

2008 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. 原核生物はどれか。

1. 植物
2. 真菌
3. 細菌
4. 原虫
5. ウイルス

問2. 凍結割断レプリカ法により最も明瞭に観察できる構造はどれか。

1. 核内の DNA
2. 細胞膜の膜タンパク質
3. 葉緑体のストロマのリボソーム
4. 細胞質のリボソーム
5. アクチンフィラメント

問3. 細胞小器官について正しいのはどれか。

- A. 滑面小胞体は蛋白質合成に関与している
 - B. ミトコンドリアの内膜には ATP 合成に関与する酵素が存在する
 - C. ゴルジ装置のシス側で分泌顆粒がつくられる
 - D. ライソソームの代表的な指標酵素の一つは酸性ホスファターゼである
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4. 生体膜構造をもたないのはどれか。

- A. 中心体
 - B. ライソソーム
 - C. リボソーム
 - D. ゴルジ装置
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. 培養細胞を生きた状態で観察できる顕微鏡はどれか。

- A. 透過電子顕微鏡
 - B. 走査透過電子顕微鏡
 - C. 共焦点レーザー顕微鏡
 - D. 走査プローブ顕微鏡
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. 固定された組織は硬くなる
 - B. 常温では無色の針状結晶である
 - C. タンパク質を架橋する
 - D. 分子量は約 1,000 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. 固定液で正しいのはどれか。

- A. パラホルムアルデヒドは 2 個のアルデヒド基をもつ
 - B. アクロレインはガス固定としても用いられる
 - C. 四酸化オスミウムは還元剤である
 - D. グルタルアルデヒドは 280 nm に紫外線吸収スペクトルのピークをもつ
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8. 四酸化オスミウムについて正しいのはどれか。

- A. 電子染色効果がある
 - B. 黒色の針状結晶である
 - C. 浸透性が高い
 - D. リン脂質をよく固定する
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9. リン酸緩衝液について正しいのはどれか。

- A. 通常 1 mM の濃度で用いられる
- B. ホスファターゼ類の酵素検出をする場合は使用できない

C. ルテニウムレッドの溶解に用いると沈殿が生じる

D. ヒ素が微量に含まれているので注意する

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10. カコジル酸ナトリウム $[(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ の 0.1 M 溶液をつくる最も適切な方法はどれか。ただし、カコジル酸ナトリウムの分子量は 214.02、水の分子量は 18.02 である。

1. 1 l のメスシリンダーに 1 l の蒸留水を入れ、21.402 g のカコジル酸ナトリウムを溶かす
2. 1 l のメスフラスコに 1 l の蒸留水を取り、これに 214.02 g のカコジル酸ナトリウムを加えて溶かす
3. 1 l のメスシリンダーに 1 l よりも少なめの蒸留水を取り、21.402 g のカコジル酸ナトリウムを溶かしてから、蒸留水を加えて 1 l にする
4. 1 l のメスフラスコに 3 分子の結晶水 (分子量 54.06) を除いた 159.96 g のカコジル酸ナトリウムを入れて溶かしてから、蒸留水を加えて 1 l にする
5. 1 l のメスフラスコに 1 l よりも少なめの蒸留水を取り、21.402 g のカコジル酸ナトリウムを入れて溶かしてから、蒸留水を加えて 1 l にする

問11. エポン 812 系樹脂で硬化剤はどれか。

- A. Epon 812
 - B. DDSA
 - C. DMP-30
 - D. MNA
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. 包埋剤について正しいのはどれか。

- A. Araldite はポリエステル系樹脂である
 - B. Lowicryl K4M はアクリル系樹脂である
 - C. エポキシ系樹脂は紫外線重合ができる
 - D. LR White は親水性樹脂である
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13. 脱水について正しいのはどれか。

- A. エポキシ樹脂に包埋する場合は酸化プロピレンで脱水する
 - B. Lowicryl K4M に包埋する場合はエタノールで脱水する
 - C. LR White に包埋する場合はアセトンで脱水する
 - D. ポリエステル系樹脂に包埋する場合はアセトンで脱水する
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14. 包埋樹脂について正しいのはどれか。

1. Spurr 樹脂は免疫染色性がよい
2. DMP-30 は長期保存できる
3. Lowicryl K4M は低温で紫外線重合ができる
4. Araldite は組織への浸透がよい
5. 使用後残った樹脂は大量の水と一緒に流す

問15. 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. 金銀灰紫青
2. 銀灰金青紫
3. 銀金青灰紫
4. 灰銀金紫青
5. 灰銀金青紫

問16. 超薄切片にチャッターが起こる原因はどれか。

- A. ナイフの刃角が小さい
- B. 薄切面が大きい

- C. ナイフの逃げ角が小さい
 D. 切削速度が速い
 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 17. 薄切時の試料面に水滴がつく原因はどれか。

- A. 薄切面が小さい
 B. 樹脂が硬い
 C. 切削ナイフの後面が濡れている
 D. 樹脂の重合が不完全である
 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 18. 薄切時に厚い切片と薄い切片が交互に現れる原因はどれか。

- A. 試料ブロックの締め付けが悪い
 B. 照明の角度が悪い
 C. ナイフが鋭利でない
 D. 薄切面がナイフと平行になっていない
 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 19. ダイヤモンドナイフについて正しいのはどれか。

- A. 逃げ角は通常 6° である
 B. ポートの水面はナイフの刃先よりやや低くする
 C. 刃先を直接 10% NaOH 液につけて洗浄する
 D. 切削方向の衝撃に弱い
 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 20. 酢酸ウラニルについて正しいのはどれか。

- A. 購入するには文部科学省の許可を得なければならない
 B. 酢酸ウラニルの受け入れ, 使用, 保管, 廃棄などについて年に 1 回報告する
 C. 排液は重金属として廃棄する
 D. ネガティブ染色によく用いられる
 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 21. 電子染色について正しいのはどれか。

- A. レイノルズの鉛染色液は酢酸鉛を用いる
 B. 鉛染色液は空气中に放置すると沈殿を生じる
 C. 酢酸ウラニルはリン酸緩衝液に溶解して用いる
 D. 鉛染色は細胞膜系のコントラストを高める
 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. 準超薄切片について正しいのはどれか。

- A. 約 0.1 μm 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. トルイジンブルー染色は加温するとよく染まる
 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 23. トルイジンブルー染色で試料の中心部分が周辺より薄く染色された。正しいのはどれか。

- A. 周辺部分は固定が良好である
 B. グルタルアルデヒドが変性している
 C. エポキシ樹脂の重合が不十分である
 D. 四酸化オスミウムの浸透が不十分である
 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 24. 次の文章の () にあてはまる語句の組み合わせで正しいのはどれか。

酵素細胞化学とは, 生体における酵素の局在を微細構造と (A) の両方を保持しながら, 酵素自身の活性を利用して反応液中の (B) を分解し, 反応産物を (C) などで電子密度の高い沈着物として補足することにより可視化し, 電顕観察する方法である。

1. A. 免疫活性 B. ホスファターゼ C. 酸素
 2. A. 酵素活性 B. 基質 C. 酸素

3. A. 酵素活性 B. ペルオキシソーム C. 重金属

4. A. 酵素活性 B. 基質 C. 重金属

5. A. 免疫活性 B. 基質 C. 重金属

問 25. ペルオキシダーゼ活性を酵素組織化学的に検出する試薬はどれか。

- A. ニトロブルー・テトラゾリウム
 B. 過酸化水素
 C. 過ヨウ素酸
 D. 3,3'-ジアミノベンチジン
 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. 免疫電顕法の包埋後染色法について正しいのはどれか。

- A. LR White はエポキシ樹脂より抗原性の保持がよい
 B. 標識に用いるコロイド金の粒子径が大きいほど検出効率が高い
 C. 金粒子の大きさを定めることにより二重標識が可能である
 D. 超薄切片をニッケルグリッドに載せてはいけない
 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 27. 免疫電顕法の包埋前染色法について正しいのはどれか。

- A. 抗原性の保持がよい
 B. 標識に 20 nm のコロイド金を用いる
 C. 二重免疫染色には利用できない
 D. エポキシ樹脂に包埋する
 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 28. 包埋後染色法の手順について正しいのはどれか。

- A. 電子染色
 B. コロイド金標識抗ウサギ IgG 反応
 C. ウシ血清アルブミン処理
 D. グルタルアルデヒド固定
 E. ウサギ抗 X 抗体反応
 1. CDEBA 2. ADCEB 3. CADEB 4. BCAED
 5. CEBDA

問 29. 急速凍結置換固定について正しいのはどれか。

- A. 置換を行う温度は通常 -30°C である
 B. 凍結置換液にはオスミウム・アセトンが用いられる
 C. 氷晶の大きさは凍結速度に依存する
 D. 氷晶は -80°C 付近で最も成長する
 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. 氷晶防止剤としてサポニンが広く用いられる
 B. 得られるレプリカは炭素・金属・炭素の三層からなる
 C. 生体膜の形態学的研究に有効な手段である
 D. 生体膜の疎水性のところで割断される
 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 31. オートラジオグラフィーで正しいのはどれか。

- A. 解像力は乳剤の厚さに依存する
 B. 露光は室温で行うのがよい
 C. α線は電子であり, エネルギーは低い
 D. ³H の半減期は約 12 年である
 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 32. 撮影したフィルムを印画紙に焼き付ける手順で正しいのはどれか。

1. 露光→定着→停止→現像→水洗→乾燥
 2. 露光→水洗→現像→水洗→停止→乾燥
 3. 露光→現像→定着→停止→水洗→乾燥
 4. 露光→現像→停止→定着→水洗→乾燥
 5. 露光→現像→停止→水洗→乾燥→定着

問 33. 倍率 1 万 5 千倍の電顕写真に 2 μm のスケールを入れるには長さを

何 mm にすればよいか。

問 34. 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きわだたせる
 - B. 二次電子の発生量を増加させる
 - 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 35. 走査電子顕微鏡の生物試料作製で正しいのはどれか。

- A. タンニン酸と四酸化オスmiumで処理すると二次電子の発生効率がよくなる
 - B. 赤血球を固定するには浸透圧が 450 mOsm の固定液を用いる
 - C. O-D-O 法は細胞内の膜構造を剖出する方法である
 - 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 36. 電子について正しいのはどれか。

- A. 磁界の影響を受ける
 - B. 電界の影響を受ける
 - C. 加速電圧が高くなると波長は長くなる
 - D. 散乱される度合いは原子の種類に依存しない
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 37. 励磁電流が同じ条件の下で、磁界レンズを強くするのはどれか。

- A. ヨークを厚くする
 - B. コイルの線径を太くする
 - C. コイルの巻き数を増やす
 - D. ポールピースのギャップを狭くする
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 38. 透過電子顕微鏡の対物レンズについて正しいのはどれか。

- A. 対物絞りは像面に設置する
 - B. 回折パターンは後焦点面に形成される
 - C. 装置の分解能を決定する
 - D. 制限視野絞りは物面に設置する
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 39. 電子レンズの収差について正しいのはどれか。

- A. 球面収差は絞りを大きくするほど小さくなる
 - B. 絞りの汚れは非点収差の原因となる
 - C. 加速電圧が変動すると色収差が生じる
 - D. 回折収差は絞りを小さくするほど小さくなる
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 40. 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. 加速電圧を上げると散乱コントラストが高くなる
 - B. 位相コントラストは焦点はずれ量に依存しない
 - C. 対物絞りを小さくすると散乱コントラストが高くなる
 - D. フレネル縞は位相コントラストにより生ずる
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について正しいのはどれか。

- A. 対物絞りを小さくするとコントラストが高くなる
 - B. 試料端は平坦な部分よりも明るくなる
 - C. 試料を傾斜するとコントラストが高くなる
 - D. 作動距離を長くするとコントラストが低くなる
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 42. 真空および真空ポンプについて正しいのはどれか。

- A. 1×10^{-3} Pa はおよそ 1×10^{-5} Torr に相当する
- B. 油回転ポンプは運転時に水で冷却する
- C. 油回転ポンプの油は半年程度で交換することが望ましい

D. 油回転ポンプは油拡散ポンプより高真空を得ることができる

- 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 43. 正しいのはどれか。

- A. カーボン支持膜はプラスチック支持膜より電子線照射に強い
- B. プラズマ重合ナフタレン支持膜は導電性がある
- C. 親水化したグリッドは1年程度有効である
- D. グリッドを粘着処理することで試料のドリフトを減少させることができる

- 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 44. 蒸着について正しいのはどれか。

- A. 白金パラジウム合金はシャドウイングに適さない
 - B. 金属蒸着はベルジャー内の真空度が 1×10^{-1} Pa 程度のところで行う
 - C. 試料の凹凸が小さいほどシャドウイングアングルを小さくする
 - D. 真空度が高いほど蒸発粒子が細かい
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 45. 生物切片の電子線損傷を軽減するのはどれか。

- A. 照射時間を短くする
 - B. 大きい対物絞りを使用する
 - C. 加速電圧を低くする
 - D. 試料を冷却する
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. 写真フィルムに用いられているのはどれか。

- A. ハロゲン化銀
 - B. フッ素化合物
 - C. ゼラチン
 - D. 合成繊維
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. 走査電子顕微鏡の操作について正しいのはどれか。

- A. 無蒸着生物試料を観察するために加速電圧を高くした
 - B. 焦点深度を深くするために作動距離を短くした
 - C. 試料の最表面の構造を観察するために加速電圧を低くした
 - D. 観察中に試料が変形したのでビーム電流を減らした
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 48. 走査電顕像の分解能を高める操作で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を低くした
 - B. 作動距離を長くした
 - C. コンデンサーレンズ電流を増やした
 - D. 対物絞りの径を小さくした
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 49. 元素分析法について正しいのはどれか。

- A. 多元素同時マッピングを行うために EDS を用いた
 - B. 微量元素の分析を行うために EDS を用いた
 - C. 絶縁物の分析を行うためにカーボン蒸着をした
 - D. 凹凸のある試料の分析を行うために WDS を用いた
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. 共焦点レーザー顕微鏡について正しいのはどれか。

- A. ダイクロイックミラーはレーザービームを透過する
 - B. 走査型顕微鏡である
 - C. 試料からの反射光が結像に利用される
 - D. 像面に置くピンホールの径を大きくすると高さ方向 (Z) の分解能が悪くなる
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

2008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）

13題の問題のうち、問1～問7は全問解答し、問8～問13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. 次の文章は上皮細胞の自由表面の構造について記述したものである。()にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。

(1)や(2)は、細胞表面に毛のように認められる外方に伸び出した細胞質の突起で、運動性を(3)。(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。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)ダブルレットは、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附着して終わり、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. 持たない N. ミクロソーム O. 線毛
P. ミオシン Q. 持つ R. ゴルジ装置 S. リソソーム

問2. 単層培養細胞と血液細胞の透過電顕試料を作製したい。それぞれの作製手順を詳細に説明しなさい。

問3. 次の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。

エポキシ系樹脂は(1)すると硬化が不十分になり、超薄切しにくくなる。アクリル系樹脂は脱水剤に(2)が、ポリエステル系樹脂では脱水剤に(3)。アクリル系樹脂およびポリエステル系樹脂は、(4)の存在下で重合が(5)される。

【語群】

A. 窒素 B. アセトンを使用する C. 阻害
D. アセトンの使用を避ける E. 水素 F. 酸素
G. 酸化プロピレンを使用する H. 促進
J. 酢酸イソアミルを使用する K. 吸湿 L. 乾燥

問4. 次の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。

凍結する時に、蒸留水でガラス状氷を得るには、一般に(1)

以上の凍結速度が必要である。しかし、通常の細胞・組織の含水量は(2)%であり、(3)など多くの成分を含んでいるので(4)以上の凍結速度で十分である。含水量が(5)、溶質濃度が高い場合には、氷晶形成が起こりにくい。

【語群】

A. 高く B. 塩類 C. 40～50 D. 10^5 K/s E. 酸素
F. 10^7 K/s G. 窒素ガス H. 70～80 J. 10^4 K/s K. 低く
L. 二酸化炭素 M. 10^2 K/s

問5. 下記に示す抗原の局在について免疫電顕法で観察したい。検出した抗原3つの中から2つを選び、それぞれ例の一つあげて染色手順を説明しなさい。

問6. 次の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。

細胞化学には(1)、(2)および遺伝子細胞化学などがある。光顕レベルでの(1)では主に(3)切片による(4)が用いられ、電子顕微鏡レベルでは(5)が用いられる。一般的にライソソームの標識には(6)が、細胞膜の標識には(7)が指標酵素となる。(2)は、主にコロイド金を標識した(8)により、分泌蛋白などの(9)の局在検出に用いられる。遺伝子細胞化学は細胞中にある(10)の存在を証明する手法である。

【語群】

A. 酵素組織化学 B. 糖質細胞化学 C. 組織培養 D. トレーサー
E. 凍結 F. パラフィン G. アゾ色素法 H. 金属塩法
J. 酸性ホスファターゼ K. カタラーゼ L. 塩基性ホスファターゼ
M. PAS染色法 N. レクチン法 O. ルテニウムレッド法 P. 糖鎖
Q. 細胞膜 R. ISH法 (in situ hybridization) S. ELISA法
T. mRNA U. cDNA

問7. 小動物の灌流固定標本を作製し、心臓を走査電子顕微鏡で観察するように頼まれた。次の各設問に答えなさい。

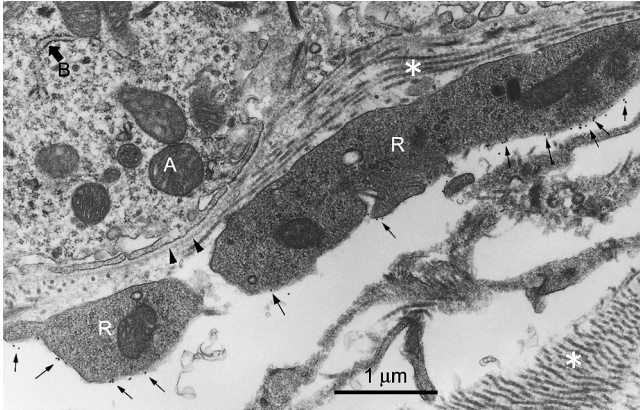
1) 一般的な試料作製手順を語群から選び、順番に並べなさい。

【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
2) 出来上がった標本を依頼者に見せたところ、残った固定組織から心臓の壁のきれいな断面のある標本を作製して欲しいといわれた。どのようにすればよいか。
3) さらに、心筋線維の表面形状や、心筋線維間の血管の壁の構造を走査電子顕微鏡で直接観察できるような標本を求められた。どのようにすればよいか。

選択問題

問 8. 写真はある上皮組織と結合組織の境界部を、免疫電顕法（包埋前染色法）で観察したものである。組織ブロックを 4%パラホルムアルデヒドと 0.5%グルタルアルデヒドで固定し、凍結切片（厚さ 30 μm）を作製した。ある表面抗原に対する一次抗体と 15 nm 径のコロイド金標識二次抗体を反応させ、エポキシ樹脂に包埋後、超薄切した。抗原は電子密度の高い細胞（R）の周囲に均一にあるはずであるが、片側にしか標識が見られない（細矢印）。これは二次抗体の浸透が悪いためと考えられる。



- 1) A および B で示す細胞小器官の名称をそれぞれ答えなさい。
- 2) * で示す構造は何か。名称を答えなさい。
- 3) ▲ で示す電子密度のやや高い構造は何か。名称を答えなさい。
- 4) 免疫電顕法（包埋前染色法）を用いて、上述の下線部を改良して全周に標識が見られるようにするにはどうすればよいか。簡潔に述べなさい。ただし、一次抗体以外はどのように変えてもよいものとする。

問 9. 下記に示す 1) ~ 6) の方法で電顕試料を作製した。しかし、至る所にオスミウムブラックの反応産物が観察され、特異的ペルオキシダーゼ反応は認められず、再実験を計画することになった。どのように再実験を計画したらよいか、1) ~ 5) の文章で改良すべき点を述べなさい。

【マウス肝臓で、DAB 反応を用いたペルオキシダーゼの電顕局在解析実験】

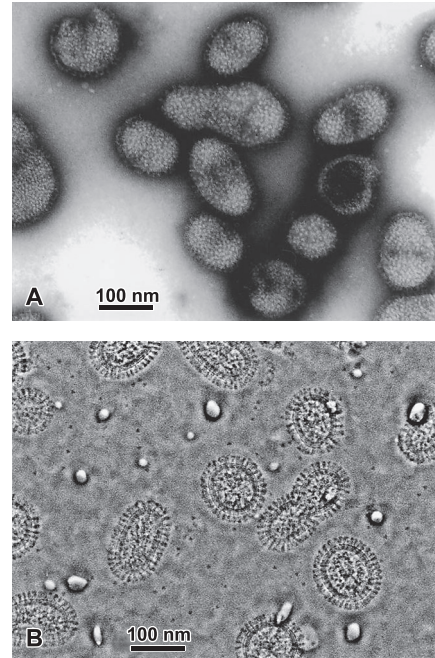
- 1) 麻酔せずに、手早くピンでマウス四肢を固定・開腹し、肝臓を摘出した。
- 2) グルタルアルデヒド固定液の入ったビーカーに取りだした肝臓を入れ、固定した。
- 3) 固定後、洗浄し、約 0.5 cm 角のサイコロ状に切り出した。
- 4) 冷蔵庫に保存してあった液（過酸化水素の入ったトリス塩酸緩衝液）に、3,3'-ジアミノベンチジン四塩酸塩（DAB）粉末を加え、反応液を作製した。

反応液の組成（Graham & Karnovsky 法、1966）

0.5 mg/ml	DAB
0.05 M	トリス塩酸緩衝液 pH 7.6
0.01%	過酸化水素

- 5) 反応終了後、試料をそのままオスミウム液中に移して後固定を行った。
- 6) その後、常法に従って、脱水・樹脂包埋を行い、超薄切片を作製して電顕観察した。

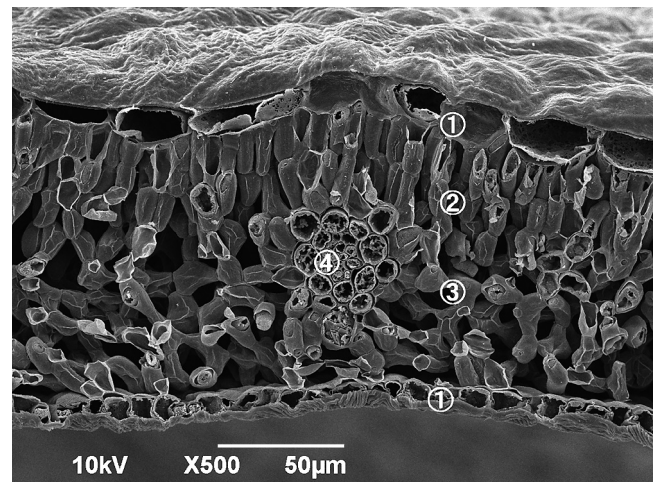
問 10. 写真はウイルスの懸濁液を 2 つの異なる方法で撮影したものである。次の各設問に答えなさい。



- 1) 試料は次のうちのどれか。記号で答えなさい。
a. アデノウイルス b. B 型肝炎ウイルス c. T4 バクテリオファージ
d. インフルエンザウイルス e. ヒト免疫不全ウイルス
- 2) どのような方法で試料を作製したか。それぞれの名称とその特徴を述べなさい。

問 11. 液体培養した酵母細胞の細胞表面（細胞壁）を、走査電子顕微鏡で観察したい。試料作製の手順と具体的な手技を述べ、手順毎の留意点を述べなさい。

問 12. 写真はソメイヨシノ葉身の断面を示す。文章中の（ ）内の番号は写真中の番号に対応する。（ ）内にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。



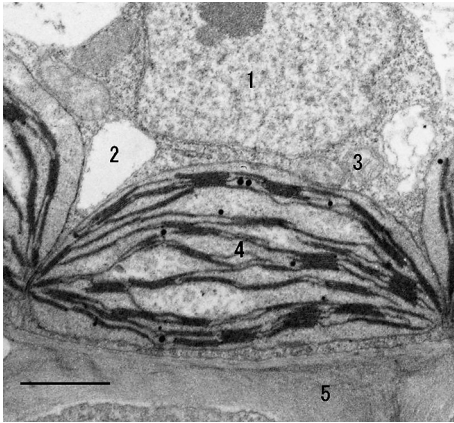
写真は葉の保護組織である（ ① ）と縦長の細胞層の（ ② ）および細胞間に空間をもつ（ ③ ）などで構成される葉肉組織の基本組織系が観察される。これら組織の中に根から吸収した水分の通路となる（ ④-1 ）、光合成産物として得られた水溶性有機物の通路となる

(④-2) で構成される維管束が観察される。

【語群】

A. 導管 B. 孔辺細胞 C. 葉緑体 D. 表皮細胞 E. 篩管
F. 海綿状組織 G. 気孔 H. 柵状組織 J. 貯蔵組織

問 13. 写真はシロイヌナズナ茎の細胞の一部の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい。スケールバーは $1\mu\text{m}$ である。



- 1) 写真中4の葉緑体に見られる構造名を4つあげなさい。
- 2) クロロフィルは葉緑体のどこにあるか。
- 3) 葉緑体は立体的に見るとどのような形に似ているか、例をあげなさい。
- 4) 写真中4の葉緑体以外に植物細胞に特有な構造はどれか、番号と名称を記しなさい。

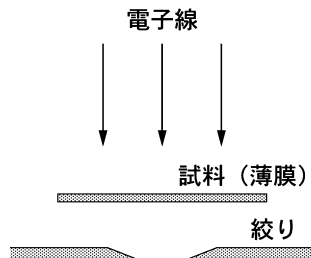
2008 年度日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定試験一級技士 II (鏡体・共通技術)

13 題の問題のうち、問 1～問 7 は全問解答し、問 8～問 13 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. 以下の設問に答えなさい。

- 電子線の加速電圧を 50 kV から 100 kV に変えたとき電子線の波長と電子の速さはどのように変化するか。
- 図に示すように一定の加速電圧・強度で電子線を厚さ 20 nm 程度の試料(薄膜)に照射する。試料の下に絞りを置き、絞りの孔を通過してきた電子線の強度を測定する。試料がカーボンの場合と金の場合ではどちらの方が電子線強度が大きいか。その理由も答えなさい。



問 2. 電子レンズの収差について以下の設問に答えなさい。

- 回折収差は電子線の波長が短くなるにつれてどのようになるか。
- 回折収差は電子線の開き角が小さくなるにつれてどのようになるか。
- 球面収差は電子線の開き角が小さくなるにつれてどのようになるか。
- 非点収差がある場合の像の特徴を述べなさい。
- 加速電圧やレンズ励磁電流の変動で生じる収差を何というか。また、この収差を生じる別の原因を 1 つあげなさい。

問 3. 透過電子顕微鏡のコントラストについて述べた次の文章の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、その記号を解答欄に記入しなさい。

試料に電子線が入射し、試料と電子との相互作用により入射方向を曲げられて進行する電子波を(①)絞りで遮蔽し、入射方向に進行する電子波のみで結像した場合は(②)コントラストが生じる。また、入射方向を曲げられて進行する電子波と入射方向に進行する電子波との(③)により結像した場合は(④)コントラストを生じる。(⑤)の状態では試料端やマイクログリッドの縁に白あるいは黒の細い縞模様が生じる。これは(④)コントラストの一種で(⑥)と呼ばれている。過焦点では(⑦)が生じ、不足焦点では(⑧)が生じるのが特徴であるが、(⑨)ではこの現象は観察されない。(⑥)は(⑩)の補正に利用することができる。

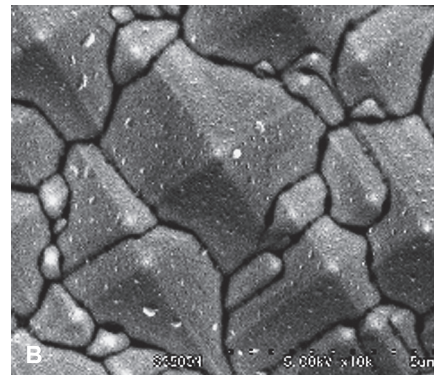
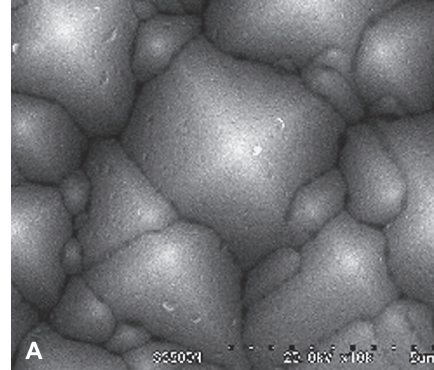
【語群】

- A. 正焦点 B. フレネル縞 C. 位相 D. 対物 E. 白い線
F. 非点収差 G. 干渉 H. 焦点はずれ J. 散乱 K. 黒い線
L. 回折 M. コンデンサー N. 色収差

問 4. 試料に電子線を照射することにより、電子線のエネルギーの一部が試料に与えられ、試料の構造・組織に変化をもたらす。試料の電子線損傷の原因になる。このような電子線損傷による試料の構造・組織の変化の具体例を 3 つ記しなさい。

問 5. 金属蒸着をする時、フィラメントに装着する金属量(重量)を一定にした場合、膜厚は何に依存して決まるか、その依存する量を 2 つ記しなさい。

問 6. 写真 A と B は、太陽電池の同一視野を異なる加速電圧で観察したものである。低加速電圧で観察した写真を選び、その理由を記しなさい。



問 7. 以下の文章の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、その記号を解答欄に記しなさい。

走査電子顕微鏡(以下 SEM)は、電子銃から放出された電子をコンデンサーレンズと(①)で細く絞り、(②)の磁界変化により、表示 CRT の走査と同期して X-Y 二次元走査をしながら拡大像を得る。真空中で電子線を試料表面に照射すると、電子と試料の相互作用により(③)、(④)、特性 X 線、陰極光などを生じることが知られている。SEM の場合、特に高い分解能の像を得る場合は(③)が、原子番号に依存した像を得る場合は(④)が用いられている。

SEM で観察を始める前に、試料の種類や観察の目的に合わせて加速電圧、(⑤)、(⑥)、コンデンサー電流、対物可動絞りの孔径などを設定する。その後、加速電圧、(⑦)を ON にして像を得る。また、像の(⑧)、(⑨)は随時、見やすいように調整する。最後に(⑩)、焦点合わせを行い、倍率、(⑧)、(⑨)を調整して写真撮影を行う。

【語群】

- A. 試料傾斜角度 B. 収差 C. 対物レンズ D. 倍率
E. 電界放出型電子銃 F. 焦点深度 G. 二次電子 H. 電子
J. 走査コイル K. チャージアップ(帯電) L. 非点補正
M. 明るさ N. コントラスト O. 反射電子 P. フィラメント電流

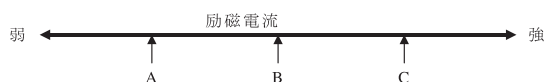
選択問題

問8. 以下の4つの文章は電子回折に関する記述である。文中の()にあてはまる最も適切な語句を語群から選び、その記号を解答欄に記しなさい。

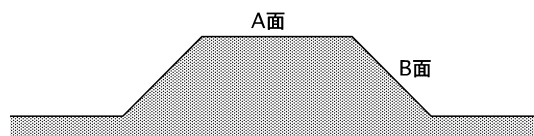
- 規則正しく並んだ原子からなる結晶に電子線が原子面と θ の角度で入射すると、入射波の一部は反射され、残りは直進して(①)波となる。原子面間隔を d とすると、隣り合う原子面で反射する電子波の行路差は $2d \sin\theta$ となり、この行路差が $2d \sin\theta = n\lambda$ [(②) 条件]という。 λ は電子線の(③)]を満足するときだけ反射波は強めあい、(④)波が生じる。
- 電子顕微鏡の通常の試料面に試料を置き、対物・中間・投射の全レンズを動作させて電子回折パターンを観察すると、回折パターンはまず対物レンズの(⑤)面上に形成される。
- 対物レンズの(⑥)面に絞りをを入れて視野を制限し、その視野からだけの回折パターンを得るのが(⑦)回折である。
- 電子回折パターンは、単結晶の場合は(⑧)となり、多結晶の場合は(⑨)状となる。また、非晶質試料では、(⑩)状のパターンとなる。

【語群】

- A. ブラッグ B. 透過 C. 回折 D. 波長 E. 後焦点
 F. リング G. 二次電子 H. 電子 J. 像 K. 制限視野
 L. スポット M. ハロー
- 問9. 図の左右に伸びる矢印は透過電顕対物レンズの励磁電流強度を表している。膜孔を試料として、図中に示したAあるいはCに励磁電流を設定した時、それぞれにおける焦点の状態を解答欄に記しなさい。また、A、B、Cのそれぞれにおいて膜孔の縁に現れるフレネル縞のコントラストはどのように観察されるかを記しなさい。ただし、Bの設定条件において正焦点の拡大像が得られるものとする。また、結像系の非点収差は補正されているものとする。



問10. 走査電顕像のコントラストを形成する要因の一つである二次電子発生量に対する傾斜角効果は、二次電子のエスケープ長(脱出深さ)を考慮することによって説明することができる。以下の間に答えなさい。



- 傾斜角依存性による二次電子の発生量はどのような特徴があるか。
- エスケープ長について説明しなさい。
- 図のような断面構造をもつ試料の表面を真上から電子線プローブで走査して二次電子を発生させるとき、A面とB面ではどちらが多く二次電子を発生するか。また、その理由を説明しなさい。

問11. 以下の①~⑤は、細胞膜に局在する抗原のレプリカ膜を用いた免疫電顕法の手順である。以下の設問に答えなさい。

①試料を急速凍結、②切断、③白金とカーボンを蒸着、④試料をSDS(ドデシル硫酸ナトリウム)で溶解、⑤レプリカ膜の金コロイド標識抗体を用いた免疫組織化学反応。

- 白金やカーボンを蒸着するには、どの程度の真空度が必要か。
- 白金を蒸着する理由は何か。
- カーボンを蒸着する理由は何か。
- この方法では細胞膜のどこに存在する抗原決定基を検出することが可能か。

問12. 走査電顕観察において、試料を導電性のある試料台に載せるために、種々の接着剤が用いられる。接着剤に必要な性質を2つ記しなさい。

問13. 走査プローブ顕微鏡には、検出する信号(物理量)の違いにより様々な種類がある。それらの中から2つ選び、その名称、検出信号、動作原理並びに特徴を簡潔に記しなさい。