

活動報告

第5回 中級者講習会

<https://pf-form.kek.jp/tanpaku/chukyu/5th/>

第5回タンパク質結晶構造解析中級者向け講習会

【日時】 2020年11月4日(水) 13:00～

【形式】 WebEXを利用したWEB会議形式

【プログラム】

13:00～13:05 はじめに

13:05～13:15 アンケート結果の紹介

13:15～13:45 PF全自動測定を使ってみて

(大阪市大・宮原郁子, 東京医歯大・沼本修孝, 京都大・藤橋 雅宏)

13:45～14:05 自動測定とリモート測定の紹介&サンプル準備

14:05～14:30 休憩

14:30～17:30 全自動・リモート測定の講習

17:30～17:35 終わりに

18:10～19:10 Web懇親会

発表の内容の一部は
HPからご覧になることができます。

<https://research.kek.jp/group/pxpfug/katsudo/shiryo6.html>

のべ118名の参加登録

中級者講習の中での御意見(チャット等)

Q アミロイドなどの回折パターン撮影を全自動測定で行うことは可能でしょうか？

→ A 全自動測定の際にはX線センタリングとしてループ領域全体に対してラスタースキャンを行います。この時の回折イメージを確認することは可能です。ただし、このラスタースキャンはセンタリング目的で低線量で行うことを前提としており、高線量が必要な場合は現時点では対応していません。

Q ラスタースキャンのデータはユーザに返るのでしょうか？

→ A はい、返ります。各サンプルの保存ディレクトリのsirocc_gridscanサブディレクトリの下に保存されます。

Q クラスタ状結晶であれば、SPring-8でやっているように、BL1Aなどで13 μ mビームを利用してsmall wedge data collectionで対応ができる可能性は高いと思います。

→ A はい。現在一部のユーザを対象にテスト測定を行っています。興味のある方は、新しくMXビームラインの使用に関する問い合わせ窓口を作成したので、こちらに連絡していただきたいと思います。テスト測定に関する問い合わせには山田さんがメインで回答してくださるそうです。

<https://sites.google.com/sbrc.jp/mxblmanual/inquiry>

つづき

Q ユーザがSIROCCシステムを使用したい場合、Sample list fileのパラメータ「Screening」は「2(DATA COLLECTION)」を選択しておき、UGUISのサブメニューでScreening -> Automated -> SIROCCを選べばいいのでしょうか？

→ A その通りです。合っています。

Q 全自動測定、リモート実験の場合の「試料・化学薬品等持ち込み届」は何を書いたら良いのでしょうか？タンパク質結晶〇個、のように書くだけで良いのか、あるいは結晶作成のために使用した試薬やクライオプロテクタンの詳細等も書いた方が良いのでしょうか？

→ A 基本的にはタンパク質結晶〇個と書けばいいですが、毒劇物が溶液に含まれる場合にはその試薬を記載して下さい。

Q いつもUni-puckとドライシッパーをお借りしていますが、数が足りなくなって、借りられないことはありますか？

→ A Uni-puckは数が十分にあるので足りなくなる事はほぼ無いです。ハードケースは11個しかないので足りなくなる事があります。

Q 万が一バーコードピンの記録を間違えた場合はどうなりますか？

→ A 間違えるとCSVファイルの測定条件の紐付けが間違ってしまうので意図した測定が行われなくなります。間違えないように注意深く設定をお願いします。

Q 使用してはいけない文字、記号などありますか？

→ A 日本語や2バイト文字は使えません。使える文字の詳細な情報は追ってお伝えします。

Q Directoryの名前が被るとoscファイルが複数作成されますか？

→ A 被るとエラーが出て測定が止まります。Directory名を変えるかRun番号に異なる数値を入力してください。

つづき

Q ユーザ側でSIROCCシステムを使用した場合、sample list fileに記載したパラメータ「Max_resolution」はSIROCCのスナップショット判定で決定した分解能に上書きされるのでしょうか。あるいは、sample list fileに記載があった場合はそちらが優先されますか？

→ A 現在はMax_resolutionの値をSIROCCから書き換える事はありません。SIROCCの分解能判定はTarget_resolutionで指定した値より分解能が低い時にデータ測定をスキップする判断にのみ利用しています。

Q どうやって、(ドライシッパーの)中の液体窒素を除く(抜く)のですか？

→ A まず液体窒素で満たした容器を用意しておき、キャニスター(Uni_puckをセットする青い器具)を容器に移します。次にドライシッパーを傾けて液体窒素をぬきます。そして、キャニスターをドライシッパーに戻します。

Q SSDだと貼れるスペースがない場合があります、ラベルとSSDが離れなければ良いですか？

→ A 貼れるスペースが足りない場合には、紐などで巻きつけてバーコードが見えるように付けてください。

つづき

Q 自前でユニパックを買う場合は純正品でないといけなかったですよね？

→ [A Crystal Positioning Systemsのロゴ](#)が付いているUni-puckを購入下さい。色付きのUni-puckはトラブルが起きているので色付きでは無いUni-puckを利用ください。現在メーカーとトラブルの原因について調査を行っています。(2021/3/1時点でまだ調査中)

Q 色付きでトラブルが起きるのはどのような理由なのでしょう？

→ A Uni-packの[厚い方の部品の寸法が異なる様](#)でL字アダプタにセット出来ない事があるためです。

Q サンプルリストのチェックは事前にそれぞれされているのでしょうか。

→ A チェックはされていません。

Q ロボットのアームを揺らして霜とりする機能があったと思いますが、全自動の時はデフォルトで有効ですか？

→ デフォルトでは機能を[有効にしていません](#)。有効にすることは可能です。
BLスタッフによって設定をする必要があり、[その全自動測定時の試料全体に適用](#)されます。

つづき

Q リモート実験中に、screeningを「scan」にしていたにも関わらず、特にdxscanもされずにcollectionが始まってしまいました。こういった理由が考えられるのでしょうか？

→ A ログを確認しましたが、Screening -> Automated -> Datacollection、Screening -> Autocenter -> Litholoopの組み合わせになっていたようです。この場合、dxscanはせずにループセンタリングをしてデータ測定をします。[Screening -> Automated -> SIROCC](#)と設定してください。

霜取りについて (SPring-8では・・・)

- SPring-8のBL45XUでは**液体窒素ふりかけ**による霜取り機能がある。
- 液体窒素をかける、かけない、の指定は測定シートで**ピン毎に指定**することが出来る。
- **液体窒素をかける前後で試料の写真**も撮ってくれるので、実際に霜が取れたかどうかがよく分かる。
- X線ベースのセンタリングでは霜取りは必要ないように思われることもあるが、無いに越したことはない。また、3.5~4.0 Åくらいのデータ精度に悪影響を及ぼすことは間違いない。
- 「かけても駄目」な場合にそれを全自動化の問題と捉えられてしまうことが多々あり、それが全自動化の難しいことと感じている。

中級者講習会後のアンケート

2020年11月10日から収集開始
(最終回答11月26日)

58名の回答

アンケート内容

1. 講習会にはどこから参加しましたか。
2. いくつのアカウントを使って参加しましたか。(参加人数を把握するための質問です。)
3. (1つのアカウントで)誰と一緒に参加しましたか。(参加人数を把握するための質問です。)
4. (1つのアカウントで)何人で参加しましたか。(参加人数を把握するための質問です。)
5. (6人以上の場合)何人で参加しましたか。(参加人数を把握するための質問です。)
6. 参加していた時にはどのようなスタイルですか。
7. どの項目に特に興味を持って参加しましたか。(複数回答可)
8. 講習会で良かった点があれば自由に記入してください。
9. 講習会での不満点があれば自由に記入してください。
10. 今後、中級者講習会で取り上げてほしい話題があれば自由に記入してください。
11. PF(構造生物学)のスタッフへ伝えたいこと・要望等があれば自由に記入してください。
12. 講習会に限らず、PX-UG幹事会に伝えたいこと・要望等があれば自由に記入してください。

8.に関しては、

- 実況中継で具体的なやり方がわかって非常に良かった！
- 経験談もためになった。

9. 講習会での不満点

WebEXの使い勝手(慣れ)

質疑応答がみんなに共有されない場面があった

音声・動画(通信)の乱れ

現実世界とバーチャルの世界

- なかなか集中できない
- 皆さんとの交流が減ってしまうのが心配

段取りがやや悪かった

- 映像としていつでも見られるようにしてほしい
- まとまった編集

10. 今後中級者講習会で取り上げてほしいこと

- 低エネルギービームラインを最大限に活用する方法。
- クライオプロテクタントの最適化手順
(上手な人の方法を学びたい)
- クライオ電顕
(結晶学者が単粒子クライオ電子顕微鏡解析に入門するには、どんなアドバンテージがあって、どんな方策があるのか?)
- 結局使える分解能はどのように決定すれば良いのか?
(実践・経験に基づくエピソードを聴きたい)
- 最近のソフトウェア(測定、データ処理、精密化等々)についての解説。
(XDS、DIALS、Phenix、coot等を用いた解析法,トラブルシューティングなど。)
(水の入れ方(基準)、基質の探索など)
- 自動解析パイプラインについて

11, 12. PFスタッフやPX-UG幹事会に伝えたいこと

- オンライン講習会は参加しやすい。
対面とオンライン両方で講習会をやってほしい。
- 全自動でのヘリカルモードの導入
- Dose, Photon Fluxの見積もりできるようにならないか。

お問い合わせ

px_pfug@kek.jpまたはmasaki.unno.19@vc.ibaraki.ac.jpへ
ビームライン関係は

<https://sites.google.com/sbrc.jp/mxblmanual/inquiry>