

Toksino-antitoksino (TA) sistemos – tai poros viename operone esančių bakterijų ir archėjų genu, kurių vienas koduoja toksišką baltymą, o antras – jį neutralizuojantį baltymą-antitoksiną. Tol, kol ląstelėje gaminamas pakankamas abiejų baltymų kiekis, antitoksinas jungiasi su toksinu ir jį išaktyvina. Tačiau, esant nepalankioms aplinkos sąlygoms, labilesnis antitoksinas suardomas aktyvintų proteazių, o likęs laisvas stabilesnis toksinas slopina gyvybiškai svarbius ląstelinius procesus – baltymų arba DNR biosintezę, dėl ko stabdomas ląstelių augimas arba jos žūva. *Escherichia coli* chromosomoje aprašyta daugiau nei dešimt TA sistemų, kurių viena yra *dinJ-yafQ*, apie kurią žinoma labai nedaug. Anksčiau laboratorijoje atliktuose darbuose nustatyta, kad *dinJ-yafQ* koduoja transliaciją slopinantį toksiną YafQ, o DinJ ir YafQ baltymai sudaro stiprų baltymų kompleksą, slopinantį YafQ toksišką poveikį. Kol kas nieko nėra žinoma apie YafQ molekulės sritis, svarbias sąveikai su antitoksinu DinJ. Šiame darbe sekai atrankios mutagenezės metodu buvo tirtos YafQ baltymo sritys, svarbios sąveikai su „savuoju“ toksinu DinJ.

TA sistemoms būdinga savo operono transkripcijos autoreguliacija. DNR sulėtinimo gelyje eksperimentais parodėme atrankią DNR ir antitoksino DinJ bei DinJ-YafQ baltymų komplekso sąveiką. Laisvas antitoksinas DinJ silpniau sąveikauja su DNR nei būdamas komplekse su YafQ, o sąveikai su DNR svarbi DinJ baltymo N galinė dalis. Iš dviejų *dinJ-yafQ* operono promotoriaus srityje nustatytų palindrominių sričių, sąveikai su DinJ-YafQ baltymais svarbi viena.

Analysis of *Escherichia coli* Toxin-Antitoxin System *dinJ-yafQ* Protein/DNA Interaction

Prokaryotic toxin antitoxin systems consist of two adjacent genes, where one encodes a stable toxin harmful to essential cellular processes (translation or DNA synthesis), and the other a labile antitoxin, capable of blocking the toxin's activity by binding into stable protein complex. TA systems are proposed to be involved in bacterial adaptation to stress conditions by modulating the level of essential biological processes.

There are at least ten characterized chromosome-encoded TA loci in *Escherichia coli*. The *dinJ-yafQ* operon codes for YafQ toxin which is neutralized by its cognate antitoxin, DinJ. YafQ is known to inhibit translation *in vivo* and belongs to the RelE toxin family of toxin ribonucleases. By using site-specific mutagenesis of YafQ, we have investigated the protein regions important for its interaction with DinJ antitoxin.

Transcriptional autoregulation has been reported for members of all known TA gene families and appears to be general characteristic of regulation of TA loci. In this work electrophoretic mobility shift assay was used to investigate the interaction between the antitoxin DinJ and DinJ-YafQ complex and *dinJ-yafQ* operon promoter DNA. Antitoxin DinJ in the complex with YafQ had an enhanced DNA-binding affinity compared to free DinJ. N-terminal domain of antitoxin is crucial for interaction with DNA. Bioinformatic analysis of *dinJ-yafQ* operon promoter region revealed several palindromic DNA islands and their importance for interaction with DinJ and YafQ proteins have been investigated.

Keywords: *E. coli*, chromosomal toxin-antitoxin systems, *dinJ-yafQ*, transcription control, site specific mutagenesis.