

Zusammenfassung

Trotz jahrzehntelanger Forschung nach der Entzifferung des Genoms von *Bacillus subtilis* sind immer noch etwa ein Viertel aller Proteine kaum oder gar nicht charakterisiert. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, potentielle Interaktionspartner, insbesondere von funktionell uncharakterisierten Proteinen, durch native Co-Fraktionierungs- und Quervernetzungsstrategien zu identifizieren. Durch chemische Quervernetzung von Proteinen vor der Zelllyse konnten Interaktionspartner uncharakterisierter Proteine angereichert werden. Aus den Ergebnissen ließ sich ein potentieller Interaktionspartner des Pyruvatdehydrogenase-Komplexes identifizieren, der in weiterführenden Experimenten als Inhibitor beschrieben wurde. Zudem wurden zwei bisher kaum oder gar nicht charakterisierte Interaktionen mit der kleinen ribosomalen Untereinheit identifiziert. Weitere Protein-Protein-Interaktionen mit hoher Konfidenz wurden publiziert. Darüber hinaus wurde für zukünftige gelbasierte Co-Fraktionierungsanalysen eine Gelschneidevorrichtung entwickelt, die eine simultane Fraktionierung in Gelstücke mit einer Migrationsdistanz von 0,6 mm unter Standardlaborbedingungen ermöglicht.

Die Kombination chemischer Quervernetzung von Proteinen in situ mit anschließender nativer Fraktionierung ermöglicht die Aufklärung potentieller, bisher uncharakterisierter Proteininteraktionen. Kombiniert mit bioinformatischer Strukturmodellierung kann die erhaltene Kandidatenliste weiter eingegrenzt werden und bietet damit die Basis für erfolgversprechende Validierungsexperimente. Die vorgestellte Strategie ermöglicht es, beliebige Organismen unter verschiedensten Wachstumsbedingungen mit überschaubarem Aufwand auf ihr Interaktom hin zu untersuchen.

Abstract

Despite decades of research following the sequencing of the *Bacillus subtilis* genome, about a quarter of all proteins are still poorly or not at all characterised. The aim of this work was to identify potential interaction partners, especially of uncharacterised proteins, using native co-fractionation and crosslinking strategies. Through crosslinking of proteins prior to cell lysis, interaction partners of uncharacterised proteins could be enriched. From the results, a potential interaction partner of pyruvate dehydrogenase was identified, which was described as an inhibitor in further experiments. Also, two previously poorly or not at all characterised interactors with the small ribosomal subunit were identified. Further high-confidence protein-protein interactions were published. In addition, for future gel-based co-fractionation analyses, a gel-cutting device was developed that allows simultaneous fractionation into gel pieces with a migration distance of 0.6 mm under standard laboratory conditions.

The combination of chemical crosslinking of proteins in situ with subsequent native fractionation enables the elucidation of potential previously uncharacterised protein interactions. Combined with bioinformatic structural modelling, the resulting candidate list can be further narrowed down and thus provides the basis for promising validation experiments. With the described analysis pipeline, it is possible to investigate the interactome of any organism under different growth conditions with reasonable effort.