

SPring-8は、兵庫県の播磨科学公園都市にある世界最高性能の放射光を生み出す大型施設です。JASRIタンパク質結晶解析推進室では、放射光を利用したタンパク質結晶構造解析研究の利用支援と技術開発を行っています。

SPring-8の生命科学/タンパク質結晶構造解析(L1)分野の課題運用において、今まで進められてきたタンパク質結晶解析ビームライン(PX-BL)に加え、今年の2021B期より新たに共用として

- ・クライオ電子顕微鏡(CryoTEM)実験：EM01CT, EM02CT（共用CryoTEM：ビームライン付帯施設）
- ・生体高分子小角散乱実験(BioSAXS)：BL38B1（理研構造生物学Iビームライン）

の課題運用が始まります。様々な手法の測定から統合的な生体高分子の構造と機能の理解を目指す、構造生物学研究を促進します。

CryoTEMの利用について

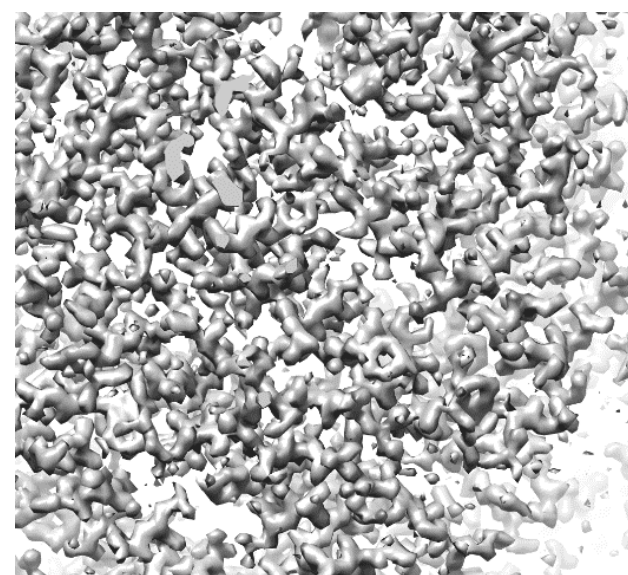
CryoTEM利用の課題申請について

- ・ PX-BL利用課題の付帯設備としての利用が可能です。
- ・ PX-BL利用課題申請時にCryoTEM利用を計画していることをあらかじめ明記する必要があります（2021A期採択のPX-BL課題は2021B期も有効ですが、CryoTEMは利用できません）。
- ・ 詳細については、SPring-8課題募集情報をご覧ください
- ・ 成果専有時期指定課題申請の場合も、放射光利用とCryoTEM利用の両方の利用が必要です。



EM01CT
JEOL CRYO ARM 300 (JEM-Z300FSC)

- ・ Cold FEG 300 kV運用
- ・ インカラムΩフィルター
- ・ ガタン K3
- ・ 自動画像取得ソフト JADAS（日本電子）、SerialEM
- ・ ホールフリー位相板



Resolution: 1.90 Å (FSC 0.143 CUT-OFF)
Number of particles: 156,532 particles
Apo-Ferritin
Pixel size: 0.794 [Å/pix] in counting mode
collected: 588 (500 micrographs/hour)
Electron dose: ~40 [e-/Å²]
Frame rate: 40 [frames]
Exposure time: 2.8 [sec]
Defocus range: 1.0-2.0 [µm]

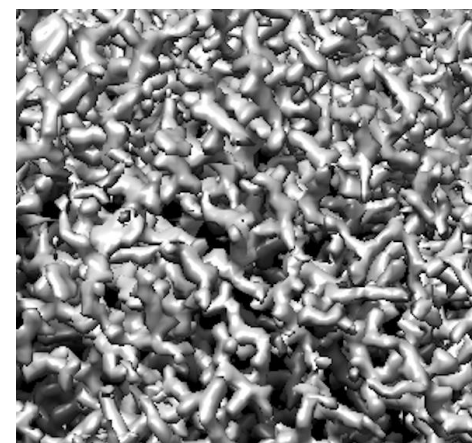
CryoTEMの運用について

- ・ CryoTEMは3シフト24時間単位で利用が可能です（10時から翌10時）。
- ・ CryoTEMの利用には利用開始前講習の受講が必須です（1～3日）。
- ・ サンプルをグリッドとして準備するための設備は、来所の上、利用が可能です。
- ・ 凍結済みのグリッドをドライシッパーで送っていただくことも可能です。
- ・ グリッドを電子顕微鏡に装填する作業は施設スタッフが行います。
- ・ グリッドの電子顕微鏡への装填は、1度に最大12グリッド、1日、3回まで対応します（午前10時、午後1時、午後5時）。
- ・ データは測定と同時にMotion Correction, CTF estimationまで処理できるような環境を提供します。データは、HDDにて後日送付します。
- ・ 初級者向け講習として、SerialEMおよびグリッドの装填の方法など、自律的に高分解能データを取得するための講習も計画しています。



EM02CT
JEOL CRYO ARM 200 (JEM-Z200FSC)

- ・ Cold FEG 200 kV運用
- ・ インカラムΩフィルター
- ・ ガタン K2 summit
- ・ 自動画像取得ソフト JADAS（日本電子）、SerialEM
- ・ ホールフリー位相板



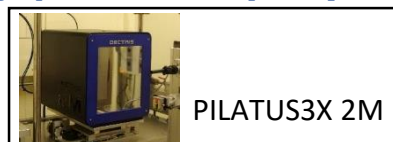
Resolution: 2.08 Å (FSC 0.143 CUT-OFF)
Number of particles: 136,789 particles
Apo-Ferritin
Pixel size: 0.854 [Å/pix] in counting mode
collected: 2182 (198 micrographs/hour)
Electron dose: ~40 [e-/Å²]
Frame rate: 40 [frames]
Exposure time: 6.8 [sec]
Defocus range: 1.0-2.0 [µm]

BioSAXSの利用について

2018年12月～ BL45XUより小角X線散乱測定を移設
2020年1月より評価試験運用開始 & BINDSでの利用の一部再開
2021年4月より理研内プロジェクト、2021B期から一般共用開始

光学系はSPring-8偏光電磁石ビームラインの標準コンポーネント

- ・ 運用波長は0.9, 1.0, 1.2, 1.5 Åに限定
- ・ カメラ長は2.5 mまたは0.3mに限定
- ・ 入射強度は全域で $\sim 10^{10}$ photons/sec
- ・ 試料位置（カメラ長2.5 m）でのビームサイズ650 µm(h) x 150 µm(v)[FWHM]

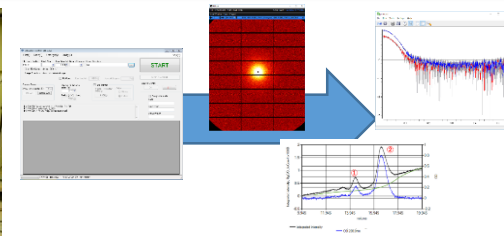


カメラ長 (m)	波長 (Å)	d_{max} (Å)	d_{min} (Å)	q_{min} (Å ⁻¹)	q_{max} (Å ⁻¹)
2.5	0.9	1652	23.3	0.0038	0.27
	1.0	1460	21.0	0.0043	0.30
	1.2	1250	17.5	0.0050	0.36
	1.5	995	14.0	0.0063	0.45
0.3	1.0	89	1.7	0.07	3.8

理研 BL38B1
構造生物学I
ビームライン



実験ステーション



測定から散乱プロファイルまでの自動化

SEC-SAXSの高度化

- ・ 島津製HPLCシステムを導入し自動連続運転
- ・ オートサンプラー（105バイアルまで対応）
- ・ カラムオープン（10～85 °C対応）
- ・ サンプル容量100 µL～
- ・ 2本のカラム、4種類の溶媒の自動交換
- ・ PF・BioSAXSグループと連携を強化し高度化およびユーザー支援を推進
- ・ バイアルの共通化



PF・BioSAXSグループ開発の Sangler, MOLASSが利用可

タンパク質結晶構造解析ビームライン

BL41XU, BL45XU,
BL32XU, BL26B1/B2

放射光を利用したタンパク質の構造解析で、タンパク質試料にX線を照射しデータを収集するのがビームラインの役割です。SPring-8では、タンパク質結晶構造解析で一般的な凍結試料だけではなく、**幅広い試料条件**、**測定条件**に対応できる、使いやすいビームライン技術を開発、提供しています。

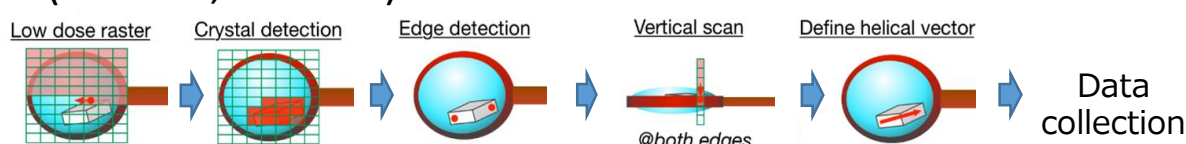
遠隔測定

- 来所せずに遠隔地から現地での測定と同様のソフトウェアを使用したビームライン実験を行う通信システム(BL41XU)



自動測定

- 結晶の位置と測定範囲を集光ビームで検出し次々データを収集する自動測定システム(BL32XU, BL45XU)



HAG (Humid Air and Glue-coating) 法

- タンパク質結晶を凍結ではなく湿度で保持する調湿装置、温度変更機構開発中(BL26B1)



プレート回折計

- 結晶を取り出すことなく結晶化プレート内の結晶から回折測定が可能(BL26B1)



など。

最新の開発状況について本学会にてポスター発表します。

共用 構造生物 I BL41XU



高強度ビームを利用した迅速高精度測定

ターゲット：
・通常モード：微小結晶(~10 μm), 格子定数の大きな結晶(500 Å)
・高エネモード：超高分解能データ測定(~0.4 Å)

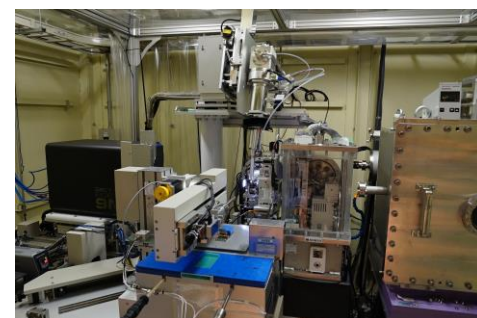
共用 構造生物 III BL45XU



高強度ビームを利用した全自動測定

ターゲット：凍結結晶のハイスループット全自動測定

理研 ターゲットタンパク BL32XU



ハイブリッドアンジュレータを用いた高フラックスマイクロビーム

ターゲット：
10 μm以下の微小結晶・自動測定
ビームタイム共用枠：
全ユーザータイムの20%

理研 構造ゲノム I & II BL26B1/B2



偏向電磁石からの安定なビームを利用した異常分散測定・自動測定

ターゲット：比較的回折能の高い試料のルーチン測定・非凍結測定(プレート・調湿)

ビームタイム共用枠：
BL26B1: 全ユーザータイムの80%
BL26B2: 同20%

利用研究課題の種別と料金

年度中に2回(例年6月中旬と12月上旬締切) 課題募集を行っています。主な課題の種類と使用料の目安を以下の表に示しています。

課題申請を行い、審査を通過すれば、放射光利用実験を行うことができます。

詳細な手続きは、SPring-8 UIサイト(<https://user.spring8.or.jp/>)をご覧ください。

タンパク質結晶解析ビームライン(BL)のビームタイム運用については<http://bioxtal.spring8.or.jp/>もご覧ください。

BL: 利用時間はビームラインによって0.25シフト(2時間)単位から3シフト(24時間)単位の場合があります。事前にご相談ください。

CryoTEM: 利用時間は3シフト(24時間, 10:00~翌日10:00)単位の配分で運用が開始されます。

課題の種類	概要	ビーム使用料 (税込)
一般課題 (成果非専有)	放射光を利用した一般的な研究全般を対象とする課題。タンパク質結晶解析ビームラインでは、年2回の課題募集ののち、年5回程度ビームタイム配分調査を行います。	BL, CryoTEM: 免除 (成果公開が必須)
一般課題(成果専有)	成果非公開研究を対象とする課題。タンパク質結晶解析ビームラインでは、年2回課題募集ののち、年5回のビームタイム配分調査を一般課題(成果非専有)に先んじて行います。	BL: 480,000円 / 1シフト(8時間) CryoTEM: 240,000円 / 3シフト(24時間)
成果公開優先利用課題	国内で公開された形で明確な審査を行う競争的資金を得た方は、科学的価値の審査が省略されます。優先利用料を負担することで 優先利用 できます。	BL: 131,000円 / 1シフト(8時間)
成果専有時期指定課題	随時申し込み可能 で、速やかに審査が行われる課題。利用可能な時期については、予め利用予定のビームラインの担当者にご相談ください。	BL: 720,000円 / 1シフト(8時間) CryoTEM: 360,000円 / 3シフト(24時間)
大学院生提案型課題	将来の放射光研究を担う人材の育成を図ることを目的とし、大学院生が主体的に立案、提案、遂行することを奨励する課題です。課題実行時に博士後期課程の大学院生が対象です。	BL, CryoTEM: 免除 (成果公開が必須) 旅費支援制度あり(国内)

<注意事項> 全ての課題において、利用実験に係る消耗品実費(定額分と使用に応じた従量分を利用者に負担いただきます。定額分は1シフト8時間あたり税込10,720円です。

CryoTEMの利用料金は2021B期の試行運営実績を踏まえ、実績との乖離が生じた場合は料金の改定を実施することがあります。

最新の情報は<https://user.spring8.or.jp/>をご確認ください。

公益財団法人 高輝度光科学研究センター タンパク質結晶解析推進室 <http://bioxtal.spring8.or.jp/>

お問い合わせ先: bioxtal@spring8.or.jp

2021.5.17