

### Q1. 有需要自備的耗材或標準品嗎？

A1. 設施備有相關實驗耗材，使用者只需要備妥樣品即可，但亦可自備銅網 ( Grid )。

### Q2. 該使用何種銅網？設施可否提供？

A2. 冷凍電顯實驗使用 Quantifoil 或 Holey Carbon Grid。設施可提供此兩種銅網，但會向使用者收取耗材費。

### Q3. 設施是否提供原廠規格 Vitrobot 濾紙？

A3. 設施同時提供自製及原廠兩種規格供使用者自由選用。兩款濾紙經設施檢驗與 cryoEM 實驗測試，功能無異。

### Q4. Cryo-grid 樣品製備該使用何種溶液 ( solvent ) ？

A4. 純水最適合冷凍電顯實驗。

- 建議依樣品使用最適合的水溶性緩衝液、低鹽濃度、盡量不要添加界面活性劑、盡量不要添加 sucrose 或 glycerol。
- 緩衝液 ( buffer ) 的黏稠度會影響冰層的厚度，愈黏稠在製作 cryo-grid 樣品時，易造成冰層太厚或空洞無冰層。

### Q5. 以脂質體為例，樣品送至 ASCEM 前，使用者需要先進行什麼處理或其他注意事項？

A5. 依設施處理脂質體樣品經驗來看，最重要是樣品濃度，通常建議 lipid 濃度在 1 mg/ml ~ 10 mg/ml，若您的樣品濃度太稀，上機後需耗費相當多時間在搜尋樣品。每組樣品需要 20 ul 的量。

### Q6. 冷凍電顯實驗要提供多少濃度的樣品較合適？樣品存放的緩衝液 ( buffer ) 有限制嗎？

A6. CryoEM 濃度跟樣品大小有一點相關，假如是 200kDa 左右，大約 0.5mg/ml 開始試。黏稠的緩衝液 ( buffer ) 類型較會影響 cryo-grid 樣品製備。

### Q7. 請問 CEM1 一次實驗需要預約幾個小時呢？

A7. 若以 CEM1 進行負染實驗，每小時最多可看 2 片網格，需要預約幾個小時端視使用者對於純化控制得如何。如果很有把握，相對的樣品不用做太多片，觀察時間也就很短。

### Q8. 負染實驗樣品的前處理或添加劑的限制？

A8. 通常欲做負染色的樣品不需做前處理，但須注意樣品緩衝液 ( buffer ) 不能過於黏稠，以免影響負染效果。申請者只需在預約使用 CEM1 日期前一工作日，將樣品溶液寄送達本設施即可。

### Q9. 上機時，能否有多人在場？

A9. 因 ASCEM 實驗環境有低濕恆溫控制，每個申請案件至少申請人要在場，如有必要，原則上至多攜帶一人參與實驗，請先知會儀管人員。

### Q10. 實驗室是否有 Wifi 可供使用？

A10. 為最佳化維持低電磁波實驗環境及考量資安因素，設施未對外提供 Wifi，但控制室範圍可使用院內 Wifi。若實驗進行間有同時對外聯繫之必要，可洽儀管人員協助，使用桌機網頁版通訊軟體。