

(様式 2)

議事録番号

提出 2019 年 10 月 21 日

会合議事録

研究会名：第 11 回 放射光構造生物学研究会

日 時：2019 年 6 月 26 日(水) 16:45 – 19:00

場 所：神戸国際会議場 5 階 501(E 会場)

出席者：(議事録記載者に下線)

計 50 名

西澤知宏(東京大), 栗栖源嗣(大阪大), 熊坂崇(JASRI), 竹下浩平(理研 RSC),
梅名泰史(岡山大), 田中良和(東北大), 仲村勇樹(JASRI), 山本雅貴(理研
RSC), 稲葉理美(JASRI), 馬場清喜(JASRI), 沼本修孝(東京医科歯科大), 福
井健二(大阪医科大), 奥村英夫(JASRI), 玉田太郎(QST), 平野優(QST), 二
又葉香(東京大), 月原富武(大阪大/JASRI), 平田邦生(理研 RSC), 重松秀樹
(理研 RSC), 清水伸隆(KEK), 安井典久(岡山大), 今田勝己(大阪大), 山下
栄樹(大阪大), 中山泰亮(医薬基盤健康栄研), 小林和弘(東京大), 寿野良二(関
西医科大), 志甫谷涉(東京大), 門祐示(明治製菓ファルマ), 大戸梅治(東京
大), 和田啓(宮崎大), 藤橋雅宏(京都大), 田中志穂(Excillum), 佐藤宗太(東
京大), 入江麻智子(中外製薬), 山口宏(関西学院大), 谷口はるか(カルナバ
イオサイエンス), 加藤龍一(KEK), 岩田茂美(JAXA), 中田善三郎(塩野義製
薬), 中島崇(九州大), 有森貴夫(大阪大), 河村高志(JASRI), 村川武志(大
阪医大), 坂井直樹(理研 RSC), 福山恵一(大阪大), 山縣ゆり子(熊本大), 中
川敦史(大阪大), 杉本宏(理研 RSC), 中村希(大阪大), 村木則文(分子研)

議題：

「近未来の放射光構造生物学研究を考える」
～自動測定の実現と SPring-8 アップデート～

プログラム：

1. 開会挨拶: 栗栖 源嗣(大阪大蛋白質研)
2. 話題提供 1:
ZOO system を用いた自動回折データ収集の実際

大戸 梅治 (東大院薬)

3. 話題提供 2:

SPring-8 PX-BL における結晶化および結晶化プレート in situ 測定環境の整備

奥村 英夫 (JASRI)

4. 話題提供 3:

相関構造解析プラットフォームに向けた取り組み

山本 雅貴 (理研 RSC)

5. 話題提供 4:

新タンパク質結晶構造解析ビームライン”BL45XU”

熊坂 崇 (JASRI)

6. 総合討論

「SPring-8 アップデートについての情報共有」

議事内容：

第 11 回放射光構造生物学研究会は、神戸市ポートアイランドの神戸国際会議場で開催された第 19 回日本蛋白質科学会年会と第 71 回日本細胞生物学会大会の合同年次大会の会期後に、同会場にて開催された。

研究会会長の栗栖源嗣氏(大阪大)より開会の挨拶と SPRUC 研究会の趣旨説明が行われ、ユーザーの参加が多い学会年会での開催の意図が説明された。挨拶と共に、PDB データベースにおける構造情報の登録フォーマットが改定されることが説明された。フォーマット改定により、現在の 3 文字表記が限界になる問題の解消と、より多くの情報を含まれるようになることが説明された。また、データベースのウェブ上で、電子密度マップが計算される新しい機能についても紹介がされた。

最初の話題提供として、大戸梅治氏(東京大)から、「ZOO system を用いた自動回折データ収集の実際」について公演が行われた。大戸氏は、これまでのマニュアルでの測定と比べた、ZOO システムによる自動測定の利点について、実体験に基づいた所感として、徹夜実験に対する身体的な負担が軽減される点が大きいと述べられた。大戸氏は 2016 年ごろから、PF での自動測定の利用を経験され、2018 年から SPring-8 の ZOO システムによる自動測定を行って来られた。2019 年の現段階において、ZOO システムの自動測定の使用により、すでに例年の 2 倍以上の測定が完了し、データ量が劇的に増えた様子をこれまでの統計から示された。また、これまでは時間の都合で避けられていた外形の良くない結晶から、意外にも良好なデータが得られる例を示され、思わぬ収穫があったことも紹介された。一方で、手動測定の利点も述べられ、重原子置換実験における重原

子のスクリーニングをすぐにフィードバックできる点や、学生に対する X 線結晶構造解析の教育を行える点を話された。

PFの自動測定システム PReMo と比較から、今後の SPring-8 における自動測定への要望を述べられた。SPring-8 の自動測定では、結晶と共とハードディスクを事前に郵送し、自動測定の終了直後に、まず測定レポートと各データの自動処理計算のログがメールで届き、後日、回折データが入ったハードディスクが戻ってくる。一方、PF の PReMo では Web ブラウザからリアルタイムで回折像が確認でき、結晶の写真も撮影されている。結晶の写真と回折像を可視化できることは、自動化への疑念があっても、結果を素直に納得ができると述べられた。また、自動処理されたデータは、Web ブラウザからすぐにダウンロードできる点も、PReMo の方に軍配を挙げられていた。しかし、SPring-8 には PReMo と類似の機能を持つ D-Cha システムがあり、新規の DB 開発も行われているため、それらと早期の連携が期待される。

質疑応答において、会場から自動測定に用いたビームサイズについて質問があり、大戸氏は、実際は微小ビームを利用していたが、結晶は比較的大きいため、できれば 100 μm 以上の大きいビームを使いたいとの要望をコメントされていた。それについて、平田邦生氏(理研 RSC)から、新しいビームラインの BL45XU では、デフォーカスすることで、100 μm まで拡大が可能と回答された。大戸氏は、この要望の理由について、微小ビームでは、結晶内の部分的な良し悪しが回折像に直接反映されるが、大きいビームであればそのような違いが埋もれるため、細かいこだわりを持たずに実験が進められると述べられた。それに対して、平田氏から、ヘリカルスキャンによる測定を広い回転範囲で撮影し、高い冗長性の測定を行うことで、例え一部のデータを削ることになっても十分な完全性が担保できると、測定方法の工夫を提案された。

放射光施設として学生への教育について、山本雅貴氏(理研 RSC)から、今後の放射光施設を運営する人材の育成のためにも、大学と連携した教育の必要性について一定の理解を述べられた。大戸氏は、物理化学を基軸にした研究室であれば結晶構造解析の原理を理解させる教育は必要であるが、生物学の研究室においては、生命現象の解明に注力するためのツールの一つとしての結晶構造解析でも良いのではと、立場による使い分けについて意見を述べられた。

二番目の演者の奥村英夫氏(JASRI)から、「SPring-8 PX-BL における結晶化および結晶化プレート in situ 測定環境の整備」について講演が行われた。結晶化プレートで析出した結晶から直接回折実験が行えることから、結晶のスクリーニングとしての利用が示された。これは、抗凍結溶液の影響や結晶ハンドリングの技

術的な問題が持ち込まれないため、結晶自体を評価できると述べられた。もし同一条件で複数の結晶があれば、部分的な回折強度データを集めることで、構造解析まで持ち込める実例も示された。また別の利用方法として、薬剤溶液の入った結晶化プレートに結晶を移し入れ、ソーキングによる薬剤溶液の条件スクリーニングも紹介された。一方で、結晶化プレートの素材によるバックグラウンドの影響が大きい事を示し、プレートリーダー測定に適した市販の結晶化プレートを紹介された。

SPring-8 内における結晶化実験の環境整備についても紹介された。0.5 μL の微量ドロップで結晶化する装置や、複数の光源の結晶観察装置が設置されており、課題を持つユーザーであれば結晶化プレートを現地で用意できることが示された。ビームライン BL26B1 に整備されたプレートリーダー測定は、多関節ロボットと専用のインキュベーターが連動しており、プレートを取り出してマウントしている様子が動画で示された。すでに、ビームラインの制御 PC にプレートリーダー測定専用のソフトウェアが実装されており、今後の運用次第で自動センタリングや結晶の撮影などの拡張も検討されている。また、今後の自動化に向けた取り組みも少しずつ進んでいることも述べられた。

質疑応答において、会場から、結晶化過程の観察が外部から見える環境の要望が上がった。また、結晶をプレートに移してソーキング条件を検討する実験について期待を示す一方で、ドロップの液体量について質問があった。奥村氏は、実際はプレートを直立してこぼれない程度のドロップで実験が行われたと述べられた。また、結晶化プレートの郵送について質問があり、奥村氏は将来的には受託測定の可能性について回答された。

三番目の演者の山本雅貴氏(理研 RSC)から、「**「**相関構造解析プラットフォームに向けた取り組み」**」**について講演が行われた。蛋白質の結晶構造は放射光の利用が開始されてから急速に増えており、また LCP を利用した結晶化技術によりこれまで難しかった膜蛋白質の構造解析も可能となっている。また、極わずかにしか得られない、ヒト由来膜蛋白質もマイクロビームの技術によって数ミクロンの結晶から構造解析ができるようになっており、放射光 X 線結晶構造解析は技術的には成熟の域にきていると述べられた。今後の構造生物は、構造の揺らぎや反応過程などの構造ダイナミクスに加えて、ミクロからマクロまでの階層的な立体構造情報を含めた、階層構造ダイナミクスの視点が生命現象の理解に不可欠と述べられた。その中での X 線結晶構造解析は、原子レベルの構造、正確な構造、天然の構造、化学反応のダイナミクス、が目指す方向性と述べられた。今後の SPring-8 の PX ビームラインは、より迅速かつ高精度な測定を手軽に利用

できるように運用されていくと述べられた。

階層構造ダイナミクスを進める手法として、HAG法を用いた常温の結晶中の状態変化の誘導の実例や、SACLAを利用した時間分割測定なども紹介され、新しい放射光構造生物を考える時期に来ているとも述べられた。生体分子の様々な刺激に対するレスポンスをどのように見るのか、またどの階層の議論なのか、次は電子顕微鏡についての話題に移られた。

近年のクライオ電子顕微鏡の劇的な解像度の進化により、2016年以降の分子量50万以上の登録構造の半数がクライオ電子顕微鏡となっている実情を紹介された。クライオ電子顕微鏡が得意とする構造として、巨大な複合体、アセンブリ構造、溶液場での構造、など結晶構造解析では難しい対象であることから、今後の生体システムの階層的な理解には不可欠な技術であるが、ダイナミクスと精密構造が得意な結晶構造と相補的な活用による相関構造解析の視点が構造生物に期待されると締めくくられた。

質疑応答として、クライオ電子顕微鏡への共用施設としての扱いについて議論が進められた。理研播磨の施設としては、近畿から中四国地方の拠点としての位置づけが示された。しかし、クライオ電子顕微鏡を保有する組織による受託測定には、限界が来ることを蛋白研の現状などから指摘があった。そのため、ユーザーへ開放する時期、マシンタイムを確保するための装置の拡充、海外で経験したエキスパートを呼び寄せなどの共用基盤としての今後の取り組みや、それを支えるための維持費の確保について議論が発展した。また、かつての放射光施設のように、測定ノウハウをコミュニティでシェアできるようなオープンな環境づくりが課題であると会場から意見もあった。

最後の演者の熊坂崇氏(JASRI)から、「新タンパク質結晶構造解析ビームライン”BL45XU”」の紹介に関する講演が行われた。小角散乱ビームラインからPXビームラインに生まれ変わったBL45XUの仕様として、BL32XUやBL41XUと同様にピンホールを用いないフォーカス位置によるビーム整形を行えることが説明され、BL45XUは特に自動測定による迅速な測定に重きを置くと紹介された。現在のBL45XUのスペックは、 10^{13} photons/secのフラックス、5-100 μm の可変ビームサイズの光源であることから、BL32XUとBL41XUに準じる位置になると説明された。高速測定の実例として、7トレイの78試料を7時間でデータ収集が行われたことが紹介された。今後はさらに遠隔実験システムの構築による運用も紹介された。

引き続き、熊坂氏の座長により総合討論の議論が行われた。会場からの話題提供として、有機高分子についても、蛋白質結晶と同様に自動測定や遠隔実験が

可能になるかと質問に対して、利用申請上の制約は無いはずであると熊坂氏は回答された。また別の話題として、一般的な生化学研究室にとって、放射光の利用は敷居が高いと感じられているのでは指摘があり、こうした新規ユーザーの取り込みには、放射光構造生物のコミュニティによる協力が不可欠と会場からの意見があった。その件に対して研究会として、相談会や関連学会年会でのワークショップ開催を増やしていく必要性も議論された。また、この役割を担う位置づけとして「創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS)」があるので、との意見もあった。

SPring-8 のアップグレード計画について、2024 年頃に 1 年間のシャットダウンの計画があり、すでにビームラインのスクラップ&ビルドの動きが起こっていることが紹介された。その先駆けとして、BL45XU の理研の小角散乱ビームラインから共用の蛋白質結晶ビームラインへの改変が行われ、蛋白質結晶ビームラインはアップグレード対応が先行して実施されていると説明された。また、3 月に開催された第一回の検討ワークショップから、アップグレードの計画の具体的な概要が紹介された。そこでは、挿入光源(ID)ビームラインにはフラックス密度の増加が期待されているが、偏向電磁石 (BM; ベンディングマグネット) ビームラインはフラックスを含めスペックダウンが予想されていると説明があった。そのため BM-BL では、エネルギー分解能を犠牲にしても、フラックスを保つために、多層膜ミラーなどの導入が検討されていることが紹介された。今後の BM-BL の存続には、新たな活用法の議論が必要になるとのことであった。

この他、蛋白質結晶ビームラインを支える人材の育成や産業界による利用のあり方など、アップグレード以降における SPring-8 の方向性の議論を始める時期が来ているとの意見もあった。研究会会長の栗栖氏から、アップグレードの情報をできるだけ多くのユーザーで共有し、新しい光源でどのようなサイエンスがやりたいのか、具体的に考えてほしいと要望があった。終演が近づき、副会長の熊坂氏から、次回の研究会が 9 月に大阪大学蛋白質研究所で開催されることが紹介され、議論は引き続き次回へ持ち越すことが提案された。また、次回の検討ワークショップが開催される SPring-8 シンポジウムへの参加を本研究会の参加者に要請され、積極的に議論を盛り上げてほしいと要望し、本研究会の総合討論が締め括られた。