

令和3年度PF-UA,
タンパク質結晶構造解析グループ
(PX-UG)
ユーザーグループミーティング

2022年3月4日(金) 10:00 ~
(Zoomによるオンライン会議)

プログラム

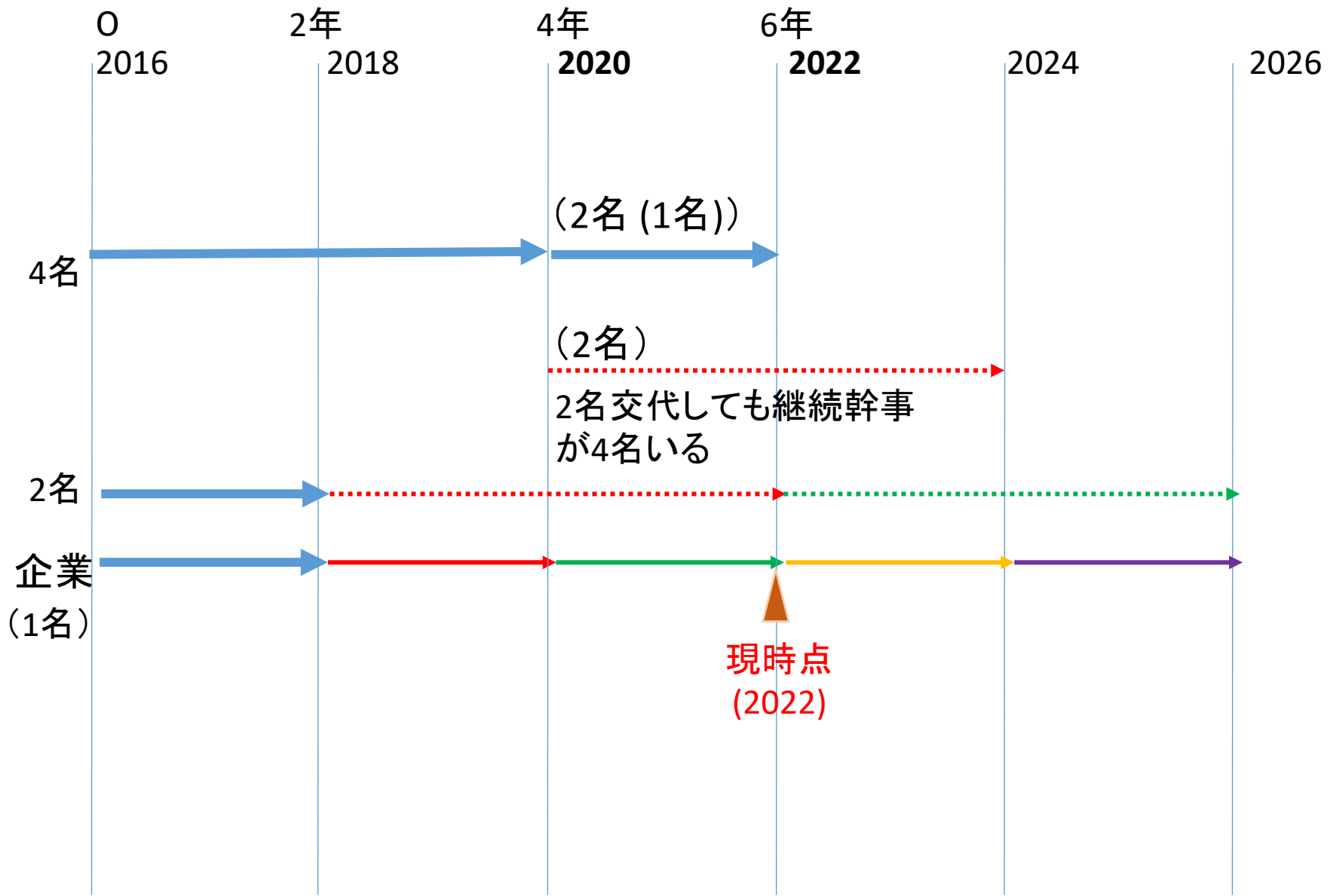
1. 挨拶 (海野・茨城大)
2. 構造生物学センターより (千田・KEK)
3. ビームラインの現状と今後の予定 (松垣・KEK)
4. 全自動ビームタイムの運用状況 (山田・KEK)
5. UG活動報告(講習会／研究会) (海野・茨城大)
6. 自由討論
7. まとめ (清水・東大)

PX-UG 新・幹事会メンバー（R4年度・R5年度）の紹介

代表	海野 昌喜	茨城大学大学院理工学研究科
幹事	平野 優	量子科学技術研究開発機構
	鯨井 智也	東京大学定量生命科学研究所
	松井 崇	北里大学理学部物理学科
	安武 義晃	産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門
新	佐々木 大輔	和歌山県立医大薬学部
新	白石 充典	東京理科大先進工学部
新(企業)	小祝 孝太郎	杏林製薬株式会社

藤橋(大阪医科薬科大)・西野(東京理科大)・伊藤(旭化成ファーマ)(敬称略)と交代

幹事会メンバーの任期（基本、任期は4年。（企業の方は2年）
自身が希望すれば、2年延長あり。）



活動報告

第6回 中級者講習会

<https://pf-form.kek.jp/tanpaku/chukyu/6th/>

第6回タンパク質結晶構造解析中級者向け講習会

【日時】 2021年11月13日(土) 11:00～

【形式】 Zoomを利用したWEB会議形式

【プログラム】

11:00～11:05 はじめに

11:05～13:35 結晶学者のためのクライオ電顕入門

11:35～12:00 講義「SADの原理」

12:00～13:00 昼休憩

13:00～14:00 Native SADの実際
(于 健 (北大), Vincent Olieric (PSI))

14:00～14:10 休憩

14:10～17:00 Native SADの講習

17:00～17:05 終わりに

17:30～ WEB懇親会

今後、発表の内容の一部をHP
からご覧になることができます。

<https://research.kek.jp/group/pxpfug/>

106名の参加

中級者講習後のアンケート内容

1. 講習会前どのセッションに興味がありましたか。
2. 講習会ではどのセッションがためになったと思いますか。
3. クライオ電顕のセッションについて質問・疑問・コメントはありますか。
4. SADの講義に対して質問・疑問・コメントはありますか。
5. 「Native SADの実際」のセッションで質問・疑問・コメントはありますか。
6. Native SADの講習のセッションで質問・疑問・コメントはありますか。
7. その他、全体を通じて、タンパク質結晶構造解析グループ幹事会、PFの施設側等に伝えたいことはありますか。
8. 来年度の中級者講習会ではどんなテーマを取りあげてほしいですか。
9. 差し支えなければ職位・学年を教えてください。
10. 差し支えなければ所属を教えてください。
11. 自由記述欄

中級者講習後のアンケート結果

1. 講習会前どのセッションに興味がありましたか。

詳細

● 結晶学者のためのクライオ電顕入門	33
● 講義「SAD法の原理」	27
● Native SADの実際	27
● Native SADの講習	30
● Web講習会	12



2. 講習会ではどのセッションがためになったと思いますか。

詳細

● 結晶学者のためのクライオ電顕入門	31
● 講義「SAD法の原理」	27
● Native SADの実際	27
● Native SADの講習	34
● Web講習会	14



つづき

3. クライオ電顕のセッションについて質問・疑問・コメントはありますか

300kVと200kVでどれくらいの違いがあるでしょうか？

解析に用いるプログラムの種類や利用可能性 (価格帯など)、メリットデメリットについても解説していただけるとありがたいです。吉川先生のところではCryoSPARKを推奨しているようにも思えますがRELIONとも互換性があるのでしょうか？

すでにKEKクライオ電顕に支援いただいています、改めて詳細を図を通して聞くことができ、良い復習になりました。

KEKのクライオ電顕についての現状や実際の解析について概要をよく理解できました。

ご講演の最後の方に試料に加える基質の濃度について触れられていましたが、基質以外にグリセロールやPEG、糖、界面活性剤などの添加剤についてどのくらいの濃度で成功したかなどもし何か情報がありましたら教えていただくと幸いです。

とても参考になりました。

複数の手法をつなぐ発表でとても良かったと思います。

容量の大きいデータが日々蓄積されていると思いますが、保管方法で工夫されていることはありますか。

⇒ 講演をしてくださったKEK安達成彦さんに一部ご回答をいただきました。

質問への回答 (by KEK 安達成彦さん)

300kVと200kVでどれくらいの違いがあるでしょうか？

回 答
サンプルの性質（分子量, 対称性など）や、300kVといっても装置構成（カメラの種類, energy filterの有無など）、Gridのどこを測定するか（氷の厚みなど）によっても変わってくるので、回答はなかなか難しいです。例えば、KEKの200kVで測定して3Å分解能だったGridを他施設の300kVに持って行って、2.5Å分解能になったという例があります。分解能以外のことでいうと、一般的に300kVだと300nm、200kVだと200nmくらいの厚みの氷で測定できるそうなので、氷が厚くないと全体形状が維持されないようなサンプルは、300kVのほうが良いと思います。

つづき

質問への回答 (by KEK 安達成彦さん)

解析に用いるプログラムの種類や利用可能性 (価格帯など)、メリットデメリットについても解説していただけるとありがたいです。吉川先生のところではCryoSPARKを推奨しているようにも思えますがRELIONとも互換性があるのでしょうか？

回答

RELIONは現時点で利用者が多く、Q&Aが充実していますし、論文での掲載例も多いので参考にすることができます。ただ、計算にGPUを必要とするので、専用のPCを用意しないといけないのがハードルです。cryoSPARCについて、私自身は使ったことがないので一般的なことしか言えないのですが、cryoSPARCはGUIがとても見やすいのと、RELIONに比べて計算が早いと聞いています。また、RELIONではできない解析（例えばnon-uniform refinement）が可能なのもメリットと言われています。ただ、企業ユーザーの場合、cryoSPARCは有料（けっこう高い）になるので、アカデミア/企業の双方を支援しているKEKとしては、外部ユーザー支援ではRELIONを使うことにしています。

つづき

質問への回答 (by KEK 安達成彦さん)

ご講演の最後の方に試料に加える基質の濃度について触れられていましたが、基質以外にグリセロールやPEG、糖、界面活性剤などの添加剤についてどのぐらいの濃度で成功したかなどもし何か情報がありましたら教えていただけると幸いです。

回答

グリセロールについては、サンプルの分子量や対称性によって変わってきますが、基本的にはゼロであることが望ましいと思います。ただ、Glycerolを抜くとアグってしまうものもあるので、そういう場合は、なるべく低濃度で入れてもらっています。最近だと400kDa, D3のサンプルについて、1% glycerol存在下で3.45Å分解能で決まった例があります。PEGについてはKEKではあまり試した例がありません。糖についてもぱっと思い出せるような例がありません。界面活性剤については、可溶性蛋白でしたらCMC (Critical Micelle Concentration) 以下で入れるのが良いと思いますが、あまり状況が改善した例がありません。膜蛋白の場合は必要な濃度を入れて、フリーのミセルをなるべく少なくしていただくのが良いと思います。

つづき

3. クライオ電顕のセッションについて質問・疑問・コメントはありますか

容量の大きいデータが日々蓄積されていると思いますが、保管方法で工夫されていることはありますか？

会場から「こうしてるよ」というようなコメントはありませんでしょうか？

つづき

4. SADの講義に対して質問・疑問・コメントはありますか

X線結晶構造解析をやっているながら、それに関する講義を受けてこなかったもので、改めて理解することの重要性を感じた。

とてもわかり易い講義でした。

あとに続くご講演を理解するのに大切な情報を講義で教えていただいたので、大変助かりました。

とても勉強になりました。

物理、数学も含む、詳しい原理の説明はとても勉強になりました。

基本原理に触れることも随分減ってしまったので、再度勉強する機会をいただき、大変ためになりました。ありがとうございます。

つづき

5. 「Native SADの実際」のセッションで質問・疑問・コメントはありますか

Native SADの経験がないが、実際の解析を聞くことができ、ハードルが下がった気がする。

ご講演の最後のスライドで測定条件について纏められていましたが、時間の関係で省略されておりましたので、もし可能でしたら拝見したく存じます。

とても勉強になりました。

実例を出しながら話してもらえて、わかりやすかった。AlphaFoldとの棲み分けが気になった。

とても勉強になりました。

つづき

6. Native SADの講習のセッションで質問・疑問・コメントはありますか

HKL2mapでP6122とP6522は正しく入力する必要があるようなご説明でしたがそうでしたっけ？

SLSの方が二重鎖核酸のP-SADの例を挙げておられました、PFで10mer程度の二重鎖核酸のP-SADは可能でしょうか？

native SADがうまくいかない場合は基本的にはデータをマージをしていけば良いということでしょうか？結晶のロットや分解能に差があってもデータはマージしても問題ないのでしょうか？MR-SADでも解ける場合があると聞いておりますが、MR-SADの利用方法についてもいつか説明していただけるとありがたいです。結晶の整形は事前のgrid測定は必須でしょうか？測定前に整形しておく事は難しいでしょうか？

「Native SADの実際」と同様に、解析の方法を直接を聞くことができ、ハードルが下がった気がする。

オンラインでの実演でしたが、とても興味深く拝見させていただきました。

つづき

6. Native SADの講習のセッションで質問・疑問・コメントはありますか

結晶の周りにある溶液をどのように削るのかやビームラインでの測定について、実際に行う作業を具体的にどのように進めるかを拝見することができ、大変勉強になりました。Native SADの測定を行う上で結晶のサイズは500 μm を超えないほうが良いと仰っていましたが、他に都合の良い形状(厚み)や、クライオ条件で気をつけることはありますでしょうか。ご講演中にお話されていたかと思うのですが、聞き逃してしまいました。申し訳ありません。

資料やマニュアルのようなものを公開して頂けるとありがたいです。

目の前で実演してもらえて、大変参考になったと思う。ドライシッパーのデュアーの性能を測る、というのもとても参考になった。この方法はもっと周知して良いと思った。

とても勉強になりました。

つづき

7. その他、全体を通じて、タンパク質結晶構造解析グループ幹事会、PFの施設側等に伝えたいことはありますか。

1	いつも研究のサポートをしていただき、またこのような講習会を開催していただき、大変ありがたく思っております。最後の千田先生のお言葉にもありましたが、なるべく課題を複数出し、研究成果も出していきたいと思っています。
2	Native SADを学ぶ機会を与えてくださり、ありがとうございました。講習内容も具体的に大変わかりやすく説明していただき勉強になりました。 講習会の内容とは全く関係ありませんが、ご講演されている方以外の音が入っていたのがとても気になりました。特に不快な音が講演されている声よりも大きく聞こえたのはあまり気分がいいものではありませんでした...
3	もしできれば、(暫定版でもよいので)事前にスライド等の講義資料をダウンロードできるようにして頂けるとありがたいです。また、(差し支えない範囲でよいので)講習会の動画を公開して頂けるとありがたいです。
4	講習会の準備や運営ご苦労様でした。

つづき

7. その他、全体を通じて、タンパク質結晶構造解析グループ幹事会、PFの施設側等に伝えたいことはありますか。

5	オンラインの実技講習は、大勢でも細かいところを見ることができる点で、非常に有効だと思った。今回の実技講習は、ビデオ公開されますか。特にレーザー加工のところは、マニュアル代わりにできればと思います。ドライシッパーの扱いもよかったです。
6	お忙しいところ毎年開催していただき有難うございます。
7	今回使用された資料を配布していただけたら嬉しいです。
8	ドライシッパーの正しい使い方は、今のホットトピックなので、大変有意義な啓蒙活動だと思いました。

つづき

8. 来年度の中級者講習会ではどんなテーマを取りあげてほしいですか

1	MDシミュレーション
2	自動測定で大量にとったデータをいかに効率よく処理していくのかについてのノウハウなど
3	来年度には、さらにNative SADやクライオ電顕の解析例が増加すると思われるので、両方の解析例があるようなタンパク質があれば、その実際などを聞いてみたいかなと思っています。
4	結晶化についての特集などがあったら良いなと思います。サンプル側の工夫や結晶化条件の工夫など、分解能が良い結晶を作るためのTipsについて共有頂ければ嬉しいです。
5	蛋白質結晶構造解析やクライオ電顕へ向けた試料調製法について、同じところと違うところなどお聞きしたいです。
6	結晶化のコツなどをはじめ、本や論文にはなかなか書いていないような、いろいろなノウハウやコツなどを教えて頂ければありがたいです。

つづき

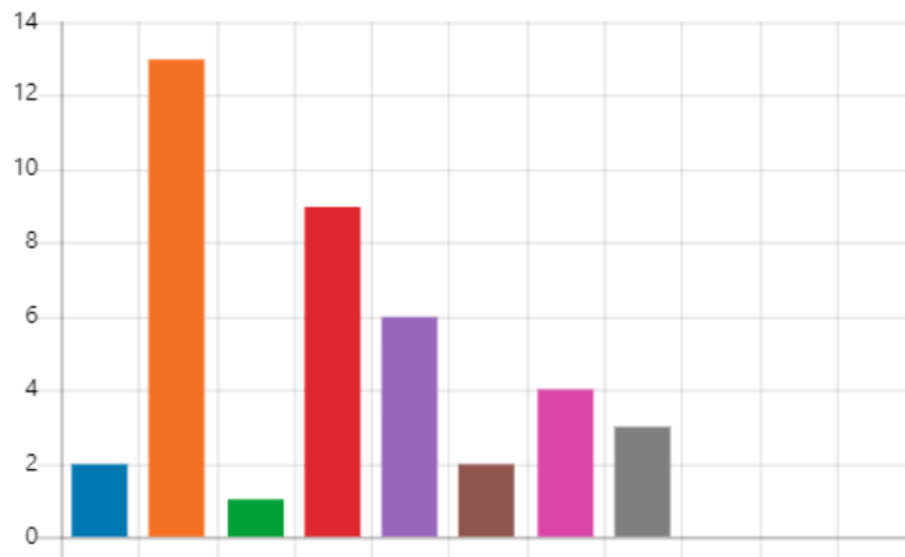
8. 来年度の中級者講習会ではどんなテーマを取りあげてほしいですか

7	質の良い回折データ収集のこつ、高分解能データを収集する際のポイント、など。
8	データ処理や構造解析のソフトは常にアップデートされていますが、使い方に限らず、インストールで苦労することがあります。また、特殊な仕様(たとえば3Dメガネで表示する)などをされているユーザーさんがいらっしゃるのであれば、その仕様やインストールのする際の注意点などを伺える機会があればと思っています。
9	今回の中級者講習会でも少し話題になっていましたが、AlphaFold2が使用可能になったことで、今後タンパク質結晶構造解析の意義が大きく変わっていくように感じています。精度の高い構造予測プログラムとの付き合い方や、それでもなおタンパク質の結晶構造解析が必要とされるのか(構造予測プログラムの限界や結晶構造解析の強みなど)を聞いてみたいと思っています。
10	構造解析を進める上で理解しておくの良い、結晶の対称性に関する話。
11	AlphaFold、クライオ電顕、NMR、その他の構造関連手法と、X線の使い分け、組み合わせの研究の進め方など。
12	電顕の解析手順、プログラムの実際の走らせ方など、皆さん興味があるのではないかと思います。

つづき

9. 差し支えなければ職位・学年を教えてください。

● 教授、グループリーダー	2
● 准教授	13
● 講師	1
● 助教	9
● 研究員	6
● ポスドク	2
● 博士後期課程学生	4
● 博士前期課程学生	3
● 学部4年生	0
● 学部3年生以下	0
● その他	0

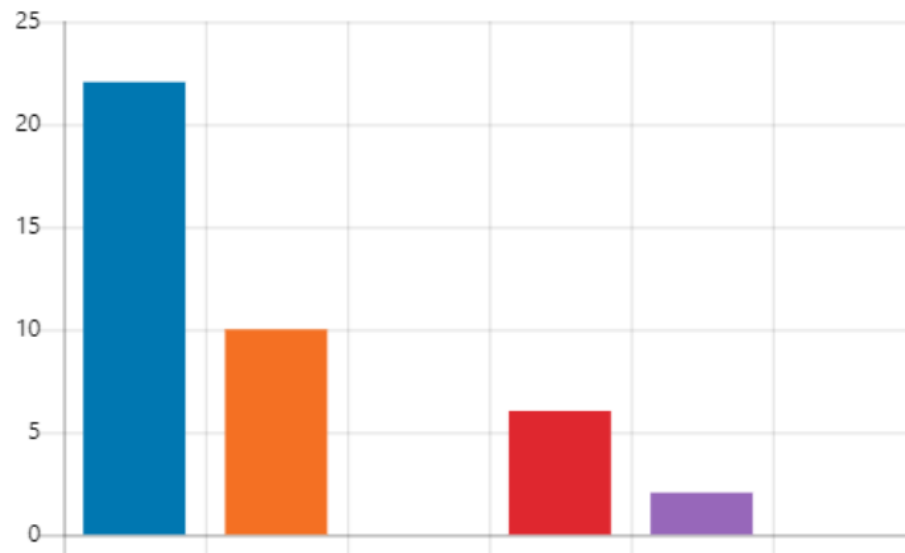


つづき

10. 差し支えなければ所属を教えてください。

[詳細](#)

● 国公立大学	22
● 私立大学	10
● 高専	0
● 研究所（企業以外）	6
● 企業の研究所	2
● その他	0



つづき

11. 自由記述

今年も非常に充実した講習会でした。ありがとうございました。

大変勉強や参考になりました。講師や幹事の先生方、どうもありがとうございました。

実習のところがポイントがよくまとまっていてよかったです。

時間の都合で午前中しか参加できませんでしたが、非常にためになる内容でした。次回もぜひ参加させていただきたいです。

講師の先生方、素晴らしいご講演をありがとうございました。

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>