

# 1997年度日本電子顕微鏡学会技術認定試験問題

## 特殊技術 I 筆記 (生物)

必須問題は問1～問6の全てに答え、選択問題は動物、植物、微生物の何れか2つから、各2問ずつ選択すること。

### 生物必須問題

問 1. ダイヤモンドナイフ使用上の注意点を述べよ。

問 2. 急速凍結法で凍結状態の良い層を厚くするための工夫を凍結装置側と試料側に分けて列挙せよ。

問 3. 氷包埋法によりタンパク質のような生体高分子の構造を観察する手順を簡条書きで説明せよ。

問 4. 免疫電顕法で使用されるコロイド金標識抗体について、以下の各文の正誤を判定し、正しい場合には解答欄の数字に○を付し、誤っている場合はその理由を記せ。

- 1) PBS に溶かし、 $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存したコロイド金標識抗体を解凍して使用し、残りを再度凍結保存した。
- 2) 冷蔵 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 保存するときはアジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ ) を添加しておく。
- 3) 超薄切片の免疫電顕法に頻用されるのは直径 20~40 nm の金粒子である。
- 4) 粒径の小さい金粒子は直接観察できないが、鉛増感法を用いれば観察可能となる。
- 5) 粒径の異なるコロイド金標識抗体をもちいて二重標識をおこなうことができる。

問 5. 走査電顕観察の際に試料を施す一般的な導電法を2種類あげ、それぞれの特徴を各々3つあげよ。

問 6. 次の文は凍結超薄切片法 (徳安法) について記した

ものである。下線部 (1)~(5) について以下の問いに答えよ。

まず試料を適切な固定液で固定する。細切した試料に<sup>(1)</sup> (2) を浸透させた後、凍結切片用ウルトラマイクロトームの試料台にのせて液体窒素により凍結する。凍結した試料は液体窒素から出し、<sup>(3)</sup> 光顕用切片では  $-60^{\circ}\text{C}$ 、電顕用切片では  $-90\sim-110^{\circ}\text{C}$  に設定した凍結超薄切片用ウルトラマイクロトームの試料ホルダーに装着する。切削は試料温度が試料ホルダーの温度とほぼ一定になってからおこなう。<sup>(4)</sup> 切片は後に免疫染色をおこなう場合には (5) の液滴によって支持膜を貼ったグリッド上に回収する。

- (1) 上記の方法ではなぜ試料を固定する必要があるのか、あるいは無固定試料ではどのような不都合を生じるのかを答えよ。
- (2) あてはまる溶液 (組成、濃度も含めて) を1つ述べよ。
- (3) なぜ、より凍結速度の速い液体プロパン、液体ヘリウムなどを用いる必要はなく液体窒素でよいのか。
- (4) 試料温度が試料ホルダーの設定温度になるまでに切削を始めると、どのような不都合が生じるのか述べよ。
- (5) 適当な溶液の組成、濃度をあげよ。



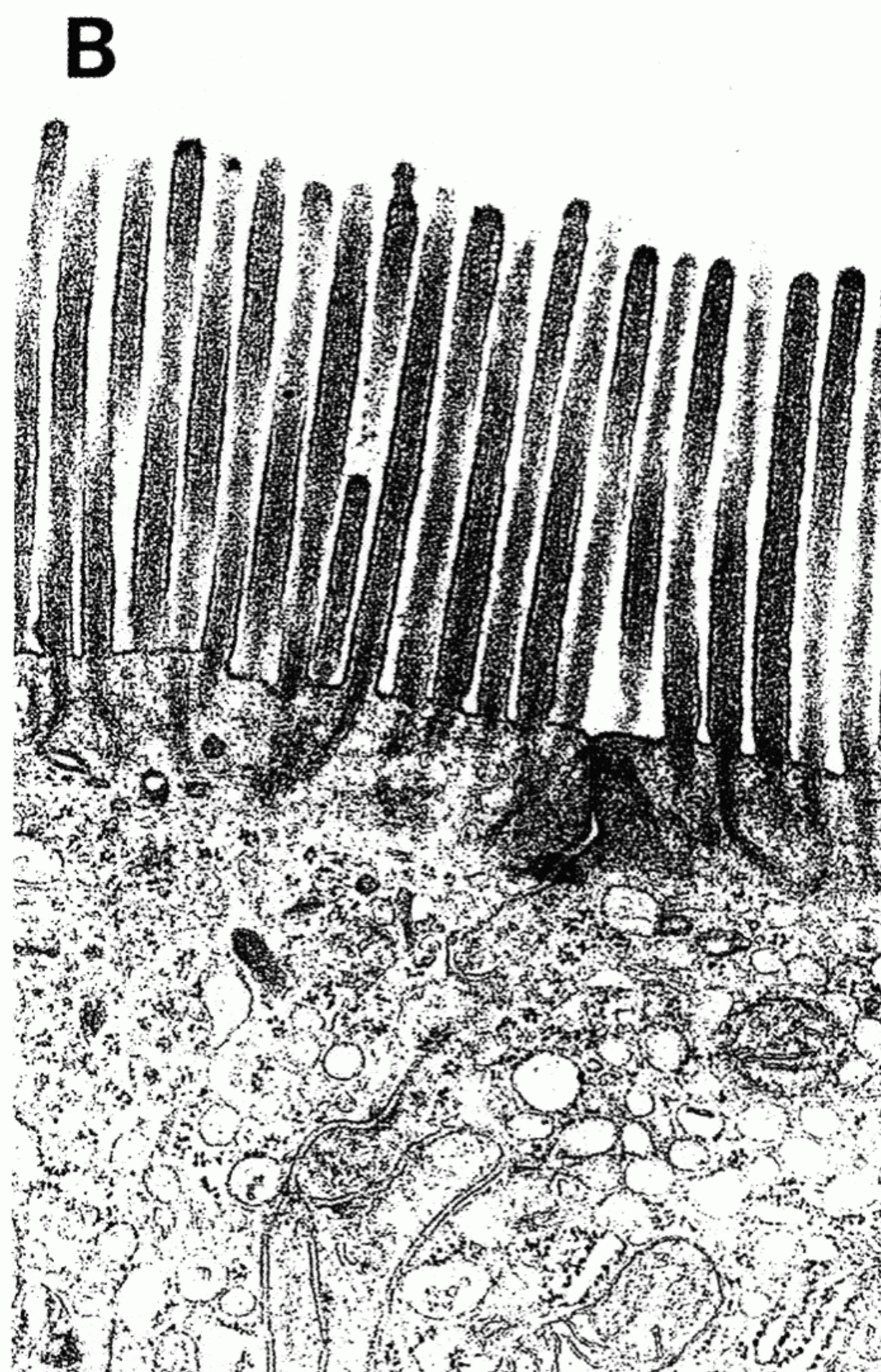
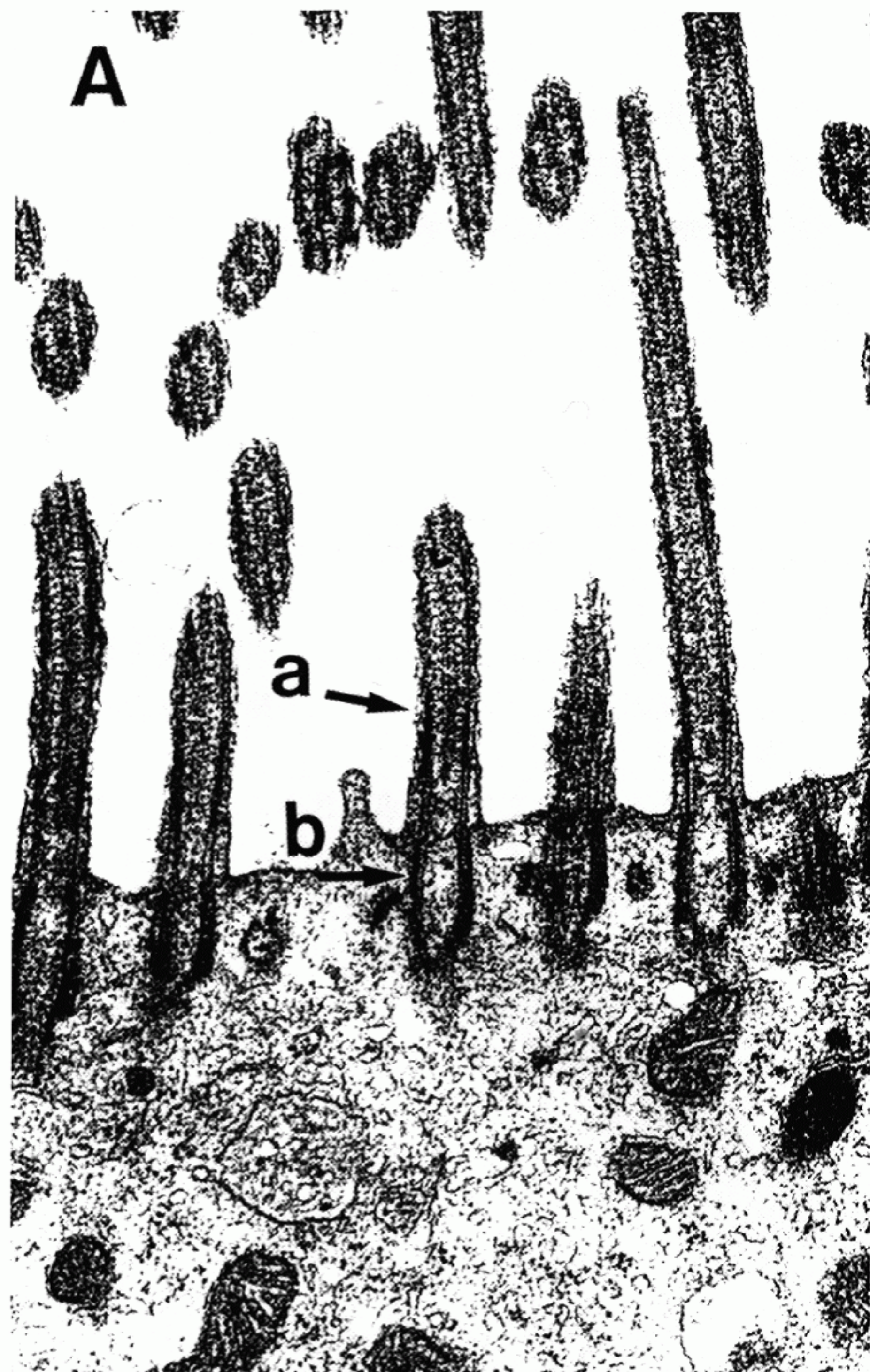
## 生物選択問題（動物）

問 1. A, B は動物細胞の一部の電顕写真である. 下記の設問に答えよ.

- (1) 写真 A, B にみられる細胞突起は各々なにか.
- (2) 写真 A, B に見られる突起の中に存在する細胞骨格の主な成分は各々なにか.

(3) 写真 A, B の構造が多く認められる動物細胞の例を各々 2 つあげよ.

(4) 写真 A における矢印部位 (a および b) の輪切りの構造を図示せよ.

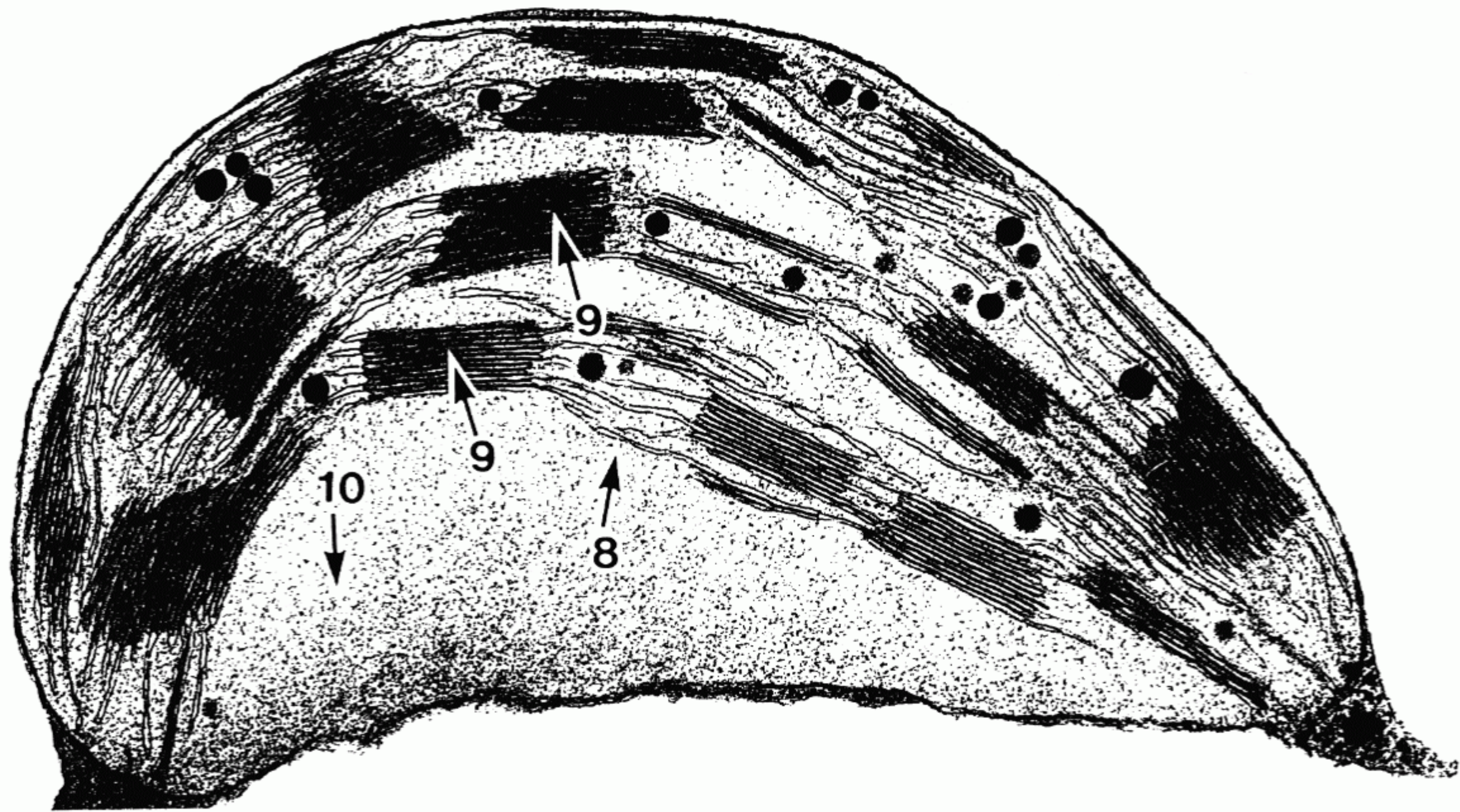
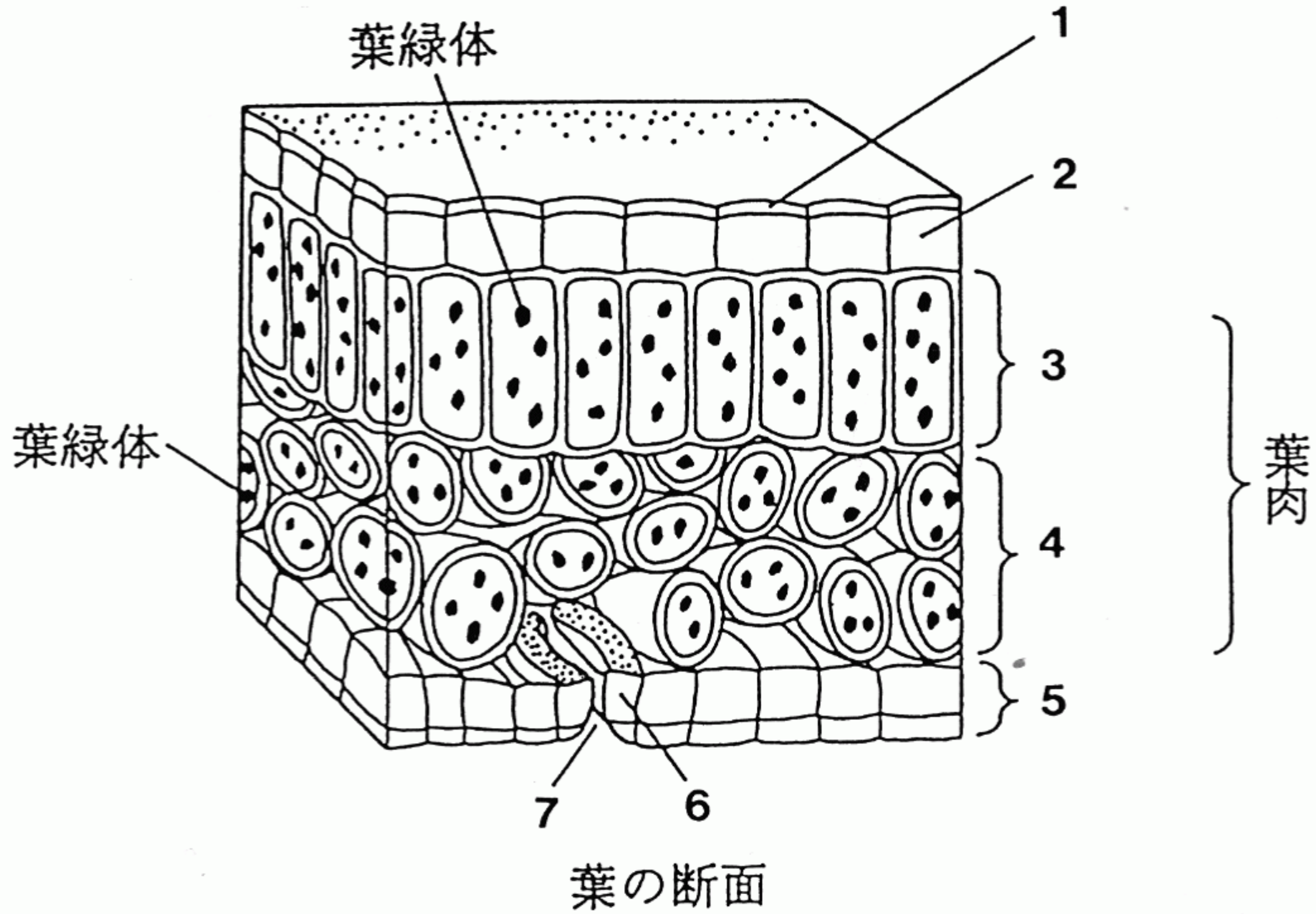


問 2. すい臓の外分泌細胞の透過電顕像を図示し, アミラーゼの局在を明らかにする方法を記せ.



生物選択問題（植物）

問 1. 高等植物葉縦断面の模式図と葉緑体切片像である。  
番号の部位の名称を解答欄に記せ。



問 2. 高等植物細胞について次の問に答えよ。

- 1) 細胞中の液胞の機能を3つあげよ。
- 2) 細胞質の分裂過程を以下に示す用語を用いて簡潔に説明せよ。

(用語) 微小管, 核分裂, ゴルジ装置, ゴルジ小胞, 細胞板 (cell plate)



## 生物選択問題（微生物）

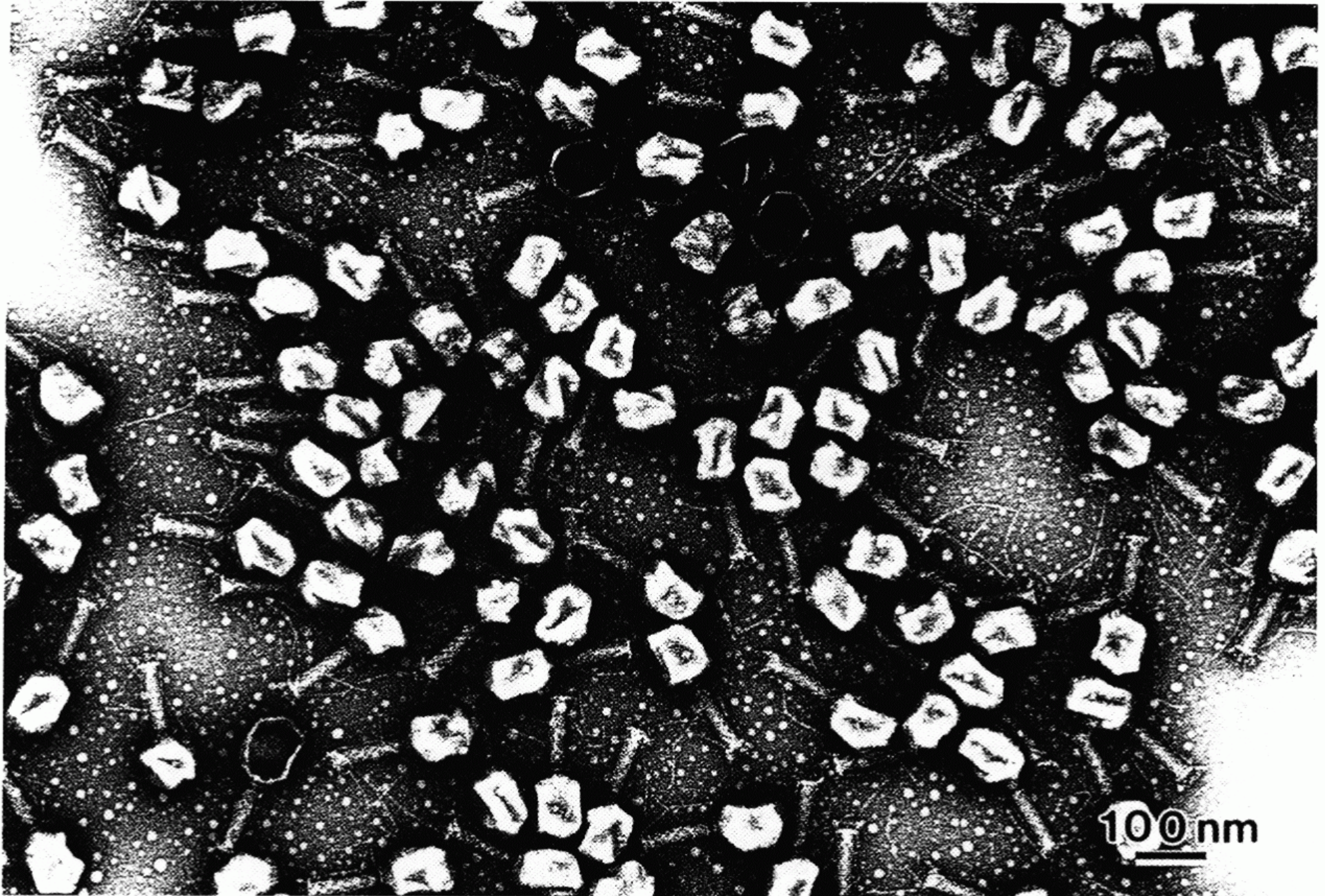
問 1. 電顕写真について次の問に答えよ.

1) 試料は何か.

2) この試料作製の方法は何か.

3) その試料作製の手順を述べよ.

4) この写真には問題点がある. さらに良い電顕像を得るにはどうすれば良いか, 改良点を2つ述べよ.



問 2. ある酵母細胞を通常のグルタルアルデヒド前固定, 四酸化オスミウム後固定をしたのち, エポキシ樹脂に包埋して超薄切片法で観察したところ細胞内が全体的に暗く, 細胞構造がよく観察できなかった. 細

胞構造が明瞭に観察できなかった理由を一つ述べよ. さらに, 細胞構造をどうしたら明瞭に観察できるか, 試料の固定法に留意して記せ.