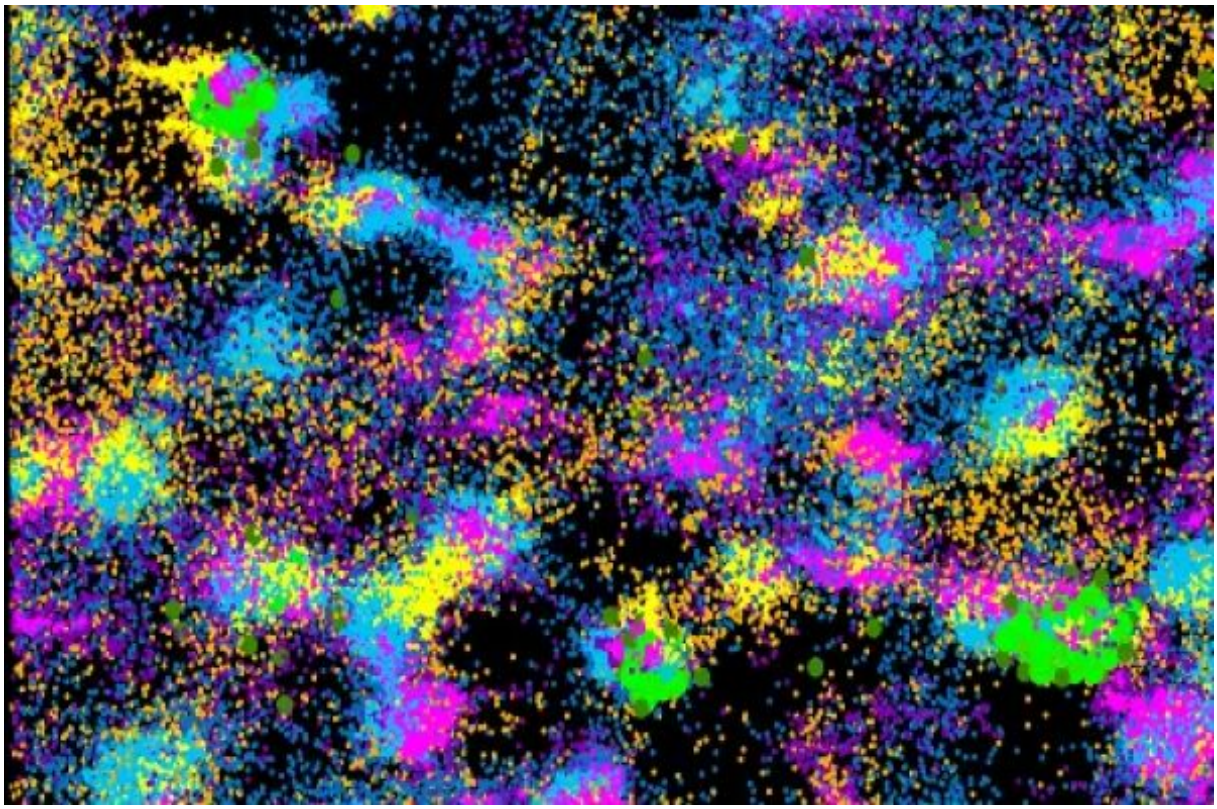
ICFO



El mapeo de interacciones multimoleculares individuales proporciona nuevos conocimientos sobre la captura viral

Investigadores han desarrollado una nueva y potente metodologia capaz de monitorear a nivel individual y de manera simultanea diferentes moleculas en celulas vivas. Este avance tecnologico representa un hito importante en el campo de moleculas individuales.
La tecnica permitio descubrir interacciones individuales entre tres proteinas y dos virus diferentes, el VIH-1 y el SARS-CoV-2, las cuales resultaron cruciales para aumentar su captura. Estos resultados sugieren la existencia de un mecanismo fisico comun que mejora la captura viral, el primer paso esencial que eventualmente conduce a la infeccion.

November 12, 2024

Cuando un virus nos infecta, las celulas dendriticas lo detectan y capturan. Luego, presentan el virus a otras celulas del sistema inmunologico, que activan la respuesta adecuada para intentar detener la infeccion. Sin embargo, algunos virus, como el VIH, han aprendido a aprovechar esta situacion y utilizan las celulas dendriticas como "caballos de Troya" para propagarse mas profundamente en el cuerpo. Una vez dentro, el VIH inhibe la capacidad de las celulas dendriticas para madurar y alertar al sistema inmunologico, debilitando la respuesta inmune y pudiendo derivar finalmente en SIDA.

Entender los eventos moleculares tempranos que conducen a la captura viral y la entrada en las celulas es crucial para disenar vacunas efectivas. Para esclarecer como un receptor en la membrana celular se une y captura un virus, es esencial obtener informacion a nivel de molecula individual. Sin embargo, las moleculas rara vez actuan de forma aislada; su funcion depende de interacciones con otras moleculas. Se las puede imaginar como una sociedad, donde el comportamiento individual depende en gran medida de las interacciones con otros. i¿½Te comportas de manera diferente al interactuar con tus padres, hermanos o jefe. Y a mayoria de las veces necesitamos interactuar con otros para hacer mejor nuestro trabajo, o simplemente porque no podemos hacerlo solosi¿½, explica Maria Garcia Parajo, profe ora ICREA en ICFO. i¿½Exactamente lo mismo sucede en una celula: las interacciones entre moleculas individuales constituyen la base de su funcion y pueden m jorar significativamente como la desempen ni¿½. Por lo tanto, desarrollar una herramienta capaz de rastrear interacciones entre m ltiples moleculas en tiempo real, a nivel de molecula individual y en celulas vivas, ha ido una prioridad en biofisica. Investigadores del ICFO, el **Dr. Nicolas Mateos**, el **Dr. Enric Gutierrez-Martinez**, la **Dra. Jessica Angulo-Capel**, el **Dr. Juan A. Torreno-Pina**, liderados por la **Profesora ICREA Maria F. Garcia Parajo**, junto con el King's College de Londres, han presentado recientemente en ACS Nano una tecnica que satisface estas condiciones. El equipo desarrollo una nueva y potente metodologia a nivel de molecula individual, capaz de monitorear simultaneamente diferentes moleculas etiquetadas en celulas vivas, y utilizo esta informacion para construir mapas espaciotemporales. **Estos mapas rastrean la posicion y las interacciones de varias bioparticulas individualmente a lo largo del tiempo**, algo que los enfoques anteriores no podian resolver.

Con esta tecnica, los investigadores capturaron interacciones en tiempo real entre particulas virales individuales y tres proteinas diferentes en la membrana de celulas dendriticas inmaduras vivas. **Este mapeo revelo una accion coordinada de las tres proteinas, que fue crucial para capturar dos virus diferentes: VIH-1 y SARS-CoV-2.**

HiDenMaps multicolor para visualizar interacciones moleculares

Para estudiar las interacciones entre virus y receptores, asi como el papel de otras moleculas individuales en tiempo real, el equipo desarrollo una tecnica de mapeo multimolecular llamada Mapas de Alta Densidad Multicolor (HiDenMaps, por sus siglas en ingles). Para

demostrar su utilidad, estudiaron el virus VIH-1 y sus interacciones con tres proteinas (DC-SIGN, CD44 y galectina-9).
Los HiDenMaps se crearon etiquetando cada proteina y el virus con marcadores fluorescentes. Tras iluminarlos, cada marcador emitia luz de un color diferente, permitiendo a los investigadores rastrear sus posiciones con precision nanometrica. Los datos de cada marcador se combinaron en una sola imagen, el HiDenMap. Luego, los mapas individuales se integraron en un unico mapa multicolor que encapsulaba la distribucion espacial y temporal de todas las moleculas a la vez. i¿½Los mapas finales tienen cuatro colores, uno para ca a molecula. Eso hace que i¿½veri¿½ donde y cuando coinciden varias de ellas sea mas acil, ayudandonos a visualizar sus interaccionesi¿½, asegura el Dr. Nicolas Mateos, autor p incipal del articulo y desarrollador principal de la

Como las celulas dendriticas capturan el VIH de manera eficiente
Los HiDenMaps, combinados con herramientas cuantitativas, permitieron a los investigadores seguir las tres proteinas y el virus en tiempo real, mostrando como sus interacciones influyen en la union y captura viral. Para el VIH-1, identificaron cuatro pasos principales. Primero, las tres proteinas exploran el entorno de manera coordinada, inspeccionando las mismas o regiones adyacentes, como una patrulla celular. Cuando el virus llega, es mas probable que se una en areas donde las tres proteinas se acumulan en mayores cantidades y, durante el contacto viral, las tres proteinas se agrupan mas estrechamente, fortaleciendo aun mas la union. Estos nanoclusters mejoran la interaccion entre el receptor viral (DC-SIGN) y el virus. Y, finalmente, la interaccion mejorada aumenta la probabilidad de captura del virus, el paso inicial hacia la infeccion de las celulas dendriticas. i¿½Descubrimos que, aunque DC-SIGN puede capturar el virus, necesita dos socios -CD44 y galectina-9- para hacerlo de manera eficientei¿½, explica el Dr. Mateos. i¿½Curiosa ente, solo cuando DC-SIGN interactua simultaneamente con ambos, la union y captura de los virus es mas fuerte, mas estable y mas probable que conduzca a una infeccioni¿½,

HiDenMaps: una herramienta general para rastrear interacciones multimoleculares
El mismo proceso fue observado para el SARS-CoV-2, el causante del COVID-19. **Esto sugiere un mecanismo potencialmente generalizado para la captura viral en celulas dendriticas inmaduras, donde las tres proteinas desempenan un papel central**. Segun la Prof. Garcia Parajo: i¿½Esto tiene enormes implicaciones para el desarrollo de vacunas, ya que preven r las etapas tempranas de la captura viral interrumpiendo las interacciones entre DC-SIGN y sus socios podria ser una estrategia mas efectiva que bloquear unicamente el recept r virali?
½. De manera mas general, los HiDenMaps multicolor podrian aplicarse para estudiar cualq ier interaccion multimolecular en celulas vivas. Ademas, al combinar los HiDenMaps con tra tecnica existente llamada multiplexacion por frecuencia, se podria aumentar el numer

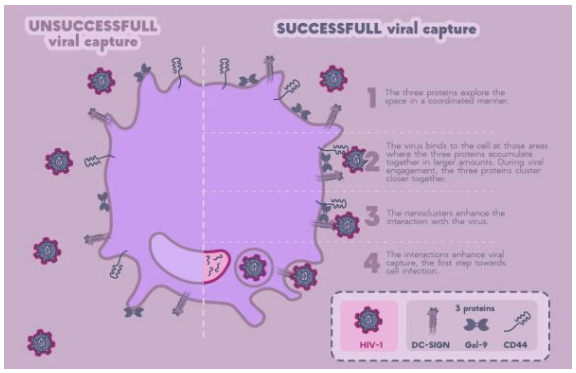
de particulas rastreadas. i¿½Idealmente, una combinacion asi resultaria en un HiDenM
p con todos los colores del arcoiris. El desafio es que, por el momento, la multiplexaci
n por frecuencia solo se ha aplicado en celulas fijas. Aplicarla a celulas vivas no es trivial
pero desde luego no imposiblei¿½, concluye la Prof. Garcia Parajo. Esta amplia vers
tilidad convierte a los HiDenMaps en un avance tecnologico muy significativo para el camp
de las moleculas indiv

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

Agradecimientos:

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.



Ilustracion del proceso de captura del HIV. Credito: Isabel Santa-Maria.