



AL MAGNIFICO RETTORE
DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

COD. ID: 5892

Il sottoscritto chiede di essere ammesso a partecipare alla selezione pubblica, per titoli ed esami, per il conferimento di un assegno di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità.

Responsabile scientifico: Prof.ssa Bollati Valentina

[SABRINA CARBONE]

CURRICULUM VITAE

INFORMAZIONI PERSONALI

Cognome	Carbone
Nome	Sabrina

OCCUPAZIONE ATTUALE

Incarico	Struttura
Fellowship (Fondazione Fibrosi Cistica onlus)	Dipartimento di Biotecnologie mediche e medicina traslazionale (BIOMETRA), Università degli studi di Milano, Via Fratelli Cervi, 93, 20054, Segrate.

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

Titolo	Corso di studi	Università	anno conseguimento titolo
Laurea Magistrale o equivalente	Laurea Magistrale in <i>Medical Biotechnology and molecular medicine</i> (LM-9, D57) (Allegato 4)	Università degli studi di Milano (UNIMI)	Febbraio 2023 Titolo della tesi: "Investigating the role of Hh and HDAC6 inhibition on the autophagic process: a new therapeutic strategy to treat Glioblastoma multiforme patients".
Specializzazione	-		
Dottorato Di Ricerca	-		
Master	-		
Diploma Di Specializzazione Medica	-		
Diploma Di Specializzazione Europea	-		



Altro	Utilizzo dei pesci nella ricerca - 1 "zebrafish, peocilidae, altri pesci (medaka, nothobranchius, ecc.), moduli 3.1, 4, 5 e 7 dm 5 agosto 2021" (Allegato 8)	Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell' Emilia Romagna "Bruno Ubertini"	Settembre 2023
	Legislazione nazionale ed etica livello 1, moduli 1 e 2, dm 5 agosto 2021 (Allegato 7)	Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell' Emilia Romagna "Bruno Ubertini"	Luglio 2023
	Corso introduttivo alla sperimentazione animale (Moduli: Pesci ed Anfibi, Roditori). (Allegato 5)	Università degli Studi di Milano (UNIMI), Milano, Italia	Settembre 2021
	Bbtween: La ricerca bibliografica: dalla biblioteca al web. (Allegato 6)	Università degli Studi di Milano-Bicocca (UNIMIB), Milano, Italia	Giugno 2020- Luglio 2020
	Bbtween: Corso su R language - Basi del linguaggio di programmazione R. (Allegato 6)	Università degli Studi di Milano-Bicocca (UNIMIB), Milano, Italia	Marzo 2019- Aprile 2019

LINGUE STRANIERE CONOSCIUTE

lingue	livello di conoscenza
Inglese	B2

PREMI, RICONOSCIMENTI E BORSE DI STUDIO

anno	Descrizione premio
Giugno 2023	Borsa di studio (Fellowship), finanziata da "Fondazione per la ricerca sulla fibrosi cistica onlus" in ambito del progetto di ricerca con codice FFC#12/2022, "Evaluation of phage interactions with host immune system in models of cystic fibrosis: one step toward phage therapy application" (Allegato 3)

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE O DI RICERCA

descrizione dell'attività



Giugno 2023 - presente

Fellowship (Fondazione fibrosi Cistica ONLUS).

Università degli studi di Milano (Dipartimento di biotecnologie mediche e medicina traslazionale).

Generazione ed utilizzo tramite tecniche di microiniezione di embrioni di un modello di fibrosi cistica di zebrafish che manca della funzione del gene *CFTR* per valutare *in vivo* la localizzazione dei fagi e la loro eventuale interazione con le cellule del sistema immunitario. Gli embrioni di zebrafish wild-type o con perdita di funzione del gene *cftf* sono stati in seguito microiniettati con i fagi in modo da analizzarne il loro potenziale infiammatorio in termini di analisi di espressione dei geni delle citochine pro- e anti-infiammatorie, tramite analisi di qPCR, e in base all'attivazione di macrofagi e neutrofilati attraverso l'impiego di specifiche linee transgeniche, *Tg(mpx:GFP)* ed *Tg(mpeg:GFP)* rispettivamente, che consentono l'analisi di queste popolazioni cellulari *in vivo*.

Inoltre in questo periodo ho collaborato con il gruppo della Prof.ssa Claudia Ghigna (Istituto di Genetica Molecolare "Luigi Luca Cavalli-Sforza"; Università degli studi di Pavia), generando un modello *in vivo* di zebrafish tramite tecniche di microiniezione di morpholino (Gene Tools), alla definizione del ruolo del gene *zeb1*, come proteina pro-apoptotica durante lo sviluppo di alcuni plessi vascolari. In particolare per lo studio dei plessi vascolari è stata adoperata l'utilizzo di una specifica linea transgenica *Tg(fli1a:GFP)*, che permette la visualizzazione della struttura vascolare. Attualmente, mi sono occupata di disegnare delle guide sgRNA, in modo da poter creare un mutante transiente per entrambi gli ortologhi di questo gene: *zeb1a* ed *zeb1b*, mediante l'utilizzo della tecnica del CRISPR-Cas9.

Marzo 2023 - Maggio 2023

Studiante lavoratore.

Università degli studi di Milano (Dipartimento di biotecnologie mediche e medicina traslazionale).

Durante questo periodo mi sono occupata, in collaborazione con la Dott.ssa Giorgia Simonetti (IRCCS Istituto Romagnolo per lo Studio dei Tumori (IRST) "Dino Amadori") di generare e caratterizzare un modello di zebrafish di leucemia mieloide acuta (AML), che ricapitolasse i diversi pattern mutazionali presenti nei pazienti con AML. *FLT3-ITD* rappresenta una delle mutazioni più frequenti in questi pazienti, e una frazione significativa di questi pazienti presenta anche una mutazione a livello della proteina *NPM1* (*i.e.* *NPMc+*), potenzialmente in associazione con perdita di funzione dei geni delle coesine (*i.e.* *stag2* e *rad21*). Il gruppo della Dott.ssa Simonetti ha dimostrato recentemente tramite un'analisi integrata genomico-metabolica, che in sottogruppi di pazienti con AML sono presenti differenti profili metabolici, suggerendo che le diverse mutazioni dei pazienti e la riprogrammazione metabolica possano avere un ruolo nei fenomeni di resistenza ai farmaci attualmente in uso (*i.e.* gilternib). Mi sono quindi occupata della generazione di un modello di zebrafish con overespressione degli mRNA umani dei geni trovati mutati nei pazienti analizzati dalla Dott.ssa Simonetti: *FLT3-ITD* ed *NPMc+*, in associazione alla perdita di funzione di uno dei geni del complesso delle coesine (*stag1* o *rag1*). In seguito ho osservato il fenotipo ematopoietico in questi modelli, utilizzando una linea transgenica reporter per le cellule staminali ematopoietiche *Tg(CD41:GFP)*. Alternativamente questo fenotipo è stato valutato tramite ibridazione *in situ* su tutto l'embrione (WISH), utilizzando la sonda *cmv*, un noto marcatore delle staminali ematopoietiche umane e di zebrafish.

Gennaio 2022 - Febbraio 2023

Internato di tesi magistrale.

Università degli studi di Milano (Dipartimento di biotecnologie mediche e medicina traslazionale).

Nel mio progetto di tesi magistrale, in collaborazione con il gruppo della Prof.ssa Paola Viani



(Dipartimento Biometra; Università degli studi di Milano), mi sono occupata di studiare gli effetti farmacologici indotti dall'azione combinata di due farmaci (Ciclopamina e Tubastatina A) sul modello *in vivo* di zebrafish e su un modello cellulare *in vitro* di glioblastoma multiforme (U87-MG). L'azione combinata dei due farmaci utilizzati per bloccare rispettivamente la via di segnalazione di Hedgehog (Hh), e l'attività dell'enzima HDAC6, è stata valutata in termini di vitalità cellulare, motilità cellulare (scratch assay), sopravvivenza ed analisi morfologica degli embrioni trattati. Inoltre le cellule precedentemente trattate con i farmaci sono state xenotrapantate a livello del ventricolo cerebrale di embrioni di zebrafish, e l'area del tumore è stata in seguito analizzata per valutare l'effetto farmacologico sulla crescita tumorale in un microambiente *in vivo*. Dal momento che HDAC6 ed il pathway di Hh agiscono entrambi a livello del processo autofagico, l'azione combinata dei farmaci è stata valutata anche su questo processo tramite esperimenti di Western blot e di immuno fluorescenza (*i.e.* Lysotracker). Inoltre per la valutazione *in vivo* di questo processo è stata utilizzata una linea di zebrafish *Tg(CMV-map1lc3b:GFP)* reporter per l'autofagia, in modo da poter valutare l'effetto del trattamento combinato tramite analisi in fluorescenza. I dati ottenuti in questo progetto di ricerca hanno portato ad una pubblicazione su International journal of Molecular Sciences (DOI: 10.3390/ijms24065771; PMID: 36982845).

Inoltre, in un altro progetto di ricerca condotto in questo periodo, mi sono occupata di valutare la tossicità e l'efficienza di una serie di inibitori di HDAC6, sintetizzati dal gruppo del prof. Campiani (Dipartimento di Biotecnologie, Chimica e Farmacia; Università degli studi di Siena). A questo proposito ho analizzato l'effetto degli inibitori nel ridurre l'espansione delle cellule staminali ematopoietiche in un modello di leucemia mieloide acuta (AML) di zebrafish. Lo studio si è focalizzato inizialmente sul testare la tossicità di questi inibitori a diverse dosi su embrioni wild-type di zebrafish, valutando la sopravvivenza ed una serie di parametri morfologici. In seguito ho generato un modello AML di zebrafish, tramite overespressione del trascritto umano di *FLT3-ITD* e ho testato l'effetto terapeutico degli inibitori di HDAC6 quantificando le staminali ematopoietiche nella linea reporter *Tg(CD41:GFP)* o con tecniche di ibridazione *in situ* utilizzando la sonda *cmyb*.

ATTIVITÀ PROGETTUALE

Anno	Progetto
2023	"Evaluation of the angiogenesis potential in a zebrafish <i>zeb1b</i> deficiency model"
2023	"Evaluation of phage interactions with host immune system in models of cystic fibrosis: one step toward phage therapy application", Progetto FFC#12/2022
2023	"Identifying novel therapeutics vulnerabilities of FLT3-ITD/NPM1 ± cohesin-mutations in acute myeloid leukemia".
2022 - 2023	"Testing new HDAC6 inhibitors in <i>in vivo</i> models of acute myeloid leukemia".
2022 - 2023	"Investigating the role of Hh and HDAC6 inhibition on the autophagic process: a new therapeutic strategy to treat Glioblastoma multiforme patients".

CONGRESSI, CONVEGNI E SEMINARI

Data	Titolo	Sede
19 Settembre 2023	"Testing new HDAC6 inhibitors in <i>in vivo</i> models of acute myeloid leukemia". Poster presentation	Workshop del Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale (BIOMETRA), Milano (Italia).



PUBBLICAZIONI

Articoli su riviste

Pezzotta A. †, Brioschi L. †, **Carbone S.**, Mazzoleni B., Bontempi V., Monastra F., Mauri L., Marozzi A., Mione M., Pistocchi A. *‡ and Viani P. *‡.

Combined Inhibition of Hedgehog and HDAC6: In Vitro and In Vivo Studies Reveal a New Role for Lysosomal Stress in Reducing Glioblastoma Cell Viability.

Int. J. Mol. Sci. 2023, 24(6), 5771; doi.org/10.3390/ijms24065771. IF 6.208 2021); Q2 (2021;Scimago)

Atti di convegni

Pezzotta A., Brioschi L., **Carbone S.**, Mazzoleni B., Bontempi V., Monastra F., Mauri L., Marozzi A., Mione M., Pistocchi A., Viani P.; "Combined inhibition of Hedgehog and HDAC6: in vitro and in vivo studies reveal a new role for lysosomal stress in reducing Glioblastoma cell viability".

MyDEV Meeting, Milano. 19 Maggio 2023, Università degli Studi di Milano.

Poster presentation

Brioschi L., Pezzotta A., Monastra F., **Carbone S.**, Marozzi A., Pistocchi A., Viani P., "The tale of HDAC6 and Hedgehog in glioblastoma: one year later".

Workshop del Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale (BIOMETRA), Milano. 20 Settembre 2022, Università degli studi di Milano.

Presentazione orale Flash Talk e Poster

ALTRE INFORMAZIONI

- Buona padronanza degli strumenti del pacchetto Microsoft Office (elaboratore di testi, foglio elettronico, software di presentazione). Analisi statistica dei dati tramite software
- Buona padronanza del software GraphPad Prism per l'elaborazione dei dati sperimentali
- Buona conoscenza di software grafici Adobe Photoshpe e Sony Vegas

Capacità e Competenze tecniche:

Durante la mia ricerca scientifica, ho acquisito una grande esperienza nell'utilizzo del sistema modello *in vivo* di zebrafish tramite: gestione della facility; microiniezione; ibridazione *in situ*; immunofluorescenza; xenotrapianto; generazione di mutanti tramite CRIPR-Cas9; estrazione di acidi nucleici; estrazione di proteine ed analisi Western Blot; PCR; RealTime-qPCR.

Inoltre ho acquisito abilità nella manipolazione di cellule di *E. coli* (trasformazione, crescita, estrazione di acidi nucleici) per la generazione di sonde ad RNA o mRNA (tramite sintesi *in-vitro*).

Ho avuto anche la possibilità di acquisire esperienza sul modello cellulare *in vitro*, in particolare cellule di glioblastoma multiforme (U87-MG), insieme all'apprendimento di una serie di tecniche sperimentali quali saggi di vitalità cellulare (i.e. MTT-assay), trattamenti farmacologici su linee cellulari, saggi di immunostochimica, e di mobilità cellulare (scratch assay).



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Le dichiarazioni rese nel presente curriculum sono da ritenersi rilasciate ai sensi degli artt. 46 e 47 del DPR n. 445/2000.

Il presente curriculum, non contiene dati sensibili e dati giudiziari di cui all'art. 4, comma 1, lettere d) ed e) del D.Lgs. 30.6.2003 n. 196.

RICORDIAMO che i curricula **SARANNO RESI PUBBLICI sul sito di Ateneo** e pertanto si prega di non inserire dati sensibili e personali. Il presente modello è già precostruito per soddisfare la necessità di pubblicazione senza dati sensibili.

Si prega pertanto di **NON FIRMARE** il presente modello.

Luogo e data: Milano, 09/10/2023