

活動報告

平成14年度中期構造生物学坂部プロジェクトの活動

運営委員会委員長
坂部知平

I. SBS P用第一実験ステーションBL6B

1. 利用状況

平成14年度中期のビームタイムは平成14年10月2日(水)午前9時に開始され12月20日(金)午前9時に終了した。予約状況を表1に示す。前回と同様bonus日(入射器のマシスタディ)を予備日とし、それ以外の予備日は取らなかった。bonus timeは1週間前迄に急を要する要求がなければキャンセルを行った。昼夜を問わず利用された。

R-AXIS ++の導入により、検出器が複数になったため予約表に検出器の種類を示す記号を入れた。即ち、R-AXIS ++を(R)、従来のLarge IPを(P)、3×6 CCDを(O)とした。表1に示されているように、大部分は(R)を利用した。(O)はテスト段階にあり、11月8日(金)から7日間としたが、11日がマシスタディーでそれ以後はsingle bunchなので、実質的なテスト実験は2日半であった。また(P)は最初12月10日より最後までを予定したが、特に(P)を希望したのは万有製薬だけだったので最後の2日間を(P)とした。後期も最後の10日間を(P)とするが、希望者が少なかった場合には適宜縮小する予定である。

2. ビームラインアシスタント

今期は1人の方に長期にわたりお願いした。

今期のビームラインアシスタントの名簿を掲載すると共に氏に感謝する。

氏名	所属	期間
鈴木 章夫	北海道大学・田中勲研	11月15日～12月21日

3. 装置の状況

1) R-AXIS ++検出器

最初のR-AXISX ++は導入直後エラーが出たので、交換を行って頂いたところ、極めて良好に稼動している。

R-AXIS ++は購入時、装置の操作とデータ処理を同じ計算機で行っていた。より効率を上げ、且つ安定な運転が出来るように操作専用に計算機を1台付加し、R-AXIS ++用についてきた計算機をデータ処理専用にした。

2) 3×6 CCD検出器

雨宮慶幸研究室の方々が11月8～10日の3日間テスト実験を行った。可動状態は順調で、データは解析中である。

表1. 平成14年度中期BL6Bビームタイム使用状況

LAST UPDATE: 12/15/2002 13:23

USER NAME _a:administer _c:industry _d:non-industry -:free
R:RaxisIV++, P:Big Imaging Plate, O:Other Detectors
day: am:9.00-pm:9.00 night: pm9.00-am:9.00(the next day)

10/ 2 WED R	BERI_c (day)	- (night)
10/ 3 THU R	Mitsubishi_Chem._c (day)	- (night)
10/ 4 FRI R	Fujisawa_Pharm._c (day)	- (night)
10/ 5 SAT R	Sasaki_Kyoyu_d (day)	- (night)
10/ 6 SUN R	Sasaki_Kyoyu_d (day)	- (night)
10/ 7 MON R	machine_study (day)	machine_study (night)
10/ 8 TUE R	Kirin_Brewery_c (day)	- (night)
10/ 9 WED R	Kyowa_Hakko_Kogyo_c (day)	- (night)
10/10 THU R	Kyowa_Hakko_Kogyo_c (day)	- (night)
10/11 FRI R	Mizuno_Hiroshi_d (day)	Mizuno_Hiroshi_d (night)
10/12 SAT R	setting_test (day)	- (night)
10/13 SUN R	- (day)	- (night)
10/14 MON R	machine_study (day)	machine_study (night)
10/15 TUE R	- (day)	- (night)
10/16 WED R	Yamanouchi_Pharm._c (day)	- (night)
10/17 THU R	setting_test (day)	setting_test (night)
10/18 FRI R	Daiichi_Pharm._c (day)	- (night)
10/19 SAT R	setting_test (day)	- (night)
10/20 SUN R	setting_test (day)	- (night)
10/21 MON R	machine_study (day)	machine_study (night)
10/22 TUE R	setting_test (day)	setting_test (night)
10/23 WED R	Banyu_Pharm._c (day)	- (night)
10/24 THU R	Eisai_Co._Ltd_c (day)	- (night)
10/25 FRI R	Sankyo_Co._Ltd_c (day)	Sankyo_Co._Ltd_c (night)
10/26 SAT R	- (day)	- (night)
10/27 SUN R	- (day)	- (night)
10/28 MON R	machine_study (day)	machine_study (night)
10/29 TUE R	bonus_time (day)	bonus_time (night)
10/30 WED R	Kyowa_Hakko_Kogyo_c (day)	- (night)
10/31 THU R	Kyowa_Hakko_Kogyo_c (day)	- (night)
11/ 1 FRI R	Yamanouchi_Pharm._c (day)	- (night)
11/ 2 SAT R	- (day)	- (night)
11/ 3 SUN R	Tanaka_Nobutada_d (day)	- (night)
11/ 4 MON R	machine_study (day)	machine_study (night)
11/ 5 TUE R	- (day)	- (night)
11/ 6 WED R	Daiichi_Pharm._c (day)	Tada_Toshiharu_d (night)
11/ 7 THU R	- (day)	- (night)
11/ 8 FRI O	setting_test (day)	setting_test (night)
11/ 9 SAT O	setting_test (day)	setting_test (night)

11/10	SUN	O	setting_test	(day)	setting_test	(night)
11/11	MON	O	machine_study	(day)	machine_study	(night)
11/12	TUE	O	3GeV_single-bunch	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/13	WED	O	setting_test	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/14	THU	O	3GeV_single-bunch	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/15	FRI	R	3GeV_single-bunch	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/16	SAT	R	3GeV_single-bunch	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/17	SUN	R	3GeV_single-bunch	(day)	3GeV_single-bunch	(night)
11/18	MON	R	machine_study	(day)	machine_study	(night)
11/19	TUE	R	-	(day)	-	(night)
11/20	WED	R	Eisai_Co._Ltd_c	(day)	Eisai_Co._Ltd_c	(night)
11/21	THU	R	Ajinomoto_Co._Inc_c	(day)	Ajinomoto_Co._Inc_c	(night)
11/22	FRI	R	Banyu_Pharm._c	(day)	-	(night)
11/23	SAT	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
11/24	SUN	R	overseas_users_a	(day)	overseas_users_a	(night)
11/25	MON	R	machine_study	(day)	machine_study	(night)
11/26	TUE	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
11/27	WED	R	Kyowa_Hakko_Kogyo_c	(day)	Kyowa_Hakko_Kogyo_c	(night)
11/28	THU	R	Sankyo_Co._Ltd_c	(day)	-	(night)
11/29	FRI	R	Daiichi_Pharm._c	(day)	-	(night)
11/30	SAT	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
12/ 1	SUN	R	overseas_users_a	(day)	overseas_users_a	(night)
12/ 2	MON	R	machine_study	(day)	machine_study	(night)
12/ 3	TUE	R	bonus_time	(day)	bonus_time	(night)
12/ 4	WED	R	Ajinomoto_Co._Inc_c	(day)	Ajinomoto_Co._Inc_c	(night)
12/ 5	THU	R	-	(day)	Uchida_Akira_d	(night)
12/ 6	FRI	R	Camera_maintenance	(day)	Camera_maintenance	(night)
12/ 7	SAT	R	overseas_users_a	(day)	overseas_users_a	(night)
12/ 8	SUN	R	overseas_users_a	(day)	overseas_users_a	(night)
12/ 9	MON	R	machine_study	(day)	machine_study	(night)
12/10	TUE	R	Camera_maintenance	(day)	-	(night)
12/11	WED	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
12/12	THU	R	Yamanouchi_Pharm._c	(day)	-	(night)
12/13	FRI	R	Konno_Michiko_d	(day)	-	(night)
12/14	SAT	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
12/15	SUN	R	setting_test	(day)	setting_test	(night)
12/16	MON	R	BERI_c	(day)	BERI_c	(night)
12/17	TUE	R	Sankyo_Co._Ltd_c	(day)	-	(night)
12/18	WED	P	-	(day)	-	(night)
12/19	THU	P	Banyu_Pharm._c	(day)	-	(night)

 top  home  rule  help  booking

3) Large IP 検出器

12月19日、今期最終日に万有の鎌田健司氏らがデータ収集を行った。PCがネットワークに繋がっていないなどのハプニングがあったが、最終的にデータ収集は良好な結果が得られたようである。

4) 低温吹付け装置

霜が付く、-150 以下に下がらないなどの問題があった。特に12月4日に故障し使用不能になった。長岡技科大の野中孝昌研究室からノズルを借用し12月11日から正常運転を再開した。なお、(株)リガクに窒素ガス抽出型試料吹付低温装置 (cat.no.2364B302) 及びその付属品である空冷型循環送水装置 (cat.no.4811D) を発注した。納入予定は3月である。

5) 波長変更

11月4日; 0.97、12月3日; 1.80、12月17日; 1.2541。これ以外の日は全て1.0のX線が用いられた。

6) 可動状態

今期station checking sheetに書かれた故障やコメントを表2に示す。

この他、コメントとして

11月21日 Rotation vector の情報をヘッダーに書き込むようにして欲しいと言う要求があった。

また、CrystalClear のデータプロセスにおいて integration に時間がかかりすぎるので短縮してほしいとの要望が味の素の柏木さんから出された(40フレーム; 1時間, 360フレーム; 1日以上)。

表2 今期発生した装置の問題点

月 日	装置名	エラーの種類
10月14日	低温吹付	霜が付く
10月18日	低温吹付	最低温領域がノズル中央より下方にあった
10月25日	低温吹付	-150 迄しか下がらない
10月26日	低温吹付	ループの根元辺りから若干霜が付く
10月27日	低温吹付	ループに霜が付き易い
11月 6日	R-AXIS ++	Initializeを実行時2回エラー発生、再起動で回復 最低温領域がノズル中央より下方にあった
11月21日	低温吹付	吹付け速度不足、霜が付く
11月23日	R-AXIS ++	コントローラーのエラー、原因不明
11月24日	R-AXIS ++	コントローラーのエラー
12月19日	Large IP	run time error R6000, R6001が発生、reset後の Datumを実行し回復、PCからネットワーク障害

. SBS P 第2実験ステーションBL6C

1. カメラ部2 ラグ修理

6月19日測定中に発生したカメラ部2 のラグは2 を制御するボールネジとカメラ台車の連結部のネジの緩みによるものであった。しかし最下部に位置しているので、最初は数トンもあるカメラ上部を外す事も考えたが、幸いカメラの上下駆動ジャッキを最大に上昇させた結果辛うじて修理ができた。

2. エアリフターの改良

カメラ部2の故障は500kgも重量のあるIPカセットが出入りする時、特に止まるときの衝撃による。これを緩和するためエアリフターの改良を行った。機構上、エアリフターの外形ベアリングの数を変えることは出来ないが、ベアリングサイズ(12)を可能な限り大きく(16)した改良型エアリフターを特注した。僅か4mm大きくしただけであるが、IPカセットの動きを極めてスムーズにする事が出来た。その結果、圧搾空気の流入速度を大幅に減少させる事が出来、移動速度を減ずることが出来た。

3. 読み取り部クラッチの調整

X線量に対するデジタル値の直線性を再テストするため、一様露光装置で長時間露光したところクラッチが外れなくなる故障が起こった。原因はクラッチが熱を持ち噛み合せのプラスチック製メスギヤが変形を起こしたためであった。クラッチを動かす部分に回転中不要な接触があり、熱を持ったことが判明した。その部分を1mm削り、クラッチも交換した。その他細かい調整も行った。リトライの機能も付加した。それ以後クラッチに関するエラーは一度も出ていない。

. コンピュータ関係

1. ネットワークとデータサーバの利用状況

ネットワークとサーバはトラブルもなく順調に稼働している。ビームタイムの始まる前にサーバの/homeおよび/save領域の整理を行った。/homeについては1ヶ月以前に作られたファイルは全て消去した。/save領域については多量に使用しているユーザにe-mailを送り移動/消去を依頼した。ほとんどのユーザは自主的に不要なファイルを消去しておられるが、一部に多量の測定データを/saveに入れたままで消去せずに帰られる場合が見受けられるので注意して頂きたい。10月から12月の間にサーバに書き込まれた測定データの総量を図1に示す。

2. RAXIS ++ データのサーバへの書き込み

平成14年5月からBL6BでRAXIS ++ が利用できるようになったが、この装置のコントロールに必要な情報や測定したデータはパソコンのディスクに書き出すように設定されていた。このためデータを直接データサーバに書き込めるようにして欲しいとの要望が多くあった。そこで10月からはデータを直接データサーバに書き込むように設定をして運用している。

3. RAXIS ++ データ処理用パソコンの購入

RAXIS ++ データを処理するのに時間が掛かるので、処理できるパソコンを2台ビームラインに設置して欲しい(現在は1台)、高速処理ができるパソコンを導入して欲しいなどの要望が出ていた。そこで1月のビームタイムから使えるようにデータ処理用の新しいパソコンを1台注文した。

また、Mosfilmを使いたいとの要望が出ていたので、PC-Linuxを1台設置した。

4. アクセルリスのプログラムの試験運用

データ収集の自動化に伴い、空き時間中にQUANTAを使って構造解析を行いたいとの要望が味の素の柏木さんから出された。アクセルリスと交渉の結果QUANTAに関係するプログラムを11月28日から1ヶ月間デモ用として貸し出しを受けることができたので、SBSPハウスのOCTANEで試験的に利用できるようにした。プログラムは次のものである。SeqFold, Binding Site Analysis, Modeler, CNX, X-PLOR, X-Auto Fit, X-Build, X-Ligand, X-PowerFit。ま

た、QUANTAテキスト & Tutorial用のCD-Romの提供も受けた。名大佐々木研の師橋氏及び
ビームラインアシスタントの北大田中研の鈴木氏らが利用した。2月28日まで貸し出し期
間を延長されたので引き続き利用できる。また、リファレンスサイトの契約が成立次第、こ
れまでと同様の利用が可能になる予定である。

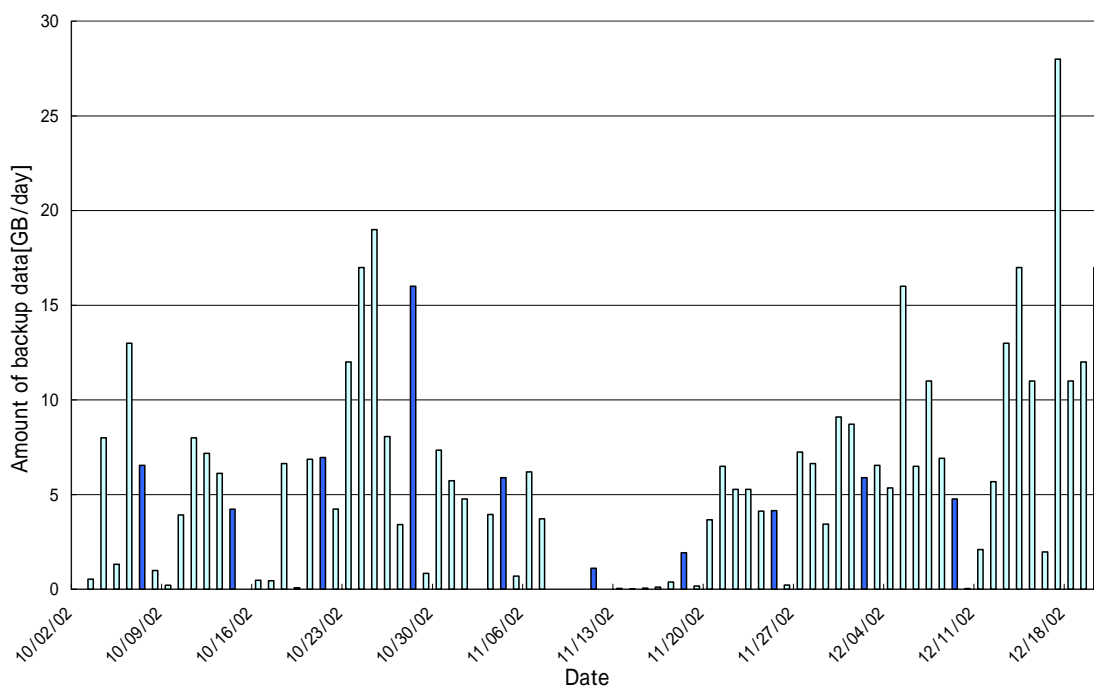


図1 . 10月～12月期におけるデータサーバ利用状況

5 . USB2.0の利用

測定データを携帯用のハードディスクに入れて持って帰る場合、USB1.1では転送に長時間を要する。最近USB2.0/IEEE1394を利用できるハードディスクが普及してきたので、今までの8～10倍の高速で保存ができるUSB2.0/IEEE1394を利用できる環境を整えた。

．各種委員会報告

1 . 運営委員会

本号1頁の運営委員会報告参照

2 . 編集委員会（栗原宏之氏の原稿待ち）

第22回編集委員会が2003年1月10日開催された。出席者は、幾田まり、栗原宏之、坂部貴和子、坂部知平、曾我部智（五十音順）の5名であった。

構造生物Vol. 8, No. 3の原稿最終チェックならびに印刷等のスケジュール確認が行われた。続いて、次号（Vol9, No. 1）の内容についての検討が行われ、執筆をお願いする方々を決定した。

業績紹介

1 . Se Won Suh (Seoul National University)

Crystal structure of *Escherichia coli* CyaY protein reveals a previously unidentified fold for the evolutionarily conserved frataxin family

PANS 97, 8932-8937, (2000)

Seung-Je Cho, Myong Gyong Lee, Jin Kuk Yang, Jae Young Lee, Hyun Kyu Song, and Se Won Suh

Department of Chemistry, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Summary

Friedreich ataxia is an autosomal recessive neurodegenerative disease caused by defects in the *FRDA* gene, which encodes a mitochondrial protein called frataxin. Frataxin is evolutionarily conserved, with homologs identified in mammals, worms, yeast, and bacteria. The CyaY proteins of α -purple bacteria are believed to be closely related to the ancestor of frataxin. In this study, we have determined the crystal structure of the CyaY protein from *Escherichia coli* at 1.4-Å resolution. It reveals a protein fold consisting of a six-stranded antiparallel β -sheet flanked on one side by two α -helices. This fold is likely to be shared by all members of the conserved frataxin family. This study also provides a framework for the interpretation of disease-associated mutations in frataxin and for understanding the possible functions of this protein family.

2 . Se Won Suh (Seoul National University)

Crystal structure of NAD⁺-dependent DNA ligase: modular architecture and functional implications

The EMBO Journal 19, 1119-1129 (2000)

Jae Young Lee, Changsoo Chang, Hyun Kyu Song, Jinho Moon, Jin Kuk Yang, Hyun-Kyu Kim¹, Suk-Tae Kwon¹ and Se Won Suh

Center for Molecular Catalysis, Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742 and ¹Department of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

Summary

DNA ligases catalyze the crucial step of joining the breaks in duplex DNA during DNA replication, repair and recombination, utilizing either ATP or NAD⁺ as a cofactor. Despite the difference in cofactor specificity and limited overall sequence similarity, the two classes of DNA ligase share basically the same catalytic mechanism. In this study, the crystal structure of an NAD⁺-dependent DNA ligase from *Thermus filiformis*, a 667 residue multidomain protein, has been determined by the multiwavelength anomalous diffraction (MAD) method. It reveals highly modular architecture and a unique circular arrangement of its four distinct domains. It also provides clues for protein flexibility and DNA-binding sites. A model for the multidomain ligase action involving large conformational changes is proposed.

3 . Se Won Suh (Seoul National University)

Nucleoside diphosphate kinase from the hyperthermophilic archaeon

***Methanococcus jannaschii*: overexpression, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis**

Acta Cryst. **D56**, 1485-1487 (2000)

Kyeongsik Min,¹ Hyun Kyu Song,¹ Changsoo Chang,¹ Jae Young Lee,¹ Soo Hyun Eom,² Kyeong Kyu Kim,³ Yeon Gyu Yu⁴ and Se Won Suh¹

¹Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, South Korea, ²Department of Life Science, Kwangju Institute of Science and Technology, Kwangju 500-712, South Korea, ³Department of Molecular Cell Biology, SungKyunKwan University School of Medicine, Suwon 440-746, South Korea, and ⁴Structural Biology Center, Korea Institute of Science and Technology, PO Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, South Korea

Summary

Nucleoside diphosphate (NDP) kinase is a key enzyme in maintaining cellular pools of all nucleoside triphosphates. NDP kinase from the hyperthermophilic archaeobacterium *Methanococcus jannaschii* has been overexpressed in *Escherichia coli* and crystallized at 297 K using polyethylene glycol 4000 as precipitant. The crystal is hexagonal, belonging to the space group P6₃, with unit-cell parameters $a = b = 72.89$, $c = 100.87$ Å. The asymmetric unit contains two subunits of NDP kinase, with a corresponding crystal volume per protein mass (V_M) of 2.38 Å³ Da⁻¹ and a solvent content of 48.3%. Native X-ray diffraction data to 2.30 Å resolution have been collected using synchrotron X-rays.