

## 東北大学未来型医療創成センター クライオ電子顕微鏡 Q&A

### <成果占有・非占有について>

- ・ **成果占有枠と成果非占有枠の違いについて教えてください。**

⇒成果非占有では研究成果を公開する義務が生じます。成果占有の場合には、公開の義務は生じません。また、クライオ電子顕微鏡利用料金も異なりますので[利用料金表](#)をご覧ください。

なお成果占有の場合にはご要望に応じ秘密保持契約、共同研究契約を締結いたします。

### <解析について>

#### (解析全般)

- ・ **トモグラフィー解析はできますか？**

⇒測定は可能ですがルーティンでは行っていません。ご希望の際はご相談頂ければ幸いです。

- ・ **エクソソームのサンプルをクライオ電子顕微鏡で測定したいのですが可能でしょうか？**

⇒画像は撮れますがエクソソームは形状多様なため、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。

- ・ **グリッドなどの消耗品はクライオ電子顕微鏡利用料金に含まれますか？**

⇒オプションの技術指導を申し込まれた場合には、その中に数枚分（枚数制限有）のグリッドの費用が含まれています。なお、大量のグリッドを使用する場合にはご自分でご用意頂ければ幸いです。

- ・ **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学のスタッフが作ってくれるのでしょうか）**

⇒オプションの技術指導を申し込まれた場合には、その中にグリッドの作製支援、測定支援が含まれます。またその場合、最初の数回は当方のスタッフがグリッドを作製することも可能です。

- ・ **新型コロナウイルスなどの理由で現地に行けないユーザーは Zoom などですつないで利用**

**できますか？**

⇒原理的には遠隔操作は可能です。しかし、まだ学外からの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います。

**・ ARM からグリッドの取り出しは可能ですか？**

⇒JEOL 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、JEOL と連携し検証していきます。

**・ マガジンからクライオ電子顕微鏡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、例えばクライオ電子顕微鏡の操作 PC が停止した場合でも、それぞれのグリッドの ID は保持されるのでしょうか。**

⇒PC が停止した場合でも、グリッドの ID は保持されます。

**・ 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われます。

**・ 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 と連携し検証していきます。

**・ 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、専用カートリッジにどのように載せ替えますか？**

⇒FEI のオートグリッド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。

**・ タンパク質以外の分子を観察しても良いのでしょうか。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。

**・ リボソームの構造決定に関しての質問です。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のでしょうか？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われます。

- ・ **リボソームのような超分子複合体のクライオ電子顕微鏡測定の場合、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%でも大丈夫だと思われます。20%程度であれば問題なくできるとされます。

- ・ **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になると思われます。

- ・ **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ようです。内部の核酸が立体構造として見えるようにするためには、画像処理を工夫する必要があると思われます。

### **(装置の稼働)**

- ・ **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、午前9時から翌日の午前9時です。建物内の入館は午前9時から午後5時です。時間外は、要相談になります。

### **(支援内容)**

- ・ **解析支援は行っていますか？**

⇒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。

**(撮影)**

**・スクリーニングから自動撮影の流れについて教えてください。**

⇒当日朝から作業をスタートした場合に、グリッドの作製条件がほとんど決定しているサンプルですと13時頃にスクリーニングが終わる場合もあります。概ね、夕方までスクリーニングを実施し、その後、自動撮影をスタートすることをイメージされると良いと思います。

**・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ようになります。

**<オプションについて>**

**(スーパーコンピュータシステム)**

**・スーパーコンピュータの詳細について教えてください**

⇒[ToMMo スーパーコンピュータ]で検索して頂けると、システムの詳細な説明がありますが、国内の生命科学系スーパーコンピュータとして最大規模の計算機で、大規模なストレージを特徴とするシステムです。

**・スーパーコンピュータ利用の際、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、検討します。

**・測定データやスーパーコンピュータ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）を教えてください。**

⇒スーパーコンピュータのセキュリティは、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、relion 3.1, 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。

- ・ **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。情報管理システムにより管理されていますので、順番を待って実行する形になります。

- ・ **スーパーコンピュータに導入済みのソフトウェアの利用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す。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います。

ほかクライオ電子顕微鏡の利用に関してご不明な点がございましたら下記までお問合せください。

**東北大学未来型医療創成センター 生体高分子構造解析グループ**

**E-mail : cryoem.ingem[at]grp.tohoku.ac.jp**

([at]を@に置き換えてください)