

## 2009 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. 細胞骨格について正しいのはどれか。

- A. 微小管, 中間径線維, およびアクチンフィラメントに大別される  
 B. 微小管は直径 10 nm の細管構造をなす  
 C. 中間径線維は細胞の形態を保持する働きがある  
 D. アクチンフィラメントは紡錘体を形成する  
 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. ミトコンドリアについて正しいのはどれか。

- A. 二重の単位膜で構成されている  
 B. 外膜と内膜の間の区画をクリステとよぶ  
 C. 内膜に囲まれた区画をマトリクスとよぶ  
 D. マトリクスには電子伝達系の酵素群が存在する  
 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3. 大きさの順について正しいのはどれか。

1. 真菌>動物細胞>細菌>プリオン>ウイルス  
 2. 動物細胞>真菌>プリオン>細菌>ウイルス  
 3. 動物細胞>細菌>真菌>ウイルス>プリオン  
 4. 真菌>動物細胞>細菌>プリオン>ウイルス  
 5. 動物細胞>真菌>細菌>ウイルス>プリオン

問4. DNA を含む細胞小器官はどれか。

- A. リボソーム  
 B. ペルオキシソーム  
 C. 葉緑体  
 D. 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5. 細胞壁について正しいのはどれか。

- A. 細菌の細胞壁はペプチドグリカンを主成分とする  
 B. グラム染色法は細胞壁の構造の違いに基づく  
 C. 真菌の細胞壁はクチクラで構成されている  
 D. 植物の細胞壁にはキチンが沈着する  
 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6. グルタルアルデヒドはどれか。

1.  $\text{HCHO}_n$   
 2.  $\text{CHO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHO}$   
 3.  $\text{OsO}_4$   
 4.  $\text{CH}_2 = \text{CHCHO}$   
 5.  $\text{KMnO}_4$

問7. 化学固定法について正しいのはどれか。

- A. 生体成分を凝固させる  
 B. 生体成分のすべてを保存する  
 C. 生体成分を架橋する  
 D. 急速凍結固定法より生体に近い状態を保持できる  
 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8. 還元剤はどれか。

- A. グルタルアルデヒド  
 B. 四酸化オスミウム  
 C. 過マンガン酸カリウム  
 D. パラホルムアルデヒド  
 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9. 8%パラホルムアルデヒド水溶液を 100 ml 作製したい。下記の手順で正しいのはどれか。

- A. フラスコにパラホルムアルデヒド 8 g を量りとり

- B. 60 ~ 70°C に加温しながら攪拌する  
 C. 室温に戻してから, 蒸留水を加えて全量を 100 ml にする  
 D. 1N NaOH 水溶液を数滴加えて溶解する  
 E. 蒸留水を約 90 ml 入れる  
 1. ABCDE 2. ACDBE 3. ADBEC 4. AEDCB  
 5. AEBDC 6. ACBDE

問10. 緩衝液について正しいのはどれか。

- A. ホスファターゼ類の酵素を検出する場合はリン酸緩衝液を使用する  
 B. カコジル酸塩にはヒ素が含まれている  
 C. 主に固定液の pH 調整のために使用する  
 D. ミロニック液はカコジル酸緩衝液の一つである  
 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11. Luft 法で使用される A 液の成分はどれか。

- 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. 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. プロピレンオキサライド  
 C. n-ブチルグリシジルエーテル (QY-1)  
 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13. 脱水について正しいのはどれか。

- A. 脱水剤の分子量は脱水速度と関係する  
 B. 脱水過程で脂質は溶出しない  
 C. 高濃度の脱水液を最初から使用すると試料の収縮率が高まる  
 D. エタノールはアセトンに比べ吸湿性が高い  
 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14. 包埋剤として必要とされる条件について誤っているのはどれか。

1. 重合硬化反応が均一に進む  
 2. モノマーは粘性が高い  
 3. 廃棄可能な物質である  
 4. 透明かつ無色に近い  
 5. 重合体の硬さの調節が容易である

問15. 樹脂切片の干渉色が薄い方から順に並んでいるのはどれか。

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

問16. 薄切時にボートの切片がよく見えない理由はどれか。

- A. ボートの水量が少なすぎる  
 B. 樹脂の重合が不完全である  
 C. 照明の角度が不適切である  
 D. ナイフの締め付けがゆるい  
 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. 超薄切片にチャッターが起こる原因はどれか。

- A. ナイフの刃先にごみがついている  
 B. 薄切面が大きすぎる

- C. ナイフの逃げ角が小さすぎる  
D. 切削速度が速すぎる  
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. 薄切時に試料ブロックの切削面が濡れる原因はどれか。

- A. ポートの液面が刃先より高い  
B. ナイフの逃げ角が大きすぎる  
C. 樹脂が硬すぎる  
D. 切削速度が遅すぎる  
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. ダイヤモンドナイフについて正しいのはどれか。

- A. 刃角  $6^\circ$  のナイフを使用する  
B. ガラスナイフで試料面を平滑してから使用する  
C. 刃先のクリーニングはアセトンで行う  
D. 使用後はデシケータに保管する  
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 20. 電子染色について正しいのはどれか。

- A. 無染色では像を見ることはできない  
B. 二重染色は酢酸ウラニル→鉛の順に行う  
C. グルタルアルデヒドには染色効果がある  
D. 金属は電子の散乱を増す  
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 21. 酢酸ウラニルについて正しいのはどれか。

- A. 購入する為には文部科学省の許可を得なければならない  
B. 受け入れ, 使用, 保管, 廃棄は, 年に1回報告する  
C. 廃液は重金属として廃棄する  
D. 原子力基本法第三条で核燃料物質に指定されている  
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 22. 脱エボンしなくても染色できる染色剤はどれか。

- A. ヘマトキシリン  
B. エオシン  
C. トルイジンブルー  
D. メチレンブルー  
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. 準超薄切片的トルイジンブルー染色について正しいのはどれか。

- A. 加温すると速く染まる  
B. 濃度は10%を使用する  
C. 脱樹脂しないと染まらない  
D.  $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$  の厚さの切片を使用する  
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 24. ライツソームの指標酵素はどれか。

1. 5'-スクレオチダーゼ  
2. 酸性ホスファターゼ  
3. グルコース 6-リン酸—ホスファターゼ  
4. チトクロームオキシダーゼ  
5. コハク酸脱水素酵素

問 25. 遺伝子細胞化学法 (*in situ* hybridization 法) について正しいのはどれか。

- A. 細胞組織の形態を保ちながら遺伝子の局在や発現を解析できる  
B. 検出には抗原物質等で標識された核酸プローブを使用する  
C. 二本鎖の核酸のすべてが一本鎖に解離する温度を  $T_m$  値とよぶ  
D. 反応の特異性は反応温度が低い方が高い  
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 26. 免疫電顕法の包埋前染色法 (pre-embedding method) のグルタルアルデヒド固定は, どの処理手順の後に行うのが適当か。

1. グリッドへの載物

2. ブロッキング  
3. 一次抗体反応  
4. ペルオキシダーゼ標識二次抗体反応  
5. 電子染色

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. 包埋にはエポキシ樹脂を使用する  
B. 抗体の浸透をよくするためにサポニンを使用することがある  
C. 超薄切片上で免疫反応を行なう  
D. メタ過ヨウ素酸ナトリウムで前処理する必要がある  
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 28. 免疫電顕法の包埋後染色法 (post-embedding method) に適した包埋樹脂はどれか。

- A. Araldite  
B. Lowicryl K4M  
C. LR White  
D. Spurr 樹脂  
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. 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. 超薄切片上で免疫反応を行うので銅グリッドを避ける  
B. コロイド金の粒子径が小さいほど標識効率が高い  
C. グルタルアルデヒドの濃度が高いと抗原性の保持が良い  
D. 免疫電顕法は特異性が高いので対照実験は必要ない  
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 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. グリセリン処理により生体膜はよく保存される  
B. 生体膜の親水基のところで割断される  
C. 試料を割断後に蒸着する  
D. 膜内粒子の観察に適している  
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 31. 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  $-80^\circ\text{C}$  である  
B. 凍結置換剤にはアセトンがよく使用される  
C. 塩類濃度が高い試料ほど氷晶形成が起こりやすい  
D. 氷晶が形成されても膜構造が壊れることはない  
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 32. オートラジオグラフィーで正しいのはどれか。

- A.  $\alpha$  線はヘリウム (He) 核である  
B. 放射性ヨード ( $^{125}\text{I}$ ) の半減期は60日である  
C.  $\beta$  線の飛程は  $\alpha$  線より短い  
D. 化学的カブリは湿度の作用による  
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. 倍率8,000倍の電顕写真に  $2 \mu\text{m}$  のスケールバーを入れるには, 長さを何 mm にすればよいか。

問 34. 試料作製法と観察目的の組合せで正しいのはどれか。

- A. ギ酸消化法—弾性線維  
B. ODO 凍結割断法—細胞骨格  
C. 塩酸コラゲナーゼ法—基底膜  
D. アルカリ・水浸軟法—結合組織  
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. 試料組成の違いを際立たせる  
B. 二次電子の発生量を増す  
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 36. 電子について正しいのはどれか。

- A. 電流の向きと逆向きに移動する
  - B. 一樣な磁界の向きと同じ方向に進む電子は円軌道を描く
  - C. 波動性を示す
  - D. 電荷の単位はアンペア (A) で表す
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 37. 対物レンズの非点収差補正に使用されるものはどれか。

- A. マイクログリッドの孔の縁に見られるフレネル縞
  - B. イメージプレー機能
  - C. カーボン薄膜の像に見られる粒状性
  - D. 制限視野絞り
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. 冷陰極電界放出型電子銃について正しいのはどれか。

- A. 陰極材料にはヘアピン型タングステンを使用する
  - B. 熱電子放出型電子銃より高真空を必要とする
  - C. ショットキー効果を利用している
  - D. ビームの干渉性は熱電子放出型より高い
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 39. 透過電顕観察時の操作について正しいのはどれか。

- A. 試料上の電子ビーム照射範囲を調整するために制限視野絞りを挿入した
  - B. コントラストを高めるために加速電圧を下げた
  - C. 電圧軸を合わせるためにスチグマトールを調整した
  - D. フレネル縞がなくなるように対物レンズ電流を調整した
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 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. 電子染色の目的は散乱コントラストを高くすることである
  - B. 加速電圧を高くすると散乱コントラストが高くなる
  - C. フレネル縞は位相コントラストにより生じる
  - D. 位相コントラストは球面収差に依存しない
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 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. 平坦な試料はコントラストが低い
  - B. 加速電圧を高くするとコントラストが高くなる
  - C. 作動距離を短くするとコントラストが低くなる
  - D. 試料を傾斜すると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 42. 真空計および真空ポンプについて正しいのはどれか。

- A. ペニング真空計はピラニー真空計よりも高真空領域を測定できる
  - B. 油拡散ポンプは冷却水を止めた後に電源を切る
  - C. 油拡散ポンプは大気圧から作動できない
  - D. 油回転ポンプは回転翼で排気する
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. グリッド (メッシュ) とその処理法について正しいのはどれか。

- A. 200 メッシュは 100 メッシュより孔径が小さい
- B. 銅グリッドは蒸留水で保存する

C. 親水化のためにカーボン蒸着する

- D. 粘着処理にはメッシュセメントを使用する
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 44. 支持膜について正しいのはどれか。

- A. 水面展開法で作製したコロジオン膜の厚さは干渉色で青色程度がよい
  - B. 水面展開法でコロジオン膜を作製する時は水温を室温より高くする
  - C. 水面剥離法では薄膜と基盤の間に水を入れ剥離する
  - D. ホルムバール支持膜作製では基盤を引き上げる速度が速いほど膜厚は薄くなる
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 45. 透過電子顕微鏡の試料汚染防止について正しいのはどれか。

- A. 照射時間を長くする
  - B. ターボ分子ポンプよりも油拡散ポンプを使用した方がよい
  - C. 写真フィルムは真空乾燥して使用する
  - D. 冷却装置を使用する
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 46. フィルムと印画紙の現像処理について正しいのはどれか。

- A. 同じ処方の現像液を使用する
  - B. 同じ処方の停止液を使用する
  - C. 同じ処方の定着液を使用する
  - D. 乾燥時には同じ濃度の界面活性剤を使用する
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. 走査電子顕微鏡の操作について正しいのはどれか。

- A. 分解能を高めるために短い作動距離で観察した
  - B. 試料の組成コントラストを得るために二次電子情報を検出した
  - C. 焦点深度を深くするために対物絞りの孔径を小さくした
  - D. チャージアップ現象を軽減させるためにビーム電流を増加させた
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. 低真空走査電顕について正しいのはどれか。

- A. 水分・油分を含んだ試料の観察が可能
  - B. 試料室の真空度は  $10^{-2}$  Pa 程度
  - C. EDS 分析は不可能
  - D. 無蒸着観察が可能
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. 元素分析の方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 を使用した
  - B. 微量元素の分析には EDS が適している
  - C. 絶縁物の分析を行う場合は金 (Au) を蒸着する
  - D. WDS 分析の場合は試料表面を平坦にする
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 50. 走査プローブ顕微鏡について正しいのはどれか。

- A. 略称を SPM とよぶ
  - B. レンズを使用せずに拡大像を作る
  - C. 試料と探針の間に生じる化学現象を利用する
  - D. 表面構造の観察には適していない
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

## 2009 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 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. 次の文章は包埋樹脂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。

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難くなる。アクリル系樹脂およびポリエステル系樹脂は ( 2 ) の存在下で ( 3 ) が ( 4 ) される。これを回避するために、具体的にはアクリル系樹脂では脱水剤に ( 5 ) の使用は避ける。包埋の際、( 6 ) の中に樹脂が満杯となるまで入れ、蓋をしっかりと閉めて ( 7 ) と極力触れさせないようにする。厳密には樹脂混合時や ( 3 ) 時に ( 7 ) を ( 8 ) に置換して行ったほうがよい。また、低温重合する場合、四酸化オスミウムは ( 9 ) を妨げるため、アクリル系樹脂の ( 3 ) を ( 4 ) する。ポリエステル系樹脂の場合は ( 10 ) に溶けないので ( 5 ) 脱水せざるをえないが、( 5 ) が残らないように注意する。

### 【語群】

- A. 阻害 B. 空気 C. 長期保存 D. 紫外線 E. 赤外線  
F. 熱 G. 酸化 H. 炭酸ガス J. ゼラチンカプセル  
K. アセトン L. 酸素 M. 窒素ガス N. 吸湿  
O. n-ブチルグリシジルエーテル P. プロピレンオキサイド  
Q. 脱水 R. エタノール S. ポリエチレンカプセル T. 重合

問 2. 次の文章は細胞接着装置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。

細胞接着装置は隣接する細胞間で細胞どうしを接合し、組織の形態を維持するための特殊な構造体である。

- ① ( 1 ) は、隣接する細胞膜の外葉どうしが癒着し、1 層となるため、明暗 5 層の膜構造として認められる。細胞間隙は存在しない。また、この部位の細胞膜の内側にマイクロフィラメントが見られないのが特徴である。この接合面の凍結切断レプリカ像では ( 2 ) に膜内粒子が紐状につながった隆起が網状に広がり、また ( 3 ) には ( 2 ) に対応する溝が観察される。
- ② ( 4 ) は、( 1 ) と類似の構造を示すが、2 nm の間隙を持つ結合体である。接着する細胞間で、この結合を介して、代謝的、電気的刺激が伝達されるので伝達結合ともよばれる。
- ③ ( 5 ) は、( 1 ) に連続して細胞間を結合する。細胞間隙は約 20 nm となり、電子密度が高くなっている。( 5 ) は細胞全体を取り囲み、この直下の細胞内面には ( 6 ) が多数付着している。
- ④ ( 7 ) は、( 5 ) から少し離れて、数箇所にあたり、斑状に細胞間を結合し、対応する細胞質内側にも、( 8 ) とよばれる細胞膜に沿った電子密度の高い板状構造がある。( 8 ) には細胞骨格である ( 9 ) が集中しているのが特徴である。( 10 ) は、上皮細胞基底部に存在し、細胞側だけに ( 7 ) 様構造が見られる。

### 【語群】

- A. 閉鎖帯 (tight junction) B. 接着帯 (zonula adherence)  
C. 接着斑 (desmosome) D. 半接着斑 (hemidesmosome)  
E. ギャップ結合 (gap junction) F. P 面 G. E 面  
H. アクチンフィラメント J. サイトケラチン K. 接着斑板

問 3. 浸漬凍結固定の冷媒について、次の ( ) 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。但し、語群の語句は

複数回選択してもよい。

冷媒の沸点と融点の差が ( 1 ) と、試料冷却時に冷媒が試料により ( 2 ) て ( 3 ) する。試料を取り囲んだ ( 4 ) は熱伝導が悪く、冷却速度を低下させる。したがって、沸点-融点の温度差が ( 5 ) 液体窒素は冷媒として適さない。

### 【語群】

- A. 暖められ B. 液化 C. 小さい D. 気体 E. 大きい  
F. 固体 G. 液体 H. 冷やされ J. 固化 K. 気化

問 4. 次の文章は走査電顕試料の作製技術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。

生物の SEM 観察用に試料を乾燥する場合、( 1 ) を使用した ( 2 ) 乾燥や ( 3 ) を使用した凍結乾燥法がある。乾燥した生物試料には ( 4 ) がほとんどなく、SEM 観察する場合、照射電子が試料に ( 5 ) して ( 6 ) 像に著しい像障害が生じる。そのため、試料に ( 4 ) を与える目的で試料を脱水・乾燥する前に ( 7 ) を試料中に結合させる ( 8 ) や乾燥した試料表面に ( 7 ) をコーティングする方法がある。この方法には ( 5 ) の防止以外に ( 6 ) の発生効率の ( 9 ) と試料損傷の ( 10 ) の効果もある。

### 【語群】

- A. アセトン B. 帯電性 C. ブロック染色 D. 非金属  
E. エタノール F. 超臨界 G. 二次電子 H. 凍結  
J. 臨界点 K. 導電性 L. 免疫染色 M. 増大  
N. 液化二酸化炭素 O. 金属 P. t-ブチルアルコール  
Q. 帯電 R. 反射電子 S. 導電染色 T. 軽減

問 5. 単層培養細胞のミトコンドリア内の抗原を免疫電顕法で観察したい。

固定から電顕観察までの手順を記し、重要なポイントについて説明しなさい。

問 6. 次の ( ) の中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。

組織細胞化学には、酵素反応を組織上の反応産物として見る ( 1 ) と、特異抗体を用いて特定の分子の局在を見る ( 2 )、塩基配列の相補性を利用して核酸プローブで特有の DNA や RNA の局在を見る ( 3 ) がある。( 2 ) は抗体を蛍光物質、酵素、( 4 ) などで標識し、抗原との結合部位を蛍光、( 5 )、( 4 ) などの分布や局在として見る方法である。抗体は様々な抗原を特異的に認識する ( 6 ) であるが、( 2 ) において、抗体の良し悪しが最も重要である。良い抗体とは ( 7 ) と親和性がともに高い抗体をさす。

免疫電顕法では、固定条件が重要で、( 8 ) 以下でも ( 9 ) を加えると、形態の保持に効果がある。包埋前免疫電顕法と ( 10 ) 樹脂包埋法による包埋後免疫電顕法がよく行なわれている代表的な免疫電顕法である。

### 【語群】

- A. 糖質組織化学 B. 免疫組織化学 C. 酵素組織化学  
D. *In situ* hybridization E. アビジンビオチン F. 金属  
G. 酵素反応産物 H. アゾ色素 J. イムノプロット  
K. イムノグロブリン L. フォスファターゼ M. 0.1% N. 2.5%

O. タンニン酸 P. 四酸化オスミウム Q. グルタルアルデヒド  
 R. ELISA法 S. 特異性 T. 普遍性 U. LR White V. クエトール  
 問7. エポキシ樹脂の調製は通常 Luft の処方で行う。エポキシ当量が150  
 の場合の Luft の処方は以下の通りである。  
 A液 : Epon 812 71 ml DDSA 100 ml

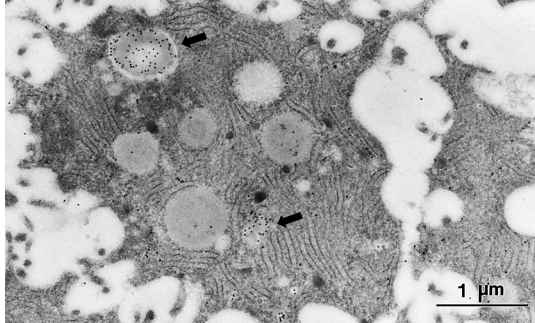
B液 : Epon 812 100 ml MNA 78 ml

この処方によって A : B = 3 : 7 の少し硬めの包埋剤を 100 ml 調整する  
 場合、Epon 812, DDSA, MNA の容量は各々どのくらいになるか、計算  
 しなさい。また、DMP-30 は何%加えればよいか、さらに DMP-30 を過剰  
 に加えると包埋剤はどのようになるのか、記しなさい。

**【選択問題】**

問8. 下の写真はあるタンパク質に対する抗体を使用して、動物の上皮細胞を免疫電顕法で観察したものである。可視化にはプロテイン A-金 (径 15 nm) を使用した。

標本ブロックは LR White 樹脂に包埋された。金粒子は細胞内のライソソーム様の顆粒内に多数見られた (矢印)。次の各設問に答えなさい。

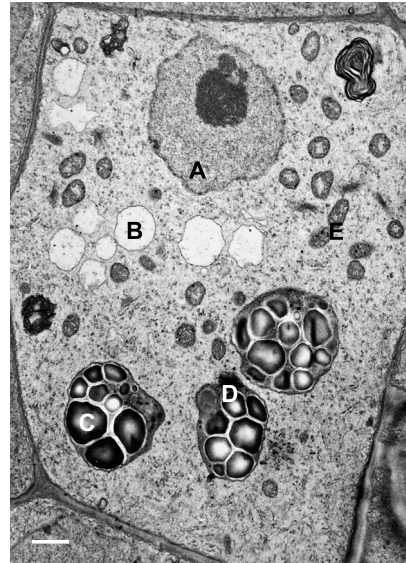


- この免疫電顕法は包埋前染色法か、あるいは包埋後染色法か、妥当な方を理由とともに解答欄に記しなさい。
- 包埋前染色法と包埋後染色法の操作手順として最も適切な語句を下記の語群より選び、それぞれ順に矢印でつなぎなさい。但し、語群の語句は両法で重複選択してもよい。  
 (例) 包埋前染色法 a → c → d → e → f → h  
 包埋後染色法 h → g → f → e → c → b → a

**【語群】**

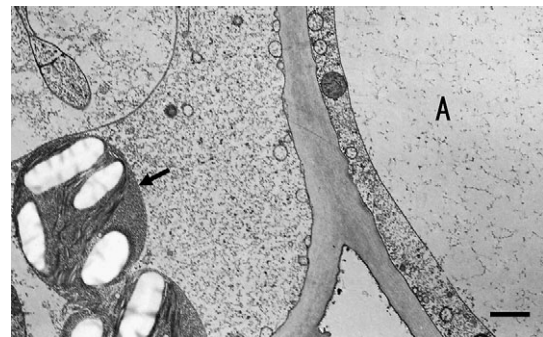
- 電顕観察
  - 超薄切
  - 包埋
  - 染色
  - 免疫反応と後固定
  - 脱水
  - 固定
  - 前処理 (抗原露出処置)
- プロテイン A-金が使用されるのは直接法か、間接法か、正しい方を解答欄に記しなさい。
- 問9. ラットを灌流固定して肝臓の透過電顕試料を作製したい。麻酔から樹脂包埋までの一連の手技を簡単に説明しなさい。

問10. 下の写真はシロイヌナズナ根冠のコルメラ細胞 (平衡細胞) とよばれる細胞の透過電顕像である。この細胞ではアミロプラスト (D) が重力方向 (写真下方向) に沈降することが知られている。次の各設問に答えなさい。スケールバーは 1 μm を示す。



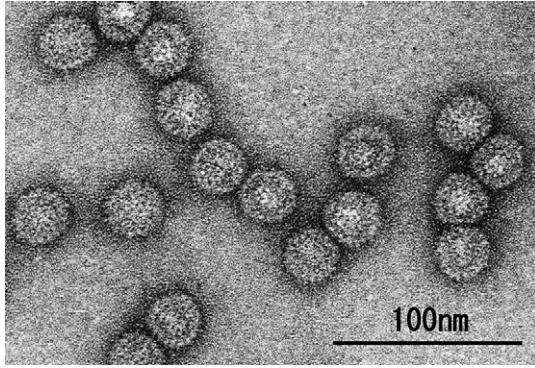
- 写真中の A, B, C, E の構造の名称を記しなさい。
- この図のように、重力方向に対応した細胞内構造の局在を観察するために、試料の固定から超薄切片作製までの過程で留意すべき点を一つ記しなさい。
- アミロプラストの沈降の他に、この写真の細胞にはどのような特徴が見られるか、二つ記しなさい。

問11. 下の写真はある植物組織中の隣り合う二つの細胞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 μm を示す。



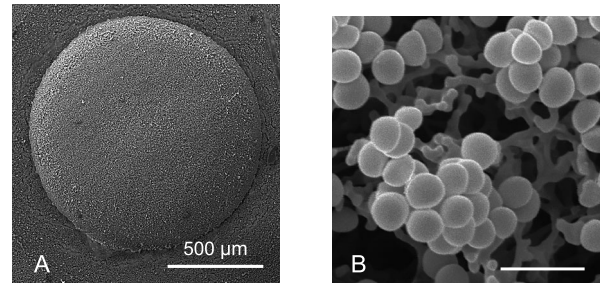
- 写真中の A と矢印の名称を記しなさい。
- A の形状からこの細胞の成育段階を推測し、50 字以内で記しなさい。
- 矢印の形状からこの細胞の生理状態を推測し、100 字以内で記しなさい。

問12. 下の写真はB型肝炎ウイルスコアの高倍率ネガティブ染色像である。次の各設問に答えなさい。



- 1) ネガティブ染色法に使用される染色剤を記しなさい。
- 2) ウイルスの構造を20万倍以上で観察するとき支持膜の選択が重要である。どのような支持膜を使用するのがよいか、支持膜の名称と要求される特徴を記しなさい。

問13. 下の写真は手指や鼻腔からよく分離される細菌の走査電顕像である。写真Aはコロニーの全体像、BはAの部分拡大像である。次の各設問に答えなさい。



- 1) 写真Aは寒天培地上のコロニーを金属コーティング法で観察している。試料作製の操作手順と培養時における留意点を具体的に述べなさい。
- 2) この細菌は特徴的な菌配列を示すことが知られている。形状から菌名を記しなさい。
- 3) 写真Bに示すスケールバーの長さはどのくらいか。次の中より選び、記号で答えなさい。

【ア. 20 μm イ. 10 μm ウ. 5 μm エ. 2 μm オ. 0.2 μm】

## 2009 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)

12 題の問題のうち、問 1～問 7 は全問解答し、問 8～問 12 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. 透過電子顕微鏡で以下のような像を観察したときに主として現れるコントラストの名称を記しなさい。さらに、それらのコントラストの成因を簡単に説明しなさい。

- 1) 場所により厚さが大きく異なる試料の正焦点像
- 2) 小さな円形の孔が多数あるカーボン膜試料の焦点はずれの像

問 2. 次の文章は電子の性質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。

電子は ( 1 ) としての性質とともに ( 2 ) としての性質も持つ。これらのうち、( 2 ) の性質に基づく現象として ( 3 ) と ( 4 ) がある。

電子源と ( 5 ) の少なくとも一方が障害物から ( 6 ) の距離にある場合に生じる ( 3 ) を ( 7 ) とよぶ。例として、不透明な半平面に電子線を ( 8 ) に入射させ、平面から ( 6 ) の距離にある面を観察する場合を考える。( 3 ) のために障害物の陰の部分にも電子線は回りこみ、平面の端では ( 3 ) した電子波と ( 9 ) 電子波とが ( 4 ) して強度の極大と極小を生じ、( 10 ) とよばれる ( 11 ) 模様を観察される。この ( 11 ) 模様は透過電顕像の ( 12 ) の確認に利用される。

一方、電子源と ( 5 ) が、障害物から ( 13 ) の距離にある場合に生じる ( 3 ) は ( 14 ) とよばれる。円形孔により生じる ( 14 ) では、( 15 ) のまわりに ( 16 ) 状の弱い ( 17 ) が現れる。( 15 ) の部分を ( 18 ) とよび、その直径は ( 19 ) に反比例し、電子の ( 20 ) に比例する。

### 【語群】

- ア. 入射 イ. 副極大 ウ. 回折 エ. 水平 オ. 孔径  
カ. 観察面 キ. 試料 ク. コイル ケ. 縞 コ. 干渉  
サ. 加速電圧 シ. 有限 ス. 垂直 セ. フラウンホーファー回折  
ソ. 波 タ. 同心円 チ. 粒子 ツ. エアリーディスク  
テ. 主極大 ト. 倍率 ナ. フレネル回折 ニ. 無限  
ヌ. 色収差 ネ. フレネル縞 ノ. レンズ ハ. 波長  
ヒ. ウェーネルト円筒 フ. 焦点 ヘ. 位相 ホ. 等厚干渉縞

問 3. 電子レンズの収差について、以下の設問に答えなさい。

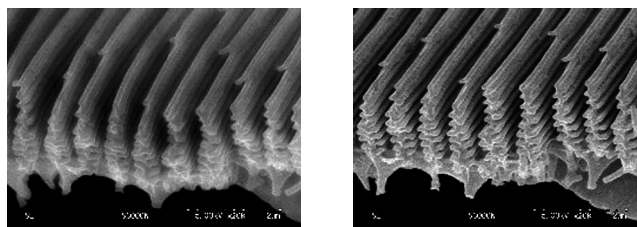
- 1) レンズの周辺部を通る電子線がレンズの軸近くを通る電子線よりも強く曲げられるために生じる収差を何とよぶか。
- 2) 電子線の波動性に基づく収差で、電子線の開き角が小さくなるにつれて大きくなる収差を何とよぶか。
- 3) レンズ励磁電流の変動や電子の初速度の広がり原因で生じる収差を何とよぶか。
- 4) 3) の収差を生じる別の原因を一つ記しなさい。
- 5) 絞りの汚れによる帯電が原因で生じる収差を何とよぶか。

問 4. 以下の試料のうち、支持膜の使用が必須なものすべてを語群より選び、記号で答えなさい。また、支持膜はどのように処理して使用するかを解答欄に記しなさい。

### 【語群】

- A. エボン切片 (肝臓) B. LR-White 切片 (腎臓)  
C. 凍結超薄切片 (肝臓) D. ウイルスのネガティブ染色  
E. フリーズレプリカ

問 5. 下記写真 A, B は、同一試料 (試料はモロフォ蝶の鱗片断面) の同一視野を孔径の違う対物絞りで観察したものである。孔径の小さい対物絞りで観察した写真を選び、記号で答えなさい。また、その理由を記しなさい。



A

B

問 6. 次の文章中の ( ) 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。

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より ( 3 )、( 4 )、特性 X 線、陰極光などが生じることが知られている。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 ) が使用されている。

大半の SEM には、複数の異なる孔径を有する ( 5 ) が備えられ、必要に応じて観察中に孔径を交換できる。この孔径は電子線の ( 6 ) を決定するもので、プローブ電流、( 7 )、( 8 ) に影響する。孔径が小さいほど ( 7 ) は高く ( 8 ) は深くなる。

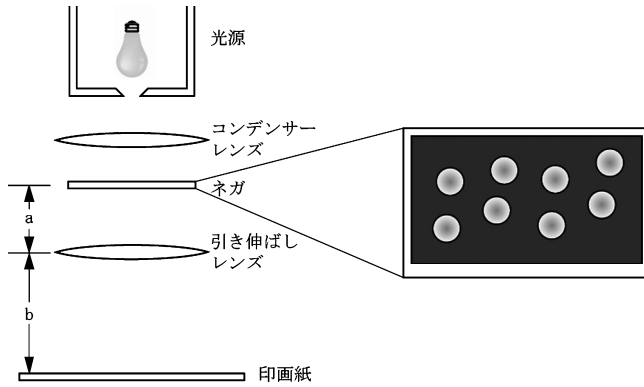
SEM では電子線径 (スポットサイズ) が小さいほど高い分解能が得られるが、そのためには電子銃の ( 9 ) を高く、対物レンズの ( 10 ) を小さくする必要がある。

### 【語群】

- A. 輝度 B. 収差 C. 対物レンズ D. 分解能  
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. 対物絞り  
M. 開き角 (照射角) N. コンデンサ絞り O. 反射電子  
P. タングステンヘアピン電子銃

問 7. 引き伸ばし機は図 (次ページ) に示すようなレンズ系で構成されている。透過電子顕微鏡で撮影した円形の試料のネガを引き伸ばした場合について、次の各設問に答えなさい。

- 1) ネガに写し込まれた  $2\ \mu\text{m}$  を示すスケールの長さは  $4\ \text{cm}$  であった。撮影倍率は何倍か。
- 2) 引き伸ばした写真に写し込まれたスケールの長さは  $12\ \text{cm}$  であった。引き伸ばし倍率は何倍か。
- 3) 円形の試料の直径を写真上で測定したら、 $1.2\ \text{cm}$  であった。この試料の実際の直径は何  $\mu\text{m}$  か。
- 4) 焦点距離  $90\ \text{mm}$  の引き伸ばしレンズを使用して 2) の倍率を得るとき、a と b の距離は何  $\text{cm}$  になるか。



**【選択問題】**

問8. 透過電子顕微鏡を使用して試料の3次元立体構造を得るための手法を二つ記しなさい。そのうちの一つについて、観察の手順を簡単に記しなさい。

問9. シャドウイング角度を $\theta$ とし、支持膜上に置いた微粒子のシャドウイングを行った。次の各設問に答えなさい。

- 1) 微粒子の高さを求めるために $\theta$ 以外に必要なものすべてを以下の語群より選び、記号で答えなさい。

**【語群】**

- A. 加速電圧 B. 電顕写真で蒸着されない部分の長さ  
C. 対物絞りの大きさ D. 倍率 E. 露出時間

2)  $\theta$ を変化させることによって期待できる効果を記しなさい。

3) シャドウイングに用いられる蒸着源は何か。その理由も記しなさい。

問10. 次の各設問に答えなさい。

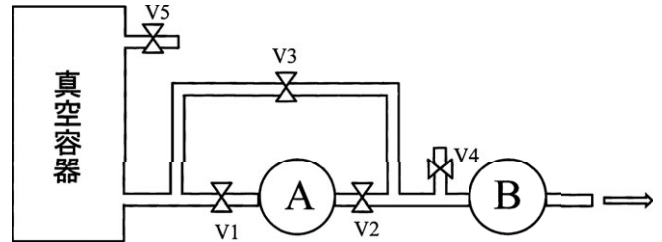
1) 走査電顕観察において、コーティングによる試料の導電処理がよく行われる。コーティングの方法を二つ記しなさい。

2) 1) で使用するコーティング材料を二つ記しなさい。

3) コントラストが低い試料を走査電顕観察するとき、試料を傾斜させるとコントラストを高めることができる。このような効果を何とよぶか。

4) 3) でコントラストが高まるのはなぜか。

問11. 油回転ポンプと油拡散ポンプを組み合わせ、真空容器の排気を行っている。V4とV5はリークバルブである。次の各設問に答えなさい。



1) 油回転ポンプはA, Bポンプのどちらか。

2) 冷却が必要なのはA, Bポンプのどちらか。

3) 粗排気中の真空度を測定するために通常、使用される真空計は何か。

4) 上記3)の真空計の測定範囲を以下から選び、記号を解答欄に記入しなさい。

- A)  $1 \sim 10^{-1}$  Pa, B)  $1 \sim 10^{-2}$  Pa, C)  $1 \sim 10^{-3}$  Pa

5) 停止時のバルブV1～V5のそれぞれの開閉状態を開か閉で記しなさい。

問12. EDSのメリット・デメリットをWDSと比較して、それぞれ一つ記しなさい。