



AL MAGNIFICO RETTORE  
DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

COD. ID: 5117

Il sottoscritto chiede di essere ammesso a partecipare alla selezione pubblica, per titoli ed esami, per il conferimento di un assegno di ricerca presso il Dipartimento di \_\_\_\_\_

Oncologia ed Emato-Oncologia

Responsabile scientifico: Prof.ssa Sara Lucia Giustina Sigismund

[Stefano Freddi]

## CURRICULUM VITAE

### INFORMAZIONI PERSONALI

Cognome	Freddi
Nome	Stefano

### OCCUPAZIONE ATTUALE

Incarico	Struttura
Tecnico	Istituto Europeo di Oncologia

### ISTRUZIONE E FORMAZIONE

Titolo	Corso di studi	Università	anno conseguimento titolo
Laurea Magistrale o equivalente	Fisica	Università degli Studi di Milano-Bicocca	2008
Specializzazione			
Dottorato Di Ricerca	Fisica	Università degli Studi di Milano-Bicocca	2012
Master			
Diploma Di Specializzazione Medica			
Diploma Di Specializzazione Europea			
Altro			



## ISCRIZIONE AD ORDINI PROFESSIONALI

Data iscrizione	Ordine	Città

## LINGUE STRANIERE CONOSCIUTE

lingue	livello di conoscenza
Inglese	Buono - C1

## PREMI, RICONOSCIMENTI E BORSE DI STUDIO

anno	Descrizione premio

## ATTIVITÀ DI FORMAZIONE O DI RICERCA

Dal 2006 al 2008 durante la mia tesi specialistica presso l'Università di Milano-Bicocca, mi sono occupato di studiare le proprietà spettroscopiche, elettriche e morfologiche di complessi metallo-organici. Utilizzando tecniche di Scanning Probe Microscopy (SPM) quali AFM (Atomic Force Microscopy), SEM (Scanning Electron Microscopy) e EFM (Electrostatic Force Microscopy) ho analizzato la struttura e le proprietà morfologiche di nanoparticelle adese su substrati funzionalizzati con ammino o mercaptosilani.

Durante i 3 anni di dottorato (2009-2012), presso l'Università di Milano-Bicocca (dipartimento di Fisica G. Occhialini) sotto la direzione della Prof.ssa Maddalena Collini e del Prof. Giuseppe Chirico, ho proseguito lo studio sulle nanoparticelle metalliche iniziato in tesi, valutando possibili applicazioni biomediche attraverso tecniche di microscopia e spettroscopia di fluorescenza. Lo scopo della prima parte del progetto di ricerca è stato studiare i cambiamenti nel tempo di vita di fluorescenza e brillantezza di un fluoroforo indotto dall'interazione con una nanoparticella d'oro per misurare piccole quantità di proteine in soluzione (dell'ordine del picomolare) in condizioni fisiologiche (ref. 16,17,18). La seconda parte del progetto è stata focalizzata sullo studio di nanoparticelle d'oro anisotrope (NR, ref. 12,13,15), utilizzando diverse tecniche di microscopia confocale ed elettronica sono riuscito ad ottenere una loro completa caratterizzazione spettroscopica e strutturale (forma e dimensioni, stato di aggregazione, tossicità). Infine nell'ultimo anno di dottorato mi sono concentrato sullo studio dell'innalzamento termico locale di nanoparticelle metalliche al fine di una futura applicazione nell'ambito della terapia termica dei tumori. In particolare abbiamo valutato e confrontato le proprietà di innalzamento termico locale e globale di NR d'oro e nanoparticelle magnetiche (ref. 10).

Nell'anno successivo ho proseguito la caratterizzazione ottica e termica di nanoparticelle metalliche, attraverso l'utilizzo di sorgenti infrarosse e radiofrequenze al fine di un loro utilizzo in abito farmacologico e antimicrobico (ref. 9).



Dal 2013 al 2019 ho lavorato come tecnico responsabile *imaging* e *facs-sorting* all'interno del programma di Medicina Molecolare all'Istituto Europeo di Oncologia sotto la direzione del Prof. Pier Paolo Di Fiore e del Prof. Salvatore Pece. Durante questi anni mi sono occupato dello sviluppo e della manutenzione di sistemi di microscopia *widefield* e confocale, organizzando corsi di formazione per gli utenti e sessioni di *imaging* assistite. Attraverso l'utilizzo di *software* come ImageJ e Matlab ho sviluppato diversi algoritmi per l'analisi di immagini di microscopia, soprattutto nell'ambito di *time lapse*, *wound healing*, conte di sferoidi in 3D, e studi di colocalizzazione ed internalizzazione di proteine. Ho contribuito in modo particolare allo studio della segregazione simmetrica/asimmetrica della proteina Numb durante la divisione cellulare in linee umane immortalizzate o primarie murine, sviluppando nuovi protocolli per l'analisi automatizzata di immagini di fluorescenza.

Nel corso di questi anni, ho ampliato le mie conoscenze acquisendo competenze in microscopia a super risoluzione e citofluorimetria a flusso. In particolare, all'interno del progetto di ricerca riguardante il ruolo della proteina NCAM1 nello sviluppo di tumori alla prostata, ho isolato sottopopolazioni di cellule staminali da linee cellulari e da cellule primarie di pazienti, attraverso analisi bi o tri-parametriche con differenti marcatori cellulari. Le stesse tecniche di *imaging* e citofluorimetria a flusso mi hanno permesso di isolare cellule staminali normali e tumorali di mammella, modello cellulare in cui abbiamo validato il ruolo biologico del miRNA-146 nel mantenimento della staminalità e tumorigenesi, in collaborazione con il Dott. Francesco Nicassio (ref. 2).

Inoltre, le mie competenze nella citofluorimetria a flusso sono state applicate in un progetto collaborativo con il Dott. Ugo Cavallaro, nella valutazione del ruolo della proteina di adesione L1CAM nei processi di proliferazione, tumorigenesi e *self-renewal* delle cellule staminali di carcinoma ovarico. Tramite *sorting* di cellule primarie trasdotte per sovraesprimere la proteina L1CAM, abbiamo studiato il ruolo di L1CAM come determinante molecolare di cellule staminali, attraverso esperimenti di *limiting dilution in vitro* ed in *in vivo* (ref. 1,6,7).

Infine, tramite tecniche di immunisto chimica su multipli marcatori, ho elaborato un algoritmo per studiare l'evoluzione da carcinoma mammario *in situ* ad invasivo in un modello tumorale di trapianti di tumori umani in topi immunocompromessi. Questo algoritmo è stato utilizzato per caratterizzare il ruolo *in vivo* della proteina EPN3 nel processo di metastatizzazione, sotto la diretta supervisione della Prof. Sara Sigismund e del Prof. Pier Paolo Di Fiore, tramite quantificazione automatica delle aree invasive sulla base dei livelli di espressione di p63 e SMA (ref. 4).

Dal 2019 ad oggi, entrando a far parte del Programma "Novel Diagnostics" diretto dal Prof. Pier Paolo Di Fiore, ho acquisito competenze nell'ambito dell'analisi biostatistica, in modo particolare nella generazione di curve di sopravvivenza e analisi di contingenza. Utilizzando il software R ho creato codici per l'analisi di dati PCR e di immunisto chimica generati dallo *screening* di coorti di pazienti. In particolare, abbiamo elaborato una firma molecolare di 20 geni staminali in una coorte prospettica retrospettiva di 2.453 pazienti con carcinoma mammario, capace di predire in maniera più accurata la prognosi di pazienti con tumore mammario triplo negativo e luminale, indipendentemente dai parametri clinicopatologici *standard*.

Attraverso studi funzionali in singoli tumori, abbiamo correlato il punteggio di rischio assegnato dalla firma molecolare con il potenziale proliferativo e di autorinnovamento della popolazione di cellule staminali tumorali. Riquilificando la firma di 20 geni nei pazienti *Luminal*, abbiamo derivato il modello di rischio, *StemPrintER*, che prevede la ricorrenza precoce e tardiva di metastasi indipendentemente dai fattori prognostici *standard*. Attualmente, stiamo validando



questa firma molecolare su una coorte esterna di pazienti, in modo da poterne confermare la validità in modo ancora più accurato.

Infine, dal 2020 ad oggi, mi sto specializzando nello studio ed analisi delle oscillazioni di onde calcio a livello della membrana cellulare e nei mitocondri indotte da stimoli proliferativi, come l'induzione con EGF (*Epidermal Growth Factor*), attraverso l'utilizzo di sonde fluorescenti come *GCamp* e *MitoTracker*. In particolare, ci siamo soffermati sullo studio di variazioni morfologiche, riarrangiamento cellulare e variazioni del potenziale di membrana degli stessi mitocondri al fine di valutare un possibile coinvolgimento del recettore dell'EGF nel metabolismo mitocondriale.

## ATTIVITÀ PROGETTUALE

Anno	Progetto
2006-2008	Tesi Specialistica, Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Fisica G. Occhialini. "Studio di Sistemi Ibridi Metallo-Organico in Spettroscopia di Fluorescenza" Relatore: Prof. Chirico Giuseppe/Prof. D'Alfonso Laura
2009-2012	Dottorato di Ricerca, Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Fisica G. Occhialini. "Gold Nanorods Characterization for Nanomedical Applications" Tutore: Prof. Collini Maddalena/Prof. Chirico Giuseppe
2012-2013	Borsa post-dottorato, Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Fisica G. Occhialini. "Characterization of nanoparticles for antimicrobial, pharmacological and thermal action activated by near infrared radiation and/or radio frequency radiation." Coordinatore: Prof. Chirico Giuseppe
2013-2019	Tecnico, Istituto Europeo di Oncologia, Molecular Medicine Program. Manutenzione e sviluppo dei sistemi di microscopia. Sviluppo di algoritmi per analisi di immagini. Corso di formazione per l'utilizzo di microscopi. Modellizzazione matematica di modelli biologici. Servizio di <i>facs-sorting</i> . Supervisore: Prof. Pier Paolo Di Fiore/Prof. Salvatore Pece
2019-2021	Tecnico, Istituto Europeo di Oncologia, Novel Diagnostics Program. Manutenzione e sviluppo dei sistemi di microscopia. Sviluppo di algoritmi per analisi di immagini. Corso di formazione per l'utilizzo di microscopi. Modellizzazione matematica di modelli biologici. Servizio di <i>facs-sorting</i> . Analisi biostatistica di dati clinici. Supervisore: Prof. Pier Paolo Di Fiore

## TITOLARITÀ DI BREVETTI

Brevetto



## CONGRESSI, CONVEGNI E SEMINARI

Data	Titolo	Sede
Sept. 2019	ABCD Congress	Bologna
Mar. 2012	Prophet Workshop. Theory and Modelling in Photonics	Pavia, Italia
Jan. 2012	XVI School of Pure and Applied Biophysics. Multimodal methods for cell imaging and Tracking	Venezia, Italia
June 2011	NanoBio Europe	Cork, Ireland
Sept. 2010	XX Congresso Nazionale Società Italiana di Biofisica Pura e Applicata	Arcidosso, Italia
June 2010	NanoBio Europe	Munster, Germany
Jan. 2010	Alp Nano Bio International School	Vipiteno, Italia
Sept. 2009	International School on Advanced Materials Science and Technology	Jesi, Italia

## PUBBLICAZIONI

Libri
[titolo, città, editore, anno...]

Articoli su riviste
1)Giordano M, Decio A, Battistini C, Baronio M, Bianchi F, Villa A, Bertalot G, <b>Freddi S</b> , Lupia M, Jodice MG, Ubezio P, Colombo N, Giavazzi R, Cavallaro U. L1CAM promotes ovarian cancer stemness and tumor initiation via FGFR1/SRC/STAT3 signaling. J Exp Clin Cancer Res. 2021 Oct 13;40(1):319. doi:10.1186/s13046-021-02117-z. PMID: 34645505; PMCID: PMC8513260.
2)Tordonato C, Marzi MJ, Giangreco G, <b>Freddi S</b> , Bonetti P, Tosoni D, Di Fiore PP, Nicassio F. miR-146 connects stem cell identity with metabolism and pharmacological resistance in breast cancer. J Cell Biol. 2021 May 3;220(5):e202009053. doi: 10.1083/jcb.202009053. PMID: 33819341; PMCID:PMC8025236.
3) Gammella E, Lomoriello IS, Conte A, <b>Freddi S</b> , Alberghini A, Poli M, Sigismund S, Cairo G, Recalcati S. Unconventional endocytosis and trafficking of transferrin receptor induced by iron. Mol Biol Cell. 2021 Jan 15;32(2):98-108.doi: 10.1091/mbc.E20-02-0129. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33236955; PMCID:PMC8120689.



- 4) Schiano Lomoriello I, Giangreco G, Iavarone C, Tordonato C, Caldieri G, Serio G, Confalonieri S, **Freddi S**, Bianchi F, Pirroni S, Bertalot G, Viale G, Disalvatore D, Tosoni D, Malabarba MG, Disanza A, Scita G, Pece S, Pilcher BK, Vecchi M, Sigismund S, Di Fiore PP.  
A self-sustaining endocytic-based loop promotes breast cancer plasticity leading to aggressiveness and pro-metastatic behavior.  
Nat Commun. 2020 Jun 15;11(1):3020. doi: 10.1038/s41467-020-16836-y.  
PMID: 32541686; PMCID: PMC7296024.
- 5) Pascolutti R, Algisi V, Conte A, Raimondi A, Pasham M, Upadhyayula S, Gaudin R, Maritzen T, Barbieri E, Caldieri G, Tordonato C, Confalonieri S, **Freddi S**, Malabarba MG, Maspero E, Polo S, Tacchetti C, Hauke V, Kirchhausen T, Di Fiore PP, Sigismund S.  
Molecularly Distinct Clathrin-Coated Pits Differentially Impact EGFR Fate and Signaling.  
Cell Rep. 2019 Jun 4;27(10):3049-3061.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2019.05.017. PMID: 31167147; PMCID: PMC6581797.
- 6) Angiolini F, Belloni E, Giordano M, Campioni M, Forneris F, Paronetto MP, Lupia M, Brandas C, Pradella D, Di Matteo A, Giampietro C, Jodice G, Luise C, Bertalot G, **Freddi S**, Malinverno M, Irimia M, Moulton JD, Summerton J, Chiapparino A, Ghilardi C, Giavazzi R, Nyqvist D, Gabellini D, Dejana E, Cavallaro U, Ghigna C.  
A novel L1CAM isoform with angiogenic activity generated by NOVA2-mediated alternative splicing. Elife. 2019 Mar 4;8:e44305. doi: 10.7554/eLife.44305. PMID: 30829570; PMCID: PMC6398979.
- 7) Giordano M, Villa A, Bertalot G, Bianchi F, **Freddi S**, Cavallaro U.  
Ovarian cancer stemness is driven by a novel L1/Stat3/Src axis.  
Cancer Research. 2019 Jul. 79(13).  
DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS18-3678.
- 8) Lupia M, Angiolini F, Bertalot G, **Freddi S**, Sachsenmeier KF, Chisci E, Kutryb-Zajac B, Confalonieri S, Smolenski RT, Giovannoni R, Colombo N, Bianchi F, Cavallaro U.  
CD73 Regulates Stemness and Epithelial-Mesenchymal Transition in Ovarian Cancer-Initiating Cells. Stem Cell Reports. 2018 Apr 10;10(4):1412-1425. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.02.009. Epub 2018 Mar 15. PMID: 29551673; PMCID: PMC5998305.
- 9) Bacchetta R, Moschini E, Santo N, Fascio U, Del Giacco L, **Freddi S**, Camatini M, Mantecca P.  
Evidence and uptake routes for Zinc oxide nanoparticles through the gastrointestinal barrier in *Xenopus laevis*. Nanotoxicology. 2014 Nov;8(7):728-44. doi: 10.3109/17435390.2013.824128. Epub 2013 Aug 6. PMID: 23848496.
- 10) **Freddi S**, Sironi L, D'Antuono R, Morone D, Donà A, Cabrini E, D'Alfonso L, Collini M, Pallavicini P, Baldi G, Maggioni D, Chirico G.  
A molecular thermometer for nanoparticles for optical hyperthermia. Nano Lett. 2013 May 8;13(5):2004-10. doi: 10.1021/nl400129v. Epub 2013 Apr 26. PMID: 23611425.
- 11) Pozzi P, Rossetti L, Sironi L, **Freddi S**, D'Alfonso L, Caccia M, Bouzin M, Collini M, Chirico G.  
Structured Illumination Fluorescence Correlation Spectroscopy for Velocimetry in Zebrafish Embryos.  
Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. 2013 Feb. 8580(85800V)  
DOI: 10.1117/12.2002082.
- 12) Sironi L, **Freddi S**, Caccia M, Pozzi P, Rossetti L, Pallavicini P, Dona A, Cabrini E, Gualtieri M, Rivolta I, Panariti A, D'Alfonso L, Collini M, Chirico G.  
Gold Branched Nanoparticles for Cellular Treatments.  
The Journal of Physical Chemistry C. 2012 Aug 116(34) 18407-18418.  
DOI: 10.1021/JP305021K.
- 13) Bacchetta R, Santo N, Fascio U, Moschini E, **Freddi S**, Chirico G, Camatini M, Mantecca P.  
Nano-sized CuO, TiO<sub>2</sub> and ZnO affect *Xenopus laevis* development.  
Nanotoxicology. 2012 Jun;6(4):381-98. doi: 10.3109/17435390.2011.579634. Epub 2011 May 16. PMID: 21574813.
- 14) Sironi L, Caccia M, Gritti N, Gorletta T, Zanoni I, Salvetti C, Pozzi S, **Freddi S**, Daglio S, Villa CE, Collini M, D'Alfonso L, Granucci F, Chirico G.



Natural killer cells fate at the draining lymph nodes: a physical portrait of the biological contest. European Biophysics Journal. 2011 Aug. 40 (129-129).
15) Pallavicini P, Chirico G, Collini M, Dacarro G, Donà A, D'Alfonso L, Falqui A, Diaz-Fernandez Y, <b>Freddi S</b> , Garofalo B, Genovese A, Sironi L, Taglietti A. Synthesis of branched Au nanoparticles with tunable near-infrared LSPR using a zwitterionic surfactant. Chem Commun (Camb). 2011 Jan 28;47(4):1315-7. doi: 10.1039/c0cc02682d. Epub 2010 Nov 16. PMID: 21082071.
16) Sironi L, <b>Freddi S</b> , D'Alfonso L, Collini M, Gorletta T, Soddu S, Chirico G. In-vitro and In-vivo Detection of p53 by Fluorescence Lifetime on a Hybrid FITC-Gold Nanosensor. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. 2010 Feb. 7574 (757403) DOI: 10.1117/12.841094.
17) Sironi L, <b>Freddi S</b> , D'Alfonso L, Collini M, Gorletta T, Soddu S, Chirico G. P53 detection by fluorescence lifetime on a hybrid fluorescein isothiocyanate gold nanosensor. J Biomed Nanotechnol. 2009 Dec;5(6):683-91. doi:10.1166/jbn.2009.1085. PMID: 20201230.
18) <b>Freddi S</b> , D'Alfonso L, Collini M, Caccia M, Sironi L, Tallarida G, Caprioli S, Chirico G. Excited-State Lifetime Assay for Protein Detection on Gold Colloids-Fluorophore Complexes. The Journal of Physical Chemistry C. 2009 Feb. 113(7) 2722-2730 DOI: 10.1021/JP8095264.

<b>Atti di convegni</b>
SC-RNASeq reveals a unique sub-population of NCAM1+ prostate cancer cells with functional stem traits. Enable Life Science Symposium, Italy, May 2021
NCAM1 identifies a subpopulation of cancer-stem cells that predicts poor prognosis and mediates therapy resistance in prostate cancer. ABCD Congress, Bologna, Italia, Sept. 2019
Identification and clinical validation of a multigene assay that interrogates the biology of cancer stem cells and predicts metastasis in breast cancer: A retrospective consecutive study. ABCD Congress, Bologna, Italia, Sept. 2019
A miRNAs family involved in breast normal and cancer stem cells connects cellular metabolism with pharmacological resistanc. Poster 76, Aegean Conference, Crete, June 2019
Natural Killer cells fate at the Draining Lymph Nodes: a Physical Portrait of the Biological Contest. European Biophysics Congress, Budapest, Hungary, Aug. 2011
Nanothermometer for photothermal therapy based on gold nanorods. NanoBio Europe 2011, Cork, Ireland, June 2011
Two Photon Luminescence Imaging by gold branched nanoparticles. SIBPA, Arcidosso, Italy, Sept. 2010
Protein detection by fluorescence lifetime on gold colloids-fluorophore complexes. NanoBio Europe 2010, Munster, Germany, June 2010
Gold branched nanoparticles for TPL imaging. NanoBio Europe 2010, Munster, Germany, June 2010
Gold Colloids-Fluorophore Complexes as Protein-Protein Recognition Assays. Nanotech Northern Europe, Copenhagen, Denmark, Sept. 2008

## ALTRE INFORMAZIONI

--



Le dichiarazioni rese nel presente curriculum sono da ritenersi rilasciate ai sensi degli artt. 46 e 47 del DPR n. 445/2000.

Il presente curriculum, non contiene dati sensibili e dati giudiziari di cui all'art. 4, comma 1, lettere d) ed e) del D.Lgs. 30.6.2003 n. 196.

**RICORDIAMO** che i curricula **SARANNO RESI PUBBLICI sul sito di Ateneo** e pertanto si prega di non inserire dati sensibili e personali. Il presente modello è già precostruito per soddisfare la necessità di pubblicazione senza dati sensibili.

Si prega pertanto di **NON FIRMARE** il presente modello.

Luogo e data: Milano, 25/11/2021