

2013 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. 大きさの順で正しいのはどれか。

1. 大腸菌<ウイルス<酵母菌<赤血球<ゾウリムシ
2. ウイルス<酵母菌<大腸菌<ゾウリムシ<赤血球
3. 大腸菌<ウイルス<赤血球<酵母菌<ゾウリムシ
4. ウイルス<大腸菌<ゾウリムシ<酵母菌<赤血球
5. ウイルス<大腸菌<酵母菌<赤血球<ゾウリムシ

問 2. 生体膜構造をもたないものはどれか。

- A. 中心体
- B. 小胞体
- 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. 植物細胞と動物細胞に共通の細胞小器官はどれか。

- A. ミトコンドリア
- B. 葉緑体
- C. 細胞壁
- 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 4. 原核細胞にあるのはどれか。

- A. リボソーム
- B. 核膜
- C. ミトコンドリア
- D. 細胞膜

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. 細胞骨格で正しいのはどれか。

- A. 膠原線維は細胞骨格の成分である
- B. ケラチン線維は中間径フィラメントである
- C. 中間径フィラメントはアクチンフィラメントに比べ細い
- D. 微小管は球状タンパク質であるチューブリンが重合したものである

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. 化学固定で正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒドは生体膜のリン脂質固定に有用である
- B. 四酸化オスミウムは不溶性タンパク質をよく固定する
- C. 単層培養細胞のアルデヒド固定は培養温度と同じ温度で行う
- D. 四酸化オスミウム固定は必要最小限に抑えた方がよい

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 7. ホルムアルデヒドで正しいのはどれか。

- A. タンパク質の架橋はグルタルアルデヒドに比べ安定である
- B. 固定液は用事調整する
- C. グルタルアルデヒドに比べ速やかに組織内へ浸透する
- D. タンパク質の架橋速度は4°Cの方が室温より速い

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 8. 8%ホルムアルデヒド水溶液を100 ml 作製する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 8g を量り取る
- 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. 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 9. 動物組織の固定で正しいのはどれか。

- A. 固定液は一般に動物体液の浸透圧より低めに調整する
- B. 固定液は一般に pH 6.8～7.0 を使用する
- C. グルタルアルデヒドの組織への浸透性は四酸化オスミウムよりもよい
- D. 四酸化オスミウムは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 10. 四酸化オスミウムで正しいのはどれか。

- A. 固定には通常 1～2% で使用する
- B. アセトンには不溶性である
- C. 結晶は不揮発性である
- D. 強力な酸化剤である

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. 脱水・包埋で正しいのはどれか。

- A. LR White 等のアクリル系樹脂の場合、脱水剤としてアセトンが適している
- B. LR White は低温紫外線重合を行うことができる
- C. 生物試料が脱水・包埋の過程で収縮することはほとんどない
- D. 試料の脱水不良は樹脂の重合不全の原因となる

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 12. エポキシ系樹脂で正しいのはどれか。

- A. 硬化時における収縮は少ない
- B. モノマーは組織や細胞に浸透しやすい
- C. 樹脂が手に付着した場合はアセトンで洗う
- D. 樹脂の硬さ調整（配合）は容易である

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. 動物組織の脱水で正しいのはどれか。

- A. 室温でなるべく時間をかけて行う
- B. 脱水剤の分子量が小さいほど早く脱水できる
- C. 低濃度での脱水は低温で行う方がよい
- D. 脱水中に試料から最も溶出しやすいのはタンパク質である

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 14. Epon 812 樹脂で硬さの調節に使用するのはどれか。

- A. Epon 812
- B. MNA
- C. DMP-30
- D. DDSA

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. 薄切直後に切片が異常に伸展した。その原因で正しいのはどれか。

1. 切削のスピードが速い
2. ポートの液面が刃先より高い
3. 試料の送り量が小さい
4. 空気流がある
5. 樹脂の重合が不完全である

問 16. ナイフが鋭利でない場合、超薄切片にみられるトラブルはどれか。

- A. チャッターが入る
- B. ナイフ背面にまわる
- C. 切削方向に圧縮される
- D. リボン状につながらない

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 17. 薄切時にブロックの切削面に水滴がつく原因はどれか。

- A. ナイフの逃げ角が大きすぎる

- B. 樹脂の重合が不完全である
 C. ポートの液面が刃先より高い
 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18. 樹脂切片の干渉色で薄い方から順に並んでいるのはどれか。

1. 金 銀 青 灰 紫
 2. 紫 灰 金 銀 青
 3. 金 銀 灰 紫 青
 4. 灰 銀 金 紫 青
 5. 灰 銀 金 青 紫

問19. ミクロトーム室の環境として適切なのはどれか。

- A. 温度が高い
 B. 塵が少ない
 C. 空気流が強い
 D. 振動が少ない

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20. 電子染色で正しいのはどれか。

- A. ネガティブ法とポジティブ法がある
 B. 位相コントラストを高める
 C. 散乱コントラストを高める
 D. 原子番号の小さい金属を使用する

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21. 電子染色で正しいのはどれか。

- A. 鉛染色液の作製には脱炭酸水を使用する
 B. 酢酸ウラニルの廃液は重金属として廃棄する
 C. 酢酸ウラニルはリン酸緩衝液と混ぜると沈殿を生じることがある
 D. 電子線が通りやすい元素を結合させる

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. 準超薄切片で誤っているのはどれか。

1. 電顕観察する部位を確認するために行う
 2. 染色にはトルイジンブルーを使用する
 3. 固定や包埋の良否を判断できる
 4. 切片はホットプレートなどで加熱してスライドグラスに固着させる
 5. 切片の厚みは70 nm程度である

問23. 準超薄切片の作製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粗トリミングする
 B. 切片をスライドグラスの水滴上に移してホットプレート上で乾燥させる
 C. ウルトラミクロトームに試料を装着して面合わせをする
 D. 1%メチレンブルー染色液を切片上に滴下して加温染色する
 E. ガラスナイフで荒削りした後、新しいナイフで切片を作製する

1. ABCDE 2. ACEBD 3. ACBED

4. ADBEC 5. AEBDC 6. AECBD

問24. 超薄切片観察時に生じたドリフトの対策で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を下げる
 B. 集束絞りの孔径を大きくする
 C. 弱い電子線をしばらく照射する
 D. 試料に薄くカーボン蒸着する

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25. デジタル画像の保存形式で正しいのはどれか。

- A. TIFFは非圧縮、可逆圧縮での保存ができる画像ファイルフォーマットである
 B. JPEGは可逆圧縮で保存するファイルフォーマットである
 C. TIFFは画像を劣化させたくないときに使用するとよい
 D. JPEGファイルのサイズは同じ画像のTIFFファイルよりも大きい

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. DAB反応により検出可能な酵素はどれか。

- A. ペルオキシダーゼ
 B. カタラーゼ
 C. チアミンピロホスファターゼ
 D. 酸性ホスファターゼ

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. 組織細胞化学で糖類の検出によく使用される方法はどれか。

- A. レクチン法
 B. ルテニウムレッド法
 C. フェロシアン化銅法
 D. テトラゾリウム塩法

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. 免疫電顕法において非特異染色の低減方法で誤っているのはどれか。

- A. 1%牛血清アルブミンによるブロッキングを行う
 B. 精製前の抗血清を使用する
 C. 高濃度の抗体を使用する
 D. 洗浄液の塩濃度を上げる

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29. 包埋前染色法の手順で正しいのはどれか。

- A. 4%ホルムアルデヒド溶液で固定
 B. 超薄切片作製
 C. エポキシ樹脂包埋
 D. 免疫反応
 E. 1%四酸化オスミウム溶液で固定

1. ABCDE 2. ACEDB 3. ACBED

4. ADBEC 5. ADECB 6. AECDB

問30. 免疫電顕法で正しいのはどれか。

- A. ペルオキシダーゼ標識抗体は主に包埋前染色法に使われる
 B. 包埋後染色法ではコロイド金標識抗体がよく使用される
 C. 包埋後染色法ではエポキシ樹脂包埋試料の方がLR White包埋試料より感度がよい
 D. コロイド金粒子径が大きいほど高い標識密度が得られる

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31. 急速凍結法とその後の試料処理法の組合せで不適当なものはどれか。

1. 金属圧着法—凍結割断レプリカ法
 2. 金属圧着法—氷包埋法
 3. 浸漬法—凍結置換法
 4. 浸漬法—凍結超薄切片法
 5. 浸漬法—凍結エッチングレプリカ法

問32. 凍結技法で正しいのはどれか。

- A. 凍結速度が遅いとガラス状氷ができる
 B. 浸漬法には液体窒素が適している
 C. 高圧下では水の融点が下がり氷晶の形成が抑制される
 D. 高圧凍結法では浸漬法と比べて試料の広範囲で良好な凍結像が得られる

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33. オートラジオグラフィーで正しいのはどれか。

- A. ラジオアイソトープの放射線には、 α 線、 β 線、 δ 線がある
 B. 乳剤の潜像は放射線イオン化力に依存する
 C. ^{125}I の半減期は約12.3年である
 D. 原子核乳剤は臭化銀の結晶とゼラチン基質からなる

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. 試料の内部構造を観察する

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. 走査電子顕微鏡で加速電圧を低くした際の効果で正しいのはどれか。

A. 焦点深度が深くなる

B. 試料ダメージが軽減する

C. エッジ効果が増加する

D. 試料表面の情報が得られやすくなる

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36. 正しいのはどれか。

A. 加速電圧が高いほど二次電子放出比は大きくなる

B. フレネル縞は電子の波動性に由来する

C. 電子の波長は加速電圧の平方根に比例する

D. 電子の初速度の広がりとは色収差の原因となる

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37. 電子レンズの収差で正しいのはどれか。

A. 回折収差はレンズを改良しても取り除けない

B. 対物レンズの性能は非点収差で決まる

C. 色収差は試料が厚いほど小さくなる

D. 加速電圧の変動は色収差の原因となる

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. 対物レンズの球面収差で誤っているのはどれか。

A. 試料が厚いと大きくなる

B. 電子顕微鏡の分解能に影響する

C. 対物絞り径を大きくするほど大きくなる

D. 励磁電流が変動することで生じる

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. 熱電子放出型電子銃で正しいのはどれか。

A. ウェーネルト電極は電子の速度を加減するために利用される

B. エミッション電流が飽和する直前のフィラメント電流値に設定する

C. 陽極の電位は0ボルトである

D. ホウ化ランタン単結晶チップフィラメントの方がタングステンヘアピンフィラメントよりも干渉性の高い電子ビームが得られる

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40. 走査電顕像で正しいのはどれか。

A. 加速電圧を高くするとコントラストが低くなる

B. 作動距離を長くするとコントラストが高くなる

C. 表面が凹凸の大きい試料はコントラストが高くなる

D. 試料の組成の違いによるコントラストは生じない

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. 真空ポンプや真空計で正しいのはどれか。

A. ピラニー真空計で測定できる範囲は $10 \sim 10^{-3}$ Paである

B. 油拡散ポンプは冷却して使用する

C. スパッタイオンポンプは冷却した壁のガス吸着作用を利用して排気する

D. ペニング真空計はイオン電流によって圧力を測定する

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

問42. レプリカ法で正しいのはどれか。

A. 試料表面に直接シャドウイングとプラスチックコーティングを施してプラスチック薄膜レプリカを作製する

B. 試料表面に直接シャドウイングとカーボン蒸着を施して金属薄膜レプリカを作製する

C. 高真空の方がより小さい蒸着粒子が得られる

D. シャドウイングは必ず試料を回転させながら行う

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43. 蒸着法で正しいのはどれか。

A. 抵抗加熱法とプラズマ重合法の二つに分けられる

B. 真空中で原子状になって蒸発した物質を試料表面に付着させる

C. 金属蒸着法にはタングステンフィラメントに蒸発用金属を巻き付ける方法がある

D. 抵抗加熱法は高融点金属の蒸着には適さない

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44. 透過電子顕微鏡の操作で正しいのはどれか。

A. イメージワブラー機能を利用して電圧軸を調整した

B. 散乱コントラストを向上させるために小さな対物絞りを選択した

C. 対物レンズの励磁電流を増して不足焦点像を正焦点像に調整した

D. 暗視野像を得るために光軸から外れた位置に制限視野絞りを挿入した

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45. 透過電顕観察の試料汚染防止で正しいのはどれか。

A. 電子線を集束して明るくする

B. 観察前に試料を乾燥させる

C. 試料周辺を冷却する

D. 照射時間を長くする

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46. 透過電顕像の記録で正しいのはどれか。

A. 印画紙の号数が増すほどコントラストが低くなる

B. CCDカメラに比べて写真フィルムの方が入力に対する出力の直線性が低い

C. CCDを冷却することでノイズが低減する

D. 写真フィルムの感度は加速電圧に依存しない

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47. 走査電子顕微鏡で作動距離を短くした際の効果で正しいのはどれか。

A. 分解能が低くなる

B. 電子線の開き角が大きくなる

C. 焦点深度が深くなる

D. 浮遊磁界の影響が小さくなる

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. 二次電子放出効率を高めるため高加速電圧にした

B. 凹凸の少ない試料の観察をするため高加速電圧にした

C. 分解能を向上させるため高加速電圧に設定した

D. 有機高分子試料を観察するため低加速電圧にした

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. WDX (WDS) と EDX (EDS) の比較で正しいのはどれか。

A. 検出限界はWDXが優れている

B. エネルギー分解能はEDXが優れている

C. 検出感度はWDXが高い

D. 検出時間はEDXが短い

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50. 走査プローブ顕微鏡の略称で正しいのはどれか。

A. 原子間力顕微鏡—AFM

B. 磁気力顕微鏡—FFM

C. 摩擦力顕微鏡—MFM

D. 走査トンネル顕微鏡—STM

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

2013 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. 上皮細胞間の接着装置は、閉鎖帯、接着帯、および接着斑の 3 つの組み合わせからなる。閉鎖帯について、その局在と構造および機能について、200 字程度で説明しなさい。(10 点)

問 2. 灌流固定法、急速凍結法、浸漬固定法について、それぞれの長所・短所・手技を説明しなさい。(15 点)

問 3. 次の文章中の()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。(10 点)

生物試料の電顕観察を目的とした化学固定は、生体中の(1)や核酸、(2)、糖などを架橋または凝固させて不動化、安定化することにより、細胞や組織の構造を保存する方法である。固定剤として(3)と(4)を使用した二重固定法が一般的である。(3)は(5)を二つ持ち(1)の多くを強く固定するが、(2)はほとんど固定できない。一方(4)は生体膜を構成している(6)の(7)をよく固定するが、他の(2)については固定効果が弱いものがあり、そのほとんどは(8)中に溶出してしまふ。また(1)についてもあまり固定効果はないようで、低濃度の(4)溶液に組織を浸漬しておく、組織中の(1)は逆に破壊され溶出してしまふ。(4)は(9)化合物であり(10)効果も有する。

【語群】

A. アルコール脱水 B. アルデヒド基 C. 緩衝液
D. グルタルアルデヒド E. 固定液 F. 四酸化オスミウム
G. 脂質 H. 重金属 J. 浸透圧 K. 洗浄 L. タンニン酸
M. タンパク質 N. 電子染色 P. 媒染 Q. 不斉炭素原子
R. 不飽和脂肪酸 S. 飽和脂肪酸 T. 無機高分子 U. リン脂質

問 4. 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 の処方で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

この処方にしたがって A : B = 4 : 6 の樹脂を 100 ml 調製する場合、Epon 812, DDSA, MNA の容量は各々どのくらいになるか、小数第一位まで計算しなさい。また、樹脂を調製する手順を説明しなさい。(10 点)

問 5. 免疫電顕の包埋後染色法について、各設問に答えなさい。(10 点)

- 1) 組織を Lowicryl K4M などのアクリル系樹脂に包埋をする時は、四酸化オスミウムを固定に用いることや、アセトンに脱水に用いることを避けることが望ましい。その理由について説明しなさい。
- 2) エポキシ樹脂に包埋した場合は、超薄切片の脱樹脂を行った後に、免疫組織化学反応を行うことが多い。その理由と脱樹脂の方法について説明しなさい。
- 3) 超薄切片を加熱処理して、免疫組織化学反応を行うことがある。その理由について説明しなさい。

問 6. 凍結技法について()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。(5 点)

代表的な 3 つの急速凍結法の長所と短所は、以下の通りである。液化プロパンがよく用いられる(1)の長所は、物理的な圧力による変形がないことであり、短所は良好な凍結範囲が試料表面から 10 μm 以下ということにある。近年普及しつつある(2)は、他の方法に比べて試料

の 200 ~ 600 μm と広い範囲で良好な凍結像を得られる長所があるが、高価な機器が必要である。(3)は信頼性の高い凍結結果が得られる長所があるが、液体ヘリウムを用いた場合でも試料表面から 20 μm 程度しか良好な凍結状態が得られないことがある。また、代表的な凍結レプリカ法の一つである(4)は、割断時に細胞膜系の脂質二重層の間が露出されるので、膜内粒子の観察に適している。一方、(5)は、膜の割断面だけでなく膜の真表面やさまざまな細胞内構造を立体的に観察することができる。

【語群】

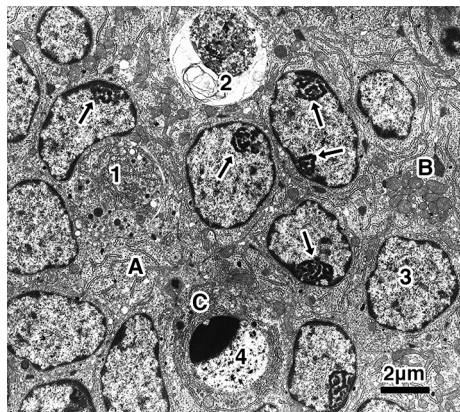
A. フリーズ・フラクチャー法 B. 金属圧着法 C. 浸漬法
D. 凍結エッチング法 E. 高圧凍結法 F. プライン凍結法
G. CEMOVIS 法 H. 氷包埋法

【選択問題】

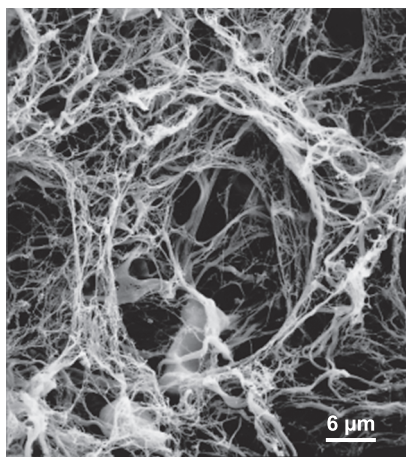
問7. 写真はある上皮組織の細胞を示している. 各設問に答えなさい.

(10点)

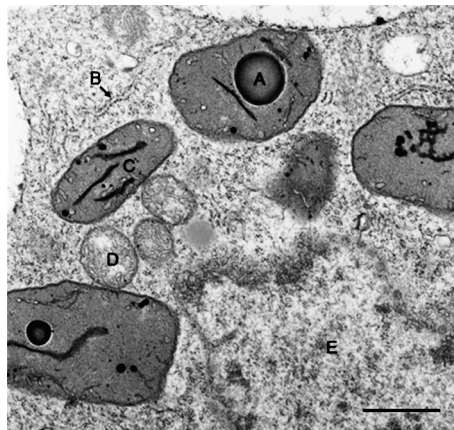
- 1) アポトーシスを起こした細胞核はどれか. 写真中の1~4から一つ選び, 数字を記入しなさい.
- 2) ミトコンドリアの集積を示しているのはどれか. 写真中のA~Cから選び, 記号を記入しなさい. またミトコンドリアの働きは何か. 説明しなさい.
- 3) 矢印で示した構造は何か. 名称を記入しなさい. また, その働きを記入しなさい.



問8. 写真は, マウスの肺をある方法を用いて処理し, 肺胞壁に存在する細胞成分や膠原線維を溶解除去して弾性線維をSEMで観察したものである. 試料作製手順を簡潔に記し, その手順において重要なポイントとなる項目を三つ選び枠で囲みなさい. (10点)

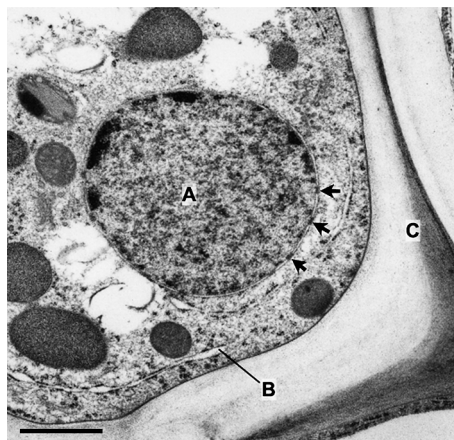


問9. 写真はタバコ培養細胞の透過電顕像である. 各設問に答えなさい. (10点)



- 1) 写真中のA~Eの構造はそれぞれ何か, 名称を記入しなさい.
- 2) A~Eの中でDNAを含む構造はどれか, すべて記号で記入しなさい.
- 3) A~Eの中で動物細胞に見られないのはどれか, すべて記号で記入しなさい.
- 4) スケールバーの長さとしてあてはまるのは次のどれか.
200 nm, 1 µm, 10 µm

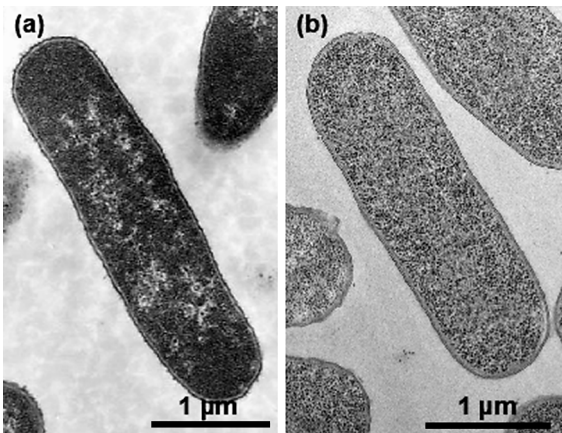
問10. 写真はポプラの細胞の透過電顕像である. 各設問に答えなさい (スケールは1 µm). (10点)



- 1) 写真中のA, B, Cの名称を記入しなさい. また, この3つの構造のうち動物細胞にない構造はどれか, 記号を記入しなさい.
- 2) Aの構造を覆っている膜上に存在する矢印で示した構造は何か. その名称を記入しなさい. また, この矢印で示した構造の役割について簡単に説明しなさい.
- 3) Bの膜表面のところどころに見られる顆粒状の構造はなにか, また, そこでどのようなことが行われているか, 記入しなさい.

問11. ネガティブ染色法は, 細菌やウイルス粒子などの概観を透過電子顕微鏡で簡便に観察できる手法として知られる. 細菌の培養法が寒天培地と液体培地を用いた時の手順の違いを含め, その手法の手順を詳しく説明しなさい. (10点)

問12. 写真 (a), (b) は, グルタルアルデヒド・四酸化オスミウムによる化学固定, または, 急速凍結後, 四酸化オスミウム/アセトンによる凍結置換固定を行った大腸菌の超薄切片像である. 各設問に答えなさい. (10点)



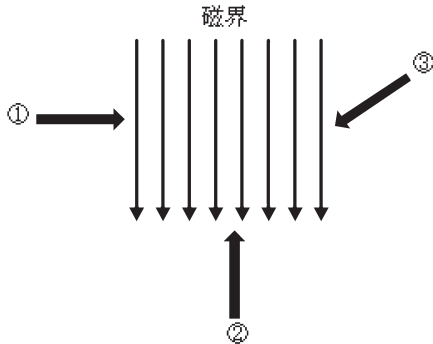
- 1) どちらの写真が, 急速凍結-凍結置換固定を行った試料か. a または b と答えなさい.
- 2) 急速凍結-凍結置換固定を行った試料は, 化学固定の試料に比べて, どのような特徴があるか. 外膜, 原形質膜などの膜系, リボソーム, 核様体に着目して答えなさい.
- 3) 急速凍結-凍結置換固定に関して, 大腸菌の培養から, 電顕撮影まで, その方法を詳しく説明しなさい.

2013 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)

●題の問題のうち、問●～問●は全問解答し、問●～問●はその中から●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. 下図のように紙面に平行で上から下に向かう様な磁界が存在するとき、この磁界に進入する電子の軌道について以下の設問の解答を選択肢から選び記号で答えなさい。なお、磁界は紙面の手前から奥行き方向に対しては無限の広がりがあるものとする。(10点)



- 1) 紙面に平行で左から磁界に垂直に進入した電子(図中①で示す)はどのような軌道を取るか。
- 2) 紙面に平行で下から磁界に平行に進入した電子(図中②で示す)はどのような軌道を取るか。
- 3) 紙面に平行で右斜め上から磁界に進入した電子(図中③で示す)はどのような軌道を取るか。

【選択肢】

- A. 直進する。
- B. 紙面に平行な面内で上方に曲がる円軌道を描く。
- C. 紙面に平行な面内で下方に曲がる円軌道を描く。
- D. 磁界の向きおよび紙面に垂直な面内で手前に曲がる円軌道を描く。
- E. 磁界の向きおよび紙面に垂直な面内で奥側に曲がる円軌道を描く。
- F. らせん軌道を描く。
- G. 放物線軌道を描く。
- H. 楕円軌道を描く。

問 2. 次の文章は電子レンズの収差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より選び記号で答えなさい。(10点)

回折収差は電子が(1)を有するために生じる収差である。この収差はレンズをいかに改良しても取り除くことができない。像のボケ量を小さくするには、電子線の加速電圧を(2)するか、電子線の開き半角を大きくする必要がある。

対物レンズの球面収差は電子顕微鏡の(3)に最も影響するため、できるだけ小さく抑える必要がある。(4)な孔径の絞りをを用いるほどこの収差を小さくできるが、(4)すぎると(5)収差の影響が現れる。

非点収差があると、像の流れが生じる。その原因としては、磁極片(ポールピース)に関連して、①孔が(6)でない、②キズがある、③上下二つの磁極の軸が一致しないか傾いている、④磁性材料が(7)である、などがあげられる。

(8)収差は(9)の変動、磁界レンズの励磁電流の変動、電界レンズの電極電圧の変動、照射電子の(10)の広がり、試料中での電子のエネルギー損失によって生じる収差である。

【語群】

- A. 波動性 B. 粒子性 C. 分解能 D. 小さ E. 大き F. 真円 G. 楕円 H. 不均質 J. 加速電圧 K. 初速度 L. 球面 M. 回折 N. 色 P. 高く Q. 低く

問 3. 透過電顕像の位相コントラストと散乱コントラストについてそれぞれの特徴を述べ、それに最も関係している語句を語群から一つ選択し、記号で答えなさい。(10点)

【語群】

- A. 反射電子像 B. 電子染色 C. フラウンホーファー回折 D. 二次電子像 E. フレネル縞

問 4. 真空に関連した事項について以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 圧力の単位 1 Pa の定義を説明しなさい。
- 2) ビラニー真空計は $10^3 \sim 10^{-1}$ Pa の範囲で圧力の測定ができる。この真空計の圧力測定の原理を説明しなさい。

問 5. タングステン線に蒸着用金属を巻き付けて、電流を流し加熱することで、金属を蒸着する方法がよく使われる。タングステンが用いられるのはどのような性質によるものか、二つ記入しなさい。(10点)

問 6. デジタル画像として撮影した電顕写真について以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 粒子径 40 nm の金コロイド粒子が写真上で直径 2 mm であった。写真の倍率は何倍か。
- 2) この写真の 1 cm は何 μm に相当するか。
- 3) 写真上の一辺 5 mm の立方体結晶の体積は何 nm^3 か。
- 4) 画像解像度(記録密度)が 72 dpi で縦 84 cm × 横 64 cm の画像の解像度を 288 dpi にしたときの縦横のサイズを記入しなさい。

問 7. 走査電顕観察では、試料に導電性を与えるために金属コーティングが必要な場合がある。金属コーティング膜の粒状性と厚さについて、高解像度を得るために注意すべき点を記し、その理由も簡単に説明しなさい。(10点)

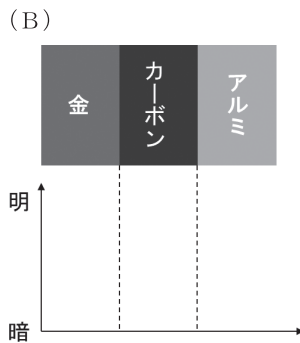
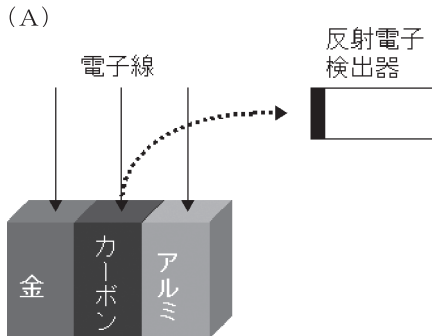
【選択問題】

問8. 透過電子顕微鏡の電圧軸調整に関する以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 調整に利用する機能を二つ記入しなさい。
- 2) 調整時には何を周期的に変動させているか、また、その変動に伴い蛍光スクリーン上の拡大像はどのような状態になるか、説明しなさい。

問9. 走査電顕観察に関して以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 反射電子と二次電子の違いについて記入しなさい。
- 2) 図Aに示す金、カーボン、アルミを貼り合わせた平滑な試料の表面を反射電子で観察するとき、コントラストはどのようになるかを図Bのグラフに書き入れ、その理由を解答欄に記しなさい。



問10. 透過電顕観察においては試料への電子線照射により、試料の構造・組織に変化をもたらす場合があります、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と組織の変化について具体例を三つ記入しなさい。(10点)

問11. 網目間隔が120 μm程度のグリッドを使用して電顕観察したい場合、100メッシュ、150メッシュ、180メッシュ、200メッシュ、300メッシュ、400メッシュのグリッドのうちどれを使うのが最も望ましいか。結論を導いた理由も記入しなさい。(10点)

問12. 以下の文章の()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。(10点)

(1) は、フィラメントを加熱するための電流である。また、(2) は、電子銃から放出された電流である。この電流が試料に到達するまでレンズ絞りなどで遮られ減少する。最終的に試料に到達する電流を(3)という。電子線径(スポットサイズ)は、一般的に加速電圧が(4)方が小さく、分解能も高い。一方、加速電圧が(5)と(6)発生効率が改善されることから、像コントラストが(7)する。(8)とは、対物レンズ下面と試料表面の距離のことで、分解能や焦点深度に影響を与える。(8)が長くなると、焦点深度は(9)なり、分解能は低下する。さらに、浮遊磁界などの影響も大きくなるため、高倍率観察の際は(8)を可能な限り(10)することが必要である。

【語群】

- A. プローブ電流 B. 高い C. コンデンサレンズ電流
 D. フィラメント電流 E. 低い F. 深く G. エミッション電流
 H. 二次電子 J. 浅く K. 短く L. 反射電子 M. 長く
 N. 吸収電流 P. 向上 Q. 作動距離

問13. 原子間力顕微鏡 (AFM) におけるコンタクトモードと共振モードの方法と特徴を説明しなさい。(10点)