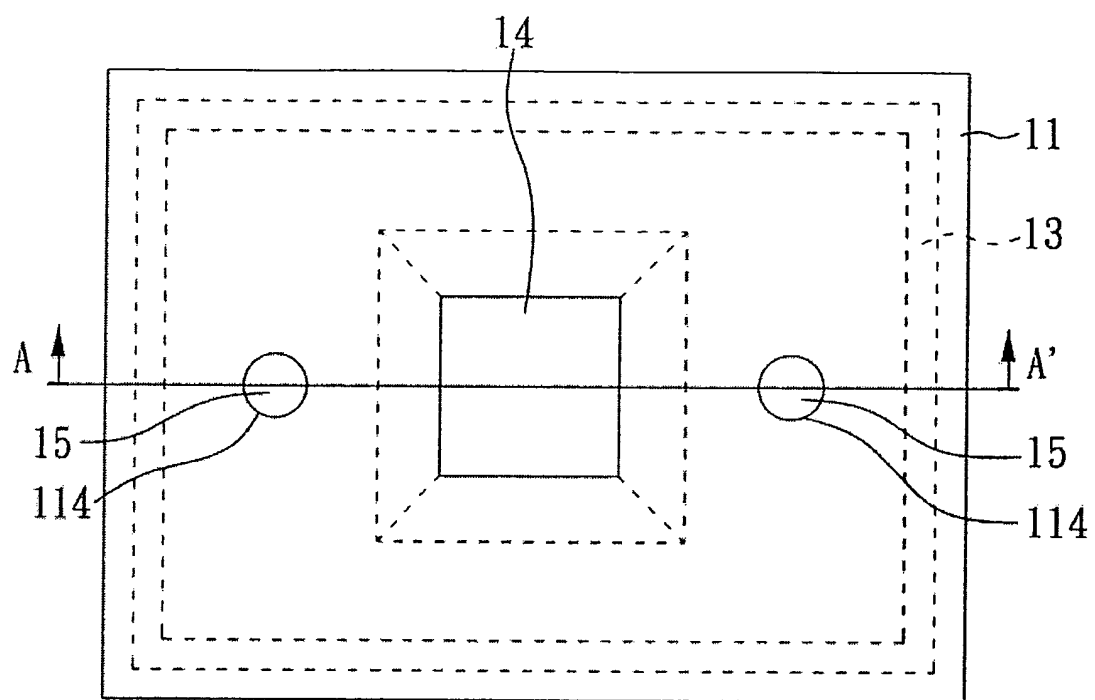


圖1

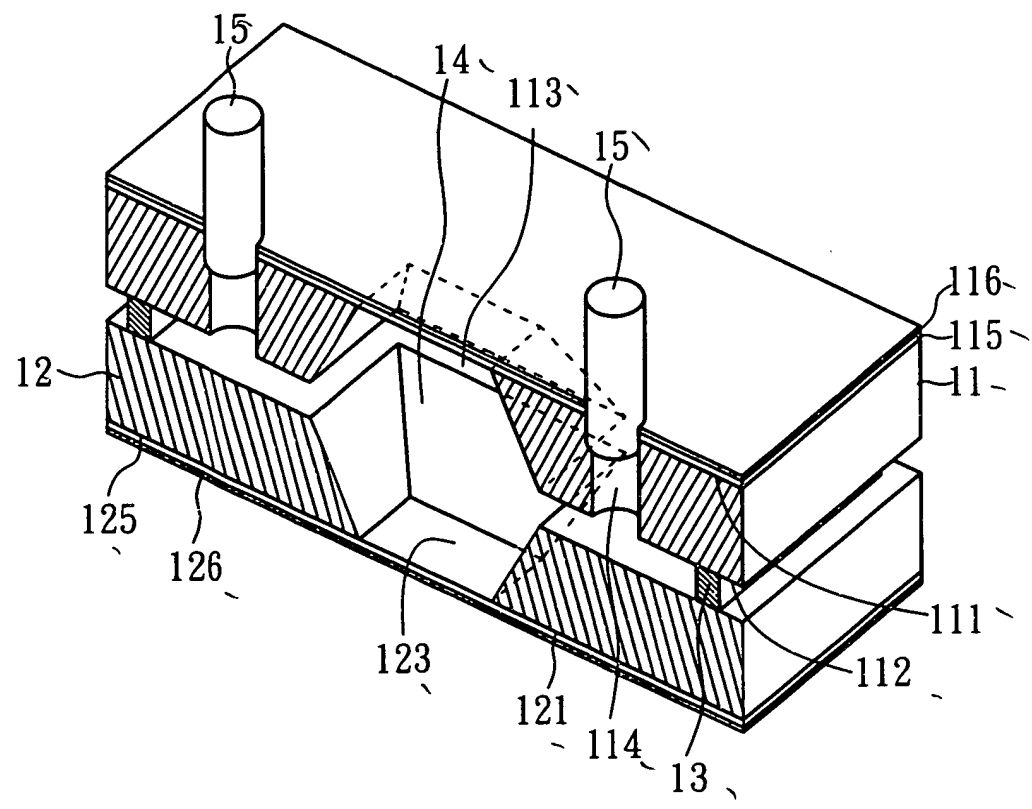


圖2

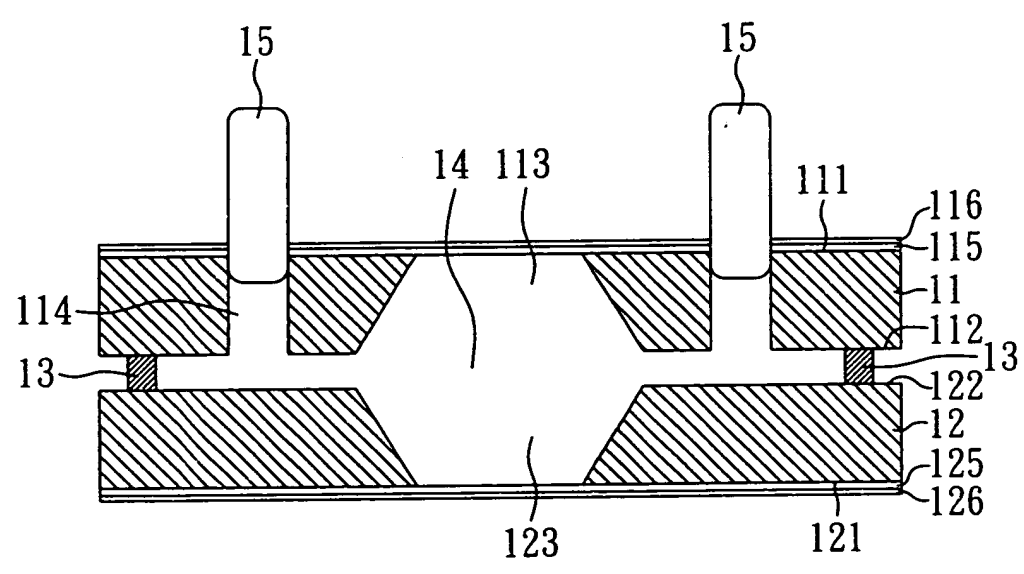


圖3

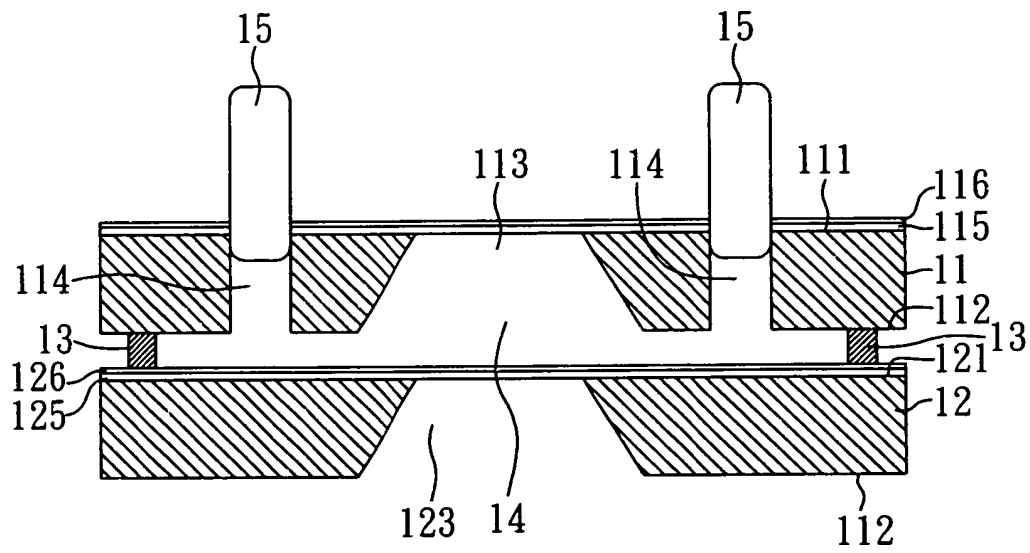


圖4

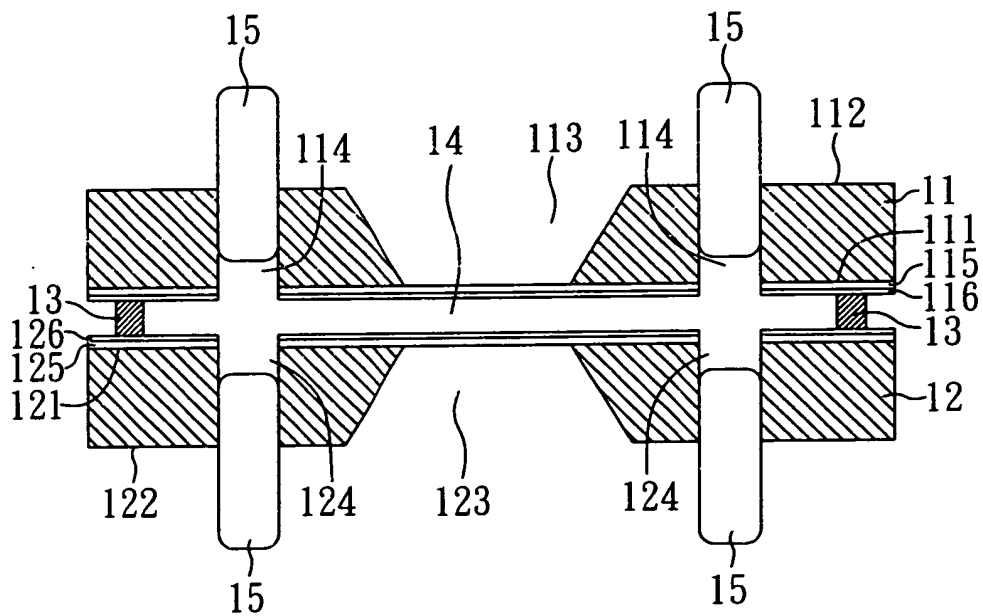


圖5



