



Tecnologías de secuenciación de célula única como fuente de conocimiento para entender más acerca de la heterogeneidad celular en diferentes contextos biológicos y los desafíos desde nuestra región.

Yesid Cuesta-Astroz^{ID*}

La célula se considera como la unidad básica estructural y funcional de diversas formas de vida. En organismos multicelulares por ejemplo, las células y diferentes poblaciones celulares están especializadas con el fin de llevar a cabo diferentes funciones, llevando a la existencia de una amplia y compleja diversidad celular. Esta diversidad celular puede estar correlacionada con el ambiente local, el tejido donde esta se localiza pero también puede estar siendo moldeada por el ambiente externo en respuesta a estímulos o adaptaciones.

La caracterización de células se lleva a cabo por medio de diversas técnicas y metodologías que permiten comprenderlas a partir de su morfología y función. En los últimos años, la transcriptómica de célula única ha ganado popularidad con el fin de explorar las células desde una perspectiva transcripcional entre otras variaciones de la tecnología, llevando al descubrimiento de tipos celulares, procesos y relaciones entre células y genes. En 2009, se dio a conocer el primer trabajo de secuenciación de RNA de célula única (en inglés scRNA-seq) permitiendo obtener información transcriptómica de blastómeros de ratón con una resolución a nivel de células individuales [1]. Desde hace 20 años aproximadamente hasta el surgimiento de la tecnología de secuenciación de célula única, el número de genes detectados a partir de la secuenciación masiva de transcritos en un determinado tejido se basaba en el promedio de los transcritos que provenían de diferentes células (bulk-RNAseq), en contraste a lo que tenemos hoy en día, donde a partir de los datos obtenidos pueden ser identificados

estos transcritos pero a nivel de célula única y con gran precisión dentro de un tejido [2].

A partir de este tipo de tecnología ha surgido, en los últimos años, iniciativas que tienen como objetivo el desarrollo de atlas de células humanas con aplicaciones en salud y enfermedad; dentro de estas se encuentran como iniciativa pionera el “Human Cell Atlas” (<https://www.humancellatlas.org/>), la cual pretende comprender los mecanismos de diferentes enfermedades a nivel celular y de tejidos empleando esta información para desarrollar diagnósticos, identificar blancos terapéuticos y predecir la eficacia de tratamientos, entre otras finalidades, con el objetivo de impactar la medicina humana en diferentes tipos de afecciones que incluyen desde enfermedades complejas, hasta enfermedades infecciosas, enfermedades huérfanas y el cáncer [3]. Este tipo de información compilada en los atlas no se encuentra supeditada exclusivamente a humanos, y además, abarca datos a nivel celular de diferente información ómica (transcriptómica, genómica, epigenómica y proteómica) [4].

Este tipo de atlas celulares mencionados anteriormente se postulan como un poderoso conjunto de datos que sirven como referencia a una variedad de casos entre los cuáles se encuentran no solo el diagnóstico y tratamiento de enfermedades a través del descubrimiento de genes o marcadores celulares de alguna condición, sino que también complementan la comprensión de los procesos biológicos y generación de nuevas hipótesis para futuras investigaciones.

* Grupo de Investigación en Microbiología básica y Aplicada (MICROBA), Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.

Muchos de estos datos cumplen con los principios FAIR (en inglés, *Findable, Accessible, Interoperable y Reusable*) los cuáles hacen que los datos sean más fáciles de compartir y reutilizar [5]. En la siguiente tabla se proveen algunos recursos de bases de datos que contienen datos de secuenciamiento de célula única en diferentes especies (tabla 1).

Los enfoques de célula única están definitivamente revolucionando la comprensión de la diversidad celular y su impacto en salud y enfermedad. Con el fin de cerrar el vacío entre el conocimiento y aplicación de

estas metodologías es necesario aplicar una estrategia que combine el aprendizaje basado en problemas y una implementación práctica. Diferentes iniciativas educativas se han desarrollado a nivel mundial y a nivel latinoamericano con el fin de fortalecer la experticia técnica, promover la innovación y empoderar a los investigadores para traducir sus habilidades en el uso de la genómica de célula única en contribuciones científicas de impacto. En la siguiente tabla se referencian algunos recursos educativos donde se encuentra disponible material práctico y teórico en el área (Tabla 2).

Tabla 1. Bases de datos de secuenciamiento de célula única.

Nombre de la base de datos	Número de células	Número de especies	Url	Referencia
CZCELLxGENE Discover	107.9M	7	https://cellxgene.czscience.com/	[6]
Single cell portal	57M	18	https://singlecell.broadinstitute.org/single_cell	[7]
Human BioMolecular Atlas Program (HuBMAP)	No informado	1	https://hubmapconsortium.org/	[8]
Human Cell Atlas	64.1	3	https://data.humancellatlas.org	[9]
Single Cell Expression Atlas	13.5M	21	https://www.ebi.ac.uk/gxa/sc/home	[10]
Malaria Cell Atlas	493K	5	https://www.malariacellatlas.org/	[11]
PanglaoDB	5.5M	2	https://panglaoDB.se/	[12]
Single-cell atlas of <i>Leishmania</i> major	10K	1	https://zenodo.org/records/10779511	[13]

Tabla 2. Recursos educativos en secuenciamiento de célula única.

Nombre del curso	Material disponible	Organizado por
Orchestrating Single-Cell Analysis with Bioconductor	https://bioconductor.org/books/release/OSCA/	Bioconductor
Análisis de datos transcriptómicos de célula única (scRNA-seq) con R y Bioconductor	https://comunidadbioinfo.github.io/cdsb2021_scRNAseq/index.html - https://comunidadbioinfo.github.io/cdsb2023/	Comunidad de desarrolladores de software en bioinformática
Analysis of single cell RNA-seq data	https://www.singlecellcourse.org/	Instituto Sanger
Single Cell Genomic Approaches to Study the Immune System - Latin America & the Caribbean	https://github.com/WCSCourses/Single_Cell_Genomics_Immune-Sys_24	Instituto Sanger – Wellcome Connecting Science - Universidad de Antioquia
Single Cell Genomics Day: A (Virtual) Practical Workshop	https://satijalab.org/scgd25/	Satija Lab
Single Cell Genomics - Latin America & the Caribbean	https://github.com/WCSCourses/Single_Cell_Genomics_2024?tab=readme-ov-file	Wellcome Connecting Science - INCA

En el contexto de la microbiología las tecnologías de secuenciamiento de célula única han estado desarrollándose; no obstante, no de igual manera como en humanos. La implementación en bacterias por ejemplo, se ha visto que implica unos desafíos intrínsecos como el proceso de lisis celular con el fin de cuantificar los transcriptos bajo tecnologías de nanofluidos, además de tener concentraciones de RNA mensajeros menos estables y concentraciones mucho más bajas que en células eucariotas. Por otra parte los transcriptos carecen de colas poly-A y esto dificulta la cuantificación de los transcriptos por medio de esta tecnología [14]. Sin embargo, muchos estudios se han llevado a cabo en los últimos años con el fin de permitir que transcriptomas puedan ser obtenidos desde células bacterianas individuales, prometiendo de esta manera una microbiología de célula única que busca comprender la heterogeneidad celular en las poblaciones microbianas y sus consecuencias para la adaptación a diversas condiciones, incluidas las infecciones y otras interacciones con el medio ambiente. Es así como podemos pensar que actualmente con estas tecnologías de secuenciamiento de célula única nos encontramos ante una oportunidad única de comprender, a un nivel sin precedentes, la interacción de los microorganismos con su entorno, proveyendo herramientas para una mejor comprensión por ejemplo, de las interacciones hospedero-patógeno a un nivel de célula única incluyendo virus, bacterias y enfermedades parasitarias [15, 16].

En nuestro contexto latinoamericano, las enfermedades desatendidas comprenden un grupo de patologías que afectan de manera desproporcionada a diferentes zonas con recursos limitados. En América Latina la carga de enfermedades desatendidas se expresa principalmente a través de enfermedades como: leishmaniasis, malaria, dengue, infecciones parasitarias intestinales, enfermedad de Chagas y muchas otras causadas por bacterias, virus, hongos y parásitos [17]. Muchas de estas enfermedades han sido ignoradas u olvidadas por las principales agencias públicas de financiamiento, la industria farmacéutica y los gobiernos [18-21]. En consecuencia, es evidente la falta de inversión en investigación y desarrollo para abordar estas enfermedades.

En consecuencia, todavía existe un gran vacío en el tratamiento y diagnóstico de enfermedades infec-

ciosas desatendidas en América Latina. Hasta la fecha, hay muchas enfermedades infecciosas que carecen de opciones de tratamiento adecuadas, mientras que los regímenes de tratamiento actuales a menudo pueden ser menos eficaces debido a la resistencia de los patógenos. Además, también falta conocer más sobre la biología de estos agentes etiológicos y la interacción con los huéspedes humanos en el contexto latinoamericano, es decir en el contexto genético de cada población [22].

Considerando este escenario, se requieren enfoques innovadores e integradores para abordar este problema de salud pública en la región. Las tecnologías de secuenciamiento de célula única podrían facilitar la comprensión de las propiedades de las células hospederas que albergan estos microorganismos patógenos y las respuestas inmunes específicas del huésped según la enfermedad y su agente etiológico. En este contexto, el estudio de las interacciones moleculares huésped-patógeno es esencial para comprender la infección y la adaptación del patógeno dentro del hospedero, y como la gran mayoría de las veces estos patógenos son capaces de evadir el sistema inmune del huésped [23].

Las tecnologías de secuenciamiento de célula única tendrán un impacto en el estudio de enfermedades desatendidas en América Latina, ya que con esta tecnología sensible se pueden estudiar las interacciones huésped-patógeno con una resolución y profundidad que antes no eran posibles [24]. Los datos de células individuales PBMCs obtenidos a partir de donantes sanos latinoamericanos que serán generados por el proyecto JAGUAR (<https://jaguar.liigh.unam.mx/>) contribuirán a comprender los potenciales efectos de la infección en las células diana y de esta manera comprender cómo se inicia la respuesta inmune y la posible patogénesis (descubrimiento de biomarcadores).

El proyecto JAGUAR está comprometido con el avance en el conocimiento inmunogenómico de nuestras poblaciones latinoamericanas, de esta manera obteniendo datos de células del sistema inmune de diferentes países de América Latina conoceremos más sobre la posible heterogeneidad de la respuesta inmune del huésped a diferentes agentes infecciosos que tienen como blanco este tipo de células, además de abrir nuevas fronteras en la posible identificación

de nuevos blancos terapéuticos contra enfermedades infecciosas desatendidas en América Latina [25].

La implementación, a nivel mundial, de estas tecnologías de secuenciación de célula única han traído a la fecha resultados tangibles en el avance del conocimiento y desarrollo de soluciones a diversas enfermedades a nivel mundial, además de la generación de datos inmunogenómicos principalmente con estas tecnologías; trayendo consigo estos enfoques de inmunogenómica de célula única a la comprensión de como factores ambientales y el “background” genético que influye en las respuestas inmunes en las diferentes poblaciones y, más recientemente, como el repertorio celular de diferentes poblaciones responde a diferentes agentes etiológicos en diferentes enfermedades infecciosas.

En resumen podemos decir que la revolución de la transcriptómica unicelular ha transformado nuestra comprensión de la biología al mostrar cómo varía la actividad genética en células, tejidos, condiciones de salud individuales y hasta comunidades de microorganismos. A diferencia de la secuenciación de ADN, que revela cambios en el código genético representado en la secuencia de nucleótidos, la secuenciación de ARN ofrece una visión dinámica de los genes activos y el nivel de actividad en cualquier muestra de tejido o célula, mostrándonos de esta manera diferentes paisajes transcripcionales celulares asociados con diferentes condiciones del ambiente.

REFERENCIAS

1. **Tang F, Barbacioru C, Wang Y, Nordman E, Lee C, Xu N, et al.** mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nat Methods*. 2009; 6(5):377-82. doi: 10.1038/nmeth.1315
2. **Luecken MD, Theis FJ.** Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial. *Mol Syst Biol*. 2019;15(6):e8746. doi: 10.15252/msb.20188746.
3. **Rood JE, Maartens A, Hupalowska A, Teichmann SA, Regev A.** Impact of the Human Cell Atlas on medicine. *Nat Med*. 2022; 28(12):2486-2496. doi: 10.1038/s41591-022-02104-7.
4. **Baysoy A, Bai Z, Satija R, Fan R.** The technological landscape and applications of single-cell multi-omics. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2023; 24(10):695-713. doi: 10.1038/s41580-023-00615-w.
5. **Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, Appleton G, Axton M, Baak A, et al.** The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data*. 2016; 3:160018. doi: 10.1038/sdata.2016.18.
6. **CZI Single-Cell Biology Program, Shibli Abdulla, Brian Aeevermann, Pedro Assis, Seve Badajoz, Sidney M. Bell, et al.** CZ CELLxGENE Discover: A single-cell data platform for scalable exploration, analysis and modeling of aggregated data. *bioRxiv* 2023.10.30.563174; doi: <https://doi.org/10.1101/2023.10.30.563174>
7. **Tarhan L, Bistline J, Chang J, Galloway B, Hanna E, Weitz E.** Single Cell Portal: an interactive home for single-cell genomics data. *bioRxiv*. 2023; 2023.07.13.548886. doi: 10.1101/2023.07.13.548886.
8. **Jain S, Pei L, Spraggins JM, Angelo M, Carson JP, Gehlenborg N, et al.** Advances and prospects for the Human BioMolecular Atlas Program (HuBMAP). *Nat Cell Biol*. 2023;25(8):1089-1100. doi: 10.1038/s41556-023-01194-w.
9. **Regev A, Teichmann SA, Lander ES, Amit I, Benoist C, Birney E, et al.** The Human Cell Atlas. *Elife*. 2017;6:e27041. doi: 10.7554/eLife.27041.
10. **George N, Fexova S, Fuentes AM, Madrigal P, Bi Y, Iqbal H, et al.** Expression Atlas update: insights from sequencing data at both bulk and single cell level. *Nucleic Acids Res*. 2024; 52(D1):D107-D114. doi: 10.1093/nar/gkad1021.
11. **Howick VM, Russell AJC, Andrews T, Heaton H, Reid AJ, Natarajan K, et al.** The Malaria Cell Atlas: Single parasite transcriptomes across the complete *Plasmodium* life cycle. *Science*. 2019;365(6455):eaaw2619. doi: 10.1126/science.aaw2619.
12. **Franzén O, Gan LM, Björkegren JLM.** PanglaoDB: a web server for exploration of mouse and human single-cell RNA sequencing data. *Database (Oxford)*. 2019; 2019:baz046. doi: 10.1093/database/baz046.
13. **Catta-Preta CMC, Ghosh K, Sacks DL, Ferreira TR.** Single-cell atlas of *Leishmania* development in sandflies reveals the heterogeneity of transmitted parasites and their role in infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2024; 121(52):e2406776121. doi: 10.1073/pnas.2406776121
14. **Homberger C, Barquist L, Vogel J.** Ushering in a new era of single-cell transcriptomics in bacteria. *Microlife*. 2022; 3:uqac020. doi: 10.1093/femsml/uqac020.
15. **Gioacchino E, Vandelannoote K, Ruberto AA, Popovici J, Cantaert T.** Unraveling the intricacies of host-pathogen interaction through single-cell genomics. *Microbes Infect*. 2024; 26(7):105313. doi: 10.1016/j.micinf.2024.105313.
16. **Cerny O, Godlee C, Lobato-Márquez D.** Editorial: Single cell analysis of bacteria-host interaction. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023; 13:1196905. doi: 10.3389/fcimb.2023.1196905.
17. **Franco-Paredes C, Jones D, Rodríguez-Morales AJ, Santos-Preciado JI.** Commentary: improving

- the health of neglected populations in Latin America. *BMC Public Health*. 2007; 7, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-11>
18. **Marmot, M.** Social determinants of health inequalities. *The lancet*. 2005; 365(9464): 1099-1104.
 19. **Folch E, Hernandez I, Barragan M, Franco-Paredes C.** Infectious diseases, non-zero-sum thinking, and the developing world. *Am J Med Sci*. 2003;326(2):66-72. doi: 10.1097/00000441-200308000-00003.
 20. **Farmer PE, Furin JJ, Katz JT.** Global health equity. *Lancet*. 2004; 363(9423):1832. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16325-3.
 21. **Trouiller P, Oliaro P, Torreele E, Orbinski J, Laing R, Ford N.** Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *Lancet*. 2002; 359(9324):2188-94. doi: 10.1016/S0140-6736(02)09096-7.
 22. **Norris ET, Wang L, Conley AB, Rishishwar L, Mariño-Ramírez L, Valderrama-Aguirre A, et al.** Genetic ancestry, admixture and health determinants in Latin America. *BMC genomics*. 2018; 19(S8): 861. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5195-7>
 23. **Cuesta-Astroz Y, Santos A, Oliveira G, Jensen LJ.** Analysis of Predicted Host-Parasite Interactomes Reveals Commonalities and Specificities Related to Parasitic Lifestyle and Tissues Tropism. *Front Immunol*. 2019; 10:212. doi: 10.3389/fimmu.2019.00212.
 24. **Chattopadhyay PK, Roederer M, Bolton DL.** A deadly dance: the choreography of host-pathogen interactions, as revealed by single-cell technologies. *Nat Commun*. 2018; 9(1):4638. doi: 10.1038/s41467-018-06214-0.
 25. **Couto-Silva CM, Nunes K, Venturini G, Araújo Castro E, Silva M, Pereira LV, et al.** Indigenous people from Amazon show genetic signatures of pathogen-driven selection. *Science advances*. 2023; 9(10), eabo0234. doi.org/10.1126/sciadv.abo0234