



AL MAGNIFICO RETTORE

DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

COD. ID: 5723

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 Bioscienze

Responsabile scientifico: Anna Moroni

CURRICULUM VITAE

INFORMAZIONI PERSONALI

| | |
|----------------|---------|
| Cognome | Russo |
| Nome | Alberto |

OCCUPAZIONE ATTUALE

| Incarico | Struttura |
|---|--|
| Ricercatore con borsa di studio per giovani promettenti | Dipartimento di Bioscienze dell'Università degli Studi di Milano |

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

| Titolo | Corso di studi | Università | anno conseguimento titolo |
|---------------------------------|---|----------------------------------|---------------------------|
| Laurea Magistrale o equivalente | Biologia Applicata alla Ricerca Biomedica | Università degli Studi di Milano | 2021 |

LINGUE STRANIERE CONOSCIUTE

| lingue | livello di conoscenza |
|---------|-----------------------|
| Inglese | C1 |

PREMI, RICONOSCIMENTI E BORSE DI STUDIO

| Anno | Descrizione premio |
|-----------|---|
| 2021-2022 | Borsa di studio per promettenti laureati "Caratterizzazione elettrofisiologica di canali ionici mediante patch-clamp" |
| 2022-2023 | Borsa di studio per promettenti laureati (rinnovo) |
| | |



-Tirocinio formativo e tesi Magistrale: da agosto 2020 ad aprile 2021 presso l'Università degli studi di Milano, Dipartimento di Bioscienze, via Celoria 26, Milano. Nel corso di questa esperienza mi sono occupato della caratterizzazione in ambito elettrofisiologico di varianti patologiche del canale ionico hHCN1 trovate in pazienti affetti da forme di epilessia infantile. L'obiettivo principale del progetto di tesi è stato quello valutare l'impatto delle mutazioni sulle caratteristiche biofisiche del canale (mediante la tecnica del patch clamp) e sul trafficking della proteina (mediante la microscopia confocale);

-Borsa di studio per promettenti laureati: da maggio 2021 a giugno 2022 e successivamente da luglio 2022 ad oggi nello stesso laboratorio del tirocinio formativo. Nel corso di due anni mi sono occupato di diversi progetti inerenti alla realizzazione di proteine sintetiche partendo da canali per il potassio. Lo scopo di questa ricerca è stato quello di creare tool molecolari da utilizzare per l'inibizione di potenziali d'azione in seguito a diversi stimoli. Al fine di selezionare e caratterizzare i costrutti molecolari ho appreso e utilizzato tecniche di elettrofisiologia, microscopia confocale, optogenetica, citofluorimetria e analisi *in silico*;

Competenze acquisite

• biologia molecolare

- 1) Polymerase chain reaction (PCR):
 - Site-directed mutagenesis per sostituzione, delezione o inserzione di singoli aminoacidi in DNA plasmidico (PfuTurbo DNA polymerase, Agilent) e design dei relativi primer;
 - Amplificazione di geni contenuti in DNA plasmidico (Q5 o Phusion polymerases) e design dei relativi primer;
 - Colony PCR per screening di colonie batteriche trasformate con DNA plasmidico.
- 2) Clonaggio di geni, inserzione e delezione di sequenze in DNA plasmidico tramite tecnica del Gibson cloning e tagli enzimatici;
- 3) Corsa elettroforetica su gel di agarosio;
- 4) Utilizzo dello spettrofotometro (Eppendorf) per la quantificazione della concentrazione del DNA plasmidico, per stimare la crescita batterica e per valutare lo spettro di assorbimento di proteine e relativi cromofori (in particolare ho valutato le differenze nello spettro di assorbimento di fitocromi batterici prima e dopo il trattamento di luce rossa a 670 e 750nm);
- 5) Mantenimento di strain batterici derivati da E. coli (es. STBL2 e DH5alpha) e protocollo per rendere le cellule batteriche competenti (utilizzate per la trasformazione basata su heat shock);
- 6) Trasformazione di DNA plasmidico in batteri competenti;
- 7) miniPREP per l'estrazione e la purificazione di DNA plasmidico precedentemente trasformato in batteri;
- 8) Estrazione e purificazione di prodotto di PCR tramite Clean-up;
- 9) Preparazione di soluzioni a partire da soluzioni stock precedentemente diluite o da reagenti in polvere, utilizzo di pHmetro, bilancia analitica, sistemi di filtraggio di soluzioni.

• Elettrofisiologia

- 1) Misurazione di correnti generate da canali ionici di membrana mediante la tecnica del



patch clamp (whole-cell, perforated whole-cell e cell-attached configuration) in cellule HEK293T, N2A e CHO (tramite l'utilizzo di protocolli episodici e gap-free);

- 2) Utilizzo di sistemi di perfusione implementati al set-up di elettrofisiologia per valutare l'effetto di variazioni di pH, osmolarità e temperatura e per valutare l'effetto di vari bloccanti sulle correnti registrate prima e dopo il trattamento;
- 3) Utilizzo di sistemi di optogenetica implementati al set-up di elettrofisiologia per valutare l'effetto di diverse lunghezze d'onda e diverse intensità su tool molecolari optogenetici o per innescare produzione di ROS intracellulari;
- 4) Utilizzo di sistemi di cell-poking implementati al set-up di elettrofisiologia per lo studio di canali ionici mecano-sensibili;
- 5) Mantenimento e costruzione di set-up dedicati all'elettrofisiologia (tavolo antivibrante, manipolatore e gabbia di Faraday);
- 6) Preparazione di soluzioni per l'utilizzo in elettrofisiologia;
- 7) Analisi dei dati ottenuti negli esperimenti di elettrofisiologia tramite ClampFit e OriginPro.

• Microscopia e Imaging

- 1) Utilizzo del microscopio confocale Nikon (20X, 40X e 60X oil immersion) per imaging e localizzazione di proteine fuse con tag fluorescenti (eGFP o TagRFP). In particolare, per la valutazione della colocalizzazione di proteine di membrana plasmatica e proteine mitocondriali, rispettivamente con CellMask e TMRM;
- 2) Utilizzo del TMRM come reporter della variazione del potenziale di membrana mitocondriale nello studio della funzione di canali ionici ingegnerizzati per il trafficking in IMM (in combinazione con FCCP);
- 3) Utilizzo di reporter fluorescenti del potenziale di membrana plasmatica (Dibac) per valutare variazioni del potenziale di membrana durante gli esperimenti di elettrofisiologia;
- 4) Analisi delle immagini ottenute dagli esperimenti di microscopia tramite software NIS-elements (utilizzo di ROI, LUTs, time-lapse e z-stacks);
- 5) Utilizzo del microscopio ottico in combinazione con camera digitale Nikon per l'acquisizione di immagini e live imaging durante gli esperimenti di elettrofisiologia.

• Ingegnerizzazione di proteine

- 1) Realizzazione di diversi costrutti sintetici a partire da proteine native:
 - rimozione di domini C- e N-terminali;
 - mutagenesi razionale per modificare le proprietà della proteina nativa (rafforzamento di interazioni idrofobiche, rottura di ponti salini o ponti idrogeno o sostituzione di aminoacidi riportati essere importanti per la funzione della proteina). La mutagenesi razionale è frutto di un'accurata ricerca in letteratura e di un'analisi della struttura della proteina nativa pubblicata (ove presente) o generata tramite utilizzo di AlphaFold;
 - inserzione di sequenze di trafficking mitocondriale (sequenza ripetuta della COXVIII), di miristilazione e palmitoilazione o di domini di altre proteine modificare la localizzazione o la risposta agli stimoli della proteina nativa;
 - Ingegnerizzazione di diverse proteine come canali ionici di membrana, fitocromi batterici, photosensitizer per la produzione di ROS (miniSOG);
 - conoscenza indiretta di metodi di mutagenesi random per la creazione di librerie di nanobody e di localizzazione e funzione di alcune proteine mitocondriali.

• Software utilizzati



- 1) Utilizzo di Pymol e Chimera per l'analisi della struttura di proteine con conoscenza approfondita della funzione e delle caratteristiche delle catene laterali dei 20 aminoacidi proteinogenici e della loro funzione nella determinazione di strutture secondarie e terziarie di proteine;
- 2) Utilizzo di OriginPro per l'elaborazione di dati raccolti durante gli esperimenti e per la realizzazione di grafici, analisi statistiche e fitting delle funzioni;
- 3) Utilizzo di ClampFit per la raccolta e l'elaborazione dei dati ottenuti durante gli esperimenti di elettrofisiologia;
- 4) Utilizzo di AlphaFold per la predizione di proteine la cui struttura non è stata pubblicata in letteratura o per la predizione della struttura di proteine sintetiche;
- 5) Utilizzo di tool online per la predizione di siti di fosforilazione o sequenze di regolazione a partire dalla sequenza della proteina o per il blast delle sequenze;
- 6) Utilizzo di SnapGene per la lettura delle sequenze nucleotidiche/aminoacidiche e per il primer design;
- 7) Utilizzo di PowerPoint per la realizzazione di presentazioni dei dati sperimentali.

• Camera Sterile

- 1) Mantenimento di linee cellulari in adesione e sospensione (HEK295T, HEK293F, CHO, HeLa e N2A);
- 2) Splitting tramite tripsina da flasca e da petri per il mantenimento di linee cellulari o per i singoli esperimenti;
- 3) Trasfezioni transienti di linee cellulari con DNA plasmidico (tramite TurboFect);
- 4) Preparazione e conservazione dei terreni di coltura (DMEM, FreeStyle);
- 5) Seeding cellulare in petri, flasca e 96-well;
- 6) Mantenimento della cappa in camera sterile e sostituzione filtri e lampade UV;
- 7) Mantenimento dell'incubatore e dei periodici cicli di sterilizzazione.

• Altre competenze

- 1) Conoscenza di base di tecniche di citofluorimetria (FACS);
- 2) Conoscenza di base di tecniche di sequenziamento NGS;
- 3) Conoscenza di base riguardo al mitocondrio (funzione e struttura) e ad alcune proteine mitocondriali (in particolare canali potassio mitocondriali come mitoKATP, mitoBKCa, mitoKv1.3 e mitoTASK);
- 4) Conoscenza di base di tecniche per il rilevamento di ROS intracellulari (MitoSOX™ Mitochondrial Superoxide Indicators).

PUBBLICAZIONI

Articoli su riviste



Do the functional properties of HCN1 mutants correlate with the clinical features in epileptic patients? Prog Biophys Mol Biol. 2021 Nov;166:147-155. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2021.07.008. Epub 2021 Jul 23. PMID: 34310985.

Atti di convegni

Abstract + poster: Opto-TASK: A new light-gated potassium channel for sustained inhibition of cell excitability, Optogen2022, Parigi, 2022

ALTRE INFORMAZIONI

Sono in possesso di un esame IELTS che certifica il livello C1 in lingua Inglese

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 pre-costruito per soddisfare la necessità di pubblicazione senza dati sensibili.

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

Luogo e data: Milano, 01-04-2023