

Image not found

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 capaç d'augmentar l'emissio de fluorescència en tot l'espectre visible, cosa que permet la deteccio multicolor de molecules individuals a concentracions micromolars. El metode proposat també pot examinar més de mil nanoantenes en paral·lel accelerant els temps d'adquisicio de dades.

August 26, 2024

Desentranyar les complexitats dels processos biològics a nivell de molecules individuals es 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 biomolecules desitjades o les seves etiquetes fluorescentes. Maximitzar la brillantor de la seva fluorescència 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 típiques 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 biològicament 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 fluorescència 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 fluorescència i, consegüentment, dificulta la sensibilitat de deteccio

D'altra banda, les aplicacions de biosensat sovint requereixen sensibilitats a nivell d 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 for 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 potencii 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, en 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'anàlisis 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 això 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'unió 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