

# Un nou mètode per a la detecció d'infeccions virals incloent: SARS-CoV-2, Influenza i RSV

## Recerca

Un estudi de la Universitat de Barcelona, en col·laboració amb el CSIC ha permès el desenvolupament d'un nou mètode per a la detecció d'infeccions basat en la tecnologia de formació de tríplexs per la detecció d'RNAs virals.

Els resultats han estat publicats a la revista [International Journal of Molecular Sciences](#) al Special Issue "Chemical and Biology of Noncanonical Nucleic Acid Structures" i han estat objecte de la patent [EP21382818.9 "Polypurine reverse Hoogsteen hairpins and parallel clamps and their use as biosensors"](#) presentada pel CSIC, el CIBER I el Centre de Patents de la UB. El treball forma part del Projecte subvencionat per La Marató de TV3 (202110-30-31-32-33) dedicat a la lluita contra la COVID19.

D'esquerra a dreta: Judith Cullell, Ana Delgado, Verònica Noé Simonas Valiuska, Ester López-Aguilar i Carles J. Ciudad.

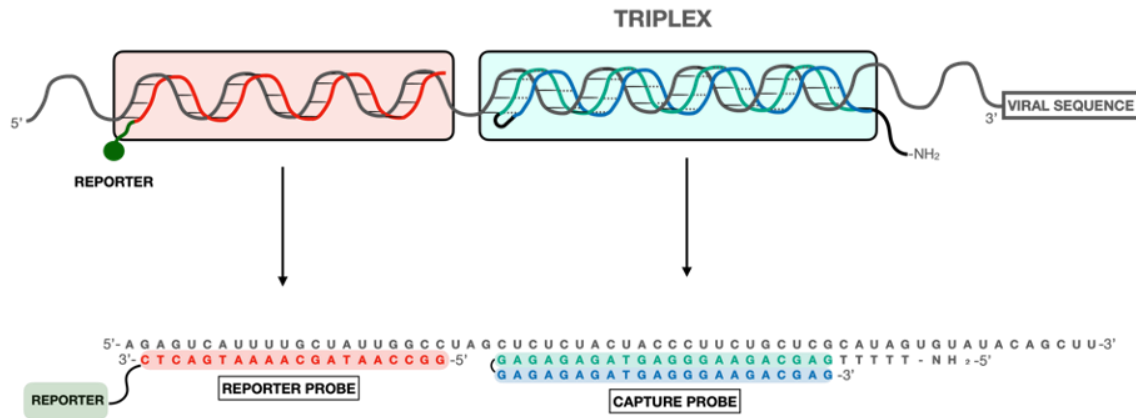
## Novetat del Mètode

La novetat del mètode estriba en aprofitar la capacitat de les pines de polipurines (PPRHs), inventades pel "[Cancer Therapy Group](#)", per capturar l'RNA viral tot formant un tríplex d'alta afinitat que connectat amb una sonda reportera dona finalment un senyal de detecció de l'agent viral. El mètode té l'avantatge de realitzar-se sense reacció de transcriptasa inversa ni necessitat d'aparell termociclador, amb una sensibilitat i especificitat equivalent al PCR en menys d'1 hora.

## PPRHs (Pines de Polipurines)

Els PPRHs són forquilles de DNA d'una sola cadena no modificat formades per dos dominis especulars de polipurines antiparal·leles enllaçats per un bucle de timidina i units per enllaços intramoleculars de Hoogsteen inversos. Poden unir-se d'una manera específica a seqüències de polipirimidines en ssDNA, dsDNA o RNA mitjançant enllaços Watson-Crick, formant així un tríplex antiparal·lel. Els PPRH s'han descrit com a eines de silenciament gènic de diversos gens implicats principalment en càncer. A més, s'han incorporat com a sondes en biosensors per a la detecció de miRNAs, per determinar l'estat de metilació del DNA i pel diagnòstic de pneumònia per *Pneumocystis*.

En el cas del SARS-CoV-2, es va decidir utilitzar el format d'hibridació sandvitx en diversos dispositius de biodetecció. Aquesta estratègia utilitza dos oligonucleòtids: una forquilla de PPRH formador de tríplex que actua com a sonda de captura i un oligonucleòtid de DNA formador de dúplex marcat que actua com a sonda de detecció (vegeu figura). Les forquilles de PPRH que formen tríplex es van dissenyar per unir-se a seqüències de polipirimidina del SARS-CoV-2 i les sondes de detecció es van dissenyar per ser complementàries a una regió propera al lloc de la diana de polipirimidines. D'aquesta manera, la presència de l'RNA del SARS-CoV-2 es detecta mitjançant la formació del complex ternari a la superfície del biosensor. Vam anomenar aquest mètode "Triplex Enhanced Nucleic Acid Detection Assay (TENADA).



## Aplicacions en Biomedicina

La metodologia endegada en aquest treball es pot aplicar no només a la detecció del virus causant del COVID19 sinó també a d'altres malalties respiratòries que poden cursar de manera simultània, com ara la Influenza causada pel virus H1N1 i la deficiència que afecta a nounats provocada pel virus sincitial respiratori (RSV) i que necessiten d'un diagnòstic diferencial acurat.

A més, l'alta afinitat dels PPRHs per l'RNA viral es pot també utilitzar per inhibir la seva replicació. Per aquest motiu, s'estan estudiant les propietats antivirals de CC1 i CC3 en cèl·lules VeroE6 infectades amb virions SARS-CoV-2.

En aquest treball interdisciplinari han participat investigadors de la Facultat de Farmàcia i Ciències de la Alimentació i IN2UB (V.Noé i C.Ciudad), IQAC, CSIC (A. Aviñó i R. Eritja), CIBERBBN, INMA (V. Grazu i J. Martínez) i IMB-CNM.

Article de referència:

Aviñó, A.; Cuestas-Ayllón, C.; Gutiérrez-Capitán, M.; Vilaplana, L.; Grazu, V.; Noé, V.; Balada, E.; Baldi, A.; Félix, A.J.; Aubets, E.; Valiuska, S.; Domínguez, A.; Gargallo, R.; Eritja, R.; Marco, M.-P.; Fernández-Sánchez, C.; Martínez de la Fuente, J.; Ciudad, C.J. Detection of SARS-CoV-2 Virus by Triplex Enhanced Nucleic Acid Detection Assay (TENADA). *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 15258. <https://doi.org/10.3390/ijms232315258>