

公益社団法人 日本顕微鏡学会 2025 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

2025 年 10 月 4 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。 -----

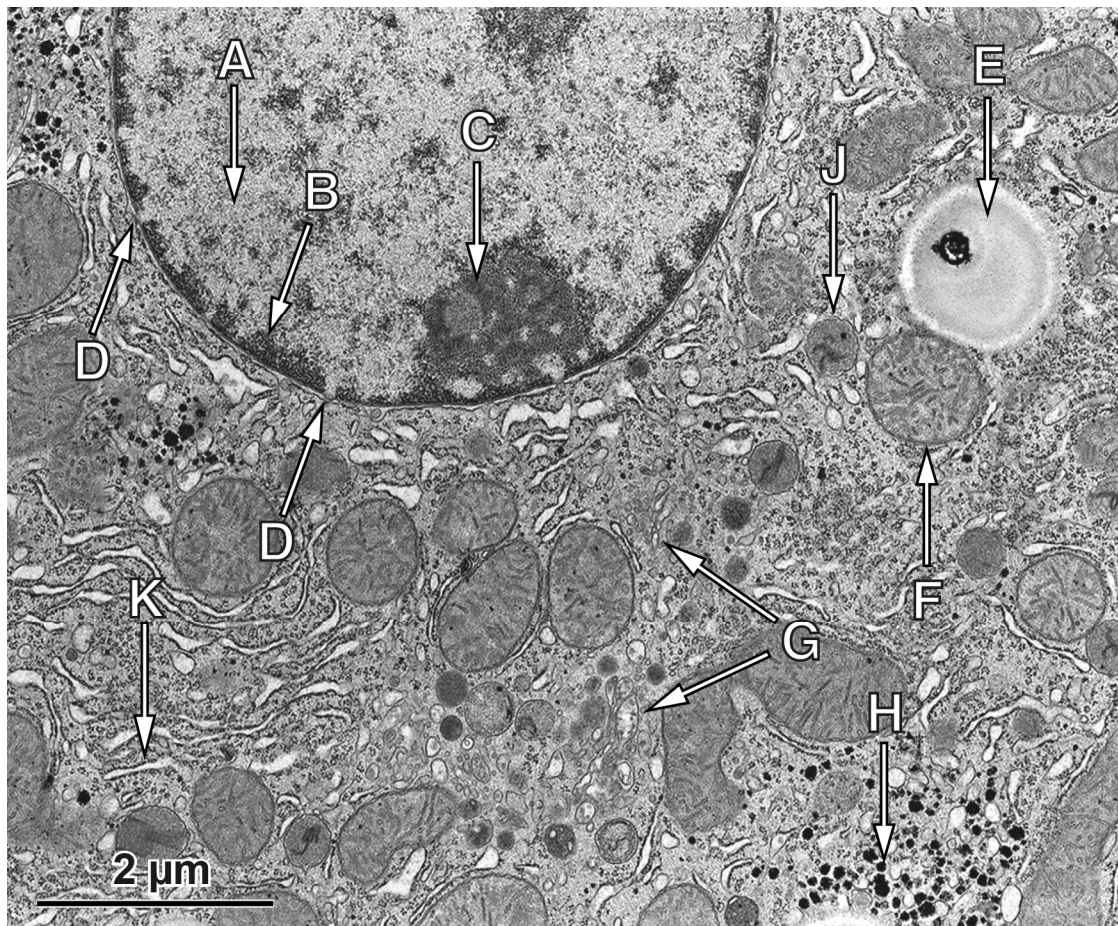
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15			

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. 図はマウス肝臓の透過電顕像である。AからKの名称を答えなさい。(10点)



【解答欄】

A		B	
C		D	
E		F	
G		H	
J		K	

問 2. エポキシ樹脂の調製は通常Luft の処方で行う.

エポキシ当量が150の処方は以下の通りである.

A液：エポン812 71 ml, DDSA 100 ml

B液：エポン812 100 ml, MNA 78 ml

この処方にしたがってA : B = 4 : 6 の樹脂を100 ml 調製する場合, エポン812, DDSA, MNA の容量は各々どのくらいになるか, 小数第一位まで計算しなさい. また, 樹脂を調製する手順を説明しなさい. (10 点)

【解答欄】

エポン 812		DDSA	
MNA			
樹脂の調製			

問 3. 免疫電顕の包埋後標識法について、各設問に答えなさい。（10 点）

- 1) 組織をLowicryl K4M などのアクリル系樹脂に包埋をする場合は、四酸化オスミウムを固定に使用することや、アセトンを脱水に用いることを避けることが望ましい。その理由について説明しなさい。
- 2) エポキシ系樹脂に包埋した場合は、超薄切片の脱樹脂を行った後に、免疫組織化学反応を行うことが多い。その理由と脱樹脂の方法について説明しなさい。
- 3) 超薄切片を加熱処理して、免疫組織化学反応を行うことがある。その理由について説明しなさい。

【解答欄】

1)				
2)	理由		方法	
3)				

問 4. 次の凍結技法に関する文章の () にあてはまる最も適切な語句を記入しなさい。
(10点)

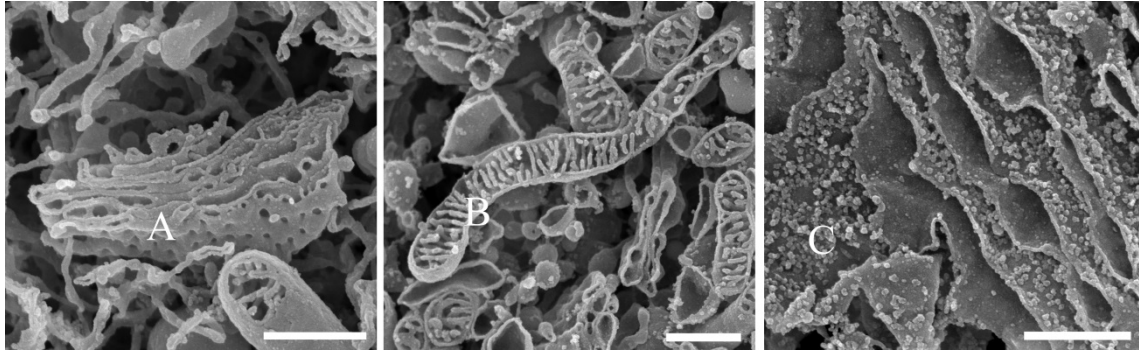
水を冷却していくと (1) が形成され、成長し続けるが、(2) 点に達すると成長が止まる。凍結速度が遅い場合は (1) は大きくなるが、極めて速い場合は電顕下で構造の認められない状態となる。この状態を (3) 状氷と呼び、組織・細胞では凍結速度 (4) K/sec以上で得られる。純水の (2) 点は -143°C であるが、含水量が約80%の生物材料ではそれよりも (5) くなる。含水量が (6) く、溶質濃度が (7) い場合、(1) 形成は起こりにくい。ただし、一度良好に凍結された試料でも、(2) 点以上に温度が上昇した際は (2) が起こるため、温度を保つ必要がある。また、(8) や (9) などの (1) 防止剤を使用したり、化学固定を行った試料を凍結する際には、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。

【解答欄】

1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	

問 5. 図はラットの組織をある手法を用いて処理し，細胞質内の微細構造を走査電顕で観察したものである．次の各設問に答えなさい．

スケールバーは500 nm を示している．（10 点）



- 1) この手法名を答えなさい．
- 2) 図中A～Cの細胞小器官の名称を答えなさい．
- 3) この手法の手順を詳細に述べなさい．

1)						
2)	A		B		C	
3)						

問 6. 次の走査電顕に関する文章の（ ）にあてはまる最も適切な語句を記入しなさい。
(10 点)

走査電顕は（ 1 ）から放出された電子を（ 2 ）レンズと対物レンズによって細く絞り、（ 3 ）によって試料表面を走査する装置である。走査電顕では試料に電子ビームを照射することで主に（ 4 ）電子と（ 5 ）電子が放出される。（ 4 ）電子は試料表面の（ 6 ）に関する情報を持ち、主に形状観察に利用される。一方、（ 5 ）電子は試料の（ 7 ）に関する情報を提供し、平均原子番号が大きい領域ほど画像上で（ 8 ）表示される。乾燥した生物試料を観察する際には帯電（チャージアップ）を防ぐため、試料作製過程で（ 9 ）を施すか、乾燥後に試料表面へ（ 10 ）を行う必要がある。

【解答欄】

1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	

問 7. 次の透過電顕に関する文章の () にあてはまる最も適切な語句を記入しなさい。

(10 点)

対物レンズによる結像において、対物レンズの (1) 面が試料面と一致した状態を (2) と呼び、理想的な結像となる。対物レンズの励磁電流を (2) からわずかに減少させた状態を (3) と呼び、(2) 時に比べて対物レンズの (4) 距離はわずかに (5) くなる。逆に、励磁電流を (2) からわずかに増加させた状態を (6) と呼び、(2) 時に比べて対物レンズの (4) 距離はわずかに (7) くなる。

膜孔を観察した場合、(3) では膜孔の縁に近い部分に現れる縞模様が (8) 見え、(6) では同じ部分の縞模様が (9) 見える。一方で、(2) では膜孔の縁にフリンジが形成されないため、観察像のコントラストは最も (10) なる。生物切片を観察する際には、通常わずかに (3) に設定して撮影を行うことで、適度なコントラストを持つ画像が得られる。

【解答欄】

1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	

【選 択 問 題】

問 8. 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)

動物細胞は細胞膜に囲まれ、その中には膜タンパク質が存在する. その膜タンパク質の局在状況を電子顕微鏡で観察するには、組織等の試料を凍結 (1) し、その金属薄膜 (2) を作る. また、膜タンパク質でなく、膜直下にある可溶性タンパク質を観察するには、水を昇華させる凍結 (3) 法を用いることができる. さらに、凍結 (1) した試料に白金と (4) を蒸着後、界面活性剤で膜外の成分を除去して、抗体等で目的の膜タンパク質を標識することもできる. 界面活性剤としては、電気泳動などにも用いられる (5) が使われることが多く、 (5) 処理凍結 (2) (3) 法と呼ばれる.

凍結と組み合わせて動物細胞等の三次元再構成に利用される手法としては、氷包埋切片等を (6) 電子顕微鏡で観察する (6) 電子線 (7) 法もある. この手法では、傾斜像シリーズを撮影する. その後、 (8) (6) 電子顕微鏡法と同様に、撮影された多くの像を平均化することで分解能を向上することもできる. (8) 解析では、多くの投影像から原子モデルが作成できる数 (9) の空間分解能が得られる. 通常の電子顕微鏡では数百 (10) までの厚さの試料を解析できるが、加速電圧を高めた超高压電子顕微鏡を用いることでより厚い試料の観察が可能となる.

【解答欄】

1		2	
3		4	
5		6	
7		8	
9		10	

問9. 次の文章を読んで、設問に答えなさい。(10点)

4%ホルムアルデヒド、0.1%グルタルアルデヒド/0.1 Mリン酸緩衝液 (pH 7.4) を使用し、4℃で2時間組織を固定後、凍結切片を作製した。抗Xマウスモノクローナル一次抗体とペルオキシダーゼ標識二次抗体を使用して免疫組織化学を行ったところ、核内に陽性反応が認められた。

同じ組織を同様に固定後、エポキシ樹脂に包埋し、超薄切片をニッケルメッシュに載せ、包埋後染色法で抗原Xの検出を試みた。1%牛血清アルブミン/PBSで30分間処理し、抗Xマウスモノクローナル一次抗体と4℃で一晩、続いて、プロテインA-金コロイド (20 nm 粒子径) と室温で1時間反応させた。PBSと蒸留水で洗浄し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛溶液で電子染色後、透過電顕観察したところ、反応は陰性であった。

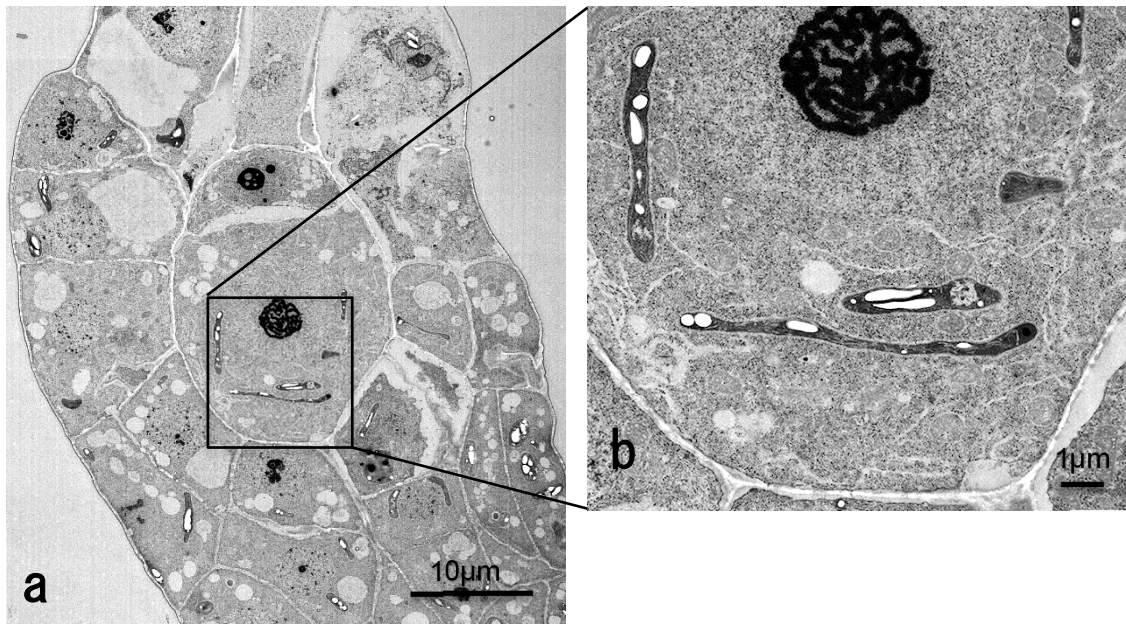
包埋後標識法で反応が陰性であった理由と、その解決法として考えられる可能性を2つ挙げなさい。

【解答欄】

1	理由： 解決法：
2	理由： 解決法：

問 10. ヒメツリガネゴケ胞子体の超薄切片を作製し透過電顕で観察した. 以下に示す画像および試料作製手順をもとに設問に答えなさい. (10 点)

- 1) 画像から読み取れる構造的特徴や試料状態について, 5 つの所見を簡潔に述べなさい.
- 2) 観察結果をふまえて, 初回の試料作製手順に対して考えられる修正点や追加処理などを 5 つ示し, それぞれ簡潔に述べなさい.



<試料作製手順>

- ① 前固定 : 2.5%グルタルアルデヒド/0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4), 4°C, 24 時間
- ② 同緩衝液で洗浄 : 15 分間, 3 回
- ③ 後固定 : 1%四酸化オスミウム/0.1M リン酸緩衝液, 4°C, 2 時間
- ④ 脱水(エタノールシリーズ) : 50% (4°C), 70% (4°C), 80% (室温), 90% (室温), 100% (室温), 各 10 分間
- ⑤ 置換 : 酸化プロピレン, 30 分間
- ⑥ 樹脂浸透 I : 酸化プロピレンとエポン 812 系樹脂(1:1)混合液, 1 時間
- ⑦ 樹脂浸透 II : 新しいエポン 812 系樹脂に交換, 3 時間, 2 回
- ⑧ 包埋・重合 : 60°C, 24 時間以上

【解答欄】

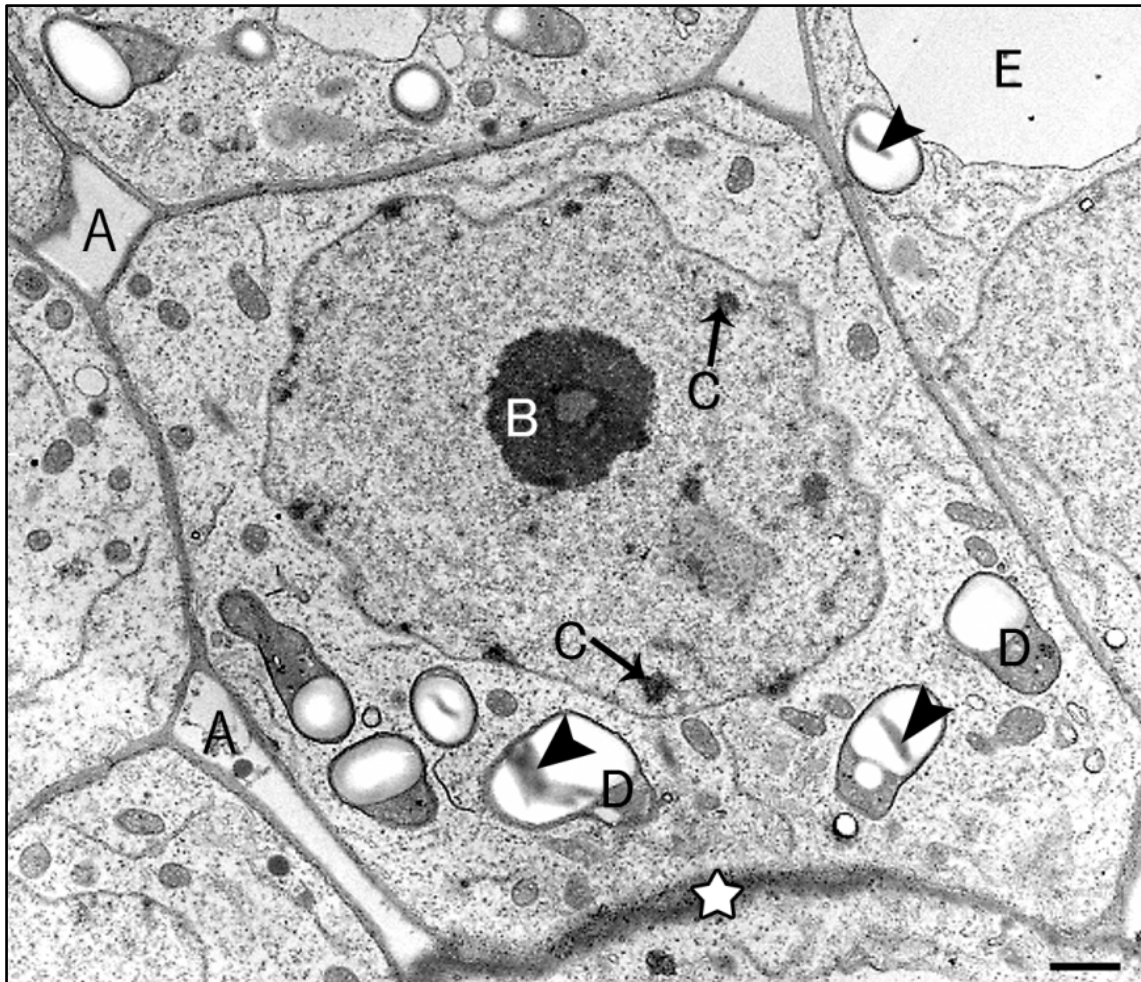
1)

1	
2	
3	
4	
5	

2)

1	
2	
3	
4	
5	

問 1 1. 植物細胞の透過電顕像である。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) 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。

【解答欄】

1)	A	名 称	生理的役割
	B	名 称	生理的役割
	C	名 称	生理的役割
	D	名 称	生理的役割
	E	名 称	生理的役割

2)	
3)	

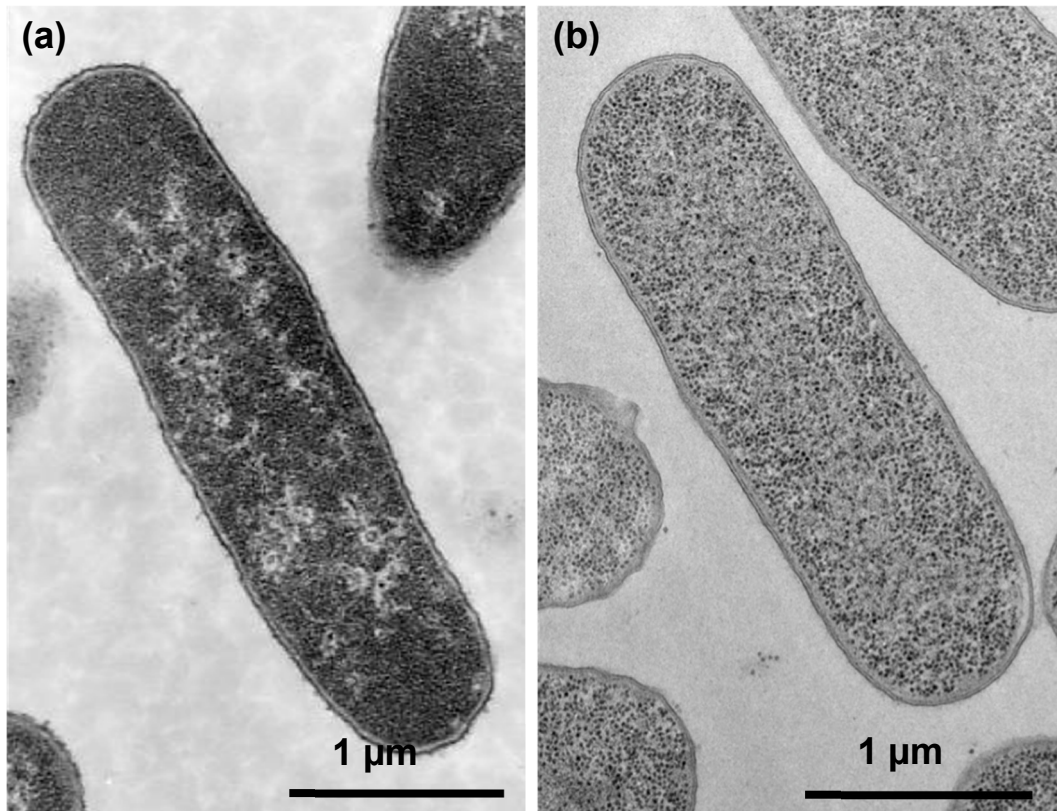
問 1 2. ネガティブ染色について 1) ～ 5) の設問に答えなさい。(10 点)

- 1) この方法はどのような試料に用いられるか.
- 2) 試料の調製で大切なことは何か.
- 3) この方法はグリッドに試料を直接載せて観察するが, このグリッドを使用するために必要な準備を述べなさい.
- 4) 用いられる染色液を 2 つ以上答えなさい.
- 5) 観察する試料は高倍率で撮影することが多い. 必要となる電子顕微鏡の調整を 2 つ答えなさい.

【解答欄】

1)	
2)	
3)	
4)	
5)	

問 1 3. 写真 (a) , (b) 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, または, 急速凍結後, 四酸化オスミウム／アセトンによる凍結置換固定を行った大腸菌の超薄切片像である. 各設問に答えなさい. (10 点)



- 1) どちらが急速凍結-凍結置換固定を行った試料の写真か. 記号で答えなさい.
- 2) 急速凍結-凍結置換固定を行った試料は, 化学固定の試料に比べてどのような特徴があるか. 外膜, 原形質膜などの膜系, リボソーム, 核様体に着目して答えなさい.
- 3) 急速凍結-凍結置換固定に関して, 大腸菌の培養から, 電顕撮影まで, その方法を詳しく説明しなさい.

【解答欄】

1)		
2)	膜系	
	リボソーム	
	核様体	
3)		

問 1 4. 一般的な電子顕微鏡において使用されている磁場レンズ内で、電子がどのような運動をするのかについて、物理的な原理に基づいて説明しなさい。また、その電子の運動が電子線の進行方向や広がり方にどのような影響を与えるかについても述べなさい。（10 点）

【解答欄】

問 1 5. 電子顕微鏡に使用される電子銃は、主に熱電子放出型電子銃と電界放出型電子銃の 2 種類に分類される。1) ～ 3) の設問に答えなさい。(10 点)

- 1) 熱電子放出型電子銃の代表的な種類を1つ挙げ、その電子放出の原理について簡潔に説明しなさい。
- 2) 電界放出型電子銃の代表的な種類を1つ挙げ、その電子放出の原理について簡潔に説明しなさい。
- 3) 熱電子放出型電子銃と比較した際の電界放出型電子銃の利点を3つ挙げなさい。

【解答欄】

1)	
2)	
3)	