

## 2011 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. 直径のサイズで正しいのはどれか。

- A. 中間径線維 — 約 15 nm
  - B. リボソーム — 約 20 nm
  - C. 微小管 — 約 25 nm
  - D. 核膜孔 — 約 30 nm
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. 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. ゴルジ装置
  - D. リボソーム
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3. 細胞小器官で正しいのはどれか。

- A. ミトコンドリアは固有の DNA をもち自己増殖ができる
  - B. 酵母では液胞がライソソームの働きを示す
  - C. 自由リボソームは細胞質にのみ存在する
  - D. ゴルジ装置のシス側で分泌顆粒が形成される
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4. 細胞分裂で正しいのはどれか。

- A. 有糸分裂と無糸分裂がある
  - B. 細胞質分裂と核分裂は同時に起こる
  - C. 核膜は分散する
  - D. 染色体の移動には中間径線維が関与している
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5. 透過電顕写真では細胞膜が三層構造として観察され、外側から順に外葉、中間葉および内葉と呼ぶ。正しいのはどれか。

- A. 細胞膜はタンパク質二重層である
  - B. 細胞膜は脂質三重層である
  - C. 中間葉は他に比べて電子密度が低い
  - D. 外葉は脂質の親水性末端である
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6. グルタルアルデヒドで正しいのはどれか。

- A. 1%水溶液の浸透圧は約 300 mOsm である
  - B. 紫外線吸収スペクトルで 280 nm のピークをもつ
  - C. 組織浸透速度がアルデヒド系固定剤で最も速い
  - D. アルデヒド基を二つもつ
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7. 四酸化オスミウムで正しいのはどれか。

- A. 不飽和脂肪酸をよく固定する
  - B. 揮発性がある
  - C. 常温で黒色の針状結晶である
  - D. 分子量は約 100 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8. タンパク質をよく固定するのはどれか。

- A. 四酸化オスミウム
  - B. グルタルアルデヒド
  - C. 過マンガン酸カリウム
  - D. 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. 緩衝液の役割として正しいのはどれか。

- A. 固定剤を活性化する

B. 固定液の浸透圧の調整に役立つ

- C. 固定液の pH を一定に保つ
- D. タンパク質に対する固定効果をもつ

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10. 8%パラホルムアルデヒド水溶液 100 ml を作製する手順で正しいのはどれか。

- A. フラスコに 8 g のパラホルムアルデヒドを入れる
- 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. 1 N 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11. 酸素で重合が阻害される樹脂はどれか。

- A. Lowicryl K4M
- B. Araldite
- C. Epon 812
- D. LR White

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. 包埋後染色法で免疫染色性がよい樹脂はどれか。

- A. Epon 812
- B. LR White
- C. Styrene 樹脂
- D. 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13. 試料処理で誤っているのはどれか。

- 1. 低濃度エタノール脱水は低温で行う
- 2. アクリル系樹脂の脱水にはアセトン进行を避ける
- 3. アセトンはエタノールよりも吸湿しやすい
- 4. アセトン脱水後は、置換剤を使用せずにエポキシ樹脂に包埋できる
- 5. エタノール脱水中に最も抽出されやすいのはタンパク質である

問14. 置換剤はどれか。

- A. エタノール
- B. 酸化プロピレン
- C. DMP-30
- D. n-ブチルグリシジルエーテル (QY-1)

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. 厚さ 70 nm のエポキシ樹脂切片の干渉色はどれか。

- 1. 紫色
- 2. 金色
- 3. 銀色
- 4. 青色
- 5. 緑色

問16. 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使用した
- B. 樹脂の重合が不完全である
- C. 試料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17. 薄切時にブロック試料面に水滴がつく原因はどれか。

- A. 樹脂が疎水性である

- B. ポートの液面が刃先より高い  
 C. ナイフの逃げ角が小さすぎる  
 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 18. 超薄切片作製で誤っているのはどれか。

1. 60～80 nm の厚さの切片を扱うことが多い  
 2. 空気流が大きく影響する  
 3. 輻射熱は影響を及ぼさない  
 4. ダイヤモンドナイフのクリーニングには10% NaOHを使用するのがよい  
 5. ダイヤモンドナイフの親水化処理はイオンスパッタ装置を使用する

問 19. グリッドと試料支持膜または切片との接着性を高めるために有効な処理はどれか。

- A. グリッドにカーボン蒸着する  
 B. グロー放電によりグリッドの表面を処理する  
 C. グリッドを温める  
 D. ネオプレンゴムのトルエン溶液をグリッドに滴下する  
 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. 電子染色効果をもつのはどれか。

- A. 酢酸ウラニル  
 B. 四酸化オスミウム  
 C. タンニン酸  
 D. 炭酸鉛  
 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. 酢酸ウラニルで正しいのはどれか。

- A. 二酸化炭素が混じると沈殿を生じる  
 B. リン酸緩衝液に溶解して使用する  
 C. アルコールに溶ける  
 D. 核質をよく染める  
 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. 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 23. 準超薄切片の作製の手順で正しいのはどれか。

- A. 片刃のカミソリで試料ブロックをトリミングする  
 B. ガラスナイフで荒削りした後、新しいナイフで厚さ0.5～1.0 μmの切片を作製する  
 C. ウルトラミクロトームに装着し、面合わせをする  
 D. 0.5～1%トルイジンブルー染色液を切片上に滴下し、加温染色する  
 E. 切片をスライドガラスの水滴上に移し、ホットプレート上で乾燥させる  
 1. ABCDE 2. ACBDE 3. ACBED  
 4. ADBEC 5. AEBDC 6. AECBD

問 24. 超薄切片のコントラストを高める対策で正しいのはどれか。

- A. 弱い電子線をしばらく照射する  
 B. 加速電圧を下げる  
 C. 試料に薄くカーボンを蒸着する  
 D. 対物絞りの孔径を小さくする  
 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 25. 2万倍で撮影したネガを1.4倍に引き伸ばした。このプリントに1 μm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。数値を解答欄に記せ。

問 26. 細胞化学法で正しいのはどれか。

- A. 四酸化オスミウムは酵素を失活させる  
 B. 酵素細胞化学の固定にはパラホルムアルデヒド単独がよい  
 C. ホスファターゼ酵素検出にはリン酸緩衝液を使用する  
 D. ジアミノベンチジン (DAB) 重合物は四酸化オスミウムと反応する  
 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 27. 物質を同定する方法で正しいのはどれか。

- A. タンパク質 — 抗体を使用した免疫電顕法  
 B. 核酸 — 核酸プローブを使用した *in situ* hybridization 法  
 C. 糖類 — プロテイン A を使用したオートラジオグラフィ法  
 D. 脂質 — 四酸化オスミウムを使用したフリーズレプリカ法  
 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 28. 包埋前染色法の手順で正しいのはどれか。

- A. 4%パラホルムアルデヒド液で固定  
 B. 超薄切片作製  
 C. エポキシ樹脂包埋  
 D. 免疫反応  
 E. 電顕観察  
 1. ABCDE 2. ACBDE 3. ACBED  
 4. ADBEC 5. ADCBE 6. AECBD

問 29. ペルオキシダーゼ標識抗体法を使用した免疫電顕法で正しいのはどれか。

- A. オスミウムブラックを観察している  
 B. 内因性ペルオキシダーゼ活性は検出できない  
 C. アルブミンでブロッキングを行うと、抗体の非特異的反応が抑えられる  
 D. 多重染色を行うことができる  
 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 30. 免疫電顕法でよく使用されるコロイド金粒子の径はどれか。

1. 0.1～1 nm  
 2. 1～50 nm  
 3. 50～100 nm  
 4. 100～200 nm  
 5. 200～500 nm

問 31. 急速凍結法で正しいのはどれか。

- A. 氷晶は凍結速度が速いと大きくなる  
 B. 冷媒は沸点と融点の差が大きいものがよい  
 C. 浸漬法の場合、気化した冷媒の気体は試料の冷却を妨げる  
 D. 金属圧着法の場合には金属の表面積を増加させるために表面は凹凸にする  
 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 32. 氷包埋法で正しいのはどれか。

- A. 生体高分子を溶液中の分子形態を保ったまま観察できる  
 B. グリッドに滴下した試料溶液を直ちに浸漬凍結し厚みのある氷を作製する  
 C. 液体エタンは試料溶液の浸漬凍結には適さない  
 D. 最少電子線照射による観察を行うことが重要である  
 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 33. オートラジオグラフィで正しいのはどれか。

- A. 分解能は乳剤の種類と切片の厚さに依存する  
 B. β線は高エネルギーである  
 C. ラジオアイソトープの半減期は放射能活性が半分になる期間である  
 D. 主な放射性核種の一つに<sup>35</sup>Sr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 34. 走査電顕試料を金属コーティングする目的で正しいのはどれか。

- A. 試料表面に導電性を与える  
 B. 二次電子の発生量を増す

C. 試料の組成の違いを際立たせる

D. 試料の内部構造を観察する

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. 走査電子顕微鏡で高分解能を得るための操作はどれか。

- A. 照射電流を多くする  
B. 対物可動絞りの孔径を小さくする  
C. コーティング金属を薄くする  
D. 試料を対物レンズに近づける

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. 正しいのはどれか。

- A. 磁界と平行に進む電子の軌道は変わらない  
B. 電界と同じ向きに進む電子は加速される  
C. 回折収差は電子の波動性に起因する  
D. 円形孔のフラウンホーファー回折像の主極大部をクロスオーバーと呼ぶ

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. 透過電顕像の収差で正しいのはどれか。

- A. 試料が厚いと色収差により像のボケが大きくなる  
B. 試料が厚いと球面収差により像のボケが大きくなる  
C. 観察倍率が低いと歪像収差により像のボケが大きくなる  
D. 加速電圧が低いと回折収差により像のボケが大きくなる

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 38. 透過電顕像で非点収差が発生するのはどれか。

- A. 対物絞りが帯電した  
B. ウェーネルト電極が帯電した  
C. 試料が帯電した  
D. 主蛍光スクリーンが帯電した

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 39. 正しいのはどれか。

- A. ショットキータイプ電界放出型電子銃のエミッタ材料はLaB<sub>6</sub>である  
B. 超高真空環境下でなければ熱電子放出型電子銃の安定動作は得られない  
C. ウェーネルトバイアス電圧を大きくする（深くする）とビームが暗くなる  
D. コールドタイプ電界放出型電子銃ではトンネル効果で電子が放出される

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 40. 透過電顕像のコントラストで正しいのはどれか。

- A. 同じ材質の試料では厚さの差による散乱コントラストは生じない  
B. 対物絞りを小さくすると散乱コントラストが高まる  
C. 位相コントラストは焦点はずれ量に依存する  
D. 電子染色は位相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 41. 走査電顕像のコントラストで正しいのはどれか。

- A. 試料の突起部分は平坦な部分よりもコントラストが高くなる  
B. チャージアップはコントラストに影響しない  
C. 試料を傾斜させるとコントラストが高くなる  
D. 作動距離を短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. 試料コーティング法で正しいのはどれか。

- A. イオンスパッタ法は陰極側に試料を置く  
B. イオンビームスパッタ法は蒸着金属のイオンビームを試料に直接照射する  
C. 電子線加熱法は真空中で電子線を蒸発用金属に照射して加熱する  
D. 抵抗加熱法は真空中で金属あるいはカーボンに通電して加熱する

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 43. グリッドで正しいのはどれか。

- A. スリットメッシュは連続切片の観察に適さない  
B. 種類にはハンドルグリッド、ダブルグリッド、単孔メッシュがある  
C. 材質には銅、ニッケル、カーボン、ナイロンがある  
D. メッシュの網目の大きさは1mm長に含まれる孔の数で表す

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 44. 生物切片の透過電顕観察中での電子線損傷を少なくする方法はどれか。

- A. 加速電圧を高くする  
B. 照射電流密度を大きくする  
C. 試料を冷却する  
D. 照射時間を短くする

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 45. デジタル画像で正しいのはどれか。

- A. 1GByte (GB) は10<sup>3</sup>KByte (KB) である  
B. 256階調の表記には8bitが必要である  
C. dpiは1インチあたりのドット数を表す  
D. 同じ画素数の白黒画像もカラー画像も情報量は同じである

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 46. フィルムの現像処理で正しいのはどれか。

- A. 現像液は一定の温度を保たねばならない  
B. 現像液は酸性である  
C. 定着時間は長いほどよい  
D. 乾燥は60°C以下で行う

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 47. 走査電子顕微鏡で作動距離を短くしたときの効果で正しいのはどれか。

- A. 分解能が高くなる  
B. 電子線の開き角が小さくなる  
C. 焦点深度が浅くなる  
D. 焦点距離が長くなる

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 48. 走査電子顕微鏡の加速電圧設定で正しいのはどれか。

- A. スポットサイズを小さくするために高加速電圧にした  
B. 試料損傷を低下させるために高加速電圧にした  
C. 二次電子放出効率を向上させるために高加速電圧にした  
D. チャージアップ現象を低下させるために低加速電圧にした

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. 元素分析の方法で正しいのはどれか。

- A. 凹凸のある試料をWDSで分析した  
B. 多元素同時マッピングを行うためEDSを使用した  
C. 絶縁物の分析を行う場合は金を蒸着する  
D. WDSはEDSに比べプローブ電流を多くする

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 50. 走査プローブ顕微鏡で正しいのはどれか。

- A. 走査トンネル顕微鏡は水中の試料を観察できない  
B. 原子間力顕微鏡は水中の試料を観察できる  
C. コンタクトモードは試料へのダメージが最も小さい  
D. 共振モードは力の変化を振幅の変位量として測定する

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

## 2011 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 は全問解答し、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. 次の ( ) の中で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 (10 点)。

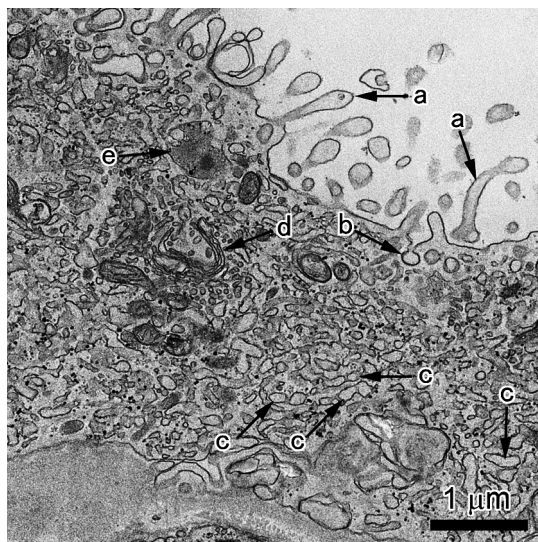
核膜で囲まれた核は、( 1 ) やラン藻などの ( 2 ) には存在しない。また、哺乳類の ( 3 ) のように消失しているものもある。核はふつう細胞 1 個あたり 1 個であるが、( 4 ) では 2 個あることがあり、また、( 5 ) では多数存在する。

核は内外 2 枚のそれぞれ厚さ約 ( 6 ) の単位膜からなる核膜でおおわれている。2 枚の膜の間には ( 7 ) のスペースがある。核膜には直径 ( 8 ) の孔があり、核と細胞質を連絡し、種々の物質が核内外に移行する。外側の核膜は、ときに ( 9 ) とつながっていることがある。核の中には 1 個ないし数個の ( 10 ) が存在する。

#### 【語群】

A. ウイルス B. 赤血球 C. 上皮細胞 D. 原核生物 E. 肝細胞  
F. 核小体 G. 骨格筋 H. 白血球 J. 細菌 K. 中心体  
L. 真核生物 M. ゴルジ装置 N. 小胞体 P. 8 nm Q. 16 nm  
R. 20～50 nm S. 50～100 nm T. 100～150 nm

問 2. 以下の文章は胎盤絨毛の透過電顕写真の説明である。a～e の構造名を記しなさい (10 点)。



頂上側には ( a ) が観察される。細胞膜の一部が陥入し、( b ) の形成を認める。細胞内は、( c ) がよく発達している。また、数層の層板からなる ( d ) も観察される。その上方に、エンドソーム膜がさらに内向きに陥入して形成される小さな腔内膜小胞を含む ( e ) を認める。

問 3. 下記固定法の手技および長所と短所を説明しなさい (10 点)。

問 4. 以下の文章は酵素細胞化学について記述したものである。次の設問に答えなさい (10 点)。

酵素細胞化学法は、生体における酵素の局在を微細構造と酵素活性の両方を保持しながら、酵素自身の活性を利用して、反応液中の基質を分解し、反応産物を重金属などでその場に電子密度の高い沈着として捕捉すること

により可視化し、電顕観察する方法である。その手技の注意点として、基本的には形態観察を目的とする操作手順に準じるが、途中で酵素反応を行う必要がある。酵素反応を実施する際、1) 反応液に浸漬する試料の厚みは、マイクロスライサーやクライオスタットなどで 40 μm の組織切片を目安にして反応させる。 反応液に浸漬する際、基質の pH や浸透圧に留意するよう努めるが、反応温度は一般に ( A ) °C、反応時間は ( B ) 分間くらいを目安に反応させる。また酵素反応が標的酵素の分布局を示しているか否かについては 2) 対照実験により確認する必要がある。

- ( ) の中であてはまる適当な数値を記しなさい。
- 下線部 1) の理由を述べなさい。
- 下線部 2) としてどのような実験が必要か一例をあげなさい。
- 免疫組織化学法でも酵素の局在を検出することができるが、両者の違いを述べなさい。

問 5. 以下の文章は免疫電顕法について記述したものである。( ) の中で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 (10 点)。

免疫電顕法の固定では微細構造と抗原性の保存が要求される。これらの要求を満たすため、( 1 ) を主成分とする固定液が通常、使用される。包埋前染色法では組織を固定後、スライスして一次抗体を反応させる。二次抗体としては ( 2 ) を使用することが多い。DAB (ジアミノベンチジン) 反応産物は、四酸化オスミウムで後固定することによって電子密度の高い ( 3 ) を形成する。脱水後、( 4 ) 樹脂に包埋して超薄切片を作製する。( 3 ) は ( 5 ) 染色によるコントラストの増加と似ているので、最初は電子染色を行わずに電顕観察をする。反応陽性部位を確認した後、必要であれば電子染色を行う。包埋後染色法では、固定をした組織を脱水して、( 6 ) 樹脂や ( 7 ) 樹脂に包埋する。前者は ( 8 ) 重合を、後者は ( 9 ) 重合を行うことが多い。超薄切片に一次抗体、標識抗体を反応させた後、電顕観察する。標識抗体は ( 10 ) を使用することが多い。

#### 【語群】

A. グルタルアルデヒド B. ホルムアルデヒド C. アクロレイン  
D. 四酸化オスミウム E. 金コロイド標識抗体 F. 蛍光標識抗体  
G. ペルオキシダーゼ標識抗体 H. フェリチン標識抗体 J. エポキシ  
K. ポリエステル L. LR-White M. Lowicryl K4M  
N. ルテニウムレッド P. オスミウムブラック Q. オスミウムレッド  
R. クエン酸鉛 S. 酢酸ウラニル T. タンニン酸 U. 熱  
W. 紫外線

問 6. 以下の文章は走査電子顕微鏡を使用した試料の観察法である。次の ( ) の中で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 (10 点)。

生物試料の走査電顕観察では、通常、試料は真空中に置かれるため乾燥する。乾燥した生物試料は ( 1 ) が無いために、( 2 ) によって ( 3 ) する。また ( 4 ) を発生しにくいので、通常、金属をコーティングする。この方法には金属に通電して加熱する ( 5 ) 蒸着法や ( 6 ) 法があるが、( 6 ) 法は低真空中での ( 7 ) を使用している。また、現在は ( 8 ) 試料を観察する装置として低真空型走査電顕もあるが、この装置は試料室を低真空にする事により ( 2 ) や ( 9 ) と ( 10 ) が衝突・イオン化し ( 3 ) が中和される

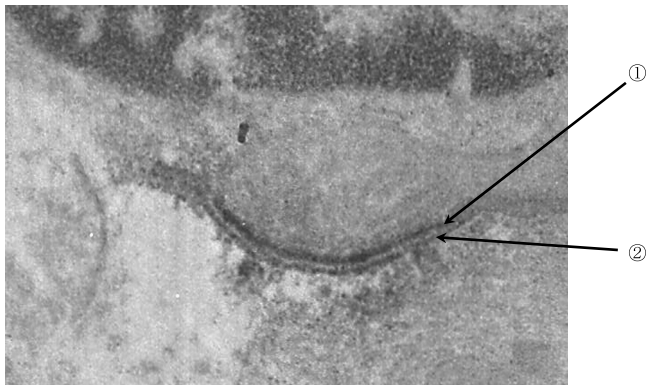
ため、乾燥した生物試料を（ 8 ）で通常は（ 9 ）を使用して観察するが、分解能は高真空タイプよりは劣る。

【語群】

- A. 電子ビーム B. 無蒸着 C. 反射電子 D. 導電性  
 E. 残留ガス分子 F. オージェ電子 G. 帯電 H. グロー放電  
 J. 注入ガス分子 K. 二次電子 L. 高真空 M. 絶縁性  
 N. 入射電子 P. 含水 Q. 蒸着 R. 抵抗加熱  
 S. オスミウムプラズマ重合 T. イオンスパッタ U. コロナ放電  
 W. 低真空

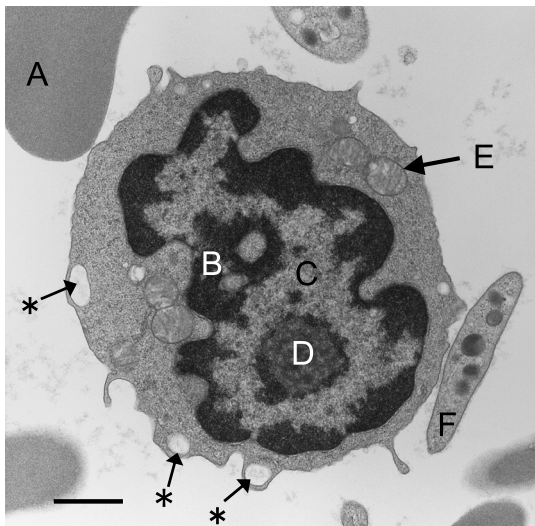
【選択問題】

問7. 写真は平衡斑の有毛細胞と軸索終末の接合部で、ある膜タンパク質を検出するために、ペルオキシダーゼ標識二次抗体を使用して包埋前免疫染色法を行い、観察した透過電顕像である。次の各設問に答えなさい（10点）。



1. ペルオキシダーゼ標識二次抗体を使用した包埋前免疫染色法の手順をなるべく詳細に説明しなさい。
2. 写真では①、②のどちらの膜に反応しているのかがよくわからない。なぜこのようなことが起こるのか説明しなさい。
3. ①、②のどちらの膜に反応しているのかを区別したい。どのような方法が考えられるか、一つあげなさい。

問8. 写真は血管の中にみられた細胞の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい。スケールは1μmである（10点）。



1. 異質染色質（ヘテロクロマチン）と核小体に相当する構造を記号A～Fより選び、それぞれ解答欄に記入しなさい。また、核小体の働きを解答欄に説明しなさい。
2. \*で示される円形の空所が細胞の外と連絡しているかいないかを示す方法の一つは連続切片法である。
  - (1) 連続切片法に適したグリッドを語群1より二つ選びなさい。
  - (2) 1枚が100 nm厚の切片を連続に作製するとき、直径1μmの球体をすべて観察するには何枚の切片を作製すればよいか、語群2より選びなさい。ただし、連続切片の1枚目にはこの球体の端が含まれるとする。

【語群1】

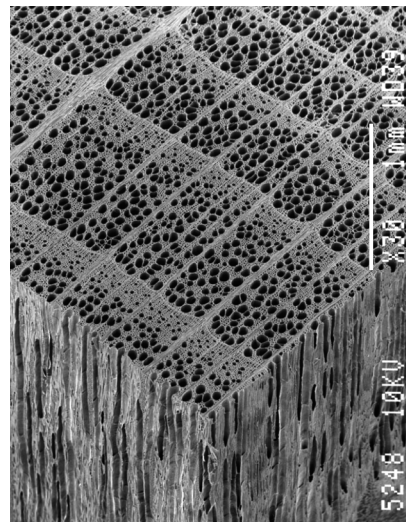
- A. 単孔グリッド B. 400メッシュのグリッド C. マイクログリッド  
 D. スリットグリッド E. ハンドルグリッド

【語群2】

- A. 5～6枚 B. 10～11枚 C. 50～55枚 D. 100～110枚  
 E. 500～550枚

問9. 以下の文章を読み、次の各設問に答えなさい（10点）。

写真は日本を代表する（ 1 ）材の走査電顕像で、（ 2 ）が年輪内に散在するために散孔材に分類される。（ 1 ）材は、通水機能を担う（ 2 ）や力学的支持機能を担う木部繊維というように、機能分化しているのが大きな特徴の一つである。細胞壁の主要成分はセルロース、ヘミセルロースおよび（ 3 ）である。それらの成分のうち、細胞壁の力学的な性能に大きく影響し、電子線回折図を与える成分は（ 4 ）である。

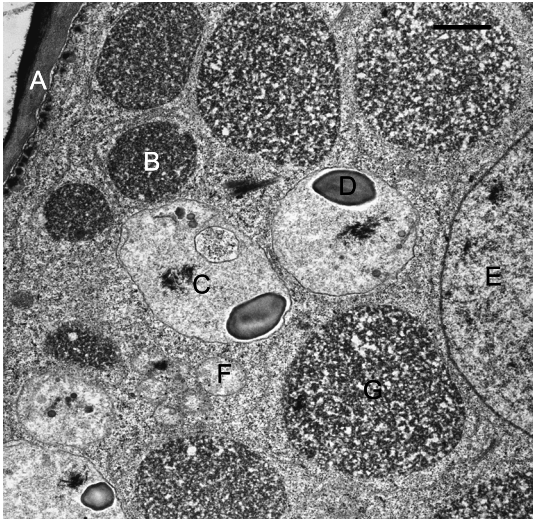


1. (1)～(4)の中に適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい。
2. (1)が水を通ず様子を走査電顕観察するためには、どのような方法が考えられるか簡単に記しなさい。

【語群】

- A. ベクチン B. 広葉樹 C. セルロース D. 針葉樹 E. リグニン  
 F. 柔細胞 G. 師管 H. 仮道管 J. タンニン K. 道管  
 L. 常緑樹 M. 樹脂道 N. ヘミセルロース

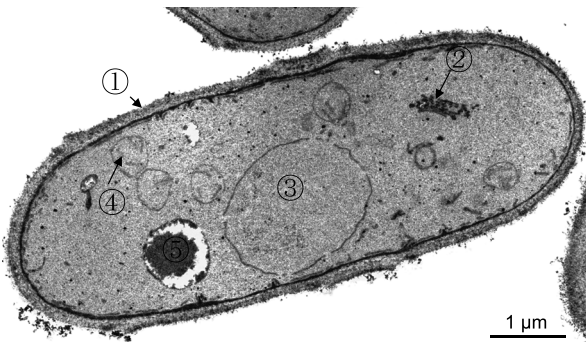
問 10. 写真は吸水発芽中のアズキ種子の胚軸皮層細胞の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい。スケールは1 $\mu$ m (10点)。



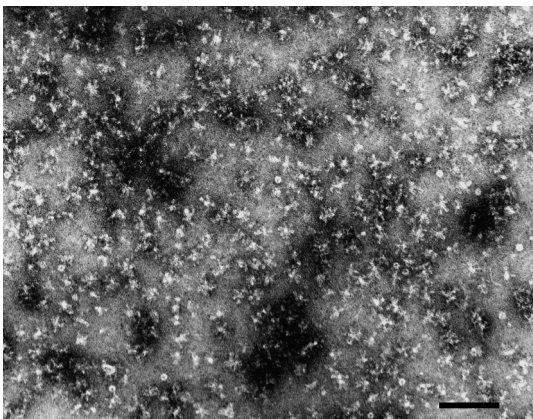
1. 写真中のA～Gはそれぞれ何か、名称を書きなさい (名称は重複してもよい)。
2. 二重の膜で囲まれているのはA～Gのどれか。
3. 写真から考えられるこの細胞の機能を一つあげなさい。

問 11. 写真は分裂酵母細胞の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい (10点)。

1. ①～⑤の名称を記しなさい。
2. この電顕像から考えられる固定剤を記しなさい。
3. この固定剤によって得られる電顕像の特徴を記しなさい。



問 12. 写真はA型インフルエンザウイルスの精製ヘムアグルチニン抗原の12万倍の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい (10点)。



1. 写真のスケール (12 mm) は、次のどれを示すか。記号で答えなさい。  
a. 1 nm b. 10 nm c. 100 nm d. 1 $\mu$ m e. 10 $\mu$ m
2. 高倍率で撮影する場合には、支持膜の選択が重要で、この写真はプラズマ重合ナフタレン支持膜 (スーパー支持膜, 厚さ15 nm) を400メッシュグリッドに貼って撮影した。この支持膜以外で高倍率撮影に適したものは次のうちどれか。最も適したものを一つ選び、記号で答えなさい。  
a. マイクログリッドに貼った薄いカーボン膜  
b. 100メッシュグリッドに貼った薄いカーボン膜  
c. 400メッシュグリッドに貼った薄いコロジオン膜  
d. 400メッシュグリッドに貼った薄いフォルムバル膜  
e. 400メッシュグリッドに貼った薄いフォルムバル膜に薄くカーボン蒸着したもの
3. この試料を作製するための具体的手順を記しなさい。

## 2011 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】

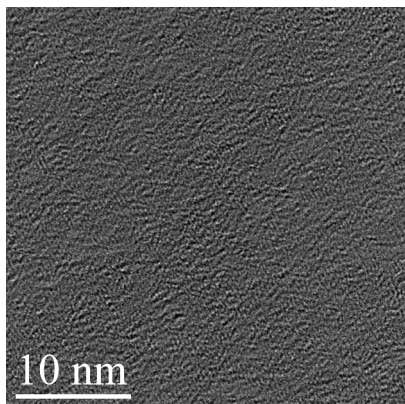
問 1. 以下の文章は電子の性質について記述したものである。次の ( ) の中にあてはまる最も適切な語句を語群より選び、記号で答えなさい (10 点)。

電子は ( 1 ) 性と ( 2 ) 性を併せ持っている。磁界を通過する電子の軌道解析では電子を ( 1 ) として扱うことができる。一方、( 3 ) が障害物の陰に回り込む ( 4 ) 現象や、あるいは二つの ( 3 ) が重ね合わさった時の ( 5 ) 現象の解析では電子を ( 2 ) として扱う必要がある。焦点はずれの透過電顕像に見られる ( 6 ) 縞は試料端における ( 3 ) の ( 4 ) により生じたものである。また、( 7 ) パターンは ( 8 ) 回折を ( 9 ) レンズにより ( 10 ) 面に結像し、投影レンズで蛍光板に投影したものである。

#### 【語群】

- A. 散乱 B. 像 C. コンデンサー D. 粒子 E. 電子回折  
F. 電子波 G. 回折 H. フラウンホーファー J. 干渉 K. 対物  
L. エアリーディスク M. 後焦点 N. 波動 P. フレネル  
Q. 制限視野

問 2. 写真はドリフトのないアモルファスカーボン支持膜の透過電顕像である。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。同じ語句を重複して選択してもよい (10 点)。



この像で一番大きな収差は ( 1 ) 収差であり、( 2 ) を調整することにより除くことが可能である。高倍で上記収差を補正するときは支持膜の ( 3 ) が等方的になり、正焦点近傍でコントラストが殆ど消失するように合わせる。ビームが蛍光板の中心にあるにも関わらず補正が不可能な時は電子顕微鏡の ( 4 ) がずれていることが原因であり、( 5 ) 絞りとビーム ( 6 ) の調整が必要である。また、( 7 ) や ( 8 ) の帯電や、対物レンズ絞りの ( 9 ) がずれても ( 10 ) 収差が発生する。

#### 【語群】

- A. 球面 B. フォーカス C. 非点 D. 回折 E. 非点補正装置  
F. 絞り G. 結晶性 H. 粒状性 J. 異方性 K. 光軸 L. 電圧  
M. 位置 N. コンデンサー P. 対物 Q. シフト R. チルト  
S. 試料

問 3. 透過電顕像のコントラストについて述べた次の文章の ( ) の中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 (10 点)。

透過電顕観察で、試料片や小さな円形の孔を焦点はずれの状態で観察すると、試料片の端や孔の周囲に白や黒の線状の ( 1 ) が見られることがある。過焦点では ( 2 ) が見られ、不足焦点では ( 3 ) が見られる。( 4 ) ではこの白黒の縞模様は消滅する。これは ( 5 ) コントラストの一種で ( 6 ) と呼ばれている。この種のコントラストは ( 7 ) に通過した電子波と試料により異なる方向に ( 8 ) した電子波との ( 9 ) により生ずるので、( 10 ) をはずした場合でも生ずる。

#### 【語群】

- A. 入射方向 B. 正焦点 C. 干渉 D. 縞模様 E. 位相  
F. 白い線 G. 対物絞り H. 散乱 J. フレネル縞 K. 黒い線

問 4. 透過電顕観察において試料汚染の原因を簡単に述べ、その防止方法を三つ記しなさい (10 点)。

問 5. 真空計について述べた次の文章の ( ) 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 (10 点)。

真空計は、その測定原理によって、ある面積にかかる ( 1 ) を測定する真空計、気体の ( 2 ) を測定する真空計、( 3 ) に依存する物理量を測定する真空計に分類することができる。電子顕微鏡の圧力測定には ( 4 ) と ( 5 ) がよく使用される。

( 4 ) は圧力によって真空の ( 6 ) が変化してフィラメントの ( 7 ) が変わることを利用して圧力を測定する。測定できる範囲は ( 8 ) Pa である。

( 5 ) は電極間に磁界を加えて 0.1 Pa 以下の高真空でも放電を持続するのに十分なイオンが得られるようにし、この ( 9 ) によって圧力の測定を行う。測定できる範囲は ( 10 ) Pa である。

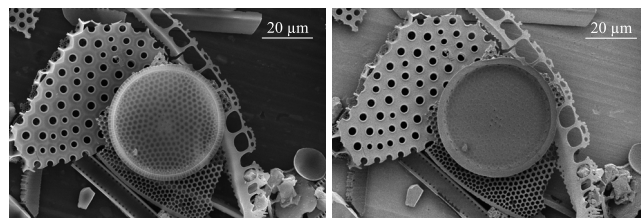
#### 【語群】

- A. 圧力 B. ペニング真空計 C. イオン電流 D. 電気抵抗値  
E. 力 F.  $10^{-1} \sim 10^{-6}$  G. 熱伝導率 H. 分子密度 J. 電圧  
K. 電流 L. 質量 M. ピラニー真空計 N. 電離真空計  
P.  $10^3 \sim 10^{-1}$

問 6. 走査電顕観察で試料を観察用試料台へ接着する方法について答えなさい (10 点)。

1. 接着材料に必要な性質を三つ記しなさい。
2. 接着材料の種類を二つ記しなさい。

問 7. 写真 A, B は珪藻試料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 (10 点)。



A

B

【選択問題】

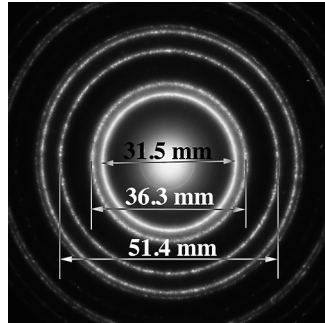
問8. 写真は100 kV ( $\lambda=0.00370$  nm), カメラ長1 m で撮影した制限視野電子回折パターンである. 文章の( )内を埋め, 面間隔を有効数字3桁で求めなさい(10点).

この回折パターンは( 1 )リングと言われ, 金の( 2 )結晶からの電子線回折である.

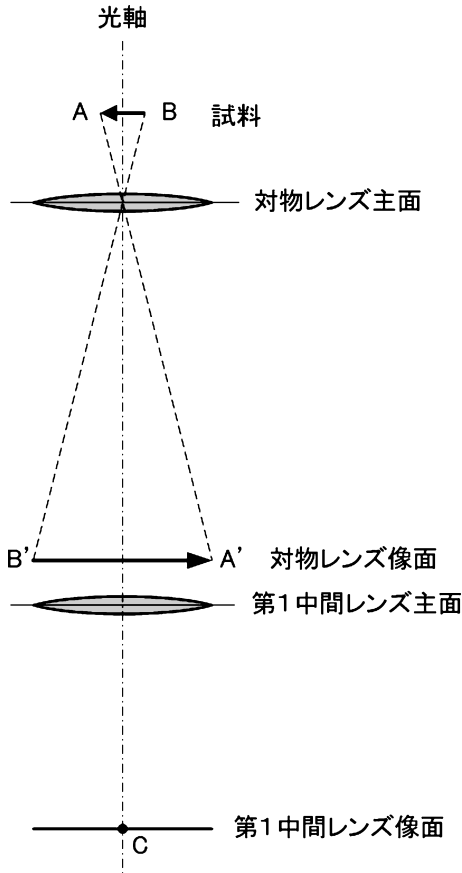
第1リング直径31.5 mmの面間隔は( 3 ) nm

第2リング直径36.3 mmの面間隔は0.204 nm

第3リング直径51.4 mmの面間隔は( 4 ) nm



問9. 図は透過電子顕微鏡の試料から第1中間レンズまでの部分を示したものである. 試料の拡大像(A' B')が対物レンズ像面上に形成されている. 次の各設問に答えなさい(10点).



- 1) 光路図を描いて対物レンズの後焦点面の位置を図中に「両矢印の線」で示しなさい.
- 2) 第1中間レンズの像面に試料の拡大像が投影されているとき, この中心Cに投影されている物点の位置を図中に▲印で示しなさい.
- 3) 第1中間レンズの像面に回折パターンが投影されているとき, この中心Cに投影されている物点の位置を図中に■印で示しなさい.

問10. グリッドの親水化処理について述べた次の文章の( )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(10点).

市販のグリッドはクリーニングされて容器に入れられており, 改めて洗浄する必要はない. しかし, そのままでは( 1 )との( 2 )が悪く, ポートに浮いている切片を回収できなかったり, 回収できても染色中にはがれたりすることがある. これを防ぐためにグリッドに親水化処理を行う. 方法は( 3 )の陽極にグリッドを並べ, 真空度1~10 Pa, 電圧500 V, 電流5 mA程度の条件で, 数秒~数十秒間( 4 )を行う. この処理でグリッド表面は( 5 )され, 親水性になる. 親水性は( 6 )程度で消失するので, 使用する( 7 )にグリッドを処理する. グリッド(金属製)を( 8 )で処理しても親水化できるが, ( 9 )や( 10 )で処理しても効果は小さい.

【語群】

- A. グロー放電 B. エッチング C. 切片 D. 接着性 E. 直前  
F. アセトン G. イオンスパッタ装置 H. 1時間 J. エタノール  
K. 10分 L. 1時間前 M. アーク放電 N. 真空蒸着装置  
P. 10%硝酸

問11. 以下の文章は走査電子顕微鏡の二次電子像コントラストに関する説明である. コントラスト名と成因を記しなさい(10点).

1. スキャン速度によってコントラストが変わる.
2. 試料の傾きによってコントラストが変わる.

問12. 以下の文章の( )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(10点).

真空中で電子線を物体(試料)表面に照射すると, 電子と試料の( 1 )により( 2 ), ( 3 ), 特性X線, 陰極線蛍光などが生じる. これらすべてが走査電子顕微鏡の試料情報媒体として利用されているが, 特に高い分解能の像を得るには( 2 )が用いられる. その理由は, ( 2 )のエネルギーが低く(数十eV以下), 試料表面から約( 4 )以内の深さで発生した( 2 )のみが真空中に脱出して像形成に寄与するため, 高い分解能が期待できるからである.

SEMの観察では, 試料の種類や観察の目的に合わせて, 加速電圧, ( 5 ), ( 6 ), コンデンサーレンズ電流, 絞りの孔径などを設定する. また, 像の( 7 ), ( 8 )は随時, 見易いように調整する. 続いて, 軸があっているかどうか確認し, 軸ズレがある場合は軸合わせを行う. 像が得られたら, 低倍率で試料微動装置を用いて目的の視野を選択する. 最後に( 9 ), ( 10 )を行い, 倍率, ( 7 ), ( 8 )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. 10 nm  
E. 電界放出型電子銃 F. 焦点合わせ G. 二次電子  
H. 作動距離(WD) J. 相互作用 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 P. 100 nm  
Q. 反射電子

問13. 原子間力顕微鏡の測定モードについて, 次の各設問に答えなさい(10点).

1. 測定モードには大きく分けると二種類ある. それらの名称と方法を記しなさい.
2. 生物試料の観察にはどちらのモードが適しているか. その理由とともに記しなさい.