

2018 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. 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)

細胞は核膜をもたない(1)細胞と核膜をもつ(2)細胞に分類される。(2)細胞は膜系が発達し、核のほか、細胞質中に膜に囲まれた細胞小器官が存在する。核は内外二枚の核膜と(3)からなる。(3)の大部分は染色質で、染色質は(4)とヒストンの複合体である。小胞体は外核膜と連続し、外表面に(5)が付着した粗面小胞体と付着しない滑面小胞体に分けられる。ゴルジ装置は単位膜で囲まれた扁平な袋状のゴルジ(6)が積み重なった構造で、構造的・機能的極性が存在する。(7)側は粗面小胞体から送られてきた内容物を受け取る面で、(8)側は分泌果粒が形成される面である。ミトコンドリアは二重膜構造からなり、内膜はミトコンドリア内部に突出した(9)を形成する。ミトコンドリアには固有の(4)が存在し、自己増殖できる。(10)はすべての(2)細胞に存在し、酸性ホスファターゼやβ-グルクロニダーゼなどが指標酵素である。

【語群】(五十音順)

A. DNA	B. RNA	C. エンドソーム
D. 核基質	E. 核質	F. グリコーゲン果粒
G. クリステ	H. 原核	J. シス
K. 小胞	L. 真核	M. 層板
N. チラコイド	P. トランス	Q. ヒストン
R. ペルオキシソーム	S. ポリソーム	T. 葉緑体
W. ライソソーム	X. リボソーム	

問2. 1) または2) のいずれかを選び、手順、および、発生しうる問題点とその対策を答えなさい。(10点)

- 1) 免疫電顕による包埋後染色法
- 2) タンパク質の単粒子解析

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)

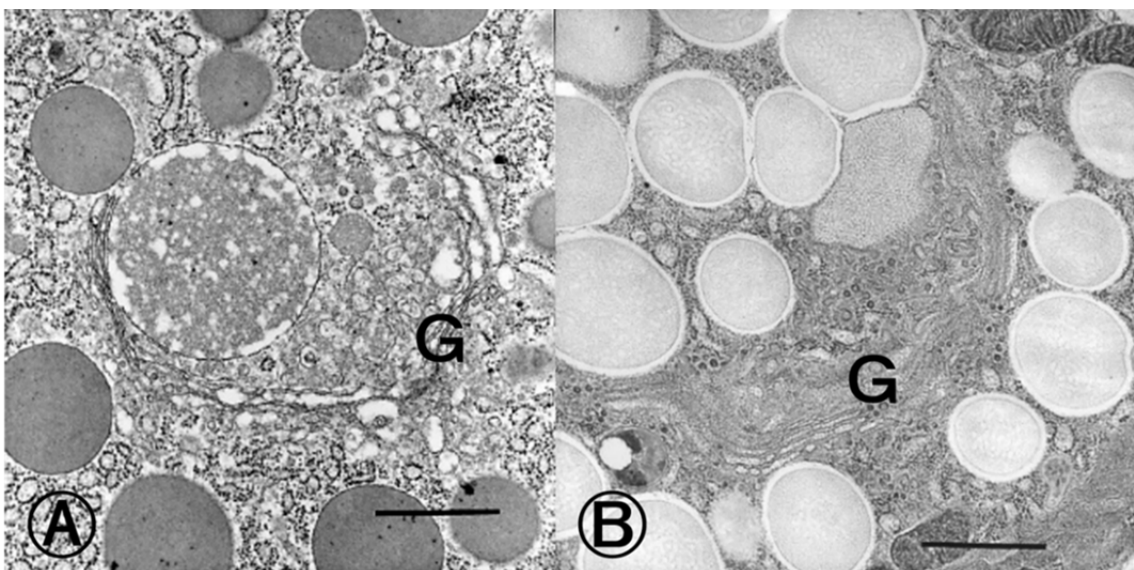
- ・超薄切片の厚さは通常, 60~80 nm で, その干渉色は (1) である.
- ・ミクロトームにセットしたナイフの背面が鉛直線となす角度を (2) といい, (3) ナイフでは4~6度にセットする.
- ・薄切時のトラブルにはブロックの切削面がぬれる (4) や切片の切削方向に平行なスジが入る (5), 切削方向に直角に厚さムラが生じる (6) などがある.
- ・切片がリボンにならない場合, 再度 (7) を行って薄切面の上辺と下辺の状態を改善するとよい.
- ・切片にしわが入る場合, グリッドを (8) 処理するか, (9) 法以外で回収するとよい.
- ・ (10) 法では水面で切片を (10) 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.

問4. 免疫電顕の包埋前染色法を使用し, マウスの肝臓でアルカリホスファターゼの局在を証明したい. 以下の設問に答えなさい.(10点)

- 1) 固定から電顕観察までの手順を説明しなさい.
- 2) 各手順の注意すべき点を説明しなさい.

問5. アルデヒド系固定, または急速凍結-凍結置換固定法で作製された唾液腺の透過電顕像である. Gはゴルジ装置, スケールバーは1 μm を示す.

- 1) ~ 3) の設問に答えなさい.(10点)



- 1) 急速凍結-凍結置換固定法の写真はどちらか，記号で答えなさい。
- 2) 1) と判断した根拠を簡潔に述べなさい。
- 3) 凍結置換固定法の手法を簡潔に説明しなさい。

問6. 一般的な動物組織の走査電顕試料の作製手順について，7つのキーワードを手順に沿って並べ，それぞれについて説明しなさい。(10点)

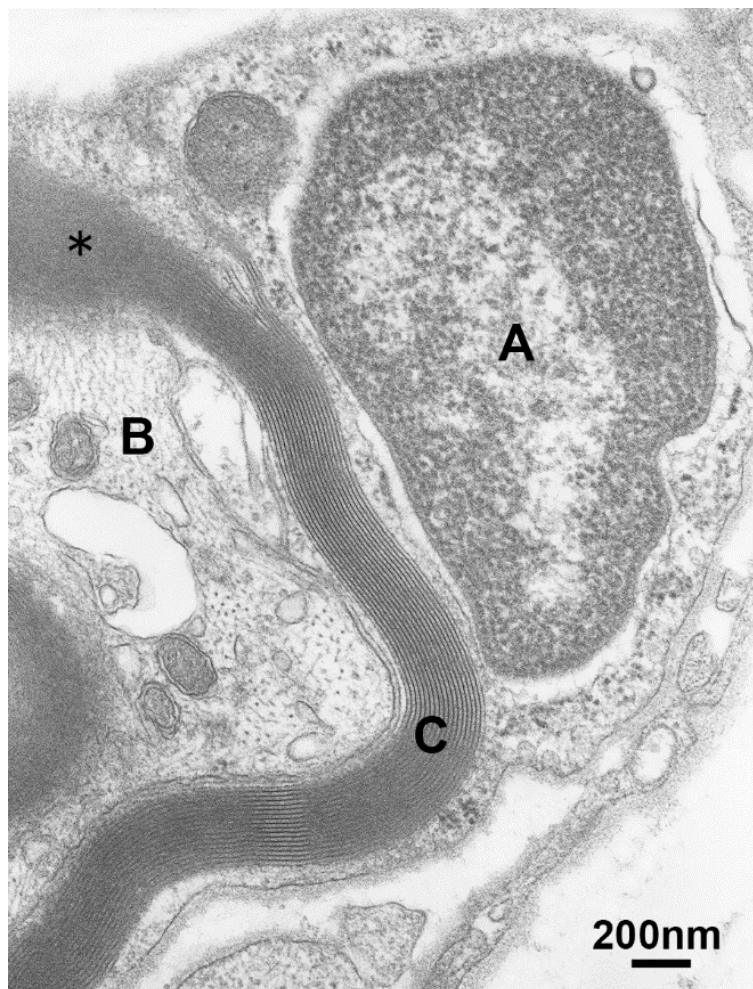
【キーワード】(五十音順)

観察 乾燥 コーティング 固定 載台 脱水 導電染色

【選 択 問 題】

問7. 末梢神経横断面の透過電顕像である。

- 1) ~ 5) の設問に答えなさい。(10点)



1) A, Bはどれか, 記号で答えなさい.

- | | |
|--------------------|----------------------|
| a. 神経細胞 (ニューロン) の核 | b. 神経細胞 (ニューロン) の細胞質 |
| c. シュワン細胞の核 | d. シュワン細胞の細胞質 |
| e. 線維芽細胞の核 | f. 線維芽細胞の細胞質 |

2) Cはどれか, 記号で答えなさい.

- | | | |
|--------------|------------|----------|
| a. 髄鞘 (ミエリン) | b. ミトコンドリア | c. シュワン鞘 |
| d. ゴルジ装置 | e. ライソソーム | f. 小胞体 |

3) CはA, Bのいずれの細胞に属する構造か, 記号で答えなさい.

4) 電子密度の高い線が整列し, Cの縞模様を作っている. この縞全体の幅はどれか, 記号で答えなさい.

- | | | |
|--------------------------|----------------------------|------------------------------|
| a. 200~300 μm | b. 20~30 μm | c. 2~3 μm |
| d. 0.2~0.3 μm | e. 0.02~0.03 μm | f. 0.002~0.003 μm |

5) *で縞模様が不明瞭である理由を答えなさい.

問8. 1) ~ 5) 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. 前固定時の注意点をそれぞれ簡潔に答えなさい. (10点)

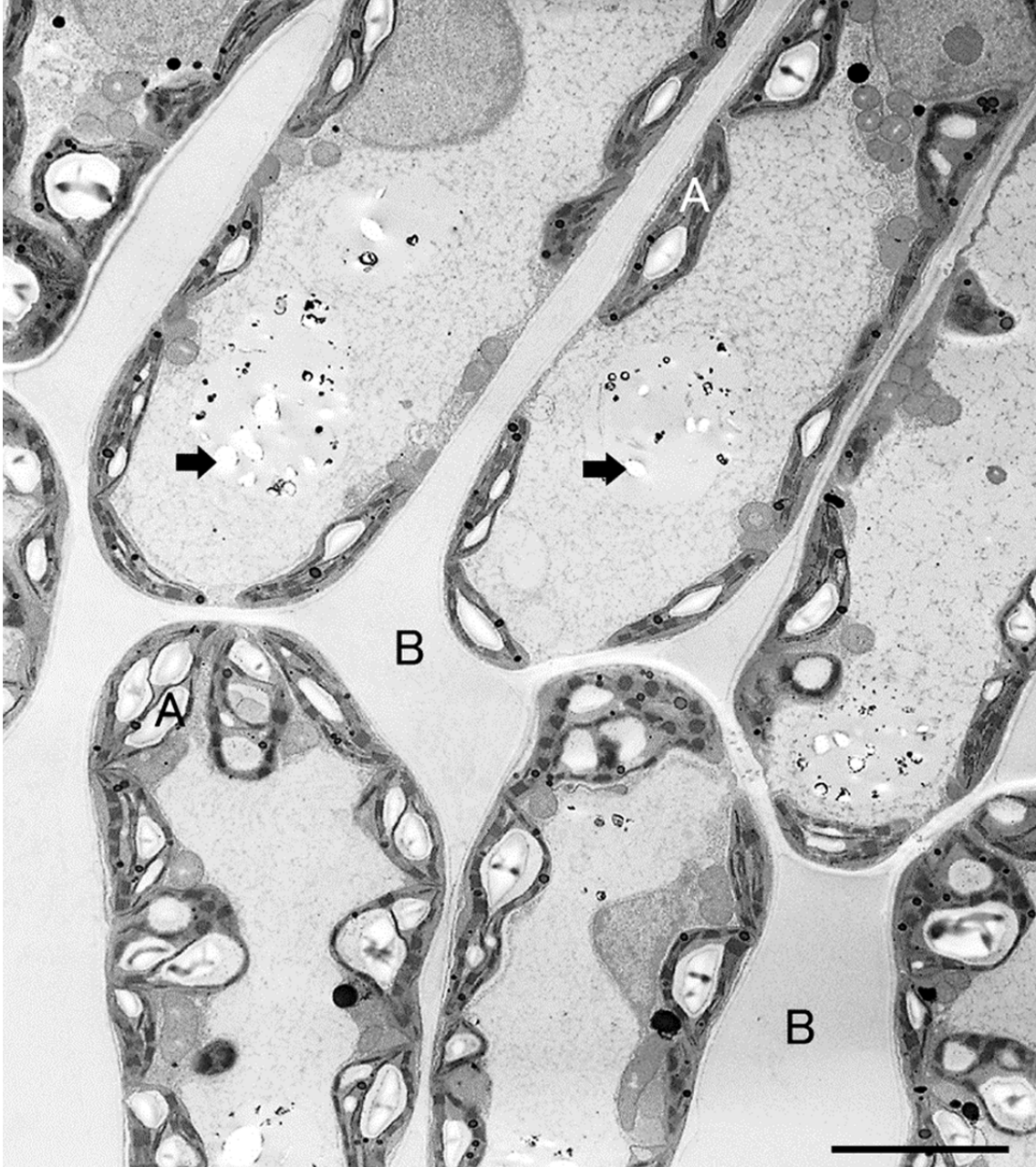
- 1) 微小管
- 2) 骨格筋線維の暗帯および明帯
- 3) 培養細胞
- 4) 中枢神経
- 5) 肺胞壁

問9. オオカナダモの葉緑体を形態解析したい. 以下の設問に答えなさい. (10点)

- 1) 走査電顕を使用し, 葉緑体のチラコイド膜を可視化する方法と手順を述べなさい.
- 2) 透過電顕を使用し, 葉緑体内部の構造を撮影する方法と手順を述べなさい.

問10. 植物組織の透過電顕像である. スケールバーは2.5 μmを示す.

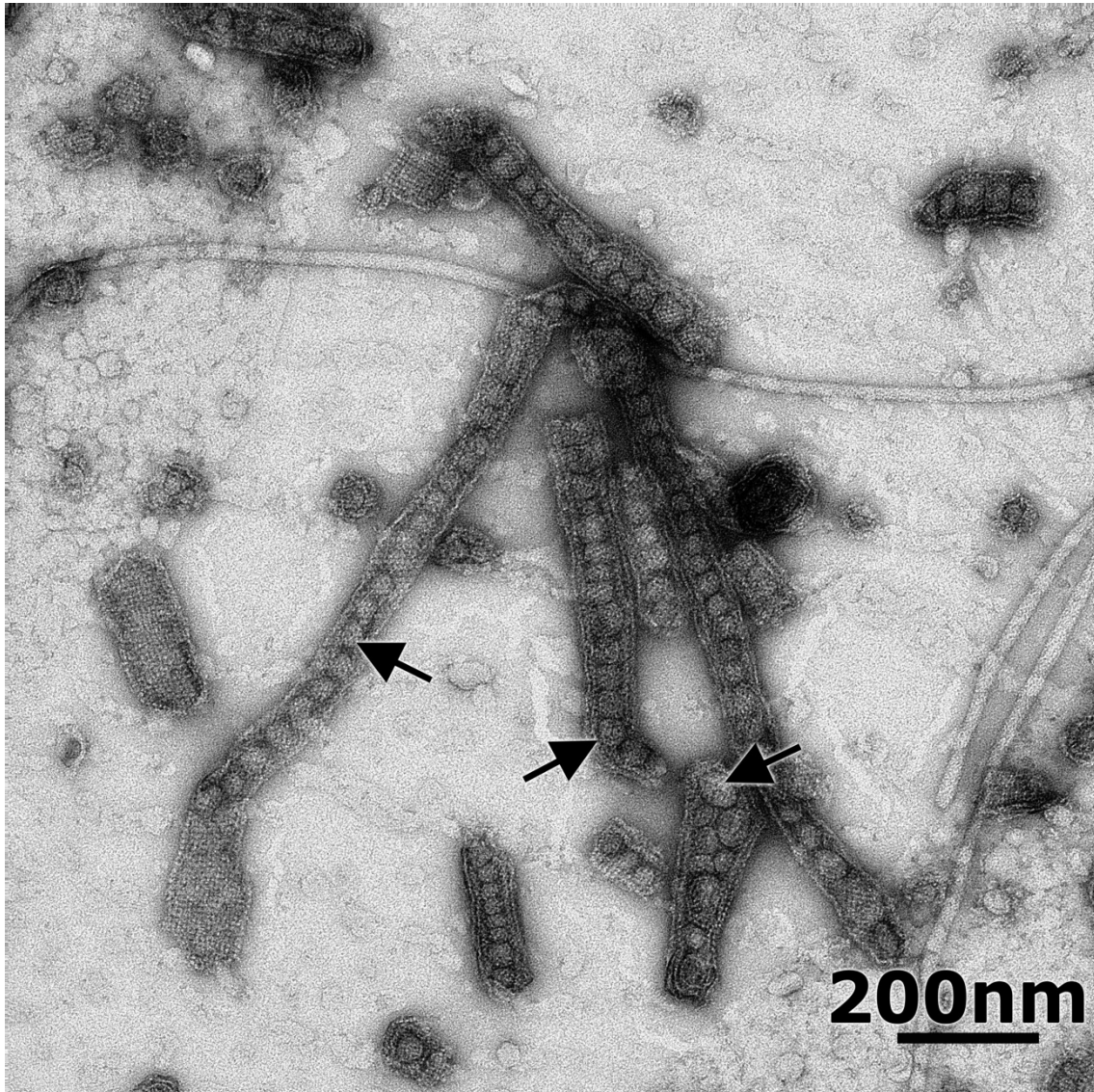
1) ~ 4) の設問に答えなさい. (10点)



- 1) 組織の名称, この組織を含む器官および代表的な植物の名称を答えなさい.
- 2) Aの細胞小器官の名称と生理的役割を答えなさい.
- 3) Bの部位の名称とこの組織における生理的役割を答えなさい.
- 4) 矢印で示す切片の穴が生じた理由を説明しなさい.

問 1 1. 微生物の分泌小胞の透過電顕像である.

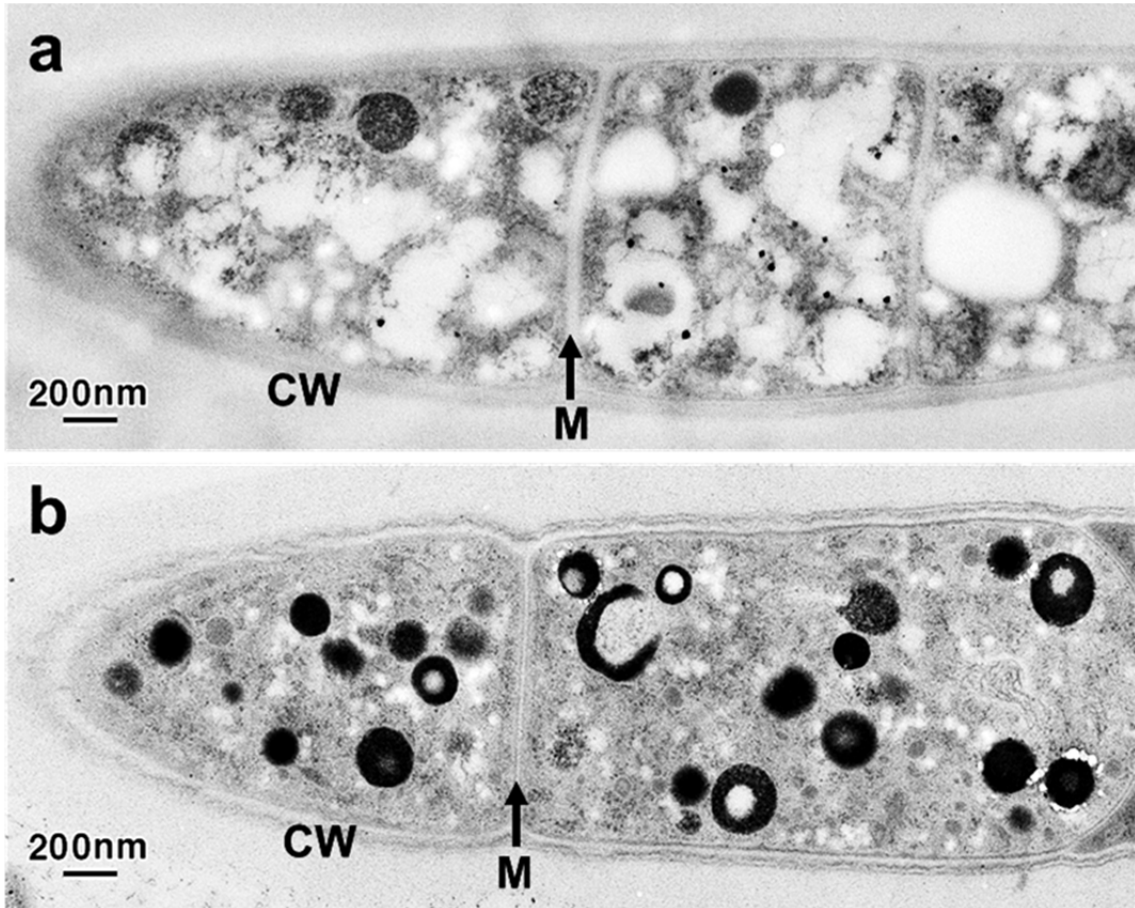
1) ~ 3) の設問に答えなさい. (10 点)



- 1) この試料はどのような電子顕微鏡用の処理法で作製されたものか, その手技の名称を答えなさい.
- 2) 1) の手順を説明しなさい. ただし, 試料の濃縮・精製は終えているものとする.
- 3) 1) は試料の外観を観察する方法として知られるが, 写真のように, 内部構造[鞘状構造の内側に存在する分泌小胞 (矢印)]も示すことができる. その理由として考えられることを答えなさい.

問1 2. 写真a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, 写真bはグルタルアルデヒド固定後, 急速凍結-凍結置換固定を行った微生物の超薄切片像である. CWは細胞壁, Mは膜を示す.

1), 2) の設問に答えなさい. (10点)



- 1) 微細構造保持の観点から, 写真aとbの特徴をそれぞれ答えなさい. 特に, 細胞質の構造および膜の形態に留意しなさい.
- 2) 写真bについて, グルタルアルデヒド固定から包埋までの具体的な手順を説明しなさい.