

タンパク質結晶構造解析 UG 2019 議事メモ

2019年3月11日 つくば国際会議場

73人参加

1. 挨拶 (海野先生・茨城大)

講習会やホームページを開設していますので、積極的に見ていただき、ご意見お願いいたします。

・監事の任期について

今年度は交代なし。来年は3人交代。

2. 構造生物学センターより (千田先生・KEK)

・PAC 課題審査についての問題提起

✓ 落第が2.5くらい。最高5点。3.4がほぼ最高 2.9が最低、平均3.14点->点数の分布は狭い。

✓ 申請書の質の差が大きい。分野の違いにより目的がわかりにくい、また、結晶の有無がわかりにくく、評価しにくいので、工夫が必要。

1)新規構造解析の申請書で心がけてほしいこと

なにをどこまでやるか、構造を解く以外の展開、結晶構造の意義と現状を記してほし

い。

学際的な研究を期待したい。準備状況を明確に記してほしい。

2)創薬の申請書で心がけてほしいこと

創薬ターゲットの名前、ターゲットとして、適切な理由を記してほしい。他の分野との連携。結晶があるのか。

✓ 実験手法欄について：現状では、真面目、不真面目の指標になってしまっている。

申請書フォーマットの変更が必要か。

✓ プレリミナリーデータの取得について：放射光でしか結晶の測定をできない人が多いのが現状なので、プレリミナリーデータ収集の仕組みも必要かもしれない。

✓ 申請書のフォーマットについて：審査の形式が時代に合っていないのかも。今後 PAC の方式を変革していくことに対して、ユーザーの皆さんの了承がほしい → 反対の声は出なかった。

✓ BT の配分について：全自動化を推進し、効率化を図りたい。効率よく BT を使って、論文を最大化することを考える必要がある。他分野と連携している良い研究を優先的に通していきたい。

・夜のビームタイムの問題について

✓ 現在は 24 時間サポートだが、今後は夜間サポートは廃止の方向。夜間は全自動の方向で行きたい。手でやるものは、昼間に対応する。

✓ 全自動を大幅に導入していく方針。結晶は実験室ですくってきてほしい。

・クライオプロテクタントの検討は、Unipuck で可能。そのための短いビームタイムも検討する。

・自動測定をどうやって使うかの問題提起

✓ ユーザーの意見を出して、どう使うか、検討が必要。

結晶の専門家->どう使うか、手を貸してほしい。自分のマシンタイムを少し割いてでも、検討を行い、使用について意見を出してほしい。

生化学の人->生化学の人は、生物学の進歩に貢献するだけでなく、構造解析分野が進むべき方向を考えてほしい。

・Cryo 電顕について

✓ KEK にクライオ電顕が導入され、10 月から利用開始している。

✓ SBRC では、国際 CryoEM センターのセミナーシリーズを開催(初心者向け)。PF 研究会も開催した(9月)。また、電顕の初心者講習会を実施した。(relion3b を用いた解析法)

✓ クライオ電顕の週間スケジュールは、月：調整。火-木：一日につきユーザー一組ずつ、金-日は連続測定。午前中から夕方までスクリーニングし、夜はデータ収集を行う。2Daverage で良い結果が出たものについて、金曜からの連続測定に進む。

✓ 現在、アカデミア 18 グループ、企業 13 社が利用している。

✓ 使用料金

アカデミア 4.8 万/日

企業 24 万円/日

料金計算は、時間割。使用したい人は、まずは問い合わせを。

・その他

✓ 物構研の放射光科学研究系の組織改編が4月から始まる。構造生物学センターの体制に変化なし。

✓ SLS と MOU が結ばれる予定。夏季のマシントイムは、SLS にて行われる。

・質疑応答

✓ (質問) 電頭について3日連続測定に入ると、15万円かかるのか？

➔ (回答) Yes。でもなかなかそこまで進めない。

3. ビームラインの現状と今後の予定 (松垣さん・KEK)

・ビームタイム状況

✓ 運転時間 PF3000 時間、AR 2000 時間 厳しい状況。

✓ 有効利用課題は、200 課題前後。AR が動いているときは余裕がある。

✓ 留保ビームタイムも配分している。

・産業利用促進運転が実施された。(昨年度 6/30-7/6)

✓ 企業が運転経費を負担する。

✓ 必要経費の9割の利用収入がある。

✓ 企業が使わない分については、一般課題に配分される。

✓ PX については2企業28時間の利用 (産業利用全体の利用は年間1500時間)。

・SLSで2018年8-9月にデータ測定を行った。

✓ 原田さん@構造生物学センターが測定を代行してくれた。去年は、500以上の結

晶を測定した。

・今年度から全自動測定ビームタイムが始まった。

✓ 主に NE3A を使用する。使用者が増えてきている。2019 年 5-6 月に、BL-17A, NE3A で実施予定。

・高度化の現状

✓ BL-5A の検出器が更新された。すべてピクセルアレイ検出器となった。BL-17A に、eiger16M が導入された。

✓ BL-17A では、in situ 結晶の測定可能。LCP 結晶にも対応している。クライオ、常温どちらの測定も可能。

✓ 膜タンパク結晶解析パイプラインが整備された。フィルムサンドイッチという方法で行う。

✓ BL-5A に同軸回折系が導入された。

✓ 結晶レーザー加工装置が導入された（理研播磨より移設）。結晶を削り出して、加工することができる。秋に故障したため、現在修理中(4月から利用可能予定)。結晶をいろいろな形に加工できる。球に加工した結晶から、低エネルギーでデータを取ると、データの統計値や異常散乱のシグナルが向上する。Native-SAD に向いてい

る。

- ✓ オフライン顕微分光装置も開発を進めている。可視光はすでに公開済み。今後、紫外、ラマンを含めた、オフライン吸光測定装置を設置して行く予定。
- ✓ 試料交換システムの高度化を進めた。アームの乾燥時間が短縮され、半分になった。デュアーに蓋を付けた。現在は BL1A。今後、他のビームラインにも展開する予定。
- ✓ X 線センタリングが高速化された。フレームレート 50Hz、サイズは、13 um @BL1A、1.8sec/line

・今後の予定

- ✓ 運転時間については、PF 3000 時間 AR2000 時間を目標とする。
- ✓ 産業利用タイムは今年も予定している、配分は 5 月末の予定。
- ✓ 夏の SLS タイムは今年も予定している。
- ✓ HKL2000 は 2019 年度から廃止される。XDS, CCP4(imosfilm), DIALS が利用可能。
- ✓ ビームタイムのサポート体制について:平日のスタッフ対応は、26 時までとなる。
そのため、C シフトのビームタイムの場合、使用法や最近の変更点の説明省略、トラブル対応に時間がかかる可能性がある。

- ✓ 試料交換システムの高速度を進めている。
- ✓ NW12A では、オンライン分光装置の開発を進行中。X線と同軸方向から当てる。

2019年度中の導入を目指して開発している。

質問：

- ✓ (質問) 結晶を自動で探すソフトウェアは氷かどうかを見分けることが可能か？
- ➔ (回答) 氷は見分けられるが、lipid の見分け方に間違えることがある。また、多結晶をよい結晶と考えてしまうことがある。

4. 全自動ビームタイムの運用状況 (山田さん・KEK)

夜のシフトの廃止に伴い、全自動ビーム測定を活用したいと考えている。利用法についてみんなで議論したい。

- ✓ X線回折実験のステップの中で、センタリングが自動測定に重要なステップ->篠田さんが自動センタリングソフトを開発(SIROCC)。試料を3D認識して、2方向でスキャンして、結晶を発見(結晶の重心)。4Å以下の反射を使い、タンパクの結晶を発見する。発見後、CSVファイルに書かれた設定でデータ収集。結果はPREMOで見れる。来季より、UGIのメニューで利用できるようになる。すべてのビームラインで利

用可能。

->できること。

結晶の場所ごとの回折能の比較ができる。

->できないこと。

測定条件の自動決定や、最適位置を自動的に判断して同定するシステムは現状ない。

結晶一個一個についてベストな条件でデータをとるシステムではなく、不均一な結晶

には現時点では対応できないが、開発を進めている。

・自動測定に応募するには。

->G型課題。

->全自動タイムの申請。

->BINDSに申請。

のいずれかで応募。

ユーザーがSIROCCを使えるようになる。

✓ 大体1週間くらいで結果を返す。

✓ 利用者数は徐々に増えてきている。

✓ 5-6月では、NE3Aでは毎週金、17Aは隔週で全自動測定を行う。

・全自動ビームタイムの使い方についての提案。

1. 新しい結晶が出たら使う。

2. リガンドソーキングなど。大量の結晶を使う場合

(一週間に一回マシンタイムを取れることになる。)

3. 自身のビームタイム前に予備測定をして利用する

Cで自動測定しておいて、A、Bで手動でやるとか。。。)

・質問

✓ (質問)スポットの数のヒートマップについて、多結晶になっている部分と単結晶の部分、ヒートマップで見分けることができるのか？

➔ (回答) ちょっと難しいのが現状。現在、不均一な結晶にも取り組んでいる。

✓ (質問) 全自動のビームタイムで、事前にデータが取れてしまった場合、配分されていたビームタイムをキャンセルすることになるが、PACの評定に影響がないか？
ビームタイムをリプレイスする形でも問題ないか？

➔ (回答) 現在、キャンセルのペナルティはない。キャンセルされれば、留保になるので他の人が有効活用できると考えている。

5. UG 活動報告(講習会／研究会) (西野先生・東京理科大)

・ 第三回タンパク質結晶構造解析講習会(2019年10月27日東京理科大@葛飾キャンパス)

- ✓ PF news での UG 紹介と講習会の報告をした。
- ✓ 今回は、午前中に初心者向け講義と、ソフトウェアのインストールサポートを行った。午後の中級者講習 1 では、ビームラインの現状について、中級者講習 2 では、ソフトウェアの紹介を行った。その後の演習では、XDS, SHLEX, coot の演習をした。
- ✓ 来場者は 94 人。
- ✓ 講義のビデオと資料をアップロード予定。

・ アンケート結果

- ✓ 9 割くらいが講習会に満足。
- ✓ 進行のスムーズさと、セミナーの時間配分が改善点か。

・ コメント

- ✓ ソフトのインストールについて、他に人に教えるのに非常に役に立ちました。あ

ありがとうございました。

6. 自由討論

✓ (質問) 自動で xds と aimless が走った結果を PREMO で見れるが、途中で止まってしまうと何も表示されない。どこで止まったのか、わかるようにしてほしい。

➔ (山田さんより)詳細が見れるようにします。

✓ (質問) ビームラインの現場で評価しながらやるスタイルは、old style ということなのか?

➔ (山田さんより)全自動でできることはした方が効率的になるのではとの答え。結晶の数が極めて少ない場合を除いては、全自動の利用による利点もあるのではとのコメント。

✓ (質問) ビームラインの高度化について。SPring-8 の BL38 ではビームを絞るようになっている。同じようなことが PF でもできないか?

➔ (山田さん・松垣さんより)NE3A/BL5A ではビームを絞るのはあまり簡単ではない。小さく絞るのは可能かもしれないけれど、それによる gain は少ないというのが、

以前行った試算の結果とのコメント。

✓ (質問) Premo は便利だが、途中で自動処理に失敗した場合、その再処理をできないところが問題と感じているとのコメント。特に diffraction scan によるヒートマップ作成では困るとのコメント。

➔ (山田さんより)もっとも指摘なので、再処理できるようにするとのコメント。

✓ (質問) 自動ビームタイムのタイミングは、それぞれの時間のいつあるのか？

➔ (山田さんより) 毎週金曜日(NE3A)、と隔週火曜日(17A)。再アナウンスするとのコメント。

✓ 千田先生のコメント

みんなどこをみてメンテナンスを確認する？

全自動タイムの時間を載せた HP を作ったほうが良いか？

(山田さん)PREMO からも見れる。HP を作成していく。

✓ (質問) 全自動測定後の結晶はどうなるか？

➔ (山田さん)元のデュワーに戻す 液体窒素の面倒も見る

✓ (質問) 次回の測定になる結晶はどのくらいあるのか?

➔ (山田さん)現在のところは、次のビームタイムまでになんとかしている。

✓ (質問) PAC 審査について PAC と全自動測定の案配。

➔ (回答) PAC に関しては、これから議論の段階。全自動測定については PAC 点

数が高い方が優先だが、ユーザーが増えれば対応時間は今後増えていく。