

James-Lucas Cairns

Dr. sc. hum.

Mass-Guided Single-Cell MALDI Imaging and Machine Learning for Microglial Metabolite Profiling

Fach/Einrichtung: Biochemie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Carsten Hopf

Diese Arbeit konzentriert sich auf die Weiterentwicklung der Einzelzell-Metabolomik für kleine Moleküle und die Erforschung der Mikroglia-Aktivierung durch innovative analytische Techniken und robuste Datenverarbeitungspipelines. Das Hauptziel war die Entwicklung einer Methode für hochdurchsatzfähige Einzelzell-Massenspektrometrie-Bildgebung (MSI), die den nativen metabolischen Zustand der Zellen während der Analyse bewahrt. Ein massengeleitetes Verfahren namens PRISM-MS wurde eingeführt, das in der Lage ist, einzelne Zellen ohne optische Zielführung und ohne Veränderung ihres metabolischen Profils zu analysieren. Dieser Workflow ermöglicht eine flexible Anwendung auf verschiedenen Oberflächen und erweitert die Einsatzmöglichkeiten von MSI in der Zell- und Gewebeforschung. Darüber hinaus zeigte PRISM-MS eine überlegene Metabolitenkonservierung im Vergleich zu herkömmlichen Methoden. Eine grafische Benutzeroberfläche wurde entwickelt, um die Implementierung zu erleichtern und eine breitere Anwendung des PRISM-MS-Workflows zu ermöglichen.

Wesentliche Ergebnisse umfassen die Fähigkeit, spezifische Subpopulationen in heterogenen zellulären Umgebungen zu identifizieren und zu analysieren. Ein künstliches Zellmodell wurde zur Entwicklung einer Datenverarbeitungsmethode eingesetzt, um Subpopulationen mithilfe von Monte-Carlo-Consensus-Clustering zu finden und zu detektieren. Diese Methode wurde anschließend auf Zellkulturen übertragen, was die selektive Detektion aktivierter oder ruhender Zellpopulationen basierend auf massenspektrometrischen Markern wie Itaconat und Taurin ermöglichte. Diese Innovation bietet beispiellose Möglichkeiten, zelluläre Heterogenität und metabolische Zustände ohne Färbung oder externe Markierung zu verstehen, wodurch die Zellintegrität erhalten bleibt. Weitere Errungenschaften umfassten die Entwicklung einer umfassenden Datenverarbeitungspipeline, um die Variabilität in MSI-Daten zu adressieren, unter Einsatz von Normalisierungstechniken und datenbankgestützter Annotationen, um Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit sicherzustellen. Die Integration von Datenbank-Annotationen und hochauflösenden Validierungstechniken, einschließlich Tandem-MS, verbesserte die

Genauigkeit der Metabolitenidentifikation.

Die durch Lipopolysaccharid-Behandlung induzierte Mikroglia-Aktivierung wurde sowohl in Zellkulturen als auch in Gewebeschnitten untersucht und offenbarte unterschiedliche metabolische Profile, die mit verschiedenen Aktivierungszuständen assoziiert sind. Die Kombination aus Einzelzellanalyse und umfassender Gewebestudie lieferte Einblicke in die Heterogenität von Mikroglia und deren mögliche Rollen bei neuroinflammatorischen Zuständen. Aktivierungsspezifische Marker und Signalwege wurden identifiziert, was Anwendungen in der Forschung zu neurodegenerativen Erkrankungen zugutekommen könnte.

Zusammenfassend etablierte diese Studie PRISM-MS als bahnbrechende Methodik für Einzelzell- und orts aufgelöste Metabolomik mit signifikanten Verbesserungen bei der Metabolitenkonservierung, dem Durchsatz und der Annotationsgenauigkeit. Die entwickelten Fortschritte in der Datenverarbeitung adressieren kritische Herausforderungen der Variabilität und ebnen den Weg für genauere und biologisch relevante Einblicke in zelluläre Funktionen und Pathologien. Zukünftige Anwendungen dieser Methodik werden voraussichtlich unser Verständnis komplexer biologischer Systeme und ihrer Reaktionen auf Umwelt- und therapeutische Behandlungen vertiefen können.