XX Jornadas de Ciencias, Tecnologías e Innovación

SECUENCIACIÓN DE CÉLULA ÚNICA CON TECNOLOGÍA PROPIA DE CAPTURA CELULAR: HETEROGENEIDAD DEL CROMOSOMA FILADELFIA EN CÉLULAS K562

IGLESIAS N.[1,2]; GARCIA LABARI I.[1]; EZPELETA J.; SPETALE F.[1]; PONCE, S.[2]; LAVISTA LLANOS S.[1]; TAPIA E[1]; BULACIO P.[1,2]

[1]Facultad de Ingeniería, Cs Exactas y Agrimensura, Universidad Nacional de Rosario - CIFASIS
[2] Universidad Tecnológica Nacional, Regional San Nicolás (UTN - FRSN)
Email: iglesias@fceia.unr.edu.ar

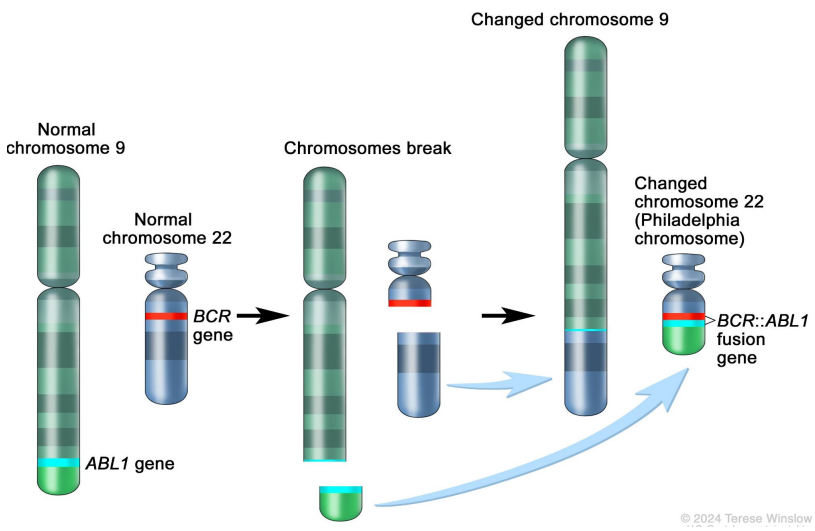
Palabras claves: Philadelphia fusion, K562 cells, single-cell long-read

INTRODUCCIÓN

Las fusiones génicas impulsan la oncogénesis y la resistencia terapéutica en neoplasias hematológicas. La fusión BCR-ABL1, originada por el cromosoma Filadelfia, es el blanco paradigmático en la leucemia mieloide crónica. Sin embargo, su detección clínica actual se basa en secuenciación de ARN masiva (bulk), que promedia la señal de miles de células. Esto enmascara la heterogeneidad celular y oculta poblaciones raras portadoras de la fusión que pueden contribuir a la resistencia al tratamiento. Además, los resultados demoran entre 5 y 7 días, lo que ralentiza la toma de decisiones terapéuticas.

OBJETIVOS

Evaluar si la secuenciación de ARN de lecturas largas en célula única, integrada mediante una arquitectura centrada en la identidad celular, permite detectar poblaciones raras portadoras de fusiones génicas que los métodos masivos enmascaran y reducir el tiempo hasta el informe clínico de días a horas.



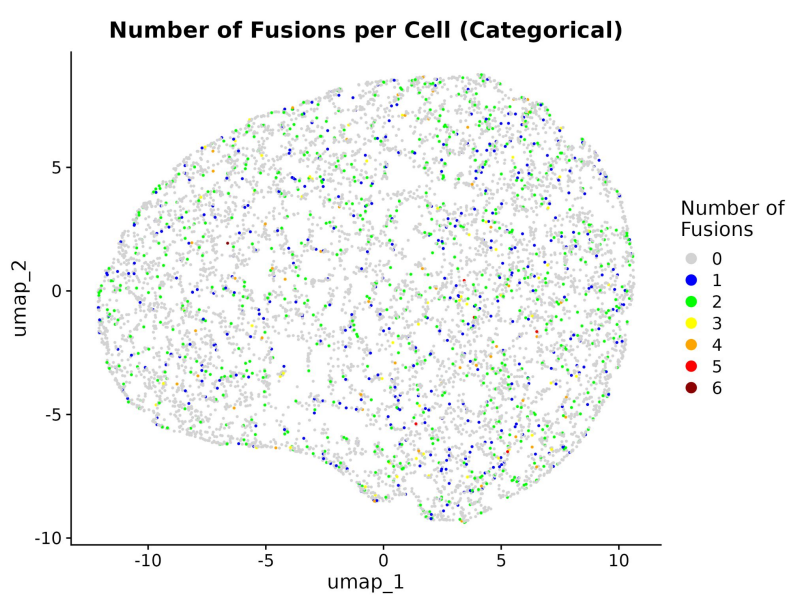
METODOLOGÍA

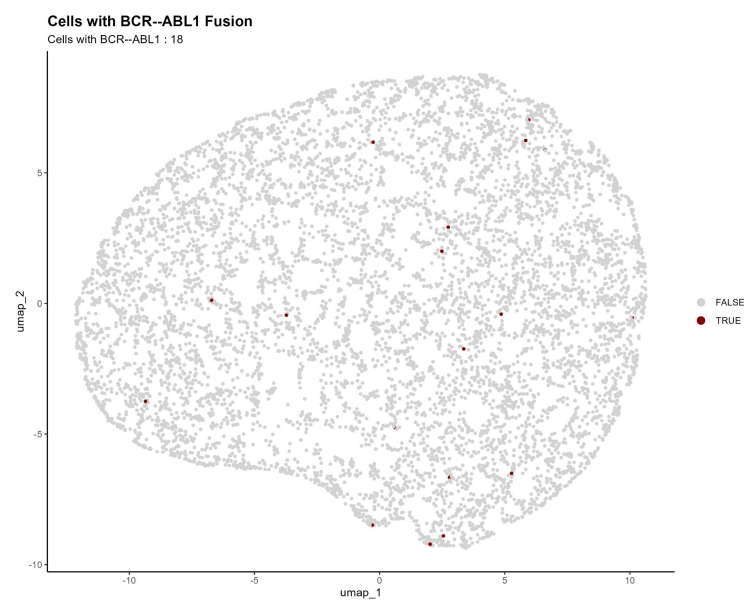
Desarrollamos un pipeline de secuenciación de ARN de lecturas largas en SC, aplicado a células K562. El pipeline integra ArgenTag (separación, marcado y demultiplexado), ONT (secuenciación), FLAMES (cuantificación de isoformas) y CTAT-LR-fusion (detección de fusiones). Para identificar la célula de origen de cada lectura, ArgenTag aplica un demultiplexado matemático de una sola pasada que asigna la identidad celular desde el código de barras, sin referencias externas. Para integrar los resultados de los distintos módulos, usamos el código de barras de cada célula como identificador común, lo que permite combinarlos célula por célula y rastrear cada fusión hasta su célula de origen.



RESULTADOS y DISCUSIÓN

Analizamos 7.856 células individuales de la línea K562 e identificamos 910 eventos de fusión únicos. BCR-ABL1 se detectó en solo el 0,23% de las células (18/7.856), una heterogeneidad que los enfoques masivos no permiten observar. Además, mapeamos con precisión el punto de ruptura canónico t(9;22) y confirmamos la arquitectura del transcrito BCR-ABL1 a resolución de célula única.





CONCLUSIONES

Nuestro pipeline completa el procesamiento de laboratorio y el análisis bioinformático en ~14 horas con infraestructura de cómputo estándar, a lo que se suma un tiempo de secuenciación que depende de la profundidad requerida. Esto demuestra que la resolución de célula única depende tanto de la arquitectura de integración de datos como del método de secuenciación. Así, la genómica del cáncer pasa de promedios poblacionales a información celular individual, en plazos que agilizan la toma de decisiones terapéuticas.

REFERENCIA

Iglesias, N., Lunari, R., Garcia Labari, I., Ezpeleta, J., Spetale, F., Ponce, S., Lavista Llanos, S., Tapia, E. y Bulacio, P. (2025). High resolution single-cell RNA-seq reveals Philadelphia heterogeneity in K562 cells. En *Advances in bioengineering and clinical engineering 2025: SABI CLIC 2025* (IFMBE Proceedings, Vol. 136). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-032-06401-1_126

AGRADECIMIENTOS y FINANCIAMIENTO

Agradecemos a la empresa ArgenTag por financiar el trabajo de laboratorio experimental y el análisis bioinformático de este estudio.