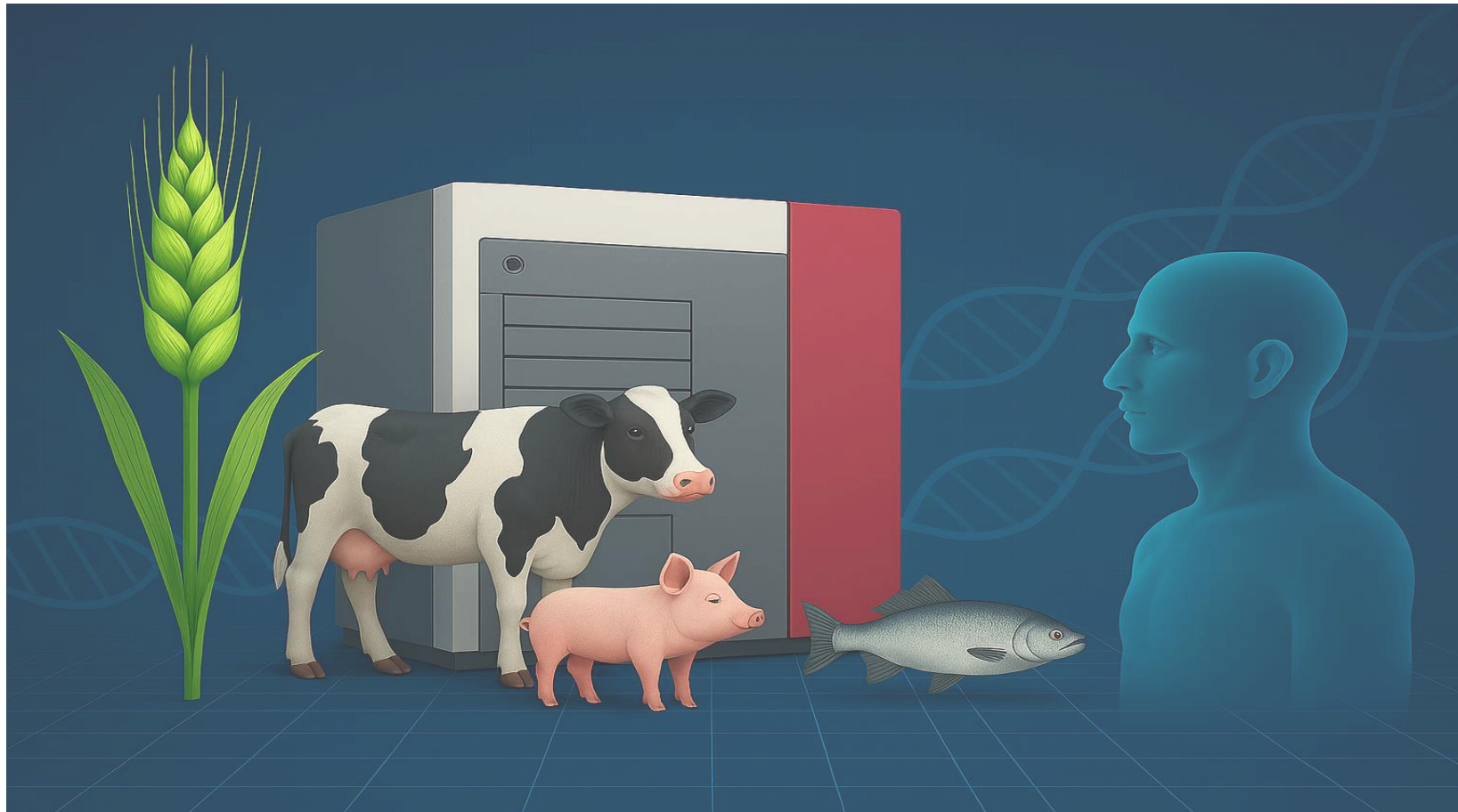
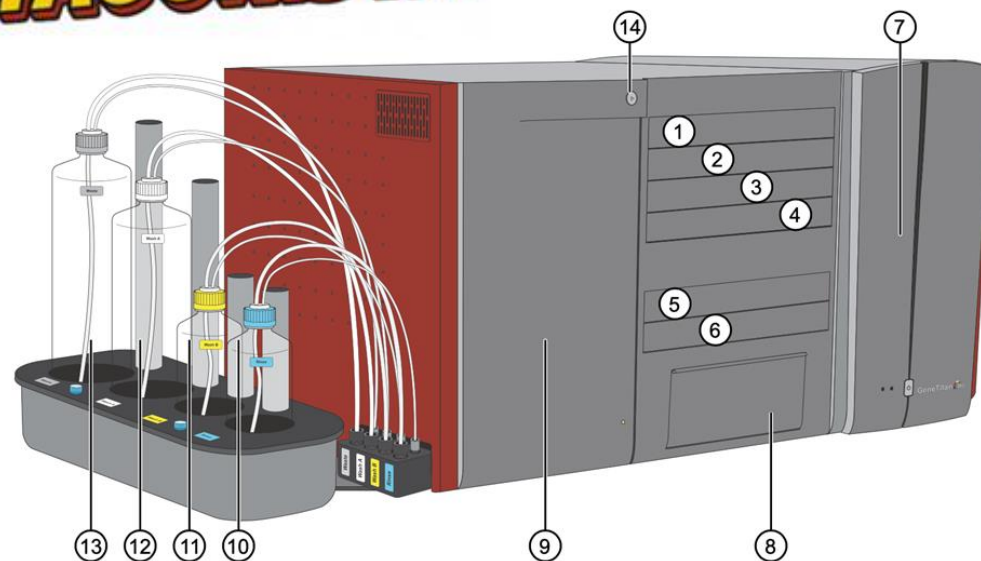


Genetitan for streamlined array processing: la ricerca ad ampio spettro, dall' agrigenomica all'uomo, tra innovazione e potenzialità



Silvia Colussi, SC Biotecnologie

IL PROTAGONISTA



- | | |
|---|--|
| ① Input/Output Drawer 1 | ⑨ Fluidics unit |
| ② Input/Output Drawer 2 | ⑩ Rinse bottle containing de-ionized (DI) water |
| ③ Input/Output Drawer 3 | ⑪ Wash B bottle |
| ④ Input/Output Drawer 4 | ⑫ Wash A bottle |
| ⑤ Input/Output Drawer 5 | ⑬ Waste bottle for drained buffers and residual reagents |
| ⑥ Input/Output Drawer 6 | ⑭ Confirmation button (to open/close drawers) |
| ⑦ Imaging device | |
| ⑧ Trash door to waste chute (for used materials such as plate covers) | |



Contatti:

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLV)
Via Bologna 148, 10154 Torino

Pastorino Paolo
paolo.pastorino@izsplv.it

Colussi Silvia
silvia.colussi@izsplv.it



MINISTERO DELL'AGRICOLTURA DELLA SOVRANITÀ ALIMENTARE E DELLE FORESTE

PROGRAMMA
PNRR (Piano Nazionale Ripresa Resilienza)

TIPO DI AZIONE
Intervento sulla filiera dell'acquacoltura di acqua dolce

DURATA
Dicembre 2022 – Giugno 2028

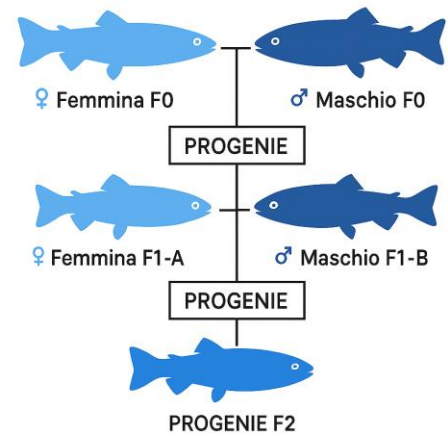
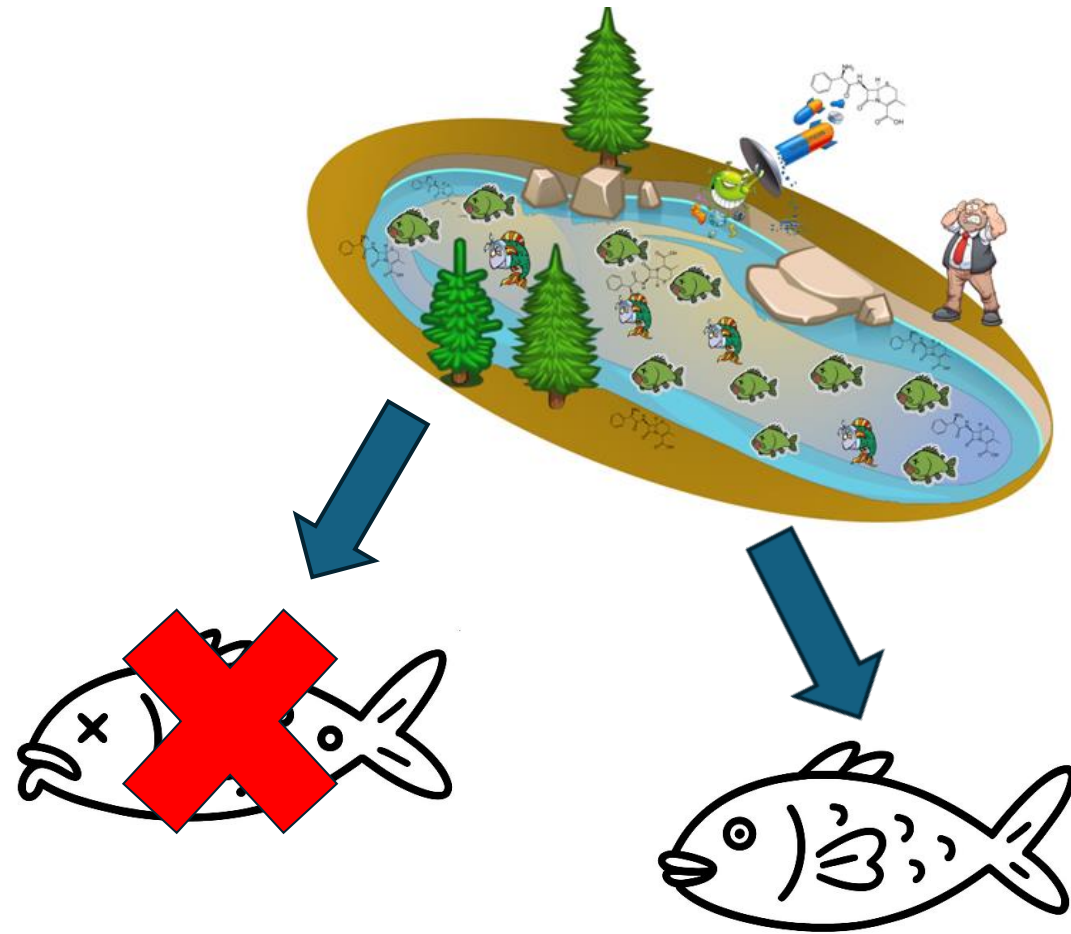
COORDINATORE
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLV)



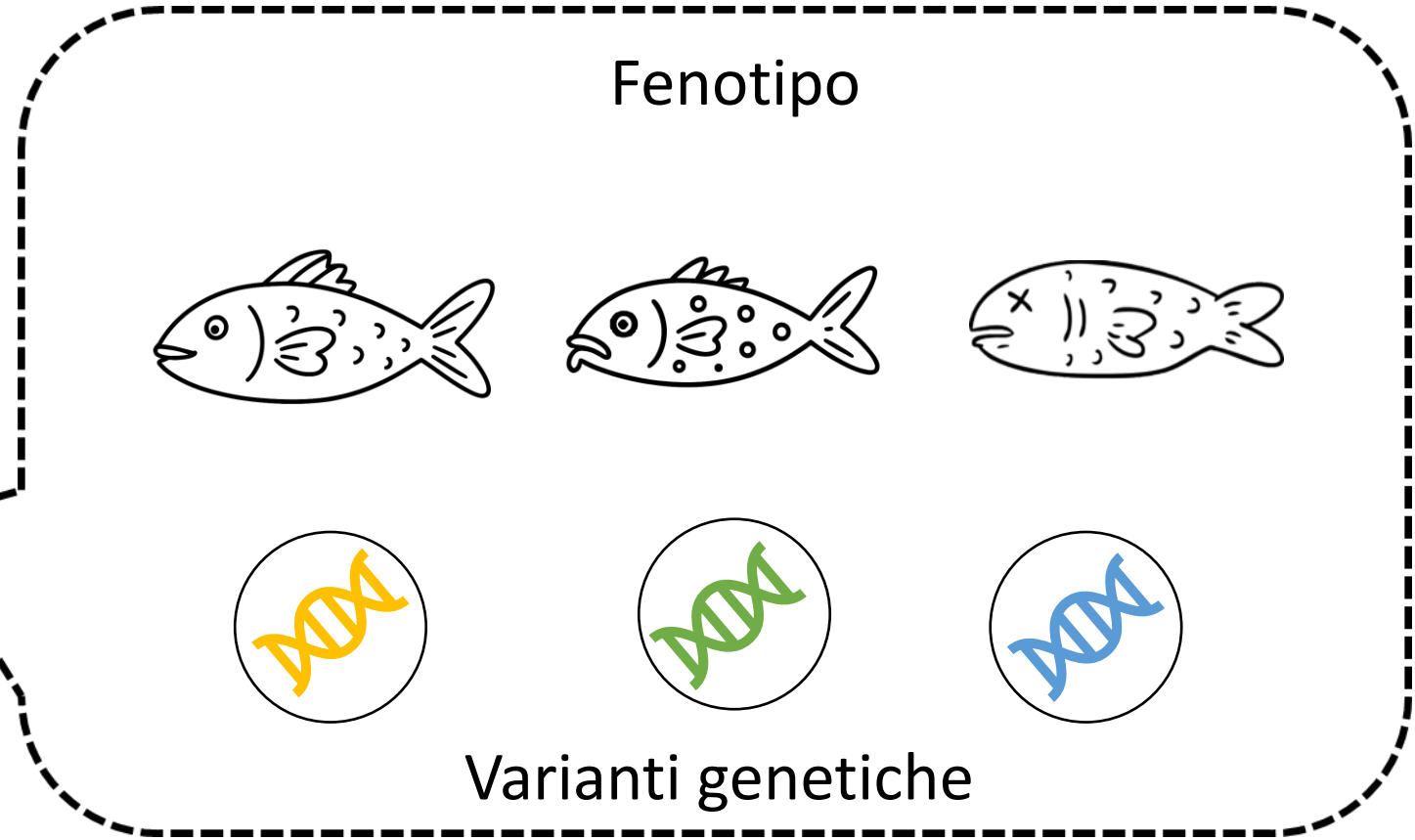
- O B I E T T I V I**
- Adattamento ai CAMBIAMENTI CLIMATICI
 - Prevenzione e riduzione dell'INQUINAMENTO
 - Transizione verso un' ECONOMIA CIRCOLARE
 - Protezione e ripristino della BIODIVERSITÀ e degli ECOSISTEMI

- I N T E R V E N T I**
- Individuazione di marcatori di interesse in stock di riproduttori per la resistenza allo stress termico, alla MALATTIA PROLIFERATIVA RENALE (PKD) e alla LATTOCOCCOSI
 - Utilizzo di OLI ESSENZIALI come alternativa agli antibiotici
 - Analisi chimica dei FANGHI REFLUI
 - Valutazione mediante tecniche di biologia molecolare dello stato di TRIPLOIDIA degli AVANNOTTI DI TROTA e sviluppo di un modello statistico per valutare la scala temporale entro la quale l'immissione di tali soggetti determinerà l'assenza di ibridazione

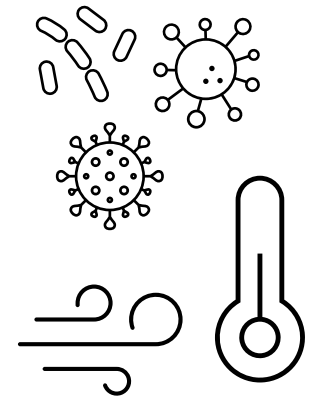
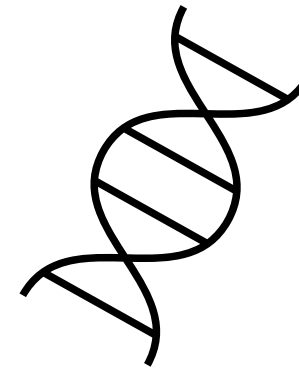
- RISULTATI ATTESI**
- Produzione di linee di TROTA IRIDEA geneticamente RESISTENTI a LATTOCOCCOSI, PKD e ALTE TEMPERATURE
 - Abbattimento dell'utilizzo di FARMACI e il conseguente INQUINAMENTO AMBIENTALE da essi determinato e riduzione del fenomeno dell'ANTIBIOTICO RESISTENZA
 - Riutilizzo dei FANGHI REFLUI nell'ottica di ECONOMIA CIRCOLARE
 - Produzione di linee di TROTE FARIO STERILI da immettere nei corsi d'acqua a supporto della CONSERVAZIONE della trota marmorata



Genome- Wide Association Studies



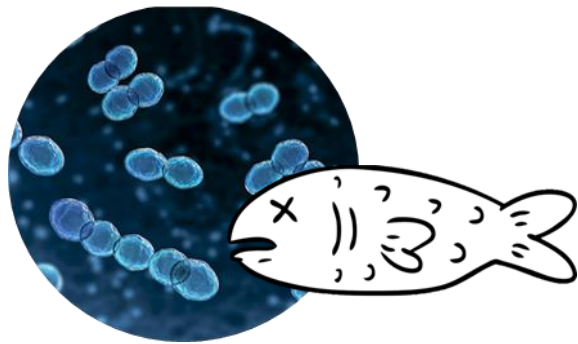
Genome- Wide Association Studies



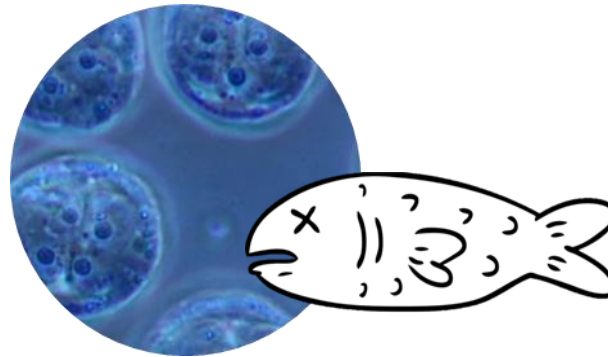
$$P = G + E$$

Utilizzo di chip per
trota a media densità
(Axiom trout array 57K)
GENETITAN

Lactococcosis



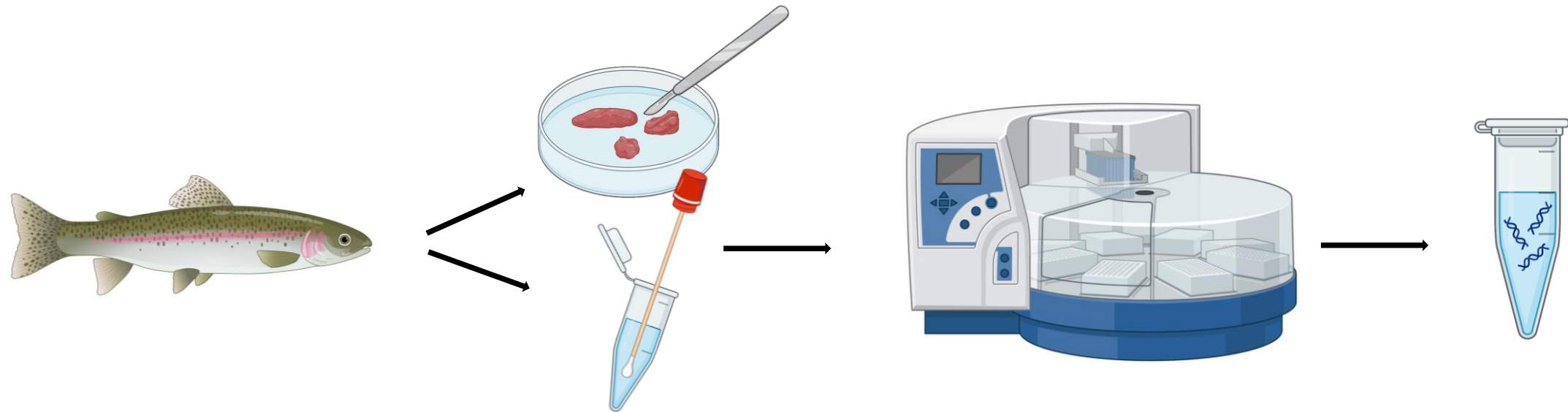
Proliferative
Kidney Disease



Thermal stress



Estrazione del DNA genomico



- DNA a doppio filamento
- DNA non degradato
- DNA di elevata purezza
- Assenza di inibitori della polimerasi

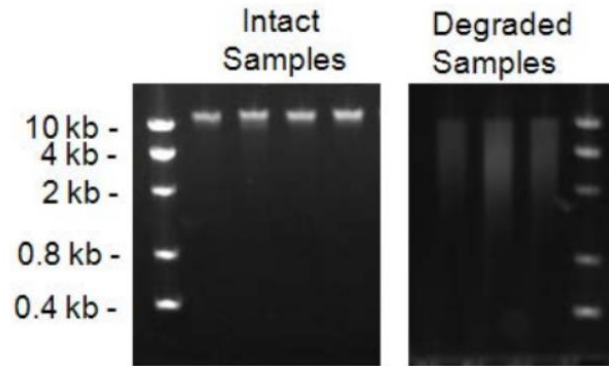


Figure 1 Gel images showing intact gDNA and degraded gDNA.

Table 2 Input requirements for Axiom 2.0 Assay.

| Sample type | Volume per well | Input mass per well | gDNA concentration |
|------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| Human | 20 μ L | 100 ng | 5 ng/ μ L |
| Diploid plants and animals | 20 μ L | 150 ng | 7.5 ng/ μ L |
| Polyploid plants and animals | 20 μ L | 200 ng | 10 ng/ μ L |
| Stool | 20 μ L | 50 ng | 2.5 ng/ μ L |



Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5

96

Amplify DNA

96

Fragment DNA

96

Resuspension & Hyb prep

Ligate-
Wash-
Image

applied biosystems
 In Precision. In Science.

Axiom™
 Analysis Suite

Automate
 Analysis
 Axiom
 Analysis Suite

96

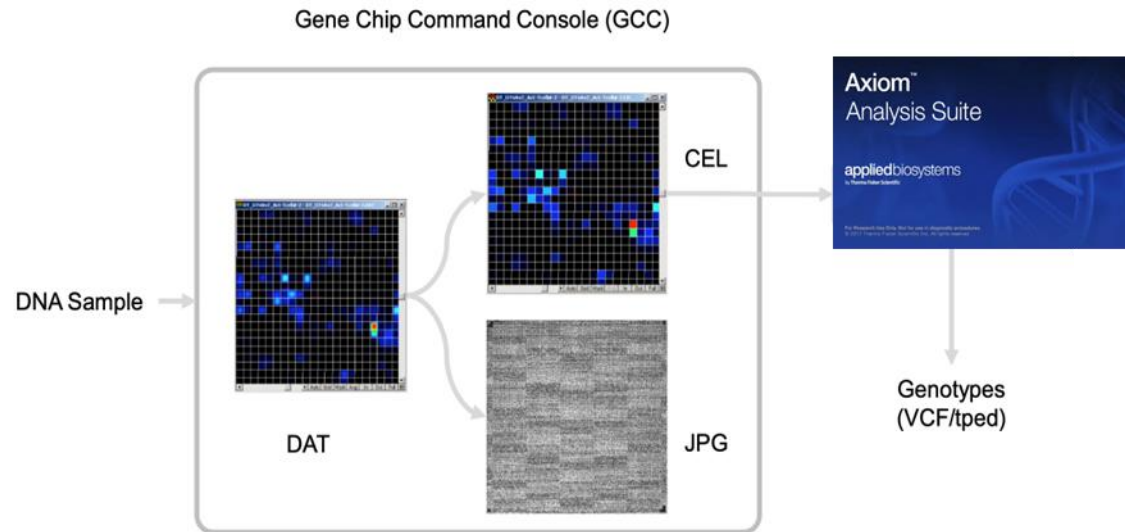
Incubate
 23 ± 1Hr

96

Precipitate
 O/N

96

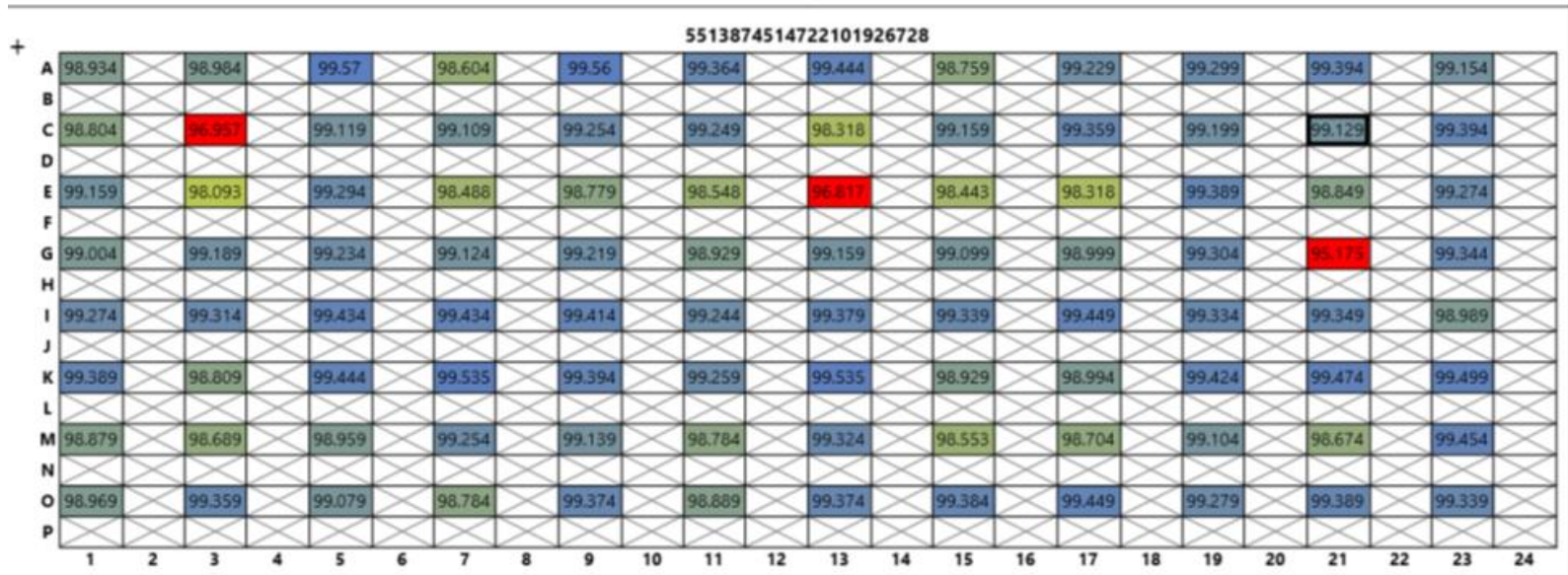
Hybridization



- Infine la CD camera sarà in grado di rendere visibile la fluorescenza dei marcatori.
- I segnali luminosi saranno letti dallo scanner che ne restituirà i risultati.
- Al termine della scansione i dati verranno elaborati attraverso il software Axiom Analysis Suite.

Genotipizzazione

QC call_rate by Plate



QC call_rate



Configure

| probeset_id | 76789_1.CEL_call_code | 76789_10.CEL_call_code | 76789_11.CEL_call_code | 76789_12.CEL_call_code |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| AX-86908953 | A/G | A/A | G/G | A/G |
| AX-86830057 | C/C | C/C | C/C | C/C |
| AX-86951728 | --- | T/T | T/T | C/C |
| AX-86996661 | A/A | A/A | A/A | A/A |
| AX-87024365 | T/C | T/T | T/T | T/C |
| AX-87082249 | A/C | A/A | A/C | A/C |
| AX-87133963 | C/C | C/C | C/C | C/C |
| AX-87170045 | A/G | A/G | A/G | A/G |
| AX-87219345 | G/G | G/G | G/G | T/G |
| AX-87222865 | C/C | C/C | A/C | A/C |
| AX-87233703 | T/C | T/T | T/C | T/C |
| AX-87263712 | G/G | G/G | T/T | T/T |
| AX-87299689 | G/G | G/G | G/G | G/G |
| AX-87329954 | G/G | G/G | G/G | G/G |
| AX-87382708 | T/G | G/G | T/G | G/G |
| AX-87396462 | C/C | C/C | C/C | A/C |
| AX-87401968 | G/G | G/G | A/G | G/G |
| AX-87453069 | C/C | C/C | C/C | C/C |
| AX-87486744 | A/A | A/A | A/C | A/A |
| AX-87567961 | G/G | G/G | G/G | G/G |
| AX-87568743 | G/G | G/G | G/G | G/G |

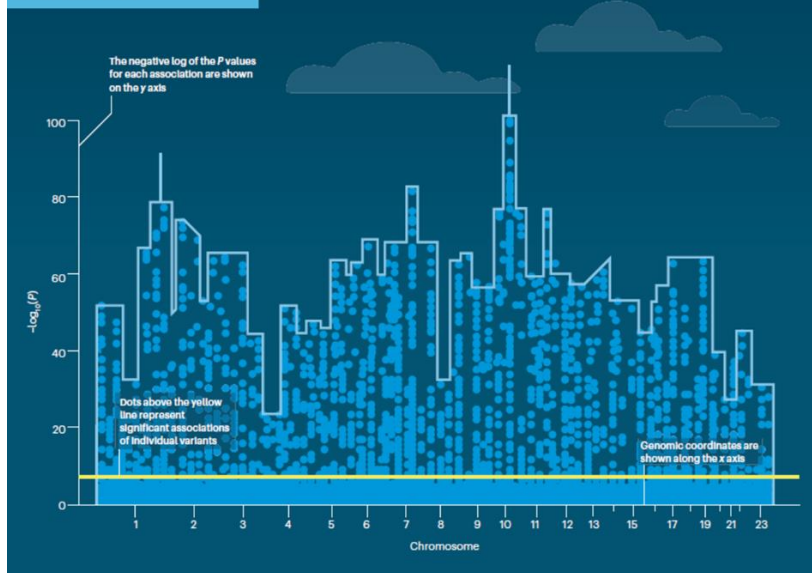
Required output: PLINK file

Results

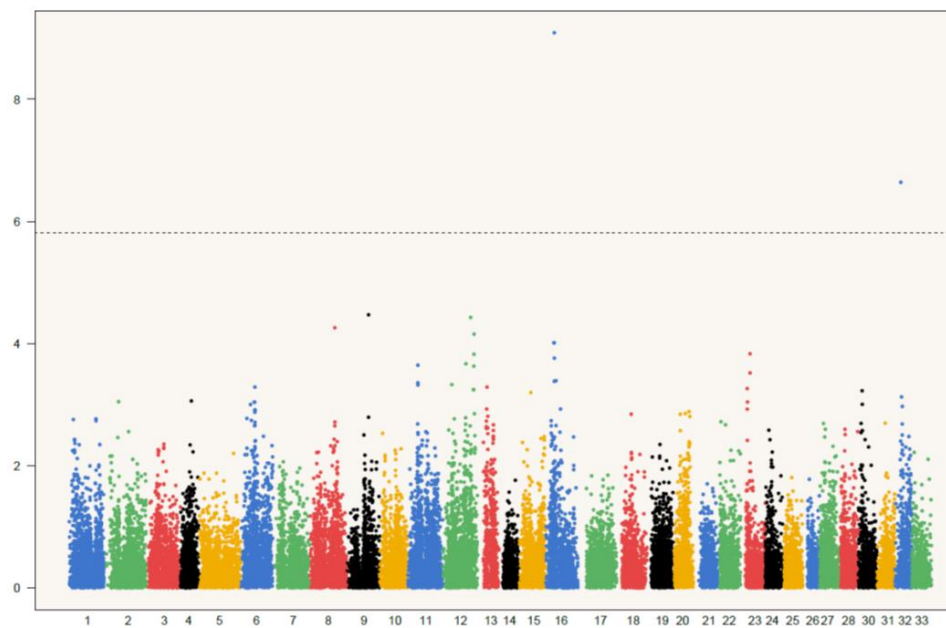
Associations are usually represented in a Manhattan plot; each dot represents an individual variant.

After identifying significant associations, downstream steps include prioritizing causal variants through statistical fine-mapping.

Further steps include identifying affected genes and pathways.



rt_HS - GC (Lambda= 0.99)



| Chr | SNP | bp | A1 | p |
|-----|-------------|----------|----|----------|
| 16 | AX-89953412 | 20976244 | A | 3,78E-11 |
| 32 | AX-89954319 | 14136895 | G | 2,54E-08 |

Grazie per l'attenzione!