Silenzio Cosmico la biologia *underground* ai LNGS

Patrizia Morciano

PID – Programma INFN per la Didattica 2025

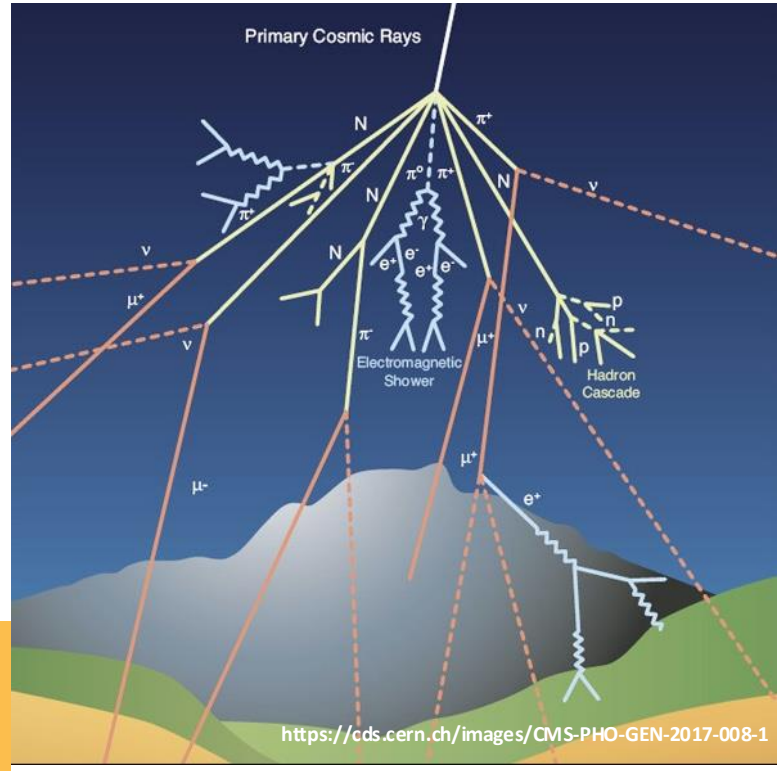
27 novembre 2025

Laboratori Nazionali del Gran Sasso (LNGS)

Missione principale: ricerca di processi rari
- decadimento dei protoni
- interazioni di neutrini
- materia oscura

LNGS infrastruttura esterna

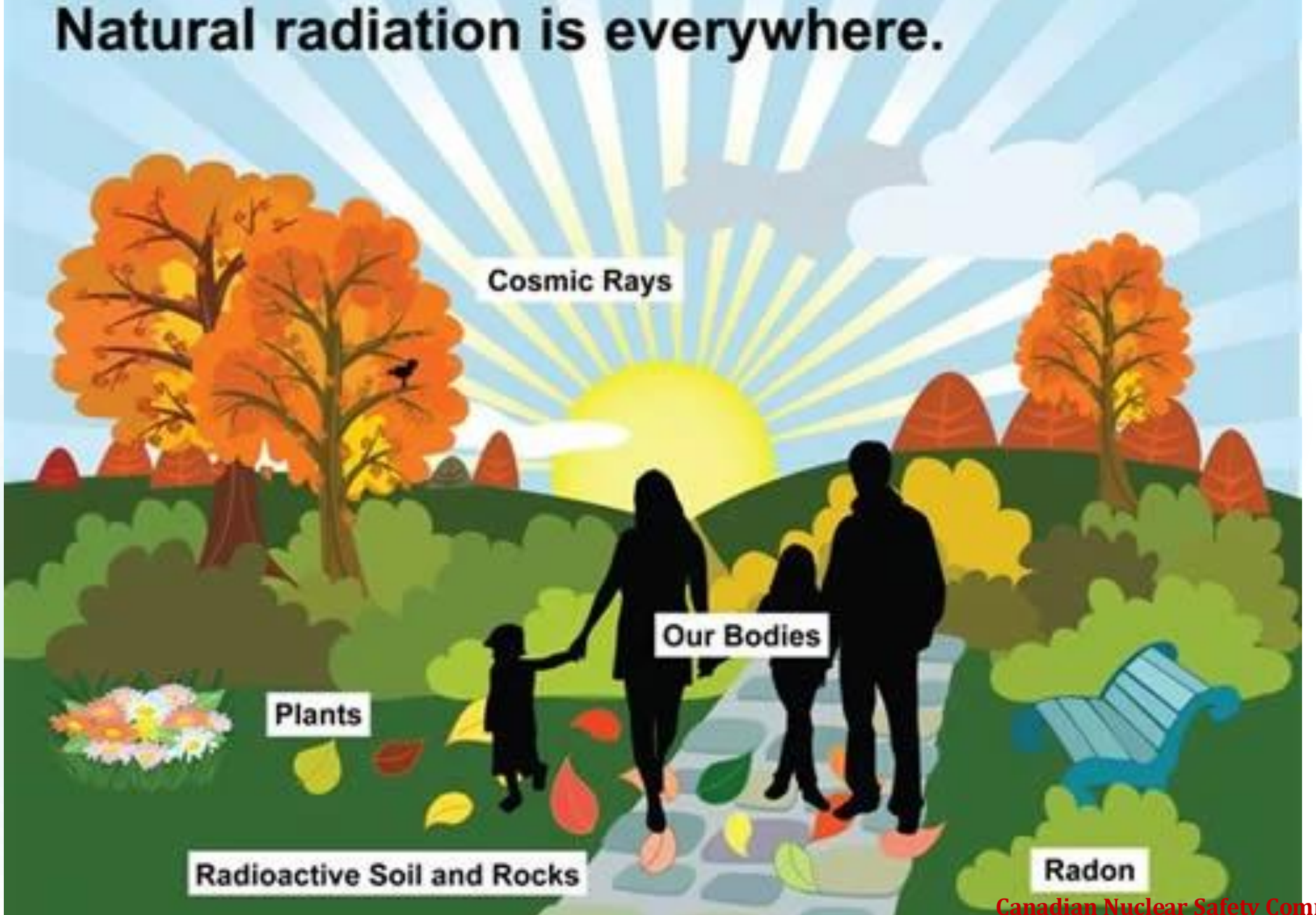
LNGS infrastruttura *underground*



LNGS ed il suo ambiente a bassissima radioattività ambientale offrono un'opportunità per condurre esperimenti di

RADIOBIOLOGIA *UNDERGROUND*

- La **RADIAZIONE NATURALE AMBIENTALE** ha un'influenza sul metabolismo dei sistemi viventi?
- Cosa succede ad un organismo quando **RADIAZIONE NATURALE AMBIENTALE** è fortemente ridotta?

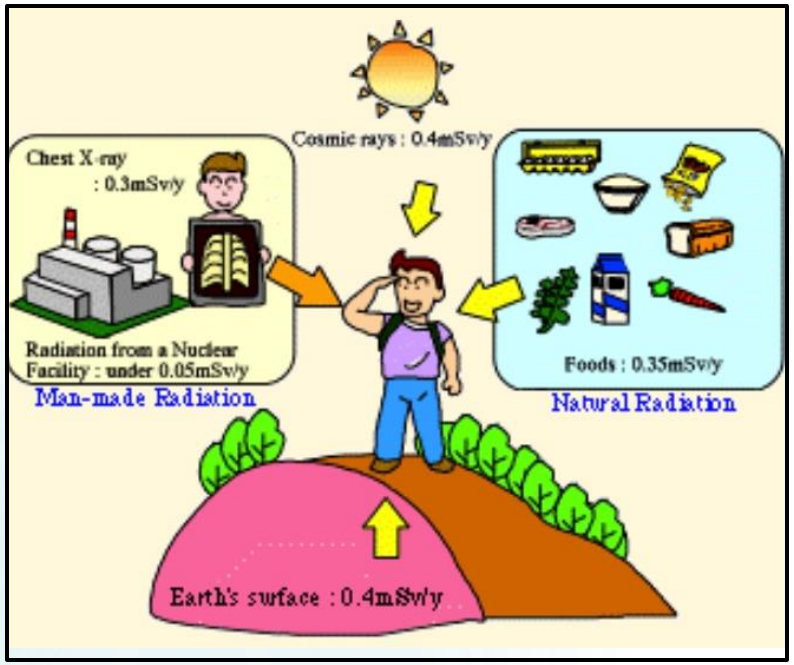


Canadian Nuclear Safety Commission

Esposizione alla radiazione è inevitabile per l'uomo

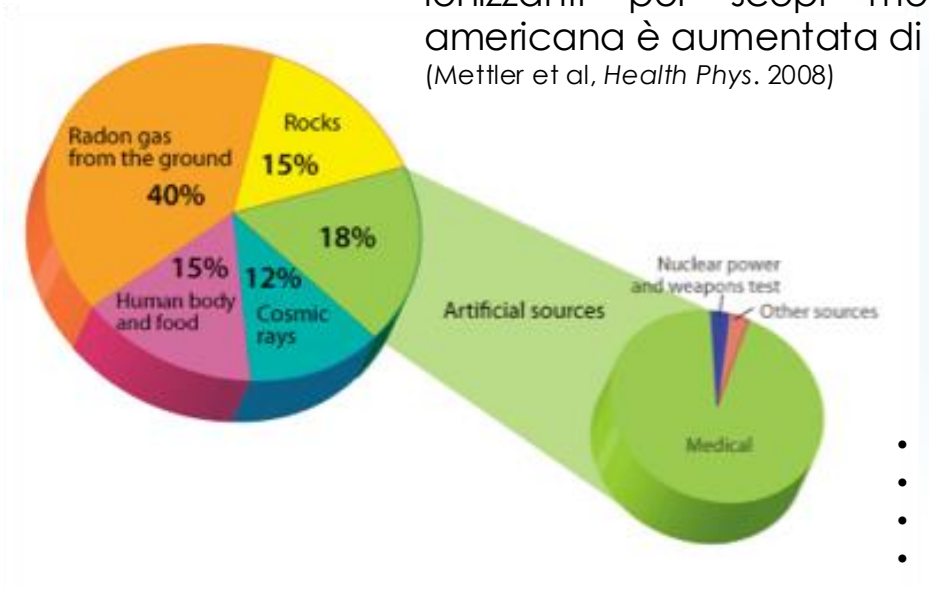
RADIAZIONE NATURALE AMBIENTALE + Radiazione artificiale

World average 2,4 mSv/year (***BEIR VII***)
Italy 3,4 mSv/year



https://www.jaea.go.jp/english/index.html

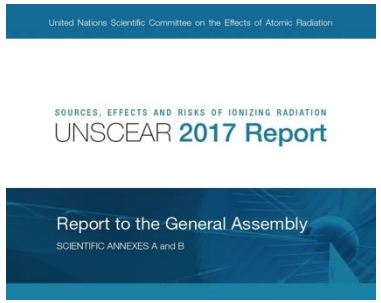
È stato calcolato che l'esposizione alle radiazioni ionizzanti per scopi medici nella popolazione americana è aumentata di sei volte dal 1982 al 2006.
(Mettler et al, *Health Phys*. 2008)



- X-ray imaging
- TAC
- Oncologic radiotherapies
- Security Scanner

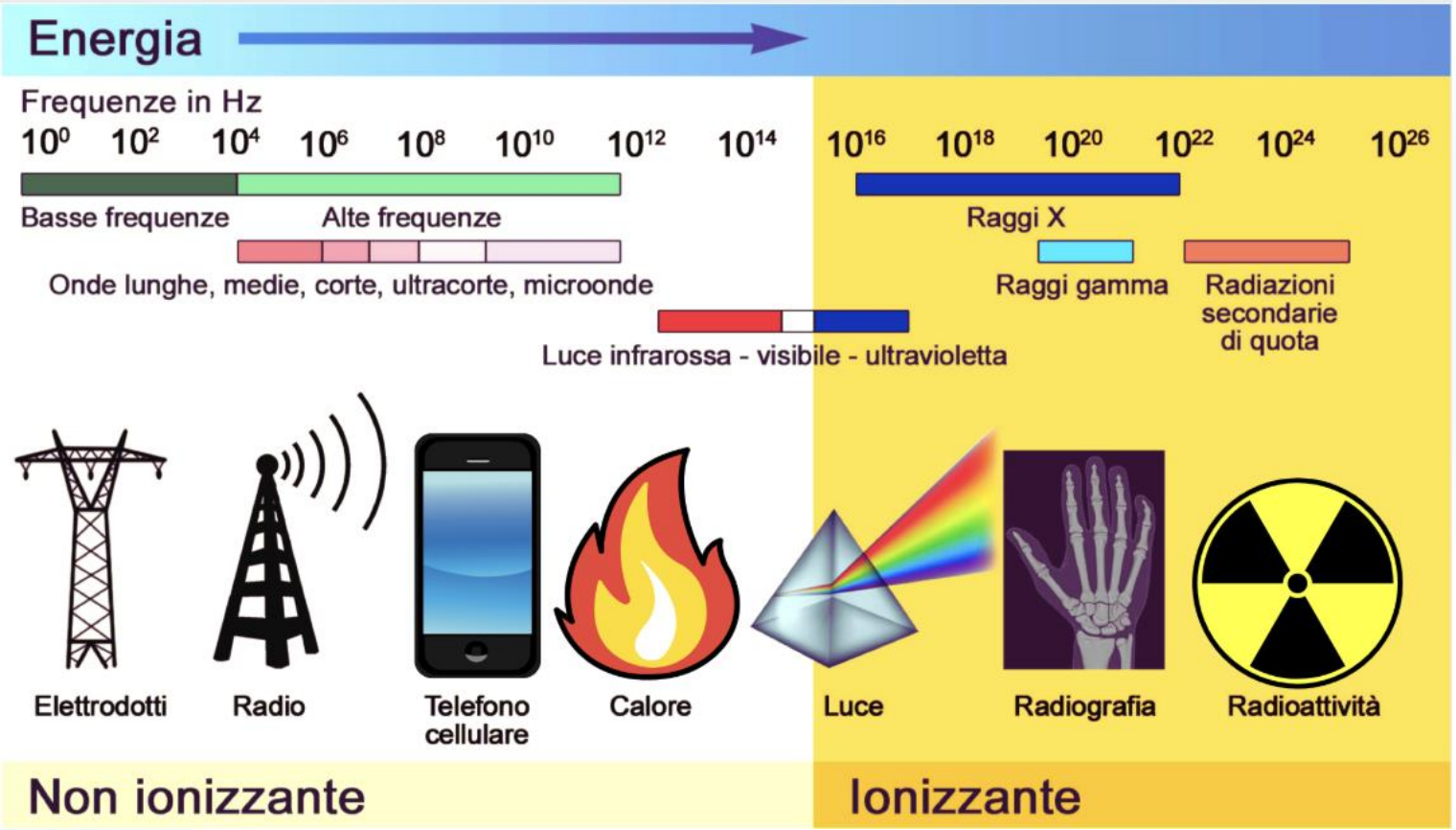
Ispettorato nazionale per la sicurezza nazionale e la radioprotezione

INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION



" A systematic examination of the risks associated with radiation exposure at low doses and low dose rates is, therefore, particularly timely. "

Radiazione: emissione e propagazione di energia sotto forma di **onde elettromagnetiche o di particelle** che si propagano nello spazio (suono, luce, calore..).



Le radiazioni si dividono principalmente in **ionizzanti** e **non ionizzanti** in base alla loro energia.

Effetti biologici delle radiazioni ionizzanti

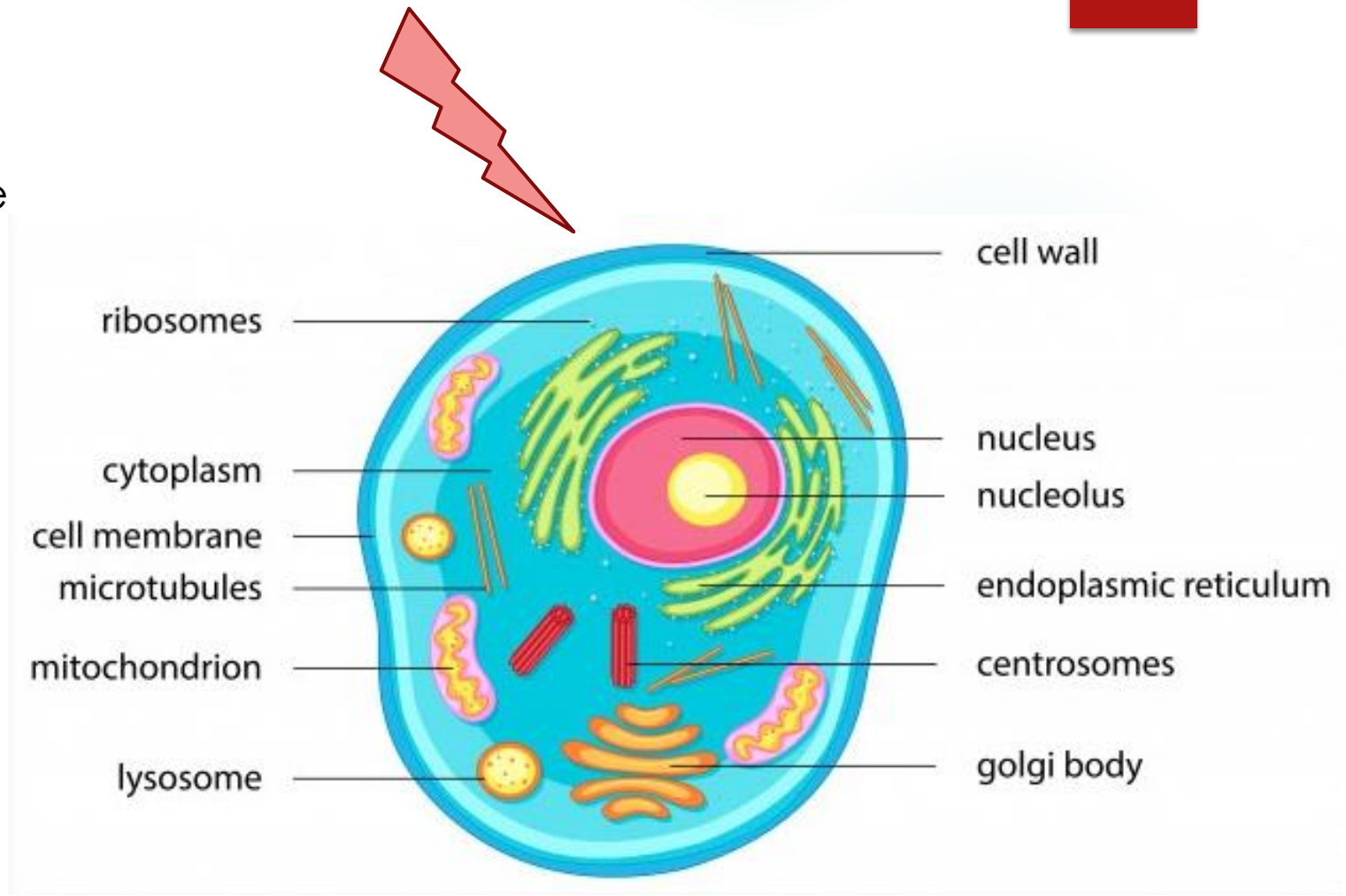
Le **radiazioni ionizzanti (IR)** rompono i legami chimici.

Le IR creano **radicali liberi e ROS**, come quelli prodotti da altri insulti e dai normali processi cellulari dell'organismo.

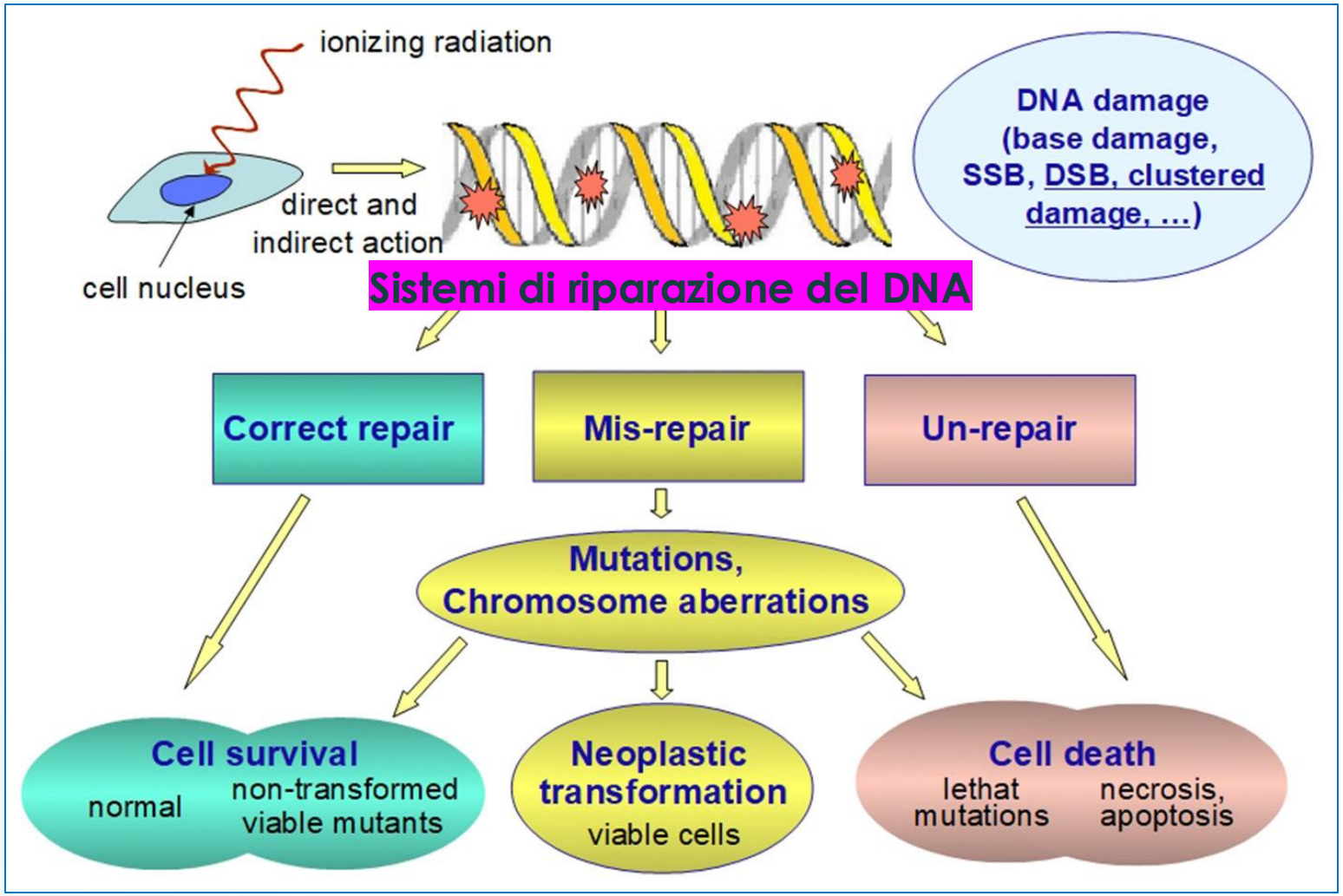
I radicali liberi e i ROS possono **modificare le biomolecole** (lipidi, proteine, acidi nucleici) nelle cellule dell'organismo, cambiando la funzione cellulare (**azione indiretta**).

Le radiazioni ionizzanti possono agire direttamente sulle biomolecole (**azione diretta**).

Il bersaglio cellulare più importante è il DNA.



Effetti biologici delle radiazioni

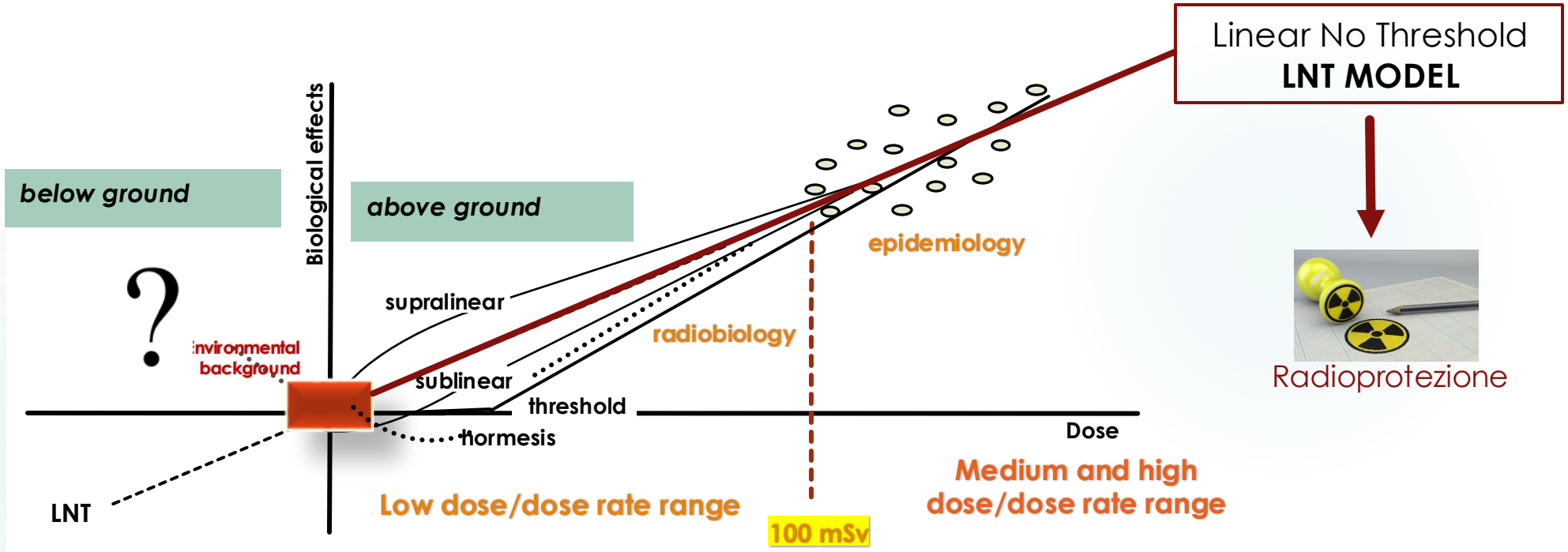


Radiazione

Effetto biologico

Belli M and Indovina L (2020) The *Response of Living Organisms to Low Radiation Environment and Its Implications in Radiation Protection.* Front. Public Health

Effetti biologici delle radiazioni



La comprensione del modo in cui le **radiazioni ambientali** influenzano la **materia vivente** è un tassello importante per chiarire gli **effetti biologici** delle esposizioni alle radiazioni a bassa dose

RADIAZIONI AMBIENTALI

La vita sulla Terra si è evoluta in presenza di radiazioni

Quale ruolo hanno avuto le radiazioni naturali nell'evoluzione e nel definire i sistemi di difesa dei organismi viventi?

Tali radiazioni hanno ancora oggi un ruolo importante per la vita e per il nostro metabolismo?
Sono necessarie per mantenere efficienti i sistemi di riposta agli stress?

L'obiettivo principale della **radiobiologia *underground*** è quello di comprendere il ruolo biologico delle **radiazioni di fondo naturali sugli organismi viventi**

- Determinare se la radiazione di fondo naturale è biologicamente necessaria: cosa succede agli organismi viventi quando la radiazione ambientale naturale viene ridotta?
  (Biologia di base)

- Esplorare l'adattamento da un punto di vista evolutivo ed ecologico: Come la vita e l'evoluzione sono state 'plasmate' dalle radiazioni ambientali?
  (Biologia evoluzionistica)

- Affinare i modelli di rischio da radiazioni a dosi molto basse: Gli attuali standard di sicurezza delle radiazioni (ad esempio, ICRP, UNSCEAR) presuppongono un modello lineare senza soglia (LNT): qualsiasi radiazione è dannosa. Le radiazioni a dosi molto basse hanno effetti benefici stimolando i meccanismi di protezione?
  (Radioprotezione)

- Comprendere le implicazioni per l'esplorazione umana dello spazio: moduli abitativi sotterranei
  (Ricerca spaziale)

Laboratori Nazionali del Gran Sasso

MACRO

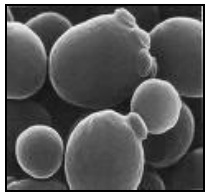
MACRO, costruito nel 1987, è stato in funzione tra 1989 e il 2000. La presa dati con la configurazione completa è iniziata nel 1995 ed è terminata nel dicembre 2000.

PULEX (Pulce)

PULEX, nasce nel 1990 da una intuizione del Prof. Satta, un fisico dell'ISS che era stato incaricato di misurare i livelli di radiazione ambientale in *underground*. Prima pubblicazione sui lieviti risale al 1995.

RADIOBIOLOGIA UNDERGROUND ai LNGS

In vitro



	Biological model systems investigated at LNGS		
Yeast	**Saccharomyces cerevisiae** *cultured for 1 week (~120 generations) at LRE and RRE (University of Rome)*	**Mutation induction** (*hprt* locus)	**Satta et al., Mutat Res 1995**
			02 015
			009
	(short term experiments, few weeks)	**PARP1 cleavage**	21
Fly	***Drosophila melanogaster*** *(RRE: L'Aquila University)*	**Life span**	**Morciano et al., J. Cell Physiol. 2018**
		Fertility	**Morciano et al., Radiat. Res. 2018**
		DNA repair	**Esposito et al., Front Public Health 2020**

LRE: Low Radiation Environment at the INFN-Gran Sasso National Laboratory; **RRE**: Reference Radiation Environment

Il messaggio generale che emerge da tutti questi studi è che le radiazioni ambientali sono importanti per mantenere efficienti i meccanismi biologici che determinano la capacità di far fronte allo stress.

In vivo

RADIOBIOLOGIA *UNDERGROUND* ai LNGS

APPROCCIO SPERIMENTALE:
Colture gemelle e test biologici paralleli

Laboratorio esterno

Reference Radiation Environment (RRE)

Temperatura
Umidità relativa
Luce

Pressione atmosferica

Terreno di coltura e reagenti

Laboratorio *underground*

Low Radiation Environment (LRE)

Differente esposizione alle radiazioni ambientali

Caratterizzazione dello spettro di radiazione

	LNGS External (RRE)	LNGS Underground (LRE)
Photons and directly ionizing cosmic rays (low LET, mostly muons) (nSv/h)	47[a]	negligible
Neutrons (high LET) (nSv/h)	21[b]	negligible
Total terrestrial γ-rays (low LET) (nSv/h)	31[a]	27[a]
Radon (high LET) (Bq/m³)	20[c]	15[c]
^{40}K in colture medium (low LET) (nSv/h	0,25	0,25

([a]) measures with Reuter Stokes, Automess and TLD and evaluation, at the LNGS altitude, based on UNSCEAR 2008 (Vol I. Sources and Effects of Ionizing Radiation; ([b]) literature data; ([c]) measures with AlphaGuard

Componente che si riduce significativamente in *underground*

In presenza di schermatura di ferro)

Riduzione totale (gamma+muoni) di circa 3 volte in LRE vs RRE

Riduzione totale (gamma+muoni) circa16 volte in LRE rispetto a RRE

Misure della radioattività intrinseca

in collaborazione con Servizio di Chimica e Tecniche Speciali

Specific activity ^{40}K

CAP
0,05mBq/cap

VIAL
0,3 mBq/vial

MEDIUM
135 mBq/7g

fly by HR-ICP-MS
0,082 mBq/fly

Specific activity (mBq/Kg)								
		ICP-MS§				HPGe		
		Vial	Cap	Culture medium	Fly	Vial	Cap	Culture medium
^{323}Th		0,2	1,1	2,8	0,8			
	^{228}Ra					<5,8	<9,5	<23
	^{228}Th					<5,4	<15	<15
^{238}U		0,9	2,4	6,2	2,5			
	^{226}Ra					5 ±2	<5,8	<8,6
	^{234}Th					<340	<57	<210
	^{234m}Pa					<220	<250	<560
^{40}K		42	32	$19*10^3$	$93*10^3$	<45	<120	$17,8*10^3$ $\pm 1,8*10^3$
^{235}U						<4,7	<8	<19
^{137}Cs						<1,5	<5,9	<7
^{7}Be						30 ±10		

§ The ICP-MS analysis was performed in semi-quantitative mode
Error is estimated within 20%

Contributo maggiore deriva dal **^{40}K nel medium di coltura:**
0,25 nGy/h (Monte Carlo simulazioni)

Dal sistema *in vitro*… al modello *in vivo*

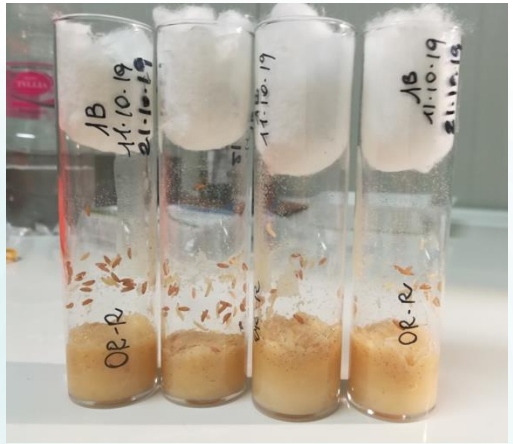
The Flyinglow project

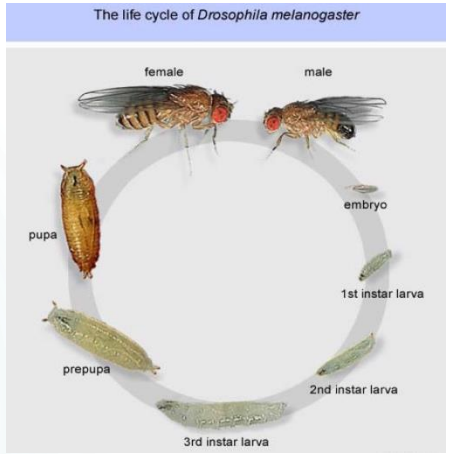
Dal 2016 utilizziamo un sistema modello multicellulare per studiare se e come la riduzione delle radiazioni ambientale influisce sullo sviluppo e sulla crescita di un organismo complesso.

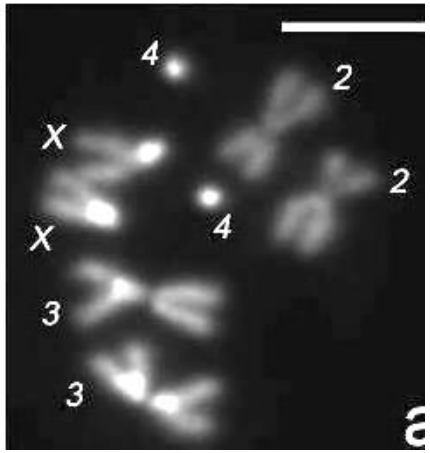
Drosophila melanogaster o moscerino della frutta

Drosophila come organismo modello

- **Facile da coltivare in laboratorio con costi complessivi ridotti**
- **Ciclo di vita breve: circa 10 giorni dalla fecondazione all'adulto (studi multigenerazionali rapidi)**



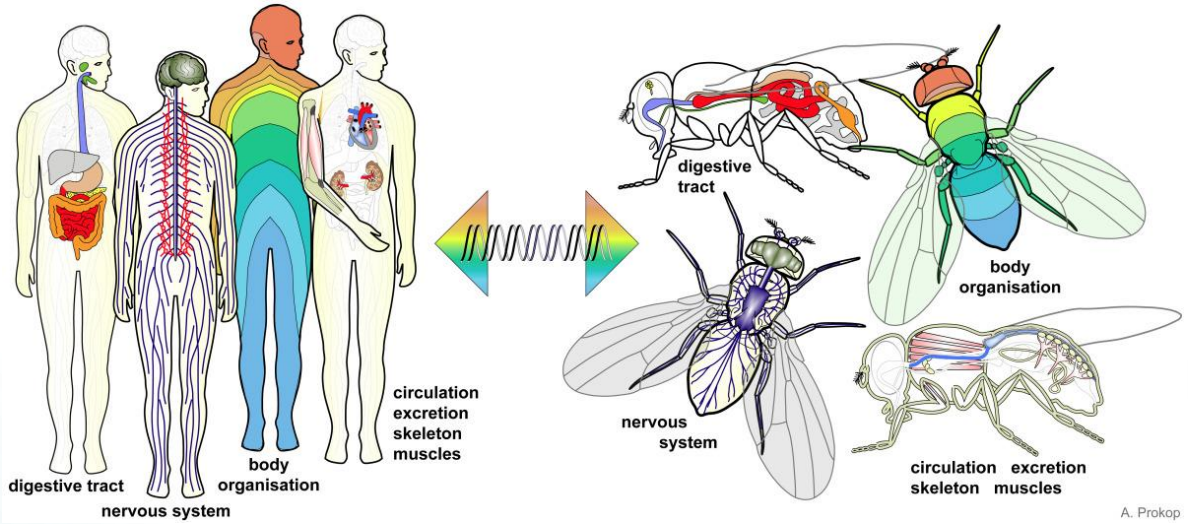




I **principio delle 3R** nella scienza:
Replacement: Sostituzione (non vertebrato)
Refinement: Affinamento
Reduction:e Riduzione

- **Dimensioni ridotte: adulti di 3 mm e uova di 0,5 mm di lunghezza**
- **Elevata fecondità: una femmina depone fino a 100 uova/giorno.**
- **La Drosophila ha solo 4 coppie di cromosomi e il genoma è stato sequenziato nel 2001.**

Drosophila come organismo modello



La maggior parte dei meccanismi biologici fondamentali e dei pathway che controllano lo sviluppo e la sopravvivenza sono conservati attraverso l'evoluzione nell'uomo e nelle mosche.

- Per quasi tutti gli organi umani esiste una corrispondenza nei moscerini e geni comuni ne regolano lo sviluppo, l'organizzazione e la funzione.
- Circa il 75% dei geni delle malattie umane ha omologo nei moscerini della frutta.
- Molte proteine dei moscerini sono codificate da un singolo gene, mentre i genomi dei mammiferi sono ridondanti, rendendo più complicate le manipolazioni genetiche.

Drosophila in radiobiologia

The Fly Room at UT-Austin; Muller is at the right, with loupe (Lilly Library, Indiana University)

Nel 1927, Hermann J. Muller dimostrò che i raggi X possono indurre mutazioni, utilizzando il moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*) come modello sperimentale. Per questo lavoro ricevette il Premio Nobel nel 1946. La sua ricerca ha posto le basi per il modello lineare senza soglia (LNT, *Linear-No-Threshold*) utilizzato universalmente in radioprotezione.

Drosophila è stato il primo animale inviato nello spazio (a 109 km di altitudine) nel 1947 a bordo di un razzo V-2 lanciato dagli Stati Uniti. Lo scopo dell'esperimento era esplorare gli effetti dell'esposizione alle radiazioni spaziali.

https://www.nasa.gov/ames/fruit-fly-lab:

- Fruit Fly Lab-01 (FFL-01) Gennaio 2015
- Fruit Fly Lab-02 (FFL-02) Giugno 2017
- Fruit Fly Lab-03 (FFL-03) Aprile 2018

The Flyinglow project

Laboratorio di riferimento esterno (RRE)

Università dell'Aquila

Laboratorio underground (LRE)

LNGS

Endpoint:
Lifespan
Fertilità
Mutanti della riparazione del DNA

Esperimento Flyinglow: conclusioni

Endpoint	Risultati
Lifespan	Aumento della durata della vita (fino al 15%) nelle mosche che crescono a LRE: l'effetto è stato osservato dopo una generazione e si è mantenuto costante per diverse generazioni
Fertilità	Riduzione della fertilità (fino al 30%) degli adulti sia maschi che femmine che crescono a LRE: effetto osservato dopo una generazione e mantenuto costante per diverse generazioni
Riparazione del DNA	Selezione positiva sulla sopravvivenza del mutante omozigote ipomorfo della riparazione del DNA a LRE: l'effetto persiste quando le mosche mutanti vengono riportate a RRE (effetto transgenerazionale - effetto epigenetico).

(Morciano et al., Journal of Cell Physiology 2017)
(Morciano et al., Radiation Research 2018)

RENOIR experiment is funded by INFN-CSN5

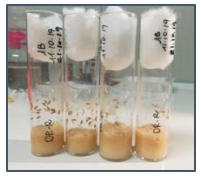
International Journal of Molecular Sciences

Esperimento RENOIR

"**R**adiation **EN**vir**O**nment triggers b**I**ological **R**esponses in flies: **PHYSICAL** and biological mechanisms"

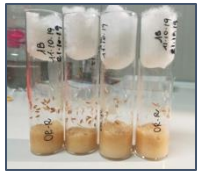
GOAL Indagare se la riduzione delle radiazioni di fondo influisce sulla risposta al danno al DNA indotti nelle cellule di *Drosophila*.

RRE
Above-ground



~ 78 nGy/h

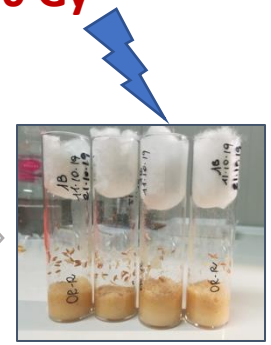
LRE
Underground



~25 nGy/h

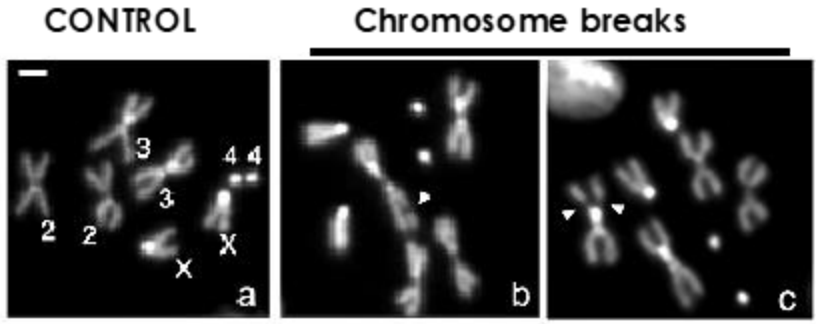
Generazione 1 and 5

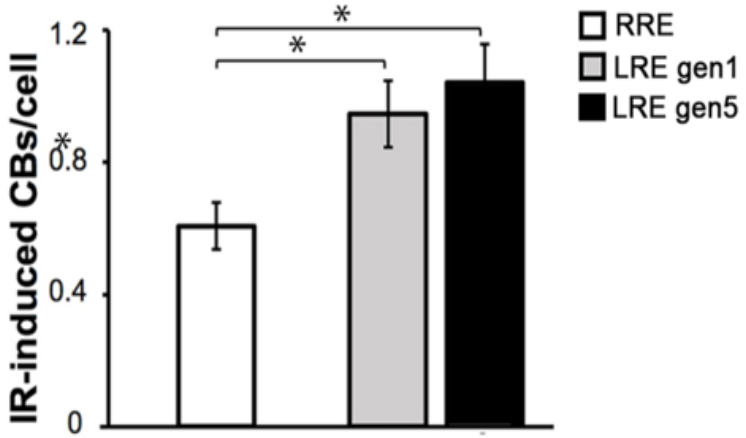
10 Gy



to induce DNA damage

Valutazione del danno al DNA mediante analisi citologica delle rotture cromosomiche (CB)

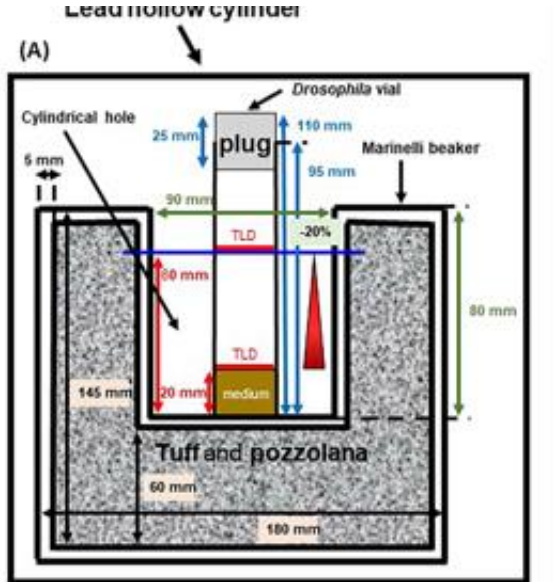




Int J Mol Sci. 2022 13;23(10):5472. doi: 10.3390/ijms23105472.

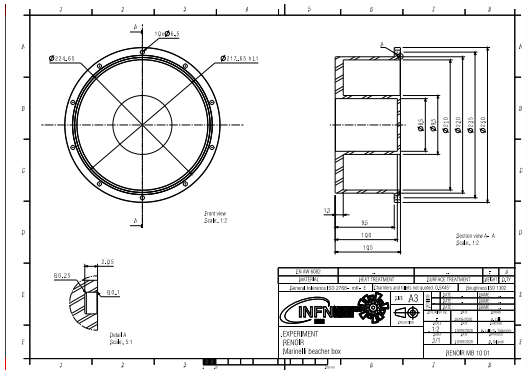
Realizzazione di dispositivi per la modulazione della componente dei raggi gamma

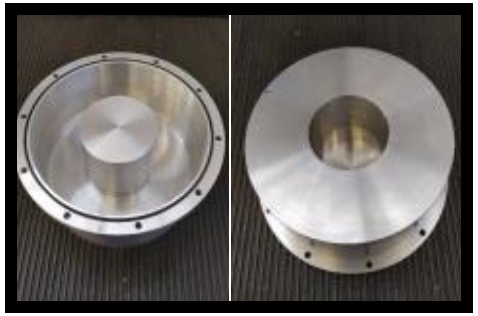
Abbiamo realizzato un becker Marinelli riempito con tufo, un materiale da costruzione che naturalmente emette raggi gamma.



attraverso simulazioni Monte Carlo si è cercato di massimizzare l'uniformità della radiazione all'interno del foro di alloggiamento

[Esposito et al, *Front. Pubblic Health* 2020]





Marinelli sono stati costruiti dal servizio di Meccanica dei LNGS

RENOIR experiment is funded by INFN-CSN5

International Journal of Molecular Sciences

Esperimento RENOIR

RRE
Above-ground

~ 80 nGy/h

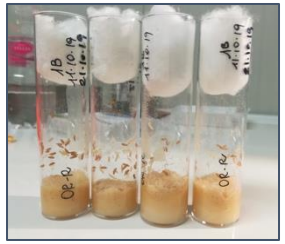
LRE
Underground

~ 20 nGy/h

with tuff

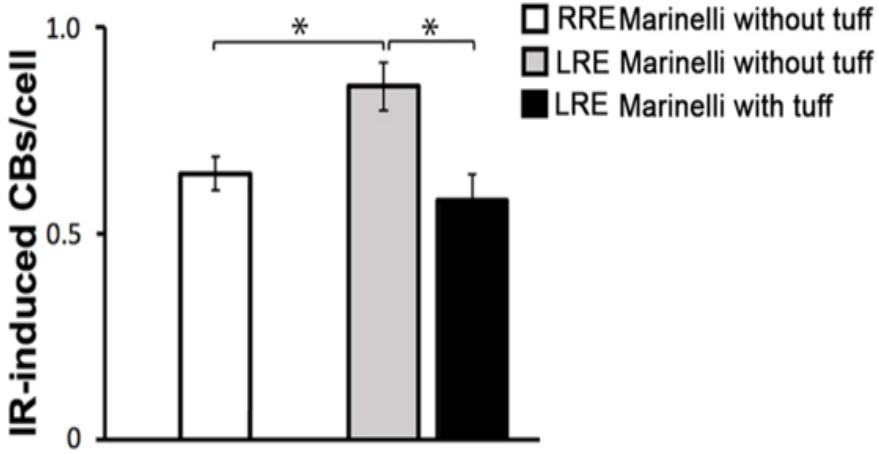
~ 100 nGy/h

10 Gy



per indurre
un danno al DNA

Valutazione del danno al DNA mediante analisi citologica delle rotture cromosomiche (CB)



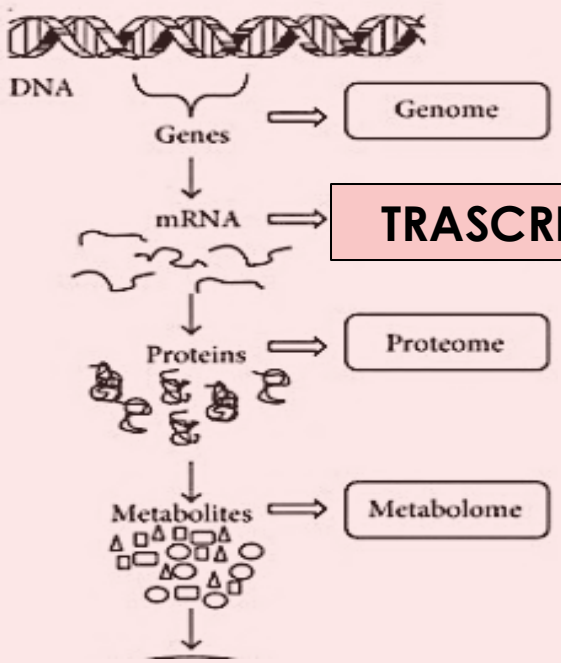
IL RIPRISTINO PARZIALE DEL CAMPO DI RADIAZIONE IN *UNDERGROUND* È IN GRADO DI RECUPERARE LA SENSIBILITÀ AL DANNO DELLE MOSCHE MANTENUTE IN UN CONDIZIONI DI RADIAZIONI RIDOTTE.

Int J Mol Sci. 2022 *13;23(10):5472. doi: 10.3390/ijms23105472.*

RENOIR experiment is funded by INFN-CSN5

Esperimento DISCOVER22

Ambiente esterno vs ambiente *underground*



TRASCRITTOMA

RISPOSTE biologiche differenti

Set completo di trascritti di RNA prodotti:

ESPRESSIONE GENICA

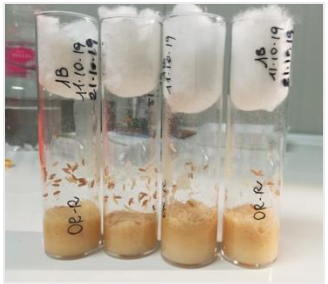
L'analisi comparativa del trascrittoma potrebbe fornire informazioni preziose per scoprire i meccanismi molecolari attivati nella riduzione delle radiazioni ambientali

Profilo di espressione genica

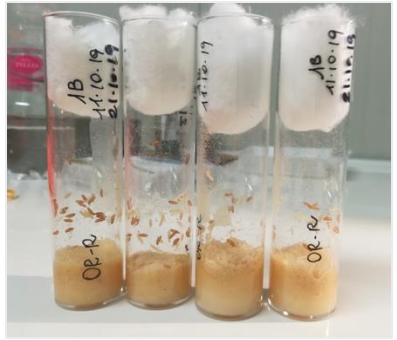
(RNA-Seq)

L'RNA-Seq è attualmente il metodo più utilizzato per trovare geni differenzialmente espressi tra due o più condizioni biologiche di interesse mediante un'analisi bioinformatica comparativa.

Disegno sperimentale:

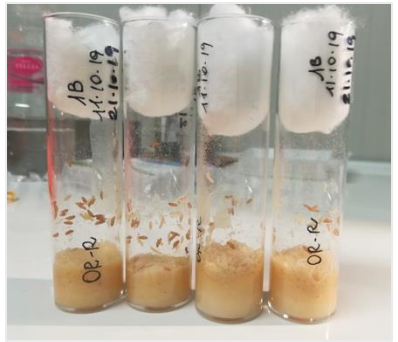


Esterno
RRE



RRE gen1
RRE gen5

Underground
LRE



LRE gen1
LRE gen5

Analisi molecolare

RNASeq

Profilo di espressione genica(RNA-Seq)

430 geni differenzialmente espressi (meno del 3%)

- 260 genes (encode potein factors)
- 76 transponable elelements (TE)
- 39 antisense
- 41 long non coding RNA (lnc)
- 3 ribosomal RNA
- 3 snoRNA (involved in RNA processing)
- 1 mir (mir4948)
- 1 small nuclear RNA U2 (involved in mRNA splicing)
- 6 pseudogenes

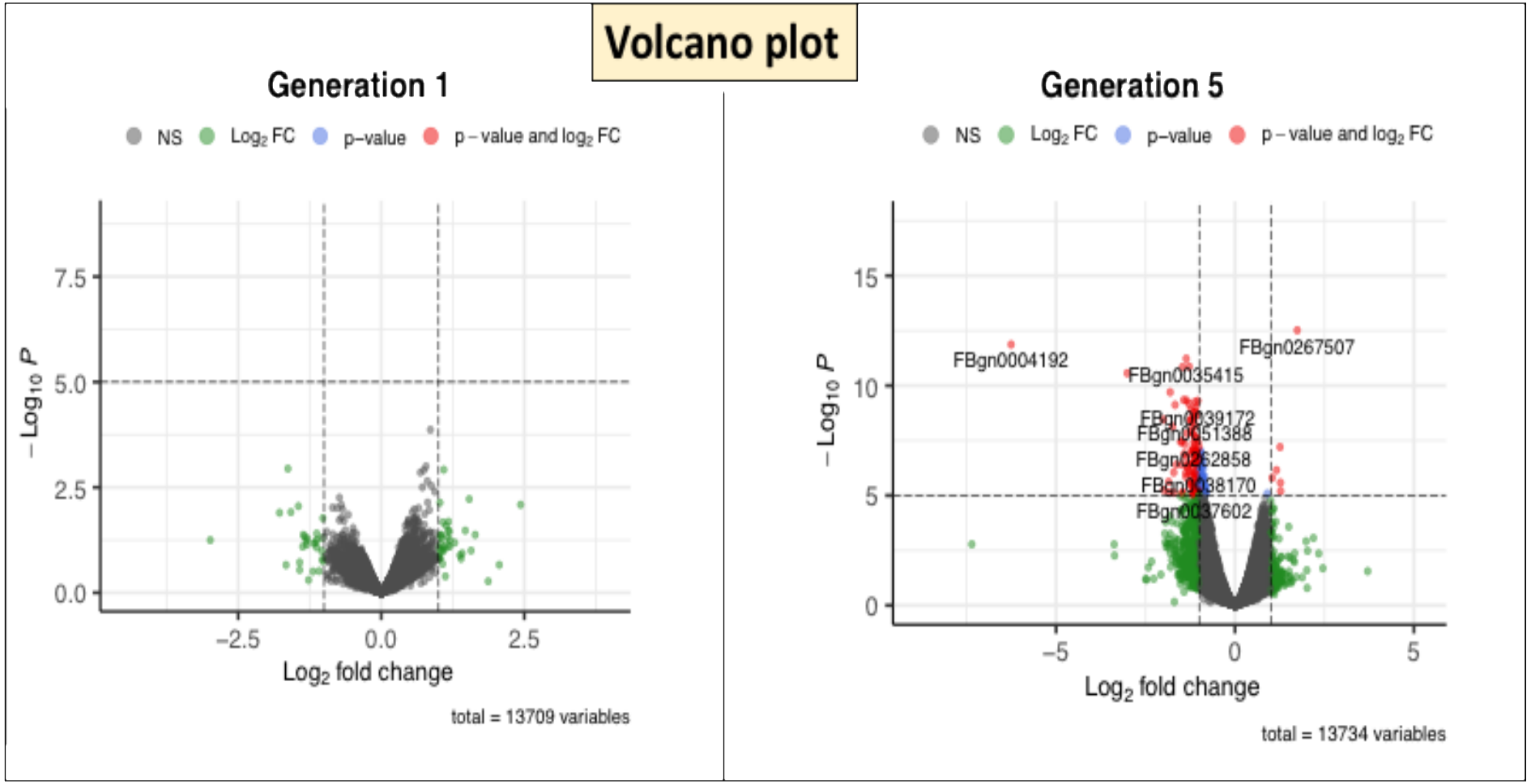
➡ **399 down-regulated** *(240 genes, 75 TE, 39 antisense, 40 lnc RNA, 3 snoRNA, 1mir, 1 small nuclear RNA U2)*

➡ **31 up-regulated** *(26 genes, 3 preRNA, 1 lncRNA e 1 TE)*

Profilo di espressione genica(RNA-Seq)

in collaborazione con Tor Vergata

LNGS/ UnivAQ

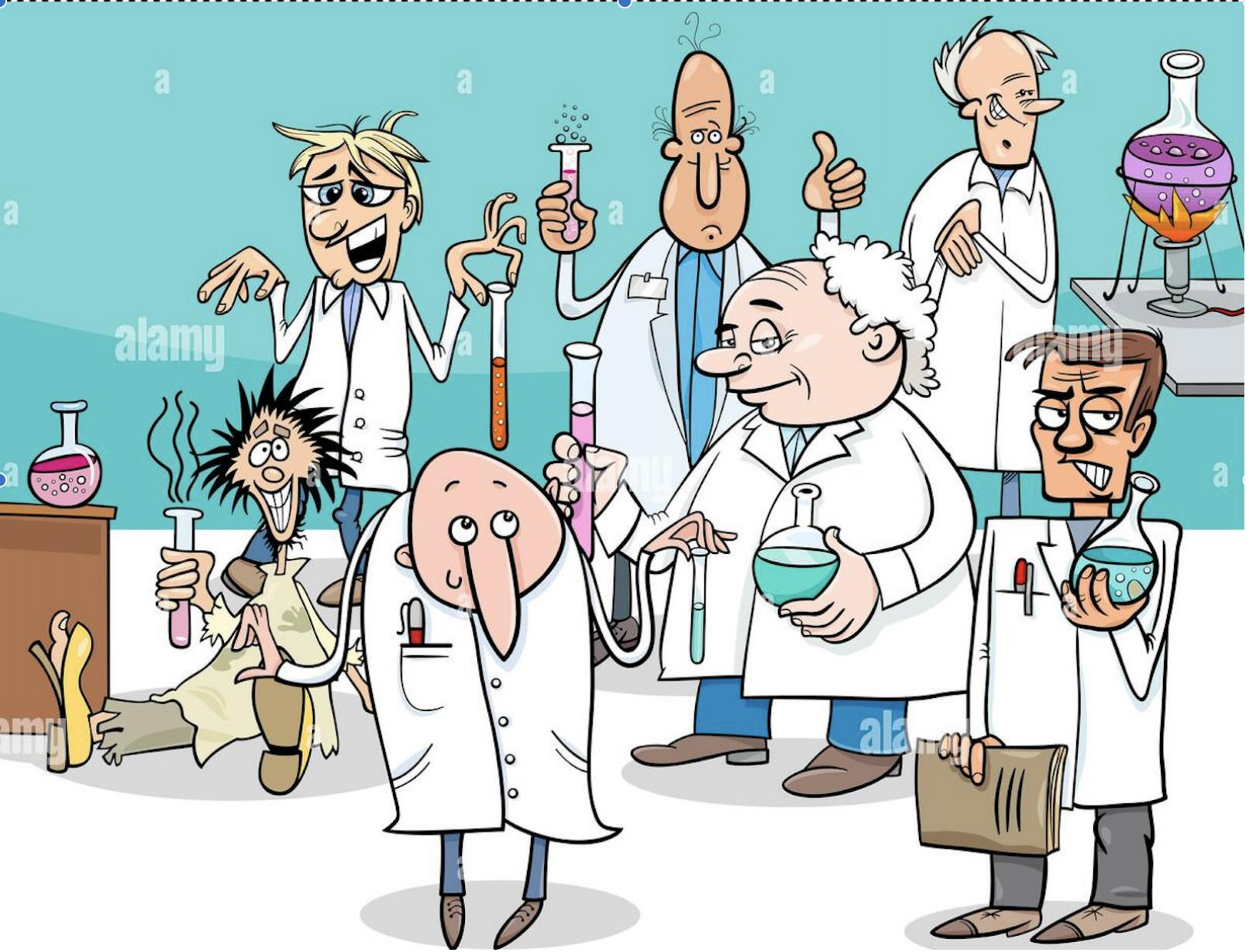


Attraverso analisi bioinformatica i **geni differenzialmente espressi** sono stati raggruppati in base ai **processi biologici** e **funzioni molecolari** in cui sono coinvolti.

GOTERM_BP_DIRECT			
BIOLOGICAL PROCESS	GO term	#genes	p-value
tRNA metabolic process	GO:0006399	9	3,30E-03
innate immune response	GO:0045087	11	4,10E-03
* DNA replication	GO:0006260	8	5,00E-03
* DNA-dependent DNA replication	GO:0006261	7	6,70E-03
defense response	GO:0006952	16	6,70E-03
* double-strand break repair	GO:0006302	7	7,00E-03
* DNA metabolic process	GO:0006259	15	9,40E-03
ncRNA metabolic process	GO:0034660	14	1,10E-02
flagellated sperm motility	GO:0030317	5	1,20E-02
sperm motility	GO:0097722	5	1,20E-02
* DNA recombination	GO:0006310	8	1,20E-02
response to bacterium	GO:0009617	11	1,60E-02
immune response	GO:0006955	12	1,80E-02
tRNA modification	GO:0006400	5	1,80E-02
cellular response to heat	GO:0034605	4	1,90E-02
axoneme assembly	GO:0035082	5	1,90E-02
response to stress	GO:000695	32	2,30E-02
microtubule bundle formation	GO:0001578	5	3,50E-02
RNA modification	GO:0009451	6	3,60E-02
cilium assembly	GO:0060271	7	4,10E-02
response to heat	GO:0009408	5	4,70E-02

GOTERM_MF_ALL			
MOLECULAR FUNCTION	GO term	#genes	p-value
* damaged DNA binding	GO:0003684	4	4,20E-03
transmembrane receptor activity	GO:0004888	15	9,20E-03
serine-type endopeptidase activity	GO:0004252	10	1,50E-02
receptor activity	GO:0038023	16	1,60E-02
molecular transducer activity	GO:0060089	16	1,60E-02
ligand-gated channel activity	GO:0022834	7	2,20E-02
ligand-gated ion channel activity	GO:0015276	7	2,20E-02
serine-type peptidase activity	GO:0008236	10	2,40E-02
* single-stranded DNA binding	GO:0003697	4	3,60E-02
nucleotidyltransferase activity	GO:0016779	5	4,50E-02
endopeptidase activity	GO:0004175	12	4,80E-02

I geni coinvolti in processi correlati al metabolismo del DNA risultano differenzialmente espressi (principalmente down-regolati) in LRE, in accordo con la diversa sensibilità alle radiazioni.



Esperimenti di biologia *underground* nel mondo:

LNGS (Italia)
Laboratorio di Canfranc (Spagna)
Modane (Francia)
SNOLab (Canada)
WIPP (USA)
CJPL (Cina)
…..

Sistemi biologici diversi

lieviti, vermi, cellule di mammifero, batteri, moscerini

INTERNATIONAL WORKING GROUP ON BIOLOGY

GOAL:

- Integrare le attività sperimentali tra i vari Laboratori
- Identificare e stabilire strategie e protocolli comuni
- facilitare la condivisione di informazioni, procedure e risorse
- promuovere lo sviluppo collaborativo di strategie a lungo termine
- favorire gli scambi tra i Laboratori (anche di personale)

Attività di ricerca congiunte:
consentire lo sviluppo di tecniche e strutture altamente innovative al fine di fornire servizi e opportunità migliori agli scienziati e preparare la prossima generazione di esperimenti.

Messaggio finale ‘da portare a casa’

"take home message"

Crescere sistemi viventi in ambienti sotterranei a radiazione ultra-bassa non determina conseguenze biologiche drammatiche (morte) ma rivela la loro **dipendenza evolutiva** da un ambiente con radiazione di fondo naturale.

Il messaggio non è che la radiazione è “buona”, ma che la vita si è adattata a un equilibrio preciso — e modificarlo (in alto o in basso) produce effetti biologici rilevanti che devono essere studiati e possono dare informazioni importanti in vari ambiti tecnico-scientifici.

PID – Programma INFN per la Didattica 2025
27 Novembre 2025

COSMIC SILENCE

INFN ROMA
Istituto Nazionale di Fisica Nucleare
Sezione di Roma

INFN LNGS
Istituto Nazionale di Fisica Nucleare
Laboratori Nazionali del Gran Sasso

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

UNIVERSITÀ DI PAVIA

INFN ROMA
Istituto Nazionale di Fisica Nucleare
Sezione di Roma

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'AQUILA

ROMA TRE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI

INFN PAVIA
Istituto Nazionale di Fisica Nucleare
Sezione di Pavia

CENTRO FERMI
MUSEO STORICO DELLA FISICA E CENTRO STUDI E RICERCHE ENRICO FERMI

INFN LNF
Istituto Nazionale di Fisica Nucleare

Università degli Studi della Campania *Luigi Vanvitelli*

TOR VERGATA
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA

PID – Programma INFN per la Didattica 2025
27 Novembre 2025