



Doctoral Thesis

## Mass spectrometry for single-cell metabolomics

**Author(s):**

Amantonico, Andrea

**Publication Date:**

2010

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006198584> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 18976

# **Mass Spectrometry for Single-cell Metabolomics**

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH

for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by

**Andrea Amantonico**

Dott. Chim. Università di Bari

born October 11, 1975

Italian citizen

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Renato Zenobi, examiner

Prof. Dr. Petra Dittrich, co-examiner

Zurich 2010

## **Abstract**

The holistic approach in contemporary biology is dramatically altering our view on the molecular key questions of cellular function and interplay. *Systems Biology* aims at a complete understanding of living organisms by comprehensive and integrative investigation of biological systems. This in-depth understanding will be achieved by integration of massive data sets on cellular composition in terms of genes, mRNAs, proteins, and metabolite that the "omics" technologies provide with mathematical models. However, due to the minute amounts of samples in each cell almost all current bioanalytical methods provide data that are averaged over an entire cell population, while even cells in isogenic cultures display profound variations on all levels. Quantitative data from individual cells are essential to create accurate and reliable computational models that can lead researchers to a predictive understanding of cellular mechanisms. Thus, the ultimate quest for a quantitative and mechanistic mathematical model comprising cellular processes cannot be achieved with present-day technology.

In this thesis a new technological development to study cell metabolism was undertaken, with the final aim to create a high-throughput analytical platform for detection and quantification of metabolites in single cells. Substantial progress is reported along three fundamental strategic directions. First, several detection methodologies based on mass spectrometry (MS) were evaluated taking into account the particular requirements of single-cell analytics. Specific mass spectrometric methods capable to detect several primary metabolites are also presented and their application to single-cell analysis is tested. Second, a general principle of coupling microfluidics and MS is reported. Along the same direction, an innovative technique for hyphenation of a microscale separation method (CE) with MALDI-MS was developed. Finally a population study on metabolism of single cells is presented. The demonstration that the methods developed in this work can investigate biological phenomenon in cell populations is provided. One of the firsts insights into the cell-to-cell variability of the metabolism cells is presented in a study on microalgae.

## Sommario

L'approccio olistico alla biologia contemporanea sta modificando radicalmente la nostra visione dei meccanismi molecolari fondamentali alla base del funzionamento cellulare. La *Biologia dei sistemi* ha come obiettivo finale una completa comprensione degli organismi viventi per mezzo di uno studio comprensivo ed integrativo dei sistemi biologici. Questa conoscenza profonda può essere conseguita attraverso l'integrazione in modelli matematici delle enormi serie di dati sulla composizione cellulare (geni, mRNA, proteine e metaboliti) fornite dalle tecnologie "omiche". Tuttavia, a causa della scarsa quantità di materiale biologico presente in una sola cellula, attualmente tutti i metodi bioanalitici forniscono valori mediati su intere popolazioni cellulari; mentre cellule presentano grandi variazioni individuali anche in popolazioni isogeniche. Informazioni quantitative da singole cellule sono essenziali per la creazione di modelli computazionali accurati che possano portare ad una comprensione predittiva dei meccanismi cellulari. Quindi la tecnologia attuale non permette di ottenere un modello quantitativo e meccanicistico dei processi cellulari.

In questo lavoro di tesi è stato intrapreso lo sviluppo di una nuova tecnologia volta allo studio del metabolismo cellulare, con l'obiettivo ultimo di creare una piattaforma bioanalitica altamente efficiente capace di rilevare e quantificare il contenuto di metaboliti in una sola cellula. Innovazioni importanti sono qui presentate lungo tre importanti direzioni strategiche. In primo luogo, diverse metodologie basate sulla spettrometria di massa (MS) sono state valutate tenendo in considerazione le caratteristiche peculiari dell'analisi di cellule singole. Sono stati sviluppati inoltre metodi analitici in grado di rilevare diversi metaboliti primari e la loro applicabilità all'analisi di cellule singole è stata verificata. La seconda direzione intrapresa comprende l'implementazione di un principio generale per interfacciare la spettrometria di massa con dispositivi microfluidici. In questo ambito è stato anche sviluppato una interfaccia innovativa tra una tecnica di microseparazione (elettroforesi capillare) e la spettrometria di massa. In fine, è presentato uno studio sul metabolismo in singoli individui all'interno di una popolazione di organismi unicellulari (microalghe). Una prima idea fondamentale sui meccanismi che coinvolgono la variabilità interindividuale è fornita da questo studio.