



Noves nanoantenes permeten la detecció multicolor sensible de molècules individuals amb un rendiment sense precedents

Investigadors de l'ICFO han desenvolupat una plataforma de nanoantenes capaç d'augmentar l'emissió de fluorescència en tot l'espectre visible, cosa que permet la detecció multicolor de molècules individuals a concentracions micromolars. El mètode proposat també pot examinar més de mil nanoantenes en paral·lel accelerant els temps d'adquisició de dades.

August 26, 2024

Desentranyar les complexitats dels processos biològics a nivell de molècules individuals és crucial per capturar l'heterogeneïtat dels sistemes biològics i expandir el nostre coneixement sobre la seva dinàmica bioquímica. Tanmateix, la complexitat inherent a l'entorn biològic exigeix tècniques de biosensat molt sensibles, les quals comunament capturen la llum fluorescent emesa per les biomolècules desitjades o les seves etiquetes fluorescentes.

Maximitzar la brillantor de la seva fluorescència es essencial per assegurar-ne la detecció altament sensible. Fins a dia d'avui, la investigació de les interaccions entre diferents biomolècules amb una sensibilitat a nivell de molècules individuals quan aquestes es troben a concentracions típiques dels organismes vius es un gran repte per als mètodes convencionals.

Les anomenades nanoantenes plasmoniques poden proporcionar sensibilitat a nivell de molècules individuals sota aquestes condicions, ja que poden augmentar significativament la brillantor d'una molècula fluorescent propera. Tanmateix, la detecció de molècules individuals amb aquestes nanoantenes en condicions biològicament rellevants presenta dos grans reptes.

D'una banda, la detecció de diferents espècies moleculars que emeten llum fluorescent en diferents colors (longituds d'ona) requereix un gran augment de la fluorescència en diverses regions espectrals. Aquest tipus d'estudis, coneguts com a experiments multicolor, requereixen nanoantenes amb una ressonància espectralment ampla, cosa que generalment resulta en una feble amplificació de l'emissió de fluorescència i, consegüentment, dificulta la sensibilitat de detecció.

D'altra banda, les aplicacions de biosensat sovint requereixen sensibilitats a nivell de molècules individuals a concentracions micromolars, el nivell de concentració en que moltes molècules biològiques, interaccions i reaccions es produeixen. Malauradament, concentracions tan altes, la resposta de les molècules individuals es veu enfosquida pel senyal de fons generat per la gran quantitat de molècules circumdants.

Tenint en compte ambdues problemàtiques, l'objectiu esdevé clar: desenvolupar un disseny de nanoantena que potenciï la fluorescència de les molècules objectiu i alhora redueixi el soroll de fons en tot l'espectre visible.

Ara, els investigadors de l'ICFO **Ediz Kaan Herkert, Lukas Lau i Roger Pons Lanau**, liderats per la **Prof. ICREA Maria F. Garcia-Parajo**, han desenvolupat una plataforma de nanoantenes que aborda amb èxit aquests problemes. La plataforma augmenta la fluorescència en tot l'espectre visible i, alhora, redueix la fluorescència de fons, cosa que permet la detecció multicolor de molècules individuals a concentració micromolar. És important destacar que a més mostra un increment en un factor de 1000 en el nombre de nanoantenes que es poden examinar en paral·lel, facilitant un cribratge ràpid de les mostres, cosa que al seu torn condueix a un alt rendiment (en referència a la quantitat d'informació que es pot processar en un període de temps determinat). Els resultats han estat publicats a *ACS Applied Materials & Interfaces*.

Nova plataforma de nanoantenes: Antena-en-Caixa Hexagonal d'Alta Densitat i Empaquetat Tancat

Les plataformes d'Antena-en-Caixa (AiB, per les sigles en anglès), que consisteixen en una nanoantena dins d'una nanoobertura, s'han aplicat amb èxit a tasques de biosensat molt

rellevants perquè combinen una forta reducció del soroll fluorescent de fons amb un augment en l'emissió de fluorescència.

Malgrat que el seu potencial per a aplicacions de biosensat s'ha anat perfeccionant al llarg dels anys, hi ha dos grans reptes que encara romanen: les AiBs tradicionals són inadequades per a experiments multicolor i el seu rendiment es veu limitat per la seva lectura seqüència punt a punt (és a dir, només es pot mesurar una antena-en-caixa alhora)

El disseny desenvolupat a l'ICFO supera aquests reptes introduint AiBs d'alta densitat empaquetat tancat hexagonal (HCP-AiB, per les sigles en anglès) fetes d'alumini

L'enfocament dels investigadors va consistir a col·locar tantes AiBs tan properes entre elles com fos possible. En contrast amb la disposició quadrada comunament escollida, l'empaquetat tancat hexagonal els va permetre maximitzar el nombre d'AiB dins d'un espai i donar

. L'alta densitat d'empaquetat va augmentar significativament el nombre d'AiBs que es podien detectar simultàniament. Al final, **l'equip va aconseguir mesurar més de 1000 AiBs en paral·lel, accelerant així els temps d'adquisició de dades.** "Per a aplicacions de biosensat, això significa que **el nombre d'analits a detectar podria augmentar en tres ordres de magnitud**, cosa que és un assoliment únic en el camp", comparteix la Prof. ICREA Maria F. Garcia-Parajo.

A més, escollir alumini en lloc d'or (el material tradicionalment emprat per fabricar nanoantenes) va ser clau per **aconseguir ressonàncies de banda ampla que cobriessin tot el rang visible.** L'equip va dissenyar després un microscopi personalitzat amb tres canals d'excitació, cadascun dels quals va capturar amb èxit l'emissió de fluorescència d'una espècie molecular diferent.

Desbloqueig de l'augment de fluorescència multicolor i la paral·lelització del mètode de lectura

Aconseguir l'augment de la fluorescència multicolor i la paral·lelització del mètode de lectura són fites úniques que van ser molt difícils de demostrar experimentalment en el passat, però l'equip de l'ICFO ha aconseguit desbloquejar-les de manera eficient. "Es per això que considero que els nostres resultats són un gran pas cap a aplicacions de les nanoantenes en el camp del biosensat realment vertaderes", comparteix Ediz Herkert, primer autor de l'article.

Però la feina encara no ha acabat, ja que sempre hi ha marge de millora. "Els propers passos en el camp haurien de centrar-se a desenvolupar un procés de sala neta més eficient en temps i costos per a produir aquest tipus de formacions hexagonals de nanoantenes, i demostrar que la sensibilitat multicolor a nivell de molècules individuals de les HCP-AiB es pot dur a terme en condicions biològicament rellevants, incloent-hi les cèl·lules vives" explica Herkert

La Prof. ICREA Maria Garcia-Parajo també veu un gran potencial en el seu descobriment: "Le

nostres HCP-AiBs podrien utilitzar-se en aplicacions de biosensat multicolor per a estudiar interaccions entre diferents proteïnes a la membrana cel·lular o per a monitoritzar la cinètica d'unio biomolecular, amb una sensibilitat en la detecció de molècules individuals millorada en ambdós casos

Referència:

Ediz Kaan Herkert, Lukas Lau, Roger Pons Lanau, i Maria F. Garcia-Parajo. ACS Applied Materials & Interfaces 2024 16 (31), 41271-41280 DOI: 10.1021/acsami.4c04744

Font de la imatge: portada de l'ACS Applied Materials and Interfaces