

Research project (Progetto di Ricerca)

High resolution mass spectrometry based untargeted metabolomics for the deepening of knowledge of soil-plant microbiomes interactions in the perspective of resilient food systems

This project, entitled “Advanced tools for integration and synergistic inTeRconnectIon of microBIOMEs in resilient food systems, TRIBIOME (Call: HORIZON-CL6-2022-FARM2FORK-01), aims to deepening the knowledge of soil/plant/animal and human microbiomes, as well as their interrelationships and interconnections, so that they can play a leading role in the resilience of food production systems in the near future. TRIBIOME will face the main challenges such as the need to minimize resources, reduce the environmental impact and promote healthy and plant-based food value chain while feeding a constantly growing world population under the paradigm of climate change. Our part of the project deals with the untargeted metabolomics by using hyphenated analytical techniques such as liquid chromatography methods combined with high resolution mass spectrometry (LC-HRMS). Untargeted metabolomics will be used with developed workflows and optimized pipelines for the analysis of soil metabolites that have a key role in the soil-plant microbiomes interactions. Metabolites will be carefully extracted from samples by in-house developed methods. Fully annotated metabolomes will be generated from Orbitrap-based and/or Quadrupole-Time of flight (QTOF)-based high-resolution mass spectrometry hyphenated with two separation-platforms: micro liquid chromatography (microLC) and Ultra High Performance LC (UHPLC).

Metabolomica untarget basata su spettrometria di massa ad alta risoluzione per l'approfondimento della conoscenza delle interazioni dei microbiomi suolo-pianta nella prospettiva di sistemi alimentari resilienti

Questo progetto, intitolato “Advanced tools for integration and synergistic inTeRconnectIon of microBIOMEs in resilient food systems, TRIBIOME (Call: HORIZON-CL6-2022-FARM2FORK-01), mira ad approfondire la conoscenza dei microbiomi suolo/pianta/animale e umano, ovvero le loro interrelazioni e interconnessioni, in modo che possano svolgere un ruolo di primo piano nella resilienza dei sistemi di produzione alimentare nel prossimo futuro. TRIBIOME affronterà le principali sfide, come la necessità di ridurre al minimo le risorse, ridurre l'impatto ambientale e promuovere una catena del valore alimentare sana e a base vegetale, alimentando una popolazione mondiale in costante crescita sotto il paradigma del cambiamento climatico. La nostra parte del progetto si occupa della metabolomica untarget utilizzando tecniche analitiche come metodi di cromatografia liquida combinati con spettrometria di massa ad alta risoluzione (LC-HRMS). La metabolomica untarget sarà utilizzata con flussi di lavoro e pipeline sviluppati e ottimizzati per l'analisi dei metaboliti del suolo che hanno un ruolo chiave nelle interazioni dei microbiomi suolo-pianta. I metaboliti saranno accuratamente estratti dai campioni con metodi sviluppati internamente. Profili metabolici completi saranno generati dalla spettrometria di massa ad alta risoluzione basata su Orbitrap e/o Quadrupole-Time of flight (QTOF) combinati con due piattaforme di separazione: microcromatografia liquida (microLC) e Ultra High Performance LC (UHPLC).

Activity Plan (Piano di attività)

The scientific activity will be mainly focused on the untargeted analysis of metabolite profile by liquid chromatography combined with high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) on soil samples collected at the different sites defined in the project.

Preliminary sample preparation steps will be designed, including extraction techniques, namely C18 tips and solid phase extraction (SPE).

LC-HRMS analysis will be performed on micro LC or on UHPLC coupled to HR mass spectrometer as quadrupole-time of flight (QTOF) and/or Orbitrap. Samples analysis will be carried out in Information Dependent Acquisition mode (IDA) to obtain qualitative evidence (i.e. de novo fully untargeted metabolic fingerprinting), followed by a second data-independent acquisition (DIA) methods that provide deep metabolome (metabolite profiling) coverage capabilities with quantitative consistency and accuracy. These two complementary approaches will be used for omics investigations aimed at the definition of potential new metabolites that can be studied more specifically with a quantitative targeted approach on a highly specific and sensitive UHPLC-MS platform (quadrupolar-ion trap MS system). Metabolomics data analysis will be carried out using specific software adopting Accurate Mass Metabolite HR-MSMS Spectral Library 2.0 database. Statistic by multivariate analysis will be applied to metabolite composition combined with microbiome alpha-diversity (microbiological studies) at the soil/plant level.

L'attività scientifica sarà principalmente focalizzata sull'analisi untarget del profilo metabolico mediante cromatografia liquida combinata con spettrometria di massa ad alta risoluzione (LC-HRMS) di campioni di suolo raccolti nei diversi siti definiti nel progetto.

Saranno progettate le fasi preliminari di preparazione del campione, comprese le tecniche di estrazione, in particolare estrazioni liquido-liquido ed estrazione in fase solida (SPE).

L'analisi LC-HRMS sarà effettuata su micro LC o su UHPLC accoppiate a spettrometro di massa HR con analizzatori del tipo quadrupolo-tempo di volo (QTOF) e/o Orbitrap. L'analisi dei campioni sarà effettuata in modalità IDA (Information Dependent Acquisition) per ottenere evidenze qualitative (ad es. fingerprinting metabolico de novo completamente untarget), seguita da un secondo metodo di acquisizione indipendente dai dati (DIA) che fornisce una misura più dettagliata del metaboloma con coerenza e accuratezza quantitativa. Questi due approcci complementari saranno utilizzati per indagini omiche finalizzate alla definizione di potenziali nuovi metaboliti che possono essere studiati in modo più specifico con un approccio quantitativo mirato su una piattaforma UHPLC-MS altamente specifica e sensibile (sistema MS a trappola ionica quadrupolare). L'analisi dei dati metabolomici sarà effettuata utilizzando software specifici, adottando il database Accurate Mass Metabolite HR-MSMS Spectral Library 2.0.

La statistica mediante analisi multivariata sarà applicata alla composizione dei metaboliti combinata con la diversità alfa del microbioma (studi microbiologici) a livello di interfaccia suolo/pianta.