



Juan de Dios Palomino Villcas

Data di nascita: **/**/1993

● ESPERIENZA LAVORATIVA

ASSEGNO DI RICERCA – ISTITUTO DI FIOLOGICA CLINICA-CNR, CORE RESEARCH LABORATORY ISPRO – 01/05/2024 – 02/2026 – FIRENZE, ITALIA

L'obiettivo dell'attività di ricerca è lo studio della formazione e amplificazione di DNA circolari (ecDNA) tramite modelli cellulari basati sulla tecnologia CRISPR/Cas9. La generazione di ecDNA e il suo mantenimento sono stati analizzati in presenza di inibitori dei meccanismi della riparazione del DNA. Inoltre, è stato messo a punto un saggio citogenetico basato sulla tecnica FISH per monitorare il meccanismo di circolarizzazione di frammenti di cromosomi lineari in DNA circolari.

BORSA DI RICERCA – ISTITUTO PER LA PREVENZIONE E LA RETE ONCOLOGICA (ISPRO) – 07/02/2023 – 04/2024 – FIRENZE, ITALIA

Studio dei meccanismi alla base della formazione di DNA circolari (ecDNA) nelle cellule tumorali mediante screening genetico basato CRISPR-Cas9 e sullo sviluppo di un saggio cellulare per studiare la formazione di DNA circolari a partire dai cromosomi endogeni. Con tale approccio si mira a identificare i fattori molecolari coinvolti nella biogenesi di ecDNA e capire il loro peso durante i processi di tumorigenesi ed evoluzione tumorale.

ATTIVITÀ DI RICERCA ALL'ESTERO – UCL CANCER INSTITUTE – 04/08/2022 – 04/02/2023 – LONDON, REGNO UNITO

L'attività di ricerca presso il "Cancer Evolution and Genome Instability Laboratory" ha avuto come obiettivo quello di applicare la tecnologia CRISPR-Cas9 per creare linee tumorali knockout per poter studiare il ruolo delle proteine AID/APOBEC nella formazione di DNA circolari (ecDNA). Le linee tumorali impiegate sono state precedentemente selezionate per contenere oppure no gli ecDNA e in altre linee tumorali è possibile indurre la formazione di ecDNA tramite il trattamento con agenti chemioterapici.

DOTTORATO DI RICERCA – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SIENA – 01/10/2019 – 21/06/2023 – SIENA, ITALIA

Dottorato di ricerca presso l'Istituto per la Prevenzione e la Rete Oncologica (ISPRO) in materia di meccanismi molecolari coinvolti nell'oncogenesi. Il principale obiettivo del progetto di Ricerca è investigare i meccanismi alla base della formazione di DNA circolari (ecDNA), un tipo di alterazioni cromosomica coinvolta nell'evoluzione tumorale verso un fenotipo più aggressivo. A tal fine ho eseguito uno screening genetico per identificare i fattori molecolari che possono influenzare la formazione di DNA circolari. Inoltre, ho messo a punto un metodo per caratterizzare tali alterazioni utilizzando la tecnica di sequenziamento di terza generazione Nanopore (ONT).

BORSA DI STUDIO POST-LAUREA – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE - ISTITUTO PER LA PREVENZIONE E LA RETE ONCOLOGICA (ISPRO) – 31/03/2019 – 30/09/2019 – FIRENZE, ITALIA

L'obiettivo del progetto di ricerca post-laurea è stato quello di creare delle linee cellulari nelle quali l'espressione dei geni AID/APOBEC può essere indotta in maniera condizionale. A tale scopo ho creato dei vettori lentivirali inducibili (basati sul sistema Tet-On) le quali sono state trasdotte in diverse linee cellulari umane. Per la valutazione dell'espressione modulata dei geni AID/APOBEC nei vari cloni cellulari ho utilizzata la tecnica di citofluorimetria a flusso.

TIROCINIO CURRICULARE LAUREA MAGISTRALE – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE - ISTITUTO PER LA PREVENZIONE E LA RETE ONCOLOGICA (ISPRO) – 31/05/2018 – 30/11/2018 – FIRENZE, ITALIA

Durante l'attività di tirocinio ho impiegato la tecnica di genome editing **CRISPR-Cas9** per la generazione di linee cellulari knockout per i geni **AID/APOBEC**, i quali codificano per un gruppo di enzimi in grado di introdurre mutazioni nel DNA. A tale scopo ho progettato e sintetizzato dei plasmidi lentivirali per veicolare le componenti CRISPR-Cas9 nelle cellule umane. Il successivo screening dei cloni cellulari ha identificato dei cloni con modifiche genetiche inattivanti (knockout) nei geni APOBEC3A e APOBEC3B.

TIROCINIO CURRICULARE LAUREA TRIENNALE – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE - ISTITUTO TUMORI TOSCANO (ITT) – 31/05/2016 – 30/11/2016 – FIRENZE, ITALIA

Il progetto di tirocinio sperimentale consisteva nel valutare il ruolo delle proteine AID/APOBEC nell'insorgenza di instabilità genomica, una proprietà caratteristica delle cellule tumorali. A tale scopo ho impiegato dei vettori di espressione plasmidici per over-esprimere i vari geni APOBEC in un modello cellulare nel quale è possibile quantificare la formazione di micronuclei, un marcatore di instabilità genomica. I risultati hanno dimostrato che l'espressione delle proteine APOBEC inducono un incremento nella frequenza di formazione dei micronuclei supportando il loro coinvolgimento nell'instabilità genomica.

● **ISTRUZIONE E FORMAZIONE**

30/09/2013 – 11/12/2016 Firenze, Italia
LAUREA TRIENNALE IN BIOTECNOLOGIE MEDICHE E FARMACEUTICHE Università degli Studi di Firenze

Indirizzo Piazza San Marco 4, 50121, Firenze, Italia | **Sito Internet** <https://www.unifi.it>

31/12/2016 – 11/12/2018 Firenze, Italia
LAUREA MAGISTRALE IN BIOTECNOLOGIE MEDICHE E FARMACEUTICHE Università degli Studi di Firenze

Indirizzo Piazza San Marco 4, 50121, Firenze, Italia | **Sito Internet** <https://www.unifi.it>

30/09/2019 – ATTUALE Siena, Italia
DOTTORATO DI RICERCA - PHD Università degli Studi di Siena

Indirizzo Strada delle Scotte, 53100, Siena, Italia | **Sito Internet** <https://genomec.dbm.unisi.it>

● **COMPETENZE LINGUISTICHE**

Lingua madre: **SPAGNOLO**
Altre lingue:

	COMPRENSIONE		ESPRESSIONE ORALE		SCRITTURA
	Ascolto	Lettura	Produzione orale	Interazione orale	
ITALIANO	C2	C2	C2	C2	C2
INGLESE	C1	C1	C1	C1	C1

Livelli: A1 e A2: Livello elementare B1 e B2: Livello intermedio C1 e C2: Livello avanzato

● **COMPETENZE**

Analisi ed elaborazione dati con GraphPad Prism | R R-Studio | Conoscenza delle principali banche dati bionformatiche (Nucleotide, SNP, PubMed ecc.) | Conoscenza banche dati (GenBank, PubMed, PlasmDB), NGS (Next Generation Sequencing) | Preparazione di librerie NGS - Oxford Nanopore Technology | Bioinformatics Tools

● **CONFERENZE E SEMINARI**

23/01/2022 – 25/01/2022 Palm Springs - California (USA)
3rd International Conference on Base Editing “Enzymes and Applications” Deaminet 2022

Abstract:
Induction of Extrachromosomal Circular DNA by the AID/APOBECs
Juan D. Palomino^{1,2}, Yonglun Luo³, Silvo Conticello^{1,4}
1. Core Research Laboratory, ISPRO, Florence, Italy.
2. Department of Medical Biotechnologies, University of Siena, Siena, Italy 3. Department of Biomedicine, Aarhus University, Aarhus, Denmark

Background Extrachromosomal circular DNAs (eccDNA) are common genetic elements present in eukaryotic cells. Among eccDNAs, larger fragments have been detected in approximately half of human cancers and their presence is associated with aggressive tumor behavior and poor prognosis. The molecular mechanisms involved in eccDNA pathogenesis are poorly understood and eccDNA seems linked to genomic instability. In fact, eccDNAs are increased by DNA damage. In cancer, catastrophic events such as chromothripsis drive amplification and evolution of circular DNA. The presence of kataegis in chromothriptic eccDNAs has suggested a role for the AID/APOBECs.

Objective: Aim of the study is to understand whether the AID/APOBECs could affect eccDNA formation.

Methods: We used the CRISPR-C system, a cellular model in which formation of an artificial short eccDNA could be assayed by flow cytometry. We identified the chromosomal origin of APOBEC-induced eccDNAs by Nanopore sequencing platform.

Results: Analysis of eccDNA content in cells expressing the AID/APOBECs shows that APOBEC3B and APOBEC3G can induce high levels of eccDNA. As catalytically inactive mutants are unable to induce eccDNA formation, APOBEC-mediated deamination seems to be necessary. Endogenous eccDNAs induced by APOBECs mainly derived from regions with high content of TC/GA dinucleotides, the preferred targets of APOBECs. We are currently investigating the molecular mechanisms through which these deaminases affect eccDNA biogenesis, either by facilitating circularization of the eccDNA or increasing their stability.

05/07/2022 – 08/07/2022 Southampton - Regno Unito

Workshop internazionale: Conticello-Fenton labs collaborative meeting

Presentazione orale:

"APOBECs induce extrachromosomal circular DNA formation: Analysis of endogenous eccDNAs by Circle-seq and Nanopore sequencing"

● **PUBBLICAZIONI**

2024

[The role of APOBEC3B in lung tumor evolution and targeted cancer therapy resistance](#)

In this study, the impact of the apolipoprotein B mRNA-editing catalytic subunit-like (APOBEC) enzyme APOBEC3B (A3B) on epidermal growth factor receptor (EGFR)-driven lung cancer was assessed. *A3B* expression in EGFR mutant (EGFRmut) non-small-cell lung cancer (NSCLC) mouse models constrained tumorigenesis, while *A3B* expression in tumors treated with EGFR-targeted cancer therapy was associated with treatment resistance. Analyses of human NSCLC models treated with EGFR-targeted therapy showed upregulation of A3B and revealed therapy-induced activation of nuclear factor kappa B (NF- κ B) as an inducer of *A3B* expression. Significantly reduced viability was observed with A3B deficiency, and A3B was required for the enrichment of APOBEC mutation signatures, in targeted therapy-treated human NSCLC preclinical models. Upregulation of *A3B* was confirmed in patients with NSCLC treated with EGFR-targeted therapy. This study uncovers the multifaceted roles of A3B in NSCLC and identifies A3B as a potential target for more durable responses to targeted cancer therapy.

Caswell, D.R., Gui, P., Mayekar, M.K. et al. Nat Genet 56, 60–73 (2024).
