

Curriculum vitae

Nome: Stefano
Cognome: Busti
e-mail: stefano.busti1@unimib.it

Esperienza Lavorativa

- 06/2023-presente:** Tecnico di laboratorio a tempo indeterminato presso l'Università di Milano-Bicocca
- 06/2021-05/2023:** Tecnico di laboratorio a tempo determinato presso l'Università di Milano-Bicocca nell'ambito del progetto "Analisi metabolica e proliferativa di cellule eucariote con particolare riferimento ai tumori della vescica". Studi metabolismo energetico (tecnologia Seahorse) di colture 2D e 3D (sferoidi). Messa a punto procedura di Live Imaging con cellule di lievito (microscopio Thunder Live + apparato di microfluidica Cellasic Onix2).
- 06/2020-07/2020:** Incarico di lavoro autonomo occasionale per le esigenze del Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca.
Attività di ricerca bio-computazionale nell'ambito del progetto "Analisi di letteratura e bioinformatica di metaboliti coinvolti nello sviluppo e progressione del tumore alla vescica".
Supervisore: Prof. M. Vanoni
- 02/2018-01/2020:** Borsa di Studio per attività di Ricerca presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca. nell'ambito del progetto "*Caratterizzazione della modulazione da nutrienti delle dimensioni cellulari nel lievito S. cerevisiae*".
Supervisore: Prof. M. Vanoni
- 01/2014-12/2017:** Assegno di Ricerca ministeriale presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca. nell'ambito del progetto "*Metabolismo dell'azoto e riprogrammazione metabolica in lievito*".
Supervisore: Prof. M. Vanoni
- 05/2012-12/2013:** Assegno di Ricerca presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca. nell'ambito del progetto "*Monitoraggio intra ed extracellulare degli amminoacidi nella coordinazione tra crescita e progressione del ciclo cellulare e nel processo di senescenza del lievito gemmante S. cerevisiae*".
Supervisore: Prof. M. Vanoni

- 08/2010-06/2011:** Collaborazione coordinata e continuativa con il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca. nell'ambito del progetto "*Metodologie per l'analisi quantitativa di componenti cellulari in cellule di eucarioti superiori*".
Supervisor: Prof. L. Alberghina e Prof. M. Vanoni
- 01/2009-07-2010:** Assegno di Ricerca presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca. nell'ambito del progetto "*Glucose sensing e controllo del ciclo cellulare in lievito*".
Supervisor: Prof. L. Alberghina e Prof. M. Vanoni
- 07/2005-12/2005:** Collaborazione coordinata e continuativa per attività di ricerca relativa al progetto "*Ruolo dello ione calcio nella progressione del ciclo cellulare del lievito S. cerevisiae*" presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca.
- 07/2004-12/2004:** Collaborazione coordinata e continuativa per attività di ricerca relativa al progetto "*Ruolo dello ione calcio nella progressione del ciclo cellulare del lievito S. cerevisiae*" presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca.
- 09/2003-12/2003:** Collaborazione occasionale a scopo di ricerca presso Centro Ricerche Vicuron Pharmaceuticals (Gerenzano, VA).
- 06/2001-06/2003:** Borsa Ministeriale gestita da Biopolo s.r.l. per la formazione della figura di Biologo Cellulare presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca.
Supervisore: Prof. Enzo Martegani

Istruzione e Formazione

- Gennaio 2022:** Frequenza Corso "*Organ On a Chip and microfluidic*" (Università di Milano-Bicocca, 11-13 gennaio 2022)
- Gennaio 2022:** Corso teorico/pratico per l'utilizzo del microscopio Thunder Tissue (Università di Milano-Bicocca, 26 gennaio 2022)
- Ottobre/Novembre 2021** Corso teorico/pratico per l'utilizzo del microscopio Thunder LIVE Imager (Università di Milano-Bicocca, 26 gennaio 2022)
- Dicembre 2021-Aprile 2023** Training peer-to-peer per l'utilizzo del sistema di analisi HC Operetta (Università di Milano-Bicocca)
- Settembre/Ottobre 2019** Training teorico/pratico per l'utilizzo dello strumento Seahorse (Università di Milano-Bicocca, Agilent Technologies, Inc., Settembre/Ottobre 2019)
- Maggio 2018:** Frequenza Corso di Microscopia Elettronica SEM/TEM "*Scanning and Transmission Electron Microscopy, Principles and Applications*" (Università di Milano-Bicocca, 22-31 Maggio 2018)

- Dicembre 2017:** Frequenza “*Scanning Electron Microscopy In Materials Science (Theoretical-Practical School)*” (Bologna, 12-15 Dicembre 2017)
- Dicembre 2017:** Frequenza “*4th NIC@IIT Nanoscopy 2.0*” (*Advanced practical workshop/school on advanced microscopy*) (IIT Genova, 27 Novembre-1 Dicembre 2017)
- Settembre 2014:** Frequenza “*Systems Biology and Systems Medicine School (1st SyBSyM Como School - Lake Como School of Advanced Studies)*” (21-27 Settembre 2015)
- 11/2005 - 10/2009:** Dottorato di Ricerca in Biotecnologie Industriali (Borsa Ministeriale) presso il Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca.
Progetto di ricerca: *Sensing del glucosio e regolazione del ciclo cellulare in S. cerevisiae*
Supervisore: Prof. Marco Vanoni
- 17/02/2000:** Laurea in Scienze Biologiche conseguita presso l'Università degli Studi di Milano con la votazione di 110/110 lode.
Titolo della Tesi: *"Approcci alla ricostruzione in lievito del circuito di segnalazione mediato dal recettore per l'EGF"*
Relatore: Prof. Marco Vanoni

Competenze tecnico-scientifiche

Tecniche di Microscopia Ottica ed elettronica

- Utilizzo sistema Operetta per analisi topografica e imaging quantitativo di cellule di mammifero (colture 2D e 3D (sferoidi))
- Utilizzo microscopio ottico a fluorescenza *widefield* Thunder LIVE imager
- Utilizzo di sistemi di microfluidica per analisi di microscopia *timelapse live imaging* di cellule eucariotiche (Cellasic Onyx, sistemi di colture 3D Organ On A Chip)
- Utilizzo di proteine fluorescenti (genomic tag) per studi live imaging di ciclo cellulare, localizzazione subcellulare, interazioni molecolari (FRET)
- Utilizzo di biosensori per dosaggi di cAMP, ATP, NADH/NAD⁺ attraverso live imaging quantitativo
- Colorazione e preparazione di campioni di lievito ed eucarioti superiori per osservazione in microscopia a fluorescenza
- Utilizzo base di microscopio a super risoluzione SIM (*Structured Illumination Microscopy*)
- Conoscenza teorica di altre tipologie di *Super Resolution Microscopy*
- Conoscenza dei principi di microscopia elettronica TEM (*Transmission Electron Microscopy*) e SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Competenze digitali e bioinformatiche

- Analisi e processamento dati di microscopia Timelapse Live Imaging su cellule di lievito (segmentazione, tracking, analisi lineage, analisi di ciclo) utilizzando il tool bioinformatico opensource CellACDC
- Utilizzo di vari tools di imaging quantitativo per analisi fluorescenza, conta cellulare... (FiJi, tools bioinformatici in Matlab e Python (Anaconda))
- Utilizzo software Wave per l'analisi dati ottenuti con la piattaforma Seahorse

- Utilizzo Software Harmony per l'analisi quantitativa di dati ottenuti con la piattaforma Operetta
- Conoscenza avanzata dei sistemi operativi Windows, familiarità con sistemi Linux (Mint, Debian, Ubuntu), Android
- Consultazione di database (SGD, KEGG, BioGRID...), utilizzo di risorse bioinformatiche per *data mining*
- Utilizzo di tools bioinformatici per l'analisi di dati "omics": analisi di sequenze geniche e proteiche, Gene Ontology (GO) Term Finder, analisi di interattomica, pathway biochimici;
- Analisi statistica univariata e multivariata di dati omics e di parametri fisiologici (t-TEST, ANOVA, PCA, PLS-DA, analisi clustering gerarchico) (Software: Origin, Graphpad, tools vari)
- Utilizzo di software per design di primers per PCR, qRT-PCR, CRISPR (Perlprimer, Beacon Designer)

Tecniche di biochimica

- Western blotting
- Saggi di co-Immunoprecipitazione
- Saggi *pull down* per quantificazione dei livelli di Ras-GTP in cellule eucariotiche
- Tecniche di gel elettroforesi bidimensionale
- Dosaggio di metaboliti (glucosio, intermedi glicolitici, intermedi TCA cycle, etanolo, glicerolo, acetato, cAMP, ATP/ADP/AMP, glutazione, carboidrati di riserva, NAD/NADH, NADP/NADPH, intermedi TCA cycle) in cellule eucariotiche attraverso saggi enzimatici o HPLC
- Dosaggio attività di geni reporter (β -galattosidasi, β -glucuronidasi) in cellule eucariotiche
- Dosaggio attività invertasica totale da estratti di *S. cerevisiae*
- Dosaggio attività di enzimi glicolitici e TCA cycle in estratti di cellule eucariotiche
- Dosaggio attività di enzimi con attività antiossidante (catalasi, superossido dismutasi) in estratti di cellule eucariotiche
- Dosaggio dei ROS (*reactive oxygen species*) in cellule eucariotiche attraverso tecniche citofluorimetriche o microscopia a fluorescenza
- Studio di morfologia e potenziale dei mitocondri attraverso microscopia a fluorescenza e/o tecniche citofluorimetriche
- Analisi di marcatori apoptotici (annexina V, TUNEL, attività caspasica) in cellule eucariotiche
- Dosaggio chimico e citofluorimetrico del contenuto di RNA/proteine totali in cellule eucariotiche
- Determinazione del tasso di sintesi e degradazione proteica in cellule eucariotiche attraverso citofluorimetria (metodologia *click-it*)
- Saggio uptake 2-NBDG (omologo fluorescente glucosio) attraverso citofluorimetria in cellule eucariotiche

Tecniche di biologia molecolare

- Purificazione di acidi nucleici. Analisi di restrizione, tecniche di clonaggio
- PCR
- Clonaggio di geni da DNA genomico e cRNA di cellule eucariotiche
- Mutagenesi sito-specifica
- Realizzazione di costrutti per l'espressione di proteine ricombinanti in lievito
- Distruzione genica e genomic-tag in *S. cerevisiae* attraverso cassette generate per PCR
- Costruzione di ceppi di lievito con tag fluorescenti per analisi di microscopia *live imaging*
- Retrotrascrizione
- Real-time qPCR per valutare il livello di espressione genica in cellule eucariotiche
- Applicazione metodica CRISPR per creare mutazioni nel genoma di cellule eucariotiche

Tecniche di biochimica e biologia cellulare

- Mantenimento in coltura e manipolazione di ceppi batterici
- Trasformazione di cellule batteriche ed eucariotiche
- Saggi clonogenici per la determinazione della vitalità cellulare
- Mantenimento in coltura di linee cellulari di mammifero - saggi di proliferazione e morte cellulare di cellule normali e trasformate in diverse condizioni di crescita

- Estrazione di DNA, RNA e proteine da batteri e cellule eucariotiche (lieviti, colture cellulari 2D e 3D (sferoidi))
- Cinetiche di crescita bilanciata del lievito *S. cerevisiae*. Shift-up nutrizionale, blocco da N-starvation o da alpha-factor, elutrazione; crescita di single cells in timelapse
- Analisi citofluorimetrica del contenuto totale di DNA, RNA e proteine in cellule eucariotiche
- Saggi FRET con lettore di fluorescenza in micropiastra per studiare l'attività dell'enzima PKA (protein kinasi A) in cellule eucariotiche
- Analisi del metabolismo energetico in cellule eucariotiche con la tecnologia Seahorse

Competenze Linguistiche

Lingua madre: Italiano

Lingue straniere: Inglese

- Ascolto: B2
- Lettura: C2
- Scrittura: C1
- Produzione orale: B2
- Interazione orale: B2

Publicazioni Scientifiche

Magherini F., Busti S., Gamberi T., Sacco E., Raugei G., Manao G., Modesti A., Ramponi G., Vanoni M. (2006) In *Saccharomyces cerevisiae* an unbalanced level of tyrosine phosphorylation down-regulates the Ras/PKA pathway. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 38 (3): 444-460

Sacco E., Metallì D., Busti S., Fantinato S., D'Urzo A., Mapelli V., Alberghina L. and Vanoni M. (2006) Catalytic competence of the Ras-GEF domain of hSos1 requires intra-REM domain interactions mediated by Phenylalanine 577. *FEBS Letters* 580 (27): 6322-6328

Busti S., Sacco E., Martegani E. and Vanoni M. (2008) Functional coupling of the mammalian EGF receptor to the Ras/cAMP pathway in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr Genet* 53 (3): 153-162.

Querin L., Sanvito R., Magni F., Busti S., Van Dorsselaer A., Alberghina L., Vanoni M. (2008) Proteomic analysis of a nutritional shift-up in *Saccharomyces cerevisiae* identifies Gvp36 as a BAR-containing protein involved in vesicular traffic and nutritional adaptation. *J Biol Chem.* 283: 4730-43.

Busti S., Coccetti P., Alberghina L., Vanoni M. (2010) Glucose Signaling-Mediated Coordination of Cell Growth and Cell Cycle in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Sensors (Basel)*. 10:6195-240. (Review)

Busti S., Gotti L., Balestrieri C., Querin L., Drovandi G., Felici G., Mavelli G., Bertolazzi P., Alberghina L., Vanoni M. (2012) Overexpression of Far1, a cyclin-dependent kinase inhibitor, induces a large transcriptional reprogramming in which RNA synthesis senses Far1 in a Sfp1-mediated way *Biotechnol Adv.* 30(1):185-201.

Sacco E., Farina M., Greco C., Lamperti S., Busti S., DeGioia L., Alberghina L., Liberati D., Vanoni M. (2012) Regulation of hSos1 activity is a system-level property generated by its multi-domain structure. *Biotechnol Adv.* 30(1):154-68.

Palumbo P, Vanoni M, Cusimano V, Busti S, Marano F, Manes C, Alberghina L. (2016) Whi5 phosphorylation embedded in the G1/S network dynamically controls critical cell size and cell fate. *Nat Commun.* 7:11372.

Busti S, Mapelli V, Tripodi F, Sanvito R, Magni F, Coccetti P, Rocchetti M, Nielsen J, Alberghina L, Vanoni M. (2016) Respiratory metabolism and calorie restriction relieve persistent endoplasmic reticulum stress induced by calcium shortage in yeast. *Sci Rep.* 16;6:27942.

Palumbo P, Vanoni M, Papa F, Busti S, Wortel M, Teusink B, Alberghina L (2018). An integrated model quantitatively describing metabolism, growth and cell cycle in budding yeast. In *Artificial Life and Evolutionary Computation - 12th Italian Workshop, WIVACE 2017, Revised Selected Papers* (pp. 165-180). *Communications in Computer and Information Science* (Vol. 830)

Pasquale V. Ducci G., Campioni G., Ventrici A., Assalini C., Busti S., Vanoni M., Vago R., Sacco E. (2020) Profiling and Targeting of Energy and Redox Metabolism in Grade 2 Bladder Cancer Cells with Different Invasiveness Properties. *Cells* 9(12), 2669; <https://doi.org/10.3390/cells9122669>

Colombo S, Longoni E, Gnugnoli M, Busti S, Martegani E. (2022) Fast detection of PKA activity in *Saccharomyces cerevisiae* cell population using AKAR fluorescence resonance energy transfer probes. *Cell Signal.* 92:110262.

Campioni G, Pasquale V, Busti S, Ducci G, Sacco E, Vanoni M. (2022) An Optimized Workflow for the Analysis of Metabolic Fluxes in Cancer Spheroids Using Seahorse Technology. Cells 11(5):866.

Barbara Bonomelli, Busti S, Martegani E, Colombo S (2023) Active Ras2 in mitochondria promotes regulated cell death in a cAMP/PKA pathway-dependent manner in budding yeast. FEBS Lett 597:298-308.

Palumbo P, Busti S, Vanoni M. (2023) A cell growth model accounting for both ribosomal sub-units synthesis: conditions for the exponential growth. Proceedings of, the 22nd IFAC World Congress (accepted)

In fede

Stefano Busti

Milano, 11 Aprile 2023

Autorizzo l'utilizzazione e la distribuzione dei dati personali ai sensi della legge n°675 del 31 12 1996.