

Curriculum vitae et studiorum di

Marco Brondi

- **CNR Post-Doctoral fellowship** (Aprile 2021-Aprile 2023) Intracellular chloride dynamics in autistic brain: a better understanding is needed for tailored cures". - PROGETTO DSB.AD004.261 Responsabile Scientifico Dott. Claudia Lodovichi.
- **IIT Post-Doctoral fellowship** (Ottobre 2018-Marzo 2021) "Sviluppo e applicazione di reti neurali per il processamento automatico di dati di imaging a due fotoni".
- **IIT Post-Doctoral fellowship** (Ottobre 2015-Ottobre 2018) "Caratterizzazione dell'attività di circuiti neurali in vivo nella corteccia somatosensoriale tramite imaging a due fotoni e illuminazione strutturata".
- **PhD in biofisica molecolare** presso Scuola Normale Superiore (4/02/2015) conseguito con valutazione massima. Titolo della tesi di dottorato: "Astrocytes and neural network synchronization: in vivo two-photon Calcium imaging and field recording of neocortical activity". Attività sperimentale condotta presso: @NEST (National Enterprise for nano-Science and nano-Technology) SNS (Scuola Normale Superiore), in associazione con: CNI (Center for Nanotechnology Innovation) e IIT (Istituto Italiano di Tecnologia). Supervisor: Dr. Gian Michele Ratto.
- **Research fellowship** (Settembre 2013-Settembre 2014) Attività sperimentale: astrocyte physiology via in vivo two-photon calcium imaging. Characterization of sub cellular Calcium activity in cortical astrocytes in response to sensory stimulation and during slow wave activity (Scuola Normale Superiore). Supervisors: Dr. Gian Michele Ratto.
- **Research fellowship** (Settembre 2012-Settembre 2013) Attività sperimentale: mechanisms of circuit hyperexcitability in epilepsy and novel therapeutic strategies. Characterization of the status epilepticus induced in mice by synaptobrevin cleavage (injection of recombinant Tetanus toxin) through in vivo Calcium imaging and electrophysiology. Supervisors: Dr. Gian Michele Ratto and Prof. Matteo Caleo (Progetto Regione Toscana).
- **Master degree** in Biologia molecolare e biotecnologie, Università degli Studi di Pisa, conseguito con valutazione massima, cum laude. (29/03/2007). Dipartimento di Biologia, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Università degli Studi di Pisa, Italia. Titolo della tesi: "Post transcriptional mechanisms involved in the regulation of Leptin hormone", Attività sperimentale condotta presso Istituto di Neuroscienze, CNR, Pisa e Azienda Ospedaliero-Universitaria di Pisa, Dipartimento di Endocrinology and Metabolismo, Pisa. supervisors: Dr.Mario Costa and Dr. Margherita Maffei.

Technical skills:

- Imaging a due fotoni in vivo in acuto in animali anestetizzati e in cronico in animali svegli "head fixed" in paradigmi comportamentali, con stimoli visivi, olfattivi, acustici o tattili, in corteccia visiva, somatosensoriale, bulbo olfattivo e corteccia prefrontale:
- Imaging del calcio (Bulk-loaded OGB, GCaMP3/6/7, jRCaMP1a, animali transgenici esprimenti indicatori fluorescenti del calcio).
- "Dual color" imaging (neuroni e astrociti).
- Imaging del flusso sanguigno (destrani coniugati a FITC iniettati nella vena caudale).
- Imaging del sodio (SBFI).
- Imaging del cloro (Clophysor).
- Imaging della motilità e morfologia delle spine (Thy-1 GFP).
- Biodistribuzione extracellulare di nanoparticelle (PLGA particles, Dendrimeri).
- Imaging della concentrazione locale CO₂ (Dendrimeri).
- Imaging del pH (Dendrimeri, Clophysor).
- Mappatura dinamica e funzionale dello spazio extracellulare (Dendrimeri).
- Biodistribuzione di nanoparticelle dirette a astrociti (Dendrimeri).
- Fluorescence-lifetime imaging microscopy (FLIM).

- Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP).
- Sviluppo e validazione in vivo di nuove sonde fluorescenti per proprietà chimico/fisiche dell'ambiente extracellulare e intracellulare (Chlophensor, nanoparticelle peptide-PLGA, dendrimers funzionalizzati).
- Imaging del calcio a due fotoni in vivo combinato con registrazioni elettrofisiologiche in animali anestetizzati o svegli.
- Local field potentials (LFP)
- Registrazioni juxtacellulari
- Registrazioni patch clamp
- Sviluppo e validazione in vivo di nuovi approcci per imaging del calcio con scansione ad alta velocità ed elevata precisione.
- Sviluppo e validazione in vivo di nuovi approcci per il processamento automatico in tempo reale di dati di imaging del calcio.
- Registrazioni croniche di LFP in animali svegli e liberi di muoversi.
- Registrazioni croniche di ecocorticogramma (EEG) in animali svegli e liberi di muoversi.
- Caratterizzazione tramite imaging a due fotoni del calcio, dell'interazione funzionale fra neuroni e astrociti durante attività spontanea e evocata.
- Caratterizzazione tramite imaging a due fotoni del calcio, dell'interazione funzionale fra popolazioni neuronali e astrociti durante attività epilettiforme indotta farmacologicamente.
- Caratterizzazione tramite imaging a due fotoni del calcio, dell'attività neurale spontanea e evocata in modelli animali di deficit cognitivo/spettro autistico (modello animale di oligofrenia: OPHN1KO) e malattie neurodegenerative (modello animale di parkinson sporadico: LRRK2-G2019S).
- Sviluppo e impiego di paradigmi di comportamento animale e misurazioni psicometriche nel contesto di condizionamento operante abbinato a imaging a due fotoni del calcio.
- Sviluppo di impianti cronici per imaging a due fotoni con accesso ottico corticale esteso e di lunga durata.
- Produzione di vettori virali (AAV e Lentivirus) e procedure di iniezione in vivo in varie regioni cerebrali (microiniezioni, iniezioni retroorbitali, iniezioni intravenose).
- Imaging ex-vivo uno e due fotoni:
- Colture cellulari (HEK, HeLa, PC12, neuroni e astrociti primari).
- Slices cerebrali primarie.
- Colture organotipiche.
- preparazione "emi-testa".
- Cervello espantato di Cavia.
- Preparazione e imaging del calcio a due fotoni di organoidi da progenitori neurali murini
- Tecniche di biologia cellulare e molecolare:
- Colture cellulari (HEK, HeLa, PC12, progenitori neurali) e primarie (ippocampali, corticali e adipociti)
- Clonaggio
- Espressione proteica e purificazione
- Northern, southern, western blot
- Ibridazione in situ
- Ibridazione whole mount
- Immunoistochimica
- Immunocitochimica
- PCR
- Realtime-PCR
- Reverse-PCR
- E.L.I.S.A.
- Gestione colonie murine wild type e transgeniche, procedure di chirurgia, procedure di abituação per paradigmi comportamentali.
- Programmazione in ambiente Matlab e Python, machine learning e convolutional neural networks.
- Analisi dati di imaging a due fotoni del calcio con softwares "custom", Suite2P, CalmAn, CellPose.
- Sviluppo e adattamento di approcci computazionali per analisi dati di imaging a due fotoni del calcio.

Pubblicazioni:

SmaRT2P: a software for generating and processing smart line recording trajectories for population two-photon calcium imaging. Monica Moroni, Marco Brondi, Tommaso Fellin, Stefano Panzeri. *Brain Inform.* 2022 Aug 4;9(1):18. doi: 10.1186/s40708-022-00166-4.

Optogenetic Methods to Investigate Brain Alterations in Preclinical Models. Marco Brondi, Matteo Bruzzone, Claudia Lodovichi and Marco dal Maschio. *Cells.* 2022 Jun 5;11(11):1848. doi: 10.3390/cells 11111848.

A deep-learning approach for online cell identification and trace extraction in functional two-photon calcium imaging. Luca Sità & Marco Brondi (co-first authors), Pedro Lagomarsino de Leon Roig, Sebastiano Curreli, Mariangela Panniello, Dania Vecchia, Tommaso Fellin. *Nature Communications* volume 13, Article number: 1529 (2022).

High-Accuracy Detection of Neuronal Ensemble Activity in Two-Photon Functional Microscopy Using Smart Line Scanning. Brondi M, Moroni M, Vecchia D, Molano-Mazón M, Panzeri S, Fellin T. *Cell Rep.* 2020 Feb 25;30(8):2567-2580.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2020.01.105.

Epileptiform activity in the mouse visual cortex interferes with cortical processing in connected areas. Petrucco L, Pracucci E, Brondi M, Ratto GM, Landi S. *Sci Rep.* 2017 Jan 10;7:40054. doi: 10.1038/srep40054.

Synthesis, cellular delivery and in vivo application of dendrimer-based pH sensors. Albertazzi L, Storti B, Brondi M, Sulis Sato S, Ratto GM, Signore G, Beltram F. *J Vis Exp.* 2013 Sep 10; (79):50545. doi: 10.3791/50545.

In vivo distribution and toxicity of PAMAM dendrimers in the central nervous system depend on their surface chemistry. Albertazzi L, Gherardini L, Brondi M, Sulis Sato S, Bifone A, Pizzorusso T, Ratto GM, Bardi G. *Mol Pharm.* 2013 Jan 7;10(1):249-60. doi: 10.1021/mp300391v. Epub 2012 Dec 4.

Finding a Needle in a Haystack: Identification of EGFP Tagged Neurons during Calcium Imaging by Means of Two-Photon Spectral Separation. Brondi M, Sato SS, Rossi LF, Ferrara S, Ratto GM. *Front Mol Neurosci.* 2012 Oct 29;5:96. doi: 10.3389/fnmol.2012.00096.

High-performance and site-directed in utero electroporation by a triple-electrode probe. dal Maschio M, Ghezzi D, Bony G, Alabastri A, Deidda G, Brondi M, Sato SS, Zaccaria RP, Di Fabrizio E, Ratto GM, Cancedda L. *Nat Commun.* 2012 Jul 17;3:960. doi: 10.1038/ncomms 1961.

Ictal but not interictal epileptic discharges activate astrocyte endfeet and elicit cerebral arteriole responses. Gómez-Gonzalo M, Losi G, Brondi M, Uva L, Sato SS, de Curtis M, Ratto GM, Carmignoto G. *Front Cell Neurosci.* 2011 Jun 17;5:8. doi: 10.3389/fncel.2011.00008.

Dendrimer-based fluorescent indicators: in vitro and in vivo applications. Albertazzi L, Brondi M, Pavan GM, Sato SS, Signore G, Storti B, Ratto GM, Beltram F. *PLoS One.* 2011;6(12):e28450. doi: 10.1371/journal.pone.0028450. Epub 2011 Dec 7.

An excitatory loop with astrocytes contributes to drive neurons to seizure threshold. Gómez-Gonzalo M, Losi G, Chiavegato A, Zonta M, Cammarota M, Brondi M, Vetri F, Uva L, Pozzan T, de Curtis M, Ratto GM, Carmignoto G. *PLoS Biol.* 2010 Apr 13;8(4):e1000352. doi: 10.1371/journal.pbio.1000352.