

出来る限り、以下の様式に沿った議事録を作成下さいますようお願いいたします。

(様式 2)

議事録番号

提出 2019 年 10 月 7 日

## 会合議事録

研究会名：第 12 回 放射光構造生物学研究会

日 時：令和元年 9 月 10 日 9:00 - 15:00

場 所：大阪大学・吹田キャンパス 蛋白質研究所 1 階講堂

出席者：(議事録記載者に下線)

計 74 名

関口雄介(塩野義製薬), 渥美勝也(IT プライベートカンパニー テクノート), 増永拓也(JASRI), 徳永暉(塩野義製薬), 坂井直樹(播磨理研), 村川武志(大阪医大), 浅田秀基(京大), 成田宏隆(阪大), 浪松明弘(阪大), 藤間祥子(奈良先大), 河合美奈子(阪大), 藤橋雅宏(京都大院理), 馬場清喜(JASRI), 仲村勇樹(JASRI), 吉村政人(NSRC), 重松秀樹(理研 RSC), 山本雅貴(播磨理研), 竹下浩平(播磨理研), 熊坂崇(JASRI), 中村照也(熊大), 張伸良(阪大), 松井美帆(阪大), 中本玲令(阪大), 鈴木俊治(東工大), 道本優(阪大), 下家和子(阪大), Neumann Jennifes(阪大), 鈴木優菜(阪大), 櫻井啓介(阪大), 鳥本夏奈美(阪大), 北郷悠(阪大), 杉下友晃(阪大), 中村希(阪大蛋白質研), 亀井武蔵(阪大), 三角裕子(阪大), Orkun Coeuh(阪大), 朝倉帆南(阪大), 中田優希(阪大), 杉田征彦(阪大), 大崎恵理子(阪大), 福山恵一(阪大), 山下恵太郎(東京大), 乗岡尚子(阪大), Linda Juniar(阪大), 濱岡紀之(阪大), 戸田晴人(阪大), 三城明(Protein Wave), 村上博則(JASRI), ゲーレ・リリス(阪大), 氷見山幹基(産総研), 荒谷剛史(阪大), 有森貴夫(阪大), 上野剛(理研), 松田真(阪大), 山本旭麻(阪大), 堤研太(阪大), 原由美子(阪大), 原田健一(阪大), 中川敦史(阪大), 林美穂(阪大), 筒井美穂(阪大), 車田怜(阪大), 田中秀明(阪大), 仲庭哲津子(阪大), 川本晃大(阪大), 安藤俊介(阪大), 大西祐介(阪大) 平田邦生(理研 RSC), 水野伸宏(JASRI), 山下栄樹(阪大), 中川敦史(阪大蛋白質研), 沼本修孝(東京医科歯科大), 西澤知宏(東京大), 梅名泰史(岡山大)

議題：

SPring-8 における蛋白質構造生物学研究の現状と将来

やさしい結晶構造解析へ SPring-8 利用の現状と自動測定システムの紹介

プログラム：

1. 開会挨拶：熊坂崇（JASRI）
2. 趣旨説明：沼本 修孝(医科歯科大難研)
3. 話題提供 1：結晶化環境とプレートスキャン 奥村 英夫(JASRI)
4. 話題提供 2：ZOO システムによる自動測定 平田 邦生(理研 RSC)
5. 話題提供 3：KAMO による自動処理 山下 恵太郎(東大院理)
6. 話題提供 4：遠隔実験 水野 伸宏(JASRI)
7. 話題提供 5：実験データベース 上野 剛(理研 RSC)
8. 総合討論(SPRUC 研究会；利用動向調査の議論を含む)
9. 個別相談会(SPRUC 研究会)

議事内容：

今回は大阪大学蛋白質研究所で開催された蛋白研セミナー&SPring-8 先端利用技術ワークショップ「SPring-8 における蛋白質構造生物学研究の現状と将来」と放射光構造生物研究会会合を合同で開催した。本研究会には 86 名(2日間延べ159名)のユーザー及び関係者に参加を得ることができた。初日(9月9日)はビームライン現状報告、利用成果報告、懇親会が行われ、2日目(9月10日)は「やさしい結晶構造解析へ SPring-8 利用の現状と自動測定システムの紹介」と総合討論が行われた。本研究会としては特に、新規や既存ユーザーに対して現在のシステムをより詳しく説明する時間を設けることを2日目に企画して、施設側の方々に講演をお願いし、総合討論を実施した。

まず、副代表の熊坂氏(JASRI)より開催の挨拶があり、また幹事の沼本氏(東京医科歯科)から本研究会の趣旨について、新しい技術に関する情報をユーザー間で共有し発展させていく意図を説明された。続いて、5名の演者による「やさしい結晶構造解析へ SPring-8 利用の現状と自動測定システムの紹介」について話題提供が行われた。

第一演者の奥村氏(JASRI)より、結晶化環境とプレートスキャンについて話題提供が行われた。最初に SPring-8 に設置されている蛋白質結晶化環境と設備について紹介が行われた。その後、BL26B1 に導入されている結晶化プレート直接に回折実験が行う設備の説明があった。プレートスキャン法により、様々な結晶化条件のスクリーニングが効率よく行える利点について説明があり、薬剤等の浸漬過程を追跡するタイムラプス測定を今後の構想の一つとして説明があった。BL26B1 の回折系の切り替え状況として、ゴニオ測定からプレート測定には、自動切り替えにより3分程度で完了することが説明された。また、-11 から

2° の幅で振動撮影が可能であることが示され、複数の結晶を用いることで in situ 測定による構造解析や、S-SAD による位相決定まで到達できる事例を示された。なお現在は、測定中の結晶化プレートの温調は行われておらず、ハッチ内の温度に依存している。結晶化プレートの種類は、SBS 規格の市販のプレートが可能であるが、素材によって回折像のバックグラウンドに差があるため、実験目的がスクリーニングか構造解析か、用途とコストに合わせて選択する必要がある。操作環境として、プレート測定専用のインターフェイスソフトが導入されており、測定条件の入力やウェルのスナップショットが可能である。将来的に、結晶の選別から、回折強度測定、データ解析まで自動化することが想定されており、さらに、結晶観察データとの連携も視野にいれているとのこと。

第二演者の平田氏（理研）より、ZOO システムによる自動測定について話題提供が行われた。まず X 線吸収量を基準パラメーターとする測定、つまり露光条件について説明が行われた。X 線吸収によるダメージを緩和するため、照射位置を移動する手法や、多数の微結晶から分散して測定する手法を自動的に実現するスキームが ZOO システムに実装されている。平田氏は、露光条件の目安として 10MGy を提案され、ZOO システムで算出された露光条件に基づいて自動測定が可能であることを紹介された。また、回折像の 2 次元スキャンを二方向から自動的に撮影し、投影像から結晶位置を自動的に認識、連続した測定が可能であることも示された。自動測定のメリットとして、深夜における作業の軽減、反復作業時の人為的なミス、隙間なく測定することによる効率向上などを挙げられた。また、時間的な問題に加えて、結晶選択を考えずに持ち込んだ全ての結晶を自動測定することで、意外な結晶からデータが得られた前例も述べられた。また別のメリットの例として、マニュアルでは非常に煩雑な測定と解析が必要な内部が不均一な結晶について、高重複な測定と ZOO システムを利用することで、分割したデータ処理とクラスタリングが自動で行われ、最適な範囲内で回折強度データが簡単に得られる事例も紹介された。このような自動化による恩恵が効率だけでなく、より良好なデータ収集にも繋がることから、積極的な利用を推奨されていた。

第三演者の山下氏（東大）からは、ZOO システムにおいて自動データ処理を行う KAMO プログラムについて紹介された。KAMO による自動データ処理は単に一連の関連するプログラム群を走らせるだけでなく、異常値の除去、対称性や同型性を考慮したクラスタリングによるマージ処理が行われていることを示された。今回の公演では、データベース ZENODO に公開されている生データを使って、実際の処理画面を見せながらデータ解析を実演された。その中の Tips として、

small wedge 毎の処理結果で空間群が異なる解がでる場合について、最終的にマージする際に最適な空間群に切り替わって選択されるため、データをあえて選別する必要がないことが説明された。XFEL による SFX 測定でしばしば問題となる指数が反転する index ambiguity の問題が、実演中にも warning として現れ、small wedge データでも問題になると説明があった。この対策について、既知のデータが有るなら reference として使うことや、SFX 測定で取られている対策が KAMO に実装されており、再処理により re-index できることを実演された。クラスタリングについては、相関係数(CC)と格子長による同型性を算出する BLEND の計算値の2種類があり、それぞれを比較して検討できることも示された。最終的にマージされたデータの統計値や、small wedge データの偏りを確認する phenix の data\_view\_multiplicity を使った方法も実演された。KAMO による自動解析によって、これまでユーザーが複数のプロセスを順次実行していた処理にも対応できていることが紹介された。

第四演者の水野氏 (JASRI) からは、遠隔実験について話題提供された。遠隔実験において、SPring-8 は放射線管理区域のためネットワークセキュリティが厳格であることが遠隔操作環境を難しくしている背景が説明された。これまでは専用ソフトウェアと複数の経路に分けて、画像、命令、データ、のやり取り行われていた。しかし、ユーザー側のセキュリティ環境の問題や、ZOO システムをはじめとする現場の高度化に専用ソフトウェアのアップデートが追いついていない状況のため、新たなシステムの構築が行われた。新しいシステムでは、外部とはセキュアな VPN を介して接続し、デスクトップ参照サーバーを介してビームラインの測定スケジューリングソフト BSS をポートフォワードによって操作するようになっている。これにより、専用ソフトを用いずに、現場と同様の測定ができるようになったことが説明された。実演として、公演会場から SPring-8 にアクセスし、BSS の操作画面が映し出された。また、BSS の操作マシンで YouTube を再生させ、コマ落ちのない動画から、遠隔操作が遅延無くリアルタイムで可能であることが示された。その後の Q&A において、遠隔操作中の現場でトラブルが発生した場合は、ビームライン担当者の PHS 端末に直接連絡する必要があるとのことであった。

最後の第五演者の上野氏 (理研) からは、実験データベースについて講演があった。最初に、近年の自動測定、自動解析、遠隔操作に加えて今後、オンサイトでの結晶化からスクリーニングも加えた結晶構造解析の一連のパイプラインが SPring-8 で行われる背景が説明された。そのため、SPring-8 で扱う実験データ及びログが多様化するため、管理やプロセス間の引き渡しは課題となること

が想定されている。そこで SPring-8 の構造生物学グループでは、次世代の測定環境に向けて、共通の実験データベースを web 上に構築する構想が説明された。現段階では、PostgreSQL によるシステムが構築中にあり、プロセス間の橋渡し可能な API 形式の web システムとして開発が進められている。これまでの稼働していた web インターフェイスのデータベース D-cha の代替機能の実装予定が 2019 年に想定されており、自動遠隔操作の Z00 システムは 2019-2020 年に実装が予定されているとのことであった。

五人の演者による講演の後に総合討論が行われた。まず、副代表の熊坂氏 (JASRI) から、SPRUC の活動について説明があった。議論に先立って、8 月 30 日に開催された SPring-8 シンポジウムにおいて議論されていた、次期光源に向けたビームラインの改廃について、PX ビームラインは共用化が他の分野に比べて先行しており、今後の改廃の影響は少ないと説明があった。また、成果専有利用の利用上限の変更があり、活用を促すため BL45XU と BL41XU の 2 本のビームラインの合算値が 25% となり、BL45XU の活用が推奨されるようになった。また理研ビームラインの共用枠内の成果専有利用も弾力化されたことで、全体としてより成果専有利用の拡大が進められている現状の報告があった。

次に幹事の沼本氏 (東京医科歯科大) から、幹事会の活動報告が行われた。現在、8 名の幹事が地域性やビームラインの活用状況を踏まえて偏りないように選出されている。幹事らによる年二回の研究会や動向調査を行っている現状が報告された。現在は日本蛋白質科学年会と蛋白研セミナーの機会を利用した研究会を常設化している。また、SPring-8 の秋の学校への講師派遣や SPring-8 シンポジウムでのポスター発表による対外的な活動を報告した。また SPring-8 への意見や要望の受け皿として、SPRUC 研究会を活用するように説明された。

次に幹事の梅名氏 (岡山大学) から、SPRUC の放射光構造生物ユーザー宛に送信された動向調査のための Web アンケートの集計結果について報告があった。アンケート期間が 1 週間と短いため周知が不十分であったが、92 件の回答があった。しかし、会員数が 1,000 人以上であることを考えると、1 割以下程度の限られた意見であることを前提に述べられた。まず、回答の半数以上が 10 年以上の SPring-8 ユーザーである結晶構造解析の熟練研究者であった。利用されているビームラインとしては、BL41XU の利用が最も多く、蛋白研ビームラインと BL38B1 が続いていた。今後の利用希望として、自動測定と遠隔測定の要望が多く、また、プレートスキャンも今後の利用希望として多くの要望が集まっていた。SPRUC 研究会活動に対しては、2 割の回答者には知られていない現状であった。活動への要望として、様々な研究会の促進や、研究会内容の web 配信、講

習会の開催などが挙げられていた。次期光源の周知について、3割の回答者は把握しておらず、また1年程度の長期のシャットダウンについても半数は知らない状況であった。このことから、時期光源に向けての周知活動が必要であることが伺われた。

その後の、総合討論において、アンケート結果に基づいた議論が進められた。平田氏（理研）より、自動測定を広めるためには、Zooが動いているところをじっくり眺めてもらうような講習会を開くなど、とりあえずふれてもらう機会を作ることが大事だという意見が出た。ビームライン担当者からも動画を配信したり、積極的に広めていく必要があるという意見に対して、馬場氏（JASRI）から、毎年12月に行っている講習会で、今年は自動測定を扱う予定であることが伝えられた。そのような講習会は交通の便がいい場所でやることが大事である、また、SPRUCに関しても事前告知をもっと広く行うことが肝要であるという指摘が出た。また、追加募集へのビームタイム申請は二週間前に行う必要がある、素早くスクリーニングを行うことが困難であるとの意見もあり、申請手続きの簡素化や直前での申請を可能にするなど使用するための敷居を下げていくことが必要という意見も出た。結果を見ながら撮る場合には手動による測定のほうが有利である、というような意見には、doseさえ決まれば撮り方が決まる自動測定のほうが統一的なデータが取れて、結晶の評価にも向いているはずだという回答が平田氏（理研）よりされた。梅名氏（岡山大）からは、ダメージに関してはdoseだけでなく分光光学で結晶中のタンパクの実際の状態をcharacterizeすることが求められているため、そのような併用可能なシステムが開発されると嬉しいという意見も出た。アンケートにおける「自動測定によって学生に対する教育を妨げる面がある」というような回答に対しては、西澤氏（東大）からは、生データを見ることなど根本的な部分を研究室内で教えていくことは一貫して重要であるといった意見があり、また、藤間氏（奈良先端大）からも、出てきた構造からのサイエンスが大事であって、解析の部分のウェイトが下がることで、それ以外の試料調製等に対する実験に集中できるためトータルではむしろプラスに働くという意見も出た。SPring-8-IIのアップデートに関して生物分野として意見を集めるような場に対しては、SPRUCの告知などを心掛けることで、このような研究会による話し合いの場に参加者を増やしていくことが大事ということを確認した。最後に、副代表の熊坂氏（JASRI）から閉会の挨拶があり、本研究会は閉会した。