

Reporte del Primer Grupo de Trabajo del Atlas Celular de Plantas

Mayo 15, Mayo 22, y Junio 2, 2020

Carnegie Institution for Science
Departamento de Biología de Plantas
Stanford, California, Estados Unidos de América

Selena Rice^{1*}, Emily Fryer¹, Suryatapa Ghosh Jha¹, Andrey Malkovskiy¹, Heather Meyer¹, Jason Thomas¹, Renee Weizbauer¹, Kangmei Zhao¹, Kenneth Birnbaum², David Ehrhardt¹, Zhiyong Wang¹, Seung Y. Rhee^{1*}, The Plant Cell Atlas Consortium[#]

¹Carnegie Institution for Science, Department of Plant Biology, Stanford CA ²New York University, Department of Biology, New York, NY

*Correspondencia: srice@carnegiescience.edu, srhee@carnegiescience.edu

[#]Nombres e instituciones en Apéndice 4

Traducido por: Moisés Expósito Alonso, Jerry Gonzalez, Maite Saura Sánchez, y Sebastián Toro Arana (en orden alfabético).

Keywords: atlas celular de plants, secuenciación single-cell, nanotecnología, microscopía en vivo, data science, proteómica

Tabla de contenidos

Reporte del Primer Grupo de Trabajo del Atlas Celular de Plantas	1
Tabla de contenidos	2
Resumen	2
Introduction	4
Sesión 1: Visión del Plant Cell Atlas	5
<i>15 de mayo de 2020</i>	5
<i>Objetivos de la sesión</i>	5
<i>Resumen de las charlas</i>	5
Sesión de trabajo 1	9
Sesión 2: Herramientas y Tecnologías para el Desarrollo del Plant Cell Atlas	11
<i>22 de Mayo 2020</i>	11
<i>Objetivos de la Sesión</i>	11
<i>Resúmenes de las pláticas cortas</i>	11
<i>Sesión de Trabajo 2</i>	13
Sesión 3: Impacto, Infraestructura y Construcción de Comunidad	17
<i>2 de Junio de 2020</i>	17
Objetivos de la Sesión	17
<i>Resúmenes de las charlas cortas</i>	18
<i>Sesión de Trabajo 3:</i>	19
Evaluación del grupo de trabajo	21
Conclusiones y perspectivas	23
Agradecimientos	24

Resumen

La amenaza del cambio climático necesita avances tecnológicos en biología de plantas. Avances como la mejora de prácticas en agricultura, bioenergía, y salud humana. No obstante, todavía queda mucho por conocer sobre la maquinaria molecular funcionando dentro de las células de plantas, sus localizaciones intracelulares, y la distribución de estas en diferentes tipos de células así como sus cambios movimientos y cambios en tiempo real. Afortunadamente, rápidos avances en métodos moleculares, fotografía, proteómica, y metabolómica, ofrecen una nueva oportunidad para desarrollar un mapa molecular y celular de plantas a gran resolución temporal y espacial.

La iniciativa del Atlas Celular de Plantas (Plant Cellular Atlas, PCA) busca generar bases de datos y recursos que catalicen descubrimientos sobre la estructura y organización celular en plantas. El PCA será un recurso para la comunidad (www.plantcellatlas.org/) para describir el estado los diferentes tipos celulares en plantas e integrará información espaciotemporal de alta resolución, al nivel de ácidos nucleicos, proteínas, y metabolitos dentro de las cada una de estas células.

El primer grupo de trabajo del PCA reunió científicos apasionados para discutir los últimos avances en el campo de la biología celular y molecular de plantas, las últimas tecnologías, y el futuro del PCA. El simposio del grupo de trabajo incluyó varias charlas invitadas para compartir datos iniciales, junto con ideas y perspectivas para el PCA. El simposio involucró varias sesiones de trabajo virtuales sobre temas y metas relacionadas con el PCA, retos técnicos, y necesidades de la comunidad científica. Estas actividades conectaron científicos de diferentes especialidades e iniciaron discusiones importantes de qué tecnologías existen y qué tecnologías se necesitarán para generar un atlas celular de plantas. Uno de los mayores avances del grupo de trabajo fue la decisión unánime de redefinir los tipos celulares y tejidos de plantas de una forma cuantitativa.

Un objetivo a largo plazo del PCA es, por lo tanto, delinear todas y cada una de las moléculas en una célula a alta resolución espacio-temporal, obteniendo información sobre redes de interacción moleculares y sus contribuciones a la formación del organismo. Esto requiere mapear de una forma exhaustiva transcritos de RNA, proteínas, metabolitos y sus interacciones, dentro y entre células, entender los estados y transiciones celulares, e integrar todos estos datos en modelos comprobables. Por su esencia colaborativa, el PCA ayudará a crear lazos entre grupos diversos de científicos de diferentes campos de biología de plantas, atraerá conexiones con gestores y fundaciones, que permitirán nuevas tecnologías de agricultura sostenible.

Introduction

El primer simposio del grupo de trabajo del PCA se llevó a cabo en tres sesiones virtuales, las cuales sucedieron el 15 de Mayo, 22 de Mayo, y 2 de Junio del 2020 (la agenda del grupo de trabajo se puede encontrar en el Apéndice 1). El objetivo de estas sesiones fue la generación de una comunidad de científicos y una visión común sobre la creación del PCA. Para esto el simposio atrajo a: 1) científicos trabajando en preguntas clave en los campos de biología celular, evolución, biología del desarrollo, fisiología, y biología de sistemas; 2) científicos desarrollando nuevas tecnologías en proteómica, técnicas de células individuales (single-cell), microscopia, nanotecnología, y ciencias de datos; y 3) científicos trabajando en campos aplicados como la agricultura o la bioingeniería, donde las tecnologías y conocimientos generados por el PCA serán usados. En estas tres sesiones, 428 participantes contribuyeron con sus experiencias y perspectivas únicas (lista completa de participantes en el Apéndice 2). Los participantes pertenecían a comunidades diversas, el 70% representando jóvenes investigadores (estudiantes de doctorado, postdocs, o profesores asistentes) y de 29 países del mundo (Fig. 1).

El primer simposio del grupo de trabajo fue creado como una plataforma para generar nuevas colaboraciones y expandir los horizontes del PCA a través de las experiencias y visión de los participantes. El simposio también permitió interacciones con otros programas con objetivos similares como el Atlas Celular Humano (HCA). Nuestro comité directivo, formado por personas de diferentes instituciones internacionales, ayudó a que proyectar objetivos que fueran de beneficio y global. Los objetivos primarios del grupo de trabajo fueron:

1. Crear y compartir una visión común del PCA y crear una nueva comunidad colaborativa.
2. Solicitar input de la comunidad en cuestiones críticas como qué tipo de datos o técnicas son más necesarios para el PCA, y qué niveles de calidad y validación de datos son requeridos para una utilización óptima de las bases de datos creadas, y qué beneficios e impactos conlleva este atlas para la ciencia y la sociedad
3. Discutir estándares de generación y compartición de dato, y los esfuerzos necesarios para construir el PCA como un recurso científico online.
4. Prever y discutir retos y cuellos de botella que se encontrarán en la producción del PCA.
5. Desarrollar ideas y aprender sobre nuevas tecnologías y métodos experimentales que contribuirán a la caracterización de componentes celulares a alta resolución y con alto rendimiento.

Sesión 1: Visión del Plant Cell Atlas

15 de mayo de 2020

Objetivos de la sesión

La primera sesión de charlas estuvo dirigida a incentivar a los participantes a pensar en qué problemas biológicos se centrará y contribuirá la iniciativa PCA y cómo deberíamos definir el PCA como comunidad. Los ponentes compartieron charlas de alto nivel ante una audiencia diversa sobre el desarrollo de plantas y destino celular, las interacciones planta-microbiota, biogénesis de orgánulos e ingeniería de plantas y orgánulos. Después de las charlas hubo una sesión de preguntas y respuestas guiada por un moderador, discusiones en grupos de trabajo y una sesión de reagrupación y resumen. Las charlas cortas y la sesión de preguntas y respuestas están disponibles en el sitio web del PCA (www.plantcellatlas.org).

Resumen de las charlas

1. Desarrollo de plantas y determinación del destino celular

Ponente: [Dominique Bergmann](#), PhD, Profesor de Biology, Stanford University

La Dra. Bergmann presentó el trabajo de su laboratorio y habló sobre cómo la iniciativa PCA contribuirá en el entendimiento de los procesos de desarrollo de las plantas. En su seminario, se puso el foco en cómo se determina y origina una célula vegetal, cómo se desarrolla y cómo responde a los cambios en su entorno. Los análisis epigenómicos, transcriptómicos y proteómicos de células individuales ofrecen una potente aproximación para resolver estas cuestiones. Un ejemplo es el establecimiento del linaje de las células estomáticas, que puede servir como modelo de estudio de los procesos de desarrollo y la determinación del destino celular. La información de marcadores genéticos ha sido clave para entender los estados de transición durante el desarrollo de estomas. Sin embargo, aún desconocemos cuales son estos marcadores genéticos para otros tipos celulares, lo que limita nuestra capacidad para estudiarlos. Y, aunque un atlas a nivel celular de las hojas de *Arabidopsis* puede proporcionarnos más información acerca de nuevos tipos celulares de este órgano, la creación de estos atlas está a su vez limitada por el uso de marcadores conocidos para la correcta anotación celular.

La charla continuó con nuevas tecnologías que han hecho posible mapear los tipos celulares y sus trayectorias. Por ejemplo, el uso de *SMART-seq* ha permitido revelar diferencias en células precursoras que anteriormente se habían descrito como un único tipo celular. En concreto, este método permite obtener una mayor profundidad

de lectura en la secuenciación de ARN en células individuales (*scRNA-seq*), lo que se traduce en una mayor potencia para identificar grupos celulares distintos. A parte de las diferencias en los programas transcripcionales de las células, el estado epigenético de las mismas (variaciones en la metilación o de las modificaciones de histonas) cambia a lo largo de las trayectorias por las que se forman los tipos celulares y constituye uno de los mecanismos principales que dirigen la diferenciación celular. Por ello, descifrar el epigenoma a nivel celular durante el desarrollo de las células nos permitirá obtener un panorama más completo de los tipos celulares que existen y cómo se determina su destino celular.

Conclusión clave: El PCA dará la oportunidad de capturar la diversidad de los tipos celulares en una gran variedad de especies vegetales. Debido a la flexibilidad en su desarrollo y su capacidad de regeneración, el estudio de las células vegetales constituye una herramienta de gran valor para la biología del desarrollo.

2. Plant-microbe interactions

Ponente: [Uta Paszkowski](#), PhD, Profesor de Ciencia de las Plantas, University of Cambridge

En la naturaleza, muchas plantas viven asociadas íntimamente con los hongos. En la charla, la ponente se centró en la simbiosis de la micorriza arbuscular: la amplia asociación entre los hongos y la corteza interna de las raíces de plantas terrestres. Esta simbiosis es muy dinámica y solamente se da en una pequeña proporción de las células de la raíz, a las cuales es difícil acceder experimentalmente para su estudio debido a su localización en la corteza interna. Además, el ciclo de vida de los arbusculos es de solo cinco días, lo que también dificulta su captura con técnicas de microscopía. Estos desafíos técnicos se han superado gracias al uso de reporteros junto con sistemas de imagen sobre células vivas, lo que ha permitido a los investigadores visualizar dinámicamente el desarrollo del arbusculo. El trabajo de la Dra. Paszkowski en la visualización de las proteínas PT11 y ARK1, ambas localizadas en la membrana peri-arbuscular, ha servido para establecer las dinámicas proteicas que se dan durante los diferentes estadios de las membranas. Este estudio ha proporcionado una visión precisa de la regulación temporal y subcelular de estas proteínas.

El uso de estos reporteros en el Plasticity Project 2.0, un proyecto colaborativo financiado por el NSF-PGRP, permitirá el análisis de la actividad génica a múltiples niveles. En este proyecto se hará uso de nuevas tecnologías, como el aislamiento de núcleos (INTACT) y la immuno-purificación de ribosomas (TRAP), para la extracción de cromatina, ARN nuclear y el ARN mensajero asociado a ribosomas. La aplicación de estas herramientas en arroz y otras especies vegetales permitirá evaluar las interacciones planta-hongo en la micorriza.

Conclusión clave: Capturar la actividad transcripcional y traduccional de manera precisa puede ayudarnos a entender detalladamente procesos transitorios y altamente especializados en plantas.

3. Biogénesis de orgánulos

Ponente: [Liwen Jiang](#), PhD, Profesor de Ciencias de la Vida, The Chinese University of Hong Kong

Las células vegetales contienen muchos orgánulos, de los cuales las vacuolas son los de mayor tamaño. El Dr. Jiang habló acerca de su trabajo, que tiene como objetivo entender el desarrollo de las vacuolas en células de *Arabidopsis*. En las células de plantas, las vacuolas se clasifican en dos poblaciones: vacuolas de almacenamiento (PSVs, del inglés *protein storage vacuole*) y vacuolas líticas (LVs, del inglés *lytic vacuole*). La marcación de tonoplastos con la proteína GFP reveló que existen vacuolas de distintos tamaños dentro de una única célula. Para investigar la biogénesis de las vacuolas se hizo uso de modelos obtenidos a partir de tomografía electrónica tridimensional (3D) de células enteras, lo que permitió rastrear el proceso de formación de vacuolas. Este método reveló que las vacuolas pequeñas contienen vesículas intraluminales, procedentes principalmente de cuerpos multivesiculares. Dr. Jiang también expuso su estudio sobre las vacuolas de células madre estomáticas, donde identificó dos poblaciones distintas: las que contienen las anteriormente descritas vesículas intraluminales y las que no. Muchas preguntas aún quedan por contestar: ¿Cuáles son las funciones de las vacuolas? ¿Qué reguladores determinan el tamaño vacuolar y celular? ¿Cuáles son las diferencias entre la fisión de vacuolas y la fusión de vacuolas?

Conclusión clave: La tomografía electrónica 3D sobre células enteras constituye una potente herramienta para visualizar las dinámicas de los orgánulos celulares de manera tridimensional en plantas.

4. Ingeniería de plantas y orgánulos

Speaker: [Martin Jonikas](#), PhD, Assistant Professor of Molecular Biology, Princeton University

La charla del potente se centró en su trabajo sobre la localización proteica y las interacciones proteína-proteína usando el pirenoide de algas eucarióticas como modelo de estudio. El objetivo de su trabajo es diseñar pirenoides en plantas terrestres para mejorar la eficiencia fotosintética de estas plantas. Mediante un mecanismo de concentración de carbono que se da en las algas, túbulos de membrana transportan CO₂ hacia la enzima Rubisco. Durante mucho tiempo, se ha pensado que el pirenoide estaba formado únicamente por la enzima Rubisco y por la

enzima auxiliar Rubisco activasa. Sin embargo, el equipo del Dr Jonikas ha identificado, con una alta fiabilidad, unas 90 proteínas que forman parte del pirenoide gracias al uso de técnicas de espectrometría de masas, inmunoprecipitación y el marcaje de proteínas candidatas con etiquetas fluorescentes. El proyecto ha resultado tan exitoso que el grupo de investigación está expandiendo esta metodología para estudiar miles de proteínas asociadas al cloroplasto. Ahora ha quedado claro que el pirenoide es una organela similar a un líquido que se encuentra en una fase separada y que contiene a la Rubisco gracias a proteínas que median esta unión. Aunque la estructura parece permanecer constante ante distintos niveles de CO₂, la matriz puede disolverse o condensarse. A diferencia de los pirenoides de los antoceros, las únicas plantas terrestres que presentan estas estructuras, los pirenoides de las algas están compuestos tanto por matrices como por túbulos. El objetivo final del Dr. Jonikas es diseñar un pirenoide que pueda introducirse en plantas terrestres para mejorar el rendimiento de los cultivos.

Conclusión clave: La identificación del interactoma proteico del pirenoide ha abierto las puertas a su caracterización molecular, poniendo de manifiesto el potencial de la caracterización sistemática de localizaciones proteicas y las interacciones proteína-proteína para el estudio de las organelas de plantas.

Preguntas sin respuesta

- ¿Cómo podemos definir los distintos tipos y estados celulares?
- ¿Cómo responden las células a su entorno?
- ¿Qué cambios sufren las células durante su desarrollo?
- ¿Cómo podemos ir más allá del transcriptoma y pasar a estudiar al nivel de célula, proteína o cromatina?
- ¿Cómo se pueden resolver los elementos celulares a una resolución subcelular?
- ¿Cómo podemos dilucidar las dinámicas espacio-temporales de los procesos?
- ¿Cómo se pueden integrar diferentes tipos de análisis?
- ¿Cuáles son las similitudes y diferencias entre especies y cómo se pueden comparar las células de diferentes plantas?
- ¿Cómo se pueden identificar genes que cumplen funciones especializadas?
- ¿Cuáles son las funciones y mecanismos generales de la comunicación célula-célula?
- ¿Cómo las células integran múltiples redes para modular su función?

Sesión de trabajo 1

Los asistentes se repartieron en grupos de 25 personas, con un responsable por grupo. Las discusiones versaron sobre las siguientes cuestiones:

1. ¿Cuáles son las principales preguntas sin resolver sobre la organización y función, el desarrollo, la fisiología y el metabolismo de las células vegetales?

Resumen de la respuesta: Se identificaron importantes brechas en el conocimiento sobre la organización y función de las células, el desarrollo, la fisiología y el metabolismo de las plantas. Entre los temas que destacaron, se encuentran: la clasificación de los tipos celulares; el desarrollo celular; los componentes subcelulares; la comunicación intracelular, célula-célula o célula-entorno; las variaciones entre especies; genética y/o proteómica; metabolismo; y análisis e integración de datos.

2. ¿Cómo podría contribuir a responder estas cuestiones la existencia de un atlas a nivel celular que relacione la localización molecular de las proteínas, sus dinámicas, sus interacciones y su función?

Resumen de la respuesta: Para abordar estas cuestiones fundamentales, el PCA albergará una comunidad con un objetivo común: crear un mapa de los componentes celulares de las plantas con la mayor resolución temporal y espacial posible. El PCA será una plataforma de referencia, informativa y fácil de usar para integrar datos ómicos a diferentes niveles desde el gen hasta de toda la planta. Esta plataforma servirá como herramienta para generar nuevas hipótesis así como para facilitar la colaboración entre grupos. Además, el PCA reforzará a aquellos grupos de investigación que tienen recursos limitados de financiación o de acceso a tecnologías avanzadas, proporcionándoles acceso a importantes datos para generar hipótesis de trabajo. De esta manera, esta plataforma contribuirá a ampliar la comunidad científica y asegurar que el uso de los datos tenga un gran alcance. Una vez el PCA esté establecido, la información en esta plataforma se podrá comparar y, potencialmente, integrar con otros atlas para abordar un rango mayor de cuestiones biológicas.

3. ¿Qué tipo de datos debería incluirse en el PCA?

Resumen de la respuesta: Muchos tipos celulares, tanto conocidos como desconocidos, aún no han sido caracterizados a nivel molecular. El PCA facilitará la investigación ayudando a definir las funciones básicas de los tipos celulares, así como los procesos celulares dinámicos como el envejecimiento y madurez, los procesos circadianos y las respuestas a los cambios en el entorno. Aunque el transcriptoma de células individuales no es suficiente para definir el estado de una célula, esta

aproximación tiene un potencial inmediato para generar un recurso preliminar para el estudio de las células vegetales. Además del transcriptoma unicelular, otros modos de regulación génica también determinan la identidad celular. Por ello, es necesario evaluar otras actividades de regulación génica en las células vegetales, con el fin de tener una visión completa del estado y la identidad celular. Algunas tecnologías emergentes pueden ser útiles para esto, por ejemplo: microscopía de reconstrucción óptica estocástica (STORM), microscopía de fuerza fotoinducida (PiFM) o captura de imágenes de células vivas en tiempo real. Los primeros estadíos de creación del PCA podrían enfocarse en sistemas modelos que son genéticamente manipulables, como Arabidopsis, maíz, arroz o trigo. Aprovechando las colecciones de mutantes, los estudios podrían vincular la función génica con los datos obtenidos de células individuales. Para especies para las no existen protocolos experimentales tan avanzados, el PCA debería priorizar el uso de las especies que representen mejor la diversidad de plantas que se usan para agricultura.

4. En términos de especies, tipos celulares y tipos de datos, ¿en qué se debería priorizar?

Resumen de la respuesta: A medida de que el PCA se vaya desarrollando, será necesario estandarizar la calidad y el análisis de los datos. Se debe favorecer el uso de parámetros y terminología comunes. Muchos factores, tanto biológicos como experimentales, pueden afectar negativamente a la interpretación de los datos. Por ejemplo, en los protocolos actuales de scRNA-seq en plantas los tejidos deben ser disgregados en protoplastos, sin embargo, se sabe que durante este proceso se inducen cambios transcripcionales en las células. Por lo tanto, debemos considerar si estas respuestas transcripcionales son uniforme en todas la células y en todos los tipos de tejidos. Además, no todos los tejidos vegetales o tipos celulares se pueden tratar con los métodos para obtener protoplastos y por tanto requieren de nuevos métodos para poder ser analizados. Como alternativa al uso de protoplastos se puede usar el núcleo de las células para obtener el transcriptoma celular, pero esta técnica también tiene sus limitaciones y sus ventajas. Finalmente, la integración y el modelado de datos aún representa un reto para tener éxito en la creación del PCA. Serán de gran importancia las herramientas y portales que permitan esta integración y modelado y que recompensen a los investigadores por su contribución a la comunidad.

Resumen

En resumen, la riqueza de datos del PCA permitirá entender en más detalle las células vegetales, generar nuevas preguntas y facilitará la generación de modelos de manera más eficaz y precisa. Por último, este recurso proporcionará información para la mejora de cultivos, métodos para modular finamente la productividad de las plantas en ambientes diversos, y dianas para modificar genéticamente las plantas de manera óptima.

Sesión 2: Herramientas y Tecnologías para el Desarrollo del Plant Cell Atlas

22 de Mayo 2020

Objetivos de la Sesión

La segunda sesión de este taller se enfocó en los avances tecnológicos recientes en biología molecular, proteómica, análisis de imágenes, estudio de células individuales, ciencia de datos y nanotecnología, todos relevantes para el PCA. La discusión se centró en las herramientas potentes desarrolladas en los últimos años, el uso amplio y diverso de estas herramientas, y la identificación de nuevas herramientas que pueden ayudar a alcanzar la visión del PCA. Las charlas cortas tenían el propósito de inspirar a los participantes a reflexionar acerca de las tecnologías emergentes y revolucionarias que están disponibles o que son requeridas para esta iniciativa del PCA. Estas charlas continuaron con una sesión de preguntas y respuestas guiada por un moderador, discusiones en grupos de trabajo y una sesión de reagrupación y resumen. Las charlas y la sesión de preguntas y respuestas están disponibles en el sitio web del PCA (www.plantcellatlas.org).

Resúmenes de las pláticas cortas

1. Técnicas y herramientas emergentes de análisis de imágenes en vivo

Ponente: [Alexander Jones](#), PhD, Research Group Leader, University of Cambridge

La primera charla de esta sesión se enfocó en tecnologías de alta resolución para la detección y perturbación de hormonas vegetales *in vivo*. Dr. Jones generó un biosensor FRET para giberelina (GA), denominado sensor de percepción de giberelina (GPS, por sus siglas en inglés). Esta herramienta hace posible la medición de GA al nivel de células individuales, y ha permitido descifrar una intrigante correlación entre la GA y el crecimiento celular. Además, combinar el sensor GPS con herramientas de optogenética para manipular de manera dirigida la expresión genética, provee una oportunidad poderosa para abordar muchas preguntas acerca de la biosíntesis y recambio de GA, así como los patrones y dinámicas a nivel de transcripción, traducción y regulación. Futuros avances podrían adaptar esta tecnología al estudio de otros tejidos o especies.

Conclusión clave: El desarrollo continuo de proteínas fluorescentes, sensores codificados genéticamente, y técnicas de análisis de imágenes celulares en vivo puede ayudar a dilucidar la señalización y redes metabólicas en las células vegetales.

2. Técnicas y herramientas emergentes de proteómica

Ponente: **Tess Branon**, PhD, Postdoctoral Fellow, University of California, Berkeley

Los biólogos celulares hoy en día tienen una comprensión limitada de las complejas interacciones que ocurren entre proteínas. Aunque las interacciones transitorias suelen ser las más importantes, su identificación es complicada. La ligadura por proximidad catalizada por enzima (*enzyme-catalyzed proximity ligation*) es un enfoque prometedor para la exploración de las características espaciales y de interacción de las proteínas en células vivas. Sin embargo, muchos de los métodos actuales tienen limitaciones, tales como largos tiempos de etiquetado o la utilización de compuestos tóxicos. Un nuevo enfoque que consiste en utilizar TurboID o miniTurboID –mutantes de la biotina ligasa – permite el etiquetado *in vivo* rápido, no tóxico y robusto, en plantas. Con estas herramientas, es posible capturar las interacciones transitorias y desarrollar el mapeo del interactoma. El etiquetado por proximidad no depende de la fuerza de la interacción proteína-proteína, y también puede detectar interacciones que no son directas, lo que lo hace complementario a la espectrometría de masas combinada con la purificación por afinidad. TurboID requiere de una lisina desprotonada para que la reacción funcione, haciéndolo menos eficiente en un pH bajo.

Conclusión clave: Los avances recientes en el etiquetado por proximidad permiten definir interacciones específicas de las proteínas, así como proteomas restringidos espacial o temporalmente.

3. Técnicas y herramientas emergentes de transformación genética en plantas

Ponente: [Markita Landry](#), PhD, Assistant Professor of Chemical and Biomolecular Engineering, University of California, Berkeley

Ante la crisis del cambio climático y una población mundial en ascenso, existe una creciente necesidad de mejoramiento rápido y preciso de cultivos, a través de enfoques innovadores. Las tecnologías de transformación genética actuales, como las que utilizan *Agrobacterium* o las que distribuyen partículas biolísticas, presentan algunas deficiencias, incluyendo la incapacidad de controlar la ubicación y la frecuencia de la integración de los transgenes. Además, la modificación genética de cultivos está bajo estricta regulación y requiere de altos costos de investigación y desarrollo. Por ello, necesitamos un método de transformación genética en plantas con distribución de nanomateriales que evite estos obstáculos. Los nanomateriales inorgánicos se plantean como un medio de distribución de transgenes y otros

elementos en plantas. Una propuesta es el uso de nanotubos de carbono, los cuales pueden transformar plantas de manera muy eficiente, produciendo altos niveles de expresión proteica sin integración de transgenes. Los nanotubos protegen el ADN de ser degradado por la célula y previenen su inserción en el genoma de la planta. Los nanotubos de carbono están diseñados para los estudios con enfoque de laboratorio en lugar de campo, y no se degradan a lo largo del curso del estudio.

Conclusión clave: La tecnología innovadora de los nanotubos de carbono ofrece un gran potencial para distribución rápida y eficiente de genes en distintas especies de plantas.

4. Técnicas y herramientas emergentes de recombinación homóloga

Ponente: [Becky Bart](#), PhD, Associate Member, Donald Danforth Plant Science Center

Esta charla se enfocó en métodos avanzados que se utilizan para etiquetar genes en el contexto nativo del genoma en sistemas no modelo. La transformación genética requiere de mucho tiempo y de un flujo de trabajo robusto; y la reparación dirigida por molde es poco frecuente. Dr. Bart desarrolló una herramienta para identificar la infección bacteriana en mandioca, a través del etiquetado de MeSEET10a (un transportador de azúcares que se expresa normalmente en flores, pero también se expresa en patógenos durante una infección) con GFP en su contexto nativo, en mandioca. Otra herramienta innovadora, la Estrategia SureFire, permite la detección e identificación de células con eventos de reparación poco frecuentes, a través del uso de un inductor de patógenos. SureFire presenta la ventaja de que puede identificar eventos exitosos en una fase temprana del proceso, mediante un marcador visual. Estudios futuros utilizarán activadores transcripcionales programables como configuraciones personalizadas.

Conclusión clave: Las herramientas innovadoras permiten enfoques basados en reparación dirigida por homología más factibles para la investigación en plantas.

Sesión de Trabajo 2

Los asistentes fueron divididos en 17 grupos de trabajo, cada uno guiado por un líder de discusión. Los grupos de trabajo tuvieron la tarea de abordar las siguientes preguntas:

1. ¿Cuáles son las tecnologías y herramientas existentes clave que se necesitan para establecer un PCA exhaustivo?

Resumen de Respuesta: Los métodos existentes, como la transcriptómica de células individuales, análisis de imágenes y etiquetado por proximidad, en conjunto con las correspondientes herramientas de procesamiento de datos, han sido extremadamente útiles en el perfilado del comportamiento de las plantas. Muchas tecnologías han sido capaces de examinar un corto rango de moléculas (ARN, cromatina, por ejemplo) en grupos de células, mientras que los nuevos métodos para células individuales son transformadores y prometedores. Actualmente, las tecnologías para células individuales presentan bajos rendimientos y están limitadas a transcriptómica y epigenética. Por lo tanto, estudios futuros deben expandir los análisis de células individuales a plataformas de mayor rendimiento y expandir estos enfoques a un conjunto más diverso de moléculas (regulación post-transcripcional, modificación post-traducciona, dinámicas célula-a-célula, y múltiples moléculas en células individuales en tiempo real).

2. ¿Qué tecnologías deberían desarrollarse en el futuro?

Resumen de Respuesta: Existe una necesidad crucial de desarrollar nuevas tecnologías que sean de bajo costo, accesibles y reproducibles entre laboratorios. Las tecnologías en el horizonte son prometedoras, pero muchas veces, aumentar el rendimiento un desafío. Además, los métodos de alto rendimiento necesitarán ser combinados de tal manera que la resolución no se vea comprometida. Existe una necesidad en aumento por técnicas de las ciencias ómicas con alta resolución espacial y temporal. Actualmente las técnicas de las ciencias ómicas miden diferentes tipos de moléculas (ADN, ARN, proteínas, metabolitos y lípidos, por ejemplo) extraídas de manera separada bajo condiciones desnaturalizantes, y los datos son combinados *post hoc* para entender la biología. Idealmente, las innovaciones en las ciencias ómicas que capturen las interacciones en estado nativo entre todos los tipos de moléculas definirán con mejor resolución los mecanismos biológicos y las rutas metabólicas.

3. ¿Cuáles son los desafíos o «cuellos de botella» técnicos más grandes y cómo los podremos superar?

Resumen de Respuesta: Los desafíos primarios incluyen la aplicación de enfoques ya existentes a tejidos o plantas que son recalcitrantes a métodos estándar (por ejemplo, tejidos opacos, protoplastos difíciles de aislar, organismos poliploides). Desafíos técnicos, tal como la autofluorescencia en análisis de imágenes, pueden obstaculizar el progreso. Además, nuestro limitado conocimiento actual podría obstaculizar las aplicaciones en especies distintas a *Arabidopsis*. Herramientas tal como el etiquetado endógeno de genes y los sistemas ortogonales e inducibles generarán más información para estas especies. Las tecnologías dirigidas por marcadores, tales como TurboID e IntAct, pueden otorgar una mayor profundidad a la información multi-ómica para tipos específicos de células y proteínas en diferentes contextos ambientales. El futuro desarrollo de estas herramientas dirigidas por marcadores que permiten el aislamiento

de organelos en tipos celulares específicos, podría conducir a la obtención de información metabolómica subcelular y específica de determinado tipo celular. Estas herramientas requieren desarrollo simultáneo de métodos de análisis de imágenes mejorados para células vivas y para tejidos más gruesos que plántulas de *Arabidopsis*; por otra parte, también existe la necesidad de métodos de análisis de imágenes que puedan evaluar un mayor número de proteínas fluorescentes mientras evitan el silenciamiento de genes. Adicionalmente, se requiere desarrollo en el cultivo de células vegetales. Al cultivar tipos celulares específicos, se podrán cumplir algunos de los objetivos de análisis de imágenes subcelulares en el PCA.

Resumen

Finalmente, aunque es relativamente fácil obtener inmensas cantidades de datos, todavía es difícil integrar, analizar, interpretar, validar y traducir esta información en conocimiento valioso. El PCA requerirá recursos computacionales avanzados para el análisis y la integración masivos de datos, ya que muchos tipos de datos distintos deberán ser integrados. Por ello, se necesitan avances en la compilación y el análisis predictivo de datos. El PCA podría desarrollar recomendaciones para estandarizar métodos para el crecimiento de plantas, aislamiento de células, ejecución de experimentos, reportaje de condiciones, desarrollo de flujos de trabajo computacionales y abordaje de tipos específicos de sets de datos. Flujos de trabajo validados para el análisis de datos de tecnologías ómicas que mantienen ortología entre especies, en conjunto con métodos eficientes de transformación y protocolos experimentales estandarizados, pueden ayudar a incrementar tanto el rendimiento de estos enfoques como el valor de la integración de datos entre laboratorios y entre especies.

El incremento en el financiamiento, las investigaciones colaborativas y la formación y capacitación interdisciplinaria con especial enfoque en habilidades computacionales son elementos clave para el abordaje de estas problemáticas.

Tecnologías Existentes y Barreras Restantes		
Tecnología Existente Clave	Brecha Tecnológica	Herramientas Potenciales
<i>Tecnologías para Células Individuales</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptómica y epigenómica de células individuales • Accesibilidad de cromatina de células individuales • Microdissección de captura láser 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo expandirse a otras tecnologías ómicas? • ¿Cómo mejorar el rendimiento? • ¿Cómo mejorar la resolución temporal y espacial? • ¿Cómo lograr la reproducibilidad en el aislamiento de células? • ¿Cómo expandirse a plantas no modelo? 	<ul style="list-style-type: none"> • Enfoques sin protoplastos • Proteómica, metabolómica, glicómica de células individuales • Perfilado multi-ómico de células individuales • Estandarización de condiciones de crecimiento y protocolos de aislamiento de células.
<i>Tecnologías Dirigidas por Marcadores</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Etiquetado por proximidad y espectrometría de masas • TurboID • IntAct 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo expandir las tecnologías de marcadores para apuntar a más organelos en tipos celulares específicos? • ¿Cómo mejorar la sensibilidad de la espectrometría de masas? 	<ul style="list-style-type: none"> • Espectrometría de masas nativa • Etiquetado de múltiples proteínas para desarrollar un mapa de interacciones y localizaciones subcelulares • Desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI)
<i>Enfoques Transgénicos</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Líneas <i>knockout</i> específicas para tejidos/células 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Es este un paso limitante de velocidad? • ¿Cómo evitar la designación de organismo genéticamente modificado (GMO)? 	<ul style="list-style-type: none"> • Tecnologías CRISPR basadas en ARN • Edición de genoma “<i>hit and run</i>” • Edición de calidad • Edición de epigenoma • Optogenética con resolución de células individuales • Nanotecnología
<i>Tecnologías de Análisis de Imágenes</i>		
<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de imágenes de alta resolución • Análisis de imágenes 3D/4D • Análisis de imágenes en vivo 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo analizar imágenes de cortes gruesos? • ¿Cómo superar la autofluorescencia? • ¿Cómo evaluar múltiples proteínas fluorescentes y evitar el silenciamiento de genes? • ¿Cómo reducir los costos? 	<ul style="list-style-type: none"> • Microscopía de súper resolución • Tomografía crioelectrónica • Análisis de imágenes infrarrojas/espectrales de alta resolución • Microscopía de hoja de luz • Nanotecnología • Biosensores para rastrear metabolitos con alta resolución espacio-temporal
<i>Hormonas/Sensores</i>		

<ul style="list-style-type: none"> • Cuantificación y visualización de alto rendimiento de hormonas y datos no transcriptómicos • Sensores basados en FRET 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo mejorar la sensibilidad de los biosensores? • ¿Cómo usar los biosensores en localizaciones más profundas que la epidermis? 	<ul style="list-style-type: none"> • Biosensores con rango dinámico para observar comunicación intercelular • Sensores que miden metabolitos secundarios • Sensores no ópticos • Sensores múltiplex
Análisis e interpretación de datos		
<ul style="list-style-type: none"> • Enfoques de <i>Machine Learning</i> • Herramientas bioinformáticas innovadoras • Modelaje 	<ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo integrar tipos disonantes de datos? • ¿Cómo incrementar la capacidad computacional y analítica? 	<ul style="list-style-type: none"> • Repositorio de datos centralizado • Tecnologías de procesamiento de datos • Reconstrucción <i>in silico</i> de sistemas biológicos • Ontologías y estándares de metadata y estándares de formatos para asegurar que los datos cumplen el enfoque FAIR.

Sesión 3: Impacto, Infraestructura y Construcción de Comunidad

2 de Junio de 2020

Objetivos de la Sesión

La tercera sesión de este taller se enfoca en discutir cómo el PCA puede tener impacto en la ciencia y en la sociedad. Además de expandir nuestro conocimiento de investigación en plantas, el PCA busca promover esos descubrimientos a campos científicos más aplicados. El objetivo de esta sesión era presentar ideas y perspectivas de cómo dirigir esta iniciativa hacia la construcción de recursos para la comunidad, como bases de datos y plataformas biológicas avanzadas para acelerar la investigación científica en plantas y también integrar este conocimiento en el desarrollo de herramientas educativas. Las charlas cortas fueron dirigidas para inspirar a los participantes a discutir, en grupos más pequeños, cómo podemos crear la comunidad del PCA y cómo esta comunidad puede impactar varios campos científicos y sectores de la sociedad. Las charlas cortas fueron seguidas por una sesión de preguntas, discusiones en grupos pequeños y en reagrupar/resumir. Las charlas y la sesión de preguntas están disponibles en el website del PCA (www.plantcellatlas.org).

Resúmenes de las charlas cortas

1. Visualizando el PCA

Ponente: [Nicholas Provart](#), PhD, Professor of Cell and Systems Biology
University of Toronto

Esta charla se enfocó en posibles métodos para visualizar el PCA. El grupo de Dr. Provart opera la plataforma Recurso Bioanalítico para Biología de Plantas (<http://bar.utoronto.ca>), la cual facilita la exploración de grandes conjuntos de datos para generación de hipótesis en biología de plantas. Su trabajo reciente se ha enfocado en desarrollar una interfaz de usuario ampliable llamada [ePlant](#) que comienza con la variación de expresión genética en la escala kilométrica, y luego se mueve a la escala centimétrica para visualizar la expresión al nivel de tejido, la escala milimétrica para la expresión en células, la escala submilimétrica para la localización subcelular, y finalmente las escalas micrométricas y nanométricas para visualizar la localización de cromosomas, genes, interactores de proteínas y estructura proteica. Enlaces para explorar relaciones filogenéticas también están disponibles. Su trabajo en el futuro incorporará un módulo al nivel de ecosistema para visualizar y entender cómo los cambios ambientales se relacionan a los otros niveles.

Conclusión clave: Los marcos de referencia avanzados y las herramientas serán útiles para compartir, integrar, acceder y explorar data 'ómica de plantas.

2. Modelos de tejidos

Ponente: [George Bassel](#), PhD, Professor of Life Sciences, University of Warwick

La organización de sistemas biológicos se complica al moverse del nivel genómico al fenotípico. El equipo del Dr. Bassel ha ayudado a desarrollar un atlas de tejido digital en 3D de Arabidopsis a través de escalas junto con redes de conectividad celular. Estas redes se pueden analizar a través de la ciencia de datos para comprender las formas de las células, las conexiones entre las células y la conectividad de los tejidos. Estas redes se pueden analizar con ciencia de datos para entender las formas de células, las conexiones entre células y la conectividad de tejidos. Su trabajo actual se enfoca en integrar estas redes para entender cómo las diferentes capas de las redes se conectan por interacciones entre proteínas y ADN.

Conclusión clave: El trabajo en la interfaz entre la biología y la ciencia de datos puede clarificar las redes moleculares y celulares que controlan cómo responden las plantas a su ambiente.

3. Ingeniería de Cultivos

Ponente: [Amy Marshall-Colón](#), PhD, Assistant Professor of Plant Biology, University of Illinois

El objetivo del grupo de la Dra. Marshall-Colón es aplicar modelos integradores y multiescala para crear cultivos virtuales (“Crops *in silico*”). Marcos computacionales pueden facilitar simulaciones de plantas completas para entender la expresión genética, flujo metabólico, síntesis de proteínas, fisiología y crecimiento a nivel de dosel. El objetivo de la plataforma de “Crops *in silico*” es proveer un recurso que es accesible a la comunidad entera de biología de plantas. El esfuerzo comunitario involucra una nueva interfaz gráfica, un diario y una reunión que son fáciles de usar. Sin embargo, la plataforma es limitada por la disponibilidad y acceso que tiene a data, así que el PCA va a ser útil en facilitar este esfuerzo.

Conclusión clave: Los modelos computacionales pueden potencialmente acelerar nuestra comprensión mecánica de sistemas en plantas y predecir cómo responden a su ambiente.

4. **Biología sintética y economía basada en biología**

Ponente: [Drew Endy](#), PhD, Associate Chair of Bioengineering, Stanford University

El Dr. Endy compartió su experiencia con el programa de International Genetically Engineered Machine (iGEM), una comunidad de bioingenieros que se ha expandido con el tiempo. Este programa ha inspirado a gente de todo el mundo a unirse con el objetivo común de promover la biología sintética. Tomando esto como ejemplo, el Dr. Endy animó a los participantes a considerar la visión general del PCA. Tener una narrativa positiva puede permitir acción colectiva hacia el progreso de la realidad. Dejó a los participantes con preguntas estimulantes como “¿cuál es el sueño del PCA?” y “¿a dónde nos llevará el PCA?”.

Conclusión clave: Es importante considerar la visión del PCA y considerar los resultados de antemano para dar forma a la dirección de esta iniciativa.

Sesión de Trabajo 3:

Los asistentes participaron en 16 grupos de discusión, cada uno guiado por un líder. Los grupos se encargaron de discutir las siguientes preguntas:

1. ¿Quiénes deberían ser los interesados/miembros de la comunidad del PCA?

Interesados claves del PCA

Miembros de la comunidad de investigación en plantas de todas las etapas profesionales (estudiantes de escuela superior, pregrado y posgrado, becarios postdoctorales de etapa inicial y tardía, profesores de instituciones centradas en la enseñanza)

Científicos de datos

Miembros de la industria, desde grandes corporaciones hasta agricultores y criadores individuales

Agencias de financiación públicas y privadas

Políticos

Consumidores y otros miembros del público interesados

2. ¿Cuál debería ser el propósito y objetivo principal del PCA?

Resumen de la Respuesta: Los objetivos principales del PCA son compartir conocimiento, promover participación e iniciar ideas nuevas en investigación de plantas. Además de servir como una herramienta de investigación, el PCA debería ayudar a crear una comunidad e incluir actividades educativas y de divulgación. Si tiene éxito, el recurso del PCA puede conectar a la comunidad global y proveer una herramienta visual y analítica para análisis e integración de datos eficiente y profundo. Los interesados del PCA deberían incluir a científicos involucrados en la investigación de plantas junto con agencias de financiación públicas y privadas, políticos y miembros interesados del público como agricultores, criadores y consumidores. El PCA va a tener un impacto positivo en la ciencia de las plantas al apoyar la comunicación entre estos interesados.

El PCA debe proveer información digerible a la comunidad en general y permitir que la gente contribuya su conocimiento. El PCA debe establecer estandarización a través de metodologías, habilitando estudios comparativos a través de tejidos y especies. Además, el PCA puede utilizar su infraestructura más grande para crear bases de datos que guardan información de especies no modelo o especies modelo emergentes, junto con especies de cultivo. Para ser exitoso, el PCA debe ser modular y dinámico, teniendo un equipo que solamente se encargue de la curación e inserción de la data más reciente.

3. ¿Cómo el PCA impactará a la ciencia de las plantas y a la sociedad?

Resumen de la Respuesta: El PCA puede impactar la ciencia de las plantas y la sociedad en general al proveer una plataforma exhaustiva de data integrada de especies de plantas diferentes y al ser instrumental en traducir la investigación científica de plantas básica para promover los esfuerzos de agricultura y bioenergía. El PCA será pionero en la organización de datos, acelerará la investigación aplicada, identificará

lagunas en el conocimiento y coordinará los esfuerzos de financiación para cubrir esas lagunas. Últimamente, esta iniciativa tiene el potencial para chispear un amplio interés en la investigación de la biología de plantas y para habilitar soluciones en respecto a la seguridad de la comida asociada al cambio climático y la degradación ambiental.

Evaluación del grupo de trabajo

Un objetivo importante del primer grupo de trabajo del PCA fue asegurar que cada participante tuviese su voz y pudiese tomar parte en el futuro del PCA. Para ello, realizamos varias encuestas durante el grupo de trabajo. Estas nos ayudaron a entender los puntos fuertes y débiles del simposio, los cuales nos ayudarán a mejorar futuros eventos (ver Apéndice 3 para los detalles de los resultados). En general, la mayoría de los participantes de las encuestas pensaron que el simposio fue interesante y útil para desarrollar ideas en sus propias investigaciones. La mayoría de participantes agradecieron la organización a pesar de que el formato tuvo que cambiar por motivos excepcionales de formato presencial a virtual.

Los participantes tomaron decisiones sobre el futuro del PCA. Los resultados de las encuestas indicaron que todavía faltan datos sobre imágenes en vivo y localización de proteínas, así como secuenciación de células individuales. Del mismo modo, los participantes indicaron que uno de los mayores problemas del campo es la estandarización de protocolos y análisis, de asociaciones de fenotipos y genotipos, y el análisis de complejos proteínicos y sus interacciones. En general, los participantes esperan que el PCA se convierta en una plataforma virtual donde centralizar datos de especies de plantas, estandarizar protocolos y técnicas, y promover trabajos relacionados con el PCA.

Mirando hacia el futuro, la comunidad desea seminarios temáticos online, por ejemplo, sobre single-cell sequencing. Este contenido estaría disponible en la web del PCA. Múltiples participantes demostraron su deseo de continuar series de charlas más largas que permitieran a los oradores ahondar en últimas técnicas “ómicas” y de microscopía aplicadas a plantas. Otros participantes sugirieron oportunidades para conectar con otros investigadores, sobre todo científicos jóvenes, los cuales encuentran una situación difícil para desarrollar sus carreras de forma virtual. Varios participantes sugirieron crear eventos regulares del PCA como conferencias Gordon, sesiones de charlas en congresos internacionales de biología de plantas, o eventos en común con otros consorcios como el Atlas Celular de Humanos. La mayoría de participantes indicaron interés en generar una lista de distribución de emails del PCA. Finalmente, varios participantes resaltaron la importancia de mantener un sistema centralizado y transparente de datos y código, que sirva de catalizador e inspiración para científicos de plantas para crear nuevas líneas científicas y colaboraciones.

Conclusiones y perspectivas

Para entender cómo una planta crece y funciona de una forma autoorganizada, necesitamos más información de cómo tejidos, tipos celulares, estadios de desarrollo y los genes que necesita, localización celular de cada proteína, interacciones entre proteínas en varios tipos celulares, y la distribución y transporte de metabolitos entre células y tejidos. **El objetivo general del PCA es crear una comunidad y un recurso que describa el estado y organización de los tipos celulares en plantas a alta resolución.** Avances tecnológicos en biología de sistemas, biosensores, y dato ómico de alta resolución y de single-cell han generado descubrimientos sin precedentes en biología de plantas. Para entender cómo diferentes niveles de organización se relacionan para crear forma y función, necesitamos establecer una comunidad científica, datos abiertos, en una plataforma única.

El desarrollo de nuevas tecnologías, como tecnologías ómicas de single-cell y microscopía en vivo, han permitido a investigadores estudiar nuevas preguntas en biología de plantas. No obstante, discusiones en el PCA concluyeron que desarrollos tecnológicos son todavía necesarios. Por ejemplo, la mejora de algoritmos de inteligencia artificial para extraer señales de bases de nuevas bases de datos. Estos desarrollos, en conjunto con nuevas tecnologías experimentales de los campos de biología sintética y bioingeniería, serán clave para explorar y crear nuevas áreas de investigación.

Pero el mayor logro del PCA será la apertura de ciencia de plantas y biología molecular a una mayor audiencia democratizará el estudio de plantas a un nivel celular. Con una interfaz de usuario amena, el PCA puede servir como una herramienta pública, ayudando en educación o aplicaciones transnacionales como bioenergía, agricultura, medicina, o ciencias de la tierra.

Agradecimientos

Agradecemos la asistencia de Terri Tippetts en la logística del grupo de trabajo, Julie Gosse de Science Editors Network por generar el primer borrador del reporte, a todos los participantes del grupo de trabajo y moderadores por sus contribuciones. Este reporte y el grupo de trabajo están financiados por el proyecto la Fundación Nacional de Ciencia (NSF) de Estados Unidos número MCB-1916797, Carnegie Institution for Science, y BASF.

Figure 1

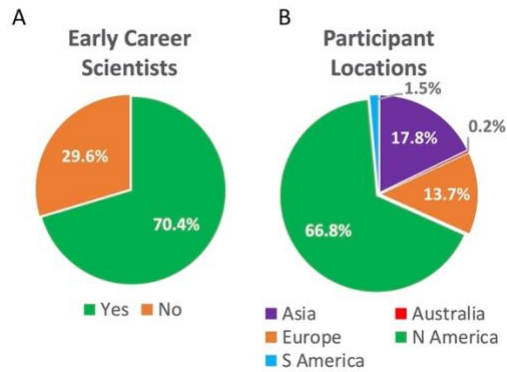


Figure 1. Datos demográficos de los participantes del primer grupo de trabajo del PCA. **A)** Porcentaje de participantes que se identifican como científicos jóvenes (estudiantes de grado, estudiantes de doctorado, postdocs, profesores asistentes, etc.). **B)** Distribución global de los participantes.

Apéndice 4: The Plant Cell Atlas Consortium

Nombre	Institución
Seung Yon (Sue) Rhee	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Selena Rice	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Suryatapa Ghosh Jha	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Anna Stepanova	North Carolina State University
Sanjay Joshi	University of Kentucky
Aaron Ogden	PNNL
Jennifer Brophy	Stanford University
Batthula Vijaya Lakshmi Vadde	Cornell University
Tatsuya Nobori	Salk Institute
Andrey Malkovskiy	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Tie Liu	University of Florida
Pinky Agarwal	National Institute of Plant Genome Research, India
Mather A Khan	University of Missouri
Shyam Solanki	Washington State University, Pullman, WA
Pradeep Kumar	CSIR-CCMB, Hyderabad, India
Dominique Bergmann	Stanford University/HHMI
Gergo Palfalvi	National Institute for Basic Biology, Japan
Atique ur Rehman Pankaj Kumar	Bahauddin Zakariya university CSIR-IHBT, Palampur Himachal Pradesh India
Jahed Ahmed	Louvain Institute of Biomolecular Science and Technology, UCLouvain, Croix du Sud 4-L7.07.14, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.
Elsa Herminia Quezada Rodríguez	Universidad Nacional Autónoma de México
Papa Rao Vaikuntapu	Indian Council of Agricultural Research (ICAR-DGR), Gujarat, India
Trevor Nolan	Duke University
Maria Harrison	Boyce Thompson Institute
Dae Kwan Ko	Michigan State University
Christopher R. Anderton	Pacific Northwest National Laboratory
Javier Brumos	North Carolina State University
Gozde Demirer	University of California, Davis
Kaushal Kumar Bhati	Louvain Institute of Biomolecular Science and Technology, UCLouvain, Croix du Sud 4-L7.07.14, Louvain-la-Neuve, Belgium
Elaine Yeung	University of California, Riverside
Rachel Shahan	Duke University
Gazala Ameen	Washington State University, Pullman, WA
Alexander T. Borowsky	University of California, Riverside
Mowei Zhou	Pacific Northwest National Laboratory
Kangmei Zhao	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Felix Rico-Resendiz	LANGEBIO-Cinvestav
Sakil Mahmud	University of Bonn
Steven Salvini	Edinburgh, Scotland
Marcela Rojas-Pierce	North Carolina State University

Ahmet Bakirbas	University of Massachusetts Amherst
Steven Briggs	University of California, San Diego
Devang Mehta	University of Alberta
Richard Glen Uhrig	University of Alberta
Clay Wright	Virginia Tech
Claire McWhite	The University of Texas at Austin
Amir H. Ahkami	Pacific Northwest National Laboratory
Marcela K. Tello-Ruiz	Cold Spring Harbor Laboratory
Kerstin Kaufmann	Humboldt-Universitaet zu Berlin
Isil Erbasol Serbes	University of Bremen
Sergio Alan Cervantes-Pérez	LANGEBIO-CINVESTAV, México
Noah Fahlgren	Donald Danforth Plant Science Center
Alexander Jones	University of Cambridge
Tedrick Thomas Salim Lew	Massachusetts Institute of Technology
Cesar Cuevas-Velazquez	Facultad de Química, UNAM
Josh Strable	Cornell Univ.
Bastiaan Bargmann	Virginia Tech
Lisa David	University of Florida
Nicholas Provart	University of Toronto/Centre for the Analysis of Genome Evolution and Function
Uwe Ohler	Humboldt University & Max Delbrück Center Berlin
Maite Saura-Sanchez	IFEVA (CONICET - UBA)
Toshihiro Obata	University of Nebraska-Lincoln
Navadeep Boruah	Carnegie Institution for Science, USA
Tamas Varga	EMSL, Pacific Northwest National Laboratory, US
Travis Lee	Salk Institute
James Whelan	La Trobe University
Sumedha Arora	Punjab Agricultural University
Harmanpreet Kaur	Punjab Agricultural University
Amandeep Kaur	Punjab Agricultural
Peter Denolf	BASF
Jenny Mortimer	Lawrence Berkeley National Laboratory
Dhruv Lavania	University of Alberta
Dianyi Liu	Donald Danforth Plant Science Center & University of Missouri
Christophe Liseron-Monfils	BASF
Javier A Miret	University of Reading
Shipra Goel	Delhi Technological University
Fabio Gomez-Cano	Michigan State University
Purva Karia	University of Toronto

Juan Pablo Giraldo	University of California, Riverside
Concepcion Manzano	University of California, Davis
Yongxian Lu	Carnegie Institution of Science
Mingkee Achom	Cornell University
Ramin Yadegari	University of Arizona
Elena Lazarus	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Chen Kuang	Chinese Academy of Agricultural sciences
Jaishri Rubina Das	National Institute of Plant Genome Research, New Delhi, India
Sofia Otero	University of Cambridge
Matthieu Bourdon	University of Cambridge
Rajveer Singh	Punjab Agricultural university, Ludhiana, India
Lothar Kalmbach	University of Cambridge
Sagar Kumar	Punjabi University, Patiala, India
Alvaro Daniel Fernandez-Fernandez	VIB-UGent Center for Plant Systems Biology
Lidor Shaar-Moshe	University of California, Davis
Renate Weizbauer	Carnegie Institution for Science, CA, USA
Chai Hao Chiu	Department of Plant Sciences, University of Cambridge
Diane E. Dickel	Lawrence Berkeley National Laboratory