

AT-SCP

Austrian Single Cell Proteomics Platform

Programm / Ausschreibung	F&E Infrastruktur, F&E Infrastrukturförderung 4. Ausschreibung 2022/01	Status	laufend
Projektstart	01.08.2023	Projektende	31.07.2025
Zeitraum	2023 - 2025	Projektlaufzeit	24 Monate
Keywords	Single Cell Proteomics, Mass Spectrometry		

Projektbeschreibung

Proteine sind die treibende Kraft hinter den zellulären Funktionen, und dennoch ist das Proteom einer einzelnen Zelle bisher nur unzureichend verstanden. Der Schlüssel zur Beantwortung grundlegender biologischer Fragen liegt in der Einzelzellproteomik (Single Cell Proteomics, SCP), einer aufstrebenden Technologie, die durch bedeutende technologische Verbesserungen in den letzten Jahren ermöglicht wurde. Die detaillierte Charakterisierung einzelner Zellen mit Hilfe der Massenspektrometrie (MS) ist daher von großem Wert für die Untersuchung der Heterogenität komplexer Systeme. Im Gegensatz zur Einzelzellgenomik befindet sich die SCP noch in einem frühen Stadium der technischen Reife. Minimale Probenmengen und fehlende Vervielfältigungsmethoden für Proteine machen SCP zu einer großen Herausforderung.

Die Proteomics Core Facility (CF) am Vienna BioCenter Campus (VBC) hat bereits 2018 Pionierarbeit mit Einzelzellproteomikexperimenten mit kleinsten Probenmengen geleistet. Basierend auf diesen frühen Arbeiten haben wir den Bedarf an neuartigen, verlustfreien Protokollen für die Probenvorbereitung und an hochempfindlichen MS-Instrumenten als Schlüsselanforderungen für zukünftige Studien im Bereich der Einzelzell-Proteomik identifiziert. Zu diesem Zweck haben wir im Jahr 2019 die 1st European Single Cell Conference organisiert und mit Cellenion zusammengearbeitet, einem Unternehmen, das sich auf das Pipettieren von kleinsten Volumina (50 pl) spezialisiert hat. Das Ergebnis dieses Vorzeigeprojekts ist die Entwicklung eines präzisen und reproduzierbaren Probenvorbereitungsprotokolls unter Verwendung eines Pikoliter-Handling-Robotersystems. Inzwischen nutzen die meisten renommierten akademischen Forschungsgruppen, die sich mit Einzelzellproteomik beschäftigen, dieses automatisierte System (cellenONE®, Cellenion), um eine effiziente Probenvorbereitung in miniaturisierten Hochdurchsatzvolumina zu ermöglichen.

Aufbauend auf diesem Erfolg und der erworbenen Expertise wollen wir nun eine neue, hochmoderne Einheit für Einzelzellproteomik aufbauen. Diese Einheit wird die Einzelzellproteomik vom derzeitigen Entwicklungsstadium zu einer robusten Technik weiterentwickeln, die der europäischen Forschungsgemeinschaft als kooperative Dienstleistung angeboten werden kann. Diese Einheit, die ausschließlich der Forschung und Entwicklung gewidmet sein wird, wird ein Spin-off unseres früheren Proteomics CF sein, mit dem Ziel, unsere Anstrengungen im Bereich der Forschung und Entwicklung zu beschleunigen. Eine solche Infrastruktur wäre unseres Wissens die erste ihrer Art in Österreich und Europa.

Um eine erfolgreiche Methodenentwicklung auf dem dynamischen und anspruchsvollen Gebiet der Einzelzell-Proteomik zu gewährleisten, benötigen wir Massenspektrometer und Probenvorbereitungssysteme auf dem neuesten Stand der Technik. Dazu gehört der cellenONE Roboter, der eine reproduzierbare Handhabung der Proben ermöglicht. Für die Detektion und exakte Quantifizierung werden darüber hinaus die empfindlichsten und schnellsten Massenspektrometer benötigt. Dazu gehören Geräte wie Orbitrap Ascend Tribrid (Thermo) und timsTOF SCP (Bruker), beide mit bisher unerreichter Empfindlichkeit und Geschwindigkeit.

Nach erfolgreicher Implementierung werden wir die grundlegenden offenen Fragen der menschlichen Gehirnentwicklung mit Hilfe von Organoiden in Zusammenarbeit mit der Knoblich-Gruppe (Institut für Molekulare Biotechnologie, Österreichische Akademie der Wissenschaften) angehen. Weiters planen wir die Etablierung transversaler (institutionenübergreifender) Workflows mit unserer CF für Pflanzenforschung.

Die Einzelzell-Omik wird in naher Zukunft die zelluläre Heterogenität von einer Quelle des Rauschens in eine Quelle der Entdeckung verwandeln. Dies wird zu einem besseren Verständnis der Beziehungen zwischen Expression, Funktion und Identität multizellulärer Subtypen beitragen, was für nachgelagerte Anwendungen wie die Früherkennung von Krankheiten oder die Entwicklung maßgeschneiderter Therapien von Bedeutung ist.

Abstract

Proteins are the main drivers of cellular function, and yet the proteome of single cells is poorly understood. Single-cell proteomics (SCP) is an emerging technology enabled by significant technological improvements over the last years and is key to answering fundamental biological questions. Hence, in-depth characterization of individual cells using mass spectrometry (MS)-based proteomics would be highly valuable to studying the heterogeneity within complex systems. In contrast to single-cell genomics, SCP is still at an early stage of technical maturity. The lack of any amplification method for proteins makes SCP far more challenging due to minimal sample input.

The Proteomics core facility (CF) at the Vienna BioCenter Campus (VBC) pioneered experiments with ultra-low input proteomic samples from single cells starting in 2018. Based on this early work, we have identified the need for novel, lossless sample preparation protocols and high-sensitivity MS instruments as key requirements for future single-cell proteomics studies. To this end, we organized the 1st European Single Cell Conference in 2019 and collaborated with Cellenion, a company specializing in pipetting minimal volumes (50 pl). This lighthouse project developed an accurate and reproducible sample preparation protocol using a picolitre handling robotic system. By now, most renowned academic research groups working in single-cell proteomics use this automated system (cellenONE®, Cellenion) to enable efficient sample preparation in miniaturized volumes and with high throughput.

Based on this success and our gained expertise, we now aim to establish a novel state-of-the-art single-cell proteomics unit, pushing single-cell proteomics from its current developmental stage to a robust technique that can be offered as a collaboration service to the European research community. This unit dedicated entirely to R&D will be a spin-off of our former Proteomics CF to accelerate our R&D efforts. To our knowledge, such an infrastructure would be the first of its kind in Austria and Europe.

However, this requires the appropriate technical equipment we request in this application. State-of-the-art mass spectrometers and sample preparation handling systems are needed to ensure successful method development in the

dynamic and challenging single-cell proteomics field. This includes the cellenONE robot allowing reproducible sample handling. Furthermore, the most sensitive and fast mass spectrometers are needed to enable detection and accurate quantification. This includes devices such as the Orbitrap Ascend Tribrid (Thermo) and the timsTOF SCP (Bruker), both showing unprecedented sensitivity and speed.

Upon successful implementation, we will tackle the fundamental open questions of human brain development using organoids in collaboration with the Knoblich group (Institute of Molecular Biotechnology Austria, Austrian Academy of Sciences). Additionally, we plan to establish transverse (cross-facility) workflows with our Plant Sciences CF.

Single-cell omics will very soon unveil cellular heterogeneity from a source of noise to a source of discoveries. This will help deepen our understanding of the relationship between the expression, function, and identity of multicellular subtypes connected to downstream applications like early disease diagnosis or the development of tailored therapies.

Projektpartner

- Vienna Biocenter Core Facilities GmbH