



AL MAGNIFICO RETTORE
DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

COD. ID: 6793

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 farmacologiche e biomolecolari**

Responsabile scientifico: Prof.ssa **Monica Di Luca**

Ramona Stringhi

CURRICULUM VITAE

INFORMAZIONI PERSONALI

Cognome	Stringhi
Nome	Ramona

OCCUPAZIONE ATTUALE

Incarico	Struttura
Dottoranda (Corso di dottorato: Scienze Farmacologiche Biomolecolari, Sperimentali e Cliniche, UNIMI)	Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DISFEB), Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti, 9, 20133, Milano

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

Titolo	Corso di studi	Università	anno conseguimento titolo
Laurea Triennale	Laurea Triennale in Biotecnologie Farmaceutiche (Classe L-2)	Università degli studi di Milano (UNIMI)	12/12/2016
Laurea Magistrale o equivalente	Laurea Magistrale in Biotecnologie del Farmaco (Classe LM-9)	Università degli studi di Milano (UNIMI)	25/10/2019
Specializzazione			
Dottorato Di Ricerca	Corso di dottorato in Scienze Farmacologiche Biomolecolari, Sperimentali e	Università degli studi di Milano (UNIMI)	Conclusione del corso di dottorato il 30/09/2024 e discussione della relativa tesi entro 12/2024



	Cliniche, XXXVII ciclo (codice: R49)		
Master			
Diploma Di Specializzazione Medica			
Diploma Di Specializzazione Europea			
Altro	Corso introduttivo alla sperimentazione animale	Università degli studi di Milano (UNIMI)	09/2019
	Introduzione al regolamento generale sulla protezione dei dati	Università degli studi di Milano (UNIMI)	01/2022
	Corso di Perfezionamento in piccoli animali (roditori, zebrafish, xenopus): formazione specifica per il personale coinvolto nella sperimentazione animale per fini scientifici (OZ2)	Università degli studi di Milano (UNIMI) a.a. 2022/2023 44 CFP	02/2023

ISCRIZIONE AD ORDINI PROFESSIONALI

Data iscrizione	Ordine	Città



LINGUE STRANIERE CONOSCIUTE

lingue	livello di conoscenza
Inglese	B2 (IELTS Certificate 31/05/2021)

PREMI, RICONOSCIMENTI E BORSE DI STUDIO

anno	Descrizione premio
2023	“EMBO Scientific Exchange Grant” - borsa di ricerca da parte di EMBO per supportare un periodo di ricerca di sei mesi nel laboratorio del Dr. Harold Mac Gillavry presso l'Università di Utrecht
2023	“The company of Biologists Travelling Fellowship” - borsa di ricerca da parte di “The Company of Biologists’ journals” per supportare un periodo di ricerca di sei mesi nel laboratorio del Dr. Harold Mac Gillavry presso l'Università di Utrecht
2023	Borsa Erasmus+ Traineeship per supportare un periodo di ricerca di sei mesi nel laboratorio del Dr. Harold Mac Gillavry presso l'Università di Utrecht
2019	Borsa di studio per il proseguimento della formazione di promettenti laureati presso il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano (UNIMI), titolo: “Sviluppo di nuovo tool per aumentare l'attività dell'enzima ADAM10”

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE O DI RICERCA

Attività di formazione o di ricerca *post-lauream*

Durante il mio dottorato, ho svolto attività di ricerca all'interno di diversi progetti sia del laboratorio a cui afferisco (Laboratorio di Farmacologia della Neurodegenerazione presso il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari dell'Università degli Studi di Milano, i cui responsabili sono la Professoressa Monica Di Luca e il Professor Fabrizio Gardoni), che in collaborazione con ricercatori esterni. Tutti i progetti a cui ho partecipato si collocano nel campo delle neuroscienze e, nello specifico, nell'ambito dello studio della sinapsi glutammatergica e di come modificazioni della stessa possano portare alla comparsa di fenotipi patologici associati a malattie del sistema nervoso centrale (SNC). Con questa finalità, ho impiegato sia approcci in vitro che ex-vivo ed in-vivo. Riporto di seguito una descrizione dettagliata dei progetti principali su cui ho lavorato e le relative competenze acquisite e messe in pratica per rispondere a specifiche domande di carattere biologico.

Studio del ruolo svolto dalla proteina Cyclase-associated protein 2 (CAP2) nella patogenesi della malattia di Alzheimer

Il progetto nasce dall'identificazione di ridotti livelli di questa proteina nell'ippocampo di pazienti Alzheimer e anche in un modello murino della patologia. Da queste premesse sorge l'esigenza di rispondere ad una fondamentale domanda: ripristinare i livelli di CAP2 nell'ippocampo può rappresentare una strategia terapeutica efficace per la malattia di Alzheimer? Per rispondere a questa domanda ho utilizzato un modello preclinico di patologia, ovvero la linea transgenica APP/PS1. In particolare, ho utilizzato un vettore virale contenente una sequenza codificante per CAP2 sotto il controllo di un promotore neuro-specifico. In questo modo è stato possibile aumentare i livelli della proteina nell'ippocampo degli animali APP/PS1. L'iniezione è stata effettuata all'età di 4 mesi, ovvero prima della manifestazione dei sintomi; successivamente, all'età di 6 mesi, quando il modello animale inizia a mostrare deficit cognitivi sono state effettuati diversi tipi di analisi, al fine di valutare l'efficacia



dell'aumento dei livelli di CAP2 nel prevenire le disfunzioni neuronali che caratterizzano la patologia. Attraverso questo paradigma sperimentale, ho potuto imparare a manipolare piccoli animali da laboratorio, gestire una linea transgenica e a svolgere interventi chirurgici stereotassici. Ho poi utilizzato questo schema sperimentale per svolgere una serie di analisi ex-vivo e in-vivo. Per quanto riguarda le valutazioni ex-vivo, principale oggetto di studio è stata la sinapsi glutammatergica, per valutare l'effetto dell'overespressione di CAP2 sui meccanismi di plasticità sinaptica. A tale scopo, mi sono avvalsa di numerose tecniche. Per valutare la distribuzione di proteine rilevanti per la sinapsi, ho utilizzato saggi biochimici (i.e., estrazione di proteine da omogenati totali di cervello o purificazione di frazioni arricchite in proteine sinaptiche (Triton insoluble fraction, TIF) e successiva analisi tramite western blot. Ho anche svolto esperimenti di coimmunoprecipitazione, al fine di valutare l'interazione di proteine, oppure analisi in immunocistochemica (con conseguente valutazione del risultato tramite microscopia confocale). Ho utilizzato questi stessi approcci per poi valutare markers di neurodegenerazione propri della patologia (i.e., livelli di pTau, formazione di placche di β amiloide), ed eventuali marcatori di neuro-infiammazione (i.e., Iba1, GFAP). In aggiunta, grazie ad una specifica metodica che utilizza un colorante lipofilico (DiI), ho analizzato, sempre tramite microscopia confocale, il numero e la morfologia delle spine dendritiche neuronali. L'insieme di questi approcci, mi ha permesso di dimostrare come ripristinare i livelli di CAP2 nell'ippocampo di topi APP/PS1 porti ad una riduzione della patologica fosforilazione di tau, ad un aumento della percentuale di spine mature e funzionali e al potenziamento di queste spine grazie al ripristino di un complesso proteico sinaptico regolato dalla CAP2 stessa. Grazie ad una serie di task in-vivo, ho potuto successivamente valutare gli effetti in termini di deficit cognitivo. A questo proposito, mi sono servita di test comportamentali quali: novel object recognition task (NORT), fear conditioning, spatial displacement task, Barnes maze test e reversal learning. Queste analisi mi hanno permesso di dimostrare come l'overespressione di CAP2 sia efficace nel prevenire il declino cognitivo in un modello in vivo di patologia. Sempre nell'ambito di questo progetto, ho utilizzato un modello in vitro basato sull'esposizione di neuroni primari ippocampali di ratto ad oligomeri di β amiloide. L'idea alla base di questa scelta è la possibilità di poter valutare gli effetti mediati da β amiloide in un modello semplificato così da poter identificare nuovi meccanismi molecolari che caratterizzano la disfunzione sinaptica. L'utilizzo di questo modello mi ha permesso di imparare non solo a realizzare colture primarie ippocampali a partire da embrioni di ratto, ma di mettere in pratica una serie di altre tecniche quali trasfezioni di plasmidi, immunocistochemica o live imaging. Inoltre, ho potuto sviluppare competenze in termini di analisi di immagini acquisite con microscopia confocale o in super risoluzione (SIM e Airyscan), quali valutazione di co-localizzazione di proteine o interazione proteina-proteina.

I dati relativi a questo progetto sono parte di un articolo attualmente in preparazione di cui sono il primo autore.

Analisi del meccanismo che modula il traffico e l'attività di ADAM10 nelle cellule neuronali

Durante i due anni di borsa giovani promettenti, e successivamente durante il mio dottorato, ho svolto alcuni esperimenti volti a identificare i meccanismi molecolari che regolano il traffico e l'attività dell'enzima ADAM10. ADAM10 è un enzima sinaptico che cliva i suoi substrati quando è correttamente localizzato sulla membrana sinaptica. Pertanto, l'attività sinaptica di ADAM10 è modulata da partner proteici che controllano il forward trafficking e l'endocitosi di ADAM10. Abbiamo identificato CAP2 come un nuovo partner di interazione di ADAM10. Nell'ambito di questo progetto mi sono concentrata sullo studio del significato biologico di questa interazione. A questo scopo, abbiamo progettato un peptide permeabile alle cellule, denominato PEP2, in grado di disaccoppiare CAP2 e ADAM10. Con questo obiettivo, il peptide è stato somministrato per via intraperitoneale a topi che sono stati successivamente oggetto di estrazione di proteine da omogenati totali di ippocampo o purificazione di frazioni arricchite in proteine sinaptiche. Gli esperimenti svolti all'interno di questo progetto mi hanno permesso di affinare le mie competenze in termini di gestione e di manipolazione di piccoli animali da laboratorio.

Ho deciso poi di continuare la ricerca con la valutazione dell'effetto mediato dall'amministrazione del peptide in colture neuronali di ratto. In particolare, ho deciso di soffermarmi sull'effetto della distruzione dell'associazione tra CAP2 e ADAM10 sulla localizzazione di queste due proteine. Il progetto è stato portato avanti nel laboratorio di Harold Mac Gillavry presso l'Università di Utrecht, dove ho trascorso un periodo di sei mesi. Qui ho avuto l'opportunità di imparare l'utilizzo di ORANGE, un toolbox per il tagging di epitopi di proteine endogene utilizzando CRISPR/Cas9, e di sfruttare tecniche avanzate di imaging a super-risoluzione. Nello specifico ho acquisito la capacità di progettare specifiche guide RNA



per l'introduzione di un tag fluorescente in maniera selettiva nel gene d'interesse. Ho inoltre clonato i costrutti e valutato l'effetto dell'introduzione del tag sulla distribuzione cellulare della proteina e della sua funzione. Successivamente ho valutato l'effetto del peptide in grado di disaccoppiare CAP2 e ADAM10 sulla localizzazione di questi due partner. Per fare ciò ho trattato neuroni primari dell'ippocampo di ratto con PEP2 e ho eseguito saggi di co-localizzazione di CAP2 e ADAM10 con diversi marcatori endosomiali per studiare il destino di queste due proteine. Questi esperimenti sono stati eseguiti sfruttando la microscopia in super risoluzione gated Stimulated-Emission Depletion (gSTED). Durante questo periodo ho quindi avuto la possibilità di consolidare le mie conoscenze nell'ambito di preparazione e trasfezione di colture primarie neuronali, successivamente ho avuto l'opportunità di imparare l'utilizzo del sistema CRISPR/CAS9, partendo dalla progettazione e disegno dei plasmidi alla finale validazione del sistema. Inoltre, ho potuto acquisire competenze relative all'utilizzo di microscopia in super risoluzione.

ATTIVITÀ PROGETTUALE

Anno	Progetto
09/2023 - 03/2024	<p>Titolo: “Deciphering the biological role of ADAM10/CAP2 complex”</p> <p>Descrizione: Questo progetto mira a chiarire il ruolo biologico del complesso ADAM10/CAP2. L'ADAM10 è un enzima sinaptico che taglia i suoi substrati quando è correttamente localizzato sulla membrana sinaptica. Pertanto, l'attività sinaptica di ADAM10 è modulata da partner proteici che controllano il traffico in avanti e l'endocitosi di ADAM10. Abbiamo identificato la proteina cyclase-associated protein 2 (CAP2) come un nuovo partner di interazione di ADAM10.</p> <p>Per indagare il ruolo biologico del complesso ADAM10/CAP2, abbiamo progettato un peptide permeabile alle cellule, denominato PEP2, in grado di disaccoppiare CAP2 e ADAM10. Abbiamo pianificato esperimenti volti a indagare la localizzazione di ADAM10 e CAP2 dopo il trattamento. Il progetto è stato portato avanti dal laboratorio di Harold Mac Gillavry dell'Università di Utrecht, che ha sviluppato ORANGE, un toolbox per l'epitope tagging di proteine endogene utilizzando CRISPR/Cas9, e per sfruttare tecniche avanzate di imaging a super-risoluzione. La combinazione di questi due approcci ha evidenziato un possibile coinvolgimento di CAP2 nella regolazione dell'endocitosi di ADAM10 e, quindi, nel controllo della sua localizzazione e attività.</p> <p>Per poter svolgere questo progetto nel laboratorio del Dr. Harold Mac Gillavry a Utrecht, ho ricevuto un <i>EMBO Scientific Exchange Grant</i>, un <i>Travelling Fellowship</i> finanziato da <i>Company of Biologists</i> e una borsa <i>Erasmus+ Traineeship</i>.</p> <p>Ruolo: Visiting PhD student presso Cell Biology, Neurobiology and Biophysics, Department of Biology, Università di Utrecht.</p>
2023-2025	<p>Titolo: “Development of a novel tool to target synapse-to-nucleus communication in Alzheimer’s Disease (DORY)”</p> <p>Descrizione: Il progetto mira a colmare una lacuna rilevante nella ricerca sulla malattia di Alzheimer e a indagare un campo inesplorato: il ruolo della segnalazione a distanza dalla sinapsi al nucleo tramite messaggeri proteici nella patogenesi dell'AD. Questa comunicazione bidirezionale, che consente il trasferimento di informazioni codificate da macromolecole e messaggeri proteici sinaptonucleari, svolge un ruolo chiave nel mantenimento dei contatti sinaptici e nella modifica della forza sinaptica. Pertanto, il progetto DORY mira a chiarire se la RING Finger protein 10 (RNF10), una proteina recentemente identificata, opera come un hub mobile che aggancia i signalling derivati dai recettori NMDA ai siti target nucleari.</p> <p>Bando 2022 Prin PNRR</p> <p>Responsabile della ricerca: Prof.ssa Elena Marcello</p>



	<p>Ruolo: Partecipante, come dottoranda presso il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DISFEB), Università degli Studi di Milano</p>
2019-2021	<p>Titolo: “Deciphering the role of ADAM10 and CAP2 in Age-related Accumulation of deficits”</p> <p>Descrizione: La fragilità è una sindrome geriatrica che deriva da una compromissione multi-sistemica causata dall'accumulo di deficit associati all'età. L'indice di fragilità viene utilizzato per definire il livello di fragilità. Diversi studi hanno cercato biomarcatori molecolari associati alla fragilità, per soddisfare le esigenze di un'assistenza personalizzata. La proteina CAP2 è una proteina multifunzionale che lega l'actina, coinvolta in vari processi fisiologici e patologici, che potrebbe riflettere la complessità intrinseca della fragilità. Questo studio si proponeva di indagare l'associazione tra l'indice di fragilità e la concentrazione di CAP2 circolante, così da identificare CAP2 come un nuovo possibile biomarcatore di fragilità.</p> <p>Questo progetto è attualmente finanziato da: Fondazione Cariplo</p> <p>Responsabile della ricerca: Prof.ssa Elena Marcello</p> <p>Ruolo: Partecipante, come titolare di borsa giovani promettenti presso il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DISFEB), Università degli Studi di Milano</p>

TITOLARITÀ DI BREVETTI

Brevetto
-

CONGRESSI, CONVEGNI E SEMINARI

Data	Titolo	Sede
25-29 Giugno 2024	“CAP2 overexpression in hippocampal neurons prevents actin abnormalities and cognitive defects in an Alzheimer’s Disease model” (Poster presentation)	Federation of European Neuroscience Societies (FENS) Forum, Vienna, Austria
26-30 Marzo 2023	“The cyclase-associated protein 2 controls Cofilin-actin rods formation in Alzheimer’s Disease” (Poster presentation)	Emerging concepts of the neuronal cytoskeleton, Santa Cruz, Chile
15-17 Dicembre 2022	“New insights into the role of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in neurons” (Poster presentation)	III edition more than neurons changing the paradigm for novel therapeutic avenues, Torino, Italy
27-30 Settembre 2022	“The cyclase-associated protein 2 controls Cofilin-actin rods formation in Alzheimer’s Disease”	Bordeaux Neurocampus International conference «Molecular, cellular and network mechanisms of synaptic plasticitySynaptic



	(Poster presentation)	Plasticity», Bordeaux, France
9-13 Luglio 2022	“The cyclase-associated protein 2 controls Cofilin-actin rods formation in Alzheimer’s Disease” (Poster presentation)	Federation of European Neuroscience Societies Forum 2022 (FENS), Paris, France
11 Giugno 2022	“The cyclase-associated protein 2 controls Cofilin-actin rods formation in Alzheimer’s Disease” (Poster presentation)	National Meeting of PhD Students in Neuroscience (SINS), Brescia, Italy
16-17 Settembre 2021	“The cyclase-associated protein 2 is a novel regulator of Cofilin-actin rods in Alzheimer’s Disease” (Poster presentation)	1st DiSVA-MaSBIC Symposium, Ancona, Italy.
9-11 Settembre 202	“The cyclase-associated protein 2 is a novel regulator of Cofilin-actin rods in Alzheimer’s Disease” (Poster presentation)	19th National Congress of the Italian Society for Neuroscience (SINS) Virtual Congress

PUBBLICAZIONI

Libri
-

Articoli su riviste
D'Andrea L, Audano M, Pedretti S, Pelucchi S, Stringhi R , Imperato G, De Cesare G, Cambria C, Laporte MH, Zamboni N, Antonucci F, Di Luca M, Mitro N, Marcello E. Glucose-derived glutamate drives neuronal terminal differentiation in vitro. <i>EMBO Rep.</i> 2024 Mar;25(3):991-1021. doi: 10.1038/s44319-023-00048-8. IF: 6.5 (2023)
Pelucchi S, Macchi C, D'Andrea L, Rossi PD, Speciani MC, Stringhi R , Ruscica M, Arosio B, Di Luca M, Cesari M, Edefonti V, Marcello E. An association study of cyclase-associated protein 2 and frailty. <i>Aging Cell.</i> 2023 Sep;22(9):e13918. doi: 10.1111/accel.13918. IF: 8
Heinze A, Schuldt C, Khudayberdiev S, van Bommel B, Hacker D, Schulz TG, Stringhi R , Marcello E, Mikhaylova M, Rust MB. Functional interdependence of the actin regulators CAP1 and cofilin1 in control of dendritic spine morphology. <i>Cell Mol Life Sci.</i> 2022 Oct 20;79(11):558. doi: 10.1007/s00018-022-04593-8. Erratum in: <i>Cell Mol Life Sci.</i> 2024 Jan 18;81(1):46. doi: 10.1007/s00018-023-05039-5. IF: 8
Musardo S, Therin S, Pelucchi S, D'Andrea L, Stringhi R , Ribeiro A, Manca A, Balducci C, Pagano J, Sala C, Verpelli C, Grieco V, Edefonti V, Forloni G, Gardoni F, Meli G, Di Marino D, Di Luca M, Marcello E. The development of ADAM10 endocytosis inhibitors for the treatment of Alzheimer’s disease. <i>Mol Ther.</i> 2022 Jul 6;30(7):2474-2490. doi: 10.1016/j.yymthe.2022.03.024. IF: 12.4
D'Andrea L, Stringhi R , Di Luca M, Marcello E. Looking at Alzheimer’s Disease Pathogenesis from the Nuclear Side. <i>Biomolecules.</i> 2021 Aug 24;11(9):1261. doi: 10.3390/biom11091261. IF: 5.5



Pelucchi S, **Stringhi R**, Marcello E. Dendritic Spines in Alzheimer's Disease: How the Actin Cytoskeleton Contributes to Synaptic Failure. Int J Mol Sci. 2020 Jan 30;21(3):908. doi: 10.3390/ijms21030908. IF: 5.9

Atti di convegni

-

ALTRE INFORMAZIONI

Attività di tutoraggio - insegnamento:

- a.a. 2023-2024: correlatore di Michele Andreola: Corso di laurea Magistrale in Biotecnologie del Farmaco; Tesi sperimentale; titolo della tesi: "Prime editing of NAGLU p358l mutation: an isogenic human model system to investigate mucopolysaccharidosis type III b";
- a.a 2021-2022: correlatore di Elena Avaldi: Corso di laurea a ciclo unico in Chimica e Tecnologia Farmaceutica; Tesi sperimentale; titolo della tesi: "Cyclase-Associated Protein 2 as a novel regulator of ADAM10 in Alzheimer's disease";
- a.a 2021-2022: correlatore di Camilla Dal Mas: Corso di laurea a ciclo unico in Chimica e Tecnologia Farmaceutica; Tesi sperimentale; titolo della tesi: " Ruolo del complesso CAP2/ADAM10 nella sinapsi in condizioni fisiologiche e nella malattia di Alzheimer";
- a.a 2019-2020: correlatore di Giulia Curcelli: Corso di laurea a ciclo unico in Chimica e Tecnologia Farmaceutica; Tesi sperimentale; titolo della tesi: "Cyclase-Associated Protein 2 as a novel regulator of mitochondria";
- a.a 2023-2024: attività di tutorato nell'ambito del Corso di Studio di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche n. 32 ore di attività nell'ambito dell'insegnamento di Laboratorio di Farmacologia Cellulare e Molecolare e farmacologia sperimentale (Mod. Farmacologia sperimentale) sotto il coordinamento della Prof.ssa Elena Marcello. dal 26/02/2024 al 30/09/2024; (Università degli Studi di Milano);
- a.a. 2022-2023: attività di tutorato nell'ambito del Corso di Studio di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche n. 32 ore di attività nell'ambito dell'insegnamento di Laboratorio di Farmacologia Cellulare e Molecolare e farmacologia sperimentale (Mod. Farmacologia sperimentale) sotto il coordinamento della Prof.ssa Elena Marcello. dal 27/02/2023 al 30/09/2023; (Università degli Studi di Milano);
- a.a.2021-2022: attività di tutorato nell'ambito del Corso di Studio di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche n. 32 ore di attività nell'ambito dell'insegnamento di Laboratorio di Farmacologia Cellulare e Molecolare e farmacologia sperimentale (Mod. Farmacologia sperimentale) sotto il coordinamento della Prof.ssa Elena Marcello. dal 15/04/2022 al 30/09/2022; (Università degli Studi di Milano);

Competenze specifiche:

- **Lavoro in vivo con animali (roditori):** manipolazione di piccoli animali da laboratorio; procedure di base per la cura degli animali (iniezioni, somministrazione di farmaci); interventi chirurgici stereotassici; perfusione cardiaca; dissezione di aree cerebrali ed espanto di organi; test comportamentali; utilizzo di modelli sperimentali murini (modelli transgenici della malattia di Alzheimer) e gestione della linea transgenica.
- **Biologia molecolare:** estrazione di acidi nucleici da colture cellulari e da tessuti cerebrali umani e di roditori; analisi di DNA tramite PCR e sequenziamento Sanger; analisi di RNA mediante retrotrascrizione (RT-PCR), Quantitative Real Time PCR (qRT-PCR) e Relative Quantity Fluorescent PCR (rqf-PCR); separazione elettroforetica di acidi nucleici su gel d'agarosio; coltivazione e trasformazione di batteri mediante elettroporazione e shocktermico; estrazione e purificazione del DNA plasmidico; clonazione; disegno di oligonucleotidi antisenso e short-hairpin RNA, disegno di guide RNA e uso del sistema CRISPR/CAS9.



- **Biologia cellulare:** Preparazione e trasfezione di neuroni primari ippocampali di ratto; uso e trasfezione di linee cellulari (COS7, HEK293); preparazione di fibroblasti umani primari, saggi di immunocitochimica per studiare la localizzazione delle proteine e l'interazione proteina-proteina (proximity-ligation assay).
- **Biochimica:** estrazione di proteine da colture cellulari e da tessuti cerebrali umani e di roditori; dosaggio delle proteine; estrazione di frazioni proteiche arricchite in proteine sinaptiche (Triton insoluble fraction, TIF); estrazione e purificazione di G/F actina; analisi delle proteine mediante saggio, studi di interazione proteina-proteina (co-immunoprecipitazione e pull-down); western blotting; immunocitochimica ed immunoistochimica fluorescenti.
- **Microscopia:** microscopia ottica, a fluorescenza e confocale; esperienza nell'acquisizione e nell'analisi di esperimenti di immunoistochimica e immunocitochimica e morfologia di spine dendritiche in vivo e in vitro; live imaging in vitro ed esperimenti di fluorescence recovery after photo-bleaching (FRAP); utilizzo di microscopia in super risoluzione (AiryScan, structured illumination microscopy SIM, gated stimulated emission depletion microscopy (gSTED)).
- **Competenze informatiche;** utilizzo professionale del pacchetto Office (Word, PowerPoint, Excel); esperienza nell'utilizzo di GIMP.
- **Analisi di dati:** ricerca in database biologici; elaborazione e analisi dei dati con ImageJ, GraphPad Prism, Image Lab, ANY-maze, utilizzo di Arivis Vision4d per lavorare con le immagini 3D.

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, 08/08/2024