



RISE

Infrastruttura Strategica della Ricerca
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BARI ALDO MORO

Analisi di profilamento tassonomico del microbiota tramite sequenziamento target (16S/ITS/18S) SEQUENZIATORE ILLUMINA MiSeq



Per informazioni:

Responsabile scientifico

Prof. Matteo Spagnuolo

matteo.spagnuolo@uniba.it

Referente scientifico

Prof.ssa Maria Calasso

maria.calasso@uniba.it

Polo Agraria Veterinaria

Dipartimento di Scienze del Suolo della
Pianta e degli Alimenti (DiSSPA)

Via Orabona 4, 70125 (BA)

ENG: Within the framework of modern genomic research, integrated methodologies have been developed for the multidimensional analysis of microbial community dynamics based on taxonomic profiling. This approach integrates alpha and beta diversity metrics with targeted genetic vulnerability and host/environmental exposure profiles, yielding synthetic microbial community indicators across diverse biological microenvironments by leveraging high-throughput amplicon data, bioinformatic relational databases, and high-resolution sequencing pipelines. These methodologies utilize targeted 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform to characterize the spatial and temporal distribution of distinct bacterial taxonomic profiles across hypervariable regions (e.g., V3–V4) in complex host and ecological niches (Caporaso et al., 2024; Lapietra et al., 2026).

Detailed analysis of community components, combined with the resulting phylogenetic zonation of the microbiome, enables the definition of targeted intervention strategies structured along two principal lines:

- (a) selective biochemical or antimicrobial interventions directed at the amplicon sequence variants (ASVs) driving dysbiosis or community instability, and
- (b) differentiated, progressive probiotic or biological therapies calibrated to the baseline microbial profile of each biological niche.

These methodologies will be extended to multi-marker metagenomic analysis—incorporating fungal (ITS) and eukaryotic (18S) markers, alongside functional pathways and metabolic profiles—through multi-criteria bioinformatic frameworks. Furthermore, integrating 16S targeted amplicon sequencing with Illumina MiSeq paired-end chemistry and bioinformatic pipelines (e.g., QIIME 2, DADA2) enables the characterization and monitoring of biological and environmental microbial dynamics relevant to host health and ecosystem stability, merging high-density sequencing reads with environmental, phenotypic, and clinical metadata. The overarching objective is to provide integrated metagenomic and multi-marker profiling services—accessible via web-based databases and interactive data visualization platforms, and supported by robust sequencing pipelines from DNA extraction to library sequencing—to public, academic, and industrial stakeholders requiring accurate estimates of the distribution and functional shifts of microbial populations across targeted biological and environmental systems.

Services:

- Library preparation for omics analyses and bioinformatics analyses: quality control and library preparation; fragment quantification and quality control (Qubit, Bioanalyzer/Tapestation) and NGS library construction; data analysis.
- Omics analyses of small genomes (bacteria, yeast, and fungi): *De novo* sequencing and assembly; Genomic resequencing (WGS): Variant identification (SNPs, InDels) and high-resolution typing.
- Biostatistics: Assembly, functional annotation, differential expression analysis, and biological diversity profiling. Amplicons (16S/ITS/18S): Profiling of bacterial and fungal communities from complex matrices (soil, food, water, microbiota).

ITA: Nel contesto della moderna ricerca genomica, sono state sviluppate metodologie integrate per l'analisi multidimensionale delle dinamiche delle comunità microbiche basate sul profilamento tassonomico. Questo approccio integra metriche di alfa e beta diversità con profili di vulnerabilità genetica e di esposizione dell'ospite/ambiente, generando indicatori sintetici della comunità

microbica in diversi microambienti biologici, sfruttando dati di ampliconi ad alta produttività (high-throughput), database relazionali bioinformatici e pipeline di sequenziamento ad alta risoluzione.

Queste metodologie utilizzano il sequenziamento mirato del gene 16S rRNA sulla piattaforma Illumina MiSeq per caratterizzare la distribuzione spaziale e temporale di distinti profili tassonomici batterici attraverso regioni ipervariabili (es. V3–V4) in complesse nicchie ecologiche e dell'ospite (Caporaso et al., 2024; Lapietra et al., 2026).

L'analisi dettagliata dei componenti della comunità, combinata con la conseguente zonazione filogenetica del microbioma, consente di definire strategie di intervento mirate, strutturate lungo due linee principali:

- (a) interventi biochimici o antimicrobici selettivi diretti contro le varianti di sequenza degli ampliconi (ASV) che guidano la disbiosi o l'instabilità della comunità, e
- (b) terapie probiotiche o biologiche differenziate e progressive, calibrate sul profilo microbico basale di ciascuna nicchia biologica.

Queste metodologie saranno estese all'analisi metagenomica multi-marker — integrando marcatori fungini (ITS) ed eucariotici (18S), insieme a pathway funzionali e profili metabolici — attraverso framework bioinformatici multi-criterio.

Inoltre, l'integrazione del sequenziamento mirato dell'amplicone 16S con la chimica paired-end di Illumina MiSeq e pipeline bioinformatiche (es. QIIME 2, DADA2) consente la caratterizzazione e il monitoraggio delle dinamiche microbiche biologiche e ambientali rilevanti per la salute dell'ospite e la stabilità dell'ecosistema, unendo letture di sequenziamento ad alta densità (high-density reads) con metadati ambientali, fenotipici e clinici.

L'obiettivo generale è fornire servizi integrati di profilamento metagenomico e multi-marker — accessibili tramite database web e piattaforme interattive di visualizzazione dei dati, e supportati da robuste pipeline di sequenziamento, dall'estrazione del DNA al sequenziamento delle librerie — a stakeholder pubblici, accademici e industriali che necessitano di stime accurate sulla distribuzione e sui cambiamenti funzionali delle popolazioni microbiche in sistemi biologici e ambientali mirati.

Servizi:

- Preparazione di library per analisi omiche e analisi bioinformatica: controllo qualità e preparazione librerie; quantificazione e controllo della qualità dei frammenti (Qubit, Bioanalyzer/Tapestation) e costruzione librerie NGS; analisi dati.

- Analisi omiche di piccoli genomi (batteri, lieviti e funghi): Sequenziamento e assemblaggio de novo; Risequenziamento genomico (WGS): Identificazione di varianti (SNP, InDel) e tipizzazione ad alta risoluzione.
- Biostatistica: Assemblaggio, annotazione funzionale, analisi di espressione differenziale e profilazione della diversità biologica. Ampliconi (16S / ITS / 18S): Profilazione di comunità batteriche e fungine da matrici complesse (suolo, alimenti, acque, microbiota).