



AL MAGNIFICO RETTORE  
DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

COD. ID: 4893

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 Oncologia ed Emato-Oncologia**

Responsabile scientifico: **Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina**

Deborah Salvi Mesa

## CURRICULUM VITAE

### INFORMAZIONI PERSONALI

Cognome	SALVI MESA
Nome	DEBORAH
Data Di Nascita	01/09/1994

### OCCUPAZIONE ATTUALE

Incarico	Struttura
Studente di dottorato in Oncologia Molecolare (Medicina dei Sistemi) presso la Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) nel laboratorio del Prof. Di Fiore Pier Paolo e della Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina	Università degli Studi di Milano e Istituto Europeo Oncologico (IEO), Milano - Italia

### ISTRUZIONE E FORMAZIONE

Titolo	Corso di studi	Università	Anno conseguimento titolo
Laurea Triennale	Scienze Biologiche (classe L-13), votazione 108/110	Università degli Studi di Milano, Milano - Italia	2016
Laurea Magistrale	Biologia Applicata alla Ricerca Biomedica (LM-6), votazione 110/110 <i>cum laude</i>	Università degli Studi di Milano, Milano - Italia	2018
Dottorato Di Ricerca	Dottorato di ricerca in Oncologia Molecolare (Medicina dei Sistemi)	Università degli Studi di Milano e Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) presso Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano - Italia	In corso



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

## ISCRIZIONE AD ORDINI PROFESSIONALI

Data iscrizione	Ordine	Città

## LINGUE STRANIERE CONOSCIUTE

Lingue	Livello di conoscenza
Inglese	Ottimo

## PREMI, RICONOSCIMENTI E BORSE DI STUDIO

Anno	Descrizione premio
2018	Borsa di studio per merito intitolata alla memoria di Piera Santambrogio per giovani meritevoli
2019	Borsa di dottorato presso l'Università degli Studi di Milano e Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) nel laboratorio del Prof. Di Fiore Pier Paolo e della Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina
2020	Terzo posto per <i>Best Poster Awards</i> intitolato " <i>Role of ER contact sites, calcium and mitochondria in EGFR endocytosis</i> " presso EMBL PhD Symposium in Heidelberg, virtuale

## ATTIVITÀ DI FORMAZIONE O DI RICERCA

Nel 2016, anno di conseguimento della mia laurea triennale, ho lavorato come tesista presso il laboratorio del Prof. Cotelli Franco, avvicinandomi al mondo della biologia dello sviluppo. Durante questo periodo ho avuto il mio primo approccio alla ricerca sperimentale, applicando diverse tecniche di biologia molecolare allo studio dell'espressione genica, dal punto di vista temporale e spaziale, di svariati geni coinvolti nello sviluppo del sistema vascolare, utilizzando embrioni di *zebrafish* come sistema modello.

Da fine 2017 a fine 2018, anno di conseguimento della mia laurea specialistica, ho lavorato come tesista presso il laboratorio del Prof. Biffo Stefano, partecipando attivamente ad uno studio volto alla caratterizzazione del ruolo funzionale di FAM46C, una proteina ancora poco nota ma spesso mutata in pazienti affetti da mieloma multiplo. Mediante l'utilizzo di linee cellulari immortalizzate di mieloma multiplo (LP1 e OPM2) abbiamo caratterizzato FAM46C come oncosoppressore coinvolto nell'attivazione del *pathway* di morte cellulare programmata. In dettaglio, abbiamo dimostrato come FAM46C sia in grado di esacerbare lo stress proteostatico dovuto ad un incremento di aggregati proteici intracellulari, a seguito di un malfunzionamento nel processo di autofagia. Attraverso analisi biochimiche abbiamo dimostrato che FAM46C richiede un'interazione con FNDC3A, una proteina residente sul lato citoplasmatico del reticolo endoplasmatico (RE), indispensabile per la sua corretta localizzazione ma, soprattutto, per regolare la sua secrezione, esacerbando il *pathway* di esocitosi lisosomiale. In questo studio, ho preso parte all'identificazione di un nuovo oncosoppressore nell'ambito specifico del mieloma multiplo, in grado di regolare il processo autofagico e secretivo, sottolineando la sensibilità delle cellule di mieloma multiplo all'accumulo di aggregati proteici. Questa esperienza mi ha permesso di appropriarmi di tecniche di biologia cellulare e molecolare, quali coltivazione di linee immortalizzate in sospensione e in adesione, FACS-sorting, trasfezione transiente di DNA plasmidici e infezione stabile di vettori virali, estrazione di proteine, quantificazione e analisi di proteine (SDS-PAGE e Western blotting), estrazione di RNA e DNA, quantificazione e analisi di RNA e DNA (retro-trascrizione, PCR, Real Time qPCR), amplificazione e estrazione di DNA plasmidici in cellule competenti di *E.coli*, tecniche di clonaggio e mutagenesi di DNA, immunoprecipitazione di proteine e coimmunoprecipitazione di complessi proteici. Inoltre, ho acquisito una buona esperienza in tecniche di immunofluorescenza, *imaging* al confocale e analisi di dati acquisiti tramite l'utilizzo di software specifici (Fiji/ImageJ, Las3000 and Prism).

Nel 2019 ho ottenuto una borsa pre-dottorato nel laboratorio del Prof. Di Fiore Pier Paolo sotto la supervisione della Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina, avvicinandomi al mondo dell'endocitosi del recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGFR). Durante questo periodo ho preso parte alla



caratterizzazione di un *pathway* endocitico indipendente da clatrina: il *Non-Clathrin Endocytosis (NCE)*. Uno studio recentemente pubblicato dal laboratorio della Prof.ssa Sigismund ha evidenziato l'esistenza di un meccanismo alternativo di internalizzazione dell'EGFR, attivo solo ad alte dosi di EGF (>30 ng/ml), che porta alla degradazione del recettore, attenuandone la trasduzione del segnale a valle. Tramite un approccio di proteomica associato ad uno *screening* di validazione, lo studio ha portato all'identificazione di *Reticulon-3 (RTN3)*, un regolatore funzionale del *pathway*, e di CD147, un potenziale *marker* per seguire e studiare l'NCE. Lo studio ha inoltre dimostrato l'esistenza di contatti specifici tra membrana plasmatica e RE, a livello dei quali è stata misurata un'onda calcio dipendente da alte dosi di EGF, la cui formazione è dipendente da RTN3 e necessaria per il completamento dell'internalizzazione del recettore. Mediante l'utilizzo di tecniche avanzate di microscopia (trasferimento di energia per risonanza, FRET) è stato osservato che durante la formazione di queste zone di contatto tra i due organelli cellulari, la proteina RTN3 si trova in prossimità dell'EGFR (<20 nm) e che tale vicinanza è regolata da stimolazione con alte dosi di EGF. Una parte del mio lavoro si è quindi focalizzata alla caratterizzazione dell'interazione tra le due proteine, cercando di definirne la natura (diretta/indiretta, stabile/transiente) ed eventuali ulteriori fattori coinvolti. Una seconda parte del lavoro svolto durante questo periodo ha visto una maggiore attenzione dedicata alla caratterizzazione meccanicistica del *pathway*, con l'intento di identificare ulteriori regolatori funzionali e comprendere le dinamiche del processo di internalizzazione attraverso l'NCE. Ciò mi ha permesso di padroneggiare nuove tecniche specificamente dedicate allo studio dell'endocitosi (saggi di internalizzazione con l'utilizzo di EGF marcato con iodio<sup>125</sup> radioattivo, saggi di degradazione e di riciclo, saggi di internalizzazione di marcatori endocitici come CD147 e il recettore della transferrina), tecniche di silenziamento genico (trasfezione transiente di *small interfering RNA*), e di approfondire tecniche di immunofluorescenza e *imaging* applicate allo studio dell'internalizzazione.

Da fine 2019, nel medesimo laboratorio, sto svolgendo il dottorato di ricerca in Oncologia Molecolare (Medicina dei Sistemi) con il programma di PhD internazionale della Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) ed Università degli Studi di Milano presso l'Istituto Europeo di Oncologia (IEO). Durante questi due anni iniziali, ho avuto l'occasione di proseguire la caratterizzazione dell'NCE. In dettaglio, tramite microscopia elettronica in collaborazione con la *imaging facility* dell'ospedale San Raffaele, abbiamo osservato la ri-localizzazione di mitocondri in prossimità delle zone di contatto tra membrana plasmatica e RE, dove si attua l'NCE dell'EGFR, a seguito di stimolazione con alte dosi di EGF. Studiando più nel dettaglio la funzionalità di questi contatti "tripartiti", abbiamo visto che i mitocondri svolgono un ruolo chiave nel garantire il continuo flusso delle onde calcio, che dal RE raggiungono la membrana plasmatica e che risultano necessarie per finalizzare l'endocitosi del recettore. A livello citoplasmatico, le onde calcio indotte da stimolazione con alte dosi di EGF entrano nei mitocondri, dove inducono un incremento dell'attività mitocondriale metabolica risultando in un incremento di ATP, strettamente regolato dall'NCE. Al momento, siamo interessati a caratterizzare più nel dettaglio il ruolo del calcio e dell'ATP indotti da alte dosi di EGF nel contesto del *pathway* di endocitosi, per definire in sostanza un target che medi il distacco della vescicola endocitica dalla membrana plasmatica e la sua degradazione attraverso il compartimento lisosomiale. Nel contempo, stiamo anche cercando di esplorare il potenziale ruolo fisiologico dell'NCE, cercando di comprendere se le risposte fisiologiche stimulate da EGF, quali la proliferazione e la migrazione, possano essere regolate dal *pathway*. Durante questi anni ho avuto l'opportunità di acquisire la conoscenza di tutta una nuova serie di tecniche atte allo studio del segnale del calcio e delle oscillazioni di calcio intracellulare (utilizzo dell'aequorinometro per lo studio e analisi delle concentrazioni di calcio mediante sonde localizzare in diversi compartimenti cellulari aequorina, GcAMP6f), tecniche per lo studio dell'attività e della funzione mitocondriale (morfologia, potenziale di membrana, saggio di Luciferasi e saggi per misurare e quantificare ATP), tecniche per lo studio e l'analisi delle risposte cellulari indotte da stimolazione con EGF (saggio di migrazione, curve di crescita, saggi di proliferazione con BrdU, saggio di invasività e EMT), oltre ad aver acquisito un'ottima capacità di analisi dell'endocitosi e dell'attivazione del segnale dell'EGFR in presenza di diversi ligandi dell'EGFR e/o fattori di crescita.

Il lavoro sinora svolto, oltre ad ampliare fortemente la mia manualità e la mia conoscenza sperimentale, mi ha permesso di maturare una consistente esperienza nella pianificazione, esecuzione e analisi critica degli esperimenti. Ho sviluppato anche ottime capacità di *problem solving*, *team working* e gestione del tempo sperimentale. Non ultimo, tramite seminari e presentazioni a congressi, ho maturato ottime doti comunicative, così come buone doti di scrittura.



## ATTIVITÀ PROGETTUALE

Anno	Progetto
Maggio 2016- Giugno 2016	<p>Studiante di tesi triennale nel laboratorio del Prof. Cotelli Franco presso l'Università degli Studi di Milano, Milano - Italia.</p> <p>Titolo della tesi: "<i>Developmental biology and genetics: zebrafish as a model system</i>".</p> <p>Nel mio primo approccio alla ricerca, ho imparato come studiare l'espressione genica, dal punto di vista temporale e spaziale, e la funzione di diversi geni coinvolti nello sviluppo del sistema vascolare, imparando ad utilizzare <i>zebrafish</i> come sistema modello.</p> <p>Supervisor: Prof. Cotelli Franco / Prof.ssa Beltrame Monica / Prof.ssa Guerrini Luisa</p>
Ottobre 2017- Dicembre 2018	<p>Studiante di tesi magistrale nel laboratorio del prof. Biffo Stefano presso Istituto Nazionale di Genetica Molecolare "Romeo ed Enrica Invenizzi" (INGM), Milano - Italia.</p> <p>Titolo della tesi: "<i>FAM46C is a tumor suppressor which alters the autophagic flux triggering ER stress and apoptosis</i>".</p> <p>Durante il tempo trascorso nel laboratorio del Prof. Biffo mi sono occupata di caratterizzare il ruolo funzionale della proteina FAM46C, e di studiare la rilevanza nel contesto patogenico del mieloma multiplo. Nel corso dello sviluppo del progetto ho consolidato la mia esperienza da giovane ricercatore, imparando a gestire diversi esperimenti con l'uso di svariate tecniche nell'ambito della trascrittomica, proteomica e biochimica.</p> <p>Supervisor: Prof. Biffo Stefano</p>
Aprile 2019- Settembre 2019	<p>Borsa di studio pre-dottorato nel laboratorio del Prof. Di Fiore Pier Paolo e della Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina presso Istituto Europeo di Oncologia (IEO).</p> <p>Durante questo periodo mi sono occupata dello studio di <i>pathways</i> endocitici nel contesto della fisiologia cellulare e del cancro.</p> <p>Supervisor: Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina / Prof. Di Fiore Pier Paolo</p>
Ottobre 2019- presente	<p>Borsa di dottorato nel laboratorio del Prof. Di Fiore Pier Paolo e della Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina erogata dall'Università degli Studi di Milano in collaborazione con la Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) presso Istituto Europeo di Oncologia (IEO).</p> <p>Durante questo periodo ho proseguito il lavoro avviato durante la borsa di studio pre-dottorato riguardo la caratterizzazione di <i>pathways</i> endocitici nel contesto della fisiologia cellulare e del cancro.</p> <p>Supervisor: Prof.ssa Sigismund Sara Lucia Giustina / Prof. Di Fiore Pier Paolo</p>

## CONGRESSI, CONVEGNI E SEMINARI

Data	Titolo	Sede
27-28 Novembre 2020	<i>22nd EMBL PhD Symposium: The Roaring 20s: A New Decade for Life Sciences</i>	EMBL Heidelberg (Germania), virtuale



# 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.

Luogo e data: Milano, 01/03/2021

FIRMA