

公益社団法人 日本顕微鏡学会 2024 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

2024 年 10 月 5 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. 次の文章中の () にあてはまる最も適切な語句を記入しなさい。(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は (10) の指標酵素である。

【解答欄】

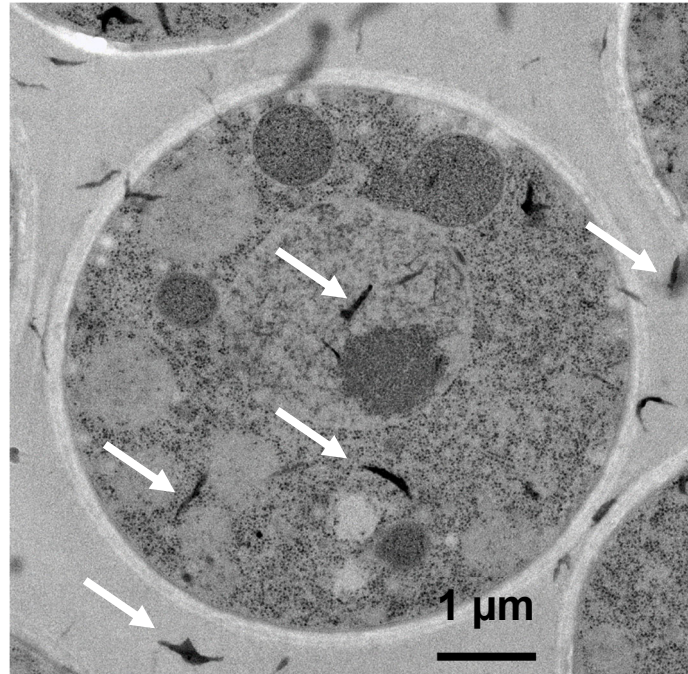
1	2	3	4	5
6	7	8	9	10

問 2. (A) ラットの血管灌流固定法, (B) 大腸菌懸濁液の化学固定法, (C) 植物試料の浸漬固定法の中から二つ選んでその記号と各々の固定法の実際の操作法と注意点を記しなさい. (10 点)

【解答欄】

固定法 1: (記号)	
操作 法	
注 意 点	
固定法 2: (記号)	
操作 法	
注 意 点	

問3. 図は急速凍結・凍結置換固定法による酵母の透過電顕像である。次の各設問に答えなさい。(10点)



- 1) 線維状の試料汚染（矢印）は、どの試料作製過程で生じたと考えられるか。その過程であると判断した理由とともに答えなさい。
- 2) この試料汚染をなくすための対策を可能な限り多く述べなさい。

【解答欄】

1)	過程	
	理由	
2)		

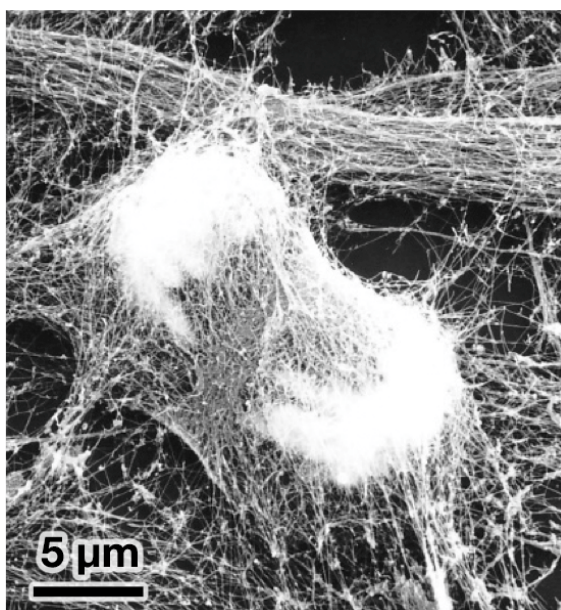
問 4. 免疫電顕の包埋後染色法について、以下の設問に答えなさい。（10 点）

- 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。

【解答欄】

1)		
2)	樹脂	
	理由	
3)		

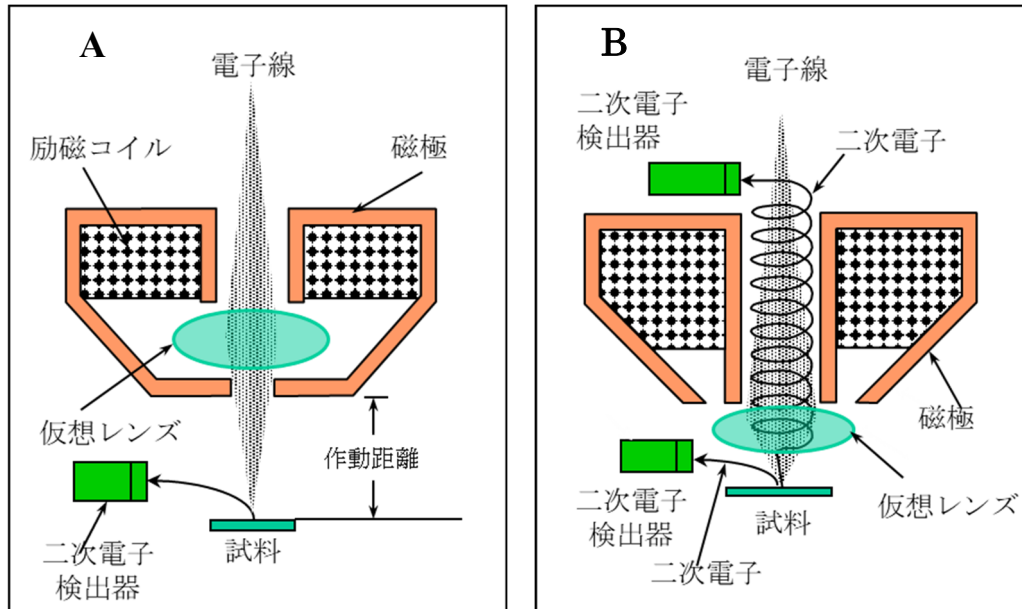
問 5. 写真は、細胞骨格観察法を用いてカバーガラス上に単層培養したグリア細胞を臨界点乾燥法で処理して走査電顕で観察したものである。分裂中の細胞には、左右に移動した染色体と細胞の形態を維持する中間径フィラメントなどが観察される。この試料作製手順を記しなさい。（10 点）



【解答欄】

問 6. A と B は走査電顕の代表的な対物レンズの構造である。

以下の設問に答えなさい。(10 点)



- 1) A の対物レンズの方式を答えなさい。
- 2) B の対物レンズの方式を答えなさい。
- 3) 高い分解能が得られる対物レンズはどちらか。記号で答えなさい。
- 4) 3) で判断した理由を A と B を比較しながら記しなさい。

【解答欄】

1)	
2)	
3)	
4)	

問 7. 電子染色した生物切片の透過電顕像のコントラストについて、以下の設問に答えなさい。（10 点）

- 1) 対物レンズの後焦点面に対物絞りを挿入することによって得られる像コントラストは何か.
- 2) 1) で得られた像コントラストを向上させるために、装置の操作で対応できる方法について二つ記しなさい.
- 3) 試料と相互作用せずに透過した電子波と、相互作用により散乱した散乱波の干渉による像のコントラストは何か.
- 4) 試料の端や孔の部分で観察されるフレネル縞のコントラストは、不足焦点（アンダーフォーカス）と過焦点（オーバーフォーカス）ではどのように見えるか.

【解答欄】

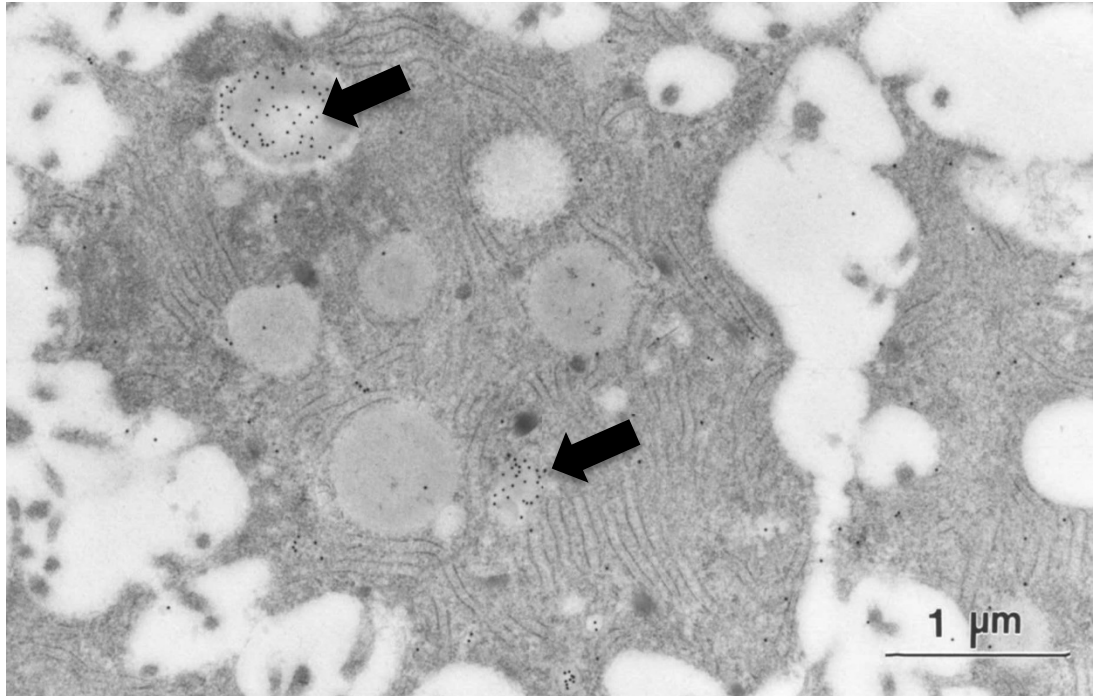
1)	
2)	
3)	
4)	

【選 択 問 題】

問 8. 多細胞動物の上皮における接着複合体について説明しなさい。(10 点)

【解答欄】

問 9. 下の写真はある組織の免疫電顕像である。矢印はプロテイン A-金コロイドの標識を示す。次の各設問に答えなさい。（10 点）



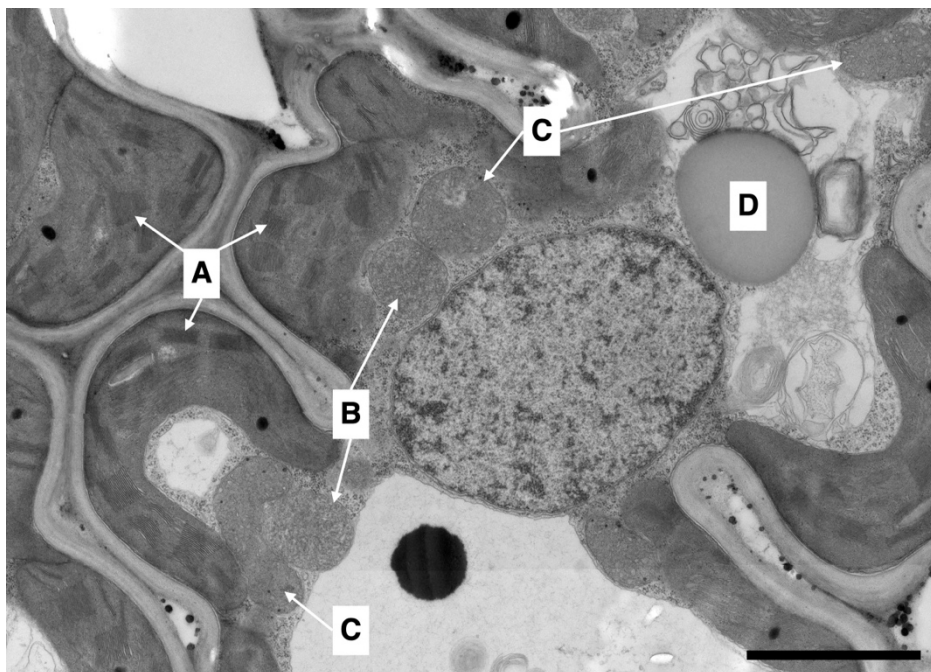
- 1) この免疫電顕法は包埋前染色法か、あるいは包埋後染色法か、妥当な方を理由とともに解答欄に記しなさい。
- 2) 包埋前染色法と包埋後染色法の試料作製手順の違い、双方の利点と欠点を説明しなさい。
- 3) この免疫電顕法では標識にプロテインA-金コロイドを使用しているが、これで抗原部位を標識できる原理を簡潔に説明しなさい。

問 9 【解答欄】

1)	
2)	
3)	

問 10. 単子葉植物の葉の透過電顕像である. スケールバーは 2 μm を示す.

1 ～ 3 の設問に答えなさい. (10 点)



- 1) A～D の細胞小器官の名称を答えなさい.
- 2) この像から読み取れることを挙げよ.
- 3) 単子葉植物の透過電顕観察用の試料作製時に気をつける点を挙げよ.

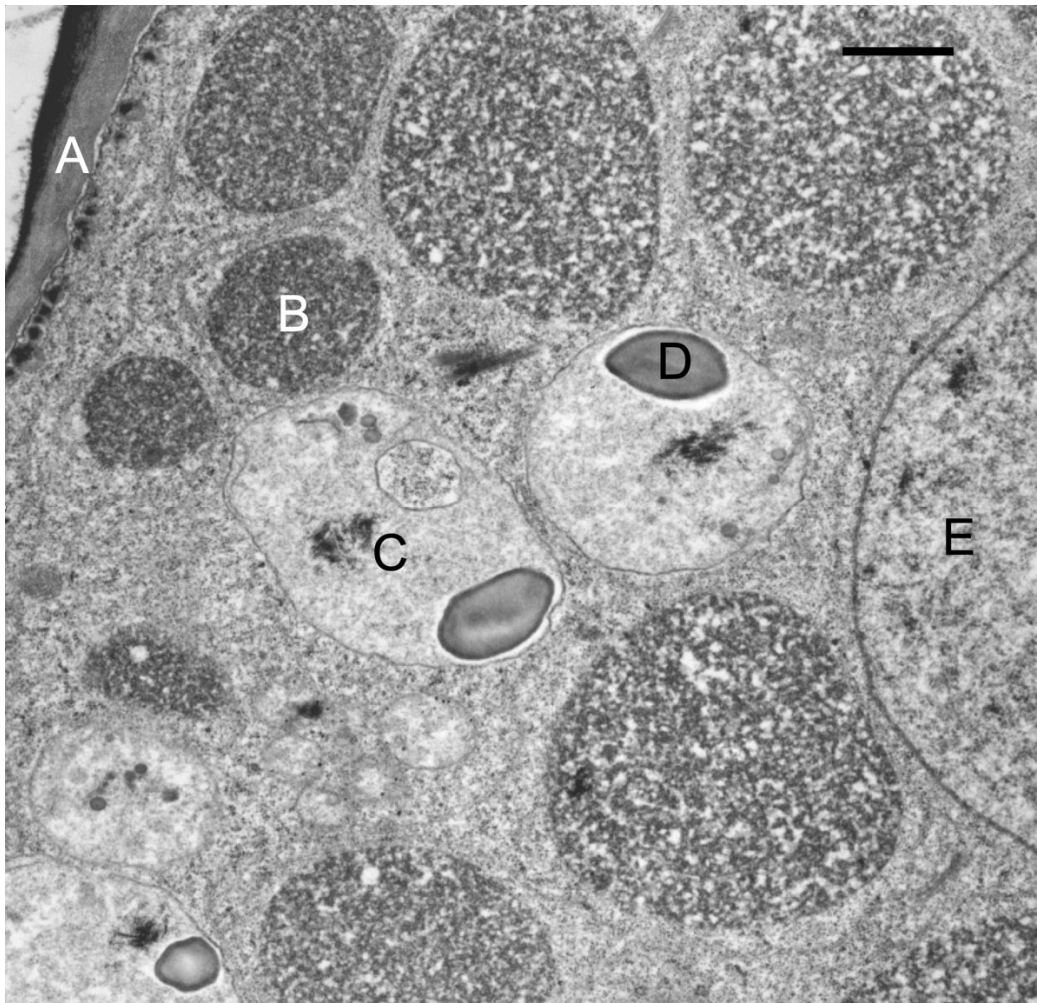
【解答欄】

1)			
A	B	C	D

2)	
3)	

問 1 1. 写真は吸水発芽中のアズキ種子，胚軸皮層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 . (10 点)

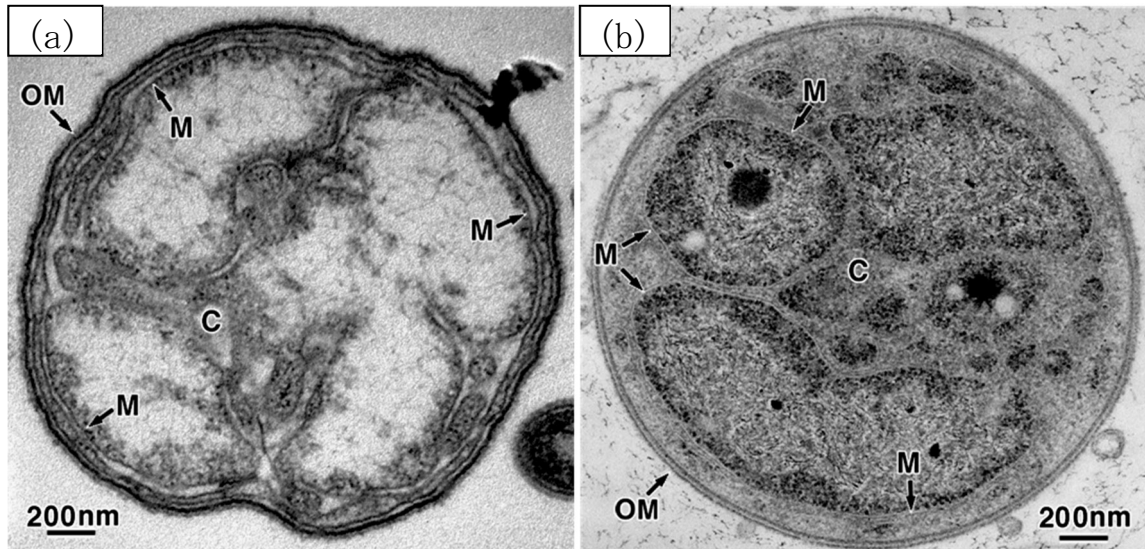


- 1) 写真中のA～Eはそれぞれ何か，名称を書きなさい（名称は重複してもよい）．
- 2) 二重の膜で囲まれているのはA～Eのどれか．
- 3) 写真から考えられるこの細胞の機能を1つあげなさい．

【解答欄】

1)	A: C: E: B: D:
2)	
3)	

問 1 2. 写真は、グルタルアルデヒド・四酸化オスミウムによる化学固定（方法 1），および、グルタルアルデヒド固定後，四酸化オスミウム・アセトンによる急速凍結置換固定（方法 2）を行った微生物の超薄切片像である．以下の設問に答えなさい．
（10 点）．

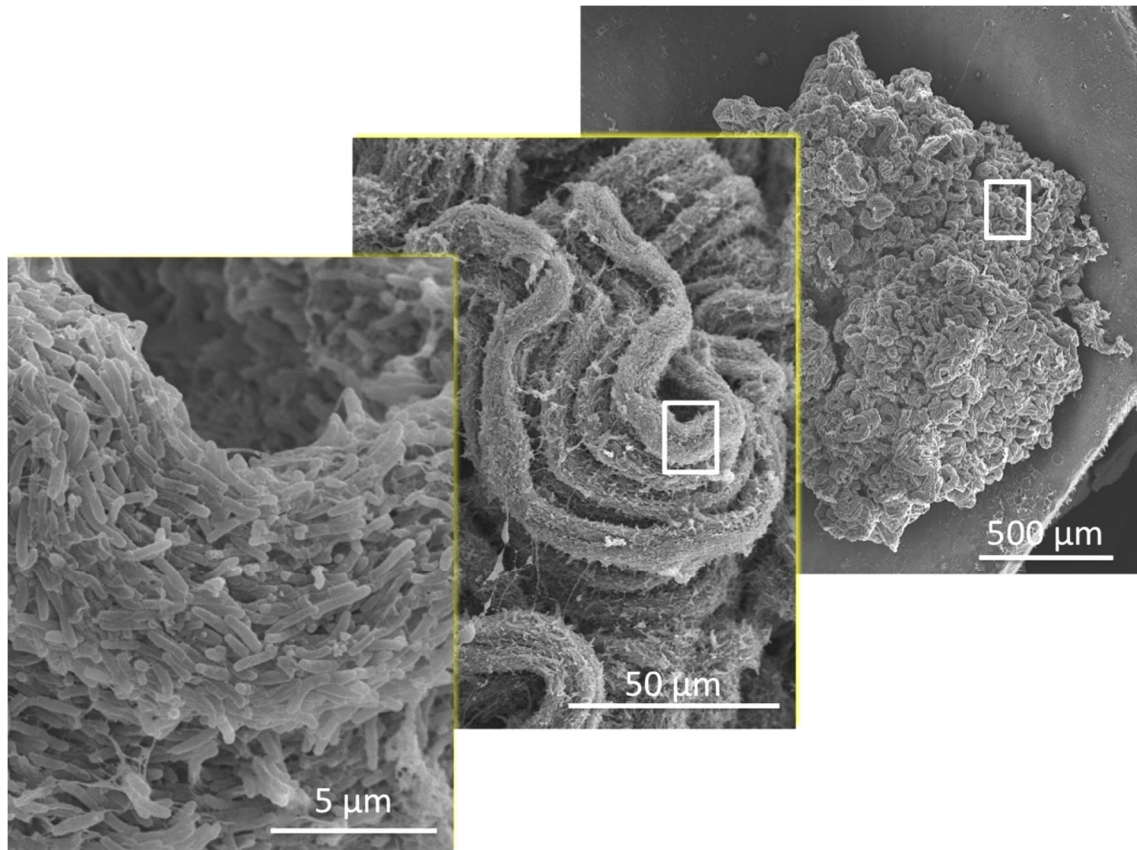


- 1) 写真 (a)，写真 (b) のどちらが急速凍結置換固定（方法 2）による像か．記号で答えなさい．
- 2) 写真 (b) は，写真 (a) と比べて，どのような特徴があるか．細胞の形態，膜（OM:外膜，M:膜）の形態，および細胞質（C）の構造に留意して答えなさい．
- 3) （方法 1）と（方法 2）の違いは，グルタルアルデヒド固定後の（1）四酸化オスミウムおよび室温でのエタノール脱水と，（2）液体プロパンによる急速凍結，四酸化オスミウム・アセトンによる凍結置換固定のみで，包埋，超薄切片作製，電子染色は同一である．この実験から，試料作製法と細胞の微細構造保持に関して言えることを考察せよ．

問 1 2【解答欄】

1)	
2) 特徴	
3) 考察	

問 1 3. 写真はある細菌の固形培地上のコロニーを走査電顕で観察した際に見られたコード形成と呼ばれる特異形態の拡大像である。この菌はバイオセーフティーレベル3 領域での取り扱いが義務付けられている慢性呼吸器疾患の原因菌であり、写真はこの細菌のATCC 標準株（全薬剤感受性）を約4週間培養して得られたものである。各設問に答えなさい。（10 点）



1) この細菌を下記の語群より記号で解答しなさい。

【語群】

- A. アスペルギルス・フミガタス (*Aspergillus fumigatus*)
- B. クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)
- C. 結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)
- D. 肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*)
- E. ヘモフィルス-インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*)

2) このような走査電顕像を得るために用いられる固定から観察までの一般的なサンプル処理方法を、各段階におけるバイオセーフティーに関する注意点（実験室設備等）を含めて順序立てて箇条書きで具体的に述べなさい。

問 1 3【解答欄】

1)	
2)	

問 1 4. 透過電顕における色収差について説明しなさい.

ただし, 説明には以下の五つの語句を少なくとも一回ずつ使用すること. (10 点)

「電子の速度」, 「焦点距離」, 「加速電圧」, 「厚い試料」,

「電界放出型電子銃」

【解答欄】

問 1 5. 真空ポンプには開放型と非開放型とがある.

開放型のポンプのうち低真空領域で使用するポンプと, 10^{-3} Pa 以下の到達圧力まで排気できるポンプを一つずつ挙げ, その動作原理を説明しなさい. (10 点)

【解答欄】

低真空領域で使用するポンプ
その動作原理
10^{-3} Pa 以下の到達圧力まで排気できるポンプ
その動作原理