

## クライオ電子顕微鏡利用説明会(オンライン)Q&amp;A

1. スパコンの詳細について教えていただくと助かります。  
⇒ [ToMMo スパコン]で検索してもらえると、システムの詳細な説明がありますが、国内生命科学系スパコンとして最大規模な計算機で、大規模なストレージを特徴とするシステムです。
2. トモグラフィ解析はできますか？  
⇒ 装置としては可能です。これまでのところ経験はありませんが、今後、日本電子と連携し、トモグラフィもできる様にしていく予定です。
3. 占有枠と非占有枠の違いについての説明のスライドをもう一度お見せ頂けると幸いです。  
⇒ 成果非占有では研究成果を公開する義務が生じます。非占有の場合には、公開の義務は生じません。
4. I would like to analyze exosomes samples by cryoTEM, is it possible?  
⇒ 画像は撮れますがエクソソームの形状多様なため、エクソソーム全体構造での構造解析は難しいかもしれません。
5. 以下の点について、教えていただいて良いでしょうか。
  - グリッドなどの消耗品は電子顕微鏡利用料に含まれますか？  
⇒ 測定の技術支援料金の中に数枚分(枚数制限有)のグリッドの費用は含まれていますが、大量のグリッド使用する場合にはご自分でご用意頂きたいです。
  - Grid-prep や測定は、どれくらいサポートしてもらえますか？(最初の数回は東北大のスタッフの方が作って下さったりするのでしょうか)  
⇒ オプションの技術支援の方に、グリッドの作製支援、測定支援が含まれます。最初の数回は、こちらのスタッフがグリッドを作成することも可能です。
  - コロナなどの理由で現地に行けないユーザーは zoom などをつないで利用できますか？  
⇒ 原理的には遠隔操作は可能です。しかし、まだ学外から実証試験は行っていないため、今後、検証し、利用できるようにしていきたいと思えます。

- **ARM からグリッドの取り出しは可能ですか？**  
⇒ 日本電子のHP情報には可能と記されていますが、まだ検証をしていないため、今後、日本電子と連携し検証していきます。
  
  - **解析支援はしてらっしゃいますか？**  
⇒ データの解析の支援は行っていませんが、共同研究でお引き受けすることが考えられますのでご相談ください。
  
  - **マガジンから電顕内のストレージへは、ランダムに挿入されるとのことですが、例えば電顕の操作 PC が落ちた場合でも、それぞれのグリッドの ID は保持されるのでしょうか。**  
⇒ PC 落ちてもグリッドの ID は保持されます。
  
  - **1 日の流れのご説明で、13 時までにスクリーニングが終わる流れでしたが、とても早くて驚いています。1 日に何枚くらい見る場合だと、13 時頃にスクリーニングが終わりますでしょうか。**  
⇒ 13 時までにスクリーニングが終わるのは、グリッドの作製条件がほとんど決定しているサンプルの例で特殊な例かもしれません。実際は、夕方スクリーニングを実施して、その後、自動撮影をスタートすることをイメージして頂いた方が良いでしょう。
  
  - **すでに教えていただいていたらすみません。マシンタイムは何時スタートでしょうか。**  
⇒ マシンタイムは、9時から翌日の9時です。建物内の入館は9時から夕方5時です。それ以降は、要相談になります。
6. **脂質膜(単分散リポソーム)に刺さった状態での分子の観察・解析は可能でしょうか？**  
⇒ 観察、解析ともに可能だと思います。
7. **1 度本体に格納されたグリッドは回収することは可能ですか？(次回測定のためなど)**  
⇒ 装置としては可能ですが検証は済んでいませんので、今後、JEOL と連携し検証を致します。
8. **FEI の装置で撮影するために作製したグリッドを持ち込んだ場合に、専用カートリ**

**ツジにどのように載せ替えますか？**

⇒ FEI のオートグリットを固定するための専用のカートリッジがあります。そちらに載せて観察します。

**9. スパコン利用の際、企業が利用可能な一部のソフトのみで解析は問題なくできるのでしょうか。**

⇒ 原理的には可能です。有料のソフトについては、ライセンス管理等の費用(インストールなどの作業に要する費用)が発生する可能性があります。現時点では詳細が詰められていないので、今後、検討しています。

**10. 測定データやスパコンでの解析データ等の情報のセキュリティや、オンラインでのアクセス方法(使用するソフトなどに指定があるかなど)を教えていただけると助かります**

⇒ スパコンのセキュリティは、通常のインターネットに接続されているコンピューターと同程度のセキュリティは整備されています。一方で、セキュリティレベルの高い区画も整備されており、ご希望であればそちらの使用も技術的には可能です。

現在導入されているソフトは、relion3.1, crYOLO です。今後、アカデミア向けに cryoSPARCを導入する予定です。cryoSPARCは企業利用ではライセンス費用が発生しますので、ご使用を希望される時には、ご相談ください。

**11. GPU の利用の制限がないと、リソースの奪い合いのような状況が発生すると思うのですが、GPU 何枚分の利用が可能でしょうか。**

⇒ 皆様の利用可能な区画には8枚のGPUが整備されています。情報管理システムが管理していますので、順番を待つて実行する形になります。

**12. スパコンに入れてあるソフトウェア利用料に対する課金はあるでしょうか？ CryoSparc の産業利用者は、社内で使う場合、高額の利用料金が掛かります。**

⇒ 基本はフリーのソフトをお使いいただくことを念頭にしていましたが、企業からの有料ソフトの要望も多いことが分かりましたので、今後、検討していきたいと思えます。

**13. タンパク質以外の分子を観察しても良いでしょうか。例えば核酸(DNA、RNA)でできた分子構造体です。**

⇒ タンパク質以外の試料を観察頂いて問題ございません。

14. 具体例として示されていたリボソームの構造決定に関する質問です。細胞から精製したリボソームの構造決定の場合どの程度の精製度のリボソームを利用する必要があるでしょうか？その精製度の指標としている検査はありますか？  
⇒ リボソームは少し特殊ですが、一般的なショ糖密度勾配遠心を用いた精製で十分構造解析可能です。一方で、他のタンパク質については、ゲルろ過等での複合体構造の確認などが必要になることがあると思います。
15. リボソームのような超分子複合体の CryoEM の場合、中間体の複合体の混入があってもいいのでしょうか？あっても大丈夫な場合、どの程度の割合（例えば、20%が超分子複合体、80%は中間体でも良いのか？）、必要な濃度はどの程度かを知りたいです。  
⇒ クラス分けしたときに構造が収束するのであれば、10%でも大丈夫だと思います。20%程度であれば問題なくできると思います。
16. コメント: On the fly で MotionCorr と CTF estimation まで行っていただけのシステムは時間が節約になって非常に助かります。  
⇒ ありがとうございます。
17. 細胞膜を対象に、不特定多数の分子が混在している状態で各分子のデータを取ったり、似たような分子を抽出したり平均化したりできますか？  
⇒ 撮影することは可能なので、画像処理で分類できるかどうかの問題なと思います。
18. ウイルスを観察した場合、その中の核酸は観察できるでしょうか？  
⇒ ウイルスのキャプシドの部分は、はっきりと観察できて内部の核酸の構造は、平均化されてしまうため見えないことが多い様です。内部の核酸が立体構造として見える様にするためには、画像処理を工夫する必要があると思います。
19. 利用状況はカレンダー等で確認できますか？空いている日を確認したいのですが。  
⇒ ご要望があったということで、今後、検討致します。
20. 複数のグリッドからの、自動撮影は可能でしょうか？（夜に自動でグリッド交換が可能か？  
⇒ JEOL の方で検討して頂いている状況です。近い将来的にはできる様になります。

21. バイオセーフティーレベルはいくらですか？

⇒ 現在のところ、バイオセーフティーレベルは設定していません。