

Corso di dottorato in Scienze Biomolecolari
PhD in Biomolecular Sciences
Ciclo 35 / Cycle 35
A.Y. 2019-2020

Borse a tematica vincolata / Reserved scholarships

BORSE AGGIUNTIVE / ADDITIONAL PLACES WITH SCHOLARSHIP

A	Sviluppo di strumenti metagenomici per lo studio del microbioma associato ai tumori per il progetto ONCOBIOME - <i>Development of metagenomic tools for the study of tumor-associated microbiome for the ONCOBIOME project</i>
B	Artificial Cell Replication Cycle
C	La riscoperta di p53:funzioni non canoniche in risposta ad errori della divisione cellulare – <i>Re-invented p53:non-canonical functions in response to cell division errors</i>
D	La fotonica per lo studio della fisiologia dei circuiti cerebrali - <i>Photonics for brain circuit physiology</i>
E	Identificazione di modulatori della secrezione e del contenuto biologico di vescicole extracellulari - <i>Identification of modulators of biological content and secretion of extracellular vesicles</i>
F	Modifica di CRISPR/Cas batteriche in nucleasi efficaci per la modifica di genomi di mammifero – <i>Turning inactive CRISPR/Cas systems into effective and precise tools to edit the mammalian genome</i>
G	The CHRIS Salivary Microbiome
H	Identificazione di fattori cellulari in grado di aumentare genome editing in siti specifici - <i>Identification of cellular factors that increase efficiency of targeted genome editing</i>
I	Ruolo dell'Epigenetica in malattie genetiche rare - <i>Role of Epigenetics in rare genetic diseases</i>
J	Generazione di modelli murini basati su CRISPR/Cas9 per studiare l'impatto delle lesioni genetiche e dei segnali del microambiente nella leucemia linfatica cronica - <i>Establishment of CRISPR/Cas9-based murine models to study the impact of genetic lesions and microenvironmental signals in chronic lymphocytic leukemia</i>
K	Effetto protettivo di FAM3c su cellule cardiache sottoposte a stress ipossico-ossidativo: uno studio in vitro e in vivo - <i>Protective effect of FAM3c on cardiac cells subjected to hypoxic-oxidative stress: an in vitro and in vivo study</i>
L	Caratterizzazione sistematica del contenuto di EV in base alla fonte cellulare e al tipo di stress - <i>Systematic characterization of EV-content according to cell source and type of stress.</i>
M	Sintesi chimica di nuove piccole molecole inibitrici la proteina HuR - <i>Chemical synthesis of new small molecules, inhibiting the HuR protein and other RNA-binding proteins</i>
N	Sviluppo e applicazione di metodi per la metagenomica a livello di ceppo per il progetto MASTER - <i>Development and application of strain-level metagenomic approaches for the MASTER project</i>

O	The role of LRRK2 in lysosome biology and Parkinson 's disease
P	Sviluppo di una strategia di genome editing per la correzione di una mutazione G5483A nel gene NIBPL associata alla sindrome di Cornelia de Lange - <i>Development of ea genome editing strategy to correct the G5483A mutation in the NIBPL gene associated with di Cornelia de Lange syndrome</i>
Q	Prediction of GU cancer patients' treatment response
R	Rescuing physiological expression of the frataxin gene in Friedreich Ataxia through genome editing induced translational enhancement
S	Translational genome editing: a computational biology approach
T	La malattia di Parkinson alla sinapsi: effetti a medio e lungo termine dell'attività chinasi patologica di LRRK2- Parkinson's disease at the synaptic site: short and long term impact of pathological LRRK2 kinase activity
U	Human Organoids as a model for brain cancer Organoidi umani come modello per il tumore al cervello
V	Drugging m6A-mediated mRNA recognition in neuroblastoma
Z	Ingegnerizzazione di vescicole extracellulari ex vivo per la produzione di nanocarrier con attività anticancro selettiva - <i>Engineering ex vivo extracellular vesicles to produce nanocarriers with selective anti-cancer activity</i>

Scholarship A

Development of metagenomic tools for the study of tumor-associated microbiome for the ONCOBIOME project
Sviluppo di strumenti metagenomici per lo studio del microbioma associato ai tumori per il progetto ONCOBIOME
Funded by: University of Trento - Department CIBIO Laboratory of Computational Metagenomics (https://www.cibio.unitn.it/147/laboratory-of-computational-metagenomics)
Principal Investigator: Nicola Segata (nicola.segata@unitn.it)
Synthetic description of the activity and expected research outcome Development, testing, and application of new computational methods to analyze metagenomic data from the gut microbiome of oncological patients (and controls) for the cohorts in the ONCOBIOME project.
Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi Sviluppo, validazione, e applicazione di nuovi metodi computazionali per l'analisi di dati metagenomici dal microbioma intestinale di pazienti oncologici (e relativi controlli) per le coorti del progetto ONCOBIOME
Ideal candidate (skills and competencies):

Skills in bioinformatics, scientific programming, and computational metagenomics

Candidato ideale:

Competenze in bioinformatica, programmazione scientifica, e metagenomica computazionale.

Scholarship B

Artificial Cell Replication Cycle.

Artificial Cell Replication Cycle

Funded by: University of Trento - Department CIBIO
Laboratory for Artificial Biology (<https://www.cibio.unitn.it/118/laboratory-for-artificial-biology>)

Principal Investigator: **Martin M. Hanczyc** (martin.hanczyc@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The project involves creating an artificial cell with focus on an artificial cell cycle involving membrane fusion and division. The methods include high throughput screening, molecular libraries, fluorescence microscopy, genetic algorithms and data analysis. The project will involve collaboration in the EU as well as with the USA and China.

Ideal candidate (skills and competencies):

Interest in membranes and vesicles and artificial cells. Experience with fluorescence, microscopy and enzymatic assays.

Scholarship C

Re-invented p53:non-canonical functions in response to cell division errors

La riscoperta di p53:funzioni non canoniche in risposta ad errori della divisione cellulare

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Armenise-Harvard Laboratory of Cell Division (<https://www.cibio.unitn.it/663/armenise-harvard-laboratory-of-cell-division>) – PRIN 2017 CUP E64I19001070001 “Microtubule and centrosome dynamics, from Omics to neurodevelopmental disorders of Central Nervous System”

Principal Investigator: **Luca Fava** (luca.fava@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The protein p53, one of the best-known tumour suppressors, has been studied most intensively as a transcription factor responding to acute damage of the DNA. Though cell division errors (and abortive cytokinesis in particular) have been known to activate p53 since the 1970s, surprisingly little is understood about how p53 influences cell fate in response to such errors. Our group has recently discovered a pathway dedicated to p53 activation in response to cell division failure (Fava et al., 2017). In the context of the research co-financed by the Armenise-Harvard foundation and the PRIN MIUR 2017, the PhD candidate will combine next-generation RNA sequencing and proteomics in order to systematically dissect the changes in cell physiology occurring in response to cell division errors. Such efforts will shed light on hitherto underappreciated stress signalling pathways that are relevant for tumour suppression and for the aetiology of microcephaly.

Fava, L. L., Schuler, F., Sladky, V., Haschka, M. D., Soratroi, C., Eiterer, L., et al. (2017). The PIDosome activates p53 in response to supernumerary centrosomes. *Genes Dev*, 31(1), 34–45. <http://doi.org/10.1101/gad.289728.116>.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

La proteina p53, uno degli oncosoppressori meglio studiati, è stata investigata principalmente come fattore di trascrizione che viene attivato acutamente in risposta al danno del DNA. Nonostante sia noto fin dagli anni 70 del secolo scorso che errori della divisione cellulare (ed in particolare la citochinesi abortiva) attivino p53, si conosce ancora sorprendentemente poco su come p53 impatti sulle sorti della cellula in risposta a tali errori. Il nostro gruppo ha recentemente scoperto una via di segnalazione dedicata all'attivazione di p53 in risposta al fallimento della divisione cellulare (Fava et al., 2017). Nel contesto della ricerca co-finanziata dalla fondazione Armenise-Harvard e dal PRIN MIUR 2017, il/la dottorando/a combinerà tecniche di sequenziamento dell'RNA di nuova generazione e di proteomica al fine di dissezionare sistematicamente i cambiamenti della fisiologia cellulare in risposta ai difetti della mitosi. Questo consentirà di rivelare il funzionamento di vie di segnalazione dello stress cellulare che vengono ancora scarsamente apprezzate e che sono rilevanti nel contrastare la carcinogenesi e nell'eziologia della microcefalia.

Fava, L. L., Schuler, F., Sladky, V., Haschka, M. D., Soratroi, C., Eiterer, L., et al. (2017). The PIDosome activates p53 in response to supernumerary centrosomes. *Genes Dev*, 31(1), 34–45. <http://doi.org/10.1101/gad.289728.116>.

Ideal candidate (skills and competencies):

The ideal PhD candidate should have pre-existing experience in one or more of the following methods: mammalian cell culture, transgenesis mediated by lentiviruses or by electroporation of ribonucleoproteins, molecular cloning, RNA isolation and RT-qPCR/RNA-Seq, immunoblotting, immunoprecipitation, and cellular fractionation.

Candidato ideale:

Il/la dottorando/a ideale avrà esperienza preesistente in una o più delle seguenti tecniche: colture cellulari di mammifero, transgenesi basata su vettori lentivirali o su elettroporazione di complessi ribonucleoproteici, clonaggio genico, isolamento dell'RNA e RT-qPCR/Sequenziamento dell'RNA di nuova generazione, immunoblotting, immunoprecipitazione e frazionamento cellulare.

Scholarship D

Photonics for brain circuit physiology

La fotonica per lo studio della fisiologia dei circuiti cerebrali

Funded by: University of Trento

Laboratory of Synaptic Plasticity (<https://www.cibio.unitn.it/1033/laboratory-of-synaptic-plasticity>)

Principal Investigator: **Lorenzo Pavesi – Marco Canossa** (Marco.canossa@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The Synaptic Plasticity laboratory (Prof. Marco Canossa) at CIBIO in partnership with Nanoscience laboratory (Prof. Lorenzo Pavesi; Dott.ssa Beatrice Vignoli) at Department of Physics, University of Trento (Italy), invites applications for a PhD scholarship to investigate in vitro artificial memory.

The candidate will work within the framework of the ERC project BACKUP (Prof. Pavesi). Our project is aimed at identifying the basic principles governing "NEURAL ENGRAM": a group of neurons that can be recruited together as a consequence of a learning process. NEURAL ENGRAM can be viewed as physical

representations of learning and memory in the brain and might represent the cellular bases through which memories are stored (Holtmaat A. & Caroni P., *Nat. Neurosci.* (2016) 19, 12, 1553-1562).

Main focus of the project is to understand the relationship between connectivity and function in hybrid neuronal/photonic systems. We will address this task by combining photonics as an ideal platform for optogenetic neural stimulation, dynamic imaging of neuronal activity and electrophysiological recordings. In fact, by using optogenetics, we will attempt to control the formation of NEURAL ENGRAM in vitro and their relationships with the surrounding network. Thus, we will develop an integrated photonic-neuromorphic-computing platform for coding, consolidation, storage and retrieval of a memory trace created in vitro. Molecular assessments of artificial NEURAL ENGRAM will further provide relevant mechanistic information about the significance and mode of action of a memory process.

Project aims at:

1. Developing hybrid interfaces between a biological neuronal network and a photonic integrated circuit;
2. Forcing the growth of neurons on a specific light circuit to guide interconnections;
3. Addressing neuronal network activity by photonic interface to simulate in vitro memory storage and retrieval;
4. Assessing molecular key elements and mechanisms involved in artificial neuronal assembly;

This project has a strong interdisciplinary content. The three-year studentship (extendable to four) aims to provide students with a multi-disciplinary training in conducting research at the interface of neuroimaging, advanced photonic for circuits physiology, and experimental neuroscience. The long-term vision is that hybrid neuromorphic photonic networks will control and supplement specific memory functions.

Key words: synaptic plasticity; learning and memory; engram; artificial intelligence; optogenetic; super-resolution microscopy; field recording

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Il laboratorio di Plasticità Sinaptica (Prof. Marco Canossa), CIBIO, in collaborazione con il laboratorio di Nanoscienze (Prof. Lorenzo Pavesi; Dott.ssa Beatrice Vignoli), Dipartimento di Fisica, Università di Trento (Italia), bandisce una Borsa di Dottorato per lo studio della memoria artificiale in vitro.

La ricerca del candidato s'inserisce nell'ambito del progetto ERC BACKUP diretto dal Prof. Pavesi. Il progetto mira a identificare i principi che regolano la formazione degli ENGRAMMI NEURALI: gruppo di neuroni interconnessi che vengono attivati durante l'apprendimento. Gli ENGRAMMI NEURALI sono considerati la rappresentazione fisica dell'apprendimento e della memoria, e costituirebbero le strutture cellulari mediante le quali una data memoria viene immagazzinata nel cervello (Holtmaat A. & Caroni P., *Nat. Neurosci.* (2016) 19, 12, 1553-1562).

L'obiettivo principale del progetto è comprendere la relazione tra connettività e funzionamento di ENGRAMMI NEURALI creati artificialmente in vitro usando una piattaforma che integri neuroni corticali in coltura primaria esprimenti le rodopsine-canale e circuiti luminosi in grado di stimolarli. Verranno utilizzate tecniche che prevedono l'uso della fotonica come piattaforma ideale per la stimolazione optogenetica dei neuroni e la registrazione simultanea dell'attività neuronale mediante tecniche di "imaging" e registrazioni elettrofisiologiche. Mediante l'uso dell'optogenetica cercheremo di controllare la formazione di un ENGRAMMA NEURALE artificiale in vitro e gli effetti esercitati sulla rete neurale circostante. Svilupperemo quindi una piattaforma integrata fotonica-neuromorfica-computazionale, per la creazione, il consolidamento, l'immagazzinamento e il recupero di una traccia mnemonica simulata in vitro. Lo studio degli aspetti molecolari che sottendono alla formazione di un ENGRAMMA NEURALE artificiale in vitro permetterà di ottenere informazioni meccanicistiche sul significato e la modalità di funzionamento dei processi mnemonici.

Gli obiettivi del progetto sono:

1. Sviluppo di interfacce ibride di una rete neurale e un circuito integrato fotonico;
2. Istruire la crescita dei neuroni su uno specifico circuito luminoso per guidare la formazioni delle interconnessioni neurali;

3. Studiare l'attività di una rete neurale stimolata mediante un'interfaccia fotonica in grado di simulare la formazione, il consolidamento e la riattivazione di una traccia memonica artificiale;
4. Studio dei meccanismi molecolari coinvolti nella formazione di un ENGRAMMA NEURALE.

Questo progetto ha un forte contenuto interdisciplinare. La Borsa di Dottorato di durata triennale (estendibile a quattro) mira a fornire al candidato una formazione multidisciplinare nell'ambito del "neuroimaging", della fotonica avanzata, dell'elettrofisiologia, e più in generale delle neuroscienze sperimentali. A lungo termine il progetto si propone di creare reti artificiali ibride, fotoniche/neuromorfiche, in grado di controllare e integrare specifiche tracce memoniche.

Parole chiave: plasticità sinaptica; apprendimento e memoria; ENGRAMMI NEURALI; intelligenza artificiale; optogenetica; microscopia per super-risoluzione; registrazioni di campo.

Scholarship E

Identification of modulators of biological content and secretion of extracellular vesicles.

Identificazione di modulatori della secrezione e del contenuto biologico di vescicole extracellulari

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Laboratory of Biotechnology and nanomedicine (<https://www.cibio.unitn.it/1029/laboratory-of-biotechnology-and-nanomedicine>) – MINISTERO della SALUTE 2016 D'Agostino CUP D43I18000130008 - PRIN 2017 CUP E64I19001030001 "The interplay between the "RNA/Protein quality control system" and "Exosomes" as a spreading mechanism in amyotrophic lateral sclerosis (EX-ALS)"

Principal Investigator: **Vito Giuseppe D'Agostino** (vito.dagostino@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Extracellular vesicles (EVs) are membranous particles of heterogeneous size, ranging from few nanometers to micrometers, secreted from the cells. Recently, owing to the establishment of benchmarked instruments for nanoparticle tracking, EVs are increasingly recognized as new factors mediating cell-to-cell communication and exchange of functional biomolecules such as RNA, proteins, and metabolites. Interestingly, we and others have also demonstrated that sub-populations of EVs can be readily isolated from liquid biopsies as a screening source for prognostic and predictive biomarkers using ultrasensitive assays. Besides the role of EVs as a new potential diagnostic tool that might complement the cell-free DNA status in oncological patients, very little is known about molecular mechanisms responsible for the release of different sub-populations of EVs and of their effect in recipient cells, including any involvement in disease progression. The goal of this research is the understanding of intracellular mechanisms that regulate the release of EVs into the extracellular environment and the identification of both genetic and pharmacological modulators of this process, including the analysis of the resulting EV biological content in physiological and disease context. This research will be implemented by intersecting multidisciplinary methodologies including the utilization of cutting-edge instruments and close collaboration with clinicians for liquid biopsy studies.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Le vescicole extracellulari (EV) sono particelle membranose di dimensioni eterogenee, che vanno da pochi nanometri a micrometri, secrete dalle cellule. Recentemente, grazie alla creazione di strumenti di riferimento per il tracciamento delle nanoparticelle, le EV sono sempre più riconosciute come nuovi fattori che mediano la comunicazione cellula-cellula e lo scambio funzionale di biomolecole quali RNA, proteine e metaboliti. Sia noi che altri gruppi di ricerca abbiamo inoltre dimostrato che sottopopolazioni di EV possono essere facilmente isolate da biopsie liquide come fonte di screening per biomarcatori prognostici e predittivi usando saggi ultrasensibili. Oltre al ruolo delle EV come nuovo potenziale strumento diagnostico che potrebbe integrare le informazioni ricavate dal DNA circolante in pazienti oncologici, molto poco è noto sui meccanismi molecolari responsabili del rilascio di diverse sottopopolazioni di



vescicole e del loro effetto nelle cellule riceventi, quindi sul loro coinvolgimento nella progressione di uno stato di malattia. L'obiettivo di questa ricerca è la comprensione dei meccanismi intracellulari che regolano il rilascio di EV nell'ambiente extracellulare e l'identificazione di modulatori sia genetici che farmacologici di questo processo, compresa l'analisi del contenuto biologico risultante in EV in un contesto fisiologico e di malattia. Questa ricerca sarà implementata intersecando metodologie multidisciplinari e includendo l'utilizzo di strumenti all'avanguardia, nonché una stretta collaborazione con i clinici per gli studi di biopsia liquida.

Ideal candidate (skills and competencies):

Applicants must have a Cellular and Molecular Biology LM degree. The ideal candidate has a strong background of cell and molecular biology and is highly motivated in conducting translational and collaborative research. Prior experience with extracellular vesicles, flow cytometry, genomics, and/or mouse models is highly desirable. Strong written and verbal communications skills are essential.

Candidato ideale:

I candidati devono avere un diploma di laurea magistrale nel campo della Biologia Cellulare e Molecolare. Il candidato ideale ha un forte background di biologia cellulare e molecolare e fortemente motivato nel condurre ricerche traslazionali e collaborative. La precedente esperienza con vescicole extracellulari, citometria a flusso, genomica e / o modelli murini è altamente auspicabile. La capacità di comunicazione scritta e verbale è essenziale.

Scholarship F

Turning inactive CRISPR/Cas systems into effective and precise tools to edit the mammalian genome

Modifica di CRISPR/Cas batteriche in nucleasi efficaci per la modifica di genomi di mammifero

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Molecular Virology (<https://www.cibio.unitn.it/97/laboratory-of-molecular-virology>)

Principal Investigator: **Anna Cereseto** (anna.cereseto@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

A yeast-based screening platform will be used to select new Cas variants with improved specificity and preserved on-target activity. The screening will be applied to smaller Cas9 nucleases, such as the *Staphylococcus Aureus* (SaCas9), the *Campylobacter jejuni* (CjCas9) and other Cas orthologs. These studies will allow to develop high-fidelity variants easily adaptable to AAV vectors which cannot deliver transgenes bigger than 4 kb and to the non-viral delivery modalities.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Una piattaforma di screening in lievito verrà utilizzata per selezionare nuove varianti di Cas con aumentata attività catalitica e precisione rispetto alle Cas originali. Lo screening verrà utilizzato su nucleasi Cas9 più piccole, come quella individuate in *Staphylococcus Aureus* (SaCas9), *Campylobacter jejuni* (CjCas9) e ad altri ortologi di Cas. Questi studi permetteranno di sviluppare varianti di Cas ad alta fedeltà adattabili ai vettori AAV che non sono in grado di trasportare transgeni più grandi di 4kb e a vettori non-virali.

Ideal candidate (skills and competencies):

Interests towards the genome editing field of research and experience in molecular biology

Candidato ideale:

Interesse verso la disciplina di Genome editing ed esperienza in campo di Biologia Molecolare

Scholarship G

The CHRIS Salivary Microbiome

Il microbioma salivare in CHRIS

Funded by: EURAC Research - Istituto di biomedicina

<http://www.eurac.edu/it/aboutus/people/Pages/staffdetails.aspx?persId=2191>

e University of Trento - Department CIBIO - Laboratory of Computational Metagenomics
<https://www.cibio.unitn.it/147/laboratory-of-computational-metagenomics>

Principal Investigator: **Christian Fuchsberger** (christian.fuchsberger@eurac.edu) e **Nicola Segata** (nicola.segata@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The perception of the microbes that live on and in our bodies has recently undergone a radical re-evaluation: from a nuisance to essential for maintaining. The CHRIS study provides a unique opportunity to explore the association of the microbiome with the metabolic syndrome: markers of the metabolic In addition, their human genomes have been genotyped, and - for a subset of samples – there is a metabolic profile. The overall goal of this work is to explore the differences between the salivary microbiome found in healthy individuals, and among those whose health behaviors and medical history suggest they are at higher risk of heart disease, stroke or diabetes (the metabolic syndrome). These studies are essential first steps for determining if the messages in the salivary microbiome can be translated to diagnostic tests and/or treatments for the metabolic syndrome. Aims of this study are to explore how microbial communities interact with each other, the host, and environment to impact human health. Specifically, we will explore associations of the microbiome with the metabolic syndrome and factors associated with metabolic syndrome (nutrition, smoking habits, anthropometry, mental health), the metabolic profile, and human genes already associated with risk of the metabolic syndrome. In addition, we will explore variability in the salivary microbiota over space and time by comparing with other ongoing studies.

Ideal candidate (skills and competencies):

- Bioinformatics and/or informatics skills
- Mastering of at least one programming language, such as Python, Perl, Java, or C++
- Very good English skills

Scholarship H

Identification of cellular factors that increase efficiency of targeted genome editing

Identificazione di fattori cellulari in grado di aumentare genome editing in siti specifici

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Laboratory of Molecular Virology (<https://www.cibio.unitn.it/97/laboratory-of-molecular-virology>)

Principal Investigator: **Anna Cereseto** (anna.cereseto@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The efficiency of homology directed repair (HDR) for precise and targeted gene repair in gene therapy is still constrained in several clinically relevant cell types. To overcome this issue, we plan to identify factors that once tethered to the Cas9/sgRNA complex can improve HDR efficiency. To this end, factors will be searched in cells characterized by an elevated HDR frequency and will be tethered to the Cas9 cleavage sites either following Cas9 or gRNA-fusion. The libraries will be then transduced into an HDR-reporter cell line (GFP reporter cell lines) for high-coverage screens. Isolation of GFP-positive cells by cell sorting

followed by high-throughput sequencing and bioinformatic deconvolution of the libraries will allow identifying candidate hits. Candidate factors will be tested in other cells lines and selected primary cells.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

L'efficienza dell' homologous recombination (HR) per genome editing di precisione in terapia genica è ancora altamente inefficiente. Il progetto prevede l'identificazione di fattori cellulari in grado di aumentare l'HR in seguito a loro fusione con Cas9/sgRNA. Ci proponiamo di identificare i fattori tramite screening di cellule che effettuano HR con alta efficienza e di testarli fusi a Cas9/sgRNA in cellule reporter per HR (GFP reporter cell lines). Le cellule positive per alta efficienza di HR verranno isolate tramite cell sorting per identificare il fattore che promuove l'HR. Infine i fattori verranno testati in diverse linee cellulari e selezionate tipi di cellule primarie.

Ideal candidate (skills and competencies):

Interests towards the genome editing field of research and experience in molecular biology

Candidato ideale:

Interesse verso la disciplina di Genome editing ed esperienza in campo di Biologia Molecolare

Scholarship I

Role of Epigenetics in rare genetic diseases**Il Ruolo dell'Epigenetica in malattie genetiche rare**

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Chromatin Biology and Epigenetics (<https://www.cibio.unitn.it/675/laboratory-of-chromatin-biology-epigenetics>) – PRIN 2017 CUP E64I19001050001 "Understanding mechanisms and reversibility in Setd5-dependent neurodevelopmental disorders for advancing therapeutic strategies"

Principal Investigator: **Alessio Zippo** (alessio.zippo@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Mutations in chromatin regulators can lead to multiple congenital anomaly and intellectual disability syndromes which are commonly referred to as rare chromatinopathies (CPs). The project for the PhD activity is centered on determining the mechanisms and functional implications of mutations in chromatin regulators observed in CPs.

Chromatin is organized in biomolecular condensates that compartmentalized the genome function and control gene expression. The herein program aims to solve chromatin domains by super-resolution imaging and 3C approaches, to determine the contribution of 3D chromatin organization and nuclear architecture to the onset and progression of Mendelian disorders. The PhD student will gain skills in quantitative biology and epigenetics by using cutting edge technologies in chromatin biology and super-resolution imaging. By using a pre-clinical model of rare genetic diseases, the PhD student will develop new approaches to define and solve chromatin domains to investigate their function in promoting cell plasticity. His/her project will benefit from working within an interdisciplinary framework, favoring cross-contamination of ideas and research discussions..

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Le mutazioni nei regolatori della cromatina possono causare molteplici sindromi congenite caratterizzate da disabilità intellettive, che vengono comunemente chiamate cromatinopatie rare (CP). Il progetto per l'attività di dottorato è incentrato sulla determinazione dei meccanismi e delle implicazioni funzionali delle mutazioni dei regolatori della cromatina osservati nei CP.

La cromatina è organizzata in condensati biomolecolari che compartimentalizzano la funzione del genoma e controllano l'espressione genica. Il presente programma ha lo scopo di risolvere i domini della cromatina



mediante imaging super-risoluzione e approcci 3C, per determinare il contributo dell'organizzazione topologica della cromatina e dell'architettura nucleare all'esordio e alla progressione della malattia. Lo studente di dottorato acquisirà competenze in biologia quantitativa ed epigenetica utilizzando tecnologie all'avanguardia nella biologia della cromatina e imaging super-risoluzione. Utilizzando un modello preclinico di malattie genetiche rare, lo studente di dottorato svilupperà nuovi approcci per definire e risolvere i domini della cromatina per indagare la loro funzione nel promuovere la plasticità delle cellule. Il suo progetto trarrà vantaggio dal lavorare in un quadro interdisciplinare, favorendo la contaminazione incrociata di idee e discussioni di ricerca.

Ideal candidate (skills and competencies):

We are seeking highly motivated and enthusiastic candidates, willing to challenge an innovative project by adopting a pro-active attitude and an analytical approach. The candidate is requested to have experience on methods of cell biology and molecular biology or quantitative & computational biology, to address chromatin changes at single cell level. The PhD student will experience both wet-lab and computational work, supporting candidates in establishing a unique skill set that it would be required for future quantitative biology studies. Given the international framework, the candidate should also have good communication skills in English, and a team-oriented working attitude.

Qualifications:

- A high level of motivation and interest.
- Master degree in Biology, Biotechnology, Physics, Computational Biology or in a related field
- Prior research experience in cell and molecular biology or in quantitative & computational biology
- Experience in quantitative advanced imaging and/or NGS data analysis will be a plus
- Excellent communication skills and good team spirit with the ability to solve problems independently
- High level of English speaking and writing skills.
- International mobility will be considered a major plus.

Candidato ideale:

Stiamo cercando candidati motivati ed entusiasti, disposti a sfidare un progetto innovativo adottando un atteggiamento proattivo e un approccio analitico. Al candidato è richiesto di avere esperienza sui metodi di biologia cellulare e biologia molecolare oppure in in biologia quantitativa e computazionale, per affrontare i cambiamenti della cromatina a livello di singola cellula. Lo studente di dottorato sperimenterà sia il lavoro sul wet-lab che sul computazionale, permettendo ai candidati di sviluppare un set di competenze unico necessario per futuri studi di biologia quantitativa. Dato il quadro internazionale, il candidato dovrebbe anche avere buone capacità comunicative in inglese e un atteggiamento lavorativo orientato al team.

Titoli di studio:

- Un alto livello di motivazione e interesse.
- Laurea in Biologia, Biotecnologie, Fisica, Biologia Computazionale o in un settore correlato
- Esperienza di ricerca precedente in biologia cellulare e molecolare o in biologia quantitativa e computazionale
- L'esperienza in imaging quantitativo avanzato e / o analisi dei dati NGS sarà un vantaggio
- Ottime capacità di comunicazione e buon spirito di squadra con la capacità di risolvere autonomamente i problemi
- Alto livello di capacità di parlare e scrivere in inglese.
- La mobilità internazionale sarà considerata un vantaggio importante

Scholarship J

Establishment of CRISPR/Cas9-based murine models to study the impact of genetic lesions and microenvironmental signals in chronic lymphocytic leukemia

Generazione di modelli murini basati su CRISPR/Cas9 per studiare l'impatto delle lesioni genetiche e dei segnali del microambiente nella leucemia linfatica cronica



Funded by: ICGEB - International Centre For Genetic Engineering And Biotechnology

Principal Investigator:

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a common B cell malignancy characterized by the progressive accumulation of autoreactive B lymphocytes. The disease is driven by signals generated by B cell receptor and other microenvironmental stimuli that interact with various recurrent genetic lesions. The majority of the genetic lesions are relatively infrequent and their functional role and clinical relevance are still unknown. The overall goal of this project is to understand the relative contribution of selected genetic lesions during the oncogenic process and their impact on CLL progression and treatment response. These questions will be addressed by introducing patient-specific mutations in B cells derived from a transgenic murine model of CLL. We have recently developed a CRISPR/Cas9-based procedure that allows for efficient introduction of such genetic lesions, both singularly and in combination. The candidate will investigate how these genetic lesions cooperate with each other and with various microenvironmental signals during the oncogenic process and will test rational drug combinations that target these lesions.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

La Leucemia Linfatica Cronica (LLC) è una neoplasia comune caratterizzata dall'accumulo progressivo di linfociti B autoreattivi. La malattia è guidata da segnali generati dal recettore delle cellule B (BCR) e altri stimoli del microambiente che interagiscono con le diverse lesioni genetiche ricorrenti. La maggioranza delle lesioni genetiche sono relativamente infrequenti e il loro ruolo funzionale e la rilevanza clinica sono ancora ignoti. Lo scopo generale di questo progetto consiste nel comprendere il contributo relativo di specifiche lesioni genetiche durante il processo oncogenetico e valutare il loro impatto sulla progressione della CLL e la risposta al trattamento farmacologico. Questi interrogativi verranno risolti attraverso l'introduzione di mutazioni paziente-specifiche nelle cellule B derivate da un modello murino trasgenico di LLC. Abbiamo recentemente sviluppato una procedura basata su CRISPR/Cas9 che permette una introduzione efficiente delle suddette lesioni genetiche, sia singolarmente che in combinazione. Il candidato investigherà come queste lesioni genetiche cooperano tra di loro e con i vari segnali del microambiente durante il processo oncogenetico e testerà combinazioni razionali di farmaci che abbiano come bersaglio queste specifiche lesioni.

Ideal candidate (skills and competencies):

The ideal candidate should have a strong background in cell and molecular biology and prior experience with primary hematopoietic cell cultures, flow cytometry, fluorescence microscopy, Western Blotting and Real Time PCR. Given the international framework of the institution, strong written and verbal communications skills in English are essential. Prior research experience in the field of hematological malignancies or cancer research will be considered an asset.

Candidato ideale:

Il candidato ideale dovrebbe avere un solido background nella biologia cellulare e molecolare e una pregressa esperienza con colture di cellule ematopoietiche primarie, citofluorimetria a flusso, immunofluorescenza, Western Blotting e Real Time PCR. Dato il carattere internazionale dell'istituto, è essenziale una solida conoscenza dell'inglese scritto e parlato. Precedenti esperienze di ricerca nel campo dell'oncologia ematologica o nella ricerca sul cancro saranno considerate come un valore aggiunto

Scholarship K

Protective effect of FAM3c on cardiac cells subjected to hypoxic-oxidative stress: an in vitro and in vivo study

Effetto protettivo di FAM3c su cellule cardiache sottoposte a stress ipossico-ossidativo: uno studio in vitro e in vivo



Funded by: ICGB - International Centre For Genetic Engineering And Biotechnology

Principal Investigator:

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Biological therapies for patients with myocardial infarction and heart failure are urgently needed, in light of breadth of these diseases and lack of curative treatments.

Through functional screenings in vivo (FunSel) of an arrayed library in the cardiotropic AAV vector, coding for the mouse secretome (1200 vectors), we previously identified a series of novel factors, already selected for cardioprotection. Among other factors, we shortlisted FAM3c, a member of the family with sequence similarity 3, which exhibited remarkable efficacy in protecting cardiac tissue and preserving heart function after myocardial infarction in mice.

Since almost nothing is known about the molecular mechanisms leading to this cardioprotective effect, the purpose of this project is to understand the molecular correlates explaining the protective effect exerted by FAM3c on cardiac cells subjected to hypoxic-oxidative stress. Preliminary data seem to indicate the involvement of the autophagy pathway in FAM3c action.

A series of in vitro (using primary cultures of neonatal rodent cardiomyocytes) and in vivo (mouse) studies will be conducted to investigate key aspects of cardiomyocytes cell biology. The findings of this research will be of great value, considering this molecule as a possible candidate for the development of future innovative drugs for cardiovascular disease.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Esiste una urgente necessità di sviluppare innovative terapie biologiche per il trattamento di pazienti con infarto miocardico e insufficienza cardiaca, alla luce dell'ampia diffusione di queste malattie e della mancanza di trattamenti curativi.

Attraverso screening funzionali in vivo (FunSel) di una libreria in array di vettori AAV codificanti per il secretoma murino (1200 vettori), abbiamo in precedenza identificato una serie di nuovi fattori, già selezionati per cardioprotezione. Tra gli altri fattori, abbiamo selezionato FAM3c, un membro della famiglia con similarità di sequenza 3, che ha mostrato notevole efficacia nella protezione del tessuto cardiaco e nella preservazione della funzione cardiaca dopo infarto miocardico nei topi.

Poiché non si sa quasi nulla dei meccanismi molecolari che portano a questo effetto, lo scopo di questo progetto è comprendere i correlati molecolari che spiegano l'effetto protettivo esercitato dal FAM3c sulle cellule cardiache sottoposte a stress ipossico-ossidativo. Dati preliminari sembrano indicare il coinvolgimento del processo di autofagia nell'azione di FAM3c.

Nell'ambito di questa ricerca saranno eseguiti una serie di studi in vitro (utilizzando colture primarie di cardiomiociti di roditori neonatali) e in vivo (topo) per indagare aspetti chiave della biologia cellulare dei cardiomiociti. I risultati ottenuti saranno di grande valore, considerando questa molecola come un possibile candidato per lo sviluppo di futuri farmaci innovativi per le malattie cardiovascolari

Ideal candidate (skills and competencies):

The candidate must have a degree in the Biotechnology and / or Biomolecular sector. He must have a technical and scientific background centered on the knowledge of cellular and molecular biology and on the main techniques of nucleic acids manipulation, of proteins analysis and cell culturing, both stabilized and primary cell cultures.

A strong personal motivation for scientific research is also required in addition to a good collaborative and team-working attitude. Good written and oral communication skills are strongly appreciated.

Candidato ideale:

Il candidato deve avere un diploma di laurea magistrale nel settore Biotecnologico e/o Biomolecolare. Si richiede un background tecnico scientifico centrato sulla conoscenza della biologia cellulare e molecolare e sulle principali tecniche di manipolazione di acidi nucleici, di analisi di proteine, di colture cellulari stabilizzate e primarie.

È inoltre richiesta una forte motivazione personale alla ricerca scientifica e alla collaborazione, nonché una buona capacità di comunicazione scritta e orale.



Scholarship L

Systematic characterization of EV-content according to cell source and type of stress.

Caratterizzazione sistematica del contenuto di EV in base alla fonte cellulare e al tipo di stress

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Laboratory of Biotechnology and nanomedicine (<https://www.cibio.unitn.it/1029/laboratory-of-biotechnology-and-nanomedicine>) – PRIN 2017 CUP E64I19001030001 "The interplay between the "RNA/Protein quality control system" and "Exosomes" as a spreading mechanism in amyotrophic lateral sclerosis (EX-ALS)"

Principal Investigator: **Vito Giuseppe D'Agostino** (vito.dagostino@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Extracellular vesicles (EVs) are membranous particles of heterogeneous size, ranging from few nanometers to micrometers, secreted from the cells. EVs mediate cell-to-cell communication by exchanging functional biomolecules, such as RNA, proteins, and metabolites to recipient cells. Very little is known about a differential molecular content in EVs associated with pathological states. The goal of this research is the qualitative and quantitative assessment of EV-RNA, EV-protein, and EV-lipid content in response to specific stress stimuli associated with disease context. Identified factors will be also challenged for their utility as potential biomarkers from liquid biopsy of patients suffering from oncological as well as neurodegenerative diseases.

This research will be implemented by intersecting multidisciplinary methodologies including the utilization of cutting-edge instruments and close collaboration with clinicians for liquid biopsy studies.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Le vescicole extracellulari (EV) sono particelle membranose secrete dalle cellule con dimensioni eterogenee, che vanno da pochi nanometri a micrometri. Le EV mediano la comunicazione cellula-cellula scambiando biomolecole funzionali, come RNA, proteine e metaboliti in cellule riceventi. Si sa molto poco sul contenuto molecolare differenziale nelle EV associate a stati patologici. L'obiettivo di questa ricerca è la valutazione qualitativa e quantitativa del contenuto di EV-RNA, EV-proteine e EV-lipidi in risposta a specifici stimoli di stress associati al contesto della malattia. I fattori identificati saranno anche sfidati per la loro utilità come potenziali biomarcatori da biopsia liquida di pazienti affetti da malattie oncologiche e neurodegenerative.

Questa ricerca sarà implementata intersecando metodologie multidisciplinari compreso l'utilizzo di strumenti all'avanguardia e una stretta collaborazione con i clinici per gli studi di biopsia liquida.

Ideal candidate (skills and competencies):

Applicants should preferably have a Cellular and Molecular Biology LM degree. The ideal candidate has a strong background of cellular, molecular biology, and of biotechnology approaches. She/He should be highly motivated in conducting translational and collaborative research. Prior experience with extracellular vesicles, protein or RNA biology is highly desirable. Strong written and verbal communications skills are essential.

Candidato ideale:

I candidati devono avere un diploma di laurea magistrale nel campo della Biologia Cellulare e Molecolare. Il candidato ideale ha un forte background di biologia cellulare, molecolare, e di approcci biotecnologici. Il candidato è fortemente motivato nel condurre ricerche traslazionali e collaborative. La precedente esperienza con vescicole extracellulari, biologia dell'RNA o delle proteine, è auspicabile. Ottima capacità di comunicazione scritta e verbale è essenziale.

Scholarship M

Chemical synthesis of new small molecules, inhibiting the HuR protein and other RNA-binding proteins**Sintesi chimica di nuove piccole molecole inibitrici la proteina HuR**

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Genomic Screening (<https://www.cibio.unitn.it/89/laboratory-of-genomic-screening>)

Principal Investigator: **Alessandro Provenzani** (alessandro.provenzani@unitn.it)
Co-Supervisor: prof. Pierfausto Seneci

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The main work of the PhD candidate is to synthesize new small molecules inhibiting the RNA binding protein HuR. The candidate will take as main pharmacological leads synthetic aza-tanshinones, published in PMID: 29313684, and will modify the scaffold and its functionalizations according to the existing, preliminary SAR. The aim is to improve the solubility and bioavailability of such small molecules. Additionally, novel chemotypes from virtual HTS campaigns on HuR will be identified and – if confirmed – used for parallel lead optimization. The position is based in Milan, at the laboratory of prof. Seneci. The candidate will have to work in strict contact with the team of prof. Provenzani in Trento, to provide in a timely manner the new small molecules either through iterative, or parallel synthesis. The candidate will also synthesize small molecules targeted against other RNA binding proteins (i.e., DHX30), taking advantage of forthcoming HTS campaigns in Trento/CIBIO.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Il lavoro principale del candidato al dottorato sarà quello di sintetizzare nuove piccole molecole che inibiscono la proteina legante l'RNA, HuR. Il candidato si avvarrà come principali "leads" farmacologici, degli aza-tanshinoni pubblicati in PMID: 29313684, e modificherà i relativi sostituenti in base alle SAR preliminari già disponibili. Inoltre, verranno considerati e – se confermati – sottoposti ad ottimizzazione strutturale in parallelo altri chemotipi HuR-specifici, da identificare attraverso campagne virtuali di HTS. L'obiettivo è migliorare la solubilità e la biodisponibilità delle piccole molecole aza-tanshinoniche. La posizione ha sede a Milano, presso il laboratorio del prof. Seneci. Il candidato dovrà lavorare a stretto contatto con il team del prof. Provenzani a Trento, per fornire tempestivamente le nuove piccole molecole sintetizzate con metodi di sintesi iterativa, o di sintesi parallela. Il candidato sintetizzerà anche nuovi "leads" strutturali mirati verso altre proteine leganti l'RNA (ad esempio DHX30), e risultanti da future campagne di screening HTS che saranno effettuate a Trento/CIBIO.

Ideal candidate (skills and competencies):

A strong background in organic chemistry and medicinal chemistry is required, with experience with major analytical (NMR, HPLC, MS) and purification techniques (chromatography, crystallization). Previous experience with medicinal chemistry projects targeted against RNA proteins is a strong plus

Candidato ideale:

Viene richiesto un importante background in sintesi organica e chimica farmaceutica, ed esperienza di tecniche analitiche (NMR, HPLC, MS) e purificative (cromatografia, cristallizzazione). Precedente esperienza nel disegno razionale e nella sintesi di inibitori delle proteine leganti dell'RNA è un forte vantaggio.

Scholarship N**Development and application of strain-level metagenomic approaches for the MASTER project****Sviluppo e applicazione di metodi per la metagenomica a livello di ceppo per il progetto MASTER**



Funded by: University of Trento - Department CIBIO
Laboratory of Computational Metagenomics (<https://www.cibio.unitn.it/147/laboratory-of-computational-metagenomics>)

Principal Investigator: **Nicola Segata** (nicola.segata@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The project aims at developing new computational methods and large scale meta-analyses strategies for studying human and environmental metagenomes. Such approaches will be applied in particular on microbiome samples within the food chain for the UE H2020 "MASTER" project.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Il progetto ha lo scopo di sviluppare nuovi metodi computazionali e strategie di meta-analisi su larga scala per lo studio di metagenomi umani e ambientali. Tali approcci verranno in particolar modo applicati su campioni provenienti da microbiomi dalla filiera del cibo all'interno del progetto UE H2020 "MASTER"

Ideal candidate (skills and competencies):

Skills in quantitative fields, such as computer science, mathematics and physics and in programming.

Candidato ideale:

Competenze in scienze quantitative, quali informatica matematica e fisica, e nella programmazione.

Scholarship O

The role of LRRK2 in lysosome biology and Parkinson's disease

The role of LRRK2 in lysosome biology and Parkinson's disease

Funded by: EURAC Research

<http://www.eurac.edu/it/aboutus/people/Pages/staffdetails.aspx?persId=37823>

Principal Investigator: **Mattia Volta & Giovanni Piccoli** (giovanni.piccoli@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Mutations in the Lrrk2 gene are linked to familial Parkinson's disease (PD) and the activity of the encoded protein kinase LRRK2 is increased in familial and idiopathic PD brain tissue. LRRK2 impacts several neuronal processes and, amongst them, it plays a strong role in the autophagy-lysosome pathway. Importantly, LRRK2 mutations impair lysosomal function and precipitate alpha-synuclein proteinopathy in cellular and animal models. Consistently, most LRRK2 PD patients display Lewy body pathology at autopsy.

In this project, we will undergo a detailed mechanistic investigation of the role of LRRK2 in modulating lysosomal function and how that impacts the processing of cellular alpha-synuclein. In addition, we will assess the influence of PD-linked mutations on these processes and investigate their dependence on kinase activity. Lastly, we will attempt at using these data to evaluate cellular mechanisms that might underlie PD pathogenesis and nominate novel targets for experimental therapeutic strategies. Specifically, we will aim at delineating early events in the pathogenic process. This will allow greater chances for disease-modifying therapies.

We will utilize a combination of complementary cellular and animal models available in the laboratories of Dr. Volta (EURAC) and Prof. Piccoli (UniTN), including SH-SY5Y neuroblastoma cells stably expressing WT and mutant LRRK2, iPSC lines obtained from LRRK2 PD patients and BAC mutant LRRK2 mouse lines. We will approach our scientific questions with cell biology (qPCR, Western blot, functional assays of autophagic and lysosome function) and neurophysiology techniques (animal behavior, primary neuron preparations, synaptic vesicle dynamics, electrophysiology).



Ideal candidate (skills and competencies):

- Training in cell culture and molecular biology techniques
- Background knowledge of neurobiology and neurodegeneration
- Very good English skills

Scholarship P

Development of a genome editing strategy to correct the G5483A mutation in the NIBPL gene associated with di Cornelia de Lange syndrome

Sviluppo di una strategia di genome editing per la correzione di una mutazione G5483A nel gene NIBPL associata alla sindrome di Cornelia de Lange

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Molecular Virology (<https://www.cibio.unitn.it/97/laboratory-of-molecular-virology>)

Principal Investigator: **Anna Cereseto** (anna.cereseto@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Molecular set up of strategies to reverse the G5483A in the NIBPL gene. The strategies will be mainly based on genome editing approaches employing Cas9 and derived tool to either modify the mutated nucleotide or substitute the mutated sequence by homology directed repair.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Messa a punto molecolare di una strategia molecolare per revertire la mutazione G5483A nel gene NIBPL. La strategia sarà basata su approcci di genome editing basati su Cas9 o molecole derivate in grado di modificare singoli nucleotidi oppure sequenze genetiche tramite ricombinazione omologa.

Ideal candidate (skills and competencies):

Interests towards the genome editing field of research and experience in molecular biology.

Candidato ideale:

Interesse verso la disciplina di Genome editing ed esperienza in campo di Biologia Molecolare.

Scholarship Q

Prediction of GU cancer patients' treatment response

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Computational and Functional Oncology
(<https://www.cibio.unitn.it/83/laboratory-of-computational-and-functional-oncology>)

Principal Investigator: **Francesca Demichelis** (f.demichelis@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The project fits into the research activity of the Demichelis laboratory to exploit patients genomics and epigenetics for the prediction of treatment response in the context of GU precision oncology. The study integrates drug and CRISPR screening experimental data generated by lab members and publicly available data from cell lines encyclopedia and consortia efforts and utilizes computational approaches, machine learning and deep learning as appropriate based on the study specific questions. Bladder and prostate cancer advanced disease will be the main clinical topic.



Ideal candidate (skills and competencies):

The ideal candidate has strong mathematical/quantitative background, programming skills, expertise in next generation sequencing data. Has exquisite interest in the understanding of patients treatment response in the context of personalized medicine and in the application of computational methods and machine learning approaches in the setting of translational biomedicine. Knowledge of cancer genomics and epigenetics is recommended.

Scholarship R

Rescuing physiological expression of the frataxin gene in Friedreich Ataxia through genome editing induced translational enhancement

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Laboratory of Translational Genomics <https://www.cibio.unitn.it/91/laboratory-of-translational-genomics>

Principal Investigator: **Alessandro Quattrone** (alessandro.quattrone@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Friedreich's ataxia (FRDA) is the most common type of hereditary ataxias, estimated to affect 1 in 50,000 people in the Caucasian population. It is an autosomal recessive neurodegenerative disease characterized by progressive ataxia, dysarthria and areflexia with onset typically before 25 years of age. FRDA is caused by an expansion of GAA trinucleotide repeats in the first intron of the frataxin (FXN) gene located on chromosome 9. Frataxin is a mitochondrial protein with a critical role in mitochondrial iron homeostasis. The increased number of GAA triplets leads to a reduced expression of the FXN protein, causing oxidative stress and cell death. The severity of the clinical symptoms is correlated with the degree of frataxin residual expression: while in symptomatic patients the amount of the mitochondrial protein is between 5 and 35% of the levels found in healthy individuals, in heterozygous asymptomatic carriers the levels of frataxin reach 50%. These evidences suggest that a partial restoring of frataxin expression in affected cells could phenotypically rescue from the damage induced by the trinucleotide expansion.

In this project we are planning to apply the latest genome editing tools available (high fidelity CRISPR/Cas9 systems, base editors) to achieve increased expression of frataxin in cells derived from patients suffering from the disease. We aim at obtaining this result by modifying the cis-acting expression controls of translation of the FXN gene, such to reach stable expression of 50% of the normal homozygote levels of the protein in human patient-derived cells. We will finally apply the selected correction approach to a mouse model of the disease

Ideal candidate (skills and competencies):

The ideal candidate should have:

- Experience in the use of the basic cell and molecular biology techniques
- Experience in genetic engineering techniques

A strong motivation for gene therapy projects.

Scholarship S

Translational genome editing: a computational biology approach



Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Translational Genomics <https://www.cibio.unitn.it/91/laboratory-of-translational-genomics>

Principal Investigator: **Alessandro Quattrone** (alessandro.quattrone@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

The technology of genome editing by CRISPR/Cas9, introduced 5 years ago, is revolutionizing the modern biomedicine for its simplicity, effectiveness and robustness. This PhD research program is devoted to the setup of tools, mostly of computational biology nature, necessary to allow the penetration of CRISPR/Cas9 technologies into the translational control field. First, genome-wide analyses will be carried out to identify and annotate in the human transcriptome with high confidence cis translation regulative controls [Internal Ribosomal Entry Sites (IRESes), upstream ORFs (uORFs), upstream Translation Initiation Sites (uTISes), downstream Translation Initiation Sites (dTISes), Kozak sequences, 5'UTR and 3'UTR conserved motifs bound by RNA binding proteins (RBPs) and non-coding RNAs (ncRNAs)].

Further, a mapping of the diseases which could benefit by an enhancement of translation of mRNAs derived from specific alleles (mendelian haploinsufficiency diseases and recessive diseases with residual cytoplasmic mRNA presence, tumors induced by hemizygotously deleted tumor suppressor genes, and others) will be carried out using literature and a variety of databases. Then a prioritization list of couple of diseases and relative genome editing based approaches (base editing on 5'UTRs and 3'UTRs motifs, and on Kozak sequences; CRISPR/Cas9-induced deletions/insertions on similar motifs) will be built.

A validation phase of the prioritized disease/approach couples will then take place, initially based on medium throughput methods and reporter-based systems to identify responder sequences. Finally, single-gene approaches (as quantitative RT-PCR, CRISPR/Cas9, Northern blotting, Western blotting, etc...) will be adopted to confirm the effectiveness of the manipulation in cultured cell lines, cultured primary cells and organoids. The use of computational biology will be also extended to other topics studied in the laboratory, always related to the biology and pathology of sequence dependent-translational control.

Ideal candidate (skills and competencies):

The ideal candidate should have:

- Some experience in the use of the basic cell and molecular biology techniques
- Some experience in genetic engineering techniques
- Experience in the use of bioinformatic tools
- Propensity to learn how to use advanced bioinformatic approaches

A strong motivation for gene therapy projects

Scholarship T

Parkinson's disease at the synaptic site: short and long term impact of pathological LRRK2 kinase activity

La malattia di Parkinson alla sinapsi: effetti a medio e lungo termine dell'attività chinasi patologica di LRRK2

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Dulbecco Telethon Laboratory of Biology of Synapses
(<https://www.cibio.unitn.it/304/dulbecco-telethon-laboratory-of-biology-of-synapses>)

Principal Investigator: **Giovanni Piccoli** giovanni.piccoli@unitn.it



Synthetic description of the activity and expected research outcome

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder worldwide. PD progressively impairs the function of dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta, causing motor, cognitive, affective and autonomic dysfunctions. To date, therapeutic approach to PD is mainly based on dopaminergic agents, which alleviate motor symptoms, but do not slow disease progression. Thus, there is urgent need to better understand the molecular mechanisms that lead to PD to design effective disease-modifying therapies. Although most cases of PD are sporadic, familial forms are caused by mutations in single genes. Mutations in Lrrk2 (PARK) and Parkin (PARK2) are linked to late-onset dominant and early-onset recessive PD, respectively and are characterized by the deposition of protein aggregates. In this project, we will undergo a detailed mechanistic investigation of complementary *in vitro* and *in vivo* models of LRRK2 and Parkin PD. In particular, we will investigate the influence of PD-linked mutations on protein clearance. Lastly, we will attempt to identify novel targets for preclinical therapeutic strategies. We will approach our scientific questions combining a panel of complementary assays, including molecular biology (qPCR, cloning, site-directed mutagenesis), cell biology (primary cortical and dopaminergic neuronal culture), biochemistry (western-blotting, pull-down, immunoprecipitation), imaging (immunofluorescence, immunohistochemistry) and neurophysiology techniques (animal behavior, synaptic vesicle dynamics, electrophysiology).

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

La malattia di Parkinson (PD) è un disturbo neurodegenerativo e del movimento caratterizzato dalla degenerazione dei neuroni dell'area cerebrale Pars Compacta della Substantia nigra e da aggregati proteici detti Corpi di Lewy. Il morbo di Parkinson familiare è dovuto a mutazioni a carico di alcuni geni coinvolti nel meccanismo di degradazione proteica, come alfa-sinucleina, LRRK2 e Parkina. L'alterazione dei meccanismi sottesi alla degradazione proteica causano un accumulo progressivo di specie proteiche tossiche che possono eventualmente condurre allo sviluppo della malattia di Parkinson. Questo progetto mira a comprendere le basi molecolari della patologia utilizzando modelli complementari *in vitro* e *in vivo*. Utilizzeremo tecniche di biologia molecolare, biochimiche, microscopia ottica e analisi funzionali.

Ideal candidate (skills and competencies):

- Training in cell culture, molecular biology, and behavior techniques
- Background knowledge of neurobiology and neurodegeneration
- Very good English skills

Candidato ideale:

- esperienza in biologia molecolare, cellulare e test comportamentali in modelli di patologia
- conoscenza pregressa delle basi biologiche della neurodegenerazione
- ottima conoscenza della lingua inglese

Scholarship U

Human Organoids as a model for brain cancer

Organoidi umani come modello per il tumore al cervello

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Armenise-Harvard Laboratory of Brain Disorders and Cancer
<https://www.cibio.unitn.it/495/armenise-harvard-laboratory-of-brain-disorders-and-cancer>

Principal Investigator: **Luca Tiberi** (luca.tiberi@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Generation of Cancer models using human Brain Organoids. The student will obtain new cancer models of human Brain cancer that will be used to perform small drug screening.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Generare dei modelli di cancro utilizzando Organoidi di cervello umano. Lo studente/studentessa otterrà nuovi modelli di cancro al cervello umano che saranno usati per effettuare dei piccoli screening per farmaci.

Ideal candidate (skills and competencies):

Expertise in generation of human cortical and cerebellar Organoids
Expertise with human iPSc

Candidato ideale:

Esperienza nel generare organoidi umani di cervello e cervelletto
Esperienza con iPSc umane

Scholarship V

Drugging m6A-mediated mRNA recognition in neuroblastoma

Funded by: University of Trento – Department CIBIO
Laboratory of Translational Genomics <https://www.cibio.unitn.it/91/laboratory-of-translational-genomics>

Principal Investigator: **Alessandro Quattrone** (alessandro.quattrone@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Neuroblastoma is the second most frequent cause of mortality in children, and the most frequent cancer under five years. In about 50% of cases the disease manifests as high risk and is treated with a severe regimen including myeloablative chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. Nonetheless, only about one third of these children survives after 5 years. We therefore desperately need to develop new, targeted drugs for high risk neuroblastoma.

Our laboratory has established a cause-effect relationship between the degree of m6A methylation in mRNA and neuroblastoma aggressiveness. Therefore, we hypothesize that m6A methylation is a novel target to develop innovative drugs for neuroblastoma. We suggest the recognition of m6A by "reader" proteins as a druggable target to uncouple excess methylation from its signaling.

In this PhD project, we aim at validating specific members of the two demonstrated m6A readers, i.e. YTHDF and IGF2B protein families, as neuroblastoma targets. We also aim to identify two lead molecules which can effectively interfere with the recognition of m6A methylation sites by their readers. We finally aim to verify that this molecular effect results in a lack of cell and tumor aggressiveness, using both genetic and xenotransplanted models of neuroblastoma in mice.

At the end of the PhD program we expect to obtain at least two molecules able to interfere with the recognition of the m6A modified mRNA in neuroblastoma cells, in such a way to elicit the expected molecular, cellular and in vivo effects in neuroblastoma models

Ideal candidate

The ideal candidate should have:

- Experience in the use of the basic cell and molecular biology techniques
- Experience in genetic engineering techniques
- Some experience in the use of bioinformatic tools
- Propensity to learn specialized drug discovery and epitranscriptomic methods

- A strong motivation for drug discovery projects

Scholarship Z

Engineering ex vivo extracellular vesicles to produce nanocarriers with selective anti-cancer activity.

Ingegnerizzazione di vescicole extracellulari ex vivo per la produzione di nanocarrier con attività anticancro selettiva

Funded by: University of Trento – Department CIBIO

Laboratory of Biotechnology and nanomedicine (<https://www.cibio.unitn.it/1029/laboratory-of-biotechnology-and-nanomedicine>)

Principal Investigator: **Vito Giuseppe D'Agostino** (vito.dagostino@unitn.it)

Synthetic description of the activity and expected research outcome

Extracellular vesicles (EVs) are membranous particles massively secreted from the cells. EVs entrap functional biomolecules, such as RNA, proteins, and metabolites, that influence the metabolism of recipient cells. The aim of this research is to develop new pipelines to modify the biological content of ex vivo-isolated EVs, ultimately producing nanocarriers with selective bio-distribution and anti-tumor activity in vivo.

This research will be implemented by intersecting multidisciplinary expertise, from cell/molecular biology to bio-physical approaches.

Descrizione sintetica dell'attività e dei risultati attesi

Le vescicole extracellulari (EV) sono particelle membranose rilasciate massivamente dalle cellule. Le EV intrappolano biomolecole funzionali, come RNA, proteine e metaboliti, che influenzano il metabolismo delle cellule riceventi. Lo scopo di questa ricerca è quello di sviluppare nuovi protocolli per modificare il contenuto biologico di vescicole isolate ex vivo, producendo infine nanocarrier con selettiva bio-distribuzione e attività antitumorale in vivo.

Questa ricerca sarà implementata intersecando competenze multidisciplinari, dalla biologia cellulare / molecolare ad approcci bio-fisici.

Ideal candidate (skills and competencies):

Applicants should preferably have a Cellular and Molecular Biology LM degree. The ideal candidate has a strong background of cellular, molecular biology, and of biotechnology approaches. She/He should be highly motivated in conducting translational and collaborative research. Background with cancer biology, tumor micro-environment studies and/or extracellular vesicles are highly desirable. Strong written and verbal communications skills are essential.

Candidato ideale:

I candidati devono avere un diploma di laurea magistrale nel campo della Biologia Cellulare e Molecolare. Il candidato ideale ha un forte background di biologia cellulare, molecolare, e di approcci biotecnologici. Il candidato è fortemente motivato nel condurre ricerche traslazionali e collaborative. Un background di biologia del cancro, di studio del microambiente tumorale e/o di vescicole extracellulari, è auspicabile. Ottima capacità di comunicazione scritta e verbale è essenziale.