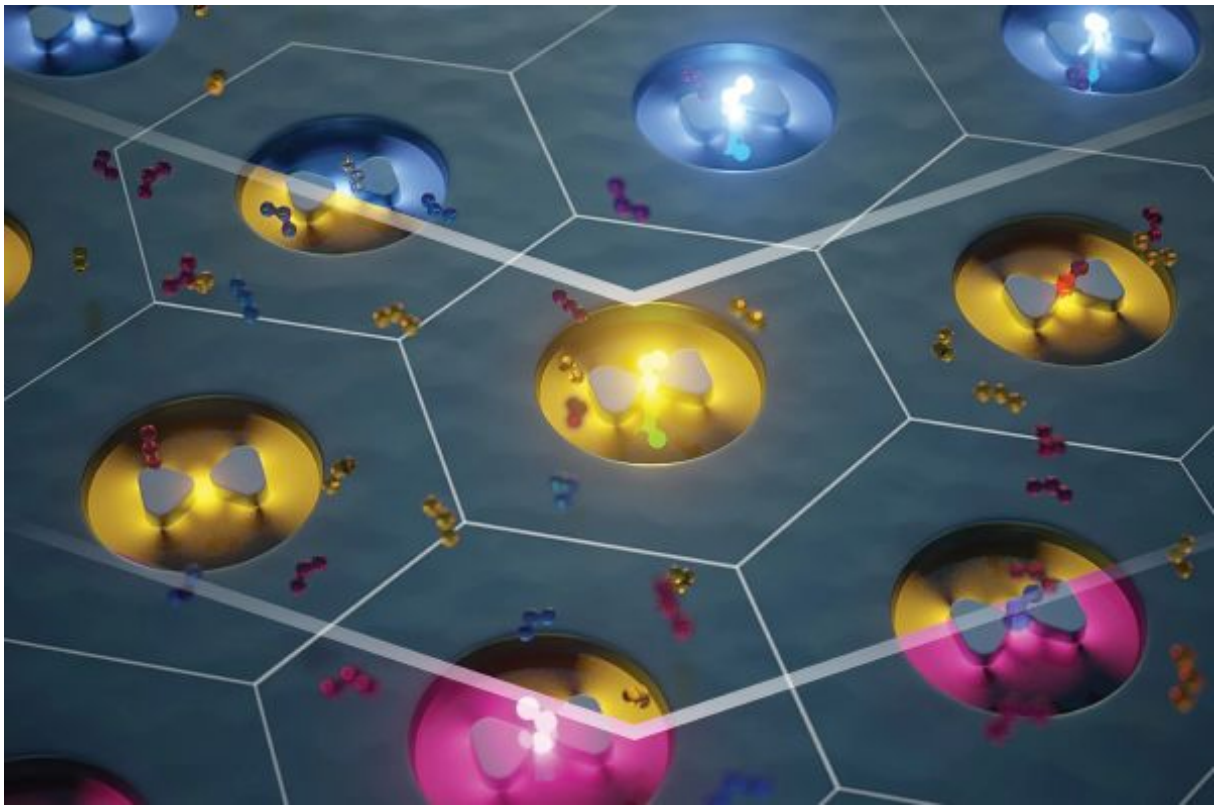


Noves nanoantenes permeten la deteccio multicolor sensible de molecules individuals amb un rendiment sense precedents

Investigadors de l'ICFO han desenvolupat una plataforma de nanoantenes capac d'augmentar l'emissio de fluorescencia en tot l'espectre visible, cosa que permet la deteccio multicolor de molecules individuals a concentracions micromolars. El metode proposat tambe pot examinar mes de mil nanoantenes en paral·lel accelerant els temps d'adquisicio de dades.

August 26, 2024

Desentranyar les complexitats dels processos biologics a nivell de molecules individuals es crucial per capturar l'heterogeneitat dels sistemes biologics i expandir el nostre coneixement sobre la seva dinamica bioquimica. Tanmateix, la complexitat inherent a l'entorn biologic exigeix tecniques de biosensat molt sensibles, les quals comunament capturen la llum fluorescent emesa per les biomolecules desitjades o les seves etiquetes fluorescents.

Maximitzar la brillantor de la seva fluorescencia es essencial per assegurar-ne la deteccio altament sensible. Fins a dia d'avui, la investigacio de les interaccions entre diferents biomolecules amb una sensibilitat a nivell de molecules individuals quan aquestes es troben a concentracions tipiques dels organismes vius es un gran repte per als metodes convencionals.

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

D'una banda, la deteccio de diferents especies moleculars que emeten llum fluorescent en diferents colors (longituds d'ona) requereix un gran augment de la fluorescencia en diverses regions espectrals. Aquest tipus d'estudis, coneguts com a experiments multicolor, requereixen nanoantenes amb una ressonancia espectralment amplia, cosa que generalment resulta en una feble amplificacio de l'emissio de fluorescencia i, conseqüentment, dificulta l sensibilitat de deteccio

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

Tenint en compte ambdues problematiques, l'objectiu esdeve clar: desenvolupar un dissen de nanoantena que potencii la fluorescencia de les molecules objectiu i alhora redueixi e 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 exit aquests problemes. La plataforma augmenta la fluorescencia en tot l'espectre visible i, alhora, redueix la fluorescencia de fons, cosa que permet la deteccio multicolor de molecules individuals a concentracio micromolar. Es important destacar que a mes mostra un increment en un factor de 1000 en el nombre de nanoantenes que es poden examinar en paral·lel, facilitant un cribratge rapid de les mostres, cosa que al seu tor condueix a un alt rendiment (en referencia a la quantitat d'informacio que es pot processa en un periode de temps determinat). Els resultats han estat publicats aACS 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 angles), que consisteixen en una nanoantena dins d'una nanoapertura, s'han aplicat amb exit a tasques de biosensat molt

rellevants perque combinen una forta reduccio del soroll fluorescent de fons amb un augment en l'emissio de fluorescencia.

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 son inadequades per a experiments multicolor i el seu rendiment es veu limitat per la seva lectura seqüencia punt a punt (es a dir, nomes 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 angles) fetes d'alumini

L'enfocament dels investigadors va consistir a col·locar tantes AiBs tan properes entre ell s com fos possible. En contrast amb la disposicio quadrada comunament escollida, n empaquetat tancat hexagonal els va permetre maximitzar el nombre d'AiB dins d'un esp i dona

. L'alta densitat d'empaquetat va augmentar significativament el nombre d'AiBs que es podi n detectar simultaniament. Al final **l'equip va aconseguir mesurar mes de 1000 AiBs en paral·lel, accelerant aixi els temps d'adquisicio de dades**. "Per a aplicacions de biosensat, aixo significa que **el nombre d'analits a detectar podria augmentar en tres ordres de magnitud**, cosa que es un assoliment unic en el camp", comparteix la Prof. ICREA Maria F. Garcia-Parajo.

A mes, escollir alumini en lloc d'or (el material tradicionalment emprat per fabricar nanoantenes) va ser clau per **aconseguir ressonancies de banda ampla que cobrissin tot el rang visible**. L'equip va dissenyar despres un microscopi personalitzat amb tres canals d'excitacio, cadascun dels quals va capturar amb exit l'emissio de fluorescencia d'una especie molecular diferent.

Desbloqueig de l'augment de fluorescencia multicolor i la paral·lelitzacio del metode d lectura

Aconseguir l'augment de la fluorescencia multicolor i la paral·lelitzacio del metode de lectur son fites uniques que van ser molt dificils de demostrar experimentalment en el passat, per l'equip de l'ICFO ha aconseguit desbloquejar-les de manera eficient "Es per aixo que considero que els nostres resultats son un gran pas cap a aplicacions de les nanoantenes en el camp del biosensat realment vertaderes", comparteix Ediz Herkert, primer autor de l'article.

Pero 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 proces de sala neta mes eficient en temps i costos per a produir aquest tipus de formacions hexagonals de nanoantenes, i demostrar que la sensibilitat multicolor a nivell de molecules individuals de les HCP-AiB es pot dur a terme en condicions biologicament rellevants, incloent-hi les cel·lules vives" explica Herkert

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

nostres HCP-AiBs podrien utilitzar-se en aplicacions de biosensat multicolor per a estudia interaccions entre diferents proteines a la membrana cel·lular o per a monitoritzar la cineti a d'unio biomolecular, amb una sensibilitat en la deteccio de molecules individuals millora a en ambdos casos

Referencia:
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