

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 2023 年 9 月 1 日

会合議事録

研究会名：第 16 回 放射光構造生物学研究会

日 時：令和 5 年 7 月 6 日 18:45 – 20:15

場 所：名古屋国際会議場 E 会場 (1 号館 3 階 133+134)

出席者：(議事録記載者に下線)

計 59 名

議事録記載者: 沼本修孝 (東京医科歯科大)

議題：自動測定時代の試料調製と回折データの品質確認

プログラム：

1. 開会挨拶 (18:45-18:55)

2. 話題提供 (18:55-19:55)

1 (18:55-19:15)

「結晶を作る・拾う・保存する」

村木則文 (慶應義塾大学理工学部化学科・構造生命化学研究センター)

2 (19:15-19:35)

「自動測定データの結果をもらった後、どこを見るべきか」

沼本修孝 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)

3 (19:35-19:55)

「SPring-8 生体高分子解析ビームラインとクライオ電子顕微鏡ご利用のためのガイド
ンス」

坂井直樹 (高輝度光科学研究センター)

3. 総合討論 (19:55-20:15)

議事内容：

第 16 回放射光構造生物学研究会は、名古屋市の名古屋国際会議場で開催され
た第 23 回日本蛋白質科学会年会の大会二日目に、同会場にて開催された。

冒頭に栗栖代表より開会挨拶があり、あわせて SPRUC 放射光構造生物学研究会の役割についての説明がなされた。本研究会はユーザーから施設へと要望を伝える唯一のオフィシャルなチャンネルであり、それらを集約して施設側へ伝える責務を担っていること、本研究会の特徴として、所属ユーザー数が非常に多いこと、しかしながら個々からの発言は控えめであり、いわゆる「サイレントマジョリティー」の存在が顕著であると考えられることが説明された。このような状況も踏まえ今回は、SPring-8 構造生物学ビームラインの広範なユーザー層が参加していると思われる、蛋白質科学会年会にあわせ本研究会の開催としたことが説明された。本年 9 月開催予定の SPring-8 シンポジウムにも言及がされ、特に若手の積極的な貢献に期待が持たれているとの説明があった。

次に話題提供として三演題の講演が順次行われた。まず村木則文氏（慶應義塾大学理工学部化学科）より、「結晶を作る・拾う・保存する」とのタイトルで講演がなされた。SPring-8 での X 線結晶構造解析をこれから行おうとしている、または始めたばかりという初心者のユーザーをも対象とした平易な説明により、結晶化のための試料準備、結晶化、凍結の各段階について村木氏の経験やノウハウの共有がなされた。タンパク質の結晶化を試みる場合、準備すべき試料量は 1 mg を目安とすること、純度については立体構造を考慮した均一性が必要であり、それを確認するいくつかの手法についての説明がなされた。また、結晶化の際には使用する試薬（沈殿剤）のうち特に polyethylene glycol (PEG) の劣化には十分な配慮が必要であること、結晶化条件の最適化をどのような戦略のもと行うべきかなどの知見が披露された。さらに現在の放射光施設での X 線回折実験において不可欠である、結晶の抗凍結剤についての基礎的な知識と、抗凍結剤への溶液置換の方法論などが詳細に説明された。質疑応答では、PEG のみならず一般的な結晶化条件スクリーニングキットについても、試薬の劣化には十分に注意すべき事、また、抗凍結剤への溶液置換の際になるべく結晶にストレスを与えないようにするにはどうすべきか等が議論され、抗凍結剤の濃度を段階的に上昇させるなどのノウハウが共有された。

次に沼本修孝氏（東京医科歯科大学難治疾患研究所）より「自動測定データの結果をもらった後、どこを見るべきか」とのタイトルで講演があった。SPring-8 の構造生物学 BL で盛んに利用されるようになってきている全自動測定において、得られた大量のデータおよびそれらが自動処理された結果の統計値一覧のなかから効率よく良質のデータセットを判別するためどこに注目しているのかについて、おもに初心者ユーザーに対して平易に説明することが講演の主旨とされた。冒頭に、構造生物学推進室のウェブサイトにも充実したマニュアルが整

備されていることが紹介され、これを参照すべきことが紹介された。講演では、測定終了後にダウンロードで入手可能な自動処理結果の速報版について説明がなされた。ダウンロードしたファイル（フォルダ）のなかにある、html ファイルに統計値がまとめられており、これをブラウザ等で確認することが基本であるとのことであった。実際のデータ収集後にダウンロードされたファイルをもとに説明がなされ、個々のデータセット収集の成否、結晶間マージをしない統計値の確認方法、多数の微結晶からデータ収集を行う multi モードに代表される、結晶間マージを行ったデータセットの統計値の確認方法について順次説明があった。質疑応答では、生データの確認の必要性とプログラム `adxv` を使う方法、自動測定に向かない事例として、X 線損傷を可能な限り低減したい場合などについて議論があった。また、PDB 登録に際して統計値のどの値を入力すべきか、現状では初心者にはわかりにくいため、必要な値が一覧として出力されることが望ましいこと、現時点ではそのような機能が実装されていないが、プログラムの作者が解説した資料

(https://research.kek.jp/group/pxpfug/katsudo/20181027/20181027_4.pdf)

があるためそれを参照すべきこと、ユーザー自身が後から自動処理の結果を参照、再処理する際に最低限必要なプログラムとして XDS と CCP4 がインストールしてあることが望ましいことなど、議論と情報の共有がなされた。

最後の講演は坂井直樹氏 (JASRI) より、「SPring-8 生体高分子解析ビームラインとクライオ電子顕微鏡ご利用のためのガイドランス」とのタイトルで行われた。SPring-8 の構造生物学 BL (SAXS の BL38B1 を含む)、共用 CryoTEM の簡単な紹介のあと、特に自動測定に特化した BL45XU について、動画も交えて詳細に紹介があった。会場の参加者には一度も SPring-8 に来所したことがない人も多く、有益な情報提供となった。自動測定を実施するにあたっての申請について、また BL 側室に整備されている結晶化ロボットなどの付帯設備についても紹介があった。試料輸送に不可欠なドライシッパーの取り扱いについて、最近従来の宅配業者とは別に比較的安価なサービスが開始されたことも紹介された。次いで、共用 CryoTEM について SPring-8 での位置付け、利用申請時の注意点についての説明があった。課題申請についての全体的な説明として、共用課題の種類、利用料の説明 (成果非専有では免除)、また課題採択と BT 配分が別となっている構造生物学分科会の独自ルールについての説明がなされた。さらに構造生物学分野では BINDS によるビームタイム支援もなされていることが紹介された。JASRI による学会での展示、またユーザーの習熟度に応じた各種講習会の紹介がなされた。講演後に全体の総合討論を兼ねたかたちで質疑応答がなされた。

SPring-8 夏の学校、秋の学校の紹介があり、また課題申請について、結晶構造解析、SAXS、クライオ電顕の課題がひとつの申請でよいことも説明された。さらに SPring-8-II の建設に伴う約 1 年間の運転停止期間の発生が将来見込まれることに関連して、この間に共用 CryoTEM の利用は可能であるかとの質問があり、放射光とは独立した装置のため利用可能の見込みであるとの回答があった。この運転停止期間については、大学院生などの特に若いユーザーにはまだ周知が行き渡っていないようであり、本研究会としても引き続き情報発信を続けることが重要であると思われた。

最後に栗栖代表より閉会の挨拶が行われ本研究会は閉会した。

なお、本研究会の講演三演題については、講演部分のみ、録画を当面の間以下より公開している。

<https://www.youtube.com/@SRstructbiol/videos>

また研究会当日の参加者を対象にアンケート調査を行い、56 名から回答を得た。結果については、今後開催予定の研究会での同様のアンケート調査の結果も統合し、利用動向調査書として詳細に報告する。