

Curriculum Vitae di Raffaella Calligaris

Informazioni Personali

Nome/ Cognome: Raffaella Calligaris

e-mail: raffaella.calligaris@sissa.it

Cittadinanza: italiana

Data di nascita:

Luogo di nascita:

Madrelingua: italiano

Altra(e) lingua(e): inglese, tedesco, spagnolo

Titolo professionale: PhD

Curriculum Vitae

Istruzione e formazione

- 2001** Dottorato di ricerca in Scienze Naturali (Dr. phil. nat.) – Graduiertenkolleg: “Protein Structure, Dynamics and Function”, J.W.G. University of Frankfurt am Main, Germania.
- 1995** Abilitazione all’esercizio della Professione di Biologo – Università degli Studi di Trieste, Italia.
- 1994** Laurea in Scienze Biologiche con specializzazione in biochimica, Università degli Studi di Trieste.
- 1987** Diploma di Baccalaureato Internazionale – United World College of the Adriatic, Duino, Trieste, Italia.

Esperienza scientifica professionale

2011 -ora Ricercatrice post-doc presso il Dipartimento Universitario Clinico di Scienze Mediche tecnologiche e Traslazionali del Prf. G. Pizzolato, svolgendo l’attività di ricerca presso il Dipartimento di Neurobiologia, laboratorio del Prof. S. Gustincich, presso International School for Advanced Studies (SISSA), Trieste, Italia. Attualmente il lavoro di ricerca, finanziato dall’associazione Telethon (GGP10224), riguarda lo studio di di profili di espressione genica da cellule di sangue. Responsabile di progetti di Blood transcriptomics e progetti affini: coordinamento di raccolta di tessuti umani (campioni di sangue e cervello) e gestione di biobanca, elaborazione e messa a punto di protocolli per alta processività di campioni di sangue e processamento di questi;

studi di profilo di espressione genica mediante anche tecnologie di trascrittomica (gene-chips di tipo Affymetrix e altro) e real time PCR (SYBER-green e TaqMan technology). Elaborazione bioinformatica dei dati di trascrittomica con obiettivo di definizione di biomarcatori con potenziale utilizzo nella diagnosi clinica. Procedure di ottimizzazione per saggi di validazione dei biomarcatori definiti e valutazione del potenziale trasferimento tecnologico di questi sul mercato.

2004-2011 Ricercatrice post-doc nel dipartimento di neurobiologia, laboratorio del Prof. S. Gustincich, presso International School for Advanced Studies (SISSA), Trieste, Italia. Studi di espressione genica mediante anche tecnologie ad alta processività e di regolazione della trascrizione; progetti finanziati dalla associazione Telethon. Creazione e gestione di biobanca di tessuti umani (campioni di sangue e cervello). Partecipazione al progetto di ricerca industriale SYMPAR, una collaborazione tra SISSA – ITALTBS SpA – Dip. Neurologia dell'Università di Trieste.

2003-2004 Ricercatrice con borsa di ricerca del Fondo Sociale Programma Europeo presso il Dipartimento di Neurobiologia, laboratorio del Prof. S. Gustincich, at the International School for Advanced Studies (SISSA), Trieste, Italy.

1996-2001 Titolare di borsa di dottorato di ricerca, Graduiertenkolleg Program _Protein Structure, Dynamics and Function_ presso il Dipartimento di Biologia Cellulare e Molecolare del Prof. Dr. L. Nover, Biocenter, J.W.G. University of Frankfurt am Main, Germania.

1993-1996 Tesista di laurea e collaboratore a contratto presso il laboratorio del Prof. Md. C. Santoro, Laboratorio Nazionale Consorzio Interuniversitario per le Biotecnologie (CIB), Area Science Park, Padriciano, Trieste, Italia.

Altre Attività professionali/scientifiche

- **Responsabile operativo tecnico-scientifico di SISSA nel progetto** New diagnostic and therapeutic approaches for the Crigler-Najjar Syndrome Type I, finanziato da Telethon (2010-2014), capogruppo coordinatore Dr. A. Muro
- **Responsabile operativo tecnico-scientifico di SISSA nel progetto** Peripheral blood gene expression profiling of LRRK2 and Parkin monogenic forms of Parkinson's disease for disease assessment, finanziato da Telethon (2010-2014), capogruppo coordinatore Prof. S. Gustincich.
- **Responsabile operativo tecnico-scientifico di SISSA nel del progetto** D.NAMICA (www.dnamica.it), progetto cofinanziato dal POR FESR 2007 - 2013 Obiettivo Competitività regionale e Occupazione, Asse 1 "INNOVAZIONE, RICERCA,

TRASFERIMENTO TECNOLOGICO E IMPRENDITORIALITÀ” attività 1.1.B: “SOSTEGNO AI PROGETTI DI RICERCA INDUSTRIALE AD ELEVATO IMPATTO SISTEMICO PER IL RAFFORZAMENTO DELLE RETI DELLA RICERCA E DELL'INNOVAZIONE E DEI DISTRETTI TECNOLOGICI DELL'INNOVAZIONE”. Il progetto D.NAMICA studia le metodologie per l'implementazione di una piattaforma informatica che integri gli indicatori clinici e quelli genetici con lo scopo di supportare la ricerca verso la medicina personalizzata. Data la complessità e la quantità di informazioni da analizzare, l'obiettivo è sviluppare un sistema “intelligente” in grado di raccogliere ed elaborare i dati clinici e molecolari dei pazienti e realizzare una cartella clinica-biomolecolare che aiuti i medici a fornire una cura personalizzata. La gestione di questi dati avverrà in maniera complementare con i dati raccolti durante la fase di sperimentazione clinica, attraverso una piattaforma informatica appositamente creata, atta a raccogliere, integrare, archiviare e condividere dati ed elaborazioni ai fini della ricerca clinica. Tramite approcci standard saranno sviluppati pannelli diagnostici in grado di rilevare polimorfismi genetici per le patologie oggetto dei progetti pilota sviluppando nuovi test genomici.

- Esperienza in Ricerca brevettuale e Trasferimento tecnologico.

Premi/Riconoscimenti

- Vincitrice del primo premio per l'Innovazione 2011 nella competizione Start Cup competition for innovation nel Friuli Venezia Giulia e per Innovazione a livello nazionale nella competizione Working Capital, Torino 2011 (classificazione su 2500 partecipanti) con il progetto PARKscreen. **PARKscreen** è un test diagnostico della malattia di Parkinson, basato sull'analisi dell'espressione genica nel sangue, che verrà effettuato in esclusiva da un laboratorio di diagnostica genomica istituito ad hoc dai proponenti. L'invenzione è stata realizzata mediante l'attività di ricerca svolta dai promotori di **PARKscreen** presso i laboratori di Neurobiologia della SISSA di Trieste in collaborazione con la Clinica Neurologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria “Ospedali Riuniti di Trieste”. **PARKscreen**, test di biologia molecolare, si propone di offrire al medico uno strumento per una diagnosi il più possibile precoce della malattia di Parkinson. **PARKscreen** potrà inoltre essere utilizzato dalle industrie farmaceutiche per ottimizzare trials clinici di nuove soluzioni terapeutiche in soggetti nei primi stadi della malattia o, addirittura, pre-sintomatici.

Publicazioni

- Tang DT, Plessy C, Salimullah M, Suzuki AM, **Calligaris R**, Gustincich S, Carninci P. **Suppression of artifacts and barcode bias in high-throughput transcriptome analyses utilizing template switching.** *Nucleic Acids Res.* 2013 Feb 1;41(3):e44.
- Foti R, Zucchelli S, Biagioli M, Roncaglia P, Vilotti S, **Calligaris R**, Krmac H, Girardini JE, Del Sal G, Gustincich S. **Parkinson's disease-associated DJ-1 is required for the expression of the Glial cell line-derived neurotrophic factor receptor RET in human neuroblastoma cells.** *J Biol Chem.* 2010, 285: 18565-18574.
- Calligaris R**, Bellarosa C, Foti R, Roncaglia P, Giraudi P, Krmac H, Tiribelli C, Gustincich S. **A transcriptome analysis identifies molecular effectors of unconjugated bilirubin in human neuroblastoma. SH-SY5Y cells.** *BMC Genomics* 2009, 10:543.
- Deganuto M, Cesaratto L, Bellarosa C, **Calligaris R**, Vilotti S, Renzone G, Foti R, Scaloni A, Gustincich S, Quadrioglio F, Tiribelli C, Tell G. **A proteomic approach to the bilirubin-induced toxicity in neuronal cells reveals a protective function of DJ-1 protein.** *Proteomics.* 2010, 10:1645-1657.
- Carnemolla A, Fossale E, Agostoni E, Michelazzi S, **Calligaris R**, De Maso L, Del Sal G, Macdonald ME, Persichetti F. **Rrs1 is involved in endoplasmic reticulum stress response in huntington disease.** *J Biol Chem.* 2009, 284:18167-18173.
- Zucchelli S, Vilotti S, **Calligaris R**, Lavina ZS, Biagioli M, Foti R, De Maso L, Pinto M, Gorza M, Speretta E, Casseler C, Tell G, Del Sal G, Gustincich S. **Aggresome-forming TTRAP mediates pro-apoptotic properties of Parkinson's disease-associated DJ-1 missense mutations.** *Cell Death Differ.* 2009, 16:428-438.
- Siddique M, Port M, Tripp J, Weber C, Zielinski D, **Calligaris R**, Winkelhaus S, Scharf KD. **Tomato heat stress protein Hsp16.1-CIII represents a member of a new class of nucleocytoplasmic small heat stress proteins in plants.** *Cell Stress Chaperones* 2003 Winter, 8:381-394.

Calligaris R, Bottardi S, Cogoi S, Apezteguia I, Santoro C. **Alternative translation initiation site usage results in two functionally distinct forms of the GATA-1 transcription factor.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995, 92:11598-11602.

Apezteguia I, Calligaris R, Bottardi S, Santoro C. **Expression, purification, and functional characterization of the two zinc-finger domain of the human GATA-1.** *Protein Expr Purif.* 1994, 5:541-546.

Lavori scientifici di prossima pubblicazione (submitted papers)

Blood transcriptomics of drug-naïve sporadic Parkinson's disease patients. Raffaella Calligaris¹, Mihaela Banica², Paola Roncaglia^{1, †}, Elisa Robotti³, Lucia Antonutti², Francesco Iorio^{4, †}, Annamaria Carissimo⁴, Tatiana Cattaruzza², Andrea Ceiner⁵, Dejan Lazarevic^{1,6}, Alberto Cucca², Nicola Pangher⁵, Emilio Marengo³, Diego di Bernardo^{4,7}, Gilberto Pizzolato^{2*} and Stefano Gustincich^{1,8*}

¹Sector of Neurobiology, International School for Advanced Studies (SISSA), via Bonomea 265, 34134 Trieste, Italy; ²Department of Medical Sciences, Neurology Unit, University of Trieste, Strada di Fiume 447, 34100 Trieste (TS), Italy; ³Department of Environmental and Life Sciences, University of Eastern Piedmont, Viale T. Michel 11, 15121, Alessandria, Italy; ⁴Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Via P. Castellino 111, Naples 80131, Italy; ⁵ITALTBS S.p.A.- AREA Science Park, Padriciano, 99, 34012 Trieste, Italy; ⁶CBM Srl - Consorzio per il Centro di Biomedicina Molecolare, Area Science Park, S.S.14, km 163.5, Basovizza, 34012 Trieste, Italy; ⁷Dept. Computer Science & Systems, School of Engineering, University of Naples "Federico II", via Claudio 21, 80125, Naples, Italy; ⁸The Giovanni Armenise-Harvard Foundation Laboratory; [†] Present Address: EMBL – EBI, Wellcome Trust Genome Campus, Cambridge CB10 1SD, UK

ABSTRACT

Rationale: Blood transcriptomics is a tool for understanding the molecular basis of neurodegenerative diseases in living patients.

Objective: This study provides insights into the molecular mechanisms of Parkinson's disease through gene expression profiling of peripheral whole blood of patients at the onset of symptoms and before initiating any pharmacological treatment. Blood samples of 40 *de novo*, drug-naïve Parkinson's disease patients and 20 gender- and age-matched control subjects were analyzed.

Findings: Gene expression profiling was able to discriminate patients from age-matched controls. Significant changes were identified by means of both parametric and non-parametric methods. The majority of genes differentially expressed in blood are also present in dopaminergic neurons of the *Substantia Nigra*, the key site of neurodegeneration. They are components of biological pathways

targeted by antipsychotic drugs, apomorphine and levodopa. Gene Set Enrichment Analysis and Gene Ontology revealed chromatin remodeling and methylation as biological functions significantly altered in the disease. Candidate transcripts were validated by qRT-PCR.

Conclusion: Our study supports the use of blood transcriptomics to study Parkinson's disease. It identifies changes in crucial components of chromatin remodeling and methylation machineries as early events in PD suggesting epigenetics as target for therapeutic purposes.

Analysis of antisense transcription in loci associated to neurodegenerative diseases. Silvia Zucchelli^{1,2}, Paolo Vatta^{1,2}, Stefania Fedele^{1,2}, Raffaella Calligaris^{1,2,3}, Peter Heutink^{4,5,6}, Patrizia Rizzu^{4,7}, Masayohi Itoh⁶, Hideya Kawaji⁶, Timo Lassmann⁶, Yoshihide Hayashizaki⁶, Al Forrest⁶, Piero Carninci⁶, and Stefano Gustincich^{1,2} and the FANTOM Consortium

¹SISSA, Area of Neuroscience, via Bonomea 265, 34136 Trieste, Italy; ²The Giovanni Armenise-Harvard Foundation Laboratory, SISSA, via Bonomea 265, 34136 Trieste, Italy; ³Department of Medical Sciences, Neurology Unit, University of Trieste, Strada di Fiume 447, 34100 Trieste, Italy; ⁴Section Medical Genomics, Department of Clinical Genetics, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; ⁵Genome Biology of Neurodegenerative diseases, Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), Standort Tübingen, Germany; ⁶RIKEN Omics Science Center, RIKEN Yokohama Institute, Yokohama, Japan; ⁷Applied Genomics for Neurodegenerative Diseases, Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), Standort Tübingen, Germany.

ABSTRACT

Rationale: The FANTOM5 sequencing datasets represent the largest collection of transcriptomes from human cell lines, primary cells and whole tissues of various origins. Transcription starting sites are mapped at high resolution by the use of a modified protocol of Cap-Analysis of Gene Expression (CAGE) for high-throughput single molecule next-generation sequencing with Helicos (hCAGE).

Objective: We employed the FANTOM5 collection of data to address the role of antisense transcription in neurodegeneration. We focused our analysis exclusively on tissues and primary cells, to avoid artifacts due to cellular transformation in culture cell lines. Among the >1261 human hCAGE libraries, we selected those of brain origin. Libraries from total blood and selected blood cell populations were also included in the analysis. A total of 66 tissue- and 244 cell-specific libraries were interrogated for the presence of antisense transcription to well-established *loci* associated to Alzheimer's disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis, Frontotemporal Dementia, Huntington's and Parkinson's disease.

Findings: Almost all analyzed genes display some degree of antisense transcription mainly in their 5' or 3' UTRs. 5' head-to-head divergent antisense transcription appears enriched compared to global distribution of sense/antisense pairs. Identified antisense transcripts may have coding and non-coding capabilities, with long non-coding RNAs being more represented. Expressed transcripts are generally poorly annotated and may contain repetitive elements of the Alu, SINE and LINE families. Antisense transcription was validated for a subset of genes, including amyloid precursor protein, microtubule-associated protein tau, DJ-1, leucine-rich repeat kinase 2 and α -synuclein. Quantitative analysis of antisense transcripts in human tissues indicates enrichment in the brain, compatible with FANTOM5 data.

Conclusion: Overall, these results represent the most comprehensive analysis of antisense transcription at *loci* associated to neurodegeneration and provide evidence for the existence of additional regulation of disease-related genes by previously not-annotated and/or not-validated long non-coding RNAs.

Selezione di Comunicazioni Scientifiche a Congressi.

Peripheral blood gene expression profiling of *LRRK2* and *Parkin* monogenic forms of Parkinson's disease for disease assessment. Calligaris R, Vlachouli C, Finaurini S, Vatta P, Banica M, Tesolin L, Cucca A, Cattaruzza T, Antonutti L², Goldwurm S³, Pizzolato G², Gustincich S¹. XVII Convention Scientifica Telethon, Palazzo dei Congressi, 11-13 Marzo 2013, Riva del Garda (TN), Italy.

Blood transcriptomics of drug-naïve sporadic Parkinson's disease patients. Calligaris R, Banica M, Roncaglia P, Robotti E, Antonutti L, Iorio F, Carissimo A, Cattaruzza T, Ceiner A, Lazarevic D, Cucca A, Pangher N, Marengo E, di Bernardo D, Pizzolato G and Gustincich S. International Symposium on "Biology and Translational Aspects of Neurodegeneration" March 12-14, 2012 Venice, Italy.

SYMPAR, a Web-Based Application Project for Electronic Storage and Integration of Genomic and Clinical Data especially built for Parkinson's Disease Patients. Calligaris R, Banica M, Ferigo L, Cattaruzza T, Roncaglia P, Krnac H, Lazarevic D, Ceiner A⁴, Pangher N,

Pizzolato G, Gustincich S. **IV Convegno Nazionale Associazione Italiana Malattia di Parkinson e Disordini del Movimento (DISMOV-SIN), 25 - 27 Marzo 2010, Verona, Italy.**

SYMPAR, a Web-Based Application Project for Electronic Storage and Integration of Genomic and Clinical Data for Parkinson's Disease Patients. Calligaris R, Banica M, Ferigo L, Cattaruzza T, Roncaglia P, Krmac H, Lazarevic D, Ceiner A⁴, Pangher N, Pizzolato G, Gustincich S. **2nd World Parkinson Congress, September 28 - October 1 2010, Glasgow, UK.**

SYMPAR, a web-based application project for electronic storage and integration of genomic and clinical data especially built for Parkinson's disease patients. Calligaris R, Banica M, Ferigo L, Cattaruzza T, Roncaglia P, Krmac H, Lazarevic D, Ceiner A⁴, Pangher N, Pizzolato G, Gustincich S. **13° Congress of the European Federation of Neurological Societies, Florence, September 12-15, 2009. Poster Session: Neurogenetics.**