

# Seminario: le scienze omiche e la loro applicazione in microbiologia

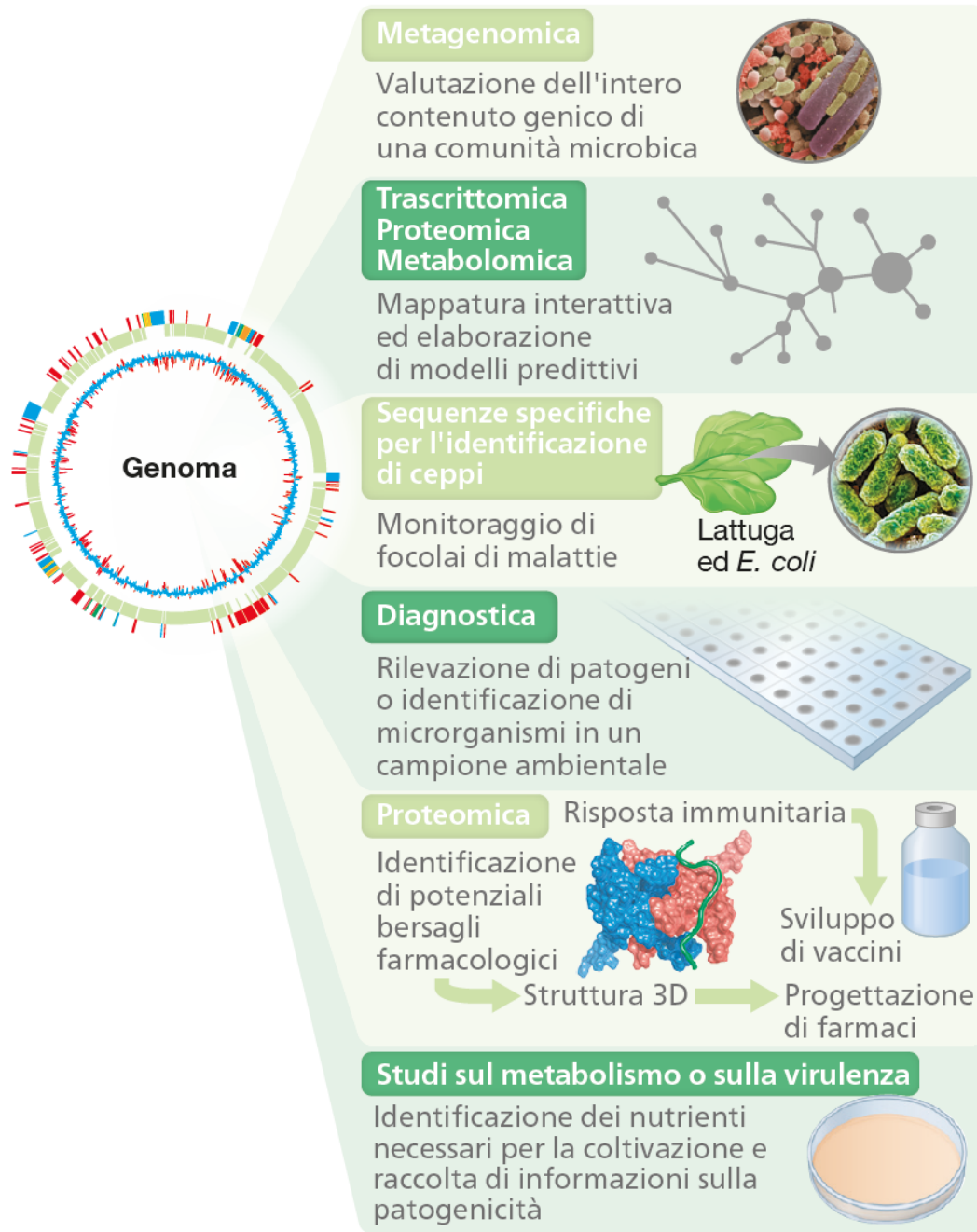
DOTT.SSA ROSA ANNA NASTRO

«Si definiscono *scienze omiche* quelle discipline che utilizzano tecnologie di analisi che consentono la produzione di informazioni (dati), in numero molto elevato e nello stesso intervallo di tempo, utili per la descrizione e l'interpretazione del sistema biologico studiato.» da Enciclopedia Treccani

- ❑ Genomica → mappatura, sequenziamento, analisi e confronto di genomi
- ❑ Trascrittomica → analisi del trascrittoma (insieme degli mRNA trascritti da uno o più genomi)
- ❑ Metabolomica → identifica gli specifici metabolomi (insieme dei metaboliti) che descrivono i singoli processi biologici.
- ❑ Proteomica → identifica lo spettro di proteine espresse in condizioni fisiologiche (proteoma) e di monitorarne l'alterazione in stati differenti o in seguito a trattamenti

**E' possibile ottenere informazioni sulla biologia di un'intera comunità microbica: in questo caso si parla di meta-genomica, meta-trascrittomica, meta-proteomica, meta-metabolomica**





**Figura 10.1 Utilità delle sequenze genomiche microbiche.** Una sequenza genomica permette di sviluppare approcci omici e strumenti per comprendere, analizzare e monitorare i microrganismi, sia in laboratorio sia in natura. Può anche rivelare potenziali bersagli per farmaci o vaccini.

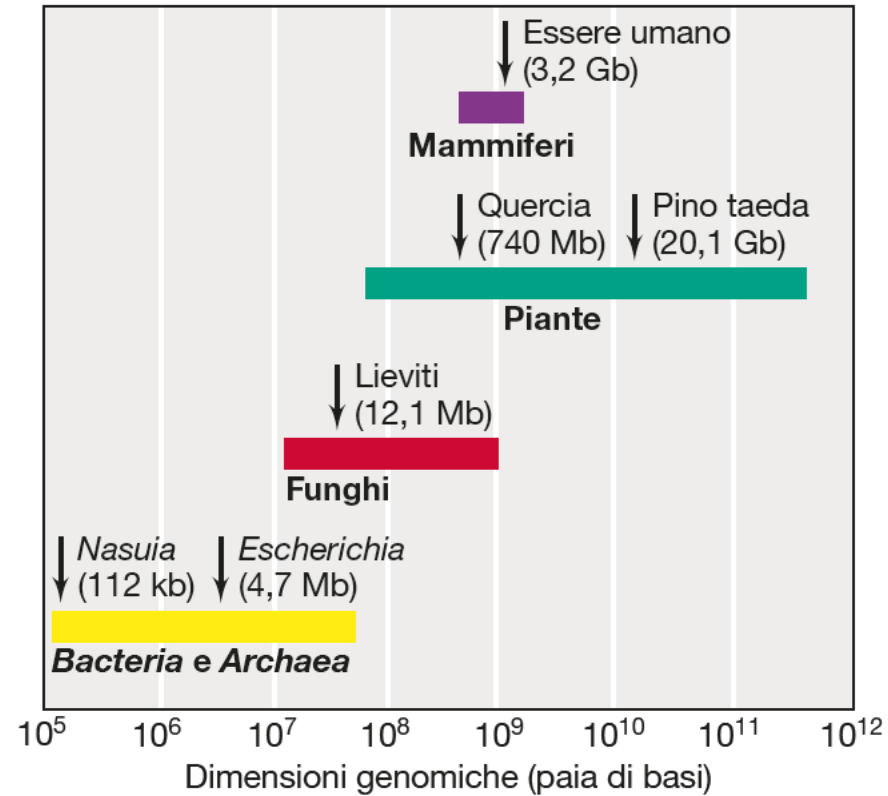
**Tabella 10.1 Genomi di specie selezionate di *Bacteria* e *Archaea*<sup>a</sup>**

Organismo	Stile di vita <sup>b</sup>	Dimensioni (bp)	ORF <sup>c</sup>	Caratteristiche
<b>Bacteria</b>				
<i>Nasuia deltocephalinicola</i>	E	112 091	137	Endosimbionte degenerato di insetti che si nutrono di linfa
<i>Tremblaya princeps</i>	E	138 931	121	Endosimbionte degenerato delle cocciniglie
<i>Hodgkinia cicadicola</i>	E	143 795	169	Endosimbionte degenerato delle cicadidi
<i>Mycoplasma genitalium</i>	P	580 070	525	Il più piccolo genoma batterico di un non simbionte
<i>Rickettsia prowazekii</i>	P	1 111 523	834	Parassita intracellulare obbligato, causa il tifo epidemico
<i>Treponema pallidum</i>	P	1 138 006	1 041	Spirocheta che causa la sifilide
Famiglia <i>Methylophilaceae</i> ceppo HTCC2181	FL	1 304 428	1 354	Metilotrofo marino, il più piccolo genoma di un organismo indipendente
<i>Thermotoga maritima</i>	FL	1 860 725	1 877	Ipertermofilo
<i>Deinococcus radiodurans</i>	FL	3 284 156	2 185	Cromosomi multipli, resistente alle radiazioni
<i>Bacillus subtilis</i>	FL	4 214 810	4 100	Modello genetico dei Gram-positivi
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	P	4 411 529	3 294	Causa la tubercolosi
<i>Escherichia coli</i> K-12	FL	4 639 221	4 288	Modello genetico dei Gram-negativi
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	FL	5 594 477	5 361	Ceppo enteropatogeno di <i>E. coli</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	FL	9 105 828	8 317	Fissa l'azoto, induce noduli nelle piante di soia
<i>Sorangium cellulosum</i>	FL	14 782 125	11 559	Forma corpi fruttiferi multicellulari
<i>Minicystis rosea</i>	FL	16 040 666	14 018	Forma corpi fruttiferi multicellulari
<b>Archaea</b>				
<i>Nanoarchaeum equitans</i>	P	490 885	552	Il più piccolo genoma di un non simbionte
<i>Methanocaldococcus jannaschii</i>	FL	1 664 976	1 738	Ipertermofilo metanogeno
<i>Pyrococcus horikoshii</i>	FL	1 738 505	2 061	Ipertermofilo
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	FL	2 992 245	2 977	Ipertermofilo, chemiolitotrofo per lo zolfo
<i>Haloarcula marismortui</i>	FL	4 274 642	4 242	Alofilo estremo, batteriorodopsina
<i>Methanosarcina acetivorans</i>	FL	5 751 000	4 252	Metanogeno che usa acetato

<sup>a</sup>Le informazioni relative ai genomi procarioti possono essere consultate sul sito web: <http://cmr.jcvi.org>.

<sup>b</sup>E, endosimbionte; P, parassita; FL organismi a vita libera.

<sup>c</sup>Open Reading Frames. Sono inclusi anche i geni che codificano proteine note, al pari di tutte le ORF che potrebbero codificare proteine formate da un numero di residui aminoacidici superiore ai 100 aminoacidi. Le ORF di dimensioni minori di solito non sono incluse, a meno che non mostrino similitudini con geni di altri organismi o a meno che l'utilizzo dei codoni sia compatibile con quello mostrato dall'organismo in studio.



**Figura 10.2 Dimensioni genomiche di cellule microbiche e di organismi superiori.** Si confronti con le dimensioni dei genomi virali nel Capitolo 11 (► Figura 11.1). Il più grande genoma conosciuto, che supera di 50 volte quello umano, appartiene all'angiosperma *Paris japonica*.

## ...Alcune definizioni...

---

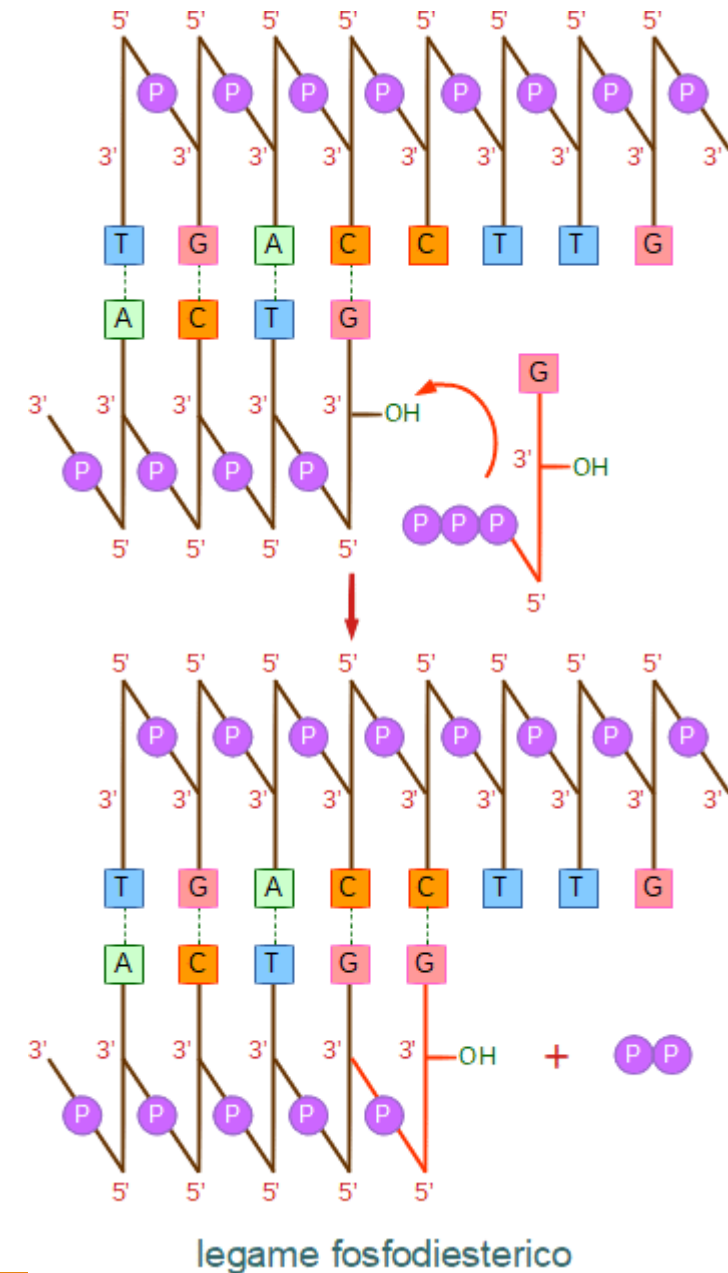
Con il **sequenziamento** si determina l'ordine sequenziale preciso delle subunità di una macromolecola. Nel caso degli acidi nucleici, il sequenziamento restituisce l'ordine secondo cui sono allineati i nucleotidi.

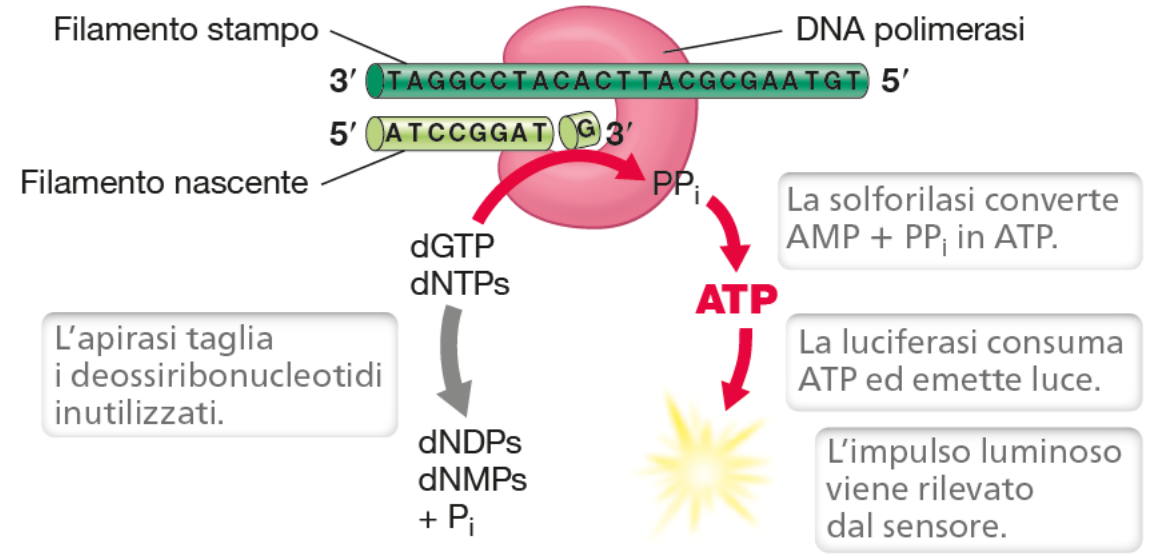
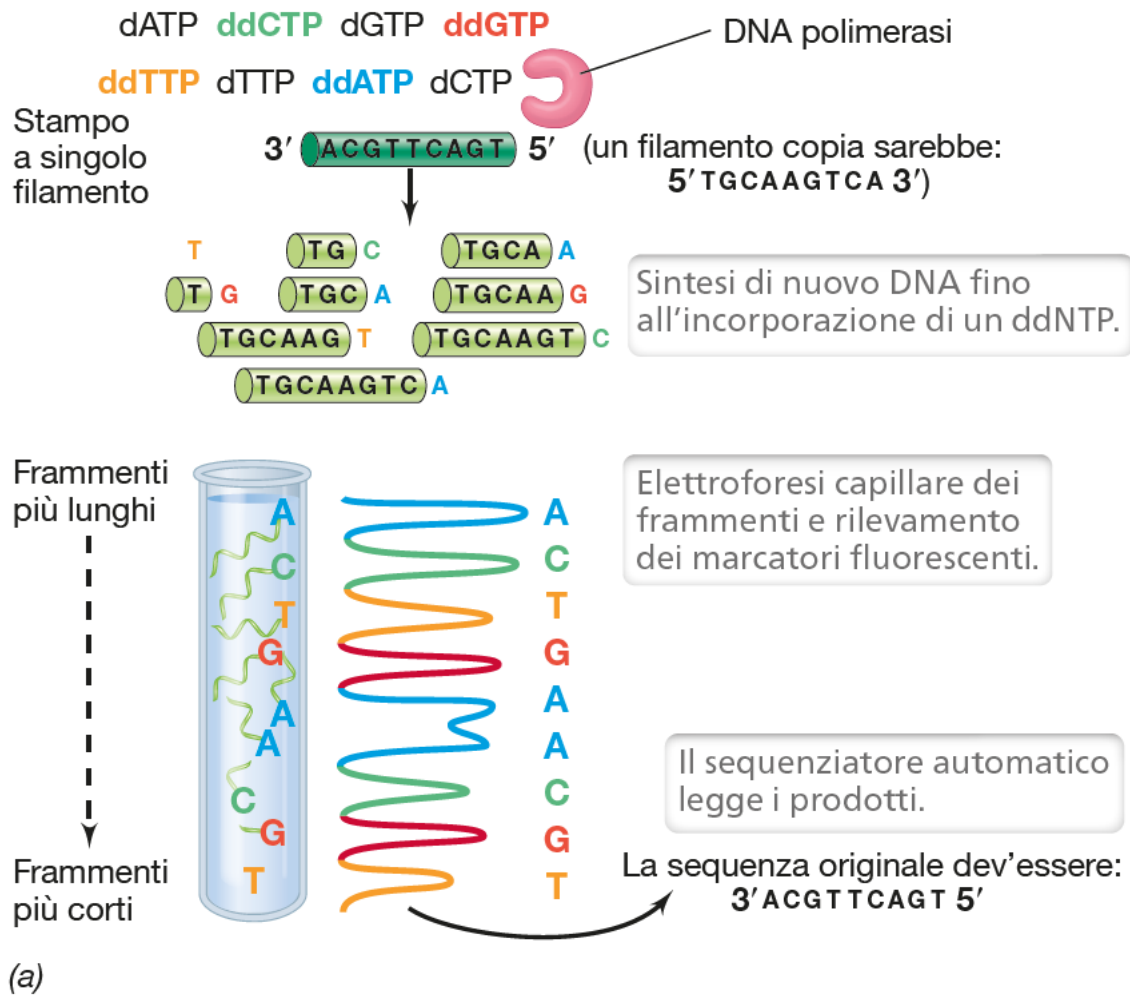
Al sequenziamento segue l'**annotazione genomica** che consiste nella conversione dei dati grezzi in un elenco di gene delle altre sequenze presenti nel genoma. La bioinformatica ci permette di raccogliere ed analizzare le sequenze e le strutture degli acidi nucleici e delle proteine.

## Schematizziamo le varie tappe di replicazione.

1. Una *proteina iniziatrice* (DNA elicasi seguita da proteine SSB) separa i due filamenti della doppia elica e altri enzimi (DNA topoisomerasi) aprono una bolla di replicazione.
2. La *primasi* sintetizza un frammento di RNA che funziona da innesco (*primer*).
3. Una *DNA polimerasi* allunga la catena (filamento guida) in modo continuo sul filamento stampo 3' e in frammenti di Okazaki nello stampo 5', partendo dalla terminazione 3'-OH dell'RNA.
4. La *DNA polimerasi* nei Procarioti, o DNA polimerasi con altri enzimi ad attività esonucleasica negli Eucarioti, rimuove il *primer*.
5. Una *DNA polimerasi* riempie il vuoto lasciato dall'RNA.
6. La *ligasi* unisce i frammenti.

La sintesi di un nuovo filamento di DNA avviene sempre in direzione  
**5' → 3'**





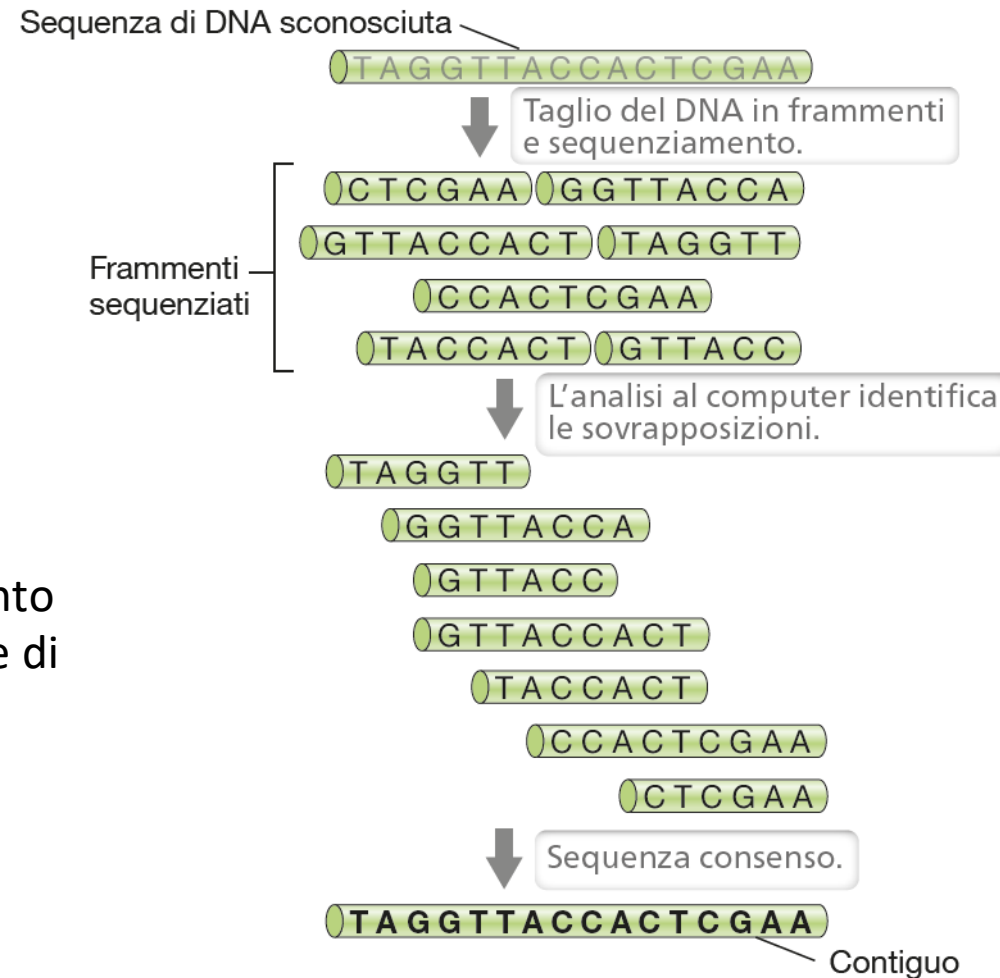
**Figura 10.4 Sequenziamento del DNA.** (a) Sequenziamento di Sanger. Quando una polimerasi incorpora un ddNTP durante la sintesi, la catena del DNA termina. L'identità del ddNTP terminale può essere determinata mediante elettroforesi capillare e rivelamento della fluorescenza. (b) Pirosequenziamento. Quando un nuovo dNTP viene inserito nel filamento nascente di DNA (freccie rosse), viene rilasciato pirofosfato (PP<sub>i</sub>) che viene usato dall'enzima solforilasi per produrre ATP dall'AMP. L'ATP viene consumato dall'enzima luciferasi, che emette luce. I dNTP inutilizzati sono degradati dall'enzima apirasi (freccia grigia).



## Tabella 10.2 Metodi di sequenziamento del DNA

Generazione	Metodo	Caratteristiche
<b>Prima generazione</b>	Metodo dei dideoossi di Sanger (radioattività o fluorescenza; amplificazione del DNA)	Lunghezza delle letture di sequenziamento: 700-900 basi Usato per il Progetto Genoma Umano
<b>Seconda generazione</b>	Pirosequenziamento 454 (fluorescenza; amplificazione del DNA; gestione massiva in parallelo)	Lunghezza delle letture di sequenziamento: 400-700 basi Usato per sequenziare il genoma di James Watson (completato nel 2007)
	Metodo Illumina/Solexa (fluorescenza; amplificazione del DNA; gestione massiva in parallelo)	Lunghezza delle letture di sequenziamento (read): 50-150 basi. Genoma del panda gigante (2009; Beijing Genome Institute); Genoma dell'Homo di Denisova (2010)
	Metodo SOLiD (fluorescenza; amplificazione del DNA; gestione massiva in parallelo)	Lunghezza delle letture di sequenziamento (read): 50-100 basi
	Ion torrent (elettronico-pH; amplificazione del DNA)	Lunghezza delle letture di sequenziamento (read): 200-400 basi Usato per sequenziare il genoma di Gordon Moore, cofondatore di Intel
<b>Terza generazione</b>	Pacific Biosciences SMRT (fluorescenza; singola molecola; zero mode waveguide)	Lunghezza delle letture di sequenziamento (read): 2500-3000 basi
	Oxford nanopore (elettronico-carica elettrica; singola molecola; tempo reale)	Lunghezza delle letture di sequenziamento (read): 9000 basi L'unità portatile MinION ha circa le dimensioni di una chiavetta USB

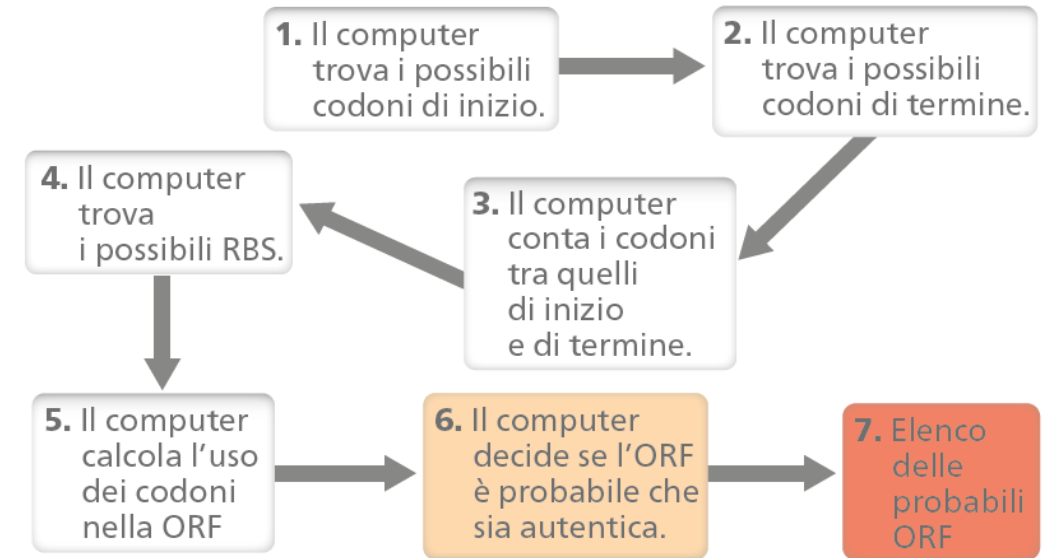
Il genoma batterico contiene un numero limitato di sequenze introniche per cui il sequenziamento risulta essenzialmente in una serie di Open Reading Frames (ORFs)



**Figura 10.5** Assemblaggio al computer di una sequenza di DNA.

La maggior parte dei metodi di sequenziamento del DNA genera un elevato numero di sequenze brevi (da 30 a molte centinaia di basi) che devono essere assemblate. Il computer cerca le sovrapposizioni nelle sequenze brevi e poi le organizza in modo da formare un contiguo, o una sequenza consenso.

## Struttura di una ORF



Una volta ricostruita la sequenza di interesse, essa viene inserita in banca dati (GENBank o la EMBL per esempio) che con l'algoritmo BLAST (Basic Local Allignment Tool) permettono di confrontare la sequenza nucleotidica trovata con quelle già in database ed identificarla.

EMBL European Molecular Biology Laboratory (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>)

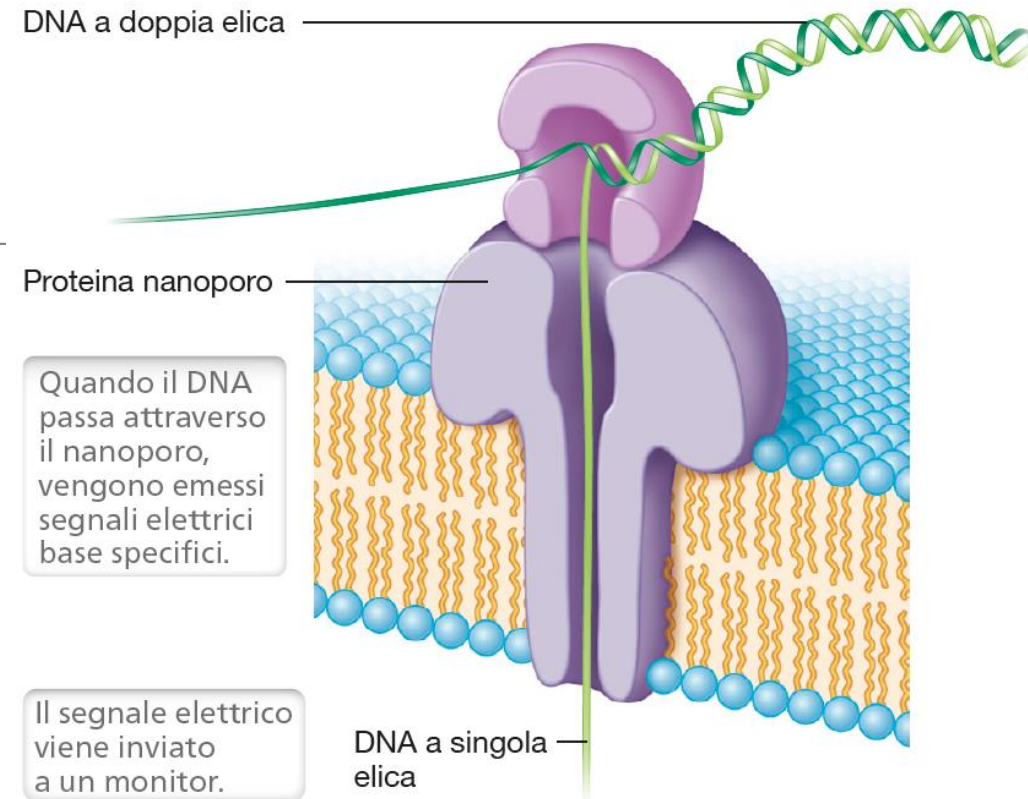
### Figura 10.6 Identificazione al computer di possibili ORF.

Il computer esegue la scansione della sequenza di DNA cercando prima i codoni di inizio (start) e di termine (stop). Quindi conta il numero di codoni in ciascuna fase di lettura ininterrotta e scarta quelle troppo corte. La probabilità che una ORF sia autentica aumenta se è preceduta alla distanza corretta da un probabile sito di legame ribosomale (RBS, *Ribosomal Binding Site*). Il calcolo dell'uso dei codoni (*codon bias*) è utilizzato per verificare se una ORF rispetta l'uso dei codoni dell'organismo di interesse.

### Il sequenziamento del DNA a portata di mano

Proteine che formano pori su membrana provocano la denaturazione del DNA. Al passare dei differenti nucleotidi, viene generato un segnale elettrico che viene inviato ad un computer che interpreta il segnale e restituisce la sequenza.

La rilevazione del segnale elettrico permette di identificare anche nucleotidi modificati (metilati)



**Figura 1 Sequenziamento con Nanopore-Minlon.**

Una molecola di DNA viene resa a singolo filamento e fatta passare attraverso dei pori legati a una membrana. Quando il DNA passa attraverso il nanoporo emette un segnale elettrico che è base specifico, permettendo così di ottenere la sequenza del DNA.

## Esplora il mondo microbico

### Il sequenziamento del DNA a portata di mano

I sistemi nanopore sono portatili e permettono il sequenziamento di filamenti di DNA fino a 9000 bp



**Figura 2** Uso del Minlon in campo durante un'epidemia di Ebola in Africa dell'Ovest nel 2015. Crediti: © EMLab/ Tommy Trenchard 2016.



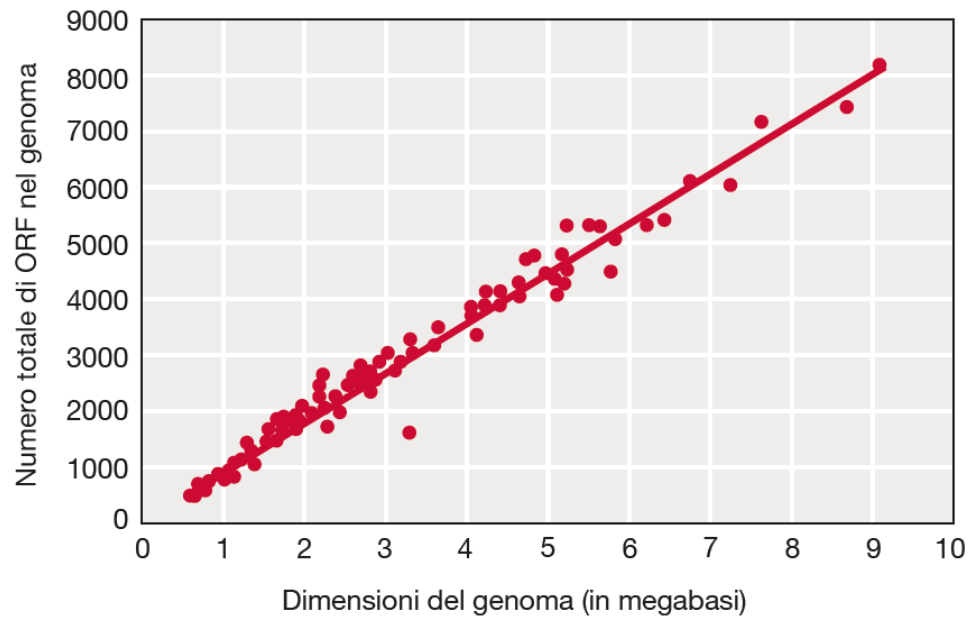
L'analisi delle sequenze deve tenere conto anche del cosiddetto «uso dei codoni» per il quale in un determinato genotipo i codoni codificanti per un dato amminoacido possono essere più di uno, con una frequenza di utilizzo tipica.

Il rilevamento di una frequenza di utilizzo dei codoni che codificano per un dato amminoacido in un dato organismo diversa da quella tipica per il suo genotipo può significare che o la sequenza non è funzionale o è stata ottenuta mediante trasferimento genico.

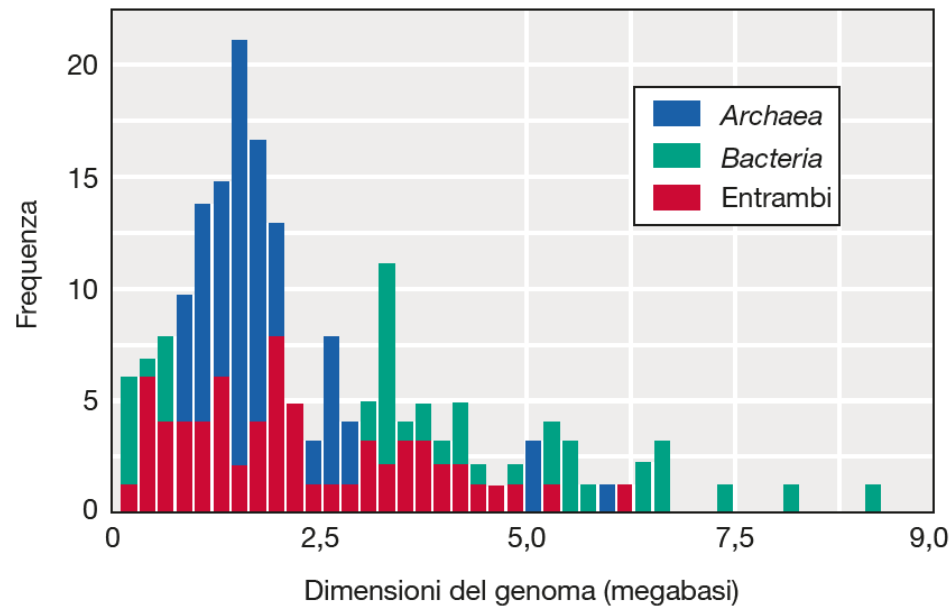
**Tabella 10.3 Esempi di uso dei codoni (*codon bias*)**

Codone dell'arginina <sup>a</sup>	Uso di ciascun codone dell'arginina (%)		
	<i>Escherichia coli</i>	Moscerino della frutta	Uomo
AGA	1	10	22
AGG	1	6	23
CGA	4	8	10
CGC	39	49	22
CGG	4	9	14
CGU	49	18	9

<sup>a</sup>L'arginina ha sei codoni; si veda la Tabella 4.5.



(a)



(b)

**Figura 10.7 Dimensioni e contenuto del genoma di *Bacteria* e *Archaea*.** (a) Correlazione tra dimensioni del genoma e contenuto in ORF nei genomi delle cellule procariotiche. I dati derivano dall'analisi di 115 genomi completi appartenenti a specie di *Bacteria* e *Archaea*. Dati da: Konstantinidis, K.T. e Tiedje, J.M. 2004. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 101: 3160. (b) Distribuzione delle dimensioni genomiche in un campione rappresentativo di *Archaea* (blu) e *Bacteria* (verde). I genomi sono stati scelti in base a un'equa distribuzione tra i due domini filogenetici. I data point relativi alle frequenze di occorrenza comuni ai due domini sono indicati in rosso. Dati adattati da: Kellner, S., Spang, A., Offre, P., Szöllosi, G.J., Petijean, C. e Williams, T.A. 2018. *Emerging Top. Life Sci.* doi: 10.1042/ETLS20180021.

All'aumentare del numero di basi, nei procarioti aumenta il numero delle ORFs

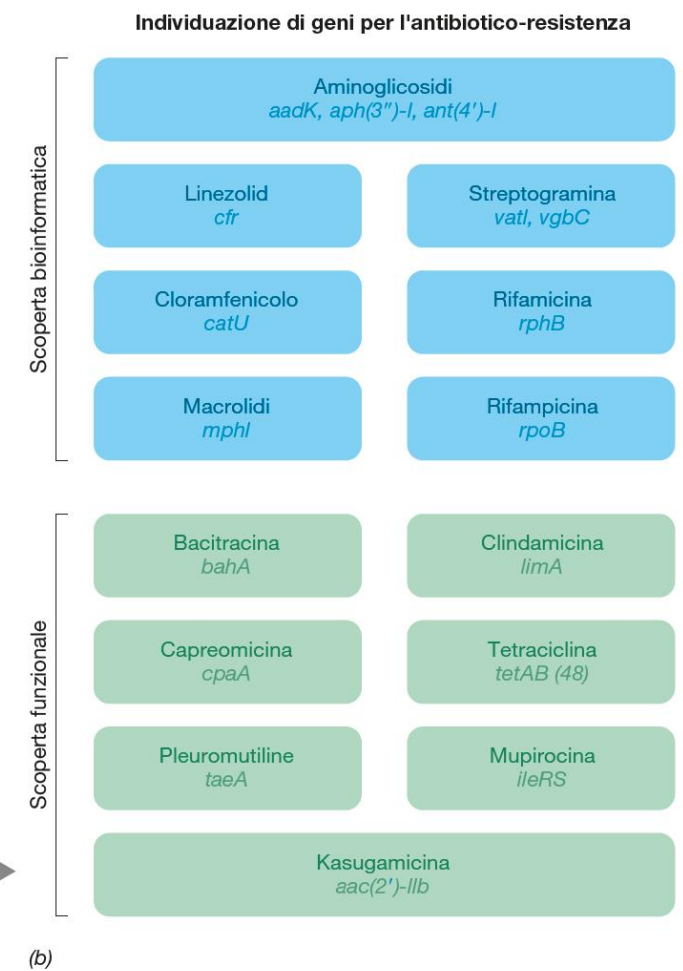
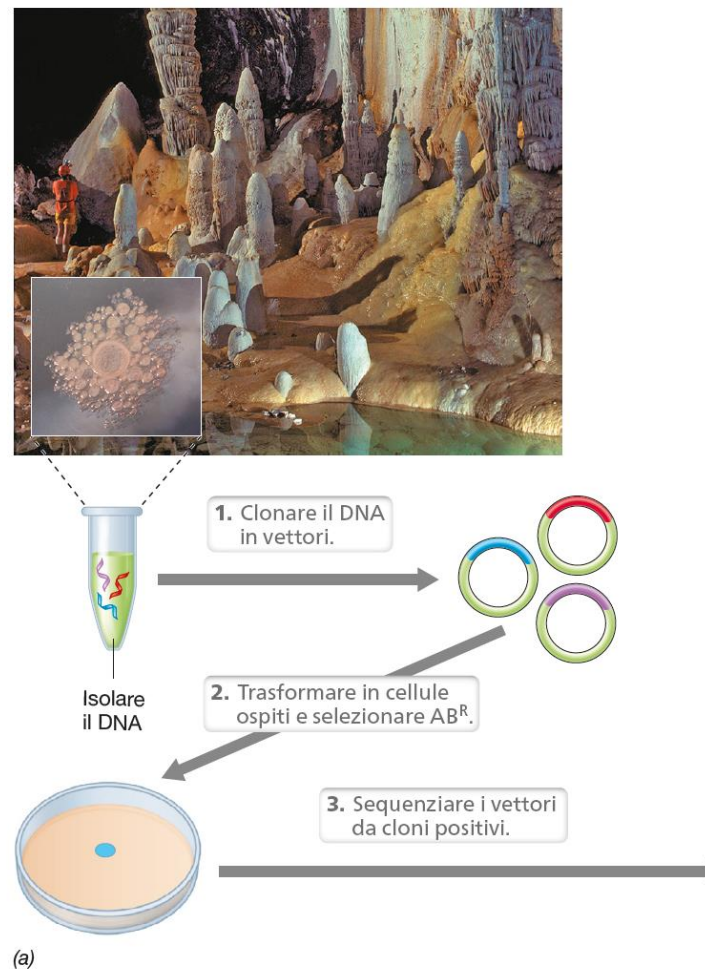
Si stima che il numero minimo di geni necessari alla vita di una cellula possa aggirarsi tra i 600 e gli 800 ma non è certo se questi organismi sono dotati di vita autonoma

## Tabella 10.6 Alcuni termini omici

<b>DNA</b>	<p><b>Genoma</b> il corredo totale delle informazioni genetiche di una cellula o di un virus</p> <p><b>Metagenoma</b> il corredo genetico totale di tutte le cellule presenti in un particolare ambiente</p> <p><b>Epigenoma</b> il numero totale delle possibili varianti epigenetiche</p> <p><b>Metiloma</b> il numero totale di siti metilati sul DNA (sia epigenetici sia non)</p> <p><b>Mobiloma</b> l'insieme degli elementi genetici mobili di una cellula</p> <p><b>Resistoma</b> l'insieme dei geni per la resistenza antibiotica di una cellula</p>
<b>RNA</b>	<p><b>Trascrittoma</b> l'RNA totale prodotto in un organismo in determinate condizioni</p> <p><b>Esoma</b> parte del pool di RNA codificata dagli esoni che rimane una volta rimossi gli introni</p>
<b>Proteina</b>	<p><b>Proteoma</b> l'insieme delle proteine codificate da un genoma; talvolta utilizzato al posto di traduttoma</p> <p><b>Traduttoma</b> l'insieme delle proteine presenti in condizioni specifiche</p> <p><b>Interattoma</b> l'insieme delle interazioni tra le proteine (o altre macromolecole)</p> <p><b>Secretoma</b> l'insieme delle proteine secrete da una cellula</p> <p><b>Chinoma</b> l'insieme delle chinasi codificate da un genoma</p>
<b>Metaboliti</b>	<p><b>Metaboloma</b> il corredo totale di piccole molecole e metaboliti intermedi</p> <p><b>Glicoma</b> il corredo totale di zuccheri e altri carboidrati</p>
<b>Organismi</b>	<p><b>Microbioma</b> l'insieme dei microrganismi presenti in un ambiente (compresi quelli associati a un organismo superiore)</p> <p><b>Viroma</b> l'insieme dei virus presenti in un ambiente</p> <p><b>Micobioma</b> l'insieme dei funghi presenti in un ambiente naturale</p>

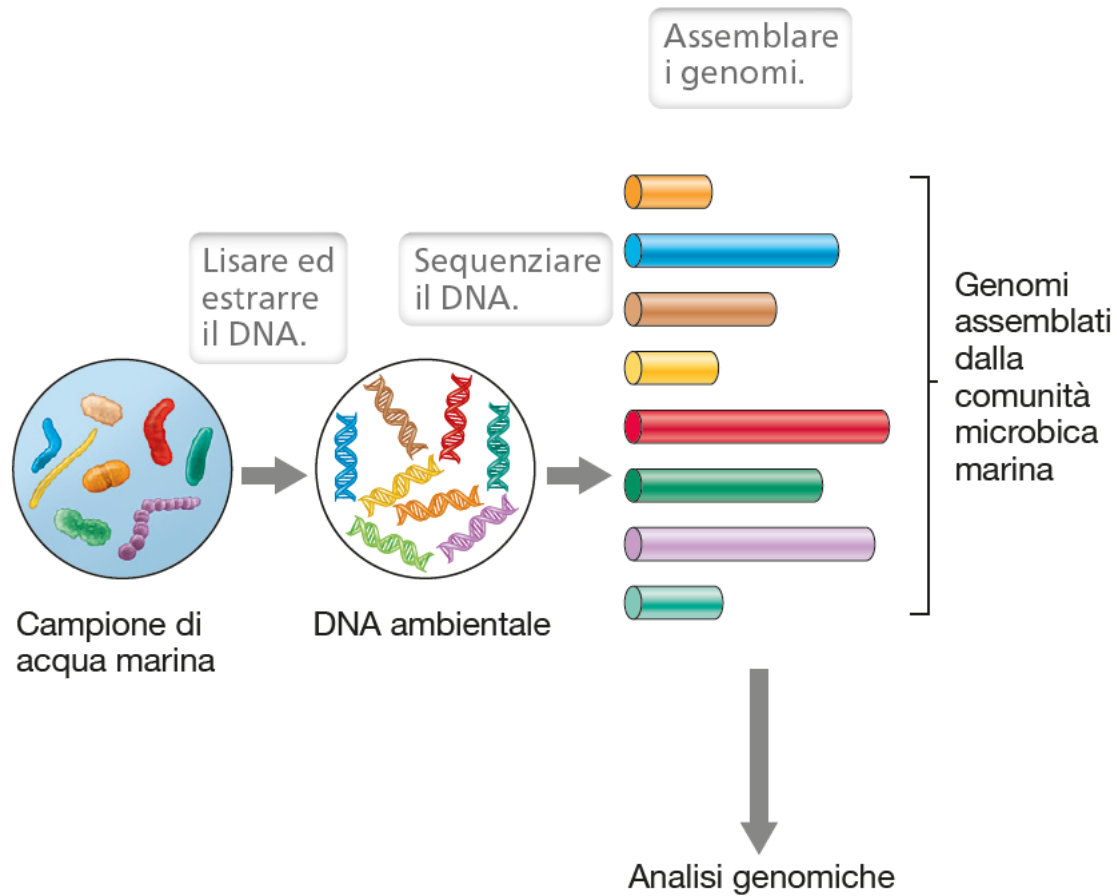


Conoscere la sequenza di un dato DNA non ci dà sempre informazioni sui «prodotti genici» né sull'effettiva attività di un dato gene o gruppo di geni. Le ORF identificate vengono indicate come «teoriche». È possibile isolare e studiare geni responsabili di determinate funzioni metaboliche come l'antibiotico-resistenza



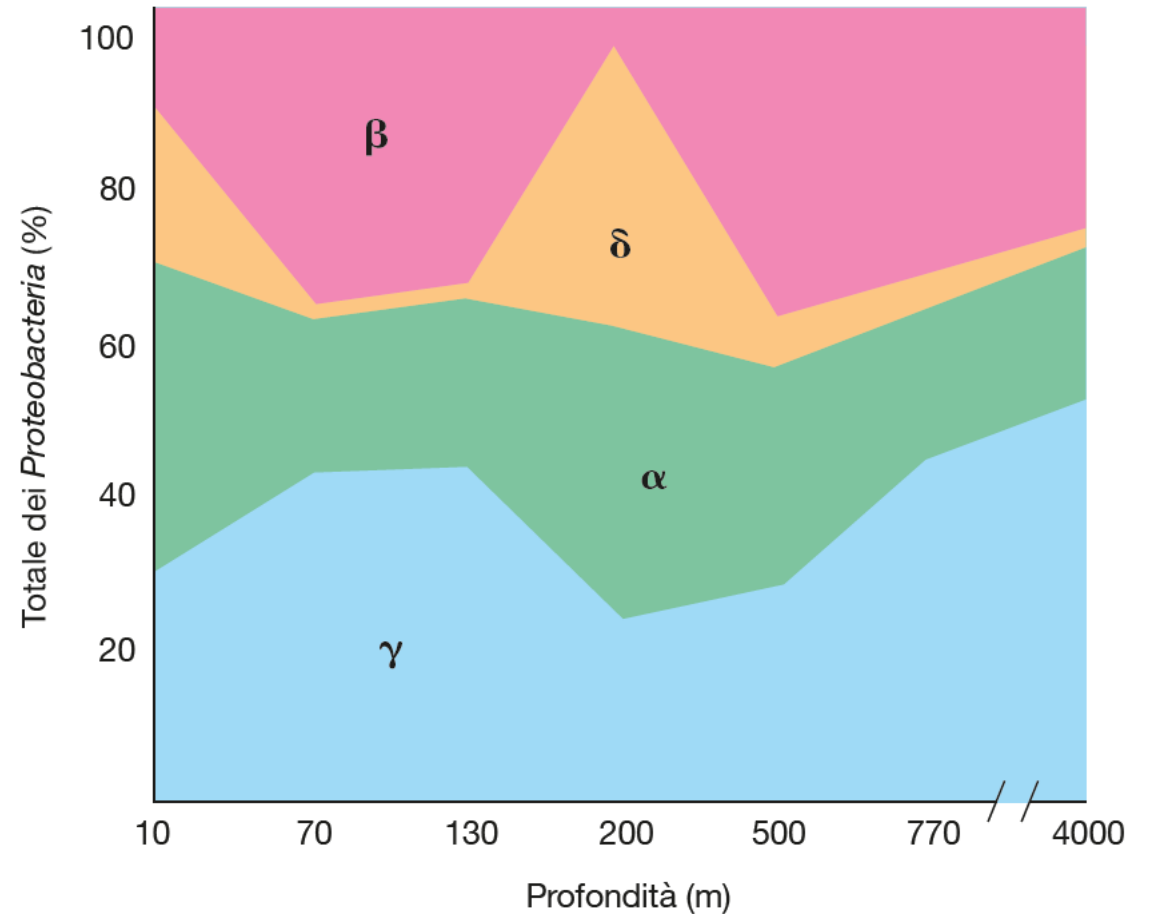
**Figura 10.14 Genomica funzionale e scoperta di nuovi geni per la resistenza agli antibiotici.**

(a) Espressione eterologa del DNA del ceppo LC231 di *Paenibacillus* e selezione di ricombinanti antibiotico-resistenti per l'analisi delle sequenze. Il DNA del ceppo LC231 di *Paenibacillus* è stato isolato nella grotta Lechuguilla delle Carlsbad Caverns, nel Nuovo Messico, USA (inserto fotografico: colonie di *Paenibacillus*, per gentile concessione di L. Ejim, C. Groves e G. Wright). Una volta estratto, il DNA è stato inserito in plasmidi perché venisse espresso in *Escherichia coli*. Il DNA plasmidico delle colonie antibiotico-resistenti di *E. coli* è stato sequenziato e analizzato per rilevare la presenza di nuovi geni che conferiscono la resistenza agli antibiotici (ABR). (b) Scoperta di geni che conferiscono la resistenza a 14 diversi tipi di antibiotici nel ceppo LC231 di *Paenibacillus*. I nomi dei geni sono elencati sotto il tipo di antibiotico a cui conferiscono la resistenza. I geni scoperti grazie alle ricerche nei database genomici sono di colore blu, quelli identificati grazie alla genomica funzionale e all'espressione eterologa in *E. coli* (parte a) sono di colore verde. Dati adattati da: Pawlowski, A.C., Wenliang, W., Koteva, K., Barton, H.A., McArthur, A.G. e Wright, G.D. 2016. *Nat. Commun.* 7: 13803.



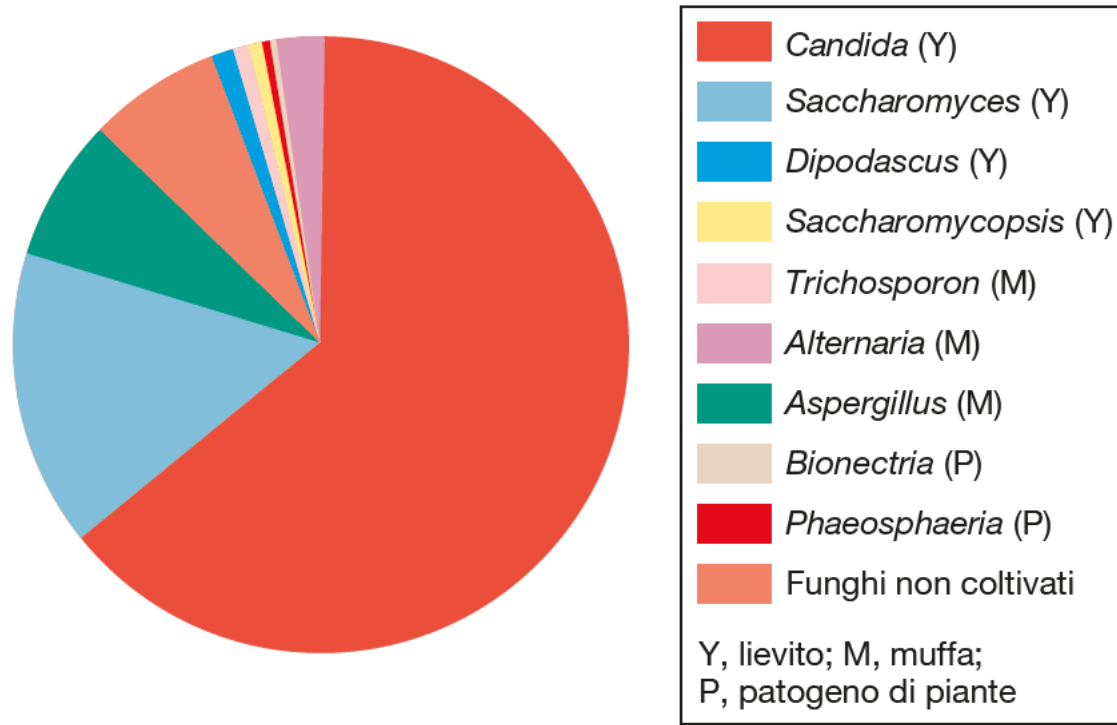
(a)

**Figura 10.17 Metagenomica e microbioma.** (a) Isolamento, sequenziamento e identificazione del DNA presente in un campione di acqua marina. (b) *Proteobacteria* nell'oceano. L'immagine raffigura la distribuzione dei principali sottogruppi (alfa  $\alpha$ , beta  $\beta$ ,

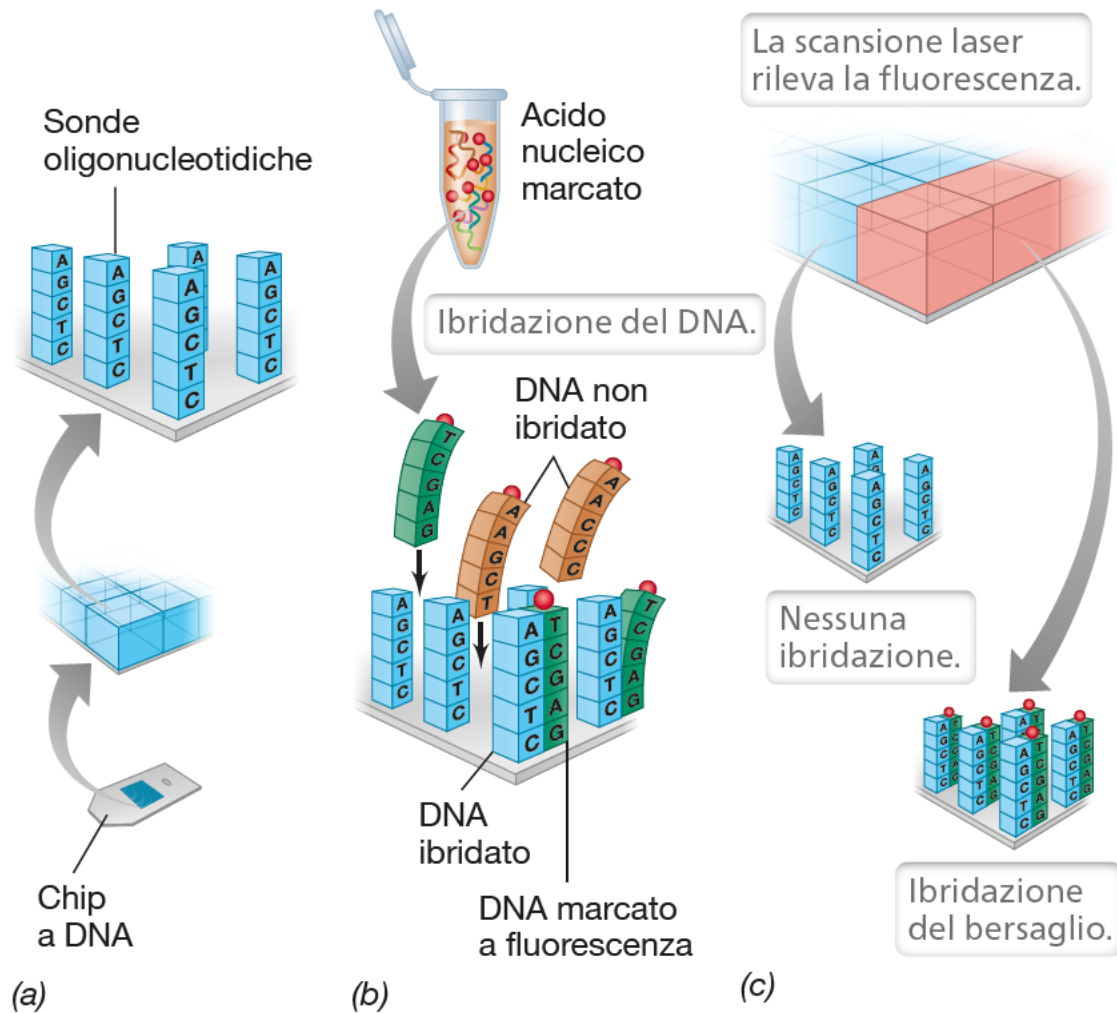


(b)

gamma  $\gamma$  e delta  $\delta$ ) di *Proteobacteria* nell'Oceano Pacifico in base alla profondità delle acque. Sono presenti anche molti altri tipi di batteri (non raffigurati). Dati adattati da: Kembel, S.W., J.A. Eisen, K.S. Pollard e J.L. Green. 2011. *PLoS One* 6: e23214.



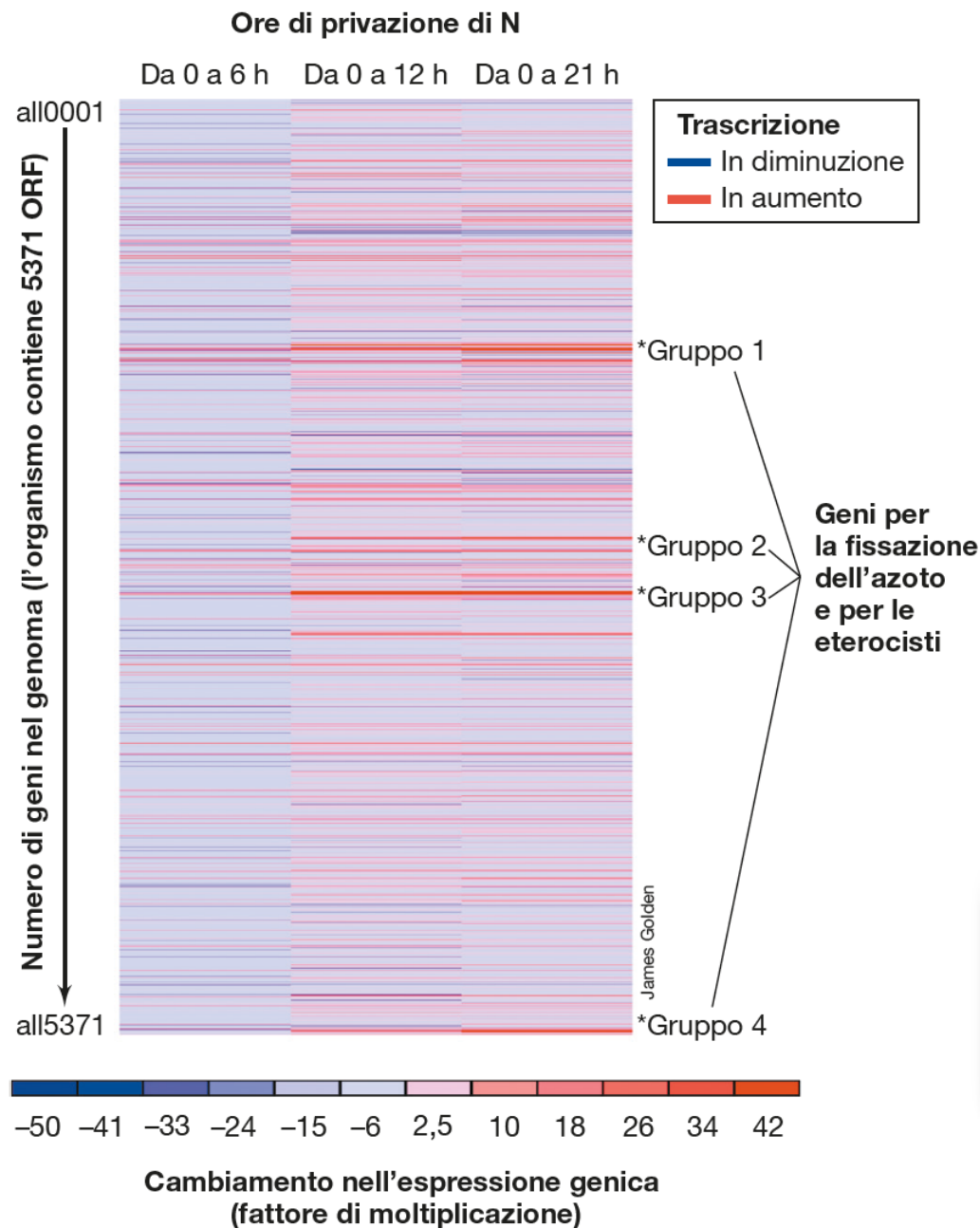
**Figura 10.18 Microbioma del topo.** I dati rappresentano la quantità relativa dei diversi generi fungini nell'intestino del topo. Il grafico a torta mostra che i funghi più comuni sono lieviti. Dati adattati da: Iliev, I.D. *et al. Science* 336: 1314-1317 (2012).



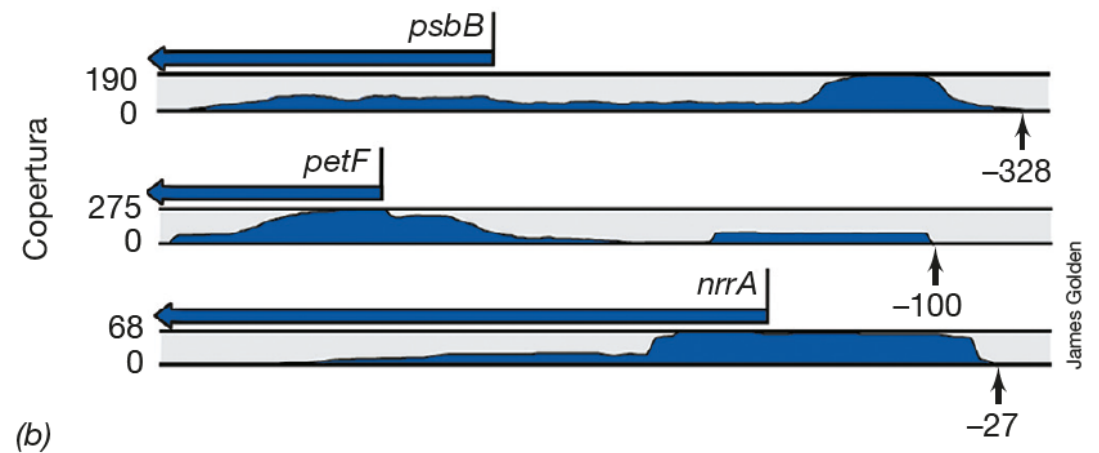
**Figura 10.19 Preparazione e applicazione dei chip a DNA.** (a) Preparazione dei chip a DNA. Le brevi sonde di oligonucleotidi a singolo filamento corrispondenti a ciascun gene di un organismo, oppure a sequenze diagnostiche corrispondenti a numerosi organismi, vengono sintetizzate e fissate in posizioni note per ottenere un microarray. (b) Ibridazione dei microarray. La presenza di specifiche molecole di DNA o RNA (sotto forma di cDNA) viene rilevata ibridando campioni marcati con fluorescenza (DNA o cDNA) con le sonde di DNA sul chip. Il DNA o cDNA marcato si lega alle sonde del chip se le sequenze sono complementari. (c) Analisi dell'ibridazione dei microarray. Mediante una scansione laser vengono identificate le regioni del chip in cui l'acido nucleico marcato si è legato alle sonde.



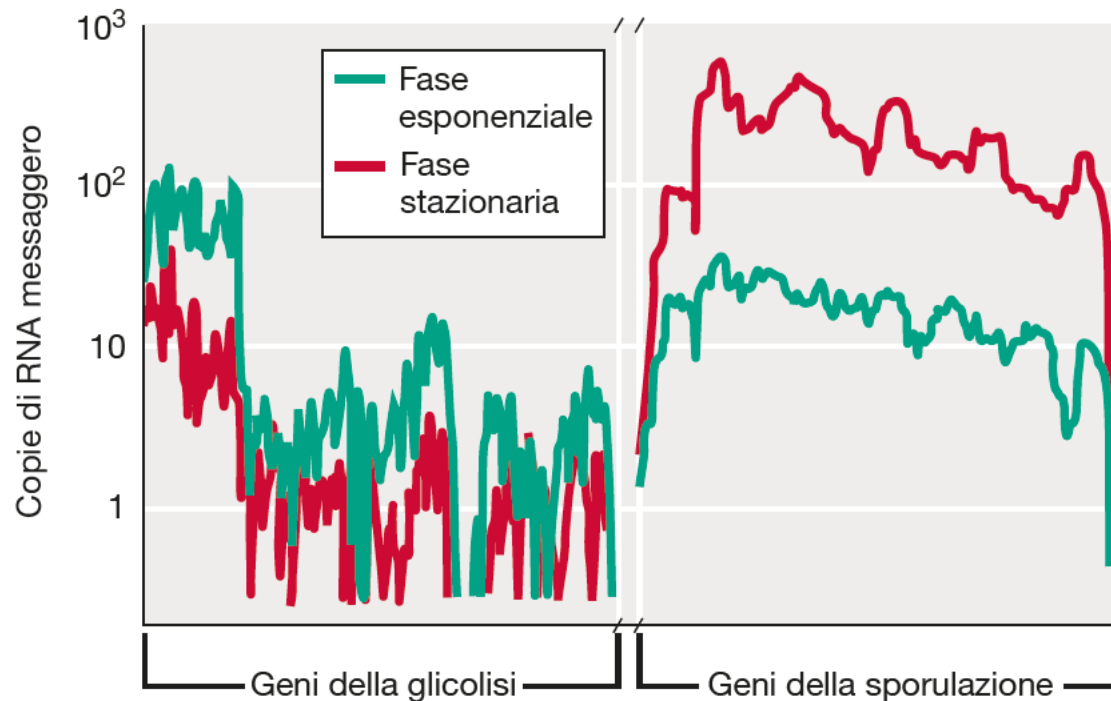




(a)

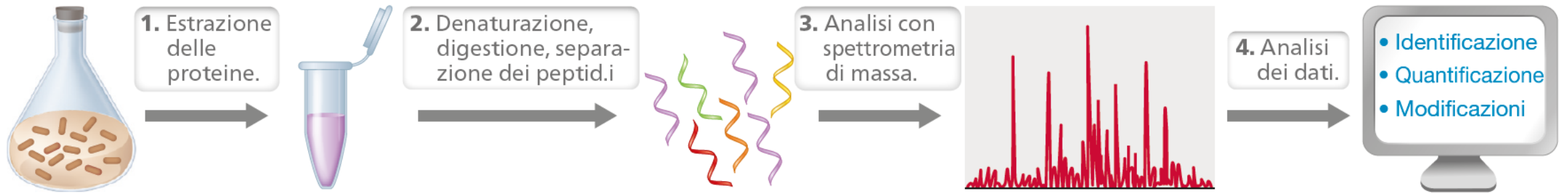


**Figura 10.21** Analisi mediante RNA-Seq di *Anabaena*, cianobatterio produttore di eterocisti, in condizioni di privazione di azoto. I cianobatteri sono fototrofi ossigenici e solo alcune specie, come quelle che formano eterocisti, sono in grado di fissare l'azoto in condizioni pienamente ossiche. (a) Mappa di calore dell'espressione genica dopo 6, 12 e 21 ore di privazione di azoto fissato. I geni la cui espressione aumenta sono di colore rosso, mentre quelli la cui espressione si riduce sono blu. I gruppi di geni 1-4 codificano proteine legate alla fissazione dell'azoto. (b) Mappatura delle *read* di RNA-Seq. Le frecce indicano le ORF annotate, e i grafici sottostanti corrispondono al numero di *read* di sequenziamento individuate per ciascuna posizione nucleotidica sul cromosoma. Si noti che i numeri negativi rappresentano le posizioni sul cromosoma a monte del codone di inizio previsto per i geni. I geni *psbB* e *petF* codificano proteine essenziali per la fotosintesi, e *nrrA* codifica una proteina che regola la formazione delle eterocisti (l'eterociste è il sito della fissazione di  $N_2$ , ◀Paragrafo 3.12). I pigmenti, la diversità e la biologia generale dei cianobatteri sono discussi nei Paragrafi 14.3, 14.4, 14.6 e 15.3. Parti (a) e (b) modificate da Flaherty, B.L., F. van Nieuwerburgh, S.R. Head e J.W. Golden. 2011. *BMC Genomics* 12: 332.



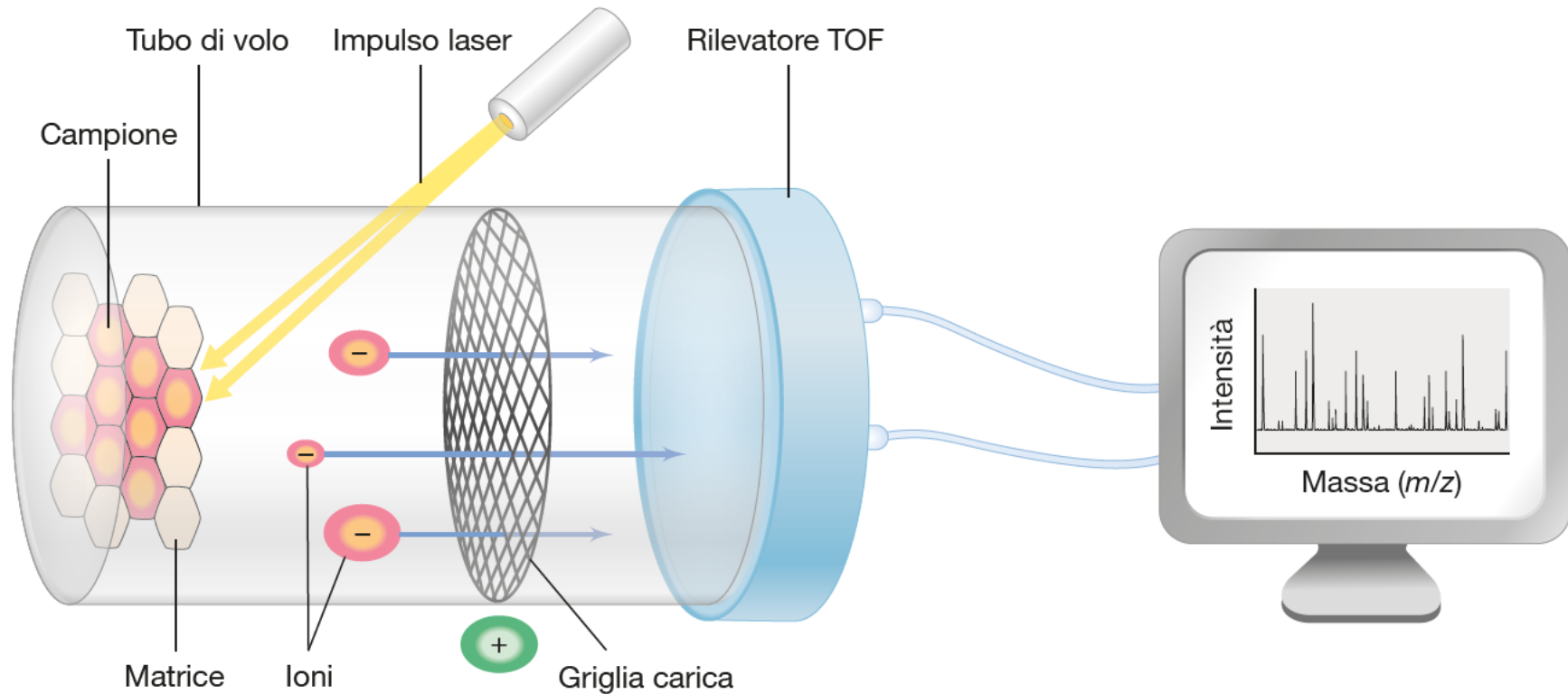
**Figura 10.22** Analisi trascrittomico dei geni per la sporulazione in *Clostridium*. Analisi mediante RNA-Seq di colture di una specie di *Clostridium* coltivata per 4,5 ore (cellule in fase esponenziale) e per 14 ore (cellule in fase stazionaria). Sono indicate due regioni genomiche: (a sinistra) segmento di ~5,4 kb che comprende l'operone della glicolisi *gap-pgk-tpi*, e (a destra) segmento di ~1,2 kb che comprende l'operone della sporulazione *cotJC-cotJB*. La produzione di endospore è innescata dalla carenza di nutrienti. Dati da: Wang, Y., X. Li, Y. Mao e H.P. Blaschek. 2011. *BMC Genomics* 12: 479.





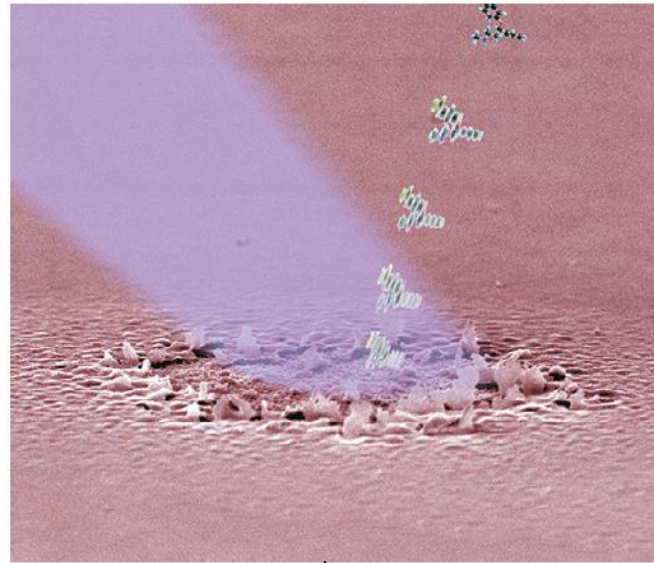
**Figura 10.23 Proteomica.** L'insieme delle proteine viene isolato da una coltura o da un campione ambientale. Questo pool proteico è convertito in piccole frazioni peptidiche utilizzando vari metodi: denaturazione, separazione e digestione. In seguito alla ionizzazione delle frazioni peptidiche, gli ioni vengono caratterizzati grazie all'uso della spettrometria di massa. I picchi rilevati mediante spettrometria sono confrontati con gli standard, e la sequenza aminoacidica primaria dei peptidi risultanti viene identificata e quantificata. I picchi della spettrometria possono essere usati anche per stabilire se i peptidi contengono modificazioni post-traduzionali (◀Paragrafo 7.16 e Figura 10.25).



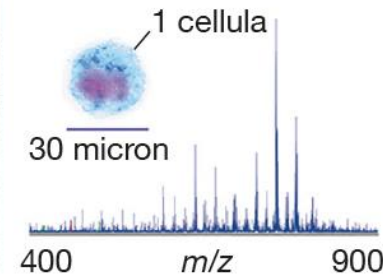
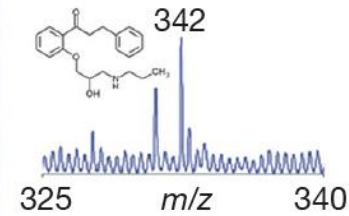


**Figura 10.24 Spettrometria di massa MALDI-TOF.** Nella spettroscopia per desorbimento/ionizzazione laser assistita da matrice (MALDI, *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization*) il campione viene ionizzato mediante un laser e gli ioni viaggiano per il tubo sino al rivelatore. Il tempo di volo (TOF, *Time Of Flight*) dipende dal rapporto massa/carica ( $m/z$ ) dello ione. Il computer identifica gli ioni in base al loro tempo di volo, ovvero al tempo che impiegano per raggiungere il rivelatore.

Laser



Propafenone  
(650 yoctomoli)

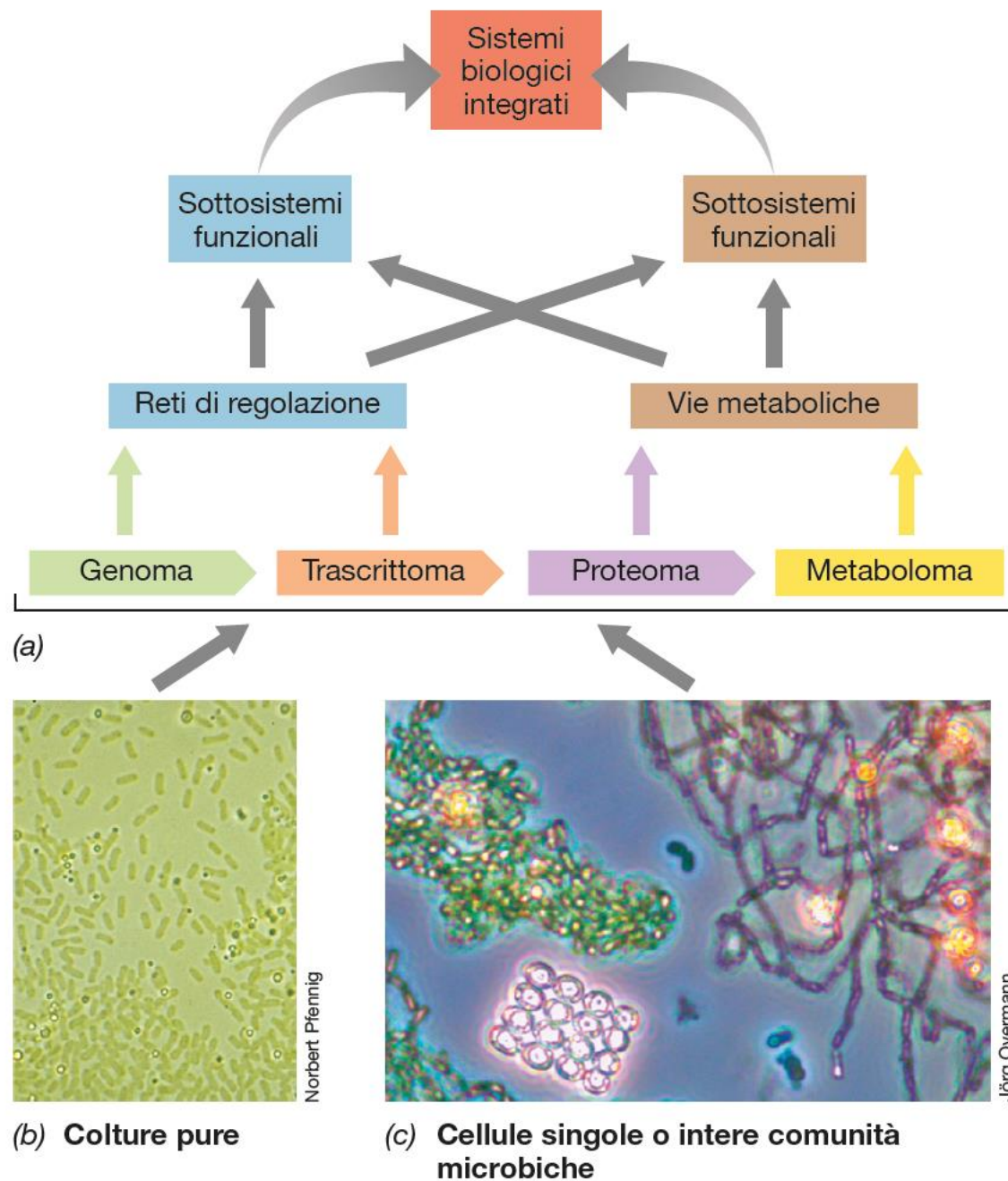


Gary Siuzdak, Scripps Center for Metabolomics

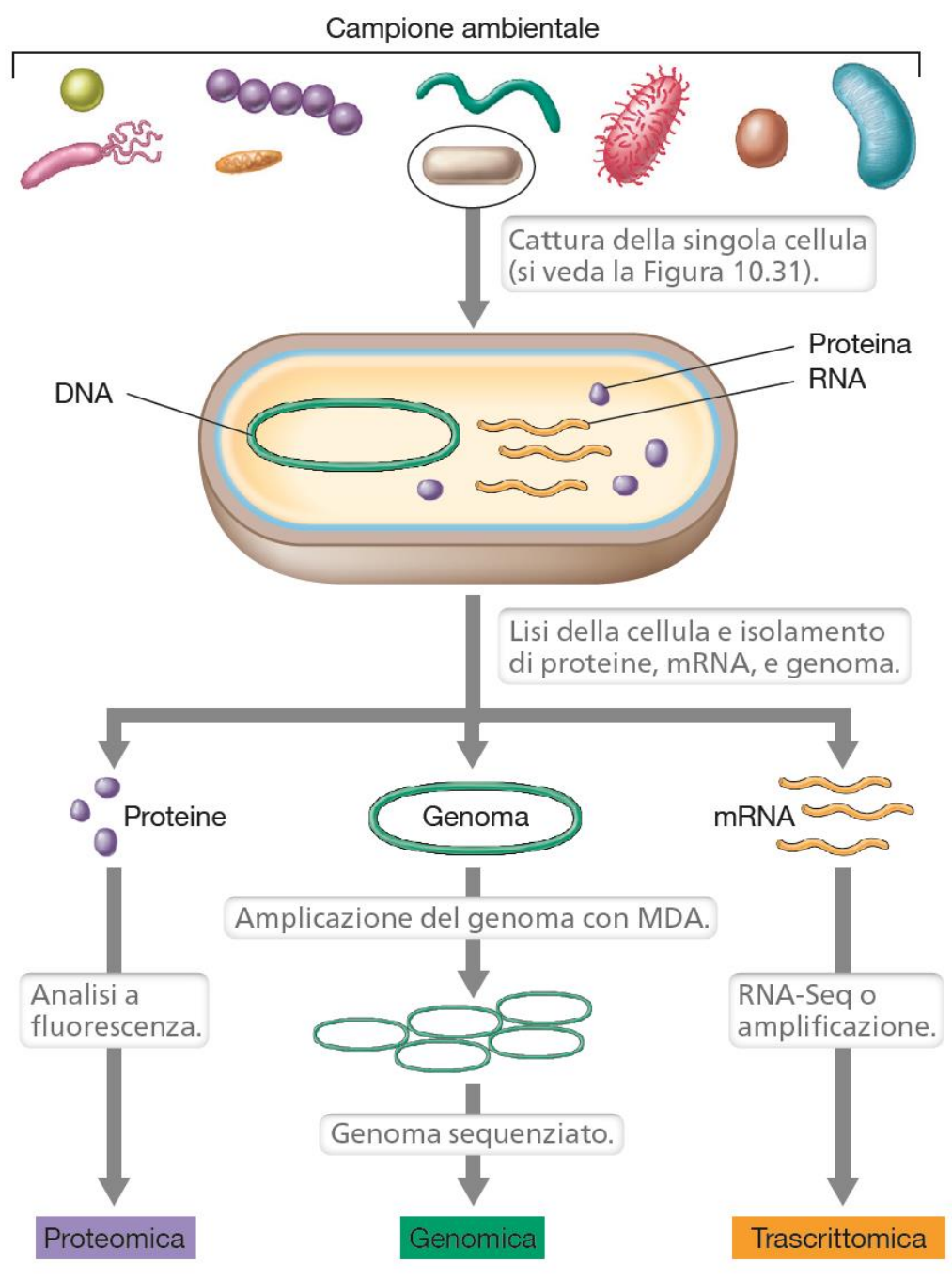
Superficie porosa di silicio rivestita  
con un polimero simile al Teflon

### Figura 10.27 Identificazione dei metaboliti mediante NIMS.

Nella spettrometria di massa con iniziatore di nanostrutture (NIMS, *Nanostructure-Initiator Mass Spectrometry*), una cellula viene posizionata sulla superficie dell'iniziatore di silicio e vaporizzata con un laser. I risultanti metaboliti ionizzati all'interno di una singola cellula vengono quindi rilevati per mezzo della spettrometria di massa, come indicato dai grafici relativi al rapporto massa/carica. Il picco di 342 rappresenta il metabolita propafenone (1 yoctomole =  $1 \times 10^{-24}$  moli). In assenza di matrice, la NIMS offre una sensibilità e una risoluzione estremamente alte. Nell'immagine, i metaboliti ionizzati sono raffigurati come molecole che si sollevano dalla superficie.

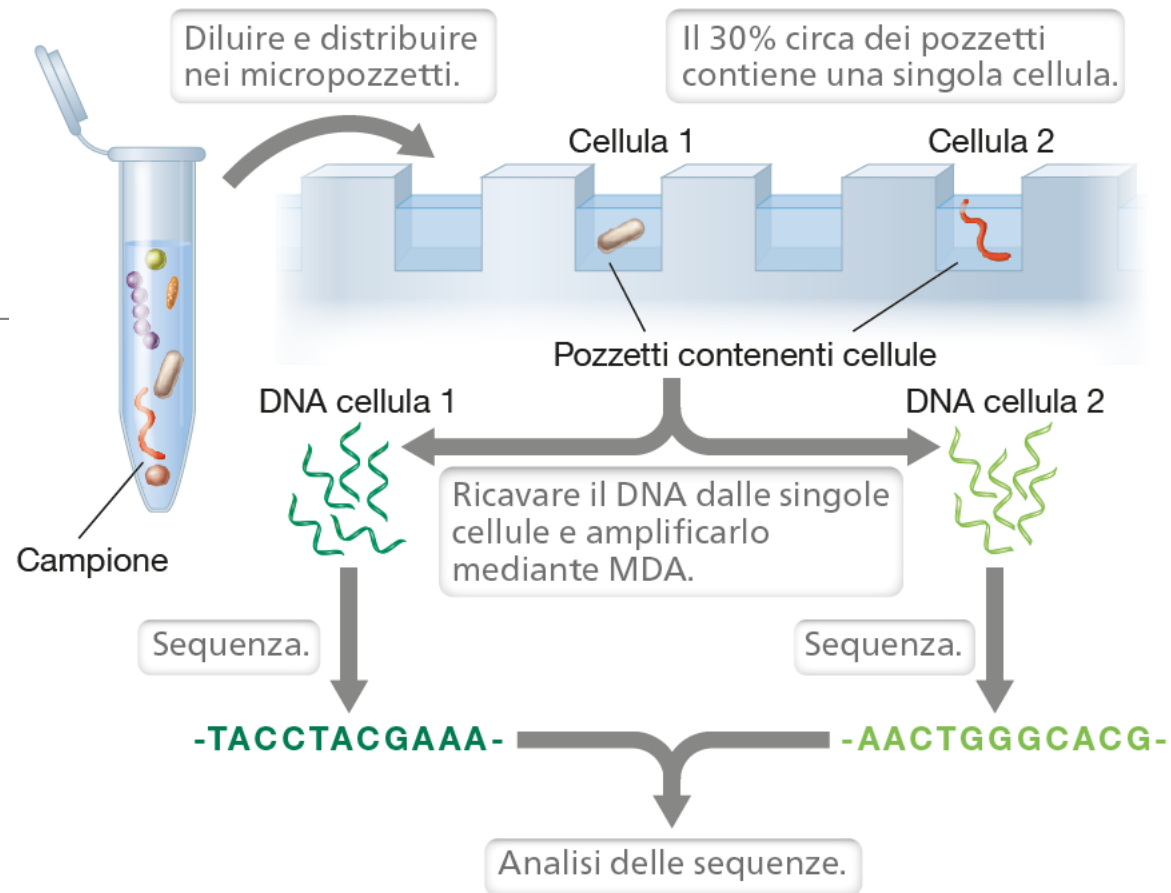


**Figura 10.29 I componenti della biologia dei sistemi.** (a) I risultati delle varie analisi omiche vengono combinati e successivamente integrati in una visione di più alto livello di tutta la biologia di una coltura pura, come quella del batterio sulfureo verde *Chlorobium* (b) o di una comunità microbica mista, come quella dei batteri sulfurei fototrofi prelevati da un lago (c), o ancora di una singola cellula isolata da una comunità microbica (Figura 10.30).



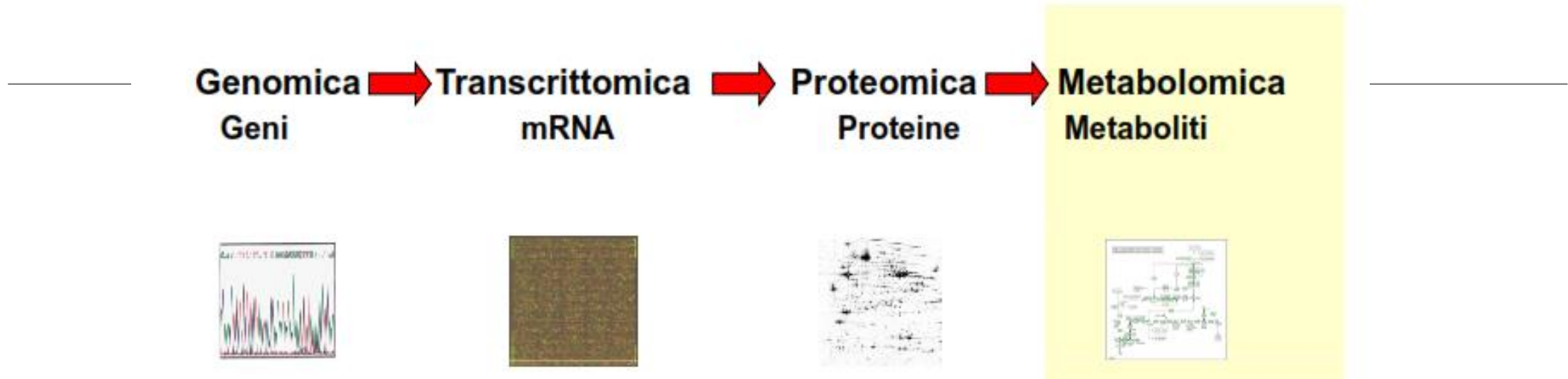
**Figura 10.30 Genomica a livello di singola cellula.** Una singola cellula isolata da un campione ambientale può essere fonte di uno studio "omico" diversificato. MDA, *Multiple Displacement Amplification* (amplificazione di sequenze multiple dislocate) (► Paragrafo 19.12).





**Figura 10.31 Isolamento e sequenziamento di cellule singole.**

Le goccioline del campione diluito vengono depositate nei micropozzetti con una concentrazione tale che ogni pozzetto conterrà al massimo una cellula. I pozzetti contenenti cellule sono quindi sottoposti ad amplificazione trasversale multipla di spostamento o MDA (*Multiple Displacement Amplification*) per il sequenziamento del DNA.



La metabolomica consiste nello studio completo dei metaboliti, ovvero delle piccole molecole che costituiscono i substrati, gli intermedi e i prodotti del metabolismo, all'interno delle cellule, dei fluidi biologici, dei tessuti o degli organismi. Si tratta di impronte chimiche uniche lasciate dai processi cellulari. La metabolomica fornisce uno sguardo d'insieme su un sistema biologico dal punto di vista biochimico e delinea l'impatto fisiologico su un organismo di patologie, nutrizione, terapie o modifiche genetiche.

Le applicazioni più comuni della metabolomica includono:

nella ricerca farmaceutica, la caratterizzazione e l'identificazione di nuovi biomarcatori associati a patologie e gli studi di tossicità sulla medicina personalizzata l'integrazione delle ricerche di genomica funzionale, ovvero lo studio dell'interazione tra genoma, trascrittoma, proteoma e metaboloma per predire una funzione genica bioestrazione e ottimizzazione dei ceppi microbici per la metabolomica vegetale, le biotecnologie in agricoltura nella ricerca ambientale, l'analisi degli effetti degli inquinanti in ecosistemi acquatici o terrestri e l'ottimizzazione della produzione di biocarburanti nella ricerca nutrizionale, la valutazione dei livelli nutrizionali e i saggi di sicurezza alimentare



Pearson