



**CORSO DI DOTTORATO IN INGEGNERIA DEI PRODOTTI E DEI  
PROCESSI INDUSTRIALI**

**Ciclo 32°**

**Proposta di progetto di dottorato**

Il sottoscritto Prof./Dott. Diego di Bernardo

*Nome*

*Cognome*

Professore IF  Professore IIF X Ricercatore  Ricercatore a tempo determinato

affidente al Dipartimento DICMAPI

chiede di essere inserito nell'elenco dei tutors per il 32° ciclo.

Tematica di ricerca proposta:

Sistemi Microfluidici per analisi genomiche in singola cellula.

Curriculum di riferimento:

X Ingegneria dei Materiali e delle Strutture

Ingegneria Chimica

Tecnologie e Sistemi di Produzione

N° di dottorandi con borse ministeriali dei quali il proponente è stato tutor nell'ultimo triennio 1 (DIETI)

## Curriculum del proponente (Max 500 parole. Indicazione di pubblicazioni, brevetti, responsabilità di o coinvolgimento in progetti di ricerca, esperienze scientifiche) con riferimento alla tematica proposta

### ESPERIENZA PROFESSIONALE

---

2001-2002	<i>PostDoc</i> - Wellcome Trust Sanger Institute in Cambridge, UK (Supervisore: Dr Tim Hubbard).
2002-2003	<i>PostDoc</i> - Department of Biomedical Engineering, Boston University, USA (Supervisor Prof. James J. Collins).
2003-2011	<i>Principal Investigator Biology</i> , Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Naples, Italy
2004-	<i>Docente</i> "European School of Molecular Medicine", Naples, (Italy)
2007 -	<i>Ricercatore</i> – Dipartimento Informatica e Sistemistica, Università degli Studi di Napoli "Federico II"
2011-	<i>Direttore del Programma di Ricerca in Systems Biology</i> , Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Naples, Italy
2015-	<i>Professore Associato</i> – Dipartimento di Ingegneria Chimica, dei Materiali e della Produzione Industriale, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Si riportano di seguito alcuni parametri bibliometrici essenziali (fonte SCOPUS, AuthorID: 15842797800 e 8689306500, ORCID ID 0000-0002-1911-7407).

- *h-index*: 23
- *numero complessivo di citazioni ricevute*: 4812
- *numero di pubblicazioni su rivista (peer-reviewed)*: 66
- *numero di articoli in conferenze internazionali (peer-reviewed)*: 25
- *totale pubblicazioni scientifiche*: 101

### Pubblicazioni rilevanti per il progetto:

1. In Silico Modeling of Liver Metabolism in a Human Disease Reveals a Key Enzyme for Histidine and Histamine Homeostasis. R, Castello R, Napolitano F, Borzone R, Annunziata P, Mandrile G, De Marchi M, Brunetti-Pierri N, di Bernardo D. **Cell Rep.** 2016 May 26. pii: S2211-1247(16)30581-2. doi:10.1016/j.celrep.2016.05.014.
2. Automatic Control of Gene Expression in Mammalian Cells. Fracassi C, Postiglione L, Fiore G, di Bernardo D. **ACS Synth Biol.** 2016 Apr 15;5(4):296-302. doi: 10.1021/acssynbio.5b00141.
3. In Vivo Real-Time Control of Gene Expression: A Comparative Analysis of Feedback Control Strategies in Yeast. Fiore G, Perrino G, di Bernardo M, di Bernardo D. **ACS Synth Biol.** 2016 Feb 19;5(2):154-62. doi: 10.1021/acssynbio.5b00135.
4. In-vivo real-time control of protein expression from endogenous and synthetic gene networks. Menolascina F, Fiore G, Orabona E, De Stefano L, Ferry M, Hasty J, di Bernardo M, **di Bernardo D.** **PLoS Comput Biol.** 2014 May 15;10(5):e1003625.
5. MiRNAs confer phenotypic robustness to gene networks by suppressing biological noise. Siciliano V, Garzilli I, Fracassi C, Criscuolo S, Ventre S, **di Bernardo D.** **Nature Commun.** 2013;4:2364.

Progetti di ricerca rilevanti per il progetto:

NanoSolutions: Systems Biology Approaches to Understand Interactions of ENM with Living Organisms and the Environmen	EU FP7	2012-2017	250,000/12,000,000 (80,000/year)
A systems biology approach to BATTEN Disease	EU H2020	2016-2021	250,000/11,000,000 (80,000/year)
Systems and Synthetic Biology Program	Fondazione Telethon	2017-2019	300,000 (100,000/year)

## **Sintesi del Progetto di Ricerca (Max 500 parole. Stato dell'arte, breve programma previsto per le attività e obiettivi)**

Le tecniche di sequenziamento genomico di nuova generazione permettono di sequenziare il genoma umano in meno di un giorno per un costo dell'ordine di migliaia di euro. Sia la pratica clinica che la ricerca biomedica è notevolmente cambiata grazie all'uso di questi strumenti. Con sequenziatori di nuova generazione non solo è possibile sequenziare il genoma umano, ma anche contare quante molecole di RNA per ognuno dei circa 30,000 geni presenti nel nostro genoma vengono espressi da una popolazione di cellule. Il limite attuale di questa tecnologia è la quantità di materiale di partenza necessario per poter effettuare il sequenziamento (milioni di cellule). Poiché un tessuto umano, ad esempio la retina, è composto da centinaia di diversi tipi di cellule, le misure del contenuto di RNA fatte a partire da milioni di cellule sono eterogenee e quindi di limitata utilità. È stato recentemente dimostrato che attraverso tecniche di microfluidica è possibile estrarre RNA da singole cellule e quindi superare il limite dell'attuale tecnologia [Macosko et al, 2015]. La tecnica si basa su tre canali microfluidici che trasportano rispettivamente cellule, microparticelle ed olio, configurati in modo tale da generare una microemulsione di "micelle" acquose in olio, dove ogni micella contenga al più una cellula ed una microparticella. La microparticella contiene circa  $10^6$  oligomeri di sequenza identica e complementari alla coda terminale poli-adenilata presente in ogni mRNA, in grado di catturare il contenuto della cellula. Le microparticelle contengono anche una sequenza di "barcoding" unica che permette quindi di distinguere le mRNA provenienti da ogni cellula dopo il sequenziamento. Il limite della tecnologia proposta è la bassa efficienza di cattura delle cellule, in quanto molte delle cellule vengono incapsulate in micelle che non contengono nessuna microparticella, oppure più di una cellula viene incapsulata nella stessa microparticella. Il progetto di dottorato proposto prevede di superare tale limite attraverso i seguenti obiettivi: (1) costruire il circuito microfluidico proposto in Macosko et al. in PDMS attraverso tecniche di "replica – molding" con stampo generato con una tecnologia "micro-milling" (IIT@CRIB) ; (2) Identificare un modello dinamico input-output del circuito microfluidico per mettere in relazione gli input (numero giri al minuto delle tre pompe-a-siringa collegate ai tre canali contenenti cellule, microparticelle e olio) ed output (posizione e velocità di microparticelle, cellule ed olio); (3) sintetizzare un controllore in retroazione di stato in grado di posizionare una cellula ed una microparticella in una micella con alta efficienza; (4) validare sperimentalmente il sistema attraverso un esperimento di sequenziamento di una popolazione di cellule contenenti 50% di cellule di tipo HEK293 e 50% di cellule HeLa.

### [Highly Parallel Genome-wide Expression Profiling of Individual Cells Using Nanoliter Droplets.](#)

Macosko EZ, Basu A, Satija R, Nemesh J, Shekhar K, Goldman M, Tirosh I, Bialas AR, Kamitaki N, Martersteck EM, Trombetta JJ, Weitz DA, Sanes JR, Shalek AK, Regev A, McCarroll SA. Cell. 2015 May 21;161(5):1202-14. doi: 10.1016/j.cell.2015.05.002.

**Informazioni sintetiche relative a: attrezzature/software disponibili, disponibilità finanziaria, collaborazioni con altri enti di ricerca italiani e ed esteri (eventualmente anche con aziende) potenzialmente rilevanti con riferimento specifico alla tematica proposta.**

Il progetto verrà condotto in collaborazione con l'Istituto Telethon TIGEM di Napoli e l'Istituto IIT "Center for Advanced Biomaterials for Healthcare at CRIB". Il TIGEM ha le strumentazioni e le competenze di biologia molecolare e cellulare oltre che un sequenziatore di ultima generazione HiSeq3000 essenziale per il progetto. L'istituto IIT di Napoli ha le strumentazione e le competenze per la progettazione e la sintesi di chip avanzati di microfluidica, anche questi essenziali per il progetto.

**Informazioni sintetiche relative ad eventuale periodo all'estero previsto per il dottorando (periodo, gruppo di ricerca, Università, ente di Ricerca....)**

**Prof. James J Collins, MIT, Boston, USA (<http://collinslab.mit.edu/>)**

Il sottoscritto garantisce, sotto la propria responsabilità, di poter accedere a risorse tecniche e finanziarie adeguate a supportare le attività necessarie al corretto sviluppo del progetto di ricerca proposto.

Napoli, 18,07,2016

Firma del richiedente: \_\_\_\_\_