

Salla Keskitalo, Petri Auvinen ja Markku Varjosalo

## Geneettiset ja biologiset analyysit yhdestä solusta

Tautimekanismien ymmärtäminen solu- ja molekyyllitasolla on tärkeää sekä diagnostiikan parantamisen että lääkehoidon kohdentamisen kannalta. Viimeksi kuluneen vuosikymmenen aikana omiikat ovat kehittyneet nopeasti. Transkriptomiikka, proteomiikka ja metabolomiikka alkavat olla helposti tutkijoiden saatavilla. Omiikka kerrallaan analyysit siirtyvät solupopulaatioiden tutkimisesta myös kohti yksisoluanalytiikkaa. Kaikkien yksisoluanalyysien yhteisinä rajoitteina ovat kattavuus ja herkkyys: käytettävissä olevat tekniikat antavat vain osittaisen kuvan solun prosesseista. Parhaaseen tulokseen päästään usein yhdistämällä eri yksisoluumiikan tekniikoita toisiinsa ja solupopulaatioiden analyysiin.

**M**onisoluisissa eliöissä, kuten ihmisessä, solujen välinen viestintä on välttämätöntä kudoksen ja niistä koostuvien elinten kehittymiselle sekä homeostaasin ylläpidolle. Häiriöt homeostaasia ylläpitävässä solukommunikaatiossa ovat taustalla monissa patologisissa kudostuoksissa yksilönkehityksen aikana ja myöhemmin sairauksissa, kuten syövässä. Terveen kudorakenteen ja epänormaalien muutosten monimuotoisuuden tutkiminen solu- sekä geeni-, lähetti-RNA- tai proteiinitasolla on tärkeää, sillä se lisää merkittävästi ymmärrystämme solun molekyylien välisistä kommunikaatiotapahtumista eli signaalinvälitysreaktioista ja edelleen signaalinvälitysreiteistä. Tätä yksityiskohtaista molekyyllitason tietoa voidaan nyt ja tulevaisuudessa käyttää erilaisten terapeuttien strategioiden sekä diagnostisten menetelmien kehittämisessä ja kohdentamisessa.

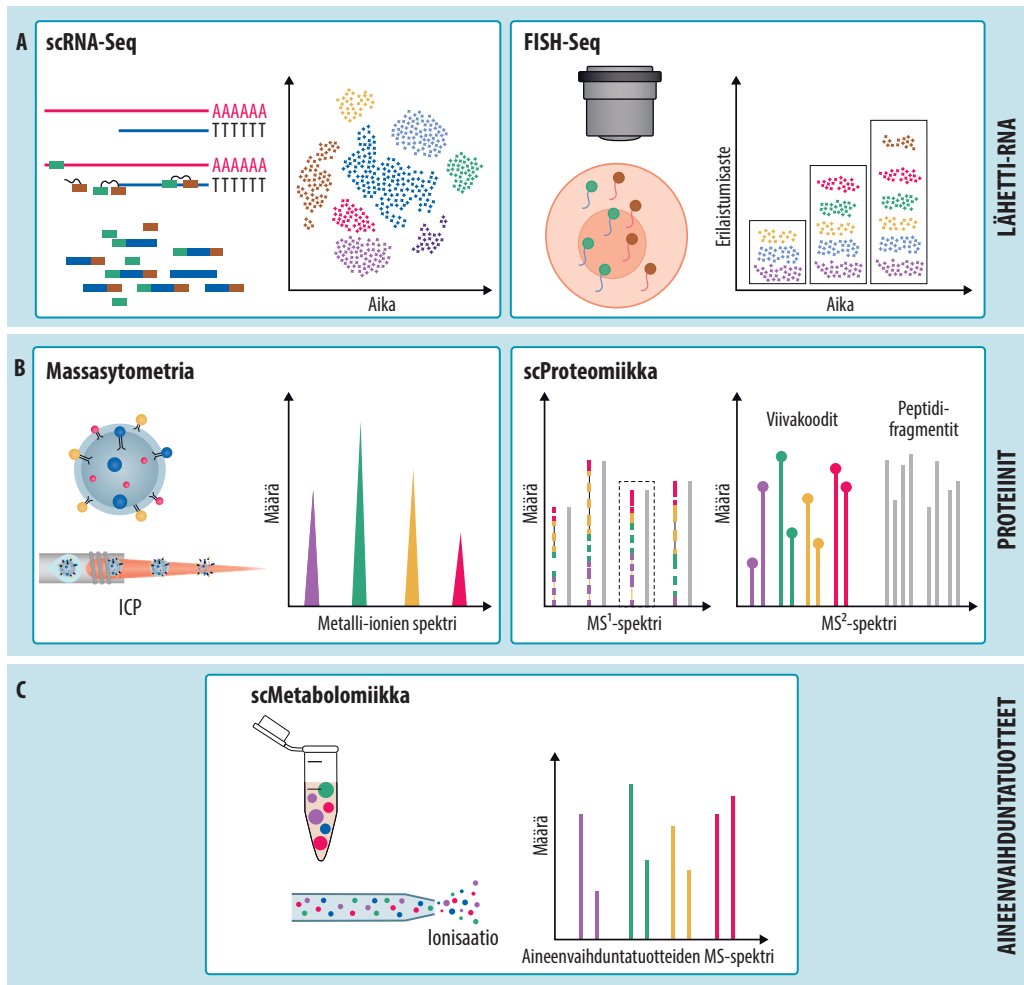
Eri analyysimenetelmien teknologinen kehitys solun identiteetin ja toiminnan laajamittaisessa ymmärtämisessä on ollut nopeaa. Vuosisata sitten soluja luokiteltiin yksinkertaisesti niiden rakenteen, histokemiallisen värjäytymisen, yksittäisten biokemiallisten ominaisuuksien tai sijainnin kudoksessa perusteella. Nykyisin pystytään luotettavasti ja laajasti määrit-

tämään esimerkiksi solujen epigeneettinen tila, DNA:n metylaatio tai histonimodifikaatiot, proteiinien sitoutuminen DNA:han, proteiinien posttranslacionaaliset muokkaukset, proteiinien sijainti ja keskinäiset vuorovaikutukset sekä solujen metabolinen profiili. Tämä kaikki voidaan analysoida yhdistetyistä solunäytteistä, mutta uusimpien menetelmien avulla myös yksittäisistä soluista.

Ensimmäinen yksisolutasoanalyysimenetelmä oli RNA- eli transkriptien sekvensointi (scRNA-seq), ja hyvin pian sen jälkeen siirryttiin proteiinien sekä aineenvaihduntatuotteiden tutkimiseen yksisolutasolla. Tässä katsauksessa kuvaamme nykyisin käytössä olevia yksisolutasoanalyysimenetelmiä tiivistetysti ja annamme esimerkkejä siitä, mihin näitä menetelmiä voidaan käyttää esimerkiksi tutkittaessa eri sairauksien patofysiologiaa solutasolla (**KUVA**). Yksisolumenetelmien edut ja rajoitteet esitetään **TAULUKOSSA**.

### Yksisolu-RNA-sekvensointi

Genotyyppien ja fenotyyppien välisen suhteen selvittäminen on ollut jo pitkään keskeisenä kohteena biologiassa ja lääketieteessä. Yksisolusekvensointi tutkii solujen sekvenssitietoja



**KUVA.** Havainnekuva yksisolumenetelmistä ja niistä saatavista tuloksista. Yksisoluanalytiikka mahdollistaa niin solussa ilmentyvien geenien (transkriptomiikka) (A), proteiinien (proteomiikka) (B) kuin aineenvaihduntatuotteiden (metabolomiikka) (C) mittaamisen. Yksisoluanalyseissä biologisen näytteen heterogeenisuus ei ole rajoite vaan etu, sillä tutkimuskohteena ovat näytteen erilaiset solut tai solupopulaatiot. Yksisolugenomiikkaa voidaan hyödyntää taudin diagnosoinnissa, dynaamisten muutosten seuraamisessa sekä hoitotehon ja -vasteen arvioinnissa. Yksisoluproteomiikkaa on käytetty immunologisissa ja hematologisissa analyyseissä esimerkiksi karakterisoidaan kasvaimen mikroympäristöjä, niiden solutyyppejä ja näiden solutyypin käyttämiä signaalireittejä. Proteomiikka mahdollistaa tarkemman tautidiagnostiikan sekä merkkiaineiden tunnistamisen ja hyödyntämisen yksilöllisten hoitosuunnitelmien laadinnassa. Yksisolumetabolomiikka on yksisoluumiikoista uusin. Kehityksessään se mahdollistaa vastaavat analyysit kuin edellä kuvatut muut yksisoluumiikat.

ICP = induktiokytetty plasma (inductively coupled plasma)

optimoiduilla rinnakkaissekvensointitekniikoilla (next generation sequencing, NGS), jotka kattavat paremmin yksittäisten solujen eroja ja auttavat ymmärtämään paremmin solun toimintaa sen mikroympäristössä (1). Esimerkiksi syövässä yksittäisten solujen DNA:n sekvensointi voi antaa tietoa hyvinkin pienten solupopulaatioiden mutaatiokirjosta. Kehitysbiologisesti yksittäisten solujen ilmentämien

transkriptien sekvensointi voi antaa käsityksen eri solutyypin olemassaolosta ja käyttäytymisestä yksilön kehittyessä sekä siten auttaa ymmärtämään näitä prosesseja mahdollisesti häiritseviä mekanisme (2).

Rinnakkaissekvensointitekniikat ovat mahdollistaneet yksisoluanalytiikan, jossa tarpeellisen sekvenssimäärän tuottamiseksi kohtuullisilla kustannuksilla tarvitaan hyvin suurta ka-

**TAULUKKO.** Yksisolumenetelmät sekä niiden edut ja rajoitteet.

Menetelmä	Edut	Rajoitteet
scRNA-sekvensointi	Mittaa geenien ilmentymistä yksisoluresoluutiolla Yksinkertainen protokolla Käytettävissä olevat vertailuanalyysit Yhteensopiva esimerkiksi scATAC-sekvensoinnin kanssa	Staattinen tilannekuva solutilasta Paikkatietojen menetys, vain paljon ilmentyvät geenit Lähinnä vain nisäkkäiden solut
Spatiaalinen transkriptomiikka	Spatiaalinen kuva geenien ilmentymisestä	Staattinen tilannekuva solutilasta Rajallinen geenien kohdemäärä Työläs protokolla ja analyysit Osa menetelmistä lajirajoitteisia
Massasytometria	Soveltuu isohkoillekin solumäärille	Staattinen tilannekuva, riippuvainen vasta-aineista, analyysi vain muutamista kymmenistä proteiineista kerralla
Yksisoluproteomiikka	Tarkempi kuva solun tilasta kyseisellä ajanhetkellä	Staattinen tilannekuva nykyisestä tilasta Epästabiili lähtöaine Benchmark-analyysi vasta kehityksessä, rajallinen pääsy tekniikkaan Kohdemolekyylien vain rajallinen, kuten scRNA-sekvensoinnissakin
Yksisolometabomiikka	Käynnissä olevien biologisten prosessien suora määrittäminen Lähinnä toiminnallista fenotyyppiä	Staattinen tilannekuva nykyisestä tilasta Standardoidun tietovaraston puute Vertailuanalyysit eivät ole käytettävissä Rajallinen pääsy tekniikkaan Shotgun-metabomiikassa rajoitteena molekyylien tunnistus: onko molekyyli isännän tai esimerkiksi mikrobien tai molempien tuottama

pasiteettia. Käytännössä tavanomaisen massa (bulk) -transkriptisekvensoinnin menetelmät sovellettiin vasta hiljattain kohti yksisolutasoa ja yksittäin eristettyjen solujen analysointiin (3,4). Vieläkin haasteena on saada riittävän suuri osa yhden solun lähetti-RNA-molekyyleistä mukaan analyysiin. Kattavuus ei vielä ole kovin hyvä, ja tuloksia saadaan pääasiassa vain muutamasta tuhannesta eniten ilmentyvistä geenistä – ei suinkaan kaikista.

Nykyisillä menetelmillä saadaan noin 10–30 % RNA-molekyyleistä käännettyksi komplementaariseksi DNA:ksi (cDNA) ja siten osaksi sekvensoitavaa kirjastomateriaalia. RNA-seq-tekniikoilla saadaan selville, mitkä geenit toimivat kussakin solussa. Vertaamalla soluja toisiinsa tai soluihin kokonaan eri kokeista voidaan tutkia, minkä geenien toiminta on aktivoitunut tai inaktivoitunut näytteiden välillä. Aina ei ole itsestään selvää, antaako yksisoluanalyysi parempaa kuvaa kuin solupoolista tehdyt analyysit.

Bakteerien ja hiivojen yksisoluanalysointi on vaativaa (5). Hiivojen laboratoriokannoille on kehitetty menetelmiä geenien ilmentymisen tutkimiseen, mutta bakteereille sellaista ei ole vielä olemassa. Bakteerien ja arkkien erilaiset soluseinät vaikeuttavat systemaattista analyysia samoin kuin lähetti-RNA:n suhteellisen pienen määrän sekä solujen nopeampi reagointi analyysissa tehtäviin käsittelyihin. Viimeksi mainittu ilmiö vaikuttaa tietysti myös ihmisen yksisolutasoanalyysiin, vaikka sitä ei aina huomioida tulosten tarkastelussa. Bakteereilla on myös vähäisemmässä määrin stabiileja polyA-häntiä, mikä helpottaa kirjastojen tekemistä eukaryoottisoluista.

### Spatiaalinen transkriptomiikka

Geenien aikasidonnainen ilmentyminen kudoksissa johtuu usein vuorovaikutuksesta muiden paikallisesti säädelyjen tekijöiden kanssa.

Tyypillisesti yksisolu-RNA-sekvensointitekniikat johtavat paikkatietojen informaation menetykseen. Kuten edellä on mainittu, suurimmassa osassa olemassa olevista menetelmistä RNA:ta ei suoraan sekvensoida, vaan se käännetään aluksi cDNA:ksi käänteiskopioijaentsyymien avulla. Tarve geenien ilmentymisen ajan ja paikan yhdistämiseen johti ”spatiaaliseen transkriptomiikkaan”, jossa suuriakin määriä lähetti-RNA-molekyylejä voidaan mitata eriasteisilla resoluutioilla (paikkatarkkuuksilla).

Spatiaalisen transkriptomiikan menetelmät voidaan jakaa karkeasti kahteen. Fluoresenssiin perustuvissa *in situ* -hybridisaatiomenetelmissä (FISH) transkriptit leimataan suoraan kudoksetiloihin, jolloin niiden paikka solussa (tai jopa soluelimessä) voidaan visualisoida. Tämä voi johtaa molekulaariseen ylilataamiseen, jossa yhdessä solussa olevat läheiset signaalit helposti sekoittuvat, erityisesti jos samanaikaisesti tarkastellaan useita satoja transkripteja.

Toisessa lähestymistavassa histologinen leike sijoitetaan mikrosirulle, joka on päällystetty uniikit sijaintiviivakoodit sisältävillä oligonukleotideilla. Tällöin saadaan tarkan paikkatiedon sisältämä cDNA-kirjasto, joka edelleen sekvensoidaan. Tällä menetelmällä resoluutio ei vielä riitä yhden solun tutkimiseen.

Lisämenetelmät, jotka perustuvat FISH-tekniikoiden muunnelmiin (esimerkiksi seqFISH ja seqFISH+), tarjoavat sekä suuren sekvensointisyvyyden että tarkan solulokalisaaion (6,7). SeqFISH-analyysimenetelmässä suunnitellaan osan tai koko transkriptomin kattavat koettimet, jotka toimivat alukkeina sekvensoinnissa. Kun tehdään alukkeiden useita peräkkäisiä hybridisaatiokierroksia ja sekvensointivaiheita, saadaan lopulta analysoitua suurempi määrä kohdegeenejä. Nämä menetelmät toimivat vain etukäteen suunnitelluilla koettimilla ja ovat siten lajispesifisiä.

Spatiaalisissa sekvensointimenetelmissä tulevat vastaan samat rajoitukset kuin muissakin yksisoluanalyysimenetelmissä: kuinka kattavasti ja tarkasti molekyylit saadaan analysoiduksi. Sekvensointimenetelmät vaativat luonnollisesti parempaa lähetti-RNA:n laatua kuin hybridisaatioon perustuvat tekniikat, joissa myös pilkkoutuneet RNA-molekyylit voivat tulla

havaituksi (8). Hybridisaatiomenetelmissä joikaista kohde-RNA-molekyylä vastaan voidaan myös käyttää useampaa koetinsekvenssiä, jolloin analyysin herkkyys lisääntyy ja näytteen huonolaatuisuutta pystytään jossain määrin kompensoimaan. Myös mikrobipopulaatioiden analyysiin on kehitetty FISH-tyyppisiä menetelmiä (9).

## Yksisoluproteomiikka

Genomiikka ja proteomiikka pyrkivät vastaamaan eri kysymyksiin ja tuottavat erilaiset, toisiaan täydentävät kuvat samasta tutkittavasta kohteesta. Proteomiikan osalta yksisoluanalyyseissa ollaan kattavuuden ja herkkyyden kannalta takamatkalla genomiikkaan nähden, vaikka kehitys on ollut nopeaa (10). Koska proteiinit ovat solujen normaalit toiminnalliset yksiköt, useasti proteiinitason analyysit antavat selkeimmän kuvan solun tapahtumista. Kaksi erilaista teknologiaa, massasytometria ja SCoPE-MS, mahdollistavat nykyisin proteomiikkatason analyysit yhdestä tai muutamasta solusta.

Massasytometria on tehokas yksisoluproteomiikan menetelmä, jossa virtausytometria on yhdistetty massaspektrometriin. Massasytometriassa solut värjätään liuoksessa metallioneihin konjugoiduilla vasta-aineilla, solut erotellaan yksisolususpensioksi, ”poltetaan” plasman avulla atomeiksi ja jäljelle jääneet metalli-ionit detektoidaan lentoaikamassaspektrometrilla. Käytettäessä metallioneihin konjugoituja vasta-aineita vältytään FACS-analyysille (fluorescence-activated cell sorting) tyypilliseltä fluoresoivan signaalin vuotamiselta muille kanaville ja tästä johtuvilta ongelmilta data-analyysissa. Yhteen analyysiin voidaan nykyisin sisällyttää hieman yli 40 eri vasta-ainetta. Massasytometrialla saadaan moniulotteista tietoa yksittäisten solujen fenotyypeistä ja toiminnallisuudesta. Tähän mennessä massasytometriaa on käytetty laajalti esimerkiksi tutkittaessa immuunisolujen vastetta ärsykkeeseen tai kasvainpatologian ja proteiinien fosforylaation korrelaatiota (10,11).

Ihmisen ja hiiren vähemmän tutkittujen proteiinien sekä muiden mallieliöiden proteiini-

nien tai proteiinimodifikaatioiden tunnistukseen on vaativaa löytää toimivia, hyvälaatuisia vasta-aineita. Lisäksi vasta-aineiden ja fiksaatiomenetelmien soluläpäisevydessä ja stoikiometrisessä sitoutumisessa epitooppiinsa tai virheelliseen epitooppiin on haasteita (12,13). Massasytometrian suurimpia rajoituksia ovat analyysiin tarvittavien solujen määrä, niiden pysyminen yksittäisinä solususpensiossa sekä edellä mainitut vasta-aineiden herkkyteen ja saatavuuteen liittyvät haasteet. Lisäksi analyysissä solut poltetaan, jolloin jatkoanalyysit massasytometrillä analysoiduista soluista eivät ole mahdollisia (14).

Puhtaasti massaspektrometriaan perustuvat menetelmät sallivat suurimittakaavaisen proteomiikka-analyysin, jolloin jokaisesta näytteestä tunnistetaan tuhansia proteiineja (15). Lisäksi nämä analyysit eivät ole vasta-aineriippuvaisia. Näistä menetelmistä nykyisin yksisoluanalytiikassa käytetyin on massaspektrometrian avulla tehtävä yksisoluproteomianalyysi SCoPE-MS (single cell proteomics by mass spectrometry). Tässä menetelmässä käytetään isobaarisia isotooppileimoja ja yksisoluproteomiin lisättävää "kantajaproteomia" massaspektrometrisen analyysin herkistämiseksi yksittäisten solujen analysointiin.

Yksisoluproteomit antavat mahdollisuuden erotella solupopulaatioita toisistaan sekä päätellä proteiinien määrien suhteita ja niiden muutoksia eri tilanteissa. Tällä tekniikalla on pystytty esimerkiksi tunnistamaan ja kvantitoimaan yli tuhat proteiinia hiiren alkion kantasolujen erilaistumisessa sekä erottamaan ihmisen eri syöpäsolutyypit toisistaan yhden solun proteomin perusteella (16). SCoPE-MS on laajalti sovellettavissa yksittäisten solujen proteomien mittaamiseen ja niiden liittämiseen toiminnallisiin fenotyyppeihin, kuten solutyyppiin ja erilaistumispotentiaaliin.

Yksittäisten solujen proteomien ja transkriptomien vertailu on osoittanut koordinoitun lähetti-RNA:n ja proteiinin yhteisvaihtelun. Silti monilla geeneillä oli toiminnallisesti yhteensovitetut ja erilliset säätelymallit lähetti-RNA- ja proteiinitasoilla, mikä viittaa siihen, että transkription jälkeiset säätelymekanismit, kuten silmukointi, translaatio ja posttranslatio-

## Ydinasiat

- ▶ Terveiden kudosten ja patologisten muutosten tutkiminen yksisolutasolla tuottaa tietoa, joka auttaa ymmärtämään solujen keskinäistä viestintää.
- ▶ Tämä auttaa tautibiologian ymmärryksessä sekä diagnostiikan kehittämisessä ja kohdentamisessa.
- ▶ Yksisoluanalyysit ovat kehittyneet valtavasti muutaman viime vuoden aikana, mutta yhdistetyistä näytteistä saadaan usein kattavampi kuva tutkittavasta tilanteesta.
- ▶ Kehitystä tarvitaan vielä erityisesti kerätyn tiedon analysoinnissa ja tulosten tulkinnassa sekä eri omikoilla kerätyn tiedon yhdistämisessä toisiinsa.

naaliset muokkaukset, vaikuttavat merkittävästi solujen proteomien koostumukseen ja esimerkiksi yksittäisten proteiinien aktiivisuuteen. Yksisoluproteomien analyysi onkin osoittautunut tehokkaaksi diagnostiseksi ja translatiionaaliseksi työkaluksi esimerkiksi tutkittaessa syövän immuunihoidon vasteita (17).

Proteiinien määrän tai sijainnin havaitseminen ei kerro, onko yksittäinen molekyyli toimiva tai toiminnassa, mikä pätee kaikkiin biomolekyyliihin. Proteomianalyysit kuitenkin mahdollistavat yksisolutasolla proteiinisynteesin jälkeisten muokkausten, kuten proteiinien fosforylaation, mittaamisen, jolloin tapauskohtaisesti voidaan karakterisoida proteiinien ja signaalinvälitysreittien toiminnallista aktiivisuutta.

**Spatiaalinen proteomiikka.** Viime aikoina tutkijat ovat tehneet massasytometriä suoraan histologisista leikkeistä lisäten siten tarkan paikkainformaation proteomiikka-analyysiin. Tässä tekniikassa histologiset leikkeet värjätään raskasmetallein leimatuilla vasta-aineilla, jotka massasytometrin laserin avulla irrotetaan tietyistä kohdasta kudosa näytettä ja analysoidaan yksisolutasolla. Tämä menetelmä on myös onnistuneesti kytketty RNA-yksimolekyylikuvan-

tamiseen. Tällöin analysoitiin samanaikaisesti yksisolutasolla samasta näytteestä muutaman kohdegeenin lähetti-RNA- ja proteiinimäärä (18,19).

## Yksisolometabolomiikka

Proteomiikka-analyysin lisäksi massaspektrometreilla voidaan analysoida aineenvaihdunta- tuotteiden, kuten aminohappojen, sokerien tai lipidien pitoisuuksia (20). Näiden molekyylien pitoisuudet solussa antavat suoraa tietoa meneillään olevista biologisista prosesseista ja reaktioista (21). Aineenvaihduntatuotteiden rakenteet ovat erittäin heterogeenisiä, niiden pitoisuudet vaihtelevat suuresti ja ne ovat nykyisin suurelta osin karakterisoimattomia, jolloin näytteenkäsittely ja data-analyysi on erityisen vaativaa.

On kehitetty useita menetelmiä, jotta saataisiin laajoja ja kattavia yksisolometabolomiikkatietokantoja, jotka sisältäisivät myös paikkainformaation (21,22). On kuitenkin huomattava, ettei aineenvaihduntatuotteiden osalta aina-kaan toistaiseksi päästä vastaavaan tunnistus- tai kattavuuskykyyn kuin lähetti-RNA:n tai proteiinien osalta. Silti esimerkiksi yksittäisistä immuunisoluista tehtävät aineenvaihduntatuoteanalyytit ovat osoittautuneet hyvin mielenkiintoisiksi. Erinomaisessa tuoreessa tutkimuksessa COVID-19-potilasnäytteistä pystyttiin aineenvaihduntatuoteanalyyysien perusteella erottamaan erillisiä veren mononukleaaristen valkosolujen populaatioita ja löydettiin muutoksia, jotka korreloivat kyseisen taudin vakavuuden kanssa (23).

## Data-analyysit

Analyysien tekeminen kaikilla uusilla omiikkamenetelmillä on aluksi hankalaa, koska parhaat menettelytavat löytyvät vasta yrityksen ja erehdyksen kautta. RNA-seq-menetelmien analyysimenetelmät suurille näytteille (bulk RNA-seq) ovat kymmenen vuoden aikana vakiintuneet, ja nyt tiedämme, millaisia työkaluja kannattaa käyttää. Yksisoludata-analyysien osalta kultastandardimenetelmiä ei vielä ole. Lisäksi saatavan datan muoto vaihtelee eri me-

netelmien välillä, mikä osaltaan hidastaa esimerkiksi niin kutsuttua datafuusiota eri menetelmien kesken.

Keskeinen rajoite kaikissa yksisoluanalyy- seissä on se, että vain pieni osa solun molekyyleistä saadaan analysoitua. RNA-seq-analyy- seissä konversio eli kopiointi RNA:sta analysoitavaksi cDNA:ksi on yleensä alle 50 %. Tällöin tuloksissa nähdään eniten ilmestyvät geenit havaitsemisherkkyuden rajoissa. Sama ongelma on hybridisaatioon perustuvissa menetelmissä ja proteomiikan eri tekniikoissa. On siis pidettävä mielessä, etteivät nykyiset tekniikat parhaassakaan tapauksessa anna yksityiskohtaisen tarkkaa kuvaa solun prosesseista. Lähinnä lopputuloksena on kuva siitä, millaisia erilaisia solutyyppiejä näytteessä on, ja hyvissä tapauksissa nähdään kyseisen solun yleisimmät metaboliset reitit.

Lähitulevaisuudessa teknologinen kehitys voi auttaa laajentamaan kykyämme kuvata solutyyppien eroja geenejä ja proteiineja pidemmälle, jolloin tutkijat voisivat muokata kulloisenkin analyysin paremmin vastaamaan näytettä ja kysymyksenasetteluaan. Tavoitteena olisivat julkiset tietokannat, joissa omiikkatekniikoilla tuotettuja tuloksia voitaisiin järkevästi yhdistellä.

## Lopuksi

Yksisoluteknologioiden käyttö omassa tutkimuksessa on sovitettava aina tutkittavaan ilmiöön tai kysymykseen. Useasti yhdistetyistä näytteistä saatava tieto on luotettavampaa sekä mahdollistaa useamman eri näytteen mittauksen kustannustehokkaammin ja helpommin. Luonnollisesti poikkeuksiakin löytyy, ja esimerkiksi verisolujen analysointi massasytometrialla usealla kymmenellä merkkiaineella on tehokkaampaa kuin normaalilla FACS:llä muutama merkkiaine (parhaimmillaan yli kymmenen) kerrallaan. Lisäksi se mahdollistaa FACS:ää useamman merkkiaineen analysoinnin esimerkiksi tapauksissa, joissa alkumateriaali on rajoittava tekijä.

Vaikka yksisoluanalytiikat ovat kehittyneet nopeasti, analyysien kattavuus yksisolutasolla ei ole sama kuin vastaavilla omiikoilla yhdiste-

tyistä näytteistä. Oman haasteensa näihin analyyseihin tuovat data-analyyseiden vakiintumattomuus sekä datan suhteessa suurempi kohina ja herkkyys häiriöille, kuten eräkohtaisille eroille. Uusia teknologioita ja menetelmällisiä kehityks-

askeleita tarvitaan etenkin yksisoluanalyyseiden kattavuuden parantamiseksi. Tulevaisuudessa näitä varmasti nähdään ja yksisoluanalyytit vaikiinnuttavat osansa elämäntieteiden tutkimuksessa. ■

**SALLA KESKITALO, FT**

**PETRI AUVINEN, FT, dosentti, tutkimusjohtaja**

**MARKKU VARJOSALO, FT, dosentti, tutkimusjohtaja**

Helsingin yliopisto, HiLIFE, Biotekniikan instituutti

**SIDONNAISUUDET**

**Salla Keskitalo:** Ei sidonnaisuuksia

**Petri Auvinen:** Ei sidonnaisuuksia

**Markku Varjosalo:** Ei sidonnaisuuksia

**VASTUUTOIMITTAJA**

Seppo Meri

## KIRJALLISUUTTA

1. Eberwine J, Sul JY, Bartfai T, ym. The promise of single-cell sequencing. *Nat Methods* 2014;11:25–7.
2. Pennisi, E. Chronocling embryos, cell by cell, gene by gene. *Science* 2018;360:367.
3. Stegle O, Teichmann SA, Marioni JC. Computational and analytical challenges in single-cell transcriptomics. *Nat Rev Genet* 2015;16:133–45.
4. Tang F, Barbacioru C, Wang Y, ym. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nat Methods* 2009;6:377–82.
5. Imdahl F, Saliba AE. Advances and challenges in single-cell RNA-seq of microbial communities. *Curr Opin Microbiol* 2020;57:102–10.
6. Lubeck E, Coskun AF, Zhiyentayev T, ym. Single-cell in situ RNA profiling by sequential hybridization. *Nat Methods* 2014;11:360–1.
7. Eng CL, Lawson M, Chu Q, ym. Transcriptome-scale super-resolved imaging in tissues by RNA seqFISH. *Nature* 2019;568:235–9.
8. Rao A, Barkley D, Franca GS, ym. Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics. *Nature* 2021;596:211–20.
9. Dar D, Dar N, Cai L, ym. Spatial transcriptomics of planktonic and sessile bacterial populations at single-cell resolution. *Science* 2021;373:eabi4882.
10. Marx V. A dream of single-cell proteomics. *Nat Methods* 2019;16:809–12.
11. Fisher D, Malkova O, Engel E, ym. Mass cytometry analysis reveals hyperactive NF kappa B signaling in myelofibrosis and secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2017;31:1962–74.
12. Spitzer MH, Nolan GP. Mass cytometry: single cells, many features. *Cell* 2016;165:780–91.
13. Levy E, Slavov N. Single cell protein analysis for systems biology. *Essays Biochem* 2018;62:595–605.
14. Marcon E, Jain H, Bhattacharya A, ym. Assessment of a method to characterize antibody selectivity and specificity for use in immunoprecipitation. *Nat Methods* 2015;12:725–31.
15. Yates JR. Recent technical advances in proteomics. *F1000Res* 2019;8:F1000.
16. Budnik B, Levy E, Harmange G, ym. SCoPE-MS: mass spectrometry of single mammalian cells quantifies proteome heterogeneity during cell differentiation. *Genome Biol* 2018;19:161.
17. Davis-Marcisak EF, Deshpande A, Stein-O'Brien G, ym. From bench to bedside: single-cell analysis for cancer immunotherapy. *Cancer Cell* 2021;39:1062–80.
18. Giesen C, Wang H, Schapiro D, ym. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods* 2014;11:417–22.
19. Schulz D, Zanotelli V, Fischer J, ym. Simultaneous multiplexed imaging of mRNA and proteins with subcellular resolution in breast cancer tissue samples by mass cytometry. *Cell Syst* 2018;6:25–36.
20. Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016;17:451–9.
21. Duncan KD, Fyrestam J, Lanekoff I. Advances in mass spectrometry based single-cell metabolomics. *Analyst* 2019;144:782–93.
22. Alexandrov T. Spatial metabolomics and imaging mass spectrometry in the age of artificial intelligence. *Annu Rev Biomed Data Sci* 2020;3:61–87.
23. Lee JW, Su Y, Baloni P, ym. Integrated analysis of plasma and single immune cells uncovers metabolic changes in individuals with COVID-19. *Nat Biotechnol* 2022;40:110–20.