

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。

<料金について>

- ・ **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いただければ幸いです。

<技術指導について>

- ・ **（単粒子解析）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。

- ・ **（トモグラフィー解析）Grid-prep 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は、グリッド上での細胞培養やグリッドの作製支援が含まれます。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。

- ・ **（トモグラフィー解析）ラメラ作製や測定はどれくらいサポートしてもらえますか？**

⇒オプションの技術指導を申し込まれた場合は、その中にラメラの作製支援、測定支援が含まれます。その場合、最初の数回は当方のスタッフがラメラを作製することも可能です。

<測定について>

・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。

・（単粒子解析）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。

⇒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、当日朝から作業をスタートし、午後1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。

・（トモグラフィー解析）ラメラ作製から撮影の流れについて教えてください。

⇒観測したい試料の数や、加工を希望するラメラの数に依存しますが、通常、FIB-SEMでのラメラ作製に2日、TEM撮影に1日の計3日を要します。FIB-SEM1日目は装置の冷却、グリッドの品質確認と加工位置の指定を行い、終夜で20か所程度粗く加工を行います。2日目は朝から午後4時頃まで仕上げ加工を行い、午後5時頃TEM内に搬入します。3日目は朝からTEM撮影を行い、夕方までには撮影が完了する場合があります。

・（単粒子解析）現地に行けないユーザーは Zoom などですらないで利用できますか？

⇒原理的には遠隔操作は可能ですが、利用例は多くありません。

・一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、実施する機会は多くありません。

・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。

・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専用のカートリッジに載せて観察します。

- ・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？）

⇒可能です。

< サンプルについて >

- ・（単粒子解析）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いただいて、問題ございません。

- ・（トモグラフィー解析）どんな試料が観察可能でしょうか。例えば動物組織など大きい試料は観察できますか？

⇒酵母、細菌、動物細胞、植物細胞など、直径 10 μ m 程度までの試料が加工・観察可能です。それ以上の大きさの試料は当施設の設備では凍結が不十分になるため良い TEM 像が得られません。このため動物組織などの厚い試料については事前に利用申請者の方で試料の前処理を行って凍結可能な厚さに加工する必要があります。

- ・（トモグラフィー解析）培養した細胞を持ち込んでグリッド凍結作業を行うことはできるでしょうか。

⇒培養した細胞自体を持ち込んで当施設でグリッドに載せた上で凍結作業を行うことは可能です。細胞の移動が困難などの理由で、施設内での培養を希望される場合には、ご相談ください。

- ・（トモグラフィー解析）ウイルスの観察はできますか？

⇒技術的には可能だと思われますが、感染性のウイルスは設備の関係上ご使用いただけません。詳細は直接ご相談ください。

- ・（単粒子解析）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等が必要になることがあると思われます。

- ・（単粒子解析）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大丈夫でしょうか？その場合、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思われます。
- ・（単粒子解析）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。
- ・（単粒子解析）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。
- ・（単粒子解析）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も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。
- ・（単粒子解析）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。

<スーパーコンピュータシステムを使用した解析について>

- ・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]で検索していただくと、システムの詳細な説明があります。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できますか？
⇒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。

- ・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（使用するソフトに指定があるか等）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、（単粒子解析）Relion 最新版, cryoSPARC, crYOLO, Topaz, PyEM, Gctf など、（トモグラフィー解析）AreTomo, IMOD などです。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想定しています。企業からの有料ソフトの要望については、適宜、検討していきたいと思います。

- ・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おりませんが、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。

そのほか、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）