

Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit war die Ermittlung der dreidimensionalen Struktur des bakteriellen  $\epsilon, \zeta$ -Antitoxin / Toxin-Proteinkomplexes (TA-System) kodiert auf dem Plasmid pSM19035 aus *Streptococcus pyogenes*. Das hier vorgestellte Strukturmodell ist die erste Struktur eines TA-Komplexes. Röntgenbeugungsdaten wurden an Selenomethionin-derivatisiertem Protein (max. Auflösung: 3.10 Å) und Wild-Typ-Protein (max. Auflösung: 1.95 Å) mit Synchrotronstrahlung gesammelt. Die Lösung des Phasenproblems erfolgte nach der MAD-Methode (*Multiple wavelength Anomalous Diffraction*).

Die Gene  $\epsilon$  und  $\zeta$  wurden in *Escherichia coli* in Methionin- oder Selenomethionin-haltigen Anzuchtmedien exprimiert. Zur Reinigung des  $\epsilon, \zeta$  Proteinkomplexes wurde ein Protokoll entwickelt und optimiert. Homogenes Protein wurde kristallisiert, an Kristallen wurden Beugungsdaten gesammelt. Nach Lösung des Phasenproblems mit MAD wurde ein Strukturmodell erstellt und verfeinert. Zusätzlich erfolgte auch die Lösung des Phasenproblems (mit der Methode des Molekularen Ersatzes) und anschließende Verfeinerung von Kristallstrukturen des Komplexes in zwei weiteren polymorphen (polytypen) Modifikationen. Die auftretenden Konformationsänderungen wurden als Packungseffekte identifiziert.

Das Antitoxin  $\epsilon$  neutralisiert im  $\epsilon_2\zeta_2$ -Komplex die toxische Wirkung von  $\zeta$ . Dies erfolgt mit Hilfe von Seitenketten der N-terminalen Helix a von  $\epsilon$ , welche durch sterische Hinderung und repulsive Wechselwirkungen einer ATP-Bindung von  $\zeta$  entgegenwirken und das Protein somit inaktivieren. Die inaktive Form liegt *in vivo* solange vor, als die das Operon kodierenden Gene im Zellcytosol vorhanden sind. Strukturvergleiche mit in der Proteindatenbank (PDB) veröffentlichten Proteinen ergaben, dass das Protein  $\zeta$  mit Phosphotransferasen strukturell verwandt ist, wenngleich nur sehr geringe Aminosäure-Sequenzhomologien (max. 15 %) vorhanden sind. Dennoch wurden basierend auf diesen strukturellen Erkenntnissen in  $\zeta$  katalytisch wichtige Aminosäuren identifiziert. Ausgehend von diesen Ergebnissen wurden zusätzlich zur gestellten Aufgabe ortsgerichtete Mutagenese-Studien und Strukturanalysen an diesen mutierten Proteinen durchgeführt. Alle Mutationen führten zu inaktivem, nicht-toxischem  $\zeta$  Protein. Deshalb wird in dieser Arbeit eine Phosphotransferase-Aktivität als toxischer Effekt von  $\zeta$  vorgeschlagen. Damit wird zum ersten Mal der Wirkungsmechanismus eines TA-Systems sowohl molekularbiologisch als auch strukturell untersucht.