



RISULTATI DELL'ATTIVITÀ DI RICERCA SVOLTA NELL'AMBITO DELLA STM

Il Fruitore: Vania Cosma Liuzzi

Istituto di afferenza: Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (ISPA), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)

con qualifica Assegnista di ricerca

L'obiettivo di questo programma di ricerca era l'analisi dei dati trascrittomici di una nuova specie di *Acinetobacter* in grado di degradare l'ocratossina A (OTA), una micotossina nefrotossica e potenzialmente cancerogena prodotta da diverse specie di *Aspergillus* e *Penicillium* e che contamina diversi alimenti. Lo scopo finale di tale analisi è l'identificazione dell'attività enzimatica responsabile della degradazione dell'OTA per lo sviluppo di applicazioni biotecnologiche che riducano la sua contaminazione negli alimenti.

La collaborazione con il gruppo di ricerca di Bioinformatica e Genetica dei Funghi dell'Istituto Ispanico-Portoghese di Ricerca Agraria dell'Università di Salamanca mi ha permesso sia di conoscere ed acquisire competenze nell'utilizzo di diversi software bioinformatici per l'analisi dei dati di Next Generation Sequencing (NGS) sia di condurre l'analisi dei dati sperimentali, e quindi di portare a termine l'obiettivo prefissato.

Innanzitutto, i dati di sequenziamento dell'RNA di batteri cresciuti in presenza e in assenza di OTA per 6 e per 12 ore sono stati analizzati mediante il programma *FastQC* per valutare la qualità delle reads. Le reads sono state poi allineate al genoma di riferimento con il programma *TopHat2*. I file in formato BAM contenenti le informazioni relative all'allineamento sono stati sottoposti al controllo di qualità utilizzando il software *QualiMap*. Infine, è stata condotta l'analisi di espressione differenziale utilizzando il software *CuffDiff* che conta le reads e fa un'analisi statistica per valutare se vi siano differenze nel numero di reads per ogni gene nelle due condizioni considerate. La maggior parte dei programmi sono stati utilizzati all'interno della piattaforma open source "Discovery Environment" di *iPlant* (<https://de.iplantcollaborative.org/de/>), gli altri sono stati utilizzati all'interno del sistema operativo Ubuntu Linux.

Dalla suddetta analisi sono state ottenute delle liste di un centinaio di geni up- o down-regolati ($p < 0.05$) in presenza di OTA nel mezzo di coltura ad entrambi i tempi presi in considerazione (6 e 12 ore). I geni sono stati analizzati poi su *UniProt* (www.uniprot.org). Tra i geni differenzialmente espressi sono stati individuati 4 geni interessanti, poiché codificanti per proteine con attività enzimatiche che potrebbero essere coinvolte nella reazione di degradazione dell'OTA da parte di *Acinetobacter*.



NOME DEL GENE	FUNZIONE MOLECOLARE	ESPRESSIONE IN PRESENZA DI OTA
PJ15_1852	amminopeptidasi	up-regolato alle 12 h
PJ15_2037	idrolasi	down-regolato alle 6 h e up-regolato alle 12 h
PJ15_2954	serina-endopeptidasi	up-regolato alle 6 h
PJ15_2971	serina-endopeptidasi	up-regolato alle 6 h

I seguenti geni candidati saranno in seguito validati sperimentalmente mediante clonaggio ed espressione in organismi ospite e saggi di attività di degradazione di OTA.

Le liste di geni differenzialmente espressi sono state anche sottoposte ad *enrichment analysis* per i termini di Gene Ontology utilizzando l'applicazione *Bingo* del programma *Cytoscape* (hypergeometric test/Benjamini & Hochberg FDR correction). Tale analisi ha permesso di individuare quei processi biologici e quelle funzioni molecolari che risultano disregolate in presenza di OTA. Fra queste ultime, a conferma di quanto ipotizzato circa il coinvolgimento di peptidasi nella degradazione dell'OTA, compare il pathway "serine-type endopeptidase activity". Inoltre, tra i pathway disregolati in presenza di OTA ve ne sono diversi che riguardano il trasporto transmembrana e il metabolismo di amminoacidi. Essendo proprio un amminoacido uno dei prodotti della degradazione dell'OTA, questo dato rafforza la bontà dell'analisi e suggerisce che il batterio degradi l'OTA per ottenere amminoacidi che poi vengono trasportati e metabolizzati.

data 13/07/2015

Firma