

2003 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題（一般生物）

問1. ゴルジ装置について正しいのはどれか。

- A. ほとんどすべての真核細胞に存在する
 - B. ゴルジ層板, 小胞, 空胞で構成される
 - C. ゴルジ層板の数は1~2層である
 - D. ゴルジ空胞はシス側に存在する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問2. 核膜孔について正しいのはどれか。

- A. すべての真核生物にある
 - B. 常に一定数に維持されている
 - C. 複合体の外径は約20nmである
 - D. 核内外への物質輸送にかかわる
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問3. 細胞小器官について正しいのはどれか。

- A. 滑面小胞体は脂質代謝に関与する
 - B. ライソソームには各種の酸化酵素が含まれる
 - C. 葉緑体のチラコイド膜にはカルビン回路の酵素が存在する
 - D. 植物では液胞がライソソームの機能を有する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問4. 小胞体について正しいのはどれか。

- A. 滑面小胞体はタンパク合成に関与する
 - B. 粗面小胞体と滑面小胞体は連続しない
 - C. 核膜の外膜と連続する
 - D. 粗面小胞体の表面にはリボソームが付着している
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問5. 四酸化オスミウムについて正しいのはどれか。

- A. 蒸気は刺激臭をもつが無毒である
 - B. 常温では淡黄またはほとんど無色の針状結晶である
 - C. 純水に溶解するとアルカリ性の液になる
 - D. 強力な酸化剤である
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問6. グルタルアルデヒドについて正しいのはどれか。

- A. 還元剤である
 - B. 分子量が小さいために浸透性が良い
 - C. 常温で溶けにくい
 - D. タンパク質を架橋する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問7. 哺乳動物組織に用いられる固定液のpHと浸透圧の適切な組み合わせはどれか。

1. pH6.4と300mOsm 2. pH7.4と600mOsm 3. pH8.4と200mOsm
4. pH6.4と200mOsm 5. pH7.4と300mOsm

問8. アルデヒド系固定液について正しいのはどれか。

- A. カルノフスキー固定液の組成は4%パラホルムアルデヒド-5%グルタルアルデヒド/0.1Mリン酸緩衝液である
 - B. モノマーのグルタルアルデヒドは紫外線吸収スペクトルで約235nmに強い吸収がある
 - C. グルタルアルデヒドはパラホルムアルデヒドより組織浸透性が良い
 - D. アクロレインはガス固定に適している
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問9. 脱水について正しいのはどれか。

- A. 細胞成分の溶出は室温より低温の方が少ない
- B. 脱水中に最も溶出するのはタンパク質である
- C. 脱水過程ではグリコーゲンが失われる

D. 分子量の小さい脱水剤ほど脱水がはやい

1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問10. エポキシ樹脂包埋法(Luft法)に用いる樹脂成分のうちで硬さの調節に用いられるのはどれか。

- A. Epon 812
 - B. MNA
 - C. DMP-30
 - D. DDSA
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問11. エポキシ系樹脂で使用される置換剤はどれか。

- A. キシレン
 - B. プロピレンオキシド
 - C. メチルグリシジルエーテル(QY-2)
 - D. クロロホルム
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問12. 酸素によって重合が阻害される樹脂はどれか。

- A. Araldite
 - B. LR White
 - C. Epon 812
 - D. Lowicryl K4M
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問13. 薄切時にブロック試料面に水滴がつく原因はどれか。

- A. 樹脂が水溶性である
 - B. 樹脂の重合が不完全である
 - C. ポートの水量が多い
 - D. 切削速度がはやい
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問14. 薄切時に切削方向に一致して切片にキズが入る原因はどれか。

- A. 切削速度がはやい
 - B. 刃先にキズがある
 - C. 刃先にゴミが付着している
 - D. 逃げ角が大きい
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問15. 樹脂切片の厚さを干渉色で見たとき、薄い方から順に並んでいるのはどれか。

1. 金 銀 青 灰 紫 2. 銀 灰 金 紫 青
3. 銀 金 灰 紫 青 4. 灰 銀 金 紫 青
5. 灰 銀 金 青 紫

問16. ダイヤモンドナイフについて正しいのはどれか。

- A. 刃先にはできる限り触れない
 - B. アセトン液につけて洗浄する
 - C. ガラスナイフで試料面を平滑にしてから用いる
 - D. ナイフの逃げ角は通常10°に設定する
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問17. 電子染色について正しいのはどれか。

- A. 電子染色をしないと像はみえない
 - B. 二重染色は酢酸ウラニル, 鉛の順におこなう
 - C. グルタルアルデヒドには染色効果がある
 - D. 原子番号の大きい金属を結合させることにより電子の散乱を増す
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問18. 電子染色について正しいのはどれか。

- A. 酢酸ウラニルはリン酸緩衝液に溶かして染色液とする

- B. リンタングステン酸は弾性線維の染色に用いられる
 C. 酢酸ウラニルはブロック染色にも用いられる
 D. 鉛の染色液は二酸化炭素に触れると沈殿を生じる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問19. エポキシ樹脂包埋試料の光顕標本作製について正しいのはどれか。

- A. 約0.1 μ mの厚さの切片を用いる
 B. 切片はスライドガラス上の水面に浮かせて加温伸展する
 C. 染色にはメチレンブルー、トルイジンブルーなどが用いられる
 D. トルイジンブルーの染色液は酸性にするとよく染まる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問20. 透過電子顕微鏡による高倍率撮影で通常おこなう調整は次のどれか。

- A. 電圧中心
 B. 電流中心
 C. 対物レンズの非点収差
 D. 投射レンズの歪像収差
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問21. 透過電子顕微鏡の操作について正しいのはどれか。

- A. 高倍率で焦点合わせをすれば倍率を下げてもそのまま撮影してよい
 B. 高倍率で非点補正をすれば倍率を下げてもそのまま撮影してよい
 C. 対物絞りの位置をかえても非点収差は変化しない
 D. 対物絞りを小さくすると像のコントラストが高くなる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問22. 写真処理で正しいのはどれか。

- A. 現像液の温度を高くすると粒状性は良くなる
 B. 集光式引伸機はコントラストの高い像が得られる
 C. 定着液はアルカリ性である
 D. 号数の高い印画紙ほどコントラストが高い
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問23. 電子顕微鏡で撮影したフィルムをプリント（焼き付け）するときの正しい作業手順はどれか。

1. 引伸機で露光→停止→定着→水洗→現像→水洗→乾燥
 2. 引伸機で露光→定着→水洗→現像→停止→水洗→乾燥
 3. 引伸機で露光→水洗→現像→停止→水洗→乾燥
 4. 引伸機で露光→現像→定着→停止→水洗→乾燥
 5. 引伸機で露光→現像→停止→定着→水洗→乾燥

問24. 免疫電顕法の包埋後染色法（post-embedding method）について正しいのはどれか。

- A. 切片は銅グリッドにのせる
 B. 標識物質として主にコロイド金が用いられる
 C. LR White はエポキシ樹脂よりも抗原性の保持が良い
 D. サポニンなどで処理すると染色性が増強される
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問25. 免疫電顕法の包埋前染色法（pre-embedding method）について正しいのはどれか。

- A. 主にペルオキシダーゼ標識法が用いられる
 B. 酢酸ウラニルと鉛の電子染色をして観察する
 C. 凍結切片などを用いて免疫反応させる
 D. 抗体の組織内への浸透を良くするためにトリプシンやコラゲナーゼ処理をする
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問26. 細胞構造とその指標となる酵素の組合せで正しいのはどれか。

- A. チトクロームオキシダーゼ———形質膜
 B. カタラーゼ———ペルオキシソーム
 C. チアミンピロフォスファターゼ———ゴルジ装置
 D. 酸性フォスファターゼ———ミトコンドリア
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問27. 組織細胞化学で糖鎖の検出によく用いられる方法はどれか。

- A. ルテニウムレッド法
 B. テトラニトロブルー-テトラゾリウム（TNBT）法
 C. レクチン法
 D. クエン酸鉛法

1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問28. 急速凍結法について正しいのはどれか。

- A. 氷晶は凍結速度がはやいと大きくなる
 B. 金属圧着法では冷却した純銅を使用する
 C. 無固定試料はグリセリン浸漬後に凍結する
 D. 塩類濃度が高い試料では氷晶形成は起こりにくい
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問29. 化学固定試料と比べて、急速凍結・凍結置換固定試料に該当するのはどれか。

- A. 膜の形状はほとんど変わらない
 B. 抗原性がよく保たれていることが多い
 C. アクチン線維がよく保たれていることが多い
 D. 微小管が破壊されていることが多い
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問30. 電顕オートラジオグラフィについて正しいのはどれか。

- A. 露出は室温でおこなうのが良い
 B. エネルギーの弱い β 線は分解能が低い
 C. 切片へのカーボン蒸着はカブリの防止に役立つ
 D. 細胞内合成や代謝経路を調べるのに用いる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問31. 走査電子顕微鏡（SEM）の英語名で正しいのはどれか。

1. Scanning Electron Microscope 2. Scanner Electron Microscope
 3. Scanning Electron Microscope 4. Scanner Electron Microscope
 5. Scattering Electron Microscope

問32. コーティング物質の粒状性が良い順に並んでいるのはどれか。

1. カーボン、クロム、白金、パラジウム、金
 2. カーボン、白金、クロム、パラジウム、金
 3. カーボン、白金、パラジウム、クロム、金
 4. カーボン、白金、パラジウム、金、クロム
 5. カーボン、パラジウム、白金、クロム、金

問33. 走査電子顕微鏡の生物試料処理で正しいのはどれか。

- A. 赤血球を固定するのに浸透圧が450mOsmの固定液を用いる
 B. O-D-O法は細胞内の膜構造を剖出する方法の一つである
 C. 試料をタンニン酸と四酸化オスミウムで処理すると二次電子の発生効率が良くなる
 D. 臨界点乾燥法で酢酸イソアミルを用いるのはこの液が気化しやすいからである
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問34. 走査電子顕微鏡について正しいのはどれか。

- A. 焦点深度は対物絞り径に影響されない
 B. 走査電子プローブ径は分解能に影響する
 C. 加速電圧は像質に影響しない
 D. 先に低倍率で撮影した後に高倍率で撮影する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問35. 走査電顕観察について正しいのはどれか。

- A. 金より白金の方がコーティング膜の粒状性が悪い
 B. 像がざらついて見えたので像質改善のために照射電流を少なくした
 C. 凹凸の激しい試料を低倍率で観察する時、作動距離（working distance）を長くした
 D. 低倍率観察中に試料にチャージアップが生じたので金属の再コーティングをした
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問36. 電子について正しいのはどれか。

- A. 負の電荷を持つ
 B. 電界では運動方向を変えることはできない
 C. 磁界によって運動方向を変えることができる
 D. 陽子よりも大きな質量を持つ
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問37. タングステンヘアピン型フィラメントを用いる電子銃について正しいのはどれか。
 A. 輝度は加速電圧を高くするほど高くなる
 B. 電子線の波長は加速電圧を高くするほど長くなる
 C. 加熱して電子を放出させる
 D. 放出電流はフィラメント電流に比例して増加する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問38. 対物レンズの非点収差の発生原因として正しいのはどれか。
 A. レンズ電流の変動
 B. レンズ磁界の変動
 C. 絞りの汚れ
 D. 試料の帯電
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問39. 対物レンズの収差について正しいのはどれか。
 A. 球面収差は電子顕微鏡の分解能に大きく影響する
 B. 球面収差は絞りの孔径を小さくするほど大きくなる
 C. 絞りの汚れは色収差の原因となる
 D. 加速電圧の変動は色収差の原因となる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問40. 透過電子顕微鏡の一般的な使い方として正しいのはどれか。
 A. フレネル縞を消すために投射レンズを調整した
 B. 回折パターンを焦点合せのために中間レンズを調整した
 C. イメージワプラーを利用した焦点合せのために対物レンズを調整した
 D. ビームが楕円状になったので対物レンズの非点収差補正装置を調整した
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問41. 透過電顕像のコントラストについて正しいのはどれか。
 A. 散乱吸収コントラストは試料の厚さの違いなどにより生じる
 B. 位相コントラストはレンズの球面収差には影響されない
 C. 電子染色法では主に位相コントラストが高くなる効果を目的としている
 D. フレネル縞は位相コントラストにより出現する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問42. 走査電顕像のコントラストについて正しいのはどれか。
 A. 加速電圧が高くなるほど二次電子像のコントラストが高まる
 B. 二次電子像にも試料の組成の違いによるコントラストが含まれる
 C. 平坦な試料の方がコントラストが高まる
 D. 試料を傾斜させるとコントラストが高まる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問43. 透過電顕観察中の試料の電子線損傷を少なくするために有効な方法はどれか。
 A. 加速電圧を低くする
 B. 電子線を収束して明るくする
 C. 試料を冷却する

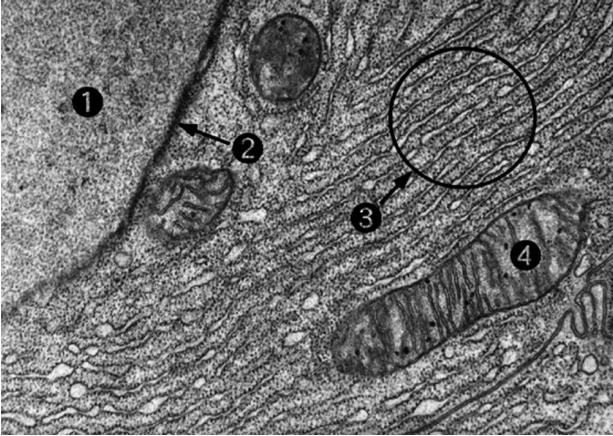
- D. 孔径の小さな集束絞りをを用いる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問44. シェドウイングとレプリカの金属蒸着膜について正しいのはどれか。
 A. 薄い方が像コントラストは高い
 B. 粒状が微細なほど良い
 C. 一般に蒸着材料としては金を用いられる
 D. 薄い方が試料の表面構造を忠実に再現する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問45. 支持膜について正しいのはどれか。
 A. カーボン支持膜の方がコロジオン支持膜よりも試料ドリフトが少ない
 B. 膜厚が薄いほど像質は良い
 C. 膜厚が厚いほど電子散乱は少ない
 D. 支持膜の欠陥は試料ドリフトに影響しない
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問46. 写真処理について正しいのはどれか。
 A. 現像液はフィルムも印画紙も同じものを使用する
 B. 現像液はそのまま流しに捨てても良い
 C. 停止液の主成分は水酢酸である
 D. 現像液は通常20°C前後で使用する
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問47. 写真特性曲線について正しいのはどれか。
 A. コントラストを比較することができる
 B. 粒状性を比較することができる
 C. 解像度を比較することができる
 D. 感度を比較することができる
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問48. エネルギー分散型X線分析装置(EDS)について正しいのはどれか。
 A. 数nA以上のプローブ電流(試料照射電流)を必要とする
 B. 同時に多元素の分析が可能である
 C. 検出器の冷却が必要である
 D. エネルギー分解能が高い
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問49. 走査電子顕微鏡における加速電圧の選択で正しいのはどれか。
 A. チャージアップ現象を軽減するために加速電圧を低くした
 B. 試料の表面情報を得るために加速電圧を1kVから20kVに変更した
 C. エネルギー分散型X線分析装置を用いて試料の定量分析をおこなうために加速電圧を1kVに設定した
 D. 白金コーティングを施した試料で高分解能像を得るために加速電圧を高めた
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD
- 問50. 正しいのはどれか。
 A. 共焦点レーザー顕微鏡では光学的断層像を得ることができる
 B. 原子間力顕微鏡は絶縁体の観察が可能である
 C. 光学顕微鏡の分解能は光源の波長に依存しない
 D. 走査トンネル顕微鏡は横分解能よりも縦(高さ)分解能の方が低い
 1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

2003 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題 特殊技術 I (生物)

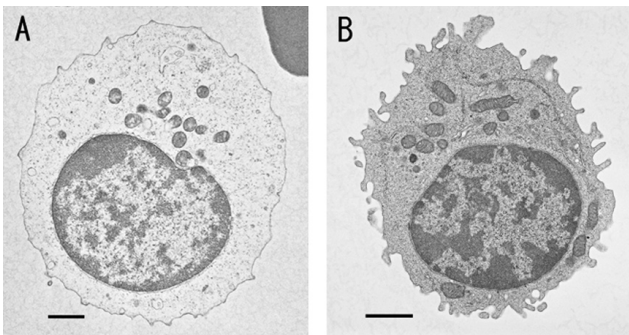
12 題の問題のうち問 1～問 6 は必須問題、問 7～問 12 は選択問題である。問 1～問 6 はすべて解答し、問 7～問 12 はその中から 4 問を選んで解答しなさい。なお、選択しなかった問の解答欄には大きく×印を記入しなさい。

必須問題

- 問 1. LR White の重合を阻害する原因を 2 つあげ、その対策を述べなさい。
 問 2. 写真は超薄切した膵臓・外分泌細胞の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい。



- 1) 写真の①～④の名称を記しなさい。
 2) 一般的な染色法である酢酸ウラニルと鉛の二重染色を施した超薄切片の細胞を透過電子顕微鏡で観察した時、写真の①内に通常みられる構造名を 2 つ記しなさい。
 3) 写真の③、④の働きを簡潔に記しなさい。
 問 3. 写真は健康人の末梢血から得られたリンパ球の透過電顕像 (スケールは 1 μ m) である。次の各設問に答えなさい。



選択問題 (動物)

- 問 7. 小動物の組織を走査電子顕微鏡で観察する際の一般的な試料作製法に関して関連した語句を語群から選び、その番号を順番に並べなさい。また、最もよく用いられている乾燥法を 2 つあげなさい。

【語群】

- | | |
|------------|---------------|
| 1 金属コーティング | 2 血管からの固定液の灌流 |
| 3 浸漬固定 | 4 樹脂包埋 |
| 5 アルコール脱水 | 6 エッチング |
| 7 乾燥 | 8 載台 |
| 9 動物の麻酔 | 10 導電染色 |

- 1) 写真 A は 0.1M 磷酸緩衝 4%パラホルムアルデヒド (PFA) 溶液で、写真 B は同緩衝 2.5%グルタルアルデヒド (GA) 溶液でそれぞれ前固定 (4 $^{\circ}$ C, 30 分間)、同緩衝 1%四酸化オスミウム溶液 (4 $^{\circ}$ C, 30 分間) で後固定した試料 (その他の手順は写真 A と B で同一) の電顕写真である。採血後、エポキシ樹脂に包埋するまでの試料作製法について各手順を「」で囲み、矢印をつけて述べなさい。なお、前固定と後固定はそれぞれ「前固定」「後固定」と表記しなさい。

- 2) 写真 A と写真 B を参考にして、両固定液 (PFA 溶液と GA 溶液) の長所と短所をそれぞれ簡条書きで述べなさい。

- 問 4. 次の文章は急速凍結法について書かれたものである。() に適切な言葉を下記の語句より選び記号で答えなさい。

水を凍結すると (1) ができるが、その水の凍結速度を上昇させることにより、(1) を小さく、最終的には (2) の (1) ができる。どの程度の凍結速度があれば (2) になるかという、約 (3) k/s の速度が必要であるが、金属以外の物質では熱伝導率が悪く、特に (4) は極めて悪い。このような凍結速度を得るためには金属圧着法が有効であるが、たとえこの方法を用いたとしても生物試料の凍結良好な部分の厚さは、金属接着面から約 (5) μ m 以下である。

【語句】

- | | | | | |
|------|------|-------------------|--------|-------------------|
| A 10 | B 液体 | C 100 | D ガラス状 | E 体積 |
| F 気体 | G 氷晶 | H 10 ³ | J 固体 | K 10 ⁵ |

- 問 5. ラットの腎糸球体を透過電子顕微鏡で観察・写真撮影したい。あなたが日常電子顕微鏡試料作製を行っていることを頭に浮かべながら、固定から写真撮影までの一連の操作を簡単に書き、さらに超薄切片作製手順についてはできるだけ詳しく簡条書きで書きなさい。

- 問 6. 走査電顕観察では試料の形状や倍率、観察目的などにより加速電圧や作動距離 (Working distance) を変え、より良い像が得られるように調整する。この目的で、対物レンズの絞り孔径を大きな孔径から一番小さな孔径に変えて観察した。下記の項目に関してどのような変化が生じたかを簡単に解答しなさい。

- 1) レンズ球面収差
- 2) 電子線開き角
- 3) 照射電流
- 4) 像質 (ざらつき)
- 5) 分解能

- 問 8. ある動物組織細胞の分泌顆粒に局在すると考えられる抗原を電顕で解析したい。方法として径 15nm のコロイド金標識プロテイン A を用いた。下記の語群から適当な語を選んで具体的な手順を記しなさい。

【語群】

固定組織の切片作製、プロテイン A、DAB 反応、コロイド金標識ストレプトアビジン、ブロッキング、ペルオキシダーゼ標識二次抗体、コロイド金標識二次抗体、一次抗体、アルデヒド固定、四酸化オスミウム固定、樹脂包埋、コロイド金標識プロテイン A、超薄切片作製、エッチング

選択問題（植物）

問9. ソラマメ根端伸長部位の細胞を透過電子顕微鏡で観察したい。次の各設問に答えなさい。

- 1) ソラマメの根を図示し、どの部位をどのように切り出せばよいか。図を用いて説明しなさい。
- 2) 表層微小管を観察するためには、切り出した組織をどのように固定すればよいか。固定液の種類、温度、時間について説明しなさい。
- 3) 超薄切片を観察すると微小管はどのような形に見えるか。図示しなさい。
- 4) 表層微小管と細胞壁中のセルロース微繊維の配向を調べたい。どのような切片を作製すれば観察できるかを説明しなさい。

選択問題（微生物）

問11. あるウイルスを感染させた細胞（6cm シャーレに培養）が2種類ある。Vero細胞（単層細胞）に感染させたものと、末梢血由来単核球（PBMC）に感染させたものである。このウイルスの形態を超薄切片法で観察するために固定したい。一般的な操作手順をそれぞれの感染細胞について答えなさい。

問10. 植物細胞の固定法は基本的には動物細胞の固定法と同じであるが、植物の組織片は種々の理由で固定液中に沈みにくく、浸漬固定が困難な場合が多い。次の2つの材料

- A. 植物の葉肉組織
 - B. 小型（直径30 μm 以下）の成熟花粉
- の微細構造を透過電子顕微鏡で観察したい。次の各設問に答えなさい。

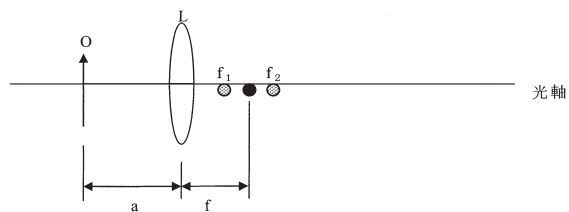
- 1) これらの試料の固定が困難な理由を、それぞれ2つ記しなさい。
- 2) これらの試料について効果的に化学固定をする方法と手順を具体的に述べなさい。

2003年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題特殊技術Ⅱ（鏡体・共通技術）

13題の問題のうち、問1～問7は全問解答し、問8～問13はその中から3問を選んで解答しなさい。なお、選択しなかった問の解答欄には大きく×印を記入しなさい。

必須問題

問1. 下図のように焦点距離 f の電子レンズLと物体（矢印）Oを距離 a だけ隔てて配置した。以下の各設問に答えなさい。ただし、電子レンズは収差の無い完全レンズとする。



- 1) 像面位置（I）を記入しなさい。さらにこれを求めるために必要な光路を図中に実線で記入しなさい。
- 2) 電子レンズの焦点をわずかにアンダーフォーカスにしたときの焦点位置は、 f_1 あるいは f_2 のいずれになるか。
- 3) 像面（I）が固定されているとき、2)の状態では像面に投影される物面位置（O'）を記入しなさい。さらにこれを求めるために必要な光路を図中に点線で記入しなさい。ただし、実線と重なる部分があればその部分は実線のままでよい。
- 4) $a=5\text{mm}$ 、 $f=4\text{mm}$ でアンダーフォーカス量0.5mmであったとする。3)で求めた物面位置（O'）からレンズ（L）中心までの距離はいくらか。小数点第1位まで求めなさい。

問2. 透過電子顕微鏡の対物レンズの非点収差に関する以下の項目について述べなさい。

- 1) 原因
- 2) 像に及ぼす影響
- 3) 検出方法
- 4) 対策

問3. 透過電顕像の観察において、対物絞りの径を小さくしたり、加速電圧を低くすることにより、像のコントラストを高めることが可能である。その理由を述べた次の文章の[]にあてはまる適切な語句を下記の選択肢から選び、その番号を解答欄に記しなさい。

電子線が観察試料を透過する際、その一部は試料の[A]、[B]、結晶性等に依存して、電子線の[C]方向とは異なる方向へ散乱される。この散乱電子の量はこれらの試料条件に依存している。加速電圧を低くするほど、電子線の[D]は長くなるので、散乱電子の量は[E]する。これらの散乱電子をより小さい対物絞りで遮ることにより、像のコントラストを高めることが可能となる。

【選択肢】

1. 強度
2. 太さ
3. 波長
4. 密度
5. 厚さ
6. 振幅
7. 散乱
8. 増加
9. 減少
10. 入射

問4. 単結晶試料、多結晶試料および非晶質試料の電子回折パターンの特徴をそれぞれ述べなさい。

問5. 油拡散ポンプ（DP）の排気能力の低下はDPオイルがどのような状態にあるときに生じるか、2つ述べなさい。

問6. 支持膜の特性には試料ドリフトが小さいことと、膜厚が薄いことが要求される。その理由を説明しなさい。

問7. 走査電子顕微鏡で得られる二次電子像の特徴を2つあげ、その特徴が生じる理由を示しなさい。

選択問題

問8. 次の文章は透過電顕像のコントラストについての記述である。それぞれのコントラストの名称と具体例を記しなさい。

- 1) 試料をまっすぐに通過した電子波と試料で曲げられた電子波が、対物絞りを通過した後に干渉することにより生じるコントラスト。
- 2) 結晶性試料に電子線が入射すると、入射方向と異なる特定の方向に強く曲げられる電子がある。この電子が対物絞りで止められることにより生じるコントラスト。
- 3) 試料に電子線が入射すると、入射方向と異なる方向に試料の mass thickness (質量厚さ、または重量厚さという) に比例して曲げられる電子がある。この電子が対物絞りで止められることにより生じるコントラスト。

問9. 以下は透過電子顕微鏡で電子回折パターンを観察・記録するための一般的な操作手順について述べたものである。[A]～[G]に適切な語句を下記の選択肢の中から選び、その番号を解答欄に記しなさい。ただし、同じ番号を何度用いてもよい。[ア]～[ウ]は空欄を適切な語句で埋めなさい。同じ語句を何度使ってもよい。

1. 制限視野モードで試料の拡大像を観察する。
2. 回折パターンを得たいと思う部位に [A] 絞りを挿入し、[B] レンズを調整してこの絞りのフォーカスを合わせる。
3. [C] レンズを最大励磁にして、電子ビームを平行照射する。
4. [D] 絞りを光軸から外した後、制限視野回折モードに切り替える。
5. [E] レンズを調整して回折スポットのフォーカスを合わせる。
6. 回折パターンの大きさを [F] 長を調節して希望するサイズに調整する。
7. 必要に応じて試料の [ア] や [イ] を調整し、再度回折スポットのフォーカス合わせをおこなう。
8. ダイレクトビームをさえぎるように [G] を挿入する。
9. マニュアルモードで [ウ] 時間を設定して、写真撮影をおこなう。
10. [ウ] 時間が終了する数秒前に挿入されている [G] を外す。

【選択肢】

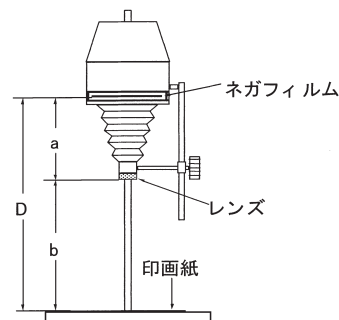
1. 集束
2. 対物
3. 投射
4. 中間
5. 制限視野絞り
6. カメラ
7. 蛍光板
8. フィルム
9. ビームストップ

問10. 塊状の固体有機試料の内部構造を走査電子顕微鏡で観察する場合の試料作製方法を2つ簡潔に記しなさい。

問11. 透過電子顕微鏡による微粒子の試料作製法の一つに分散法がある。この方法で注意すべきことを2つ簡潔に述べなさい。

問12. 焦点距離 f が 50mm, 80mm または 135mm の引き伸ばしレンズを用いてネガの引き伸ばしをおこないたい。図に示すようにネガフィルムから印画紙までの距離を D 、ネガフィルムからレンズまでの距離を a 、レンズから印画紙までの距離を b とする。このとき以下の各設問に答えなさい。ただし、レンズの公式 $1/a+1/b=1/f$ が成り立つものとする。

- 1) D を一定としたとき、最も引き伸ばし倍率が大きくなるのはどのレンズを



使用した場合か。

- 2) D を一定にしておきレンズを交換して焦点あわせをおこなったとき、 b が最も短くなるのはどのレンズを使用した場合か。
- 3) 透過電子顕微鏡で撮影したネガフィルム (11.0cm×7.5cm) 全体の視野を引き伸ばすためにはどのレンズを使用すればよいか。
- 4) 80mm のレンズを用いて2倍に引き伸ばしたい。 D をどのように設定すればよいか。また、このときの a と b の値を求めなさい。

問13. 走査電子顕微鏡の高分解能を達成する過程で克服された技術的課題を2つあげ、その内容を簡単に述べなさい。