XXIV Congresso Nazionale SIDILV 2026

ANALISI RNA-SEQ: CONFRONTO TRA METODI DI ESTRAZIONE E CONTROLLO QUALITA' DI CAMPIONI DI SANGUE BOVINO IMPIEGATI NEGLI INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY (IGRA)

A. Fratto [1], M. Torricelli [1], G. Vita [1], E. Albini [1], R. Biccheri [1], P. Mazzone [1,2]

[1] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche ''Togo Rosati'', Perugia (Italy);*
[2] *Dipartimento di Scienze Veterinarie – Università degli Studi di Perugia*

INTRODUZIONE

L'RNA sequencing (RNA-Seq) è uno strumento sempre più utilizzato per lo studio della risposta immunitaria e delle interazioni ospite-patogeno. Tuttavia, l'impiego di campioni biologici conservati a lungo è limitato dalla difficoltà di ottenere RNA di qualità adeguata.

Il riutilizzo di campioni diagnostici rappresenta quindi un'opportunità per valorizzare le biobanche veterinarie e condurre studi trascrittomici retrospettivi.

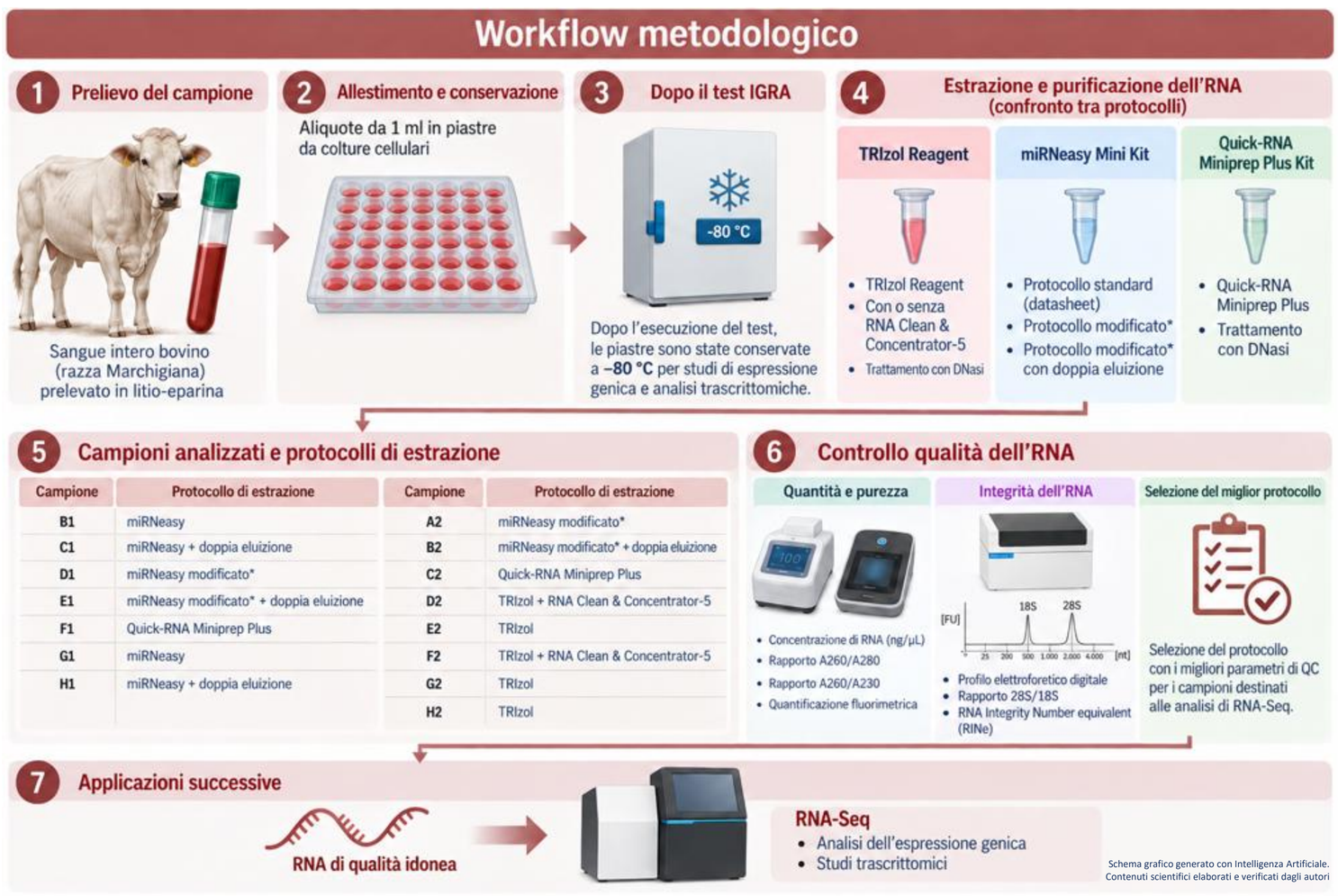




Obiettivo dello studio

confrontare diversi protocolli di estrazione e purificazione dell'RNA da campioni bovini IGRA per Paratubercolosi, conservati a −80°C, per individuare un workflow idoneo per future applicazioni trascrittomiche.

MATERIALI & METODI



RISULTATI & CONCLUSIONI

I protocolli testati hanno evidenziato differenze significative in termini di resa, purezza e integrità dell'RNA. La quantificazione mediante Qubit ha mostrato concentrazioni comprese tra 60–100 ng/µL, inferiori ai valori spettrofotometrici (80–400 ng/µL), verosimilmente sovrastimati.

Le modifiche apportate al protocollo miRNeasy hanno migliorato il recupero e la purezza dell'RNA, in particolare mediante doppia eluizione e l'introduzione di lavaggi e centrifugazioni a secco aggiuntivi.

L'analisi mediante TapeStation (Fig.1) ha evidenziato un'integrità variabile (RINe <5). I risultati migliori sono stati ottenuti con:

- TRIzol + RNA Clean & Concentrator → RINe 4,6
- miRNeasy modificato → RINe 3,4

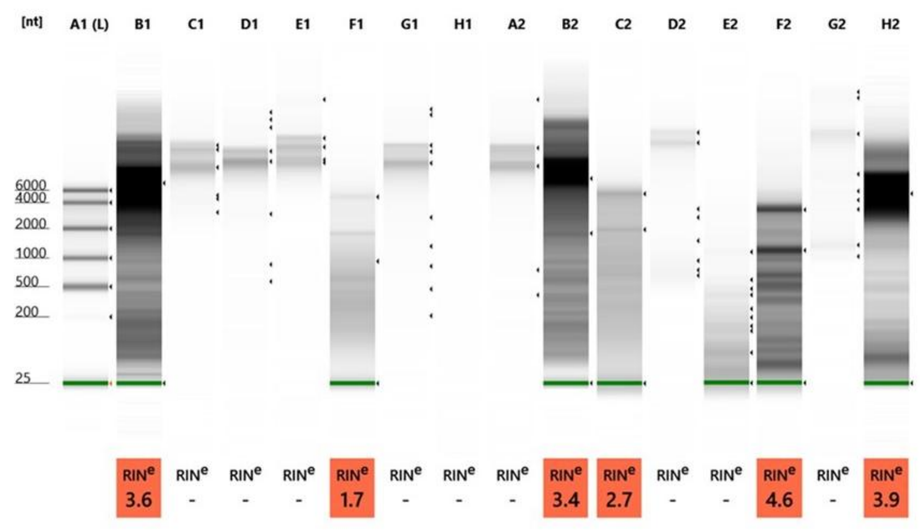
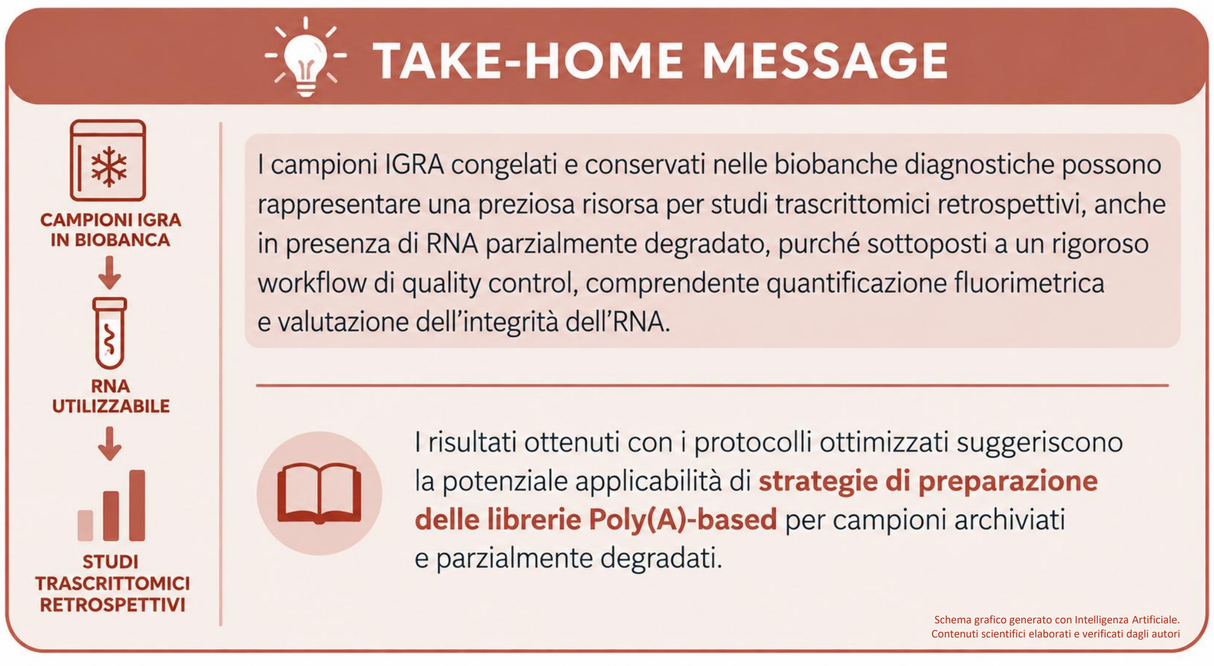


Figura 1. Profili elettroforetici Agilent 4200 Tape Station



Bibliografia

1. Zou C e*t al*. 2023 doi.org/10.1089/bio.2022.0007
2. Corneli *et al*. 2021 doi.org/10.3389/fvets.2021.638890
3. Li S *et al.* 2024 doi.org/10.1016/j.forsciint.2024.111976
4. Stefanovic F *et al.* 2025 doi.org/10.1021/acs.analchem.4c04591

Finanziamento Ministero della Salute
RC IZSUM 06/21 e 04/24

Ministero della Salute

Stampato a cura dell'Unità Operativa di Supporto Biblioteca, Informazione, Editoria (2018).
Quest'opera è stata rilasciata sotto la licenza Creative Commons Attribuzione-Non commerciale-Non opere derivate 2.5 Italia.
Per leggere una copia della licenza visita il sito web http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/it/ o spedisci una lettera a Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, California, 94105, USA.