

## 2014 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. 正しいのはどれか。

- A. 微小管は直径 24 nm の管状構造を示す
- B. 膠原線維の縦断面像では 60 ~ 70 nm の周期的な横縞が見られる
- C. 線毛の横断面ではアクチンフィラメント線維の束が芯となる構造が見られる
- D. 細胞膜は厚さ 10 nm の 2 層構造を示す

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 2. 大きさの順で正しいのはどれか。

- 1. リボソーム < ウイルス < 赤血球 < ミトコンドリア < ゴウリムシ
- 2. ウイルス < ミトコンドリア < リボソーム < ゴウリムシ < 赤血球
- 3. リボソーム < ウイルス < ミトコンドリア < 赤血球 < ゴウリムシ
- 4. ウイルス < リボソーム < ミトコンドリア < 赤血球 < ゴウリムシ
- 5. ウイルス < リボソーム < ゴウリムシ < ミトコンドリア < 赤血球

問 3. 正しいのはどれか。

- A. 原生動物は真核生物である
- B. 真菌は多糖体性の細胞壁を有する
- C. 細菌は細胞小器官を多く含む
- D. ウイルスは細胞分裂して増殖する

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 4. 原核生物はどれか。

- A. 細菌
- B. 真菌
- C. ラン藻
- D. 原生動物

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. 固有の DNA を持つ細胞小器官はどれか。

- A. ミトコンドリア
- B. 色素体
- C. ペルオキシソーム
- 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 6. 固定剤で正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒドは四つのアルデヒド基を持つ
- B. パラホルムアルデヒドは水酸化ナトリウムを加えて溶解する
- C. 四酸化オスミウムは電子染色効果を有する
- D. タンニン酸は架橋剤として使用する

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 7. 固定剤で正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒドは重合すると 500 nm の紫外線吸収のピークを示す
- B. パラホルムアルデヒドは通常 8 % 濃度で使用する
- C. 四酸化オスミウムは通常 1 ~ 2 % 濃度で使用する
- D. 過マンガン酸カリウムは主に植物や微生物などの固定に使用する

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 8. 動物組織の固定で正しいのはどれか。

- A. 固定液は一般的に体液の浸透圧より低めに調製する
- B. 固定液の pH は一般的に 6.5 ~ 7.0 の範囲が適正である
- C. 組織への浸透性はグルタルアルデヒドよりホルムアルデヒドの方がよい
- D. 細胞膜のリン脂質をよく固定するのは四酸化オスミウムである

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 9. ホルムアルデヒドで正しいのはどれか。

- A. グルタルアルデヒドに比べて架橋が安定している
- B. カルノフスキー固定液はグルタルアルデヒドとの混合液である
- C. 四酸化オスミウムに比べて速やかに組織内へ浸透する
- D. タンパク質を架橋する速度は 4°C の方が室温よりも速い

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 10. 四酸化オスミウムで正しいのはどれか。

- A. 二重固定の場合、通常、グルタルアルデヒド固定の前に使用する
- B. 通常 1 ~ 2 % 濃度で使用する
- C. 安全な薬品である
- D. 結晶は無色 ~ 淡黄色の塊状または針状である

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. 脱水で正しいのはどれか。

- A. 超薄切片を作製可能な樹脂に包埋するために行う
- B. キシレンがよく用いられる
- C. 脱水操作中にタンパク質が抽出されることはない
- D. 低濃度のエタノールから徐々に濃度を上昇させる

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 12. 脱水剤としてアセトンを使用する利点はどれか。

- A. アクリル樹脂包埋に適する
- B. エタノールに比べ吸湿性が低い
- C. エポキシ樹脂包埋時に置換剤が不要である
- D. エタノールに比べ組織内の物質の抽出が少ない

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 13. 樹脂廃液処理として正しいのはどれか。

- 1. 大量の水と一緒に流す
- 2. 溶媒で希釈した後に流す
- 3. 重合硬化させてから廃棄する
- 4. 焼却炉で焼く
- 5. 一般ゴミとして廃棄する

問 14. エポキシ系樹脂に使用する置換剤はどれか。

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

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. 薄切の際にポート内の切片が見にくい原因はどれか。

- A. ポートの水量が多すぎる
- B. ナイフの背面に水がついている
- C. 試料ブロックの硬さが均一でない
- D. 照明の角度が適切でない

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 16. 超薄切片の干渉色が銀色なのはどの厚さか。

- 1. 60 nm 未満
- 2. 60 ~ 90 nm
- 3. 90 ~ 150 nm
- 4. 150 ~ 190 nm
- 5. 190 ~ 240 nm

問 17. 超薄切片の回収法で正しいのはどれか。

- A. 押し付け法では切片にしわが入ることがある
- B. 引き上げ法ではグリッドを切片の真下に沈め、水面に平行に引き上げる

- C. ループ法ではループは疎水性の方がよい  
 D. ループ法では外径 3 mm, 内径 2 mm のループを使用する  
 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 18. 厚い切片と薄い切片が交互に切れる原因で正しいのはどれか。

- A. ナイフの締め付けがゆるい  
 B. 切削面が大きすぎる  
 C. ナイフに微細な刃こぼれがある  
 D. 切削のスピードが遅すぎる  
 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. ミクロトーム室の環境として適切なのはどれか。

- A. 湿度が高い  
 B. 埃が少ない  
 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. 酢酸ウラニルはリン酸緩衝液と混ぜて使用する  
 B. 酢酸ウラニルは核質やリボソームなどのコントラストを高める  
 C. 鉛染色は細胞膜系やグリコーゲンなどのコントラストを高める  
 D. 鉛染色は 30 分間以上行うとよい  
 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 21. 電子染色で正しいのはどれか。

- A. ネガティブ染色はウイルスを染めて観察する方法である  
 B. 散乱コントラストを高める  
 C. 原子番号の大きい金属が用いられる  
 D. 染色された組織像は蛍光板上で明るく見える  
 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 22. 準超薄切片の染色手順で正しいのはどれか。

- A. 厚さ 0.5  $\mu\text{m}$  程度の切片を作製する  
 B. 水洗する  
 C. 沸騰しない程度に加熱して乾燥させる  
 D. スライドガラスの水滴上に移す  
 E. トルイジンブルー染色液を切片上に滴下する  
 1. A C D B E 2. A C B D E 3. A D C E B  
 4. A D C B E 5. A D E C B 6. A E B D C

問 23. 準超薄切片をトルイジンブルーで染色したところ、試料の周辺部分が中心よりも濃く染色された。正しいのはどれか。

- A. エポキシ樹脂の重合が不十分である  
 B. 周辺部分は固定が良好である  
 C. 四酸化オスミウムの浸透が中心部分まで達していない  
 D. 脱水が不十分である  
 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 24. 超薄切片観察時にコントラストを高める対策で正しいのはどれか。

- A. 加速電圧を下げる  
 B. 試料にカーボン蒸着する  
 C. 対物絞りの孔径を小さくする  
 D. アンダーフォーカス量を小さくする  
 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. 画像ファイル形式のうち、非圧縮方式で保存できるのはどれか。

- A. BMP  
 B. GIF  
 C. JPEG  
 D. TIFF  
 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. 細胞膜の指標酵素はどれか。

- A. 5'-ヌクレオチダーゼ  
 B.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase  
 C. グルコース-6-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. ペルオキシダーゼの検出法で使用する試薬はどれか。

- A. 3,3'-ジアミノベンチジン (DAB)  
 B. 過酸化水素水  
 C. 水酸化ナトリウム  
 D. ニトロブルーテトラゾリウム (NBT)  
 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を行ったところ、非特異的反応が強かった。対策として正しいのはどれか。

- A. 抗体の希釈率を上げる  
 B. 反応温度を高くする  
 C. 反応時間を長くする  
 D. 切片の洗浄回数をふやす  
 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 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. 包埋後染色法の一つである  
 B. 包埋前染色法の一つである  
 C. 多重染色が可能である  
 D. オスミウムブラックを観察している  
 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 30. 包埋後免疫染色法によく使用される樹脂はどれか。

- A. Epon 812  
 B. LR White  
 C. Lowicryl K4M  
 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 31. 氷包埋法で正しいのはどれか。

- A. 生体高分子やウイルスの観察に適する  
 B. 試料の凍結には液体窒素が適する  
 C. 液体窒素で冷却したクライオトランスファーホルダーを用いて観察する  
 D. 散乱吸収コントラストを利用して観察する  
 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 32. 凍結法で正しいのはどれか。

- A. 浸漬法には融点-沸点間温度差が小さい冷媒が適している  
 B. 凍結速度が遅いと氷晶が大きくなる  
 C. ガラス状氷の凍結状態が得られた後は温度を上げても構造は保たれる  
 D. 凍結試料を凍結したまま薄切し超薄切片を作製することができる  
 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 33. オートラジオグラフィーで正しいのはどれか。

- A.  $^3\text{H}$  は  $\gamma$  線を出す放射性核種である  
 B. 放射性同位元素の放射能は時間に比例して減少する  
 C.  $\beta$  線は電子の流れである  
 D. 乳剤の潜像は放射線イオン化力が強いほどよく形成される  
 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 34. 走査電顕試料作製で正しいのはどれか。

- A. O-D-O 法は膜構造の細胞内小器官を観察する方法である  
 B. 臨界点乾燥には  $n$ -ブチルアルコールを使用する  
 C. 乾燥した生物試料をそのまま走査電顕観察すると帯電する  
 D. コーティング粒子は金、白金パラジウム、白金の順に大きくなる

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35. 走査電子顕微鏡の作動距離を短くした際の効果で正しいのはどれか。

- A. 電子線の開き角が大きくなる
- B. 分解能が低くなる
- C. 焦点深度が浅くなる
- D. 低倍観察として有効な操作である

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36. 正しいのはどれか。

- A. 電子の移動する方向と電流の流れる方向は同じである
- B. 干渉は電子の波動性に基づく現象である
- C. 電子が障害物の影に回り込む現象が弾性散乱である
- D. 原子と衝突してエネルギーを失った電子を非弾性散乱電子と呼ぶ

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. レンズの収差で正しいのはどれか。

- A. 色収差はレンズ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
- B. 非点収差はレンズの磁界や電界が軸対称でないために生じる
- C. 球面収差はレンズ励磁電流の変動や電子の初速度の広がりのために生じる
- D. 歪像収差は光軸からの距離によって倍率が変わるために生じる

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38. 電子銃で正しいのはどれか。

- A. フィラメントを加熱して電子を放出させる方式を電界放出型電子銃と呼ぶ
- B. フィラメントは正電位である
- C. クロスオーバーが実質的な電子源サイズとなる
- D. アノードはアース電位(0ボルト)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39. 透過電子顕微鏡で正しいのはどれか。

- A. 電子回折パターンは対物レンズの後焦点面に形成される
- B. 制限視野絞りは試料面に挿入する
- C. イメージプレーはビームの軸合わせに利用する
- D. 試料の位置や傾斜を調整する機構をゴニオメータと呼ぶ

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40. 支持膜の特性で正しいのはどれか。

- A. カーボン支持膜は導電性がある
- B. プラズマ重合支持膜は導電性がある
- C. プラスチック支持膜に比べカーボン支持膜の方が電子線に対して弱い
- D. プラズマ重合支持膜はカーボン支持膜と同じくらい電子線に対して強い

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. 蒸着法で正しいのはどれか。

- A. 蒸着装置の排気系はターボ分子ポンプと油拡散ポンプの組合せになっている
- B. レプリカ膜の作製には試料を回転させながらカーボン蒸着をする
- C. シャドウイング法は金属を試料の真上からコーティングする方法である
- D. 電子線加熱法は高解像度のシャドウイング法に用いられる

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42. 真空ポンプや真空計で正しいのはどれか。

- A. 油拡散ポンプはターボ分子ポンプの補助ポンプとして使われている
- B. ダイアフラムポンプはターボ分子ポンプの補助ポンプとして使われている
- C. スパッタイオンポンプでは不活性ガスも排気できる

D. ペニング真空計で測定できる範囲は $10^3 \sim 10^{-1}$  Pa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43. 走査電子顕微鏡で対物絞りの孔径を大きくした効果で正しいのはどれか。

- A. 電子線の開き角が小さくなる
- B. 焦点深度が浅くなる
- C. 分解能が低くなる
- D. レンズ収差が小さくなる

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44. 走査電子顕微鏡の信号検出で正しいのはどれか。

- A. エッジコントラストを軽減するため二次電子を検出した
- B. 組成コントラストを得るため反射電子を検出した
- C. チャージアップの影響を軽減するため二次電子を検出した
- D. 試料表面の微細な形状を観察するため二次電子を検出した

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. 走査電顕像で正しいのはどれか。

- A. 試料の組成の違いによるコントラストも含まれる
- B. 加速電圧を高くすると表面の凹凸に忠実なコントラストが得られる
- C. チャージアップはコントラストに影響しない
- D. 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

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. 走査電顕観察時の試料汚染で正しいのはどれか。

- A. 真空度に依存する
- B. 試料台に素手で触れても影響しない
- C. 観察前に試料が損傷しない範囲で加熱乾燥すれば軽減する
- D. 同じ部位を繰り返し観察してもおこらない

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47. 写真処理で正しいのはどれか。

- A. 電顕用フィルムの標準現像時間は1分である
- B. 停止液には1.5%酢酸水溶液を使用する
- C. 定着時間は長いほどよい
- D. 水洗は流水中で行う

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48. デジタル画像で正しいのはどれか。

- A. デジタル信号量の最小単位をビットという
- B. 1インチの長さに含まれる画素数の単位をdpiという
- C. 8ビットの画像は最大16階調のグレーレベルを表現できる
- D. ダイナミックレンジは写真フィルムよりも狭い

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49. 元素分析の方法で正しいのはどれか。

- A. 多元素同時マッピングを行うためWDSを使用した
- B. 絶縁物の分析を行うためにカーボンを蒸着した
- C. WDSでは試料表面はできるだけ平坦であることが望ましい
- D. EDSはWDS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. 共焦点レーザー顕微鏡で正しいのはどれか。

- A. 焦点の合った面以外からの光をピンホールで排除する
- B. 通常の光学顕微鏡より高さ方向の分解能は低い
- C. 通常の光学顕微鏡より焦点深度が深い
- D. 蛍光標識した試料の観察に用いられる

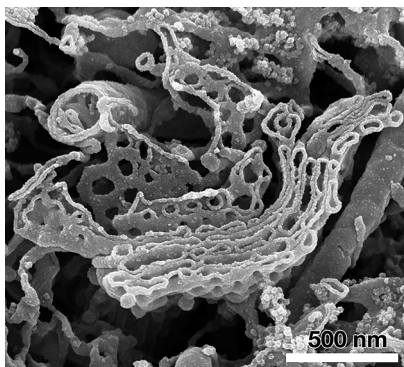
1. AとB 2. AとC 3. AとD 4. BとC 5. BとD 6. CとD

## 2014 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. 写真はある細胞小器官を撮影した走査電顕像である。( ) 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、リボソームが付着していない ( 2 ) で囲まれた扁平な袋状の ( 3 ) がいくつか積み重なった構造体である。( 1 ) は構造のおよび機能的な ( 4 ) が存在する。すなわち、積み重なった ( 3 ) は全体として湾曲しており、その凸面は、( 5 ) から送られてきた内容物を受け取る側であり、( 6 ) と呼ばれる。一方、その凹面は、( 7 ) が形成される側であり、( 8 ) と呼ばれる。( 1 ) では、タンパク質の ( 9 ) や ( 10 ) が行われる。

### 【語群】

- A. 粗面小胞体 B. 滑面小胞体 C. 二重膜  
D. 極性 E. ゴルジ層板 F. 修飾  
G. トランス側 H. 分泌顆粒 J. 単位膜  
K. シス側 L. 薬物の解毒 M. 選別  
N. ゴルジ装置 P. 合成 Q. ミトコンドリア

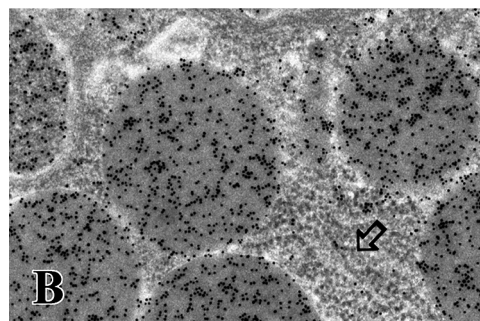
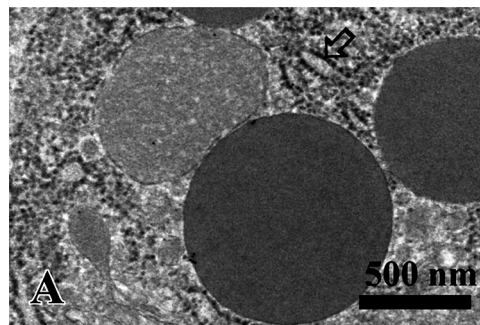
問 2. 次の対象をグルタルアルデヒド-四酸化オスミウム二重固定し、透過電子顕微鏡で観察したい。前固定時に推奨される事項を簡潔に答えなさい。(10点)

1. 微小管
2. 骨格筋細線維の暗帯・明帯
3. 動物培養細胞
4. 中枢神経
5. 肺胞壁

問 3. 次の文章は包埋剤について記したものである。( ) にあてはまる最も適切な語句を答えなさい。(10点)

エポキシ系樹脂にはエポン 812 系樹脂、( 1 ) 系樹脂、( 2 ) 樹脂などがある。エポン 812 系樹脂は硬さの調節に用いる ( 3 ) と ( 4 ) および加速剤である ( 5 ) で構成されており、( 6 ) の処方調製されることが多い。アクリル系樹脂には ( 7 ) や ( 8 ) がよく用いられており、これらの樹脂は熱重合させることもできるが、低温下において紫外線重合させることもできる。ただし、固定に ( 9 ) を用いると紫外線重合を妨げるので使用出来ない。また、これらの樹脂は酸素によっても重合が阻害されるので、脱水にはなるべく ( 10 ) を使用しない方がよい。

問 4. 次の文章は包埋後染色法を使用した免疫電顕法について記述したものである。( ) にあてはまる語句を語群から選び、記号で答えなさい。(10点)



ラットの膵臓をグルタルアルデヒドと四酸化オスミウムで二重固定後、エポキシ樹脂に包埋した。0.5 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 9.0) 中で 1 時間加熱処理した切片 (写真 B) と、未処理の切片 (写真 A) を使用して、 $\alpha$ -アミラーゼの免疫組織化学反応を行った。その後、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で電子染色をして電顕観察をした。二次抗体として ( 1 ) 標識抗体が使用されていると思われる。陽性反応は ( 2 ) に認められる。加熱処理をすることによって ( 2 ) の膜や矢印に示す ( 3 ) の電子密度が低下している。したがって加熱処理によって抗原が賦活化された原因の一つは ( 4 ) が除去されたためであると思われる。また ( 4 ) を除去する目的のため ( 5 ) が使用されることがある。

### 【語群】

- A. フェリチン B. ペルオキシダーゼ C. 金コロイド  
D. 分泌顆粒 E. ミトコンドリア F. リボソーム  
G. ゴルジ装置 H. DNA J. リン脂質  
K. グリコーゲン L. 鉄 M. カルシウム  
N. オスミウム P. マグネシウム Q. 塩酸  
R. 酢酸 S. 水酸化ナトリウム T. 過ヨウ素酸ナトリウム

問 5. 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)

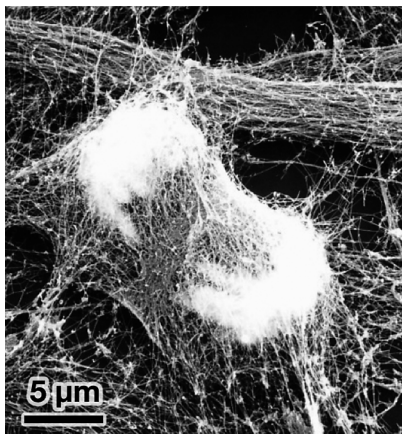
凍結固定は、組織や細胞内の水を凝固させることによる ( 1 ) である。水を冷却していくと、まず小さな氷晶が形成された後、氷晶は成長し続ける。これを ( 2 ) と呼ぶ。( 3 ) に到達すると氷晶の成長は止まる。この ( 3 ) の温度は、純水では約 ( 4 )、含水量 80% の細胞では約 ( 5 ) である。結晶速度が遅いと、氷晶は凍結が完了する

まで成長を続けることとなる。(3)に到達するまでの結晶速度が十分に速ければ結晶は成長せず、電顕下では構造の認められない微結晶の状態となる。この状態を(6)と呼び、組織・細胞の微細形態保持のために欠かせない凍結状態である。蒸留水で(6)を得るためには $10^5$  K/sec [0 K=(7)]以上の凍結速度が必要であるが、通常組織・細胞の(8)は70~80%であり、塩類などさまざまな溶質を含んでいるので、 $10^4$  K/sec以上の凍結速度があれば(6)が得られる。(8)が低く、溶質濃度が高い場合には、(2)が起こりにくく、良好な凍結状態を得やすい。一度非晶質状態が得られた試料でも、その後の保存や処理過程で温度の(9)により水の(10)が起こるので、(3)以下の温度を保つよう試料の取り扱いに注意を要する。

【語群】

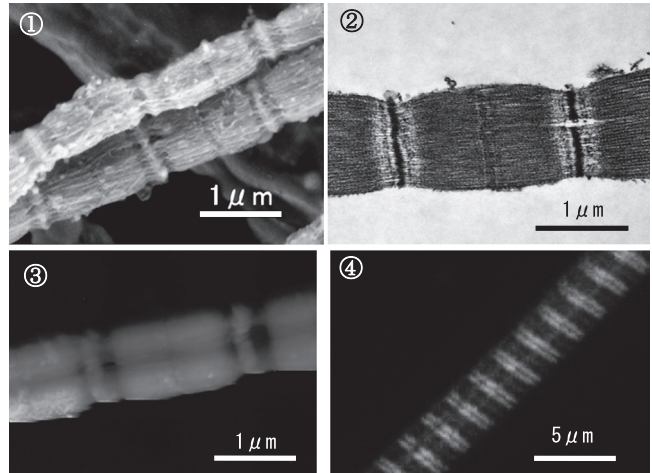
- A.  $-50^{\circ}\text{C}$  B.  $-80^{\circ}\text{C}$  C.  $-143^{\circ}\text{C}$   
 D.  $-273^{\circ}\text{C}$  E. 再結晶化 F. 物理的固定  
 G. ガラス状水 H. 氷晶形成 J. 含水量  
 K. 上昇 L. 下降 M. 再結晶化点  
 N. ダイヤモンド状水 P. 融解 Q. 凝固点

問6. 写真は、細胞骨格観察法を用いてプラスチックシャーレに単層培養したグリア細胞を臨界点乾燥法で処理して走査電子顕微鏡で観察したものである。分裂中の細胞には、左右に移動した染色体と細胞の形態を維持する中間径フィラメントなどが観察される。この試料作製手順を記しなさい。(10点)



【選択問題】

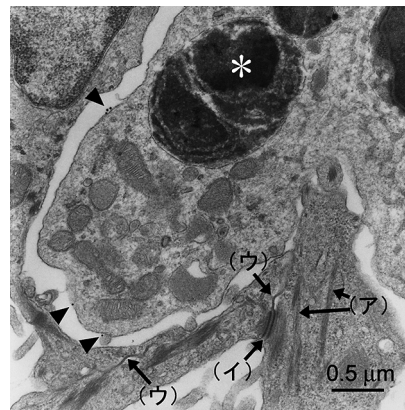
問7. 写真は、ウサギ骨格筋の筋線維を四種類の顕微鏡で撮影したものである。使用した顕微鏡を語群から選び、記号で答え、それぞれの原理と特徴を記入しなさい。(10点)



【語群】

- A. 微分干渉顕微鏡 B. 透過電子顕微鏡 C. 共焦点レーザー顕微鏡  
 D. ラマン顕微鏡 E. 走査電子顕微鏡 F. 原子間力顕微鏡

問8. 写真はラットの硬組織の細胞の(1)染色法を用いた免疫電顕像である。動物は灌流固定し(2)で脱灰し、 $10\mu\text{m}$ の厚さの(3)切片を作製した。これに細胞表面抗原に対する一次抗体を反応させ、さらに(4)で標識した二次抗体を反応させた。(4)は図中に矢じりで示してある。免疫反応後、四酸化オスミウム後固定、脱水し、エポキシ系樹脂に包埋したものを使用した。超薄切片を作製しウラン・鉛の二重染色をして観察した。次の設問に答えなさい。(10点)



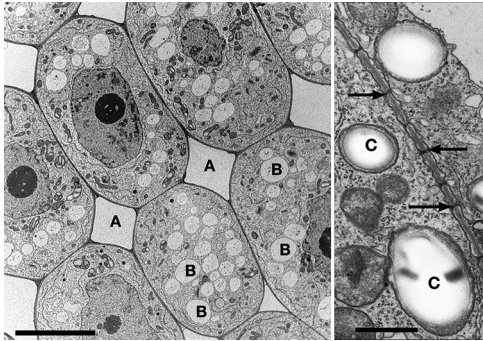
1) 文章中(1)~(4)に最適な語を語群より選び、記号で解答欄に記入しなさい。

【語群】

- A. FITC B. 塩酸 C. ギ酸  
 D. EDTA E. パラフィン F. 凍結  
 G. HRP H. フェリチン J. コロイド金  
 K. 凍結超薄切片 L. 包埋前 M. 包埋後

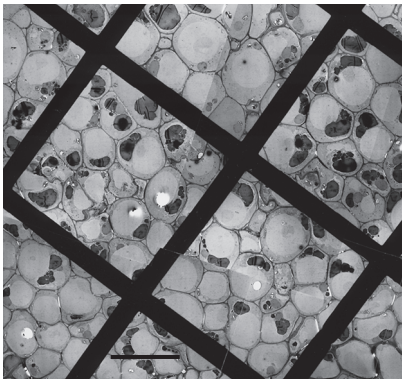
2) (ア)で示している最適な語を次のA~Cより選び、記号を解答欄に記入しなさい。

- a. 微小管 b. アクチンフィラメント c. 中間径フィラメント
- 3) (イ), (ウ) はそれぞれ細胞間結合装置を示している. 最適な名称を解答欄に記入しなさい.
- 4) \*はアポトーシスによって取り込まれた細胞断片を示す. アポトーシスの特徴を解答欄に記入しなさい.
- 問9. 写真はある植物組織の透過電顕像である. 次の設問に答えなさい. スケールバーは10 μm (左図), 1 μm (右図) を示している. (10点)



- 1) 左図のAで示した構造とBで示した細胞内小器官の名称と機能を記しなさい.
- 2) 右図のCで示した細胞内小器官と矢印で示した構造の名称と機能を記しなさい.
- 3) デンブリン粒を多く含んだ組織の超薄切片を作製する上で, 特に難しい点を記しなさい.

問10. 写真はある植物組織の横断面の透過電顕像である. 次の設問に答えなさい. スケールバーは50 μm を示している. (10点)



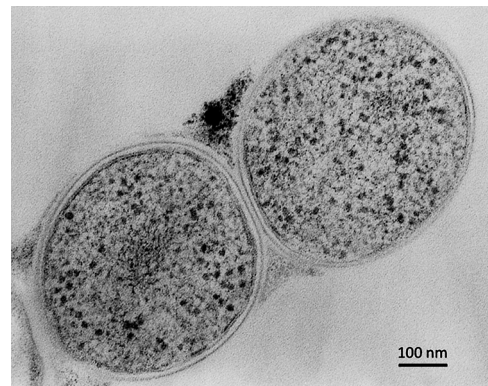
- 1) グリッドは通常150~400メッシュを用いるが, ここで用いたグリッドは何メッシュか. また解答を導いた計算式を示しなさい.
- 2) このグリッドの特徴を述べなさい.
- 3) 単孔グリッドやスリットグリッドはどのような時に用いるか述べなさい.
- 4) グリッドに乾式でプラスチック支持膜を張るときの手順で, 膜厚の決定にかかわることを二つ, また膜厚の均一化にかかわることを一つ, それぞれ挙げなさい.
- 5) この組織の形態学的な特徴を二つ挙げなさい.

問11. ネガティブ染色法は, ウイルスや鞭毛, 単離したタンパク質分子など微細な外観を観察するとき用いる. 次の設問に答えなさい. (10点)

- 1) 染色剤を二つ挙げなさい.
- 2) 実際の手順を記しなさい.
- 3) 像は陰影像として観察されるが, 何故, 陰影像として観察されるのか

説明しなさい.

問12. 写真は急速凍結法(浸漬法)・凍結置換固定法で固定し, エポキシ樹脂包埋した結核菌の超薄切像である. 次の設問に答えなさい. (10点)



- 1) 急速凍結法(浸漬法)で使用する冷媒の名称を記載し, 冷媒として選んだ理由を述べなさい.
- 2) 結核菌は原核生物に属する細菌の一種である. 原核生物と真核生物の細胞の共通点と相違点を三つずつ箇条書きで述べなさい.

## 2014 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. 下記の語群から電子の波動性に関連した語句を二つ選び解答欄に記号を記しなさい。また、それらについて簡単に説明しなさい。(10 点)

#### 【語群】

- A. 反射 B. 非弾性散乱 C. 球面収差  
D. 回折収差 E. 後方散乱 F. 干渉  
G. 二次電子放出 H. 弾性散乱 J. 電磁偏向

問 2. 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)

- 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 ( 1 ) 曲げられるために生じる収差を ( 2 ) 収差と呼ぶ。( 2 ) 収差の影響は小さな ( 3 ) を使うことで低減出来る。
- 2) レンズの磁界や電界が軸対称でない時に生じる収差を ( 4 ) 収差という。( 4 ) 収差の影響は、低倍率ではカーボングリッドなどの穴の縁の ( 5 ) の間隔が周辺全体で一樣になるように、高倍率では ( 6 ) 薄膜の像に方向性がなくなるように補正装置を使って補正することで低減出来る。
- 3) ( 7 ) 収差は、電子の波長によって焦点位置が異なることによる収差で、レンズ励磁電流の変動や電子の初速度の広がり、試料中での電子の ( 8 ) などによって影響が生じる。
- 4) 光軸からの距離によって倍率が変わる事によって生じる収差を ( 9 ) 収差という。( 9 ) 収差は糸巻き型やたる型に像が歪む問題を生じ、中間レンズや投影レンズを ( 10 ) 倍率で用いる場合に顕著になる。

#### 【語群】

- A. 球面 B. 歪像 C. わん曲  
D. 非点 E. コマ F. 色  
G. 結晶質 H. 多結晶 J. 非晶質  
K. 回折斑点 L. フレネル縞 M. 弾性散乱  
N. 非弾性散乱 P. 大きく Q. 小さく  
R. 絞り S. 倍率 T. 高い W. 低い

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)

ウイルスや生体高分子はコントラストが低いため、そのまま観察することは困難である。( 1 ) は、重金属を ( 2 ) から蒸着することにより、試料に ( 3 ) なコントラストをつけ、電顕観察を可能にする方法である。タンパク質を観察する際には、( 4 ) による分子形態の変形をなるべく少なくするために精製タンパク質溶液に ( 5 ) を加え、窒素ガスをを用いた ( 6 ) により雲母板の新しい劈開面に噴射する。その後直ちに真空装置に入れて、高真空状態にして乾燥させる。( 7 ) を作製するために、白金線をタングステン線に巻き付けて角度を ( 8 ) にして蒸着し、さらに ( 9 ) の角度で ( 10 ) を施す。装置から取り出した雲母板を蒸留水に沈めてはがれてくる ( 7 ) をグリッドですくい取り、乾燥後に観察する。

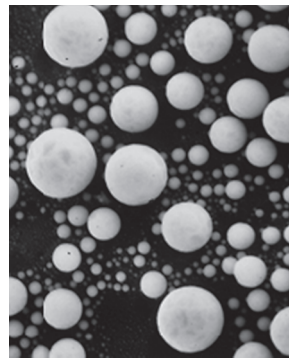
#### 【語群】

- A. 導電性 B. カーボン蒸着 C. イオンビームスパッタ法  
D. シャドウイング法 E. 蒸着法 F. スプレー法

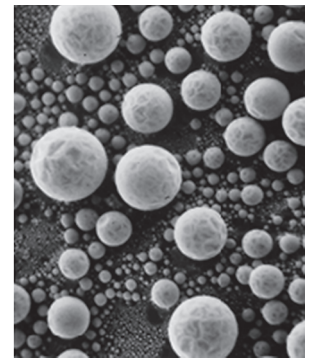
- G. 立体的 H. 平面的 J. 乾燥  
K. 真空蒸着 L. グリセリン M. エタノール  
N. 斜め上 P. 真上 Q. 4 度前後  
R. 90 度前後 S. レプリカ膜 T. 蒸着膜  
W. 雲母板 X. 金属板

問 4. 走査電顕像に及ぼす加速電圧効果の特徴について以下の設問に答えなさい。(10 点)

- 1) 写真【A】と【B】ではどちらが高加速電圧で撮影した写真か。理由とともに答えなさい。



【A】



【B】

- 2) 以下の文章は低加速電圧と高加速電圧で撮影した像の特徴について記している。( ) にあてはまる適切な語句を語群から選び記号で答えなさい。

低加速電圧では ( 1 ) が大きく、画像もソフトであるが、分解能は ( 2 ) なる。これに対して高加速電圧では分解能は ( 3 ) なるが、( 1 ) が小さくなり、エッジ効果による ( 4 ) や、チャージアップの ( 5 ) などによって像質が悪くなることもあり、試料損傷も生じやすい。

#### 【語群】

- A. 増加 B. 二次電子放出率 C. 低く  
D. 高く E. エスケープ長 F. 異常コントラスト  
G. 減少 H. 原子番号効果

問 5. ( ) 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)

走査電顕観察では ( 1 ) の経過とともに、炭化物が試料表面に付着し、試料観察の妨げとなる。これを試料汚染という。試料汚染の程度は ( 2 )、試料、観察条件等に依存する。汚染の原因は鏡体内の残留ガスで、大部分は ( 3 ) ガスである。その主な発生原は、( 4 ) の油、Oリングに付着している ( 5 )、鏡体組み立て時に使用した有機溶剤、試料に存在する有機物である。試料汚染を防止するには、( 4 ) の油は ( 6 ) に交換し、Oリングの ( 5 ) は ( 7 ) 使用、( 8 ) の使用、試料の冷却、観察前に試料の ( 9 )、また ( 10 ) などには素手で触れないようにするなど、常に鏡体内を清潔にすることが必要である。

#### 【語群】

- A. グリース B. 試料台 C. 試料汚染

- D. フィルム E. 塩化水素 F. 真空ポンプ  
 G. 真空度 H. 窒素 J. 炭化水素系  
 K. 酸素 L. 電子線照射時間 M. 汚染防止装置  
 N. 多量 P. 加熱乾燥 Q. 有機溶剤  
 R. 少量 S. 長い時間 T. 定期的  
 W. 繊維

問6. ターボ分子ポンプの到達圧力、動作原理、使用上の注意点を答えなさい。(10点)

問7. 走査プローブ顕微鏡に関する以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 基本原理について簡潔に説明しなさい。
- 2) 走査プローブ顕微鏡のうち生体試料観察に最も利用されるのは原子間力顕微鏡である。その理由を2つ述べなさい。

### 【選択問題】

問8. 電子回折の実験に関する以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 未知試料の電子回折パターンを観察したところ、細かい点がリング状に観察された。試料は単結晶、多結晶、非晶質の何れと考えられるか。
- 2) 1)で観察した試料に対して、ある絞りを入れた所、細かいリング状の点から規則正しい斑点に変化した。挿入した絞りの名称を答えなさい。
- 3) 2)で得られた斑点の一つの透過波からの距離は37nmであった。実効カメラ長を2.0m、加速電圧を100kV(波長0.0037nm)とした時、この回折斑点に対応する面間距離は何nmか。

問9. 透過電子顕微鏡で薄い試料を観察したところ、コントラストが低かった。以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 絞りを利用し像のコントラストを向上させるには、どの絞りを使用すればよいか。
- 2) 1)で得られるコントラストを何と呼ぶか。
- 3) 絞りをいわずに試料の輪郭や孔の部分のコントラストを向上させるには、何を变化させればよいか。
- 4) 3)で得られるコントラストを何と呼ぶか。
- 5) 回折図形を観察したところ、幾つかの斑点が得られた。その回折斑点のひとつを対物絞りで選択し結像したところ、明るく光る領域が確認された。この像を何と呼ぶか。

問10. ( )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)

セラミックス、ポリマーなどの導電性がない不導体材料と、金属、カーボンなど導電材料とが混在する(1)をSEM観察すると、(2)が試料内に蓄積し観察像に影響を生じる。この現象を(3)といい、観察像にコントラストの異常や歪み、その他の(4)を生じる。これを防ぐ方法として、(5)法がある。

(5)膜は、試料に導電性を付与して(3)を防止すると同時に、(6)の発生効率増大と電子線による試料(7)、二次電子の放出を試料のごく表面だけに限定するなどの像質向上にも効果がある。使用される材料には金、金パラジウム、(8)、白金、カーボンなどがある。方法には(9)法、(10)法、電子ビーム蒸着法、イオンビームスパッタ法がある。

### 【語群】

- A. 導電材料 B. 金属コーティング C. 帯電(チャージアップ)  
 D. 複合材料 E. 電荷 F. 二次電子  
 G. 像障害 H. 反射電子 J. 損傷の軽減  
 K. 蒸着法 L. 抵抗加熱蒸着 M. イオンビーム  
 N. 白金パラジウム P. イオンスパッタ Q. ネガティブ染色  
 R. 鉄 S. 銅 T. 蓄積

問11. 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)

走査電子顕微鏡は、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、表示ディスプレイの走査と同期してX-Y二次元走査をしながら拡大像を得る。真空中で電子線を物体(試料)表面に照射すると、電子と試料の相互作用により(3)、(4)、特性X線、陰極光などが生じることが知られている。走査電顕観察において、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)が用いられている。

試料の種類や観察目的に合わせて加速電圧、(5)、(6)、(7)、コンデンサレンズ電流、絞りの孔径などを設定する。また、像の(8)や(9)は随時、像が見やすいように調整する。最後に(10)、焦点合わせを行い、再度(8)、(9)を調整して画像を取得する。

### 【語群】

- A. 反射電子 B. 非点補正 C. 電子  
 D. チャージアップ E. 明るさ F. 収差  
 G. 対物レンズ H. 試料傾斜角度 J. 電界放出型電子銃  
 K. 走査コイル L. 作動距離 M. 二次電子  
 N. 焦点深度 P. コントラスト Q. 倍率

問12. 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)

市販のグリッドは改めて洗浄する必要はないが、そのままでは切片との(1)が悪いので(2)をする必要がある。方法は(3)の(4)にグリッドを並べ、真空度(5)パスカル、電圧(6)V、電流(7)mA程度の条件で、(8)秒グロー放電を行う。この処理でグリッド表面は(9)され、(10)になる。1時間程度で(10)は消失するので使用する直前にグリッドを処理する。

### 【語群】

- A. 接着性 B. 粘着性 C. 親水性  
 D. 撥水性 E. 真空蒸着装置 F. イオンスパッタ装置  
 G. 陽極 H. 陰極 J. 0.1~1  
 K. 1~10 L. 5 M. 50  
 N. 500 P. 5000 Q. 数十  
 R. 数百 S. 蒸着 T. エッチング  
 W. 親水化処理 X. 粘着処理 Y. 撥水化処理

問13. 透過電顕像を撮影した画像サイズ12cm×9cmのネガについて以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) このネガ全体を引き伸ばすためには少なくとも何mmの焦点距離の引き伸ばしレンズが必要か。
- 2) ネガに写しこまれている直径20nmの金コロイドの直径を測定したところ1mmであった。写しこまれている画像の倍率は何倍か。
- 3) この画像を3倍に引き伸ばしたときに写真に入れる1μmのスケールは何cmになるか。