

## 2017 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)

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. 動物組織の通常の化学固定法（浸漬固定法）と凍結置換固定法について、実際の操作および注意点を記しなさい。（10 点）

問 2. エポキシ系樹脂（Epon 812 など）の取扱いで注意すべき点について、理由を含めて列記しなさい。（10 点）

問 3. 次の文章中の（ ）にあてはまる最も適切な語句を答えなさい。（10 点）

超薄切片の回収には（ 1 ）法、（ 2 ）法と（ 3 ）法がある。（ 1 ）法は切片に対して（ 4 ）方向にグリッドを押し付け、そのまま引き上げる方法である。手軽な反面、（ 5 ）になったり、折り重なったりしやすい。（ 2 ）法は（ 6 ）を用いて切片をグリッドに引き寄せ、切片の（ 7 ）をグリッドに付着させて静かにグリッドを引き上げる方法である。慣れを要するが、切片に（ 5 ）が生じない。（ 3 ）法は水面で切片を（ 3 ）の輪の中に捕らえ、そのまま引き上げてグリッドに接触させる方法である。（ 3 ）とグリッドの間の水をろ紙で吸い取り乾燥させると、切片はグリッドに張り付く。初心者でも確実に（ 5 ）のない切片をグリッドに回収できる。

切片とグリッドの接着性を向上させるためには、イオンスパッタ装置を用いてグリッドを（ 8 ）処理するとよい。（ 9 ）やコロジオン溶液を用いてグリッドを（ 10 ）処理すると、さらに接着性が向上する。

問 4. 免疫電顕の包埋後染色法について、以下の設問に答えなさい。（10 点）

- 1) 動物組織の固定で注意すべき点を述べなさい。
- 2) 一般的に使用される樹脂の種類（または名称）と使用される理由を述べなさい。
- 3) 同一切片上で 2 種類の抗原（A, B）を検出したい。ウサギで作製された 2 種類の抗体を使用して免疫組織化学反応を行う手順を述べなさい。

問 5. 凍結技法について、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）

水を冷却していくと（ 1 ）が形成され、成長し続けるが、（ 2 ）点に達すると成長が止まる。凍結速度が遅い場合は（ 1 ）は大きくなるが、極めて速い場合は電顕下で構造の認められない状態となる。この状態を（ 3 ）状氷と呼び、組織・細胞では凍結速度（ 4 ）K/sec 以上で得られる。純水の（ 2 ）点は（ 5 ）℃であるが、含水量が約 80% の生物材料では（ 6 ）℃である。含水量が（ 7 ）く、溶質濃度が（ 8 ）い場合、（ 1 ）形成は起こりにくい。ただし、一度良好に凍結された試料でも、（ 2 ）点以上に温度が上昇した際は（ 2 ）が起こるため、温度を保つ必要がある。また、（ 9 ）やグリセリンなどを使用し、化学固定を行った試料を凍結する際は、多少凍結速度が遅くても良好な結果を得ることができる。

凍結技法の中で、最も広範囲で良好な凍結像を得ることができるのは（ 10 ）法である。

【語群】(五十音順)

A. アセトン	B. 液化プロパン	C. 液胞
D. ガラス	E. 金属圧着	F. 高圧凍結
G. 再結晶化	H. 粥	J. ショ糖
K. 高	L. 低	M. 氷晶
N. ホウ酸	P. 臨界	Q. -80
R. -143	S. $10^5$	T. $10^8$

問6. 以下の設問に答えなさい。(10点)

1) 走査電顕観察における①～③の効果を説明しなさい。

① 傾斜角効果 ② エッジ効果 ③ 加速電圧効果

2) 観察している試料がチャージアップした際, どのような像障害が見られるか. 像障害と対策を述べなさい。

【選択問題】

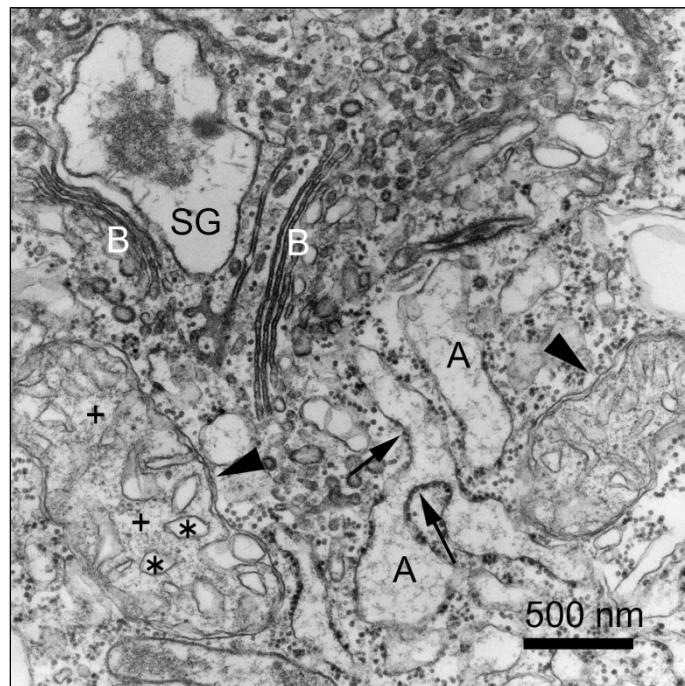
問7. 腎炎モデルマウスの腎糸球体を透過電顕観察したい。

1) 固定液の選択, 2) 適切な固定方法, 3) 固定試料のトリミング形状とトリミングのタイミング, 4) 試料の包埋手順の4点に注意し, その手順を説明しなさい。

それぞれを分けて書く必要はありません。(10点)

問8. アフリカツメガエル幼生表皮細胞の透過電顕像である。SGは分泌顆粒を示す。

1) ~ 3) の設問に答えなさい。(10点)



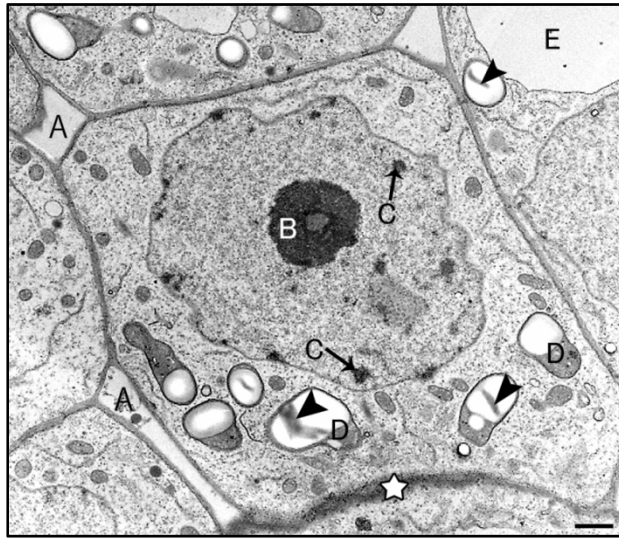
1) 矢頭(◄)の示す構造の名称と短径( $\mu\text{m}$ )を答えなさい。また, その内部に存在する小胞状構造(\*)の名称と(+ )の部位の名称を答えなさい。

2) Aの名称を答えなさい。また, Aの外側に付く電子密度の高い顆粒(矢印)の名称と働きを答えなさい。

3) Bの名称を答えなさい。

問 9. 植物細胞の透過電顕像である. スケールバーは  $1\ \mu\text{m}$  を示す.

1) ~ 3) の設問に答えなさい. (10 点)

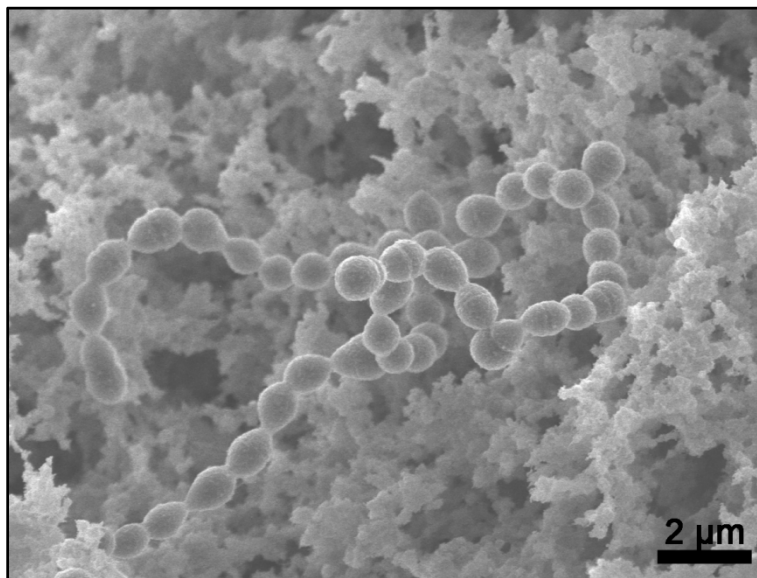


- 1) A~Eの構造あるいは細胞小器官の名称と生理的役割を記しなさい.
- 2) 矢頭 (◄) で示した帯状の高電子密度像が発生する要因を答えなさい.
- 3) ☆で示した細胞壁が厚く, 不明瞭に認められる原因を答えなさい.

問 10. 分裂中の葉緑体が多数存在するシロイヌナズナ変異体の葉を使用して, 1) ~ 4) を形態学的に解析したい. それぞれの方法について簡潔に説明しなさい. (10 点)

- 1) 共焦点レーザー顕微鏡を使用して, 葉緑体の数と大きさを定量する.
- 2) 走査電顕を使用して, 葉緑体の分裂面を可視化する.
- 3) 透過電顕を使用して, 葉緑体内部の微細構造を捉える.
- 4) 透過電顕を使用して, 葉緑体の分裂リングを免疫電顕法で可視化する.

問 11. ヨーグルト中に存在する乳酸菌の走査電顕像である. この像を得るために必要な5つの試料作製手順について, 操作を簡潔に説明しなさい. (10 点)



問 1 2. ネガティブ染色を行った大腸菌鞭毛の電顕像である. 1) ~ 3) の設問に答えなさい. (10 点)

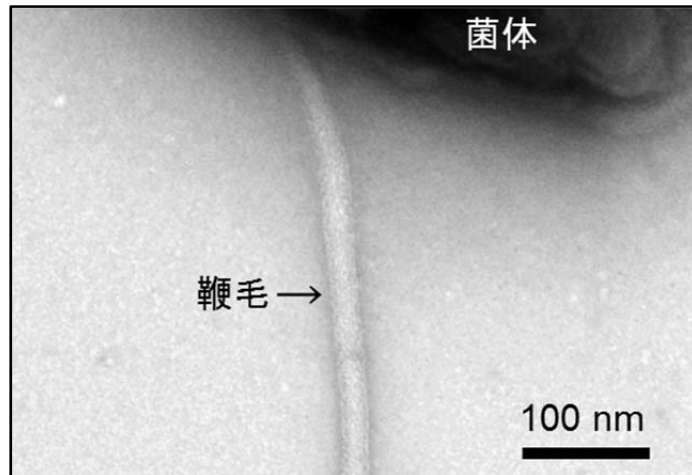
1) この写真の倍率で適当なのはどれか. 記号で答えなさい.

- a. 5 万倍      b. 10 万倍
- c. 17 万倍    d. 34 万倍

2) 大腸菌鞭毛のネガティブ染色法に最も適した支持膜はどれか. 記号で答えなさい.

- a. 200 メッシュのグリッドに貼った薄いカーボン膜
- b. 400 メッシュのグリッドに貼った薄いフォルムバル膜
- c. 400 メッシュのグリッドに貼った薄いプラズマ重合ナフタレン膜
- d. マイクログリッドに貼った薄いカーボン膜
- e. マイクログリッドに貼った薄いプラズマ重合ナフタレン膜

3) この試料を作製するための具体的手順について, 材料の選び方を含めて述べなさい.



## 2017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)

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. 3段拡大レンズ系を持つ透過電子顕微鏡(TEM)において、対物レンズ主面から試料ならびに対物レンズ像面までの距離をそれぞれ2.5 mm, 100 mmとする。また、中間レンズ主面からその物面ならびに中間レンズ像面までの距離をそれぞれ30 mm, 150 mmとする。以下の設問に答えなさい。(10点)

- 1) 拡大レンズ系の総合倍率が15,000倍の時、投影レンズの倍率を求めなさい。計算式と答え(倍率)を解答欄に記しなさい。
- 2) 対物レンズにより形成される電子回折パターンの位置は対物レンズ主面からどれだけ離れているか。その距離を四捨五入して小数点以下2桁まで求めなさい。計算式と答え(距離)を解答欄に記しなさい。

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)

試料汚染を防止するためには、( 1 )等の( 2 )内での発生や( 2 )内への流入を少なくすることである。その対策を以下に記す。

- 1) 回転ポンプや拡散ポンプの油は( 3 )の( 4 )ものを使用し、定期的に新しい油と交換する。
- 2) Oリングはドライヤー等で十分乾燥させて表面の有機物を取り去る。グリースは( 3 )の( 4 )ものを可能な限り少量使用する。
- 3) 試料に近い鏡体部分を( 5 )を使用して( 6 )する。
- 4) 写真フィルムを( 7 )する。
- 5) 観察前に試料の加熱乾燥等を行って試料に含まれる( 8 )を排除する。
- 6) 試料への( 9 )を可能な限り短時間にして、必要以上に長い時間、観察をしない。
- 7) 鏡体の( 10 )が可能な場合は、定期的または必要に応じて行うと効果的である。

### 【語群】

A. 無機物	B. 蒸気圧	C. 有機物
D. 炭化水素ガス	E. 高い	F. 低い
G. 電子線照射	H. 小さい	J. コールドトラップ
K. 冷却	L. ベーキング	M. 予備乾燥
N. イオン照射	P. 鏡体	Q. 大きい

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)

真空中で( 1 )を物体(試料)表面に照射すると、( 2 )により( 3 )、

( 4 ), 特性 X 線, 陰極線蛍光などが生じる. 走査電子顕微鏡 (SEM) では, 特に高い分解能を得る場合には ( 3 ) が使用される. その理由は ( 3 ) のエネルギーが小さく (数 10 eV 以下), 試料表面から約 ( 5 ) 以内の深さで発生した ( 3 ) のみが真空中に放出され, 像形成に寄与するからである. また, 試料表面から放出される ( 3 ) 数は ( 6 ) と比例関係にあるため, ( 7 ) なコントラストをもった拡大像が得られる. 試料のエッジ部分では特異的に ( 3 ) 数が増加するため, 白く光って観察される. この現象を ( 8 ) と呼ぶ.

一方, ( 4 ) 信号は試料を構成している原子に衝突し, 後方に跳ね返されたもので ( 9 ) とも呼ばれている. SEM で ( 4 ) の信号を使用すると ( 10 ) が得られる.

【語群】

A. イオン	B. 電子線	C. 反射電子
D. 二次電子	E. 試料と電子の相互作用	F. 試料と電子の干渉
G. 100 nm	H. 1 $\mu$ m	J. 10 nm
K. 試料傾斜角	L. 平面的	M. 立体的
N. エッジ効果	P. サイド効果	Q. 前方散乱電子
R. 後方散乱電子	S. 微細形態像	T. 組成像

問 4. ダブルコンデンサーレンズシステムと 3 段拡大レンズ系からなる透過電子顕微鏡について, 以下の設問に答えなさい. (10 点)

- 1) 拡大像観察モードと電子回折パターン観察モードの切り替えに使うレンズは何か.
- 2) ビームのスポットサイズ調整に使うレンズは何か.
- 3) 試料上のビーム照射領域の調整に使うレンズは何か.
- 4) 電子銃のクロスオーバー像の縮小に使うレンズは何か.
- 5) 装置の空間分解能を決定するレンズは何か.

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)

油拡散ポンプは ( 1 ) Pa 程度の真空状態でなければ使用できないので, ( 2 ) と組み合わせて使用する. 油拡散ポンプを作動させるためには, 下方にある ( 3 ) で内部の ( 4 ) を加熱して十分な蒸気を発生させる. この蒸気は, ( 5 ) から超音速で吹き出す. ( 6 ) から吸入された気体は, この ( 7 ) に巻き込まれて下方に追いやられ, さらにその後 ( 8 ) の方に押しやられ, 後段の ( 2 ) で大気中に放出されて排気されることになる. ( 5 ) から超音速で吹き出した蒸気は, ( 9 ) され回収される. このポンプの到達真空度はおおよそ ( 10 ) Pa である.

【語群】

A. 加熱	B. 1	C. ガス
D. 吸気口	E. クーラー	F. $10^{-6}$
G. 粗排気用ポンプ	H. オイル	J. パイプ
K. ジェット噴流	L. ノズル	M. 冷却
N. $10^{-4}$	P. 10	Q. 排気口
R. 本引き用ポンプ	S. ヒーター	T. リークバルブ

問6. 透過電顕像のコントラストには散乱コントラストと位相差コントラストがある。それぞれのコントラストの要因と特長を簡潔に答えなさい。(10点)

問7. 次の文章は電子レンズの収差について記述したものである。( )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)

電子レンズの磁界や( 1 )が軸対象でない場合に生じる収差が( 2 )収差である。この収差があると、無限遠からレンズの光軸(z軸)に沿って入射する電子線はレンズを通過後1点に集まらず、たとえばx方向とy方向の焦点位置が異なり、それぞれの焦点位置での像が直線(焦線という)状となる。2つの焦線間距離 $\Delta f$ を( 3 )という。( 2 )があると( 4 )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、( 5 )でない、( 6 )がある、上下2つの( 7 )が一致しないか傾いている、磁性材料が( 8 )である、などが挙げられる。また、( 9 )による帯電、光軸の( 10 )も原因となる。

【語群】

A. 色	B. 非点隔差	C. 像の流れ
D. 球面	E. 回折	F. 電界
G. 歪像	H. 非点	J. 倍率色
K. 孔が真円	L. キズ	M. 調整不良
N. 磁極の軸	P. 不均質	Q. 絞りの汚れ

【選 択 問 題】

問8. 透過電子顕微鏡において、加速電圧を印加して電子ビームを発生させる操作をしていたところ、蛍光スクリーンに図のようなビーム形状が投影された。以下の設問に答えなさい。(10点)

- このようなビーム形状は一般的に何と呼ばれるか。最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。
- 図のビーム形状は軸調整が不完全であることを示している。軸調整によりビーム形状を整えるにはどの機能を調整すればよいか。最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。
- 上の軸調整を終えた段階でのビームの形状を解答欄に描きなさい。
- この TEM に搭載されている電子銃の種類は何か。最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。
- この TEM で使われている陰極の種類は何か。最も適切な語句を語群から選び、記号で答えなさい。



【語群】

A. LaB <sub>6</sub> チップ	B. Zr エミッタ	C. W(310)エミッタ
D. タングステンヘアピン フィラメント	E. 照射系非点収差補正	F. 電子銃 Tilt 調整
G. 電子銃 Shift 調整	H. 結像系非点収差補正	J. フィラメント電流
K. 電子回折パターン	L. フィラメント像	M. 暗視野像
N. フレネル縞	P. 冷陰極電界放出型	Q. 熱電子放出型
R. エネルギー分散型	S. 波長分散型	T. ショットキー型

問 9. 制限視野電子回折法および収束電子回折法について、その特徴と得られる情報を簡潔に答えなさい。(10点)

問 10. 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)

一段レプリカ法とは ( 1 ) によるレプリカ作製を行い、試料の ( 2 ) を透過電子顕微鏡で観察する方法である。試料に直接 ( 3 ) と ( 4 ) を施して金属薄膜レプリカを作製する。金属蒸着源には ( 5 ) や ( 6 ) を用い、( 7 ) に巻きつける。

蒸着膜の厚さは使用する金属線の長さ、( 8 ) に依存するので、( 9 ) 程度の厚さが得られるように調節する。( 3 ) とそれに引き続く ( 4 ) は、試料を ( 10 ) させながら行うこともある。蒸留水で洗浄した後、試料を次亜塩素酸ナトリウム液や塩素系漂白剤に浮かべて溶解し、水面上に剥離させたレプリカをグリッドに載せて観察する。

【語群】

A. 内部構造	B. スパッタ蒸着	C. アルミニウム線
D. 蒸着温度	E. 白金線	F. 加熱
G. 50 nm	H. 蒸着法	J. 白金パラジウム線
K. シャドウイング	L. 表面構造	M. 回転
N. タングステン線	P. 銅線	Q. ニクロム線
R. 試料との距離	S. 10 nm	T. カーボン蒸着
U. 導電性コーティング	V. 染色法	

問 11. 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)

走査プローブ顕微鏡はレンズの代わりに探針を用い、探針と試料の間に生じる物理量を検知・制御しながら探針を走査する。検知する物理量によって得られる像が異なり、装置名称も異なる。( 1 ) を制御する場合は STM、( 2 ) の場合は AFM という。通常、探針はカンチレバーの先端に取り付けられており、探針と試料間の ( 3 ) 方向の変位をカンチレバーのたわみや振動の変化量として検出する。試料は ( 4 ) の上に載っており、カンチレバーの変位量に基づいて ( 4 ) に加える ( 5 ) を加減し、探針・試料間の ( 2 ) が常に一定になるようにフィードバックをかける。この状態で、探針を走査し ( 3 ) 方向の変位の補正值をコンピューター上で画像化する。

現在、( 6 ) モードと ( 7 ) モードの2つの測定モードがあり、前者は探針の先端を試料表面に持続的に接触させながら走査する方法で、硬い結晶構造物などの観察に向いている。一方、後者はカンチレバーを ( 7 ) 周波数付近で振動させながら試料に近づけ、力の変化を振幅の変位量として測定する方法で、( 6 ) モードより ( 8 ) 力で制御できるので生物試料観察に向いている。また、試料へのダメージが最も小さい ( 9 ) モードは試料との間に 50 nm 程度の距離をおいた状態で ( 10 ) を測定する方法である。

【語群】

A. コンタクト	B. 引力	C. 表面張力
D. ピエゾ素子	E. X	F. 共振
G. Z	H. 小さい	J. 電圧
K. トンネル電流	L. 共鳴	M. 重力
N. 電流	P. ノンコンタクト	Q. Y
R. 大きい	S. ペルチェ素子	T. 原子間力



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)

写真フィルムは、一般に保護層・乳剤層・支持体・ハレーション防止層から構成されている。乳剤層は主に ( 1 ) と ( 2 ) からなり、光または電子線に対して反応するのは ( 1 ) である。横軸に感光材料に照射された光量や電子線量の対数を取り、縦軸に光学濃度をとってグラフに描いた曲線を ( 3 ) 曲線という。この曲線が横軸に対して左側に位置するほど感光材料の感度が ( 4 ) いことを示す。この感度を決定する因子には ( 5 ) と現像条件が挙げられる。一般的に ( 5 ) が高くなるに従って感度は ( 6 ) くなる。

一方、( 7 ) や CCD などを撮像素子として組み込んだデジタルカメラシステムが普及し、現像処理が不要で定量解析が容易に行えるといった特長から写真フィルムを使わない TEM も開発されている。撮像素子への伝達方式として、( 8 ) 方式と ( 9 ) 方式の 2 種類があり、前者は後者に比べて ( 10 ) が高いこと、収差や歪みがないことなどの利点がある。

【語群】

A. ゼラチン	B. 高	C. 加速電圧
D. 伝達効率	E. 暗電流	F. レンズカップリング
G. SDD	H. 写真特性	J. プラスチック
K. ファイバーカップリング	L. 解像度	M. 階調
N. CMOS	P. ハロゲン化銀	Q. 低

問 13. 走査電子顕微鏡の対物レンズはアウトレンズ方式が一般的であったが、最近ではインレンズ方式、セミインレンズ方式(シュノーケル型)も採用されている。アウトレンズ方式と比較した際のインレンズ方式やセミインレンズ方式のメリットとデメリットについて、それぞれ2つ以上記載しなさい。(10点)