

公益社団法人 日本顕微鏡学会 2023 年度

電子顕微鏡技術認定試験

一級技士（生物試料作製技術・鏡体・共通技術）

問 題・解 答 用 紙

2023 年 10 月 7 日（土）

受験番号	受験地	氏名
------	-----	----

問題は公開することになっています。問題・解答用紙を提出した後、これと交換に未記入の本用紙を係から受け取って退出して下さい。

----- 以下は採点欄です。何も記入しないで下さい。 -----

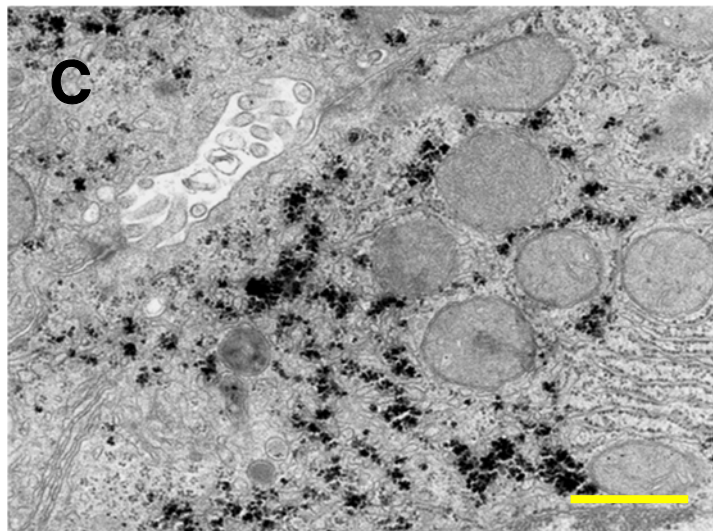
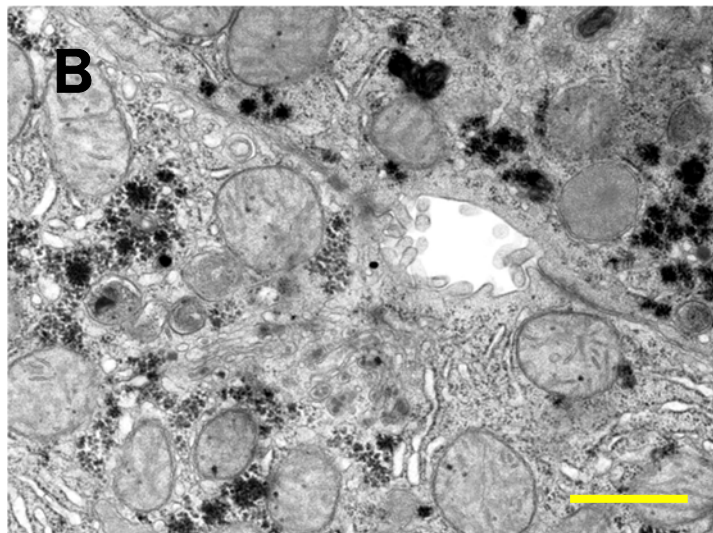
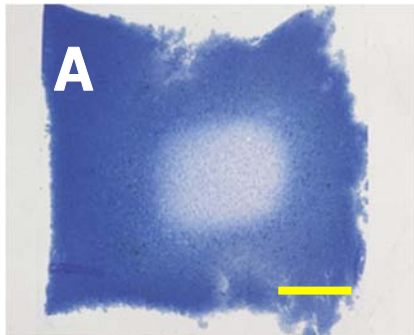
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15			

合 計	
--------	--

問 1～問 7 は全問解答し、問 8～問 13 はその中から 2 問、問 14、15 はどちらか 1 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. A～C はラット肝臓の光顕写真（準超薄切片のトルイジンブルー染色）と電顕写真である。次の設問に答えなさい。光顕写真のスケールバーは 200 μm 、電顕写真のスケールバーは 1 μm を示している。（10 点）



- 1) Aで中央部分の染色が弱いのはなぜか. 説明しなさい.
- 2) BとCの電顕写真はホルムアルデヒドあるいはグルタルアルデヒドで固定したものである. ホルムアルデヒドで固定したものはどちらか. 記号で答えなさい.
- 3) そのように判断した理由を記しなさい.

【解答欄】

1	
2	
3	

問2. 次の文章は包埋樹脂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より選び、記号で答えなさい。(10点)

エポキシ系樹脂は(1)すると硬化が不十分になり超薄切し難くなる。アクリル系樹脂およびポリエステル系樹脂は(2)の存在下で(3)が(4)される。これを回避するために、具体的にはアクリル系樹脂では脱水剤に(5)の使用は避ける。包埋の際、(6)の中に樹脂が満杯となるまで入れ、蓋をしっかりと閉めて(7)と極力触れさせないようにする。厳密には樹脂混合時や(3)時に(7)を(8)に置換して行ったほうがよい。また、低温重合する場合、四酸化オスミウムは(9)を妨げるため、アクリル系樹脂の(3)を(4)する。一方、エポキシ系樹脂の脱水には(5)も使えるが、(10)を用いる場合は完全な脱水を行うために最終過程で無水(10)を用いるのが重要である。

【語群】

A. 阻害	B. 空気	C. 長期保存
D. 紫外線	E. 赤外線	F. 熱
G. 酸化	H. 炭酸ガス	J. ゼラチンカプセル
K. アセトン	L. 酸素	M. 窒素ガス
N. 吸湿	P. n- ブチルグリシジル エーテル	Q. プロピレンオキサイド
R. 脱水	S. エタノール	T. ポリエチレンカプセル
W. 重合		

【解答欄】

1	2	3	4	5
6	7	8	9	10

問3. 次に示す超薄切時のトラブルの原因を記しなさい。(10点)

- 1) 切片がリボンにならず, 1枚1枚バラバラに切れてくる.
- 2) 切片にナイフマークが入る.
- 3) 切片に切削方向と直角にチャターが入る.
- 4) ブロックの切削面がぬれる(水引き).

【解答欄】

1	
2	
3	
4	

問4．免疫電顕法の包埋後染色法について，次の各設問に答えなさい。（10 点）

- 1) 固定された動物組織を包埋する手順を述べなさい。
- 2) 使用する樹脂の種類または名称と，その理由を述べなさい。
- 3) 標識にペルオキシダーゼではなく，金コロイドを使用する理由を述べなさい。

【解答欄】

1	
2	
3	

問5. 次の文章は走査電顕試料の作製技術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より選び、記号で答えなさい。(10点)

生物の SEM 観察用に試料を乾燥する場合、(1)を使用した(2)乾燥や(3)を使用した凍結乾燥法がある。乾燥した生物試料には(4)がほとんどなく、SEM 観察する場合、照射電子により試料が(5)して(6)像に著しい像障害が生じる。そのため、試料に(4)を与える目的で試料を脱水・乾燥する前に(7)を試料中に結合させる(8)や乾燥した試料表面に(7)をコーティングする方法がある。この方法には(5)の防止以外に(6)の発生効率の(9)と試料損傷の(10)の効果もある。

【語群】

A. アセトン	B. 帯電性	C. ブロック染色
D. 非金属	E. エタノール	F. 超臨界
G. 二次電子	H. 凍結	J. 臨界点
K. 導電性	L. 免疫染色	M. 増大
N. 液化二酸化炭素	P. 金属	Q. t-ブチルアルコール
R. 帯電	S. 反射電子	T. 導電染色
W. 軽減		

【解答欄】

1	2	3	4	5
6	7	8	9	10

問6．走査電顕像のコントラストについて述べた次の文章中の（ ）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）

走査電顕像では，試料表面から発生する二次電子を（ 1 ）に利用している．二次電子の発生量は試料の表面形状に依存し，（ 2 ）に対し（ 3 ）している表面部分では発生量が多くなり，コントラストが生じる．これを（ 4 ）という．
また，（ 5 ）や（ 6 ）では，（ 7 ）により，平坦な部分よりも二次電子の発生量が多くなり，コントラストが高くなる．画面が異常に白く輝き，低いコントラストを示す場合は（ 8 ）によるものであり，この場合は試料表面に（ 9 ）をし，（ 10 ）を良くすることにより，コントラストを改善することができる．

【語群】

A．試料端	B．エッジ効果	C．突起物
D．像形成	E．チャージアップ	F．傾斜角効果
G．無蒸着	H．導電性	J．反射電子
K．傾斜	L．加速電圧効果	M．入射電子
N．金属コーティング	P．絶縁	Q．照明効果

【解答欄】

1	2	3	4	5
6	7	8	9	10

問 7. 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) 収差と呼び、(3) を使う事で低減できる。
- 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) 収差と呼び、低倍率ではマイクログリッドなどの孔の縁に現れる (5) の間隔が周辺全体で一様になるように、高倍率では (6) 薄膜の像に方向性がなくなるように補正し低減できる。
- 3) (7) 収差は、電子の波長によって焦点位置が異なることで生じ、レンズ励磁電流の変動や試料中での電子の (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ことによって生じる収差を (9) 収差と呼び、糸巻き型やたる型に像が歪む。中間レンズや投影レンズを (10) 倍率で用いる場合に顕著となる。

【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. 非結晶
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		

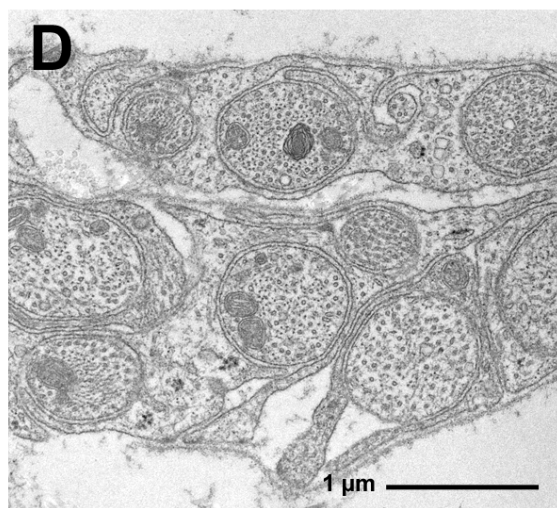
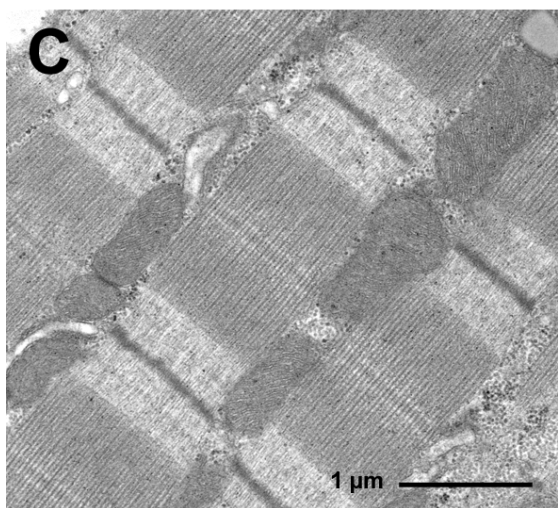
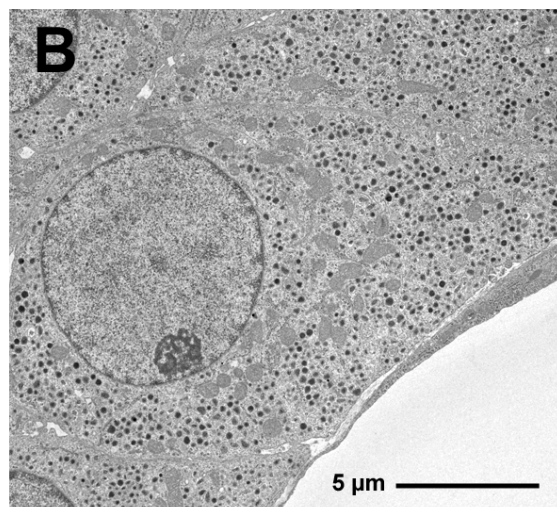
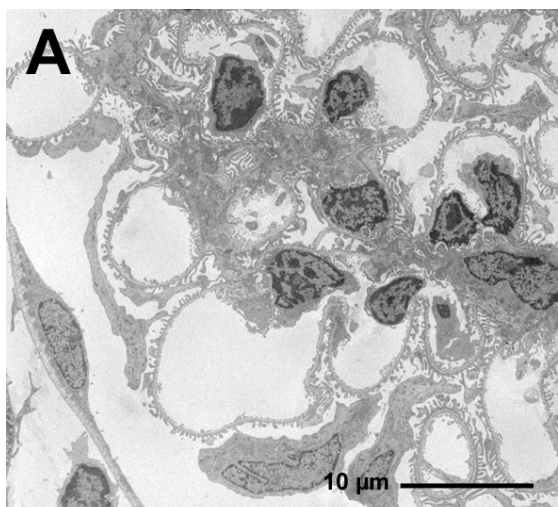
【解答欄】

1	2	3	4	5
6	7	8	9	10

【選 択 問 題】

問 8. A～Dは動物組織の電顕画像である.

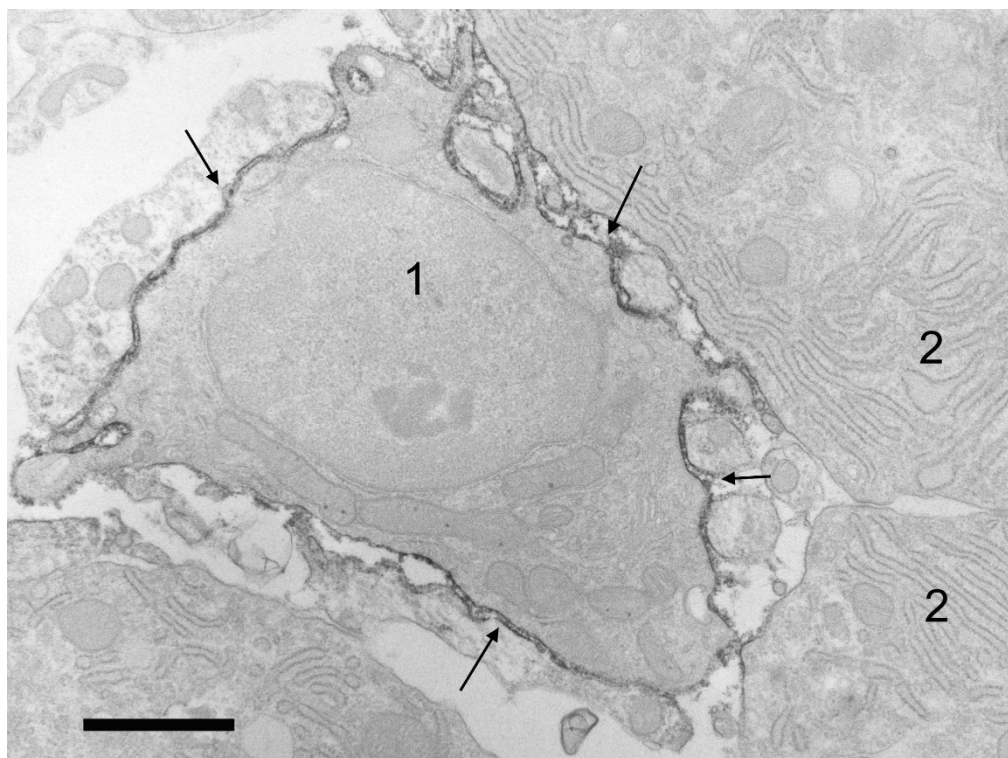
各電顕写真に示す画像は何か, またその判断理由を簡潔に述べなさい. (10 点)



【解答欄】

写真	画像に写っているもの	判断根拠
A		
B		
C		
D		

問 9．写真は西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)標識抗体法を使用した免疫電顕法で、ある組織の細胞の表面抗原を観察したものである。切片はクエン酸鉛で単染色してある。矢印は陽性部位を示す。スケールバーは 1 μm である。(10 点)



- 1) 構造 1，2 がみられた。これらの構造はそれぞれ何か。
- 2) この免疫電顕法で反応産物の可視化に使われているものはどれか。次の A～E より選
びなさい。
 - A. 生じたリン酸を鉛イオンで捕捉して不溶性のリン酸鉛を観察している。
 - B. コロイド金標識二次抗体を使用して金粒子を観察している。
 - C. 使用した抗体タンパク質の電子密度が高いので、これを観察している。
 - D. ジアミノベンチジン(DAB)と四酸化オスミウムによるオスミウム・ブラックを観察
している。
 - E. あらかじめ入れてあるルテニウムレッドを観察している。
- 3) 切片を酢酸ウラニル・クエン酸鉛の二重染色ではなく鉛の単染色にした理由は何か。

【解答欄】

1		
2		
3		

問 10. 植物の葉をグルタルアルデヒド-四酸化オスミウム二重固定して、透過電子顕微鏡で形態観察を行いたい。以下の問いに答えなさい。(10 点)

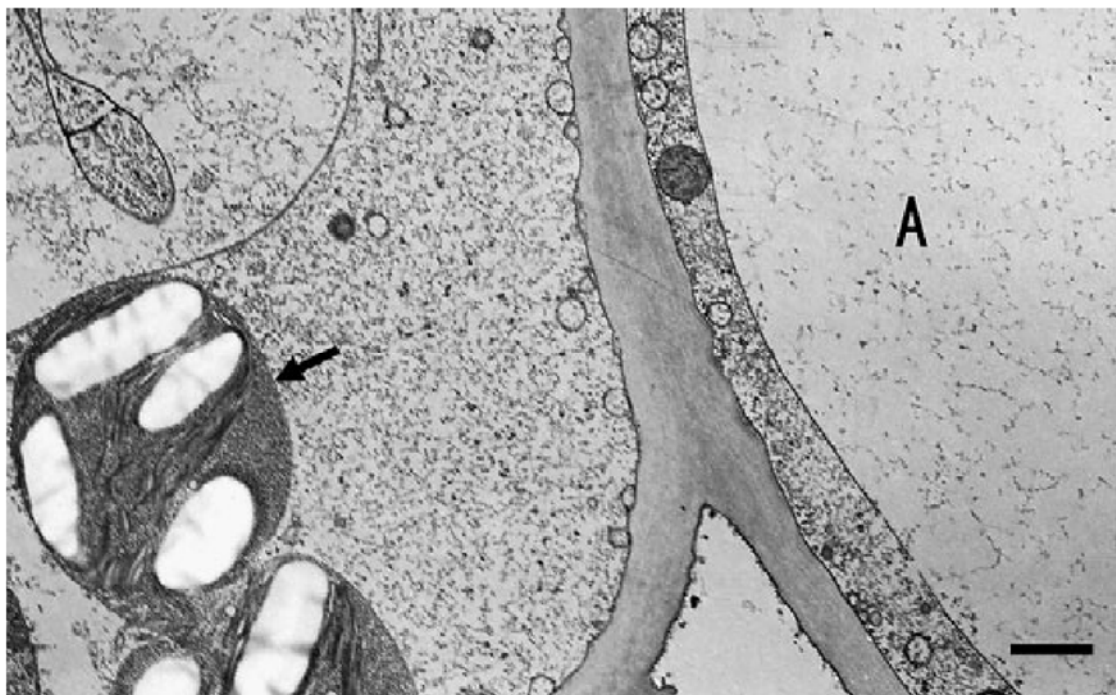
1) 植物組織は固定液が浸透しにくいことが多い。葉の組織内に固定液が浸透する上で障害となりうる構造をいくつか挙げなさい。

2) 固定液の浸透を促進するために前固定時にどのような操作を行うか。その操作を行う理由あるいは効果と合わせて記載しなさい。

【解答欄】

1	
2	

問 1 1. 下の写真はある植物組織中の隣り合う 2 つの細胞の透過電顕像である. 次の各設問に答えなさい. スケールバーは 1 μm を示す. (10 点)



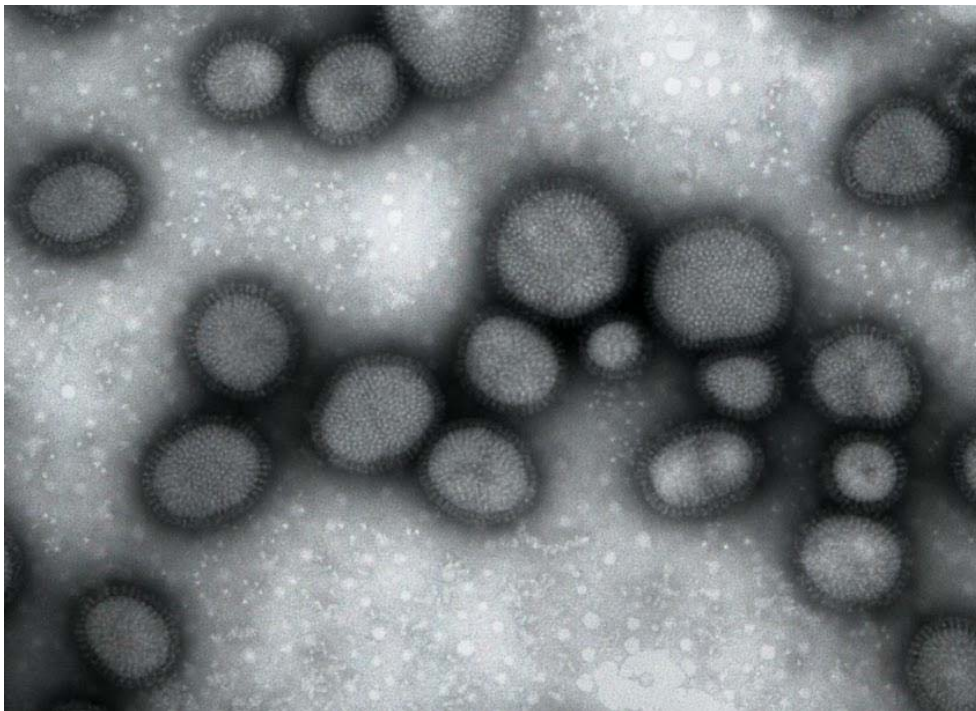
- 1) 写真中の A と矢印の名称を記しなさい.
- 2) A の形状からこの細胞の成育段階を推測し, 50 字以内で記しなさい.
- 3) 矢印の形状からこの細胞の生理状態を推測し, 100 字以内で記しなさい.

【解答欄】

1		
2		
3		

問 1 2. これはウイルスの透過型電子顕微鏡像である. 次の 1) ～ 3) の設問に答えなさい. (10 点)

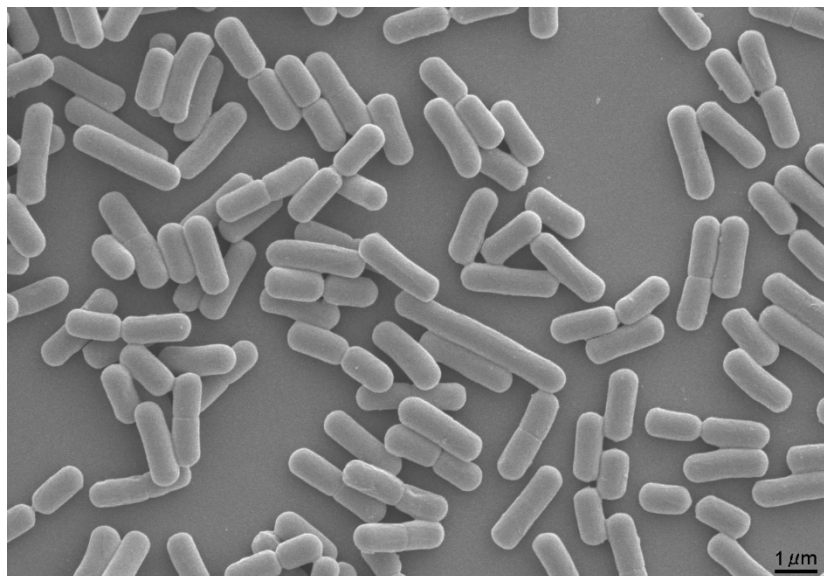
- 1) この電子顕微鏡像では, ウイルス粒子表面のスパイク構造が観察される. ウイルスはどのような手技により可視化されたものか? その手技の名称を答えなさい.
- 2) 1) の手技で用いられる重金属溶液を 1 つ答えなさい.
- 3) 1) の手技の手順を説明しなさい. ただし, ウイルスの不活化・濃縮・精製は終わっており, 支持膜を張ったグリッドは準備済みとする.



【解答欄】

1	
2	
3	

問 1 3. 図は、ある乳酸菌を液体培地から処理した走査電顕像である。固定から観察に至るまでの試料作製手順を箇条書きで具体的に述べなさい。(10 点)



【解答欄】

問 1 4. 透過電顕観察時の試料損傷について、以下の設問に答えなさい。(10 点)

透過電顕を用いて、ある粒子結晶の結晶構造を調べることにした。適切に調整されたサンプルを導入し、電子回折パターンを観察したところ、観察し始めた当初は、明瞭に観察されたが、時間の経過に伴って、回折パターンの強度が弱くなり、最後には見えなくなってしまった。

- 1) 回折パターンが見えなくなった原因について、考えられるものを挙げなさい。
- 2) 1) で考察した原因に基づき、回避する対策として有効なものを 2 つ挙げなさい。
- 3) こうした現象は、軽元素のみからなるサンプルでより生じやすいが、その原因について挙げなさい。

【解答欄】

1	
2	
3	

問 1 5. 電子回折について、以下の設問に答えなさい。(10 点)

- 1) 3 種類の試料の電子回折パターンを観察したところ、それぞれリング状、ハロー状、斑点状のパターンが得られた。試料はそれぞれどのような結晶性を有するか。また、中間レンズの物面は対物レンズのどの面になるか。
- 2) 制限視野回折では絞りを対物レンズのどの面に入れて視野を制限しているか。
- 3) 電子線が結晶性試料を透過する際、回折波が生じる。その際、透過波のみで得られる像と回折波のみで得られる像の名称をそれぞれ書きなさい。さらに、それらの像中で試料の存在しない部分の見え方の違いを述べなさい。

【解答欄】

	リング状	ハロー状	斑点状
1			
	中間レンズの物面に対応する面		
2	制限視野回折絞りの挿入位置		
3	① 透過波のみで得られる像の名称		
	② 回折波のみで得られる像の名称		
	①と②における 試料の存在しない部分の 見え方の違い		