

Venerdì 26 Maggio, ore 14:30 (\*)

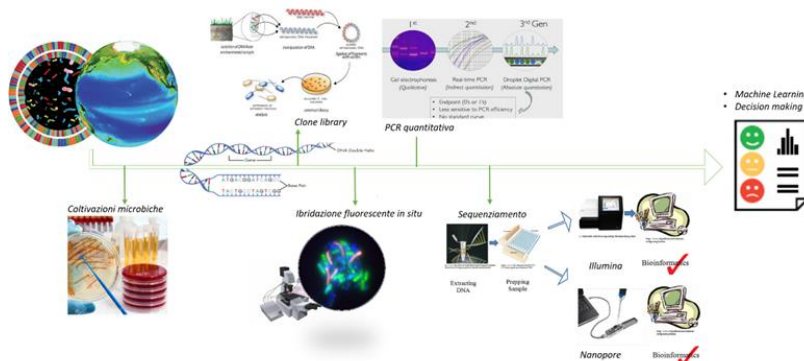
Fruibile in streaming attraverso la piattaforma 'GoToMeeting' previa registrazione

## Biomonitoraggio ambientale con approcci di terza generazione: Digital Droplet PCR per la quantificazione di biomarcatori/bioindicatori e tecnologia Nanopore per il sequenziamento

BRUNA MATTURRO

CNR-IRSA Roma

<https://www.linkedin.com/in/bruna-matturro/>



Il biomonitoraggio (*bm*) è uno strumento essenziale per diverse applicazioni ambientali. Ad oggi le metodologie biomolecolari sono ampiamente usate per la *bm* consentendo di analizzare geni, microrganismi e comunità microbiche con approcci coltura-indipendenti (*environmental-omics*) che consentono di individuare e studiare in tempi rapidi anche la frazione microbica non coltivabile. Per la quantificazione di bioindicatori/biomarcatori di diversi processi ambientali, negli ultimi quindici anni la Real Time PCR (qPCR) è stata ottimizzata, validata e applicata con successo quale metodologia elettiva. Tuttavia, il limite di rilevabilità è un punto critico della qPCR che può generare risultati fuorvianti in particolare con concentrazioni di *targets*  $\leq 1E+03$  copie geniche/reazione. Inoltre, la necessità di allestire rette di calibrazione ed eseguire reazioni in triplicato, rende talvolta questo approccio *time-consuming*. Per superare i limiti di accuratezza, sensibilità, precisione e riproducibilità della qPCR, abbiamo sviluppato e ottimizzato protocolli di *Digital Droplet PCR (ddPCR)* per il *bm* di geni coinvolti in diversi processi ambientali dal biorisanamento, alla valorizzazione di sostanze di scarto per la produzione di biocomposti ad alto valore aggiunto, all'antibiotico resistenza. Per il set di *targets* analizzati, è stato valutato il *range* dinamico di risposta della ddPCR rispetto alla qPCR e i dati ottenuti su diverse tipologie di campioni saranno discussi in questa presentazione, evidenziando le potenzialità della ddPCR ai fini del biomonitoraggio.

Un ulteriore elemento essenziale per il *bm* è la caratterizzazione della composizione/funzionalità di microbiomi mediante sequenziamento finalizzato all'analisi (meta)genomica/trascrittomica. Nei primi anni 2000, il sequenziamento *high-throughput* ha mosso i primi passi consentendo, soprattutto su piattaforma *Illumina* (basata su *short-read sequencing*), di fare luce nella *black box* microbica evidenziandone le potenzialità per molti processi biologici di interesse ambientale. Sebbene il sistema di sequenziamento *Illumina* sia valido ed altamente efficace, per alcune applicazioni in tempo reale e *on-site* dimostra delle criticità, soprattutto se non si dispone di genomi di riferimento. Recentemente è stata sviluppata la tecnologia di sequenziamento *Nanopore* (basata su *long-read sequencing*) con elevata rapidità di esecuzione e con strumentazione agevole per applicazioni in *real-time* e *on-site*. Nella presentazione verrà riportata l'esperienza maturata su entrambe le piattaforme di sequenziamento, discutendone le potenzialità per rendere il biomonitoraggio uno strumento di *routine*, soprattutto nell'ottica di integrare la genomica ambientale in sistemi di *machine learning* finalizzati a decifrare i dati *-omics* e tradurli in azioni a supporto delle fasi gestionali e decisionali di problemi ambientali in sistemi naturali o ingegnerizzati.

Per ulteriori informazioni:

[bruna.matturro@irsa.cnr.it](mailto:bruna.matturro@irsa.cnr.it)

\* Il seminario verrà registrato e reso successivamente disponibile sul sito web dell'Istituto.