# 【AMED-BINDS申請の手引き】 INGEM クライオ電子顕微鏡支援申請手順

2024年8月21日 改訂

#### **〇はじめに**

2021年、東北大学高等研究機構未来型医療創成センター(INGEM)に、 国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の創薬等ライフサイ エンス研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS、<u>https://www.binds.jp/</u>)の支援を受けて、直接検出型カメラ (K3<sup>™</sup>、GATAN社製)を備えた最新鋭の300 kV電界放出形クライオ電 子顕微鏡(CRYO ARM<sup>™</sup> 300 II、日本電子株式会社製)が本学に設置さ れました。また2024年に、同じくAMED-BINDSの支援を受けて、走査型 電子顕微鏡(CRYO-FIB-SEM JIB-4700F、日本電子株式会社製)も設置さ れました。INGEMでは本装置を学内外に広く開放し、凍結試料の作成 から撮像まで一連の作業を支援しています。

<u>ここでは、INGEMに設置されたクライオ電子顕微鏡を利用するための</u> <u>AMED-BINDS ワンストップ窓口への申請方法についてご案内いたします。</u>



### 〇ご利用について

本クライオ電子顕微鏡のご利用には国立研究開発法人日本医療 研究開発機構(AMED)の創薬等ライフサイエンス研究支援基盤 事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)を通し た申込みを推奨します。利用までの手順をご説明いたします。

1.利用希望者がAMED-BINDSワンストップ窓口へコンサルティ ング申請を行います。(<u>次ページ以降で手順を説明致します。</u>)

2. 担当者がコンサルティングを実施します。

3. コンサルティングの結果を受け、利用希望者が利用申請を行います。

4. 施設を利用します。

https://www.ingem.oas.tohoku.ac.jp/



https://www.ingem.oas.tohoku.ac.jp/







2021年、東北大学高等研究機構未来型医療創成センター(INGEM)に、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の創薬等ライフサ イエンス研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS、https://www.binds.jp/)の支援を受けて、直接検出型カ メラ(K3™、GATAN社製)を備えた最新鋭の300 kV電界放出形クライオ電子顕微鏡(CRYO ARM™ 300 II、日本電子株式会社製)が本学に 設置されました。また2024年に、同じくAMED-BINDSの支援を受けて、走査型電子顕微鏡(CRYO-FIB-SEM JIB-4700F、日本電子株式会 社製)も設置されました。INGEMでは本装置を学内外に広く開放し、凍結試料の作成から撮像まで一連の作業を支援しています。

#### 🔘 クライオ電子顕微鏡法とは

タンパク質の分子構造に基づいた創薬には、標的となるタンパク質の高分解能構造情報を得ることが不可欠です。クライオ電子顕微鏡法は生体試料を急速凍結しガラス状の氷に閉じこめ、透過型電子顕微鏡を用いて直接観察する技術で、生体高分子複合体の立体構造を高い分解能で知ることができます。結晶化のプロセスを必要としないため、X線結晶構造解析で困難であった多くのタンパク質の立体構造解析が可能です。 本装置により、東北でも世界最高レベルの分解能で多様な生体高分子の構造解析が可能となり、創薬等最先端の生命科学の支援拠点のひとつ

#### ○ ご利用方法について

本クライオ電子顕微鏡のご利用には国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 創薬等先 端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)を通した申込みを推奨します。



#### ○ ご利用方法について

本クライオ電子顕微鏡のご利用には国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 創薬等先 端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)を通した申込みを推奨します。













支援メニュー

┃ タンパク質の試料調製で困っている方へ	+
有用な低分子や中分子化合物を探したい方へ	+
┃ 動物を用いた実験を実施したい方へ	+
タンパク質の構造解析を目指す方へ	+
┃ 構造バイオインフォマティクスの力を借りたい方へ	+
ゲノムから始めたい方へ	+
RNAの分子設計・構造解析を目指す方へ	+
」 タンパク質の構造解析を目指す方へ に進みます。	-

## 

タンパク質の構造解析を目指す方へ	_
タンパク質の構造解析支援よろず相談窓口	+
構造解析用試料調製支援	+
タンパク質構造解析のためのビームタイム供給	+
タンパク質X線結晶解析支援	+
タンパク質X線自由電子レーザーによる構造解析支援	+
タンパク質X線溶液散乱法による解析支援	+
タンパク質NMRによる相互作用解析支援	+
タンパク質クライオ電子顕微鏡構造解析支援	+
タンパク質中性子溶液散乱法による構造・ダイナミクス解析支援	+
タンパク質中性子結晶解析支援	+
相関構造解析支援	+

タンパク質クライオ電子顕微鏡構造解析支援 に進みます。

#### D1-8 タンパク質クライオ電子顕微鏡構造 解析支援

#### 支援担当者

INGFM

真柳 浩太(九州大学 大学院薬学研究院) 神田 大輔(九州大学 生体防御医学研究所) 松永 直哉(九州大学 大学院薬学研究院)

#### PRポイント

最新型のクライオ電子顕微鏡を用いて、超分子複合体の立体 構造解析をスクリーニング実験から原子分解能解析までシー ムレスに支援します。九州大学薬学研究院のグリーンファル マのスクリーニング支援メニューとの連携を通じて創薬研究 を加速します。

#### 連携(追加)支援

九州大学薬学研究院のグリーンファルマの支援メニュー等で 得られたヒット化合物とターゲットタンパク質の複合体等の 構造解析を支援します。高分解能の構造情報により、阻害機 構等を原子レベルで解明し、新規ヒット化合物発見のための 基礎データを提供します。

#### D7-3 タンパク質クライオ電子顕微鏡構造 解析支援

#### 支援担当者

前仲 勝実(北海道大学 大学院薬学研究院) 喜多 俊介(北海道大学 大学院薬学研究院) 野村 尚生(北海道大学 大学院薬学研究院)

#### PRポイント

300keVおよび200keVクライオ電子顕微鏡による構造解析支援です。クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析、電子線ト モグラフィー、microEDについてグリッド作製とクライオ電 子顕微鏡を用いた撮影の支援を行います。

#### 連携(追加)支援

化合物評価系構築やライブラリー提供支援、創薬支援解析機 器の外部解放などを通して、シームレスに一気通貫した創薬 研究支援が可能です。創薬ステップに応じて構造解析ユニッ ト、インシリコ解析ユニット、モダリティ探索ユニットなど との連携が可能です。

0

#### D8-6 タンパク質クライオ電子顕微鏡構造 解析支援

#### 支援担当者

小柴 生造(東北大学 未来型医療創成センター) 田中 良和(東北大学 大学院生命科学研究科)

#### PRポイント

令和2年度に導入された新しいクライオ専用300kVハイエン ド透過型電子顕微鏡 日本電子社製CRYO ARM 300 IIを活用 し、グリッド作成から構造解析にいたるクライオ電子顕微鏡 による構造解析全般の技術支援を行います。また本学東北メ ディカル・メガバンク機構に設置されているスーパーコン ピュータを活用してクライオ電子顕微鏡の膨大なデータをハ イスループットに解析できる最先端の解析環境を提供しま す。

#### 連携(追加)支援

化合物スクリーニングで得られたヒットした化合物につい て、SSDD支援を行います。対象分子の性質によってはNMR やX線結晶構造解析による構造解析支援も検討します。

詳細を見る

詳細を見る



\*複数あります東北大学をお選びください。



#### D8-6 タンパク質クライオ電子顕微鏡構造解析支援

ユニット名

ヒット化合物創出ユニット

#### 支援担当者

所属		① 東北大学 未来型医療創成センター ② 東北大学 大学院生命科学研究科
氏名		<ol> <li>① 小柴 生造</li> <li>② 田中 良和</li> </ol>
	課題名	ゲノム・オミックス・タンパク質構造情報を活用したアカデミア発の創薬支援
AMED 事業	代表機関	東北大学
	代表者	山本雅之

支援技術のキーワード

クライオ電子顕微鏡、単粒子解析、クライオ電顕データ取得、構造解析

支援内容をご確認ください。

#### 小柴研究室

INGEM

本研究室が所属する東北大学・未来型医療創成センターでは、次世代医療の実現に向けて様々な取り組みを進めている。本センターは本学の10部局(医学系研究科、 大学病院、薬学研究科、生命科学研究科、東北メディカル・メガバンク機構など)が連携して進めている組織で、幅広い分野の研究者が研究を実施している。その中で 本研究室は、クライオ電子顕微鏡を用いて疾患に関わる各種タンパク質の立体構造・機能解析を行うと共に、化合物スクリーニング等の研究者と連携して創薬にむけた 取り組みを進めている。また、一般人の健康調査を実施している本学東北メディカル・メガバンク機構と連携して、同機構の全ゲノム解析が明らかにしたヒトのゲノム に存在する膨大な変異について、タンパク質の立体構造情報やメタボローム等の各種オミックス解析情報を活用してその影響を明らかにすることを目指している。また 本研究室はクライオ電子顕微鏡の他にも、高感度高磁場溶液NMR装置(800&600MHz)や、LC-MS、GC-MS等の各種質量分析装置(Thermo Fisher Scientific, Waters, 島 津)等を運用しており、各種分析に対応している。

メンバーのうち七谷圭は、トランスポーターをはじめとする膜タンパク質の発現・精製・生化学的解析・クライオ電子顕微鏡単粒子解析の実績がある。そのなかでタン パク質の発現、精製、クライオ電子顕微鏡観察からデータ解析まで広く経験している。特に、新規タンパク質の構造解析に重要であるタンパク質の安定条件の探索に関 する多くの経験を有し、その成果を生かして最適化したタンパク質についてクライオ電子顕微鏡を用いた構造決定を行った。このため精製から電子顕微鏡データの解析 まで幅広い支援が可能である。

以上のこれまでの研究実績に基づき、小柴・七谷班では、タンパク質の発現・精製から、クライオ電子顕微鏡による測定、さらには得られたデータの解析まで一連の構造解析に関する支援を行うことができる。また対象分子の性質によってはNMRによる解析支援も可能である。

#### 田中研究室

田中良和はこれまで、毒素をはじめとした疾患に関連するタンパク質や、セントラルドグマ・酸素運搬など生命の根幹をなす重要なタンパク質の構造機能解析に取り組んできた(Tanaka et al., JBC 2007; Tanaka et al, Structure 2008; Tanaka et al., RNA 2009; Yamashita et al., PNAS 2011; Yu et al., PNAS 2011; Yamashita et al., Nat. Commun. 2014; Gai et al., Structure 2015; Chen et al., PNAS 2017; Chen et al., Commun. Biol.; Wakui et al., Chem. Sci. 2020 etc)。クライオ電顕を用いた成果だけでなく(Tanaka et al., IUCrj 2019; Tomono et al., Noba et al., ACS Syn Biol 2023)、ネガティブ染色法による電子顕微鏡単粒子解析の実績もある(Chen et al., Nat. Commun. 2017; Makabe et al., Sci. Rep. 2021; Ghanem et al., FEBS J. 2022 et al)。最近は、膜蛋白質のクライオ電顕単粒子解析でも成果を上げつつあるほか、海洋天然物からの有用分子の取得

支援申請する

とそれを利用した創薬研究にも取り 横山武司は、これまで遺伝子発現機 2019; Kashiwagi et al., Science 2019; INGEMのCRYO ARM 300 IIを駆使して Saito et al., Nat Chem Biol 2024).さ 以上のこれまでの研究実績に基づき る。







※INGEMウェブサイトの【支援申込はこちら】表示からも進めます



![](_page_16_Figure_1.jpeg)

![](_page_17_Picture_0.jpeg)

## 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) ワンストップコンサルティング・支援窓口

## 利用者登録

![](_page_17_Figure_3.jpeg)

![](_page_18_Picture_0.jpeg)

## 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) ワンストップコンサルティング・支援窓口

## 利用者登録

[ <b>*</b> ]	の箇所は必ず入力して	ください。		
お名	前 😨 : (姓)* :		(名)*:	
お名 ナ) お ス ア ア)	メールに記載 利 【B	されているURL  用者情報を入力 ⇒ 登録し INDSワンストッ が	.から【利用者登 りし「登録」を押 たメールアドレ ップ】BINDS 利用 届きます。	録】画面を開きます。 『します。 スに 者登録完了

![](_page_19_Picture_0.jpeg)

![](_page_19_Figure_1.jpeg)

![](_page_19_Picture_2.jpeg)

![](_page_20_Picture_0.jpeg)

## 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) ワンストップコンサルティング・支援窓口

![](_page_20_Figure_2.jpeg)

![](_page_21_Picture_0.jpeg)

創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム==== Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) ワンストップコンサルティング・支援窓口 ログイン 認証コード: コード再送信 認証

![](_page_21_Picture_2.jpeg)

![](_page_21_Picture_3.jpeg)

### 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) ワンストップコンサルティング・支援窓口

## 支援コンサルティング申請

#### ※申請書の作成前にまずは「申請書の書き方ガイダンス」をご一読ください。

等で文章を作成・保存されることをお奨めします。このプログラムでは入力情 機能」を設定していません。また、ブラウザに情報ができるだけ残らない を押した際には、入力情報が消える恐れがあります。

実際に研究支援を始める前に、想定される支援担当者と支援の実現性について話合いを行い、特に問題などがないことが明確になったことを確認して支援申請が行えるシステムです。

【申請の記載について】

コンサルティングに必要な情報(基本情報、希望する支援内容等)を以下のフォームにご記入願います。

※申請書には秘匿にすべき情報は記す必要はありません。秘匿性のない情報(いわゆるノンコン)のみご記入ください。秘 匿性を要する情報については、支援担当者と直接やりとりする段階で明らかにしていただくことになります。

・支援が承認された場合、全支援課題に対して四半期に一度の報告「90日報告」をしていただきますので、ご承知おきください。詳細は、<u>こちら</u>をご覧ください。

### 「支援コンサルティング申請」フォームに移ります。 ※不明な点は「申請書の書き方ガイダンス」をご確認ください。

![](_page_23_Figure_1.jpeg)

入力されている「お名前」・「ご所属」を確認します

### 

支援を希望する主なユニット*:	ヒット化合物創出ユニット	
主な支援項目*:	□ ライブラリー提供	□ タンパク質相互作用解析
	□ HTS評価系構築	☑ クライオ電子顕微鏡構造解析
	□ スクリーニング機器・測定装 置利用	□ X線結晶構造解析
	□ 化合物スクリーニング実務	□ 毒性/安全性評価(in vivo)
	□構造最適化合成	□ 疾患モデル動物提供
	□ 疾患モデルマウスによる薬効 評価	□ 生体模倣評価系による薬効・ 薬物動態評価
	□ 薬物動態解析(in vivo)	
希望する担当者*:	クライオ電子顕微鏡	窓口
希望する担当者との事前コンタクト有 ● あり ○ なし		
「 [又抜を布室りる土なユーツト]、 [布室りる担当者] の選択にご注意ください。		

![](_page_25_Picture_0.jpeg)

コンサルティング課題内容\*: 支援課題の状況、試料の準備状 況等を記入してください。 ※ 文字数に制限はありません。

成果公開について\*:

◉ 成果公開について承諾する

○ 成果公開について承諾しない(成果占有)

成果公開について同意されますと、支援終了後に特許申請あるいは、 論文発表などで成果を公表して頂く事になります。詳細はこちらをご 覧ください。

	論文発表などで成果を 公表して頂く事になります。詳細は <mark>こちら</mark> をご 覧ください。
添付ファイル:	○ あり ◎ なし JPEG, PNG, GIF形式の画像ファイル、PDF, Excel, Wordのドキュメント ファイル、Zipの圧縮ファイルのいずれかの1つが、添付可能です。 (10MB以下) ファイルを選択
利益相反者(本申請書の内容が伝わる と困る方):	一覧を表示する ▼
申請書は限られた関係者の目に触れるだけであ	

り、リストにあがっている方全員が読むという

ことではありません。

INGEM

申請書は利益相反該当者を除き、守秘義務のかかった事業の運営会議、BINDS司令塔・調整機能活動サポート班、支援担当 者及びAMEDスタッフの限定された者だけにしか公開されません。また、通信は暗号化する等して、適切な支援の実施を心 がけております。なお、申請の受付けから実際のコンサルティング開始までの間には、申請のタイミングによっては休日や 祭日がはさまる場合があるほか、申請書のチェック、コンサルティングの支援候補者への依頼、当該候補者の通信状況など により、支援候補者からの申請者へのコンタクトに日数を要することがありますので、ご承知おきください。

#### 申請確認画面へ

必要事項を全て入力し「申請確認画面へ」を押します。 ※不明な点は「申請書の書き方ガイダンス」をご確認ください。

![](_page_27_Picture_0.jpeg)

### ■ INGEM お問い合わせ窓口

東北大学未来型医療創成センター(INGEM) 生体高分子構造解析グループ

〒980-8573仙台市青葉区星陵町2-1 東北大学東北メディカル・メガバンク棟4階 https://www.ingem.oas.tohoku.ac.jp/cryoem/ E-mail:cryoem.ingem@grp.tohoku.ac.jp

■ AMED BINDS 支援申請窓口

ワンストップコンサルティング・支援窓口 https://www.supportbinds.jp/