

## COME SI STUDIA IL MICROBIOTA

### *Seconda puntata della serie "Il microbiota"*

Era il 1675 quando Antonie van Leeuwenhoek, ottico olandese, descrisse per la prima volta i microrganismi osservati al microscopio, chiamandoli animalcula. Non lo sapeva, ma stava aprendo una finestra su un mondo che avremmo impiegato altri tre secoli a cominciare davvero a capire.

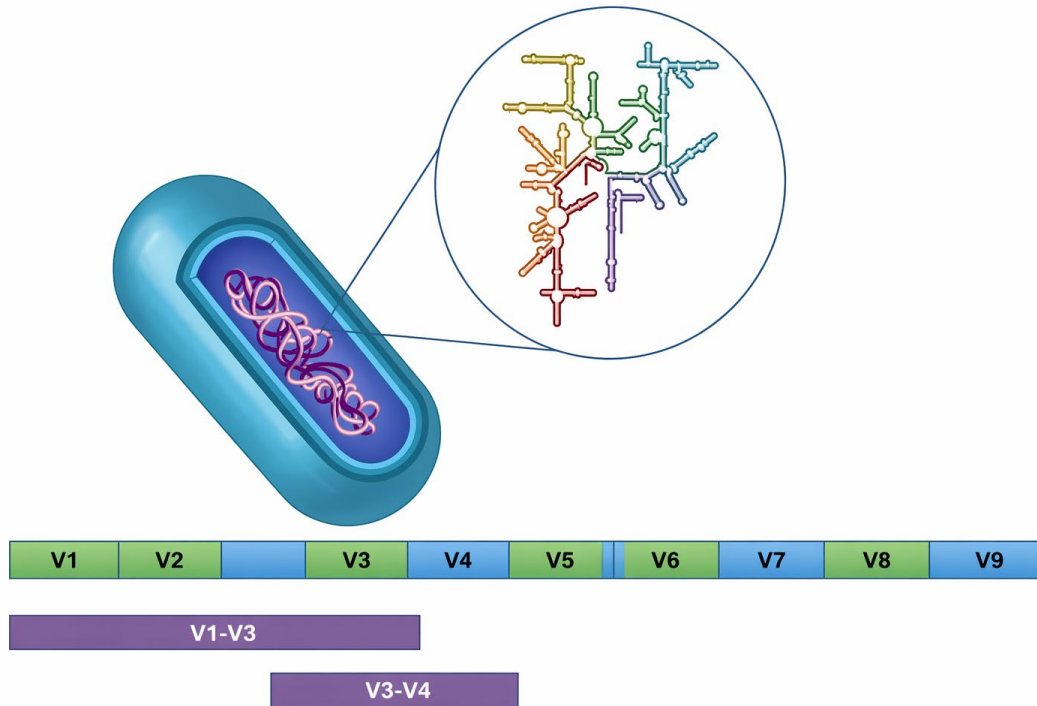
Per molto tempo lo strumento principale per studiare i microrganismi è rimasto la coltura in laboratorio. Un metodo utile, ma con un limite enorme: si stima che il 70-90% dei batteri presenti nel microbiota umano sia difficilmente o assolutamente non coltivabile. In altre parole, con le tecniche tradizionali stavamo guardando solo una piccola parte del quadro.

### **Un marcatore universale: il gene 16S rRNA**

La svolta è arrivata con la biologia molecolare. Tutti i batteri possiedono un gene particolare — il 16S rRNA — che funziona come una carta d'identità: è abbastanza simile tra le diverse specie da poter essere confrontato, ma contiene anche zone variabili che permettono di distinguere un batterio dall'altro.

Il procedimento, in estrema sintesi, funziona così: dal campione si estrae il DNA, si amplifica il gene target tramite PCR — una tecnica che ne produce milioni di copie identiche in poche ore — e poi lo si sequenzia, cioè se ne legge la sequenza di basi. Confrontando questa sequenza con database di riferimento si risale all'identità del batterio, senza averlo mai coltivato.

Come si vede nella figura, il gene 16S è organizzato in nove regioni variabili (V1-V9). Nella pratica si scelgono le porzioni più informative per il distretto che si vuole studiare — tipicamente V1-V3 o V3-V4 per il microbiota intestinale. Sono queste le finestre attraverso cui leggiamo l'identità dei batteri presenti nel campione. Leggere e interpretare questi dati richiede tuttavia competenze specialistiche: è qui che entra in gioco il bioinformatico, la figura professionale che trasforma milioni di sequenze grezze in informazioni biologicamente significative.



*Figura\*. Struttura del gene 16S rRNA e principali regioni variabili (V1–V9) utilizzate per l'analisi del microbiota.*

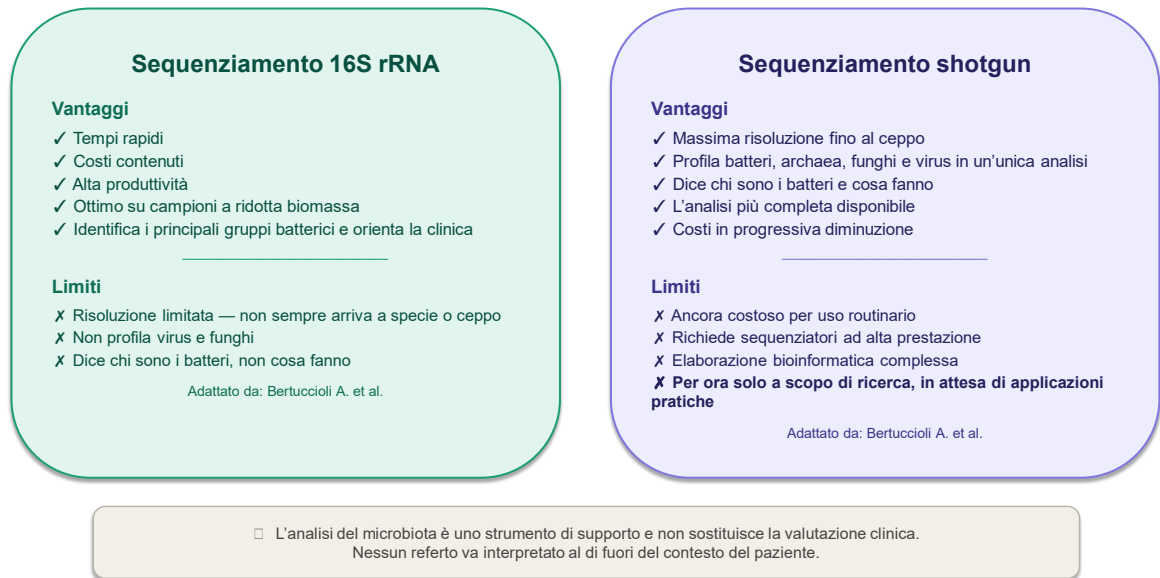
### **Lo shotgun: leggere tutto.**

Il metodo più completo oggi disponibile è il sequenziamento metagenomico shotgun. Qui non si amplifica una regione specifica: tutto il DNA presente nel campione viene estratto, frammentato casualmente e sequenziato per intero. I frammenti vengono poi riassemblati informaticamente e confrontati con enormi database di riferimento. Per fare questo servono sequenziatori ad alta prestazione — macchinari costosi e complessi, capaci di leggere milioni di sequenze in parallelo — e una elaborazione bioinformatica ultra sofisticata. È questo il motivo per cui lo shotgun non è ancora un esame di routine, nonostante la sua potenza diagnostica.

### **Perché tutto questo ci riguarda**

Capire come si studia il microbiota non è un esercizio tecnico fine a sé stesso. È il presupposto per leggere i dati della letteratura con spirito critico

e per valutare cosa ci dice davvero un referto — che va sempre interpretato nel contesto clinico del paziente, mai da solo. Nella prossima puntata vedremo come è composto il microbiota umano e quali sono i principali gruppi microbici che lo abitano. Con i dati.



\* Figura adattata da: Francesco Di Pierro, Microbiota — struttura e traslazione, Scripta Manent.

*Francesco Di Pierro — biologo, farmacologo, dottore di ricerca in immunologia presso l'Università di Torino e professore presso l'Università di Camerino — è tra i principali pionieri in Italia nello studio e nella divulgazione scientifica del microbiota, con importanti pubblicazioni scientifiche.*

*Anna Perino*