

Proteomica: innovazione dello studio del microbioma orale.

Introduzione.

Le analisi di resti scheletrici umani rinvenuti in uno scavo sono incluse nell'ambito della ricerca archeologica. I resti scheletrici, quali ossa e denti, sono una fonte di conoscenza per la ricostruzione delle condizioni di vita del passato e sono spesso le uniche testimonianze biologiche recuperabili. Le ossa sono state la risorsa più utilizzata per il recupero di informazioni nell'analisi genomica ma il campo della ricerca proteomica ha assistito di recente a un rapido aumento della sua applicazione allo studio dei materiali antichi[1]. Il metodo della proteomica prevede l'applicazione della spettrometria di massa per lo studio di antichi proteomi[2]. I vantaggi del metodo risiedono nella sua capacità di discriminare tra le fonti delle molecole, piuttosto che la particolare specie[1] e allo stesso tempo i proteomi potrebbero offrire diversi tipi di informazioni. Si ritiene che le proteine sopravvivano per periodi di tempo molto più lunghi rispetto al DNA[3]. Grazie all'estrazione delle proteine dal tartaro dentale è possibile determinare il microbioma totale orale. La dieta è uno dei fattori più importanti che determinano la salute umana, i cambiamenti in essa hanno implicazioni sull'evoluzione del microbioma orale [4] che può influenzare l'espressione genica nella risposta immunitaria.

Scopo del progetto.

Lo scopo del progetto è di affrontare le questioni relative agli effetti del cambiamento dietetico sul microbioma orale. Questo tipo di approccio potrebbe chiarire tematiche da sempre in cerca di risposta. Ad oggi si sa poco su come possa essersi evoluto il microbioma orale durante le fasi chiave della nostra storia evolutiva come la transizione neolitica verso l'agricoltura. Si potrebbero confrontare i campioni di cacciatori-raccoglitori del Paleolitico con gli agricoltori del Neolitico [5]. Oppure si potrebbe chiarire il consumo del latte, alimento considerato un esempio di evoluzione genetica-culturale. Gli esseri umani hanno sfruttato il latte animale come risorsa per almeno 8500 anni ma le origini, la diffusione e le dimensioni della produzione di latte rimangono poco conosciute [6]. Linee di evidenza indirette, come i rapporti isotopici lipidici dei residui di ceramica e le frequenze alleliche di persistenza della lattasi forniscono un quadro parziale di questo processo. Per capire come, dove e quando gli umani hanno consumato prodotti lattiero-caseari, è necessario

collegare le prove del consumo direttamente agli individui e al loro bestiame da latte [6]. Con l'analisi proteomica inoltre si è in grado di ricostruire la sequenza aminoacidica e confrontare la sequenza della β -lattoglobulina con la sequenza della specie animale: bovino, ovino o caprino. In definitiva, una conoscenza più approfondita della dieta diventa necessaria per risolvere la complessa co-evoluzione dei microbiomi orali e dei loro ospiti umani, in quanto diventa una preziosa fonte di informazioni sullo stato di salute dell'ospite.

Metodi.

1. Campionamento: rimozione del tartaro dentale tramite un ablatore dentale.
2. Estrazione dei peptidi dal tartaro dentale, protocollo di preparazione del campione assistito da filtro (FASP) [7].
3. Analisi: I peptidi estratti verranno analizzati utilizzando la spettrometria di massa tandem di proteine shotgun (MS/MS)[6], che potrebbe essere effettuata, in collaborazione con il Dott. Gabriele Scorrano (Università di Copenhagen).
4. Analisi Dati: Gli spettri MS/MS grezzi verranno convertiti in formato generico Mascot ricercabile utilizzando Proteowizard versione 3.0.4743. La ricerca nel database di ioni MS/MS verrà eseguita su Mascot (Matrix Science™, versione 2.4.01) da confrontare poi a tutte le sequenze disponibili in *UniProt* e nel database del microbioma orale umano (HOMD)34[6].

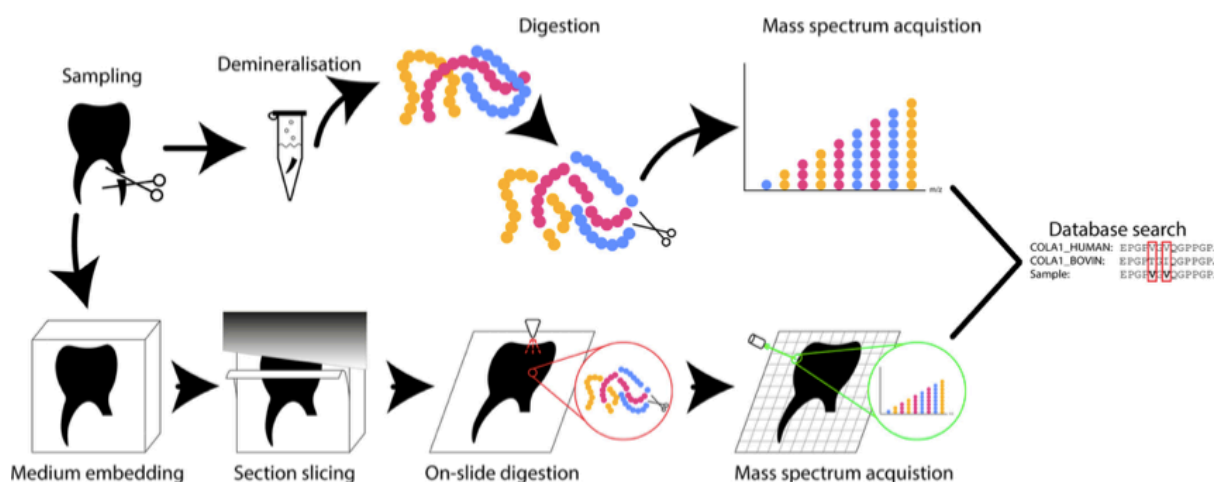


Fig.1 Flusso di lavoro [8].

Bibliografia.

1. Buckley, M. (2018) Paleoproteomics: An Introduction to the Analysis of Ancient Proteins by Soft Ionisation Dekker, J., Larson, T., Tzvetkov, J., *Paleogenomics. Population Genomics*.
2. Hendy, J., Welker, F., Demarchi, B., Speller, C., Warinner, C., & Collins, M. J. (2018). A guide to ancient protein studies. *Nature ecology & evolution*, 2(5), 791–799.4.
3. Warinner, C., Korzow Richter, K., & Collins, M. J. (2022). Paleoproteomics. *Chemical reviews*, 122(16), 13401–13446.
4. Scorrano, G., Nielsen, S. H., Vetro, D. L., Sawafuji, R., Mackie, M., Margaryan, A., Fotakis, A. K., Martínez-Labarga, C., Fabbri, P. F., Allentoft, M. E., Carra, M., Martini, F., Rickards, O., Olsen, J. V., Pedersen, M. W., Cappellini, E., & Sikora, M. (2022). Genomic ancestry, diet and microbiomes of Upper Palaeolithic hunter-gatherers from San Teodoro cave. *Communications biology*, 5(1), 1262.
5. Quagliarello, A., Modi, A., Innocenti, G., Zaro, V., Conati Barbaro, C., Ronchitelli, A., Boschini, F., Cavazzuti, C., Dellù, E., Radina, F., Sperduti, A., Bondioli, L., Ricci, S., Lognoli, M., Belcastro, M. G., Mariotti, V., Caramelli, D., Mariotti Lippi, M., Cristiani, E., Martino, M. E., ... Lari, M. (2022). Ancient oral microbiomes support gradual Neolithic dietary shifts towards agriculture. *Nature communications*, 13(1), 6927.
6. Warinner, C., Hendy, J., Speller, C., Cappellini, E., Fischer, R., Trachsel, C., Arneborg, J., Lynnerup, N., Craig, O. E., Swallow, D. M., Fotakis, A., Christensen, R. J., Olsen, J. V., Liebert, A., Montalva, N., Fiddyment, S., Charlton, S., Mackie, M., Canci, A., Bouwman, A., Collins, M. J. (2014). Direct evidence of milk consumption from ancient human dental calculus. *Scientific reports*, 4, 7104.
7. Wiśniewski, J. R., Zougman, A., Nagaraj, N., & Mann, M. (2009). Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nature methods*, 6(5), 359–362.
8. Harvey, V. L., Dowle, A., Hagan, R., Genever, P., Schrader, S., Soressi, M., & Hendy, J. (2023). Spatial analysis of the ancient proteome of archeological

teeth using mass spectrometry imaging. *Rapid communications in mass spectrometry* : *RCM*, 37(8), e9486.3.