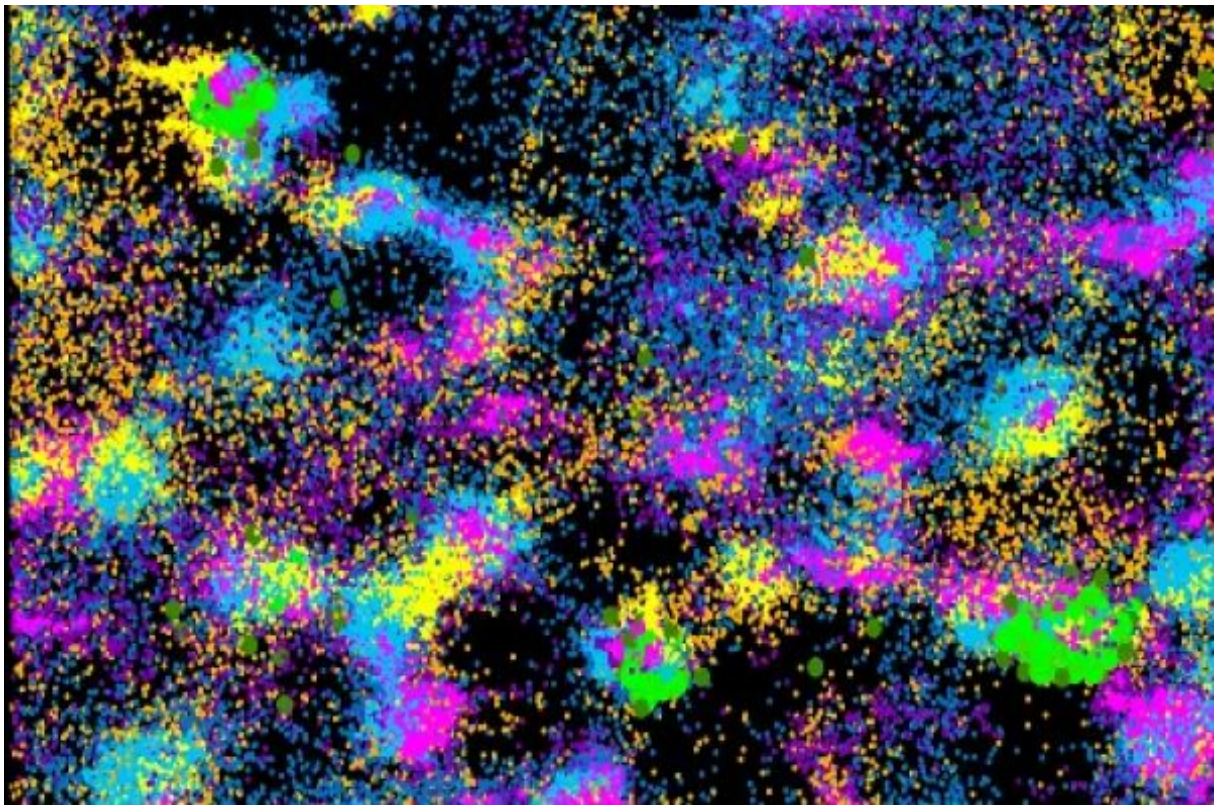


El mapeig d?interaccions multimoleculars individuals proporciona nous coneixements sobre la captura viral

Investigadors han desenvolupat una nova i potent metodologia capac de monitorar, a nivell individual i de manera simultania, diferents molecules en cel·lules vives. Aquest avenc tecnologi representa un gran pas endavant en el camp de les molecule individuals.

La tecnica ha permes descobrir interaccions individuals entre tres proteines i dos virus diferents, el VIH-1 i el SARS-CoV-2, que van resultar crucials per augmentar la seva captura. Aquests resultats suggereixen l'existencia d'un mecanisme fisic comu que millora la captura viral, el primer pas essencial que eventualment condueix a la infeccio.

November 12, 2024

Quan un virus ens infecta, les cel·lules dendritiques el detecten i el capturen. Posteriorment presenten el virus a altres cel·lules del sistema immunitari, que activen la resposta adequa a per intentar frenar la infeccio. Tanmateix, alguns virus, com el VIH, han apres a aprofit r aquesta situacio i utilitzen les cel·lules dendritiques com a "cavalls de Troia" per propagar se mes profundament dins del cos. Un cop al seu interior, el VIH inhibeix la capacitat de es cel·lules dendritiques per madurar i alertar el sistema immunitari, debilitant la resp sta immune i podent derivar finalment en la S
DA. Entendre els esdeveniments moleculars primerencs que condueixen a la captura vir l i l'entrada a les cel·lules es crucial per dissenyar vacunes efectives. Per esbrinar c m un receptor de la membrana cel·lular s'uneix i captura un virus, es essencial obtenir inform cio a nivell de molecula individual. Tanmateix, les molecules rarament actuen de manera ailla a; la seva funcio depen de les interaccions amb altres molecules. Es poden imaginar c m una societat, on el comportament individual depen en gran mesura de les interaccions a b els altres. i¿½Et comportes de manera diferent quan interactues amb els teus pares, germ ns o el teu cap. I la majoria de vegades necessitem interactuar amb altres per fer millor l nostra feina, o simplement perque no podem fer-la solsi¿½, explica Maria Garcia Parajo, rofessora ICREA a l'ICFO. i¿½Exactament el mateix passa dins d'una cel·lula: les inter ccions entre molecules individuals son a la base de la seva funcio i poden millorar signific tivament com la due
a termei¿½. Per tant, desenvolupar una eina capac de rastrejar interaccions entre multipl s molecules en temps real, a nivell de molecula individual i en cel·lules vives, ha estat na prioritat en biofisica. Investigadors de l'ICFO, com el **Dr. Nicolas Mateos**, el **Dr. Enric Gutierrez-Martinez**, la **Dra. Jessica Angulo-Capel**, el **Dr. Juan A. Torreno-Pina**, liderats per la **Professora ICREA Maria F. Garcia Parajo**, juntament amb el King's College de Londres, han presentat recentment a ACS Nano una tecnica que satisfa aquestes condicions. L'equip ha desenvolupat una nova i potent metodologia a nivell de molecula individual, capac de monitorar simultaniament diferents molecules etiquetades en cel·lules vives, i ha utilitzat aquesta informacio pe construir mapes espaciotemporals.**Aquests mapes rastregen la posicio i les interaccions de diverses bioparticules de manera individual al llarg del temps**, fet que els enfocaments anteriors no podien resoldre.

Amb aquesta tecnica, els investigadors van capturar interaccions en temps real entre particules virals individuals i tres proteines diferents a la membrana de cel·lules dendritique immadures vives.**Aquest mapeig va revelar una accio coordinada de les tres proteines, que va ser crucial per capturar dos virus diferents: VIH-1 i SARS-CoV-2.**

HiDenMaps multicolor per visualitzar interaccions moleculars

Per estudiar les interaccions entre virus i receptors, aixi com el paper d'altres molecules individuals en temps real, l'equip va desenvolupar una tecnica de mapeig multimolecular anomenada Mapes d'Alta Densitat Multicolor (HiDenMaps, per les sigles en angles). Per

demostrar la seva utilitat, van estudiar el virus VIH-1 i les seves interaccions amb tres proteines (DC-SIGN, CD44 i galectina-9).
Els HiDenMaps es van crear etiquetant cada proteina i el virus amb marcadors fluorescents. Quan s'il·luminen, cada marcador emet llum d'un color diferent, permetent als investigador rastrejar les seves posicions amb precisio nanometrica. Les dades de cada marcador es va combinar en una sola imatge, el HiDenMap. Posteriorment, els mapes individuals es va integrar en un unic mapa multicolor que encapsulava la distribucio espacial i temporal d totes les molecules alhora. i¿½Els mapes finals tenen quatre colors, un per a cada molecu a. Aixo fa que i¿½veurei¿½ on i quan coincideixen diverses d'elles sigui mes facil, ajudan -nos a identificar les seves interaccionsi¿½, assegura el Dr. Nicolas Mateos, autor pri cipal de l'article i desenvolupador principal de la

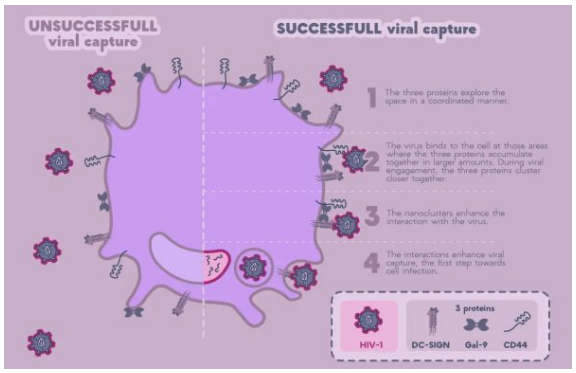
Com les cel·lules dendritiques capturen el VIH de manera eficient
Els HiDenMaps, combinats amb eines quantitatives, van permetre als investigadors seguir les tres proteines i el virus en temps real, mostrant com les seves interaccions influeixen en la unio i captura viral. Per al VIH-1, van identificar quatre passos principals. Primer, les tres proteines exploren l'entorn de manera coordinada, inspeccionant les mateixes regions o adjacents, com una patrulla cel·lular. Quan el virus arriba, es mes probable que s'uneixi e arees on les tres proteines s'acumulen en quantitats mes grans i, durant el contacte viral, le tres proteines es reagrupen mes estretament, reforcant encara mes la unio. Aquest nanoclusters milloren la interaccio entre el receptor viral (DC-SIGN) i el virus. I, finalment aquesta interaccio millorada augmenta la probabilitat de captura del virus, el pas inicial cap la infeccio de les cel·lules dendritique
. i¿½Vam descobrir que, tot i que DC-SIGN pot capturar el virus, necessita dos socis -CD 4 i galectina-9- per fer-ho de manera eficienti¿½, explica el Dr. Mateos. i¿½Curiosamen , nomes quan DC-SIGN interactua simultaniament amb tots dos, la unio i captura dels viru es mes forta, mes estable i mes probable que condueixi a una infeccioi¿½

HiDenMaps: una eina general per rastrejar interaccions multimoleculars
El mateix proces es va observar per al SARS-CoV-2, el causant de la COVID-19. **Aixo suggereix un mecanisme potencialment generalitzat per a la captura viral en cel·lule dendritiques immadures, on les tres proteines juguen un paper central.**Segons la professora Garcia Parajo: i¿½Aixo te enormes implicacions per al desenvolupament de vacunes, ja q e prevenir les primeres etapes de la captura viral interrompent les interaccions entre DC-SIGN i els seus socis podria ser una estrategia mes efectiva que bloquejar unicament el recept r virali?
½. De manera mes general, els HiDenMaps multicolor podrien aplicar-se per estudiar quals vol interaccio multimolecular en cel·lules vives. A mes, combinar els HiDenMaps amb una ltra tecnica existent anomenada multiplexacio per freqüencia podria augmentar el nom

re de particules rastrejades. i¿½Idealment, una combinacio aixi resultaria en un HiDenMap mb tots els colors de l'arc de Sant Marti! El repte es que, de moment, la multiplexacio per fr qüencia nomes s'ha aplicat en cel·lules fixes. Aplicar-la a cel·lules vives no es trivial, pero sens dubte no es impossiblei¿½, conclou la professora Garcia Parajo. Aquesta gran versatilit t converteix els HiDenMaps en un avenc tecnologic molt significatiu per al camp de es molecules

Referencia:
Nicolas Mateos, Enric Gutierrez-Martinez, Jessica Angulo-Capel, Irene Carlon-Andres, Sergi Padilla-Parra, Maria F. Garcia-Parajo, and Juan A. Torreno-Pina. ACS Nano 2024 18 (42), 28881-28893
DOI: 10.1021/acsnano.4c09085

Agraiments:
The research leading to these results has received funding from the European Commission H2020 Program under grant agreement ERC Adv788546 (NANO-MEMEC) (to M.F.G.-P.), ERC-2019-CoG-863869 (FUSION) (to S.P.-P.), The Chan-Zuckerberg Initiative i¿½Multicol r single molecule tracking with lifetime imagingi¿½ (2023-321188 to S.P.-P.), Governmen of Spain (Severo Ochoa CEX2019-000910-S), State Research Agency (EI) (PID2020-113068RB-I00/10.13039/501100011033) (to M.F.G.-P.) and JdC-IJCI-2017-33160 (to J.A.T.-P.), Fundacio CELLEX (Barcelona), Fundacio Mir-Puig and the Generalitat de Catal nya through the CERCA program and AGAUR (Grant No. 2021 SGR01450 M.F.G.-P.). .M. acknowledges funding from the European Union H2020 under the Marie Sklodowska-C rie grant 754558-PREBIST. J.A. acknowledges funding from the European Union's Horizon 2020 under the Marie Sklodowska-Curie grant agreements No 847517.



Il·lustracio del proces de captura del HIV. Credit: Isabel Santa-Maria.