

CURRICULUM VITAE ET STUDIORUM

Alessio Branchini

DATI ANAGRAFICI

Nome e Cognome: Alessio Branchini
Nato a: Portomaggiore (FE) il 25/06/1980
Tel. Ufficio: +39-0532-97-4485 / -4421
email: brnlss@unife.it
Nazionalità: Italiana

TITOLI

- Ottobre 2013: Nomina cultore della materia in SSD BIO/10 (BIOCHICA)
- DOTTORATO DI RICERCA IN BIOCHIMICA, BIOLOGIA MOLECOLARE E BIOTECNOLOGIE
Conseguito presso l'Università degli Studi di Ferrara il 22 Febbraio 2011 con giudizio Eccellente. Tesi dal titolo: *"The carboxyl-terminal region of coagulation factors: role in biosynthesis and function of FVII and FX"*.
- LAUREA SPECIALISTICA IN SCIENZE BIOMOLECOLARI E CELLULARI.
Conseguita presso l'Università degli Studi di Ferrara il 13 Dicembre 2006 con la valutazione finale di 110/110 con lode. Tesi sperimentale dal titolo: *"Effetti di microdelezioni nella regione carbossi-terminale del Fattore X della coagulazione su livelli di secrezione e di attività"*.
- LAUREA TRIENNALE IN BIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE.
Conseguita presso l'Università degli Studi di Ferrara il 22 Giugno 2004 con la valutazione finale di 110/110 con lode. Tesi sperimentale dal titolo: *"Produzione di varianti inattive del FX della coagulazione"*.

DATI PROFESSIONALI

- 2011 – ad oggi: assegno di ricerca con titolo *"Messa in opera di attività nell'ambito della proteomica - Laboratorio in rete Tecnopolo di Ferrara - Laboratorio delle Tecnologie delle Terapie Avanzate (LTTA)"*.
- 4-8 giugno 2012: attività di ricerca presso CHU de Montpellier, Département d'Hématologie Biologique, Hôpital Saint Eloi, Montpellier (France).
- 2008 – 2010: borsa di studio finanziata da "Fondazione della Cassa di Risparmio di Ferrara" per il progetto di ricerca con argomento: *"Meccanismi alla base della modulazione dei livelli di fattori della coagulazione"*.
- Settembre 2004 – Dicembre 2006: stage presso il Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, *Laboratorio di Biologia Molecolare dell'Emostasi*, Università degli Studi di Ferrara.

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE presso Università degli Studi di Ferrara

- 2008 – ad oggi: lezioni frontali e attività di laboratorio per le Lauree Triennali e Specialistiche in Scienze Biologiche e Biotecnologie.

- 2011-2013: responsabile di laboratorio (contratto ex art. 26 del DPR 382/80) per l'insegnamento di Biochimica per il corso di Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Ferrara.
- 2008-2010: tutore didattico per gli insegnamenti di Biochimica e Biologia Molecolare nelle Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Medicina e Chirurgia e Biotecnologie.
- Supervisore e co-relatore di tesi per lauree triennali e specialistiche in Scienze Biologiche, Scienze Biomolecolari e Cellulari e Biotecnologie.

PUBBLICAZIONI

- Olivieri O, Martinelli N, Baroni M, **Branchini A**, Girelli D, Friso S, Pizzolo F, Bernardi F. Factor II activity is similarly increased in patients with elevated apolipoprotein CIII and in carriers of the Factor II 20210A allele. *J Am Heart Assoc.* 2013 Nov 15;2(6):e000440.
- **Branchini A**, Campioni M, Mazzucconi MG, Biondo F, Mari R, Bicocchi MP, Bernardi F, Pinotti M. Replacement of the Y450 (c234) phenyl ring in the carboxyl-terminal region of coagulation factor IX causes pleiotropic effects on secretion and enzyme activity. *FEBS Lett.* 2013 Oct 1;587(19):3249-53.
- **Branchini A**, Rizzotto L, Mariani G, Napolitano M, Lapecorella M, Giansily-Blaizot M, Mari R, Canella A, Pinotti M, Bernardi F. Natural and engineered carboxy-terminal variants: decreased secretion and increased activity result in asymptomatic coagulation factor VII deficiency. *Haematologica.* 2012 May;97(5):705-9.
- Cavallari N, Balestra D, **Branchini A**, Maestri I, Chuamsunrit A, Sasanakul W, Mariani G, Pagani F, Bernardi F, Pinotti M. Activation of a cryptic splice site in a potentially lethal coagulation defect accounts for a functional protein variant. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Mar 9;1822(7):1109-1113.
- Pinotti M, Bertolucci C, Frigato E, **Branchini A**, Cavallari N, Baba K, Contreras-Alcantara S, Ehlen JC, Bernardi F, Paul KN, Tosini G. Chronic sleep deprivation markedly reduces coagulation factor VII expression. *Haematologica.* 2010 Aug;95(8):1429-32.
- Monti M, Borensztajn KS, Pinotti M, Canella A, **Branchini A**, Marchetti G, Reitsma PH, Bernardi F, Spek CA. Characterization of the intracellular signalling capacity of natural FXa mutants with reduced pro-coagulant activity. *Thromb Res.* 2009 Apr;123(6):914-8.

PREMI E RICONOSCIMENTI

- **Premio SIB (Società Italiana di Biochimica e Biologia Molecolare)** per la presentazione del poster dal titolo "*Characterization by binding and functional assays of inhibitory antibodies directed to the carboxyl-terminal region of activated coagulation factor VII*". 57° Congresso Nazionale SIB, Ferrara, 18-20 settembre 2013.
- **Young Investigator Award**, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), per la presentazione dell'ePoster dal titolo "*Mapping of inhibitory antibodies directed to the carboxy-terminus of FVIIa in severe FVII deficiency with elongated C-terminal variant (p.A354V-p.P464Hfs†)*". Amsterdam (Olanda), 1-4 luglio 2013.
- **Young Investigator Award**, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), per la presentazione della comunicazione orale dal titolo "*The FVII R402X nonsense mutation, associated with an asymptomatic phenotype, is responsible for small amounts of circulating protein with improved coagulant activity*". Kyoto (Giappone), 23-28 luglio 2011.

- **XXI Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio dell'Emostasi e della Trombosi (SISSET)**, Bologna, 28-31 ottobre 2010 per la presentazione della comunicazione orale dal titolo “*Association of the homozygous nonsense mutation R402X in coagulation factor VII with asymptomatic phenotype*”.

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI

- **A. Branchini**, M. Baroni, C. Pfeiffer, A. Batorova, M. Giansily-Blaizot, G. Mariani, M. Pinotti, F. Bernardi. “*Characterization by binding and functional assays of inhibitory antibodies directed to the carboxyl-terminal region of activated coagulation factor VII*”, **57th National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology (SIB)**, Ferrara, 18-20 settembre 2013. *Comunicazione orale e Poster*.
- Convegno CIB (Consorzio Interuniversitario Biotecnologie) dal titolo “**MicroRNA: from basic research to therapeutic applications**”. Ferrara, 16-17 settembre 2013.
- **Alessio Branchini**, Marcello Baroni, Caroline Pfeiffer, Angelika Batorova, Muriel Giansily-Blaizot, Guglielmo Mariani, Mirko Pinotti and Francesco Bernardi. “*Mapping of inhibitory antibodies directed to the carboxy-terminus of FVIIa in severe FVII deficiency with elongated C-terminal variant (p.A354V-p.P464Hfs†)*”, **XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)**, Amsterdam (Olanda), 1-4 luglio 2013. *ePoster*.
- Tosi F., Martinelli N., Baroni M., Guarini P., Udali S., **Branchini A.**, Woodhams B., Bernardi F. Olivieri O. “*Activated Factor VII: antithrombin complex plasma concentration in subjects with or without angiographically demonstrated coronary artery disease and myocardial infarction*”. **XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)**, Amsterdam (Olanda), 1-4 luglio 2013. *Abstract*.
- **Alessio Branchini**, Marcello Baroni, Angelika Batorova, Muriel Giansily-Blaizot, Guglielmo Mariani, Mirko Pinotti, Francesco Bernardi. “*Immune response to treatment in a severe factor VII deficient patient: characterization of the inhibitory antibody and epitope-mapping*”, **XXII Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio dell'Emostasi e della Trombosi (SISSET)**, Vicenza, 4-6 ottobre 2012. *Poster*.
- Stem cell research Italy - International Society for cellular therapy-Europe AICC - Joint Meeting. Ferrara, 20-22 giugno 2012.
- **Alessio Branchini**, Lara Rizzotto, Alessandro Canella, Rosella Mari, Mario Lapecorella, Marisanta Napolitano, Guglielmo Mariani, Mirko Pinotti, Francesco Bernardi. *The FVII R402X nonsense mutation, associated with an asymptomatic phenotype, is responsible for small amounts of circulating protein with improved coagulant activity*. **XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)**, Kyoto, 23-28 luglio 2011. *Comunicazione orale*.
- **Alessio Branchini**, Lara Rizzotto, Alessandro Canella, Muriel Giansily-Blaizot, Guglielmo Mariani, Francesco Bernardi, Mirko Pinotti. “*Naturally occurring truncated proteins: decreased protein secretion and increased activity result in asymptomatic coagulation factor deficiency*”. **36th FEBS Congress**, Torino, 25-30 giugno 2011. *Poster*.
- Mirko Pinotti and Franco Pagani, Dario Balestra, Marcello Baroni, **Alessio Branchini**, Erica Bussani, Alessandro Canella, Matteo Campioni, Nicola Cavallari, Andrea Dal Mas, Eugenio Fernandez, Paolo Ferraresi, Chiara Mattioli. *RNA-based therapeutic approaches for blood coagulation factor deficiencies caused by splicing mutations*. **XVI Convention Scientifica Telethon**, Riva del Garda (TN), 7-9 marzo 2011. *Poster*.
- **Alessio Branchini**, Lara Rizzotto, Muriel Giansily-Blaizot, Alessandro Canella, Rosella Mari, Mario Lapecorella, Marisanta Napolitano, Guglielmo Mariani, Mirko Pinotti,

- Francesco Bernardi. “Association of the homozygous nonsense mutation R402X in coagulation factor VII with asymptomatic phenotype”, **XXI Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio dell’Emostasi e della Trombosi (SISSET)**, Bologna, 28-31 ottobre 2010. *Comunicazione orale*.
- **Alessio Branchini**, Lara Rizzotto, Alessandro Canella, Mirko Pinotti, Francesco Bernardi. “Role of the carboxyl-terminal region of coagulation factor VII for biosynthesis and function”, **23^a Riunione Nazionale “A. Castellani” Dottorandi di Ricerca in Discipline Biochimiche**; Brallo di Pregola (PV), 7-11 giugno 2010. *Comunicazione orale*.
 - **Corso di Alta Formazione “Nano e Biotecnologie per la diagnostica e la terapia”**, Urbino, 10-11 Luglio 2009
 - **Branchini Alessio**, Pinotti Mirko, Zanetti Valentina, Bernardi Francesco. “Contribution of the carboxyl-terminal region to biosynthesis and activity of coagulation Factor X”. **22^a Riunione Nazionale “A. Castellani” Dottorandi di Ricerca in Discipline Biochimiche**; Brallo di Pregola (PV), 9-12 giugno 2009. *Poster*.
 - C. Bertolucci, M. Pinotti, N. Cavallari, E. Frigato, **A. Branchini**, K. Baba, S. Contreras-Alcantara, K. Paul, A. Foà, F. Bernardi, G. Tosini. Effects of chronic sleep deprivation on the mouse blood coagulation cascade. **XI Congress of the European Biological Rhythms Society**, Strasburgo (Francia), 22-28 agosto 2009.
 - Pinotti M., Marchetti G., Rizzotto L., Balestra D., Caruso P., **Branchini A.**, Casari C., Baroni M., Ferraresi P., Canella A., Bernardi F. Non-conventional therapeutic strategies for inherited disorders of hemostasis. **XV Convention Scientifica Telethon**, Riva del Garda (TN), 9-11 marzo 2009. *Abstract*.
 - **Corso di Alta Formazione “L’apporto delle biotecnologie nello sviluppo di nuove strategie terapeutiche”**, Urbino, 7-8 Luglio 2008.
 - **“Scuola di dottorato silenziamento genico”**, Ferrara, 18-20 Giugno 2008.
 - **21^a Riunione Nazionale “A. Castellani” dei Dottorandi di Ricerca in Biochimica**, Brallo di Pregola (PV), 10-13 Giugno 2008.
 - M. Monti, K. S. Borensztajn, M. Pinotti, A. Canella, **A. Branchini**, T. Bellini, G. Marchetti, P. H. Reitsma, C. A. Spek, F. Bernardi, “Characterization of PAR-mediated signaling induced by activated coagulation Factor X mutants”, **52th National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology (SIB)**; Riccione, 26-28 Settembre 2007, *poster*.

TECNICHE SPERIMENTALI ACQUISITE

- Saggi di tipo PT (Tempo di Protrombina) e aPTT (Tempo di Tromboplastina parziale attivata);
- Polymerase Chain Reaction (PCR) e Real-Time PCR;
- Estrazione di DNA e RNA;
- RT-PCR;
- Restrizione enzimatica mediante l’uso di endonucleasi;
- Tecniche elettroforetiche per acidi nucleici e proteine;
- Sequenziamento;
- Clonaggio in vettori plasmidici;
- Mutagenesi sito-specifica;
- Colture di cellule batteriche e di cellule eucariotiche;
- Espressione transiente e stabile di proteine ricombinanti in cellule di mammifero;

- Purificazione di proteine ricombinanti (cromatografia a scambio ionico, ad immunoaffinità e dialisi);
- Elettroforesi di proteine;
- Colorazioni proteiche in soluzione e su gel;
- Western Blotting;
- Tecniche immunoenzimatiche (ELISA, studi di binding e competizione);
- Tecniche spettrofotometriche;
- Saggi funzionali per la caratterizzazione di varianti di proteine della coagulazione mediante substrati cromo/fluorogenici;

ATTESTATI

- Certificazione PET (Primary English Test).
- Attestazione ECDL (European Computer Driving License)

ATTIVITÀ SPERIMENTALE

1) Studio della regione carbossi-terminale di fattori della coagulazione

I fattori VII (FVII), IX (FIX), X (FX) e la proteina C (PC) della coagulazione sono serin proteasi altamente omologhe ma aventi una regione carbossi-terminale molto diversa sia per estensione che per sequenza.

L'attività di ricerca è stata incentrata sullo studio del ruolo della regione carbossi-terminale del FX e del FVII della coagulazione mediante l'espressione di varianti ricombinanti progressivamente delete e la valutazione dei livelli di proteina secreta e di attività catalitica.

Lo studio è volto a delucidare il ruolo della regione carbossi-terminale e il significato molecolare delle grandi differenze di estensione e composizione aminoacidica di questo tratto terminale in proteine comunque caratterizzate da elevata omologia strutturale.

L'assetto sperimentale si avvale sia di modelli ricombinanti espressi in vitro in cellule eucariotiche, sia di modelli in vivo dovuti a proteine difettive presenti in campioni di plasma di pazienti con deficit di coagulazione.

2) Caratterizzazione di mutazioni a carico di fattori della coagulazione

Il processo emostatico è mantenuto e regolato da un bilancio tra componenti pro-coagulanti e anti-coagulanti. Tra le componenti pro-coagulanti figurano proteine come Fattore VII (FVII), Fattore IX (FIX) e Fattore X (FX). Difetti molecolari a carico di questi fattori della coagulazione sono causa di patologie a carattere emorragico il cui fenotipo clinico varia a seconda dei livelli di fattori presenti nel plasma e a seconda del tipo di mutazione coinvolta.

La caratterizzazione di mutazioni nei fattori VII, IX e X avviene mediante studi funzionali o test coagulativi in plasma, individuazione della mutazione a livello genomico e produzione in vitro, mediante mutagenesi sito-specifica, della proteina ricombinante mutata. Successivamente studi su secrezione, eventuale accumulo intracellulare e studi funzionali (sia in sistemi ricostituiti che in sistemi plasmatici), consentono di valutare l'effetto che la mutazione in esame esercita sulla biologia della proteina. Inoltre, studi funzionali di cinetica enzimatica vengono effettuati su varianti proteiche purificate da colture cellulari esprimenti stabilmente la proteina mutata.

3) Modelli cellulari per lo sviluppo di approcci terapeutici innovativi

La cascata coagulativa è un processo finemente regolato e difetti che colpiscono i fattori coinvolti, sia a livello di valori plasmatici di proteina sia a livello funzionale, possono dare origine a patologie a carattere trombotico o emorragico, come ad esempio, nel secondo caso, carenza di Fattore X (FX) o di Fattore IX (FIX, emofilia B). Questi difetti possono essere dovuti a livelli bassi o molto bassi di proteina circolante, con effetti che si ripercuotono sul normale processo emostatico.

La base di questo studio consiste nella potenziale correzione di difetti di biosintesi di FX e FIX dovuti a misfolding, degradazione prematura o stress del reticolo plasmatico (ER). L'approccio sperimentale consiste nell'utilizzo di modelli cellulari in vitro e di molecole quali chaperoni chimici, inibitori dei proteasomi e modulatori dell'UPR (Unfolded Protein Response) già dimostratisi in grado di migliorare la produzione di molecole recanti difetti molecolari sia a livello di folding (CFTR), degradazione (DMD) e stress dell'ER (FVIII).

4) Studi di interazione antigene-anticorpo e epitope mapping

I difetti della coagulazione, nel caso in cui comportino uno spostamento del quadro clinico verso una patologia a carattere emorragico, vengono trattati con terapia sostitutiva del fattore mancante. Un effetto collaterale importante dal punto di vista della terapia e del suo follow-up è dovuto alla produzione di anticorpi contro la proteina infusa, come può verificarsi nei casi di emofilia A e B, nei confronti di FVIII (10-20% dei casi) e FIX (1-5% dei casi), rispettivamente.

L'ipotesi che il tratto carbossi-terminale del FVII potesse rappresentare l'epitopo riconosciuto da un anticorpo inibitore sviluppatosi in un paziente con difetto di FVII trattato con la proteina commerciale ricombinante ha portato alla conduzione di uno studio volto a identificare le regioni di interazione tra antigene (FVII) e anticorpo inibitore (all'interno del plasma del paziente), mediante studi di binding, studi funzionali, e studi di interazione/competizione utilizzando piccoli peptidi disegnati con lo scopo di mimare la zona di legame dell'anticorpo e quindi permettere il potenziale ripristino della normale funzione della proteina.

Data

In fede
Alessio Branchini