

El mapeig d'interaccions multimoleculares individuals proporciona nous coneixements sobre la captura viral

Investigadors han desenvolupat una nova i potent metodologia capaç de monitorar, a nivell individual i de manera simultània, diferents molècules en cèl·lules vives. Aquest avanç tecnològic representa un gran pas endavant en el camp de les molècules individuals.

La tècnica ha permès descobrir interaccions individuals entre tres proteïnes 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'existència d'un mecanisme físic comú que millora la captura viral, el primer pas essencial que eventualment condueix a la infecció.

Quan un virus ens infecta, les cel·lules dendrítiques el detecten i el capturen. Posteriorment presenten el virus a altres cel·lules del sistema immunitari, que activen la resposta adequada per intentar frenar la infecció. Tanmateix, alguns virus, com el VIH, han après a aprofitar aquesta situació i utilitzen les cel·lules dendrítiques com a "cavalls de Troia" per propagar-se més profundament dins del cos. Un cop al seu interior, el VIH inhibeix la capacitat de les cel·lules dendrítiques per madurar i alertar el sistema immunitari, debilitant la resposta immune i podent derivar finalment en la S

DA. Entendre els esdeveniments moleculars primers que condueixen a la captura viral i l'entrada a les cel·lules és crucial per dissenyar vacunes efectives. Per esbrinar com un receptor de la membrana cel·lular s'uneix i captura un virus, és essencial obtenir informació a nivell de molècula individual. Tanmateix, les molècules rarament actuen de manera aïllada; la seva funció depèn de les interaccions amb altres molècules. Es poden imaginar com una societat, on el comportament individual depèn en gran mesura de les interaccions amb els altres. I et comportes de manera diferent quan interactues amb els teus pares, germans o el teu cap. I la majoria de vegades necessitem interactuar amb altres per fer millor la nostra feina, o simplement perquè no podem fer-la sols. Exactament el mateix passa dins d'una cel·lula: les interaccions entre molècules individuals són a la base de la seva funció i poden millorar significativament la funció.

Per tant, desenvolupar una eina capaç de rastrejar interaccions entre múltiples molècules en temps real, a nivell de molècula individual i en cel·lules vives, ha estat una prioritat en biofísica. Investigadors del [ICFO](#), 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 tècnica que satisfia aquestes condicions. L'equip ha desenvolupat una nova i potent metodologia a nivell de molècula individual, capaç de monitorar simultàniament diferents molècules etiquetades en cel·lules vives, i ha utilitzat aquesta informació per construir mapes espaciotemporals. **Aquests mapes rastregen la posició i les interaccions de diverses biopartícules de manera individual al llarg del temps**, fet que els enfocaments anteriors no podien resoldre.

Amb aquesta tècnica, els investigadors van capturar interaccions en temps real entre partícules virals individuals i tres proteïnes diferents a la membrana de cel·lules dendrítiques immadures vives. **Aquest mapeig va revelar una acció coordinada de les tres proteïnes, 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, així com el paper d'altres molècules individuals en temps real, l'equip va desenvolupar una tècnica de mapeig multimolecular anomenada Mapes d'Alta Densitat Multicolor (HiDenMaps, per les sigles en anglès). Per

demostrar la seva utilitat, van estudiar el virus VIH-1 i les seves interaccions amb tres proteïnes (DC-SIGN, CD44 i galectina-9).

Els HiDenMaps es van crear etiquetant cada proteïna i el virus amb marcadors fluorescents. Quan s'il·luminen, cada marcador emet llum d'un color diferent, permetent als investigadors rastrejar les seves posicions amb precisió nanomètrica. Les dades de cada marcador es va combinar en una sola imatge, el HiDenMap. Posteriorment, els mapes individuals es va integrar en un únic mapa multicolor que encapsulava la distribució espacial i temporal de totes les molècules alhora. Els mapes finals tenen quatre colors, un per a cada molècula. Això fa que veurem on i quan coincideixen diverses d'elles sigui més fàcil, ajudant-nos a identificar les seves interaccions, assegura el Dr. Nicolas Mateos, autor principal de l'article i desenvolupador principal de la

Com les cel·lules dendrítiques capturen el VIH de manera eficient

Els HiDenMaps, combinats amb eines quantitatives, van permetre als investigadors seguir les tres proteïnes i el virus en temps real, mostrant com les seves interaccions influeixen en la unió i captura viral. Per al VIH-1, van identificar quatre passos principals. Primer, les tres proteïnes exploren l'entorn de manera coordinada, inspeccionant les mateixes regions o àrees adjacents, com una patrulla cel·lular. Quan el virus arriba, és més probable que s'uneixi a àrees on les tres proteïnes s'acumulen en quantitats més grans i, durant el contacte viral, les tres proteïnes es reagrupen més estretament, reforçant encara més la unió. Aquests nanoclusters milloren la interacció entre el receptor viral (DC-SIGN) i el virus. I, finalment, aquesta interacció millorada augmenta la probabilitat de captura del virus, el pas inicial cap a la infecció de les cel·lules dendrítiques.

Vam descobrir que, tot i que DC-SIGN pot capturar el virus, necessita dos socis -CD4 i galectina-9- per fer-ho de manera eficient, explica el Dr. Mateos. Curiosament, només quan DC-SIGN interactua simultàniament amb tots dos, la unió i captura del virus és més forta, més estable i més probable que condueixi a una infecció.

HiDenMaps: una eina general per rastrejar interaccions multimoleculares

El mateix procés es va observar per al SARS-CoV-2, el causant de la COVID-19. **Això suggereix un mecanisme potencialment generalitzat per a la captura viral en cel·lules dendrítiques immadures, on les tres proteïnes juguen un paper central.** Segons la professora García Parajo: Això té enormes implicacions per al desenvolupament de vacunes, ja que prevenir les primeres etapes de la captura viral interrompent les interaccions entre DC-SIGN i els seus socis podria ser una estratègia més efectiva que bloquejar únicament el receptor viral?

De manera més general, els HiDenMaps multicolor podrien aplicar-se per estudiar qualsevol interacció multimolecular en cel·lules vives. A més, combinar els HiDenMaps amb una altra tècnica existent anomenada multiplexació per freqüència podria augmentar el nombre

re de partícules rastrejades. i½Idealment, una combinació així resultaria en un HiDenMap amb tots els colors de l'arc de Sant Martí! El repte és que, de moment, la multiplexació per freqüència només s'ha aplicat en cèl·lules fixes. Aplicar-la a cèl·lules vives no és trivial, però sens dubte no és impossible i½, conclou la professora García Parajo. Aquesta gran versatilitat converteix els HiDenMaps en un avenç tecnològic molt significatiu per al camp de les molècules.

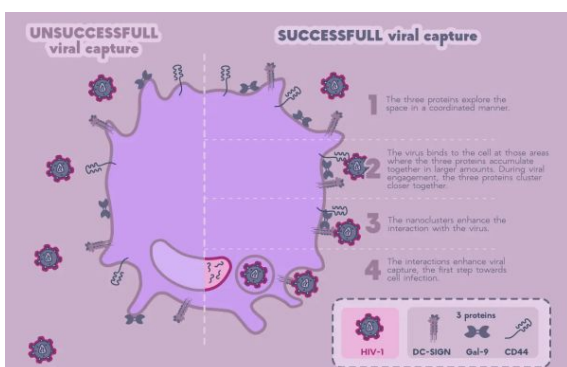
Referència:

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

Agraïments:

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 i½Multicolor single molecule tracking with lifetime imaging i½ (2023-321188 to S.P.-P.), Government 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.), Fundació CELLEX (Barcelona), Fundació Mir-Puig and the Generalitat de Catalunya 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 Skłodowska-Curie grant 754558-PREBIST. J.A. acknowledges funding from the European Union's Horizon 2020 under the Marie Skłodowska-Curie grant agreements No 847517.



Il·lustració del procés de captura del HIV. Credit: Isabel Santa-Maria.