

1998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)

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問を選んで解答せよ．なお，選択しなかった問の解答欄には×印を記入せよ．

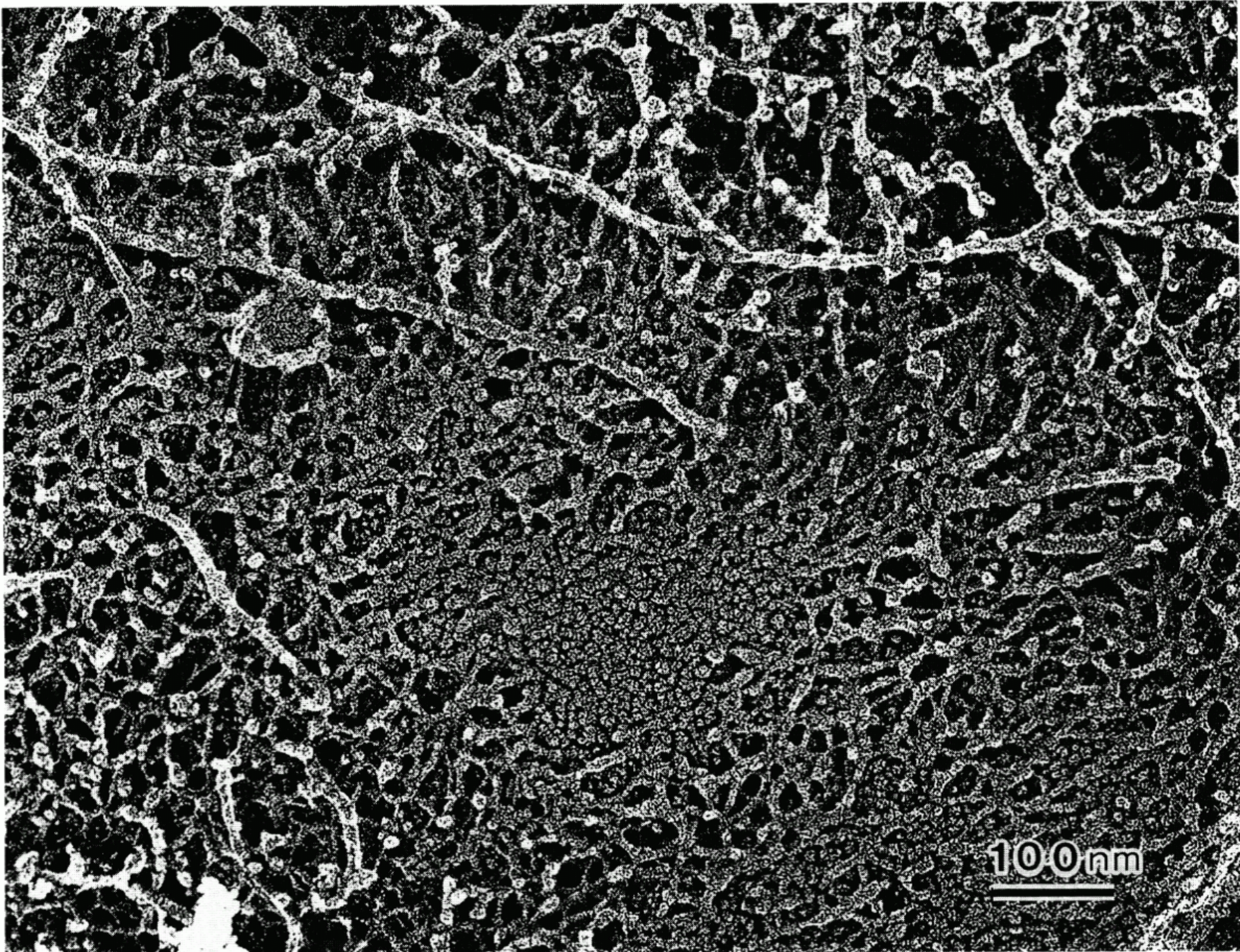
生物必須問題

問 1. 微小管に関する次の各設問に答えよ．

- 1) 細胞内の他の細胞小器官と比べて，微小管の発見（動・植物細胞とも1963年）は遅れた．その理由を簡潔に記せ．
- 2) 微小管の機能を3つ記せ．

問 2. 下の写真はある動物の赤血球膜を細胞質側から見た電顕写真である．次の各設問に答えよ．

- 1) この試料はどのような方法を使って作製したのか，その方法の名称を述べよ．
- 2) その方法について試料作製から電顕観察までの手順の要点を箇条書きで記せ．ただし赤血球膜分画はすでに手元にあるものとして良い．



問 3. 走査電顕観察の際に像の“流れ”を生じる原因を2つあげ，それぞれについて対策を一つあげよ．

問 4. グルタルアルデヒドに関する各設問に答えよ．

- 1) グルタルアルデヒドは，生物試料の固定に最も普遍的に用いられている．どのようなしくみにより細胞および組織が固定されるか．

- 2) 開封後しばらく貯蔵したグルタルアルデヒドを用いた固定液では，ミトコンドリアの膨化が見られた．考えられる原因を述べよ．
- 3) 古くなったグルタルアルデヒドを見分けるにはどのようにすれば良いか．
- 4) 古くなったグルタルアルデヒドを再生するにはどのように

にすれば良いか。

問 5. エポキシ樹脂に包埋した試料から作製した準超薄切片に HE 染色などの通常の光顕用染色を施す場合は脱樹脂をおこなうが、その方法を一つ述べよ。

生物選択問題

問 7. 動物組織の化学固定には浸漬固定と灌流固定の2種類がある。それぞれについて (1) 方法を簡単に解説し、(2) 利点 (長所)、(3) 欠点 (短所) を述べよ。また、(4) 灌流固定ができない材料の例をあげ、その理由を述べよ。最後に (5) 浸漬固定の欠点を補うものとしてマイクロウェーブを利用した固定法が知られている。その利点を述べよ。

問 8. 脳下垂体前葉における成長ホルモンの局在を調べるために、免疫電顕法 (包埋後染色法) を施した。下線の部分について次の各設問に答えよ。

組織をホルムアルデヒドと四酸化オスミウムで固定後、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片を作製した。切片を①ニッケルグリッドに載せ、②5%過酸化水素水で10分間処理した。蒸留水で洗浄後、切片を③1%BSA (牛血清アルブミン)-PBS (リン酸緩衝生理食塩水) で30分間処理した。適切に希釈したウサギ抗成長ホルモン抗体と 4°C で一晩反応させ、1%BSA-PBS で洗浄した。④Protein A-gold と 37°C で1時間

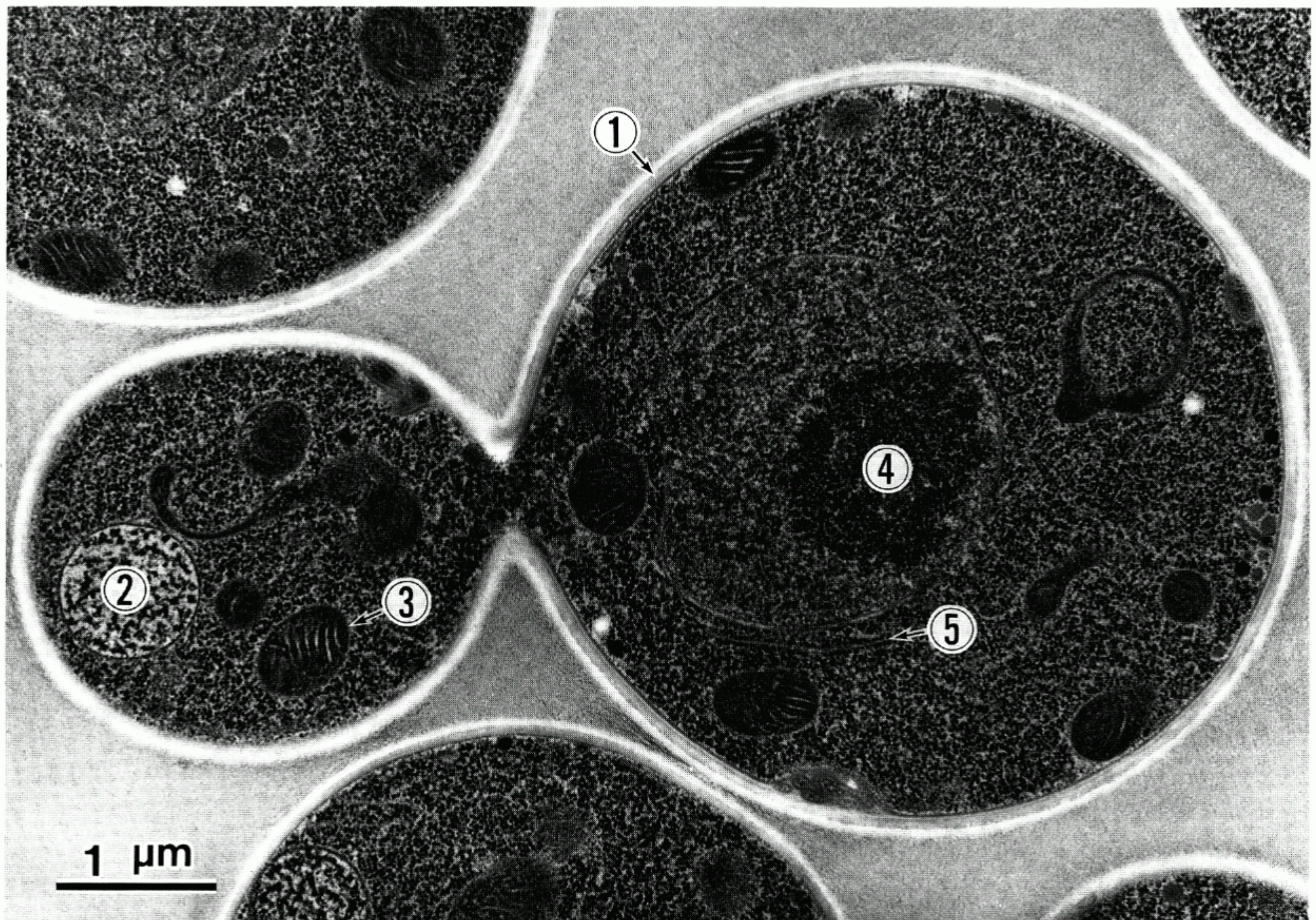
問 6. ネガティブ染色用染色に用いる酢酸ウラニル溶液とリンタングステン酸ナトリウム溶液の、(1) 調製法 (使用濃度および pH を含む) と、(2) 染色手順を記せ。

反応させた後、PBS で洗浄した。⑤2.5%グルタルアルデヒドで15分間固定した。蒸留水で洗浄後、電子染色をおこない電子顕微鏡で観察した。

- 1) ①でニッケルグリッドを用いた理由を述べよ。
- 2) ②で過酸化水素水を用いた理由を述べよ。
- 3) ③で1%BSA-PBS を用いた理由を述べよ。
- 4) ④の Protein A は抗体 (IgG) のどの部分と反応するのか。
- 5) ⑤でグルタルアルデヒドを用いた理由を述べよ。

問 9. 写真は急速凍結置換固定法を用いて観察した酵母細胞の超薄切片像である。次の各設問に答えよ。

- 1) ①~⑤の名称を記せ。
- 2) このような写真を撮るための、試料の採取から電顕観察までの具体的な手順を詳しく述べよ。
- 3) 通常のグルタルアルデヒド、四酸化オスミウム固定法で得られる像と比較して、異なる点をできるだけ多く述べよ。



問 10. 鞭毛をもつ細菌の全体像を得る方法を2つあげ、その手順を述べよ。

問 11. 植物細胞の細胞骨格に関する次の各設問に答えよ。

- 1) 植物細胞に存在する微小管を観察したい。微小管を良好に保持するための固定の要点を3つ述べよ。
- 2) 細胞壁構築の際の微小管の役割を述べよ。
- 3) 原形質流動の一般的なしくみを簡潔に述べよ。

問 12. 写真はインゲンマメ子葉の超薄切片像である。次の各設問に答えよ。

- 1) ①の構造は何か。
- 2) 細胞小器官に見られる②と⑤の構造は何か。
- 3) ③と④の細胞小器官は何か。
- 4) ③と④の細胞小器官の機能について述べよ。
- 5) ⑤の構造が形成される条件を述べよ。

