

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

selezione pubblica per n. __1__ posto/i di Ricercatore a tempo determinato ai sensi dell'art.24, comma 3, lettera a) della Legge 240/2010 per il settore concorsuale 05/F1, settore scientifico-disciplinare BIO/13 - Biologia Applicata presso il Dipartimento di _ ONCOLOGIA ED EMATO-ONCOLOGIA (avviso bando pubblicato sulla G.U. n. 19 del 8.03.2022) Codice concorso 4971

Chiara Tordonato

CURRICULUM VITAE

(N.B. IL CURRICULUM NON DEVE ECCEDERE LE 30 PAGINE E DEVE CONTENERE GLI ELEMENTI CHE IL CANDIDATO RITIENE UTILI AI FINI DELLA VALUTAZIONE.

LE VOCI INSERITE NEL FACSIMILE SONO A TITOLO PURAMENTE ESEMPLIFICATIVO E POSSONO ESSERE SOSTITUITE, MODIFICATE O INTEGRATE)

INFORMAZIONI PERSONALI (NON INSERIRE INDIRIZZO PRIVATO E TELEFONO FISSO O CELLULARE)

COGNOME	TORDONATO
NOME	CHIARA
DATA DI NASCITA	[10/04/1986]

TITOLI

TITOLO DI STUDIO

(indicare la Laurea conseguita inserendo titolo, Ateneo, data di conseguimento, ecc.)

15/07/2010 - Laurea Magistrale in Biotecnologie Farmaceutiche (classe 9/S), Alma Mater Studiorum, Università di Bologna. Titolo della tesi: "Characterization of microRNAs involved in control of proliferation and differentiation in MCF10A breast cells".

TITOLO DI DOTTORE DI RICERCA O EQUIVALENTI, OVVERO, PER I SETTORI INTERESSATI, DEL DIPLOMA DI SPECIALIZZAZIONE MEDICA O EQUIVALENTE, CONSEGUITO IN ITALIA O ALL'ESTERO

(inserire titolo, ente, data di conseguimento, ecc.)

18/03/2015 - Dottorato Di Ricerca in Molecular Oncology and Human Genetics, European School in Molecular Medicine (SEMM) ed Università degli Studi di Milano. Titolo della tesi: "A novel microRNAs Family as molecular determinants in mammary stem cells".

CONTRATTI DI RICERCA, ASSEGNI DI RICERCA O EQUIVALENTI

(per ciascun contratto stipulato, inserire università/ente, data di inizio e fine, ecc.)

01/01/2019 - 31/12/2019: Assegnista di ricerca di tipo B, Università degli Studi di Milano.
Progetto: "Ruolo di EPN3 nel processo di invasione cellulare e di metastasi e possibile cooperazione con l'oncogene HER2". Supervisor: Prof.ssa Sara Sigismund/ Prof. PP. Di Fiore

01/07/2020 al 31/12/2021: Assegnista di ricerca di tipo B, Università degli Studi di Milano.
Progetto: "Studio del recettore dell'EGF nella regolazione del metabolismo mitocondriale: ruolo fisiologico e possibile alterazione in cancro". Supervisor: Prof.ssa Sara Sigismund/ Prof. PP. Di Fiore

ATTIVITÀ DIDATTICA A LIVELLO UNIVERSITARIO IN ITALIA O ALL'ESTERO

(inserire anno accademico, ateneo, corso laurea, numero ore, ecc.)

03/11/2021 - Lezione frontale: "In vivo Tumorigenic and Metastatic Assays", insegnamento Experimental Design, Corso di Laurea in Biomedical Omics, Università degli Studi di Milano

DOCUMENTATA ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE SCIENTIFICA PRESSO ISTITUTI SCOLASTICI ITALIANI;

(inserire anno accademico, ente, corso, periodo, ecc.)

15/03/2017: AIRC, Incontro con la Ricerca, Istituto Comprensivo "G. Borsi", Milano
26/11/2018: Fondazione Cariplo, Scienziato per un giorno, Liceo Agnesi, Milano
31/03/2022: Fondazione Umberto Veronesi, Ricercatori in Classe 2022, Liceo Scientifico "Leonardo Da Vinci", Milano

REALIZZAZIONE DI ATTIVITÀ PROGETTUALE

(indicare, data, progetto, ecc.)

Anno	Progetto
2009-2010	Studente di tesi specialistica, Istituto FIRC di Oncologia Molecolare (IFOM), Milano: "Characterization of microRNAs involved in the control of proliferation and differentiation of MCF10A breast cells". Supervisor: Dott. Francesco Nicassio / Prof. Pier Paolo Di Fiore
2010-2011	Borsa pre-dottorato, IFOM, Milano: "Isolation of microRNAs from blood of mutated K-RAS mouse model to identify novel biomarkers for lung tumor detection". Supervisor: Dott. Francesco Nicassio / Prof. Pier Paolo Di Fiore
2011-2015	Dottorato di ricerca, Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano: "A novel microRNAs family as molecular determinants in mammary stem cells". Supervisor: Dott. Francesco Nicassio / Prof. Pier Paolo Di Fiore
2016-2018	Borsa post-dottorato, IFOM/IEO, Milano: "Impact of microRNAs modulation on folate metabolism and resistance to antifolate treatment of mammary normal and cancer cells". Supervisor: Prof. Pier Paolo Di Fiore
2019	Assegno di ricerca B, Università degli Studi di Milano: "Ruolo di EPN3 nel processo di invasione cellulare e di metastasi e possibile cooperazione con l'oncogene HER2". Supervisor: Prof.ssa Sara Sigismund/ Prof. Pier Paolo Di Fiore
2020-2021	Assegno di ricerca B, Università degli Studi di Milano: "Studio del recettore dell'EGF nella regolazione del metabolismo mitocondriale: ruolo fisiologico e possibile alterazione in cancro". Supervisor: Prof.ssa Sara Sigismund/ Prof. Pier Paolo Di Fiore
2022-today	Borsa Fondazione Umberto Veronesi, presso IEO Milano: "A biobank of patient-derived organoids to study endocytic plasticity in breast cancer". Supervisor: Prof.ssa Sara Sigismund/ Prof. Pier Paolo Di Fiore

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE O DI RICERCA

Dal 2009 al 2010, anno di conseguimento della mia laurea specialistica, ho lavorato come tesista presso il laboratorio del Prof. Pier Paolo Di Fiore, sotto la supervisione del Dott. Francesco Nicassio, avvicinandomi al mondo dei non-coding RNAs come regolatori del ciclo cellulare utilizzando come modello di studio una linea di cellule normali mammarie. In parallelo, ho isolato microRNAs circolanti da sangue prelevato da un modello murino di tumore polmonare K-Ras mutato, con lo scopo di identificare potenziali marcatori per la diagnosi precoce di tumore al polmone, ciò mi ha permesso di apprendere le tecniche di sperimentazione *in vivo* con modelli murini transgenici.

Dal 2011, nel medesimo laboratorio, ho svolto il dottorato di ricerca con il programma di PhD internazionale della SEMM ed Università degli Studi di Milano. Durante questi 4 anni, ho approfondito estensivamente il ruolo dei non-coding RNAs nella regolazione di *pathways* critici per la determinazione dello stato staminale. La prima parte del dottorato si è focalizzata sull'isolamento di cellule staminali (CS) mammarie normali e tumorali da campioni primari umani provenienti dall'ospedale IEO, o da cellule primarie murine. Ciò mi ha permesso di sviluppare tecniche di biologia cellulare avanzata, quali stabilizzazione in coltura di campioni primari, colture di organoidi in 3D, isolamento di CS tramite marcatori di superficie o *labelling-dye*, coltura di mammosfere e FACS-sorting di popolazioni estremamente rare, da cui poter ricavare l'intero trascrittoma di non-coding RNAs, anche in condizione di un numero di cellule estremamente limitato (<50 cellule). Una volta identificati i miRNAs candidati, coinvolti nella determinazione dello stato staminale, mi sono focalizzata sulla validazione biologica della famiglia del miR-146, ampliando le mie conoscenze di biologia molecolare e cellulare ma soprattutto di tecniche *in vivo*, tramite iniezioni ortotopiche in mammella di linee cellulari a diluizione seriale, stabilizzazione *in vitro* di xenotrapianti derivati da tumori primari isolati da paziente, successivo isolamento della massa tumorale con purificazione da contaminanti murini ed iniezioni intra-capezzolo in animali immunocompromessi per saggiare il numero di TIC (*tumor initiating cells*) *in vivo*.

Dal 2016 al 2018, grazie al finanziamento della borsa Triennale FIRC sotto la supervisione del Prof. Pier Paolo Di Fiore, ho ulteriormente caratterizzato il miR-146 nel suo ruolo di modulatore del ciclo del folato e fattore predisponente alla resistenza farmacologica alla terapia con antifolati in CS del tumore alla mammella. Ho validato vari geni come *target* diretti del miR-146 (a livello proteico, trascrizionale e metabolico) ed ho ampliato le mie conoscenze di trattamenti chemoterapici *in vivo* ed *in vitro*, su linee cellulari o xenotrapianti derivati da pazienti, in adesione o in organoidi. Contemporaneamente, ho collaborato con il laboratorio del Dott. Francesco Nicassio, su un progetto basato sull'isolamento, tramite RNA-seq e *single-cell RNA sequencing*, di *long non-coding* RNAs come modulatori epigenetici dello stato staminale in mammella normale e tumorale e loro successiva validazione biologica, progetto attualmente ancora in svolgimento.

Nel 2019, sotto la supervisione della Prof.ssa Sara Sigismund e del Prof. Pier Paolo Di Fiore, ho attivamente caratterizzato il ruolo *in vivo* della proteina EPN3 nel processo di invasione cellulare nel tumore mammario. In dettaglio, tramite iniezione ortotopica in mammella di una linea cellulare tumorale (MCF10.DCIS) che spontaneamente converte da carcinoma duttale in situ (IDC) a invasivo (IBC), abbiamo dimostrato che EPN3 partecipa nella conversione tra IDC a IBC, probabilmente grazie alla sua abilità di favorire una transizione epitelio-mesenchimale parziale. A supporto di ciò, alti livelli di EPN3 sono stati individuati nel fronte invasivo di tumori alla mammella primari umani, provenienti da una coorte di pazienti disponibile presso l'ospedale IEO. Infine, attraverso colture 3D di organoidi di mammella derivati da topi transgenici overesprimenti EPN3 (EPN3 KI), abbiamo dimostrato che la sovraespressione di EPN3 è in grado di modificare la morfologia degli organoidi, con perdita di espressione di marcatori epiteliali, acquisizione di marcatori mesenchimali e fenotipo più invasivo, validando il coinvolgimento di EPN3 nel processo di invasione/plasticità cellulare anche in contesto fisiologico.

Da Dicembre 2019 a Giugno 2020, ho interrotto temporaneamente la ricerca scientifica per maternità, cui è seguito a Luglio 2020 l'inizio di un nuovo assegno di ricerca, il cui progetto ha lo scopo di valutare il ruolo dell'endocitosi clatrina-indipendente (NCE) del recettore dell'EGF nella risposta fisiologica in differenti contesti cellulari, sotto la supervisione della Prof.ssa Sara Sigismund e del Prof. Pier Paolo Di Fiore. Sfruttando la mia estensiva esperienza di utilizzo dei modelli murini e di colture di organoidi in 3D, ed essendo nota la dipendenza degli organoidi dal *signalling* dell'EGFR per la loro crescita, abbiamo valutato l'impatto dell'EGFR-NCE in tre differenti sistemi modello: 1) organoidi derivati da cellule umane di mammella non trasformate (MCF10A) 2) organoidi derivanti da cellule mammarie primarie derivate da topi normali 3) organoidi derivanti da cripte intestinali isolate da topi normali. Tramite silenziamento di geni coinvolti nell'EGFR-NCE (quali RTN3, PLCG1 and PLCG2) o trattamento farmacologico con inibitori dell'EGFR-NCE (quali PPMP o Xestospongina) abbiamo misurato l'impatto dell'EGFR-NCE sulla crescita e morfologia degli organoidi o sul differenziamento dei vari sottotipi cellulari. Abbiamo inoltre analizzato l'internalizzazione tramite immunofluorescenza (IF) della proteina cargo dell'NCE, CD147, e del recettore EGFR nella sua forma fosforilata o non modificata.

Infine, da luglio 2021 sino ad oggi, dato il crescente interesse nell'utilizzo di organoidi quale ideale modello di studio preclinico, ho dedicato un sforzo estensivo nella generazione e messa a punto di una biobanca di organoidi (PDOs) derivanti da biopsie di pazienti con tumore alla mammella, operati tra il 2010-2011 presso l'ospedale IEO. Ad oggi abbiamo generato ~20 PDOs, caratterizzati per: 1) mantenimento delle caratteristiche istopatologiche del tumore primario, mediante IF/qPCR; 2) corretta identità genetica del tumore primario e PDO derivato, mediante *whole exome sequencing*. Stiamo ora analizzando questi PDOs mediante: 1) *bulk RNAseq*, per studiare il trascrittoma di PDOs derivanti da diversi tipi tumorali (tumori basali/tripli negativi, luminali o HER2 amplificati) ed individuare i geni responsabili di un'alterata endocitosi possibilmente correlabili con la prognosi, e 2) *sc-RNAseq*, per valutare se tali geni possano influenzare un determinato sottotipo cellulare (progenitori luminali/basali, staminali o cellule differenziate) in PDOs selezionati *ad hoc*. Scopo finale del progetto sarà quello di individuare una serie di geni candidati (tra cui geni dell'EGFR-NCE) la cui modulazione (per silenziamento o overespressione) possa portare ad alterazioni di: 1) proliferazione/ morfologia dei PDOs; 2) composizione dei PDOs in termini di progenitori luminali/basali, staminali o cellule differenziate; 3) migrazione ed invasività; 4) risposta a trattamenti farmacologici (anticorpi anti-EGFR e/o inibitori dell'EGFR-NCE).

Il lavoro sinora svolto oltre ad ampliare fortemente la mia manualità tecnica *in vitro* ed *in vivo*, mi ha permesso di maturare una consistente esperienza nella pianificazione, esecuzione e analisi critica degli esperimenti. Ho sviluppato anche ottime capacità di "*problem solving*", *team working* e gestione del tempo sperimentale, anche in presenza di plurimi progetti. Tramite seminari, presentazioni a congressi e giornate di divulgazione scientifica ad un pubblico non scientifico, ho maturato buone doti comunicative. Infine, durante questi anni ho avuto modo di partecipare attivamente alla stesura di progetti di ricerca per applicare a borse di studio.

ORGANIZZAZIONE, DIREZIONE E COORDINAMENTO DI GRUPPI DI RICERCA NAZIONALI E INTERNAZIONALI, O PARTECIPAZIONE AGLI STESSI

(per ciascuna voce inserire anno, ruolo, gruppo di ricerca, ecc.)

--

TITOLARITÀ DI BREVETTI

(per ciascun brevetto, inserire autori, titolo, tipologia, numero brevetto, ecc.)

--

PARTECIPAZIONE A CONGRESSI E CONVEGNI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

(inserire titolo congresso/convegno, data, ecc.)

Data	Titolo	Sede
19-22 Ottobre 2011	53rd Annual Meeting of the Italian Cancer Society: Back to the future - Translating cancer research from bedside to bench and back	Torino
20-25 Gennaio 2013	Keystone Symposium in Noncoding RNAs in development and Cancer	Vancouver
29-31 Marzo 2015	EMBO/EMBL Symposium in Frontiers in Stem Cells and Cancer	Heidelberg
14-19 Giugno 2017	Aegean Conference - The Long and the Short of Non-Coding RNAs	Creta
18-23 Giugno 2019	Aegean Conference - The Long and the Short of Non-Coding RNAs	Creta

CONSEGUIMENTO DI PREMI E RICONOSCIMENTI NAZIONALI E INTERNAZIONALI PER ATTIVITÀ DI RICERCA
(inserire premio, data, ente organizzatore, ecc.)

anno	Descrizione premio
2021	Vincitore di una borsa di studio "Post Doctoral Fellowship-Anno 2022", Fondazione Umberto Veronesi
2019	Vincitore premio per "best poster presentation", Aegean Conference - The Long and the Short of Non-Coding RNAs
2017	Vincitore premio per "best poster presentation", Aegean Conference - The Long and the Short of Non-Coding RNAs
2016	Vincitore di una borsa di studio triennale FIRC "Livia Perotti" (Codice Rif. 18224)
2015	Selezionata per "short talk presentation", EMBO/EMBL Symposium in "Frontiers in Stem Cells and Cancer"

POSSESSO DEL DIPLOMA DI SPECIALIZZAZIONE EUROPEA RICONOSCIUTO DA BOARD INTERNAZIONALI
(relativamente a quei settori concorsuali nei quali è prevista)
(indicare diploma, data di conseguimento, ecc.)

--

TITOLI DI CUI ALL'ARTICOLO 24 COMMA 3 LETTERA A) E B) DELLA LEGGE 30 DICEMBRE 2010, N. 240
(indicare se contratto di tipologia A o B, Ateneo, data di decorrenza e fine contratto, ecc.)

--

PRODUZIONE SCIENTIFICA

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE

(per ciascuna pubblicazione indicare: nomi degli autori, titolo completo, casa editrice, data e luogo di pubblicazione, codice ISBN, ISSN, DOI o altro equivalente)

1. **Tordonato C**, Marzi MJ, Di Fiore PP, Nicassio F. microRNAs transcriptional profiling of mammary stem cells isolated by PKH26 staining and FACS sorting. Book: Methods in Stem Cell Biology, Elsevier, *In press*.
2. Corrao G, Zaffaroni M, Bergamaschi L, Augugliaro M, Volpe S, Pepa M, Bonizzi G, Pece S, Amodio N, Mistretta FA, Luzzago S, Musi G, Alessi S, La Fauci FM, **Tordonato C**, Tosoni D, Cattani F, Gandini S, Petralia G, Pravettoni G, De Cobelli O, Viale G, Orecchia R, Marvaso G, Jereczek-Fossa BA. Exploring miRNA Signature and Other Potential Biomarkers for Oligometastatic Prostate Cancer Characterization: The Biological Challenge behind Clinical Practice. A Narrative Review. Cancers. 2021;13(13):3278. doi:10.3390/cancers13133278.
3. **Tordonato C**, Marzi MJ, Giangreco G, Freddi S, 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.
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.
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, Haucke V, Kirchhausen T, Di Fiore PP, Sigismund S. Molecularly Distinct Clathrin-Coated Pits Differentially Impact EGFR Fate and Signaling. Cell Rep. 2019;27(10):3049-3061.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2019.05.017.
6. Bonetti P, Climent M, Panebianco F, **Tordonato C**, Santoro A, Marzi MJ, Pelicci PG, Ventura A, Nicassio F. Dual role for miR-34a in the control of early progenitor proliferation and commitment in the mammary gland and in breast cancer. Oncogene. 2019 Jan;38(3):360-374. doi: 10.1038/s41388-018-0445-3.

7. **Tordonato C**, Di Fiore PP, Nicassio F. The Role of non-coding RNAs in the regulation of stem cells and progenitors in the normal mammary gland and in breast tumors. *Front Genet.* 2015 Feb 27;6:72. doi:10.3389/fgene.2015.00072.
8. Monterisi S, D'Ario G, Dama E, Rotmensz N, Confalonieri S, **Tordonato C**, Troglia F, Bertalot G, Maisonneuve P, Viale G, Nicassio F, Vecchi M, Di Fiore PP, Bianchi F. Mining cancer gene expression databases for latent information on Intronic microRNAs. *Mol Oncol.* 2015 Feb;9(2):473-87. doi: 10.1016/j.molonc.2014.10.001.

Data

18.03.222

Luogo

Milano