

## 2004 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡二級技士技術認定試験問題

問1. 二重の膜で囲まれている細胞構造の組み合わせはどれか。

1. 小胞体・ミトコンドリア・ゴルジ装置
2. ミトコンドリア・核・ペルオキシソーム
3. 核・ライソソーム・葉緑体
4. ミトコンドリア・葉緑体・核
5. ライソソーム・ペルオキシソーム・ゴルジ装置

問2. 細胞膜について正しいのはどれか。

- A. 糖とタンパク質で形成されている
  - B. 厚さは約1nmである
  - C. 電子密度の違いから明暗の3層構造として観察される
  - D. リン脂質の疎水基で構成される層は電子密度が低い
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

問3. 高等植物の細胞構造について正しいのはどれか。

- A. 液胞膜は二重である
  - B. 二次細胞壁の成分にはリグニンがある
  - C. デンプン粒は膜構造に包まれている
  - D. 葉緑体にはDNAが含まれていない
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4. 細胞小器官について正しいのはどれか。

- A. 粗面小胞体にはリボソームが付着している
  - B. ゴルジ装置は層板, 小胞, 空胞からなる
  - C. ミトコンドリアのクリステは内膜と外膜の折れ込みによって形成される
  - D. ペルオキシソームには酸性フォスファターゼが含まれる
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5. 固定剤で正しいのはどれか。

- A. パラホルムアルデヒドの組織浸透性は四酸化オスミウムより良い
  - B. 四酸化オスミウムは還元剤である
  - C. グルタルアルデヒドは2個のアルデヒド基をもつ
  - D. 過マンガン酸カリウムはタンパク質を良く固定する
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6. 四酸化オスミウムについて正しいのはどれか。

- A. 常温では淡黄またはほとんど無色の針状結晶である
  - B. 蒸気は刺激臭をもつが無毒である
  - 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7. 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. 分子量は約200である
  - 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8. 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. pH6.8と300mOsm
2. pH7.4と800mOsm
3. pH9.6と200mOsm
4. pH6.8と200mOsm
5. pH7.4と300mOsm

問9. O-D-O法で用いられているのはどれか。

- A. グルタルアルデヒド
- B. パラホルムアルデヒド

C. 四酸化オスミウム

D. ジメチルスルホキシド

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. エポキシ樹脂包埋について正しいのはどれか。

- A. 加速剤DMP-30を加えすぎると重合した樹脂はもろくなる
- B. 硬化剤DDSAに対してMNAの混合比率が高くなると重合した樹脂は柔らかくなる
- C. 重合に伴う体積減少はメタクリル樹脂より大きい
- D. 硬化剤DDSAと混合した樹脂は4°Cで保存しても重合が進行する

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11. 免疫染色性が良い包埋樹脂はどれか。

- A. エポン812 (Epon 812)
- B. LRホワイト (LR White)
- C. スチレン樹脂 (Styrene 樹脂)
- D. ロイクリルK4M (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12. 脱水について正しいのはどれか。

- A. 脱水中に最も溶出しやすいのは脂質である
  - B. 室温より低温で行う方が細胞成分は溶出しにくい
  - C. 酸化プロピレンを用いる
  - D. 分子量が大き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13. 樹脂切片は干渉色によっておよその厚さを知ることができる。薄い方から順に並んでいるのはどれか。

1. 金銀灰紫黄青緑
2. 銀灰黄金青緑紫
3. 銀金黄青灰緑紫
4. 灰銀金緑青紫黄
5. 灰銀金紫青緑黄

問14. 超薄切片にチャッターが起こる原因はどれか。

- A. ナイフの逃げ角が小さい
  - B. 薄切面が大きい
  - C. ナイフの刃角が小さい
  - 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15. 超薄切片が連続してリボン状に切れない原因はどれか。

- A. 薄切にガラスナイフを用いた
  - B. ナイフエッジが部分的に鈍い
  - C. 試料の切削面の上下端がナイフエッジに対して平行でない
  - D. 試料を水溶性樹脂に包埋した
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16. ダイヤモンドナイフについて適切なのはどれか。

- A. 刃角は通常6°である
  - B. ガラスナイフで試料面を平滑にしてから用いる
  - C. エタノール液につけて洗浄する
  - D. 使用後はデシケーターに保管する
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. 鉛の染色液は二酸化炭素に触れると沈殿を生じる
- 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. 二重染色は酢酸ウラニル, 鉛の順に行う
- D. 酢酸ウラニルはアルコールには溶解しない

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18. 酢酸ウラニルと鉛染色について正しいのはどれか。

- A. 酢酸ウラニル染色液にリン酸緩衝液を混ぜると沈殿を生じる  
B. どちらの染色液も汚染防止のために作製後一日静置してから用いる方がよい  
C. 染色液は通常中性にして用いる  
D. 鉛染色液は紫外線により変質しやすいので暗所で染色する

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19. エポキシ樹脂包埋切片を光顕用にトルイジンブルー染色する場合正しいのはどれか。

- A. 切片の厚さは0.1 $\mu\text{m}$ 以下が適している  
B. 切片をスライドガラスに圧着する  
C. スライドガラス上の切片に染色液を滴下して温める  
D. 蒸留水が切片に直接かからないように染色液を洗い流す

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20. 超薄切片の試料観察時に生じたドリフトの対策で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を下げる  
B. コンデンサー絞りを大きくする  
C. 弱い電子線をしばらく照射する  
D. 試料に薄くカーボンを蒸着する

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21. 正しいのはどれか。

- A. 対物絞りの位置を光軸上に合わせれば非点収差補正は必要ない  
B. 対物絞りが大きいほどコントラストが高くなる  
C. 正焦点ではコントラストは最小になる  
D. わずかに不足焦点で写真撮影する

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22. 写真処理について正しいのはどれか。

- A. 現像液の温度を高くすると粒状性は良くなる  
B. 感光しなかった銀は停止液中に溶出する  
C. 定着液は酸性である  
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. 写真処理について正しいのはどれか。

- A. 写真処理は、現像、停止、定着、水洗、乾燥の順で行う  
B. フィルムの感光膜が透明になった時点で定着は完了している  
C. 現像液は通常20 $^{\circ}\text{C}$ で使用する  
D. 現像中は印画紙を静置しておく

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24. 電顕組織化学で糖の検出に用いられる方法はどれか。

- A. テトラニトロプロブルーテトラゾリウム (TNBT) 法  
B. レクチン法  
C. ルテニウムレッド法  
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25. 酵素活性の局在について正しいのはどれか。

- A. 5'ヌクレオチダーゼは形質膜に検出される  
B. グルコース-6-リン酸はライソソームに検出される  
C. チアミンピロホスファターゼはゴルジ装置に検出される  
D.  $\text{Na}^{+} \cdot \text{K}^{+}$ -ATPaseはミトコンドリアに検出される

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26. 超薄切片をニッケルグリッドに載せた後、抗原Xの細胞内局在を検出したい。手順として正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒド固定  
B. 電子染色  
C. ウシ血清アルブミン処理  
D. コロイド金標識抗ウサギIgG反応

E. ウサギ抗X抗体反応

1. CEDAB 2. CAEBD 3. DEACB  
4. ACEDB 5. BDEAC

問27. 凍結超薄切片法を用いた免疫電顕法について正しいのはどれか。

- A. ショ糖液に浸漬した後に試料を凍結させる  
B. 包埋後染色法に比べて検出感度が高い  
C. 切片の表裏を別々に染色することで二重標識を行うことができる  
D. 凍結超薄切片の作製は約-30 $^{\circ}\text{C}$ で行う

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. 免疫電顕法の包埋後染色法を行ったところ非特異的反応が強かった。正しい対策はどれか。

- A. 抗体を希釈する  
B. 反応時間を長くする  
C. 切片の厚さを厚くする  
D. 切片の洗浄時間を長くする

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29. 凍結技法で正しいのはどれか。

- A. 含水量が多い試料では氷晶形成は起こりにくい  
B. ゆっくり段階的に凍結することにより、氷晶形成を防ぐことができる  
C. 氷晶の大きさは凍結速度に依存する  
D. 凍結試料は液体窒素中に保存する

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30. フリーズ・フラクチャー法について正しいのはどれか。

- A. 膜内粒子は膜のE面よりP面に多く観察される  
B. 組織の溶解には中性洗剤が用いられる  
C. 蒸着物質として通常白金とカーボンが用いられる  
D. 蒸着時の試料温度は約-80 $^{\circ}\text{C}$ で行うと良い結果が得られる

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31. 電顕オートラジオグラフィーで正しいのはどれか。

- A. 露出は通常20 $^{\circ}\text{C}$ で行う  
B. 核種としてはトリチウム ( $^3\text{H}$ ) がよく用いられる  
C. 乳剤と超薄切片は直接密着させる  
D. エネルギーの高い $\beta$ 線は分解能が悪い

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32. 走査電顕試料の金属コーティングの目的について正しいのはどれか。

- A. 試料の組成の違いを際立たせる  
B. 二次電子の発生量を増やす  
C. 試料の内部構造を観察する  
D. 試料表面に導電性を与える

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33. 臨界点乾燥について正しいのはどれか。

- A. 乾燥処理には液化二酸化炭素が用いられる  
B. 置換剤として酢酸イソアミルが用いられる  
C. 試料の収縮は起こらない  
D. 試料の乾燥は凍結して行う

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. 走査電顕観察で高分解能を得るための適切な操作はどれか。

- A. 作動距離を長くする  
B. 対物絞り径を小さくする  
C. 対物レンズ電流を増やす  
D. 金属コーティングを厚くする

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. 走査電顕観察で加速電圧を上げたときの効果として正しいのはどれか。

- A. エッジ効果が減少する  
B. 試料のダメージが増加する  
C. チャージアップが減少する  
D. 試料内部の情報が増加する

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36. 電子について正しいのはどれか。

- A. 重い原子に衝突したときの方が散乱角度が大きい  
B. 加速電圧が高いほど波長は長くなる  
C. 速度は加速電圧に比例する  
D. 負の電荷をおびている

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37. 電子レンズについて正しいのはどれか。

- A. 励磁電流の極性を変えれば凸レンズにも凹レンズにもなる  
B. 構造の基本要素はコイル・ヨーク・ポールピースである  
C. 焦点距離を変えることができる  
D. 動作の安定化のために加熱する

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. 懸濁法について正しいのはどれか。

- A. 支持膜面の親水化処理は必要ない  
B. 懸濁液が濃いと粒子の重なりが多くなる  
C. 懸濁液に親水性媒体を微量加えると分散がよくなる  
D. 分散には水以外使用できない

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39. 透過電顕観察における試料ドリフトを少なくする方法はどれか。

- A. 厚いプラスチック支持膜を用いる  
B. カーボン補強をする  
C. グリッドに粘着処理をする  
D. メッシュ数の少ないグリッドを用いる

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40. 対物レンズの収差について正しいのはどれか。

- A. 球面収差は絞りを小さくするほど小さくなる  
B. 回折収差はレンズを改良すれば取り除ける  
C. 加速電圧が変動すると球面収差が生じる  
D. 励磁電流が変動すると色収差が生じる

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41. 走査電顕像のコントラストを高める操作で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を低くする  
B. ブライツ調整ツマミを最大にする  
C. 試料を傾斜させる  
D. 作動距離を短くする

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. 透過電顕像のコントラストを高める操作で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を低くする  
B. 電子線を集束させて明るくする  
C. カーボンコーティングをする  
D. 対物絞りを小さくする

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43. 透過電子顕微鏡の操作で正しいのはどれか。

- A. イメージワブラー使用時の像のブレをなくするため対物レンズ電流を調整した  
B. ステレオ観察像を得るために試料を傾斜させた

C. 電子線が楕円状になったので対物レンズの非点補正を行った

D. 暗視野像を得るために制限視野絞りの位置を調整した

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44. 推奨されている油回転ポンプのオイル交換時期はどれか。

1. 3ヶ月ごと  
2. 半年ごと  
3. 1年ごと  
4. 1年半ごと  
5. 油が変色したとき

問45. 透過電顕観察中の電子線損傷を少なくするための方法はどれか。

- A. 孔径の大きな対物絞りをを用いる  
B. 加速電圧を低くする  
C. 試料を冷却する  
D. 照射電流密度を小さくする

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46. 写真引き伸ばしについて正しいのはどれか。

- A. 引き伸ばし倍率を大きくするために焦点距離の長いレンズに取り替えた  
B. 引き伸ばし倍率を大きくするためにレンズと印画紙の距離を長くした  
C. ネガの視野全体を引き伸ばすために焦点距離の長いレンズを用いた  
D. レンズ絞りを5.6から8に変えると光量が増す

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47. 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. 波長分散型X線分析装置(WDS)よりも検出限界が高い  
B. 同時に多元素の分析が可能である  
C. WDSよりもエネルギー分解能が高い  
D. 検出器の冷却が必要である

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48. 低真空走査電顕について正しいのはどれか。

- A. 帯電(チャージアップ)を軽減できる  
B. エネルギー分散型X線分析装置(EDS)による元素分析はできない  
C. 試料室の圧力は10Pa以下である  
D. 二次電子像を観察できる

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49. 正しいのはどれか。

- A. 透過電子顕微鏡の分解能は光学顕微鏡に比べておよそ一万倍良い  
B. 走査トンネル顕微鏡は絶縁物を観察できない  
C. 共焦点レーザー顕微鏡は試料を透過したレーザー光を結像に利用する  
D. 原子間力顕微鏡の検出系には光てこ(カンチレバー)が利用される

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50. 走査電顕観察において正しいのはどれか。

- A. 凹凸の大きな試料を観察する目的で作動距離(ワーキングディスタンス)を短くする  
B. 高分解能像を得るためにノイズが目立たない範囲で小さな対物絞りを選ぶ  
C. エネルギー分散型X線分析装置(EDS)で定性分析を行うために作動距離を短くする  
D. 高分解能像を得るために作動距離を短くする

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

## 2004 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題一級技士 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. 動物組織の固定法について、次の ( ) の中に最も適する用語を語群より選び記号で答えなさい。

アルデヒドによる前固定において、アルデヒド基を 2 つ持つ ( 1 ) は各種の分子と ( 2 ) するため ( 3 ) をよく固定するが、組織浸透性はより低分子量である ( 4 ) には劣っている。アルデヒド基を 1 つ持つ ( 4 ) は ( 1 ) よりも ( 5 ) や ( 6 ) はよく保持するが、微細構造の保持は悪い。

後固定に使われる ( 7 ) は強い ( 8 ) 剤であり、( 9 ) ととも反応するので細胞の膜構造をよく固定するが、組織浸透性はあまりよくない。( 7 ) には固定効果に加えて、( 10 ) を高める効果がある。

【語群】

A. 酸化 B. 還元 C. グルタルアルデヒド D. パラホルムアルデヒド  
E. タンパク質 F. リン脂質 G. 糖質 H. 酵素活性 J. 四酸化オスミウム  
K. 架橋結合 L. タンニン酸 M. コントラスト N. 抗原性 O. 解像度

問 2. 次の ( ) の中に最も適する用語を語群より選び記号で答えなさい。

包埋剤の試料への浸透をよくする方法には化学的な方法と物理的な方法がある。化学的な方法は ( 1 ) を用いることである。物理的な方法は ( 2 ) が高くなるに従って、液体の ( 3 ) が低くなることを利用して行うことと、試料と新しい溶液との接触をよくするために振とうすることである。( 1 ) は特に ( 4 ) およびポリエステル樹脂のように ( 3 ) の高い樹脂を用いる場合には必要である。( 1 ) は ( 5 ) と包埋剤のいずれにもよく溶解し、かつ ( 3 ) の低いことが重要なことである。

【語群】

A. 温度 B. 固定剤 C. 収縮性 D. 接触性 E. 置換剤 F. 粘度  
G. 脱水剤 H. エポキシ樹脂 J. 接着性 K. アクリル樹脂

問 3. 心筋の超薄切片を作製して電顕で観察してみると、右図のような切片の切削方向と直角に一定間隔の厚さむら (チャタ) がみられた。この厚さむらの原因とそれに対する対策をできるだけ多く書きなさい。

問 4. 次の ( ) の中に最も適する用語を語群より選び記号で答えなさい。

急速凍結技法には、組織細胞試料を冷媒に直接浸漬する方法 (浸漬法) と金属圧着法がある。浸漬法に用いられる最適な冷媒は ( 1 ) と ( 2 )

間の温度差が大きく、かつ ( 1 ) ができるだけ低いものが良く、液体 ( 3 ) がよく使用される。一方、金属圧着法では液体 ( 4 ) と液体 ( 5 ) が純銅冷却のためによく使用される。特に液体 ( 4 ) は冷却効果が一番強い。

【語群】

A. ヘリウム B. グリセロール C. 窒素 D. イソペンタン E. 沸点  
F. 酸素 G. プロパン H. 二酸化炭素 J. 臨界点 K. 融点

問 5. 小動物の腎臓を走査電子顕微鏡で観察したい。一般的な試料作製法の手順を語群から選び、順番に並べなさい。また、腎臓の糸球体をきれいに割ってその内腔を観察するには、どのような試料作製法が考えられるか、簡単に説明しなさい。

【語群】

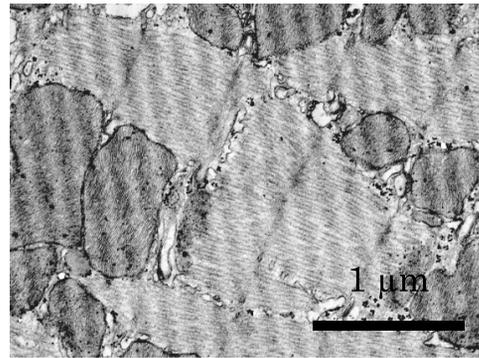
金属コーティング、血管からの固定液の灌流、動物の麻酔、アルコール脱水、エッチング、樹脂包埋、導電染色、載台、臨界点乾燥、超薄切、電子染色

問 6. 線維芽細胞を径 10cm のプラスチックシャーレに培養してある。この細胞内のある蛋白質 X についてマウス抗 X モノクロナル抗体を用いて包埋後染色法 (post-embedding 法) により電顕的に局在を観察したい。

A. 細胞の固定からブロックの作製まで

B. 薄切から電顕観察まで

の 2 つに分けて具体的手順を記しなさい。



### 選択問題 (動物)

問 7. 次の文章は、細胞膜(形質膜)の先端側にある細胞機能の変化に伴い、種々に分化した構造について述べたものである。( ) の中に最も適する用語を語群より選び記号で答えなさい。

( 1 ) は、気管上皮細胞や卵管上皮細胞などの細胞表面から ( 4 ) 突出しているのがみられる。( 2 ) は、精子や細菌においてみられ、細胞表面から ( 5 ) 突出している。これら ( 1 ) や ( 2 ) は、細胞表面において認められる毛のように外方に伸びだした細胞質の突起で、運動性を ( 3 )。一方、( 6 ) は、小腸粘膜上皮細胞や甲状腺濾胞上皮細胞など多くの上皮細胞の自由表面にみられる細長い細胞質の突起で、運動性を ( 7 )。電顕観察では、( 1 ) や ( 2 ) の内部には、主な細胞骨格成分である ( 8 ) が特徴的な円筒状の配列をつくって並び、軸糸と呼ば

れる芯を形成しているのが確認できる。軸糸は、中心を縦走する 1 対の単 ( 8 ) とその周辺に環状に並んだ 9 本の双 ( 8 ) {9+2 構造} からなる。これら 9 本の ( 8 ) ダブレットは、隣同士が ATPase 活性を有する ( 9 ) により内・外側の 2 列の腕様構造で架橋されることにより連結、維持されている。一方、( 6 ) 内部には、約 25～35 本の ( 10 ) が束をなして縦走し、突起の先端部では細胞膜に付着して終わり、下方では細胞頂部の端網層内を交錯する細胞骨格に固定されている。

【語群】

A. ダイニン B. 微絨毛 C. 1～2 本 D. 鞭毛 E. 3～4 本 F. アクチンフィラメント  
G. 複数本 H. 接着斑 J. 微小体 K. 微小管 L. 糸粒体 M. 持っていない N. ミトコンドリア O. 線毛 P. ミオシ

ン Q. 持っている R. ゴルジ装置 S. リボソーム

問8. 走査電子顕微鏡の試料作製手順を示す文章である。( )の中に最も適する用語を語群より選び記号で答えなさい。

組織内の弾性繊維(エラスチン)を観察する目的で、切り出した組織を(1)で(2)固定した。その後、組織を(3)に入れて(4)で数日処理をした。この方法によりコラーゲン線維や細胞成分を完全に除去することができた。(3)の処理後に行う組織の洗浄に中性あるいはアルカ

リ性の溶液を用いると試料が著しく(5)するので注意が必要である。

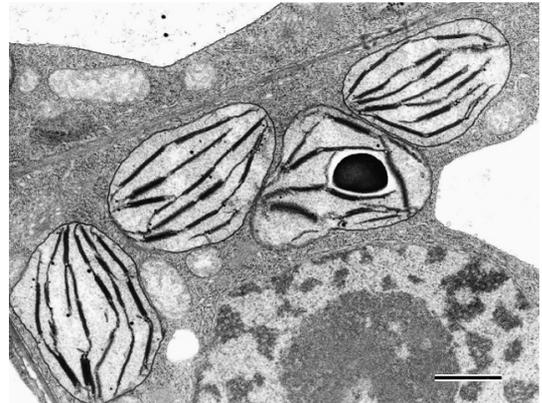
【語群】

- A. パラホルムアルデヒド B. グルタルアルデヒド C. 四酸化オスミウム
- D. 1日 E. 1週間 F. 1ヶ月 G. ギ酸溶液 H. 塩酸溶液 J. 水酸化ナトリウム溶液
- K. 25° C L. 45° C M. 60° C N. 収縮 O. 膨化 P. 消化

## 選択問題 (植物)

問9. 右図の写真はエンドウの若い葉肉細胞の一部である。次の間に答えなさい。(スケールは1μm)

- 1) 核(N),核小体(Nu),葉緑体(C),デンプン粒(S),ミトコンドリア(M),細胞壁(CW),液胞(V)はどこにあるか、それぞれの構造を( )内の略号を用いて図中に書き込みなさい。
  - 2) 植物細胞に特徴的な構造はどれか、名称とそれぞれの働きを簡潔に記しなさい。
- 問10. 植物細胞が有する細胞壁は、組織または細胞の固定・包埋操作を困難にしている。固定・包埋において、どのような工夫が試みられているか、それぞれについて簡潔に記しなさい。



## 選択問題 (微生物)

問11. ある地域で食中毒が発生したので、その原因微生物を迅速に特定したい。電子顕微鏡を用いて原因微生物を特定する場合、

- 1) どのような方法が考えられるか。
- 2) その方法の一般的な手技について述べなさい。

問12. 真菌(カンジダ)の超薄連続切片を作製してオルガネラを3次元的に観察したい。次の間に答えなさい。

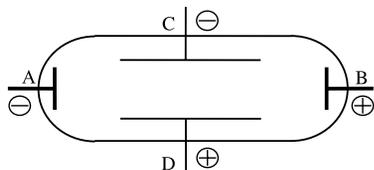
- 1) 超薄連続切片作製に最も適するトリミングの形状を図示しなさい。(その際、切削方向と試料ブロックサイズを考慮すること)
- 2) 使用に適するグリッド孔の形状を図示し、その理由を述べなさい。
- 3) 3次元観察の利点は何か、ミトコンドリアの形態を例として具体的に述べなさい。

## 2004年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験問題一級技士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

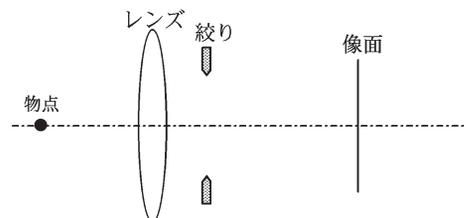
問1. 図は直流グロー放電を発生させる装置を示している。文章中の[ ]の中の正しい記号、または語句を選択して番号を解答欄に書き入れなさい。



Aの電極を負に、Bの電極を正にして電圧を加えて直流グロー放電を起こさせると電子は① [1. A 2. B]の電極から飛び出す。このときC、Dに電極をおき、Cに負の電圧を、Dに正の電圧を加えると、電子は② [1. C 2. D]に向かって曲げられる。圧力を一定に保ってA、Bの電極にかかる電圧を高くすると、電子のエネルギーが③ [1. 大きく 2. 小さく]なるのでイオン

化能が大きくなり、放電電流は増える。また、AB間の電圧を一定に保って置いて圧力を下げると気体分子の密度が小さくなり、電子の平均自由行程が④ [1. 短く 2. 長く]なるので、電子が気体分子をイオン化する確率が⑤ [1. 大きく 2. 小さく]なり、圧力が一定値以下になると放電は観察されなくなる。

問2. 電子顕微鏡の対物レンズの収差に関する以下の間に答えなさい。



- 1) 球面収差とはどのような収差か。図中に光路図を書いて説明しなさい。
- 2) 球面収差の大きさと絞りの孔径の関係を述べなさい。
- 3) 非点収差がある場合の像の特徴を述べなさい。
- 4) 非点収差の原因を2つあげなさい。
- 5) 色収差の原因を2つあげなさい。

問3. 透過電子顕微鏡の焦点合わせの方法を2つあげ、簡潔に説明しなさい。

問4. 透過電顕像の散乱コントラストに関する以下の間に答えなさい。

- 1) 対物絞りの孔径をそのままにして加速電圧だけを変化させてコントラストを高めたい。加速電圧を高くすべきか。それとも低くすべきか。理由をつけて答えなさい。
- 2) 加速電圧をそのままにして対物絞りの孔径だけを変化させてコントラストを高めたい。絞りの孔径を小さくすべきか。それとも大きくすべきか。理由をつけて答えなさい。

問5. 走査電顕像のコントラストについて述べた次の文章の( )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。

二次電子の発生量は主として試料表面の( A )や( B )あるいは( C )に依存している。凹凸が大きい表面の場合、二次電子の発生量が場所により、大きく異なるので、コントラストの高い画像が得られる。凹凸が

小さい試料の場合、試料表面を入射電子線に対して( C )させることにより、画像のコントラストを高めることができる。また、( D )が大きい元素ほど、二次電子が発生しやすい。有機系や生物系試料のように( E )が無い試料で、前処理として試料表面に金属コーティングを行うのは、二次電子が発生しやすくする効果もある。

【選択肢】

1. 原子番号
2. 形状
3. チャージアップ
4. 傾斜
5. 蒸着
6. 導電性
7. 平行
8. 組成
9. 光沢
10. 弾性

問6. シャドウイングやレプリカに必要な金属蒸着平均膜厚  $t$  (nm) が得られる蒸発量  $M$  (g) の理論値は次式から求められる。

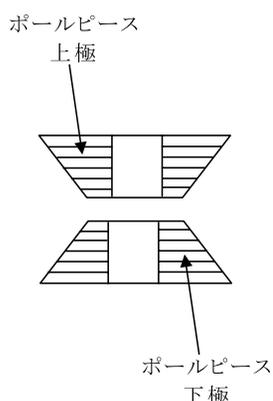
$$M = \frac{4\pi r^2 \rho t}{10^7 \cdot \sin\theta} \cdot C_p$$

ここで、 $r$  は蒸着源(ヘヤピン形)と試料間の距離(cm)、 $\rho$  は蒸着金属の密度( $\text{g/cm}^3$ )、 $\theta$  はシャドウイングアングル、 $C_p$  はヘヤピン形フィラメントの蒸発量の補正值、 $\pi$  は円周率を表す。蒸発金属をAu/Pd(6:4合金、密度 $16.1$  ( $\text{g/cm}^3$ ))とし、 $2\text{nm}$ の厚さに蒸着するために必要なAu/Pdの重量(g)を求めなさい。ただし、 $r=10\text{cm}$ 、 $\theta=45^\circ$ 、 $\sin 45^\circ=0.707$ 、 $C_p=0.9$ 、 $\pi=3.14$ とする。

問7. 原子間力顕微鏡の動作原理と特徴を簡潔に述べなさい。

## 選択問題

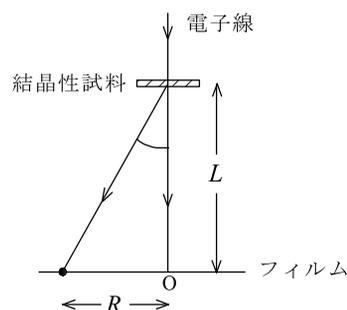
問8. 透過電子顕微鏡の試料設置方式であるトップエントリー方式とサイドエントリー方式について以下の間に答えなさい。



- 1) それぞれの方式における対物レンズポールピースと試料ホルダーとの位置関係を図示しなさい。
- 2) それぞれの方式の特徴を簡潔に述べなさい。

問9. 次の文章は電子回折パターンに関する記述である。文中の[ ]にあてはまる適切な語句、文字または文字式を解答欄に記しなさい。

電子回折パターンをフィルム上に記録するときの模式図を右図に示す。面間隔  $d$  の結晶性試料に入射した波長  $\lambda$  の電子線の一部は入射方向と [ ① ] (ただし、 $\theta$  はブラッグ角) の角度をなす方向にブラッグ反射され、試料面から距離  $L$  だけ離れたフィルム上に回折斑点や回折リングを生じる。フィルム上の透過波に対応する点  $O$  から回折点または回折リングまでの距離を  $R$  とすると、 $\tan$  [ ② ]  $=R/L$  となる。しかし、高速の電子の波長  $\lambda$  は原子面間隔  $d$  に比べて非常に [ ③ ] いために、ブラッグ角  $\theta$  は非常に小さく  $\tan\theta \approx$



$\theta$ 、 $\sin\theta \approx \theta$  と近似できる。そのため、これらの式とブラッグ条件式 [ ④ ] (ただし、 $n$  は整数) より、次式が得られる。

$$[ ⑤ ] d = n\lambda \quad (n=1 \text{ のとき})$$

電子の波長  $\lambda$  は [ ⑥ ] で決まり、カメラ長  $L$  は各々の電子顕微鏡によって決まっているので、[ ⑦ ] を計測すればこの式を用いて結晶の原子面間隔  $d$  を求めることができる。

問10. 透過電顕観察において試料が受ける電子線損傷を軽減するための留意点を4つ簡潔に述べなさい。

問11. 走査電子顕微鏡においてチャージアップ現象を軽減するための機能または装置を2つあげ、それぞれの長所と短所を述べなさい。

問12. 走査電顕では、試料表面の凹凸構造がシャープで立体的な拡大像として観察される理由を2つ述べなさい。

問13. シリコン (Si) 基板上に、幅約  $0.2\mu\text{m}$ 、長さ約  $10\mu\text{m}$ 、厚さ約  $0.2\mu\text{m}$  の長方形パターン [主成分はアルミニウム (Al)、シリコン (Si)] が形成されている。このパターンをエネルギー分散形 X 線分析装置 (EDS) を用いて高い精度で定量分析を行うための条件を3つ簡潔に記しなさい。