| 受理年月日 | ※ |
| --- | --- |
| 受理番号 | ※ |

**KEKクライオ電子顕微鏡・施設利用申請書**

**Application Form for Use of the KEK Cryo-Electron Microscope Facility**

大学共同利用機関法人高エネルギ－加速器研究機構クライオ電子顕微鏡利用要項に基づき、下記のとおり、施設利用を申請します。なお、利用にあたっては、当該研究施設の管理責任者及び役職員等の指示に従います。

Pursuant to the Guidelines for Use of the Cryo-Electron Microscope of Inter-University Research Institute Corporation High Energy Accelerator Research Organization, I hereby apply for the use of the facility as described below. I understand that I must follow the instructions of the facility manager and other staff members during the use of the facility.

（\*記述は簡潔にお願いします。Please keep your description concise.）

| 申請日  Application Date | 年 月 日  yyyy/mm/dd | |
| --- | --- | --- |
| 申請者  Applicant | 所属 Affiliation:  職名 Title:  氏名 Name: | |
| 担当者連絡先  Contact Information of the Person in Charge | 住所 Address：〒  氏名 Name：  電話 Telephone： 　　　　　　　FAX：  E-mail： | |
| 利用機種  Instrument to be used | □Titan Krios G4（300kV） | □Talos Arctica G2（200kV） |
| 利用形態  Type of use | ■優先利用（■Priority use） | |
| 課題名  Project Title | ※BINDS申請時の課題名、課題番号をご記入ください。※Please fill in the project title and number as stated in the BINDS application. | |
| I.  利用者  Users | 氏名１ Name1：  所属 Affiliation：  職名 Title：  分担事項 Responsibilities：例）グリッド作製とデータ測定  e.g., Grid preparation and data measurement  氏名２ Name2：  所属 Affiliation：  職名 Title：  分担事項 Responsibilities： | |
| II.  利用計画  Experimental plan | 希望日時 Preferred date and time：  　年　月　日： 〜　　年　月　日：  yyyy/mm/dd　〜　yyyy/mm/dd | |

| III.  利用の目的、期待される成果、従来の研究経過などPurpose of use, expected results, and previous research progress, etc. | 例）これまでXXXについて研究を行い、均一かつ十分量のサンプルの精製に成功しているため、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析を試みたい。サンプルの精製スキームの変更、クライオグリッド作製の条件検討、クロスリンクの条件検討などを包括的に行いたいので、KEKクライオ電顕の施設利用を行う。  e.g., Having previously conducted research on XXX and successfully purified a sufficient amount of uniform samples, we aim to perform single-particle analysis using a cryo-electron microscope. To comprehensively investigate modifications to the sample purification scheme, optimization of cryo-grid preparation conditions, and cross-linking conditions, we request the use of the KEK cryo-electron microscopy facility. |
| --- | --- |
| IV.  測定試料  Sample Information | １）試料名 Sample Name：  例）タンパク質ホモ/ヘテロ○量体（分子量：\_\_\_\_\_kDa）  e.g., Protein homo/heterooligomer (Molecular weight: \_\_\_\_\_kDa)  ２）形態形状 Physical Form：  溶液（濃度：\_\_\_\_\_mg/mL）Solution (Concentration: \_\_\_\_\_mg/mL)  ３）重量 Weight：\_\_\_\_\_μL  ４）法律上の安全性及び使用後の処理  Legal Safety and Post-use Handling  1.生物安全 Biosafety  　　病原性・毒性・感染性：例）なし  Pathogenicity, toxicity, infectivity：e.g., None  　　遺伝子組換え体を含むかどうか：  例）含む バキュロウイルスで発現させたヒト遺伝子（P1）  　　Presence of genetically modified organisms：  e.g., Contains: Human gene (P1) expressed in baculovirus.  所属組織内外の倫理委員会等における承認手続きが必要となる調査、研究、実験：  Investigations, research, or experiments requiring approval from internal and external ethics committees:  2.化学安全 Chemical Safety  　　毒劇物を含むかどうか：例）含まない  Presence of Toxic or Hazardous Substances: e.g., None  　　他の法令関連部質を含むかどうか：例）含まない  Presence of Substances Regulated by Other Laws: e.g., None  ５) 使用後の処理：例）残ったサンプルは持ち帰り、グリッドは廃棄。  Post-use Handling: e.g., Remaining samples will be taken back, and grids will be discarded. |
| V.  実験方法Experimental Procedure | 例）グリッドをPIB-10で親水化処理した後、専用ピンセットでVitrobotにセットする。3μLのサンプルをグリッドに滴下し、ろ紙で吸ったのちに液体エタンにより急速凍結する。クライオグリッドをC-clip ring, C-clipで補強した後、Titan Krios またはTalos Arcticaにてデータ測定を行う。測定データはHDDにコピーして保管する。  e.g., After hydrophilizing the grid with PIB-10 and loading it onto a Vitrobot using dedicated tweezers, a 3 μL aliquot of the sample was applied to the grid, blotted with filter paper, and plunge-frozen in liquid ethane. The cryo-grid was reinforced with a C-clip ring and C-clip before data collection on either a Titan Krios or Talos Arctica electron microscope. The acquired data was copied to an HDD for storage. |
| VI.  必要とされる既設の装置・器具Required existing equipment | 施設にある装置・器具 Existing equipment in the facility  例）小型遠心機・PIB-10・Vitrobot・Talos Arctica (Falcon3)  e.g.）Small centrifuge, PIB-10, Vitrobot, Talos Arctica (Falcon3)  持ち込む装置・器具 Equipment to be brought  例 e.g.）HDD |

注 Ⅲ.施設利用の目的は、平和目的に限ることとし、その判断は日本物理学会第33回臨時総会の決議３（日本物理学会誌23（1968）250）及びその具体的取り扱いを定めた第522回委員会議決定（日本物理学会誌50（1995）696）に準拠するものとします。

Note 　III. The use of this facility shall be limited to peaceful purposes, and any judgment regarding such use shall be made in accordance with Resolution 3 of the 33rd Extraordinary General Meeting of the Physical Society of Japan (JPSJ 23 (1968) 250) and the specific guidelines for its implementation as determined by the 522nd Committee Meeting (JPSJ 50 (1995) 696).