

DATI ANAGRAFICI:

Data di nascita: 14 Ottobre 1966
Luogo di nascita: Foligno (PG)
Nazionalità: Italiana
Ufficio: CeSI, Centro Scienze dell'Invecchiamento
Università degli Studi G. d'Annunzio, 66013 Chieti
Telefono: + 39 0871 541423
FAX: + 39 0871 541422
E-mail: fprotasi@unich.it

POSIZIONE ATTUALE:

Professore Straordinario, SSD BIO/09 (Fisiologia)
Settore concorsuale: 05/D1
Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara
Facoltà di Scienze dell'Educazione Motoria
Dipartimento di Neuroscienze ed Imaging

INCARICHI ACCADEMICI PRECEDENTI:

Lecturer (Gennaio - Giugno 2000)
Harvard Medical School, Boston MA.

Instructor (Luglio 2000 – Luglio 2002)
Brigham and Women's Hospital, Boston, MA.

Professore a Contratto per la Fisiologia degli Organi e degli Apparati
(Settembre 2002 - Dicembre 2002)
decreto MURST n. 13 del 26/01/2001
Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara

Professore Associato per chiamata diretta per il SSD BIO/09 (Fisiologia)
(Dicembre. 2002 – Febbraio 2011)
Facoltà di Scienze dell'Educazione Motoria (D.M. MIUR prot. 1377 del 30/10/2002)
Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara

REVIEWER:

Ageing Cell, American Journal of Physiology, Biophysical Journal, Human Mutation, Journal of Cell Biology, Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Pflugers Archives-European Journal of Physiology, Proc. Natl. Acad. Sci. USA; Biochemical Journal; Faseb Journal.

FINANZIAMENTI RECENTI ALLA RICERCA:

2008 - 11 **Fondazione TELETHON ONLUS** (Progetto: GGP08153)
Progetto multicentrico coordinato da F. Protasi

Titolo del progetto: Calsequestrins in calcium homeostasis and potential role in inherited human skeletal muscle diseases.

2010 - 15 **NIH-NIAMS** (Progetto: RO1 AR059646)

Progetto Multicentrico coordinato da R. T. Dirksen (University of Rochester, NY).
Titolo del progetto: Molecular Mechanism and functional role of SOCE in skeletal muscle.

2011 - 14 **Fondazione TELETHON ONLUS** (Progetto: GGP11141)
Progetto Multicentrico coordinato da S. Priori (Università di Pavia)
Titolo del progetto: Mutations of cardiac calsequestrin and cardiac arrhythmias: novel insights on pathogenesis and therapy.

2011 - 16 **NIH-NIAMS** (Progetto: R01 AR053349-06)
Progetto Multicentrico coordinato da S. L. Hamilton (Baylor College, TX)
Titolo del progetto: Basis of muscle dysfunction in Malignant Hyperthermia and Central Core Disease.

ASSOCIAZIONI SCIENTIFICHE:

Membro della Biophysical Society (dal 1998).
Membro della Società Italiana di Fisiologia (dal 2003).
Membro dell' Istituto Interuniversitario di Miologia (dal 2004).

STUDI:

Diploma di Maturità Scientifica (Luglio 1985)
Liceo Scientifico Guglielmo Marconi (Foligno, PG).

Laurea in Scienze Biologiche (110/110 e lode)(Luglio 1991)
Università degli Studi di Perugia

FORMAZIONE PROFESSIONALE:

Post-Doctoral Fellow (Supervisor: Prof. Clara Franzini-Armstrong)
Giu. 1993 – Ago. 1997
Dept. of Cell and Developmental Biology
School of Medicine
University of Pennsylvania, Philadelphia PA

Post-Doctoral Fellow (Supervisor: Prof. Paul D. Allen)
Set. 1997 – Lug. 2000
Dept. of Anesthesia Research, Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School, Boston MA

Research Associate (Supervisor: Dr. Paul D. Allen)
Luglio 2000 – Luglio 2002
Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School, Boston MA

ATTIVITA' DIDATTICA ATTUALE:

AA 2009-11 Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara
- Facoltà di Scienze dell'Educazione Motoria
Docente del corso Integrato: Anatomia e Fisiologia I
Coordinatore del Corso Integrato: Anatomia e Fisiologia II

Da: AA 2007-08 Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara
- Facoltà di Medicina e Chirurgia
Corso di Laurea in Tecniche di Prevenzione nell'Ambiente e sui Luoghi di Lavoro.
Docente del corso di Fisiologia Umana.

Da: AA 2009-10 Università G. d'Annunzio of Chieti-Pescara
- Facoltà di Scienze dell'Educazione Motoria
Corso: Avviamento al podismo: corso teorico-pratico.

Da: AA 2012-13 Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti-Pescara
- Facoltà di Scienze dell'Educazione Motoria
Titolare del corso: Fisiologia Umana

INVITED PRESENTATIONS RECENTI A MEETINGS INTERNAZIONALI:

Febbraio 2009 53rd Biophysical Society Annual Meeting (Boston, MA)
Titolo del Simposio: Calsequestrin, triadin and more: the proteins that modulate calcium release in cardiac and skeletal muscle. organized by Journal of Physiology
Titolo della presentazione: Heat- and anaesthetic-induced sudden death in calsequestrin-1 knockout mice.

Settembre 2009 38th European Muscle Conference (Lille, France)
Titolo: Clues to the formation of cores in a mouse model of Malignant Hyperthermia.

Settembre 2010 39th European Muscle Conference (Padova, Italy)
Titolo: Calcium release units / mitochondria coupling in developing, ageing and diseased skeletal muscle.

Marzo 2011 182th ENMC Workshop on Core Myopathies (Naarden, The Netherlands)
Titolo: Structural association between mitochondria and sarcoplasmic reticulum.

Settembre 2011 40th European Muscle Conference (Berlin, Germany)
Titolo: Calsequestrin-1, a new candidate gene for human muscle disorders.

PRINCIPALE CAMPO DI INTERESSE NELLA RICERCA DI BASE:

Meccanismi di controllo dell'omeostasi del Calcio (accoppiamento eccitazione-contrazione) nel muscolo scheletrico e cardiaco ed implicazioni in miopatie genetiche umane ereditarie.

BIBLIOGRAFIA: Autore di 50 articoli originali e 7 reviews.

PUBBLICAZIONI SELEZIONATE degli ultimi 5 anni (2008-2012):

- Durham, W. J., P. Aracena-Parks, C. Long, A. E. Rossi, S. A. Goonasekera, S. Boncompagni, D. L. Galvan, C. P. Gilman, N. Shirokova, F. **Protasi**, R. T. Dirksen, and S. L. Hamilton. 2008. RYR1 S-Nitrosilation underlies environmental heat stroke and sudden death in Y522S RyR1 knockin mice. *Cell*. 133:53-65.

- Rizzi, N., L. Nian, C. Napolitano, A. Nori, F. Turcato, B. Colombi, S. Bicciato, D. Arcelli, A. Spedito, M. Scelsi, L. Villani, G. Esposito, S. Boncompagni, F. **Protasi**, P. Volpe, and S. G. Priori. 2008. Unexpected structural and functional consequences of the R33Q homozygous mutation in cardiac calsequestrin. A complex arrhythmogenic cascade in a knock-in mouse model. *Circulation Research*. 103:298-306.
- Dobrovolny, G., M. Augello, E. Rizzuto, S. Beccafico, C. Mammucari, S. Boncompagni, S. Belia, F. Wannenes, C. Nicoletti, Z. Del Prete, N. Rosenthal, M. Molinaro, F. **Protasi**, G. Fanò, M. Sandri, and A. Musarò. 2008. Skeletal muscle is a primary target of SOD1^{G93A}-mediated toxicity. *Cell Metabolism*. 8:425-436.
- Boncompagni, S., A. E. Rossi, M. Micaroni, G. V. Beznoussenko, R. S. Polishchuk, R. T. Dirksen, and F. **Protasi**. 2009. Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures. *Mol. Biol. Cell*. 20:1058-1067.
- Dainese, M., M. Quarta, A. D. Lyfenko, C. Paolini, M. Canato, C. Reggiani, R. T. Dirksen, and F. **Protasi**. 2009. Anesthetic- and heat induced sudden death in calsequestrin-1 knockout mice. *FASEB J*. 23:1710-1720.
- Boncompagni, S., A. E. Rossi, M. Micaroni, S. L. Hamilton, R. T. Dirksen, C. Franzini-Armstrong, and F. **Protasi**. 2009. Characterization and temporal development of cores in a mouse model of malignant hyperthermia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106:21996-22001.
- Royer, L., M. Sztretye, C. Manno, S. Pouvreau, J. Zhou, B. C. Knollmann, F. **Protasi**, P. D. Allen, and E. Ríos. 2010. Paradoxical buffering of calcium by calsequestrin demonstrated for the calcium store of skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* 136:325-338.
- M. Canato, M. Scorzeto, M. Giacomello, F. **Protasi**, C. Reggiani, and G. J. M. Stienen. 2010. Massive alterations of sarcoplasmic reticulum free calcium in skeletal muscle fibers lacking calsequestrin revealed by a genetically encoded probe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 107:22326-22331.
- Wei, L., G. Salahura, S. Boncompagni, K. A. Kasischke, F. **Protasi**, S-S. Sheu, R. T. Dirksen. 2011. Mitochondrial superoxide flashes: metabolic biomarkers of skeletal muscle activity and disease. *Faseb J*. 25:3068-3078.
- Rossi, A. E., S. Boncompagni, L. Wei, F. **Protasi**, and R. T. Dirksen. 2011. Differential Impact of Mitochondrial Positioning on Mitochondrial Ca²⁺ Uptake and Ca²⁺ Spark Suppression in Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 301:C1128-1139.
- Boncompagni, S., F. **Protasi**, and C. Franzini-Armstrong. 2012. Sequential stages in the gradual formation and accumulation of tubular aggregates in aging fast twitch muscle: SERCA and Calsequestrin Involvement. *Age*. 34:27-41.
- Tomasi, M., M. Canato, C. Paolini, M. Dainese, C. Reggiani, P. Volpe, F. **Protasi**, and A. Nori. 2012. Calsequestrin (CASQ1) rescues function and structure of calcium release units in skeletal muscles of CASQ1-null mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 302:C575-586.
- Yuen, B., S. Boncompagni, W. Feng, T. Yang, J. R. Lopez, K. I. Matthaei, S. R. Goth, F. **Protasi**, C. Franzini-Armstrong, P. D. Allen, and Isaac N. Pessah. 2011. Mice expressing T4826I-RYR1 are viable but exhibit gender- and genotype dependent susceptibility to malignant hyperthermia and muscle damage. *Faseb J*. 26:1311-1322.
- Denegri, M., J. E. Avelino-Cruz, S. Boncompagni, S. A. De Simone, A. Auricchio, L. Villani, P. Volpe, F. **Protasi**, C. Napolitano, and S. G. Priori. 2012. Viral gene transfer rescues arrhythmogenic phenotype and ultrastructural abnormalities in adult Calsequestrin-null mice with inherited arrhythmias. *Circulation Research*. 110:663-668.

PRINCIPALE CAMPO DI
INTERESSE NELLA
RICERCA DI BASE
(FELICIANO PROTASI):

Meccanismi di controllo dell'omeostasi del Calcio (accoppiamento eccitazione contrazione) nel muscolo scheletrico e implicazioni in miopatie genetiche ereditarie.

BREVE DESCRIZIONE
DELLA RICERCA PASSATA:

L'obiettivo principali della mia ricerca negli anni passati e' stato quello di comprendere le differenze strutturali, molecolari e fisiologiche esistenti tra l'accoppiamento eccitazione-contrazione (EC) dei muscoli scheletrico e cardiaco. I risultati della mia ricerca hanno dimostrato che, nel muscolo cardiaco, i sensori del voltaggio del tubulo traverso (DHPRs) non sono legati direttamente ai canali di rilascio del Ca^{2+} del reticolo sarcoplasmatico (RyRs, *Franzini and Protasi, 1997*). Questa mancanza di legame diretto tra RyRs e DHPRs è importante per il funzionamento del meccanismo di accoppiamento EC nel muscolo cardiaco: la mancanza di un *link* strutturale fra i DHPR e i RyR spiega la dipendenza dell'accoppiamento EC cardiaco da correnti di Ca^{2+} provenienti dall'ambiente extracellulare (*Sun et al., 1995; Protasi et al., 1996; Nakai et al., 1997; Franzini-Armstrong et al., 1998*), correnti che non sono invece necessarie nel muscolo scheletrico dove i due recettori sono in contatto diretto l'uno con l'altro (*Protasi et al., 1997 e 1998; Protasi, 2002; Paolini et al., 2004*). Inoltre, attraverso l'utilizzo di tecniche di biologia molecolare e transfezione con vettori virali (*Wang et al., 2001*) siamo anche andati a: a) studiare le differenze funzionali tra diverse isoforme di RyR (1, 2, e 3) espresse in culture disgeniche (*Protasi et al., 2000; Ward et al., 2000; Ward et al., 2001; Protasi et al., 2004*); e b) identificare diversi domini del RyR implicati nell'accoppiamento "meccanico" del muscolo scheletrico generando recettori chimerici (*Protasi et al., 2002; Lee et al., 2004*).

PROGETTI DI RICERCA
ATTUALI:

Rientrato in Italia nel Settembre 2002 - grazie all'appoggio dell'Università G. d'Annunzio di Chieti - ho avuto la possibilità di mettere insieme un gruppo di Ricerca ora costituito da 6 unità (dottorandi, post dottorandi e ricercatori) e di avviare diversi progetti di ricerca.

- Lesioni Spinali: recupero della funzionalità muscolare assistita in pazienti affetti da lesioni spinali. In questo progetto stiamo collaborando con le Università di Vienna e di Padova nello studio dell'efficacia di una innovativa tecnica di elettrostimolazione funzionale (functional electrical stimulation, FES) sviluppata con lo scopo preciso di rigenerare la muscolatura severamente atrofica degli arti inferiori in pazienti affetti da *long-term spinal cord injury (SCI)*. In questi studi abbiamo studiato sia muscoli umani che quelli di modelli animali prima e dopo periodi di FES. I risultati di questi studi stanno dimostrando come la severa atrofia muscolare dovuta a denervazione cronica - contrariamente a quanto creduto fino ad oggi dalla comunità scientifica e clinica - sia in realtà reversibile. Questo progetto ha portato a diverse pubblicazioni (*Kern et al., 2004; Modlin et al., 2005; Ashley et al., 2007 a e b; Kern et al., 2008; Biral et al., 2008; Squecco et al., 2009; Kern et al., 2010*) di cui una su PNAS uscita interamente dal nostro laboratorio (*Boncompagni et al., 2007*). L'impatto che questa linea di ricerca potrebbe avere sul trattamento post-traumatico dei pazienti paraplegici potrebbe essere significativo.

- Invecchiamento: ruolo dei sistemi che controllano l'omeostasi del calcio nella diminuita performance del muscolo scheletrico dell'anziano. In collaborazione con la cattedra di Fisiologia (Prof. Giorgio Fanò) della nostra Università e con la Prof. S. Fulle stiamo studiando le alterazioni a carico dell'apparato deputato all'attivazione muscolare (reticolo sarcoplasmatico e membrane esterne), e il ruolo che queste potrebbero avere nel declino della performance muscolare associata all'avanzare dell'età. In questo progetto biopsie umane sono state usate per studi strutturali e per la preparazione di sistemi *in-vitro* (*Fulle et al., 2004 e 2005; Boncompagni et al., 2006*). Più di

recente il progetto si è anche esteso all'utilizzo di modelli murini (Boncompagni et al., 2012; D'Incecco et al. In preparation).

- Mitocondri: interazione morfo-funzionale con i siti di rilascio del Ca^{2+} nel muscolo. I mitocondri sono in grado di leggere i livelli intracellulari di Ca^{2+} in maniera estremamente veloce e di modulare in questo modo il loro metabolismo. Noi stiamo studiando la interazione morfo-funzionale dei mitocondri muscolari con i siti di rilascio di Ca^{2+} nel muscolo scheletrico. Questi studi hanno portato all'identificazione di piccole strutture, o *tethers*, che legano i mitocondri agli stores intracellulari in una specifica posizione, possibilmente preferenziale per il Ca^{2+} signaling con il reticolo sarcoplasmatico (Boncompagni et al., 2009; Rossi et al., 2011). Questa interazione fra mitocondri e stores di Ca^{2+} sembra essere estremamente importante per la produzione di ATP e per il corretto funzionamento delle fibre muscolari (Boncompagni et al., 2009b; Wei et al., 2011).

SVILUPPI FUTURI:

- Calsequestrina: ruolo nel controllo del rilascio e re-uptake di Ca^{2+} dal reticolo sarcoplasmico. Questo è principale progetto del laboratorio - che ha portato finanziamenti MIUR, Telethon, e PRIN nel 2002, 2004 e 2008 – e ha come obiettivo lo studio del ruolo della Calsequestrina (CASQ) nel controllo e modulazione dell'omeostasi del Ca^{2+} nel muscolo scheletrico. Questo progetto ha portato a svariate pubblicazioni (Paolini et al., 2007; Royers et al., 2010; Canato et al., 2010; Paolini et al., 2011; Tomasi et al., 2012), ma proprio recentemente è stato nuovamente finanziato da Telethon (2009) in quanto nuovi risultati sembrano suggerire una possibile implicazione della CASQ in meccanismi patologici (Dainese et al., 2009; Protasi et al., 2009; Protasi et al., 2011). Vedi sotto.

- Calsequestrina (Calsequestrin): potenziale ruolo in miopatie umane ereditarie (progetto Telethon). Molte patologie muscolari sono associate a mutazioni di proteine coinvolte nel controllo dei livelli di calcio (Ca^{2+}). La calsequestrina (CASQ) è una proteina chiave che modula il rilascio/riassorbimento del Ca dal reticolo sarcoplasmatico (RS). Miopatie come l'ipertermia maligna (malignant hypothermia o MH, reazione agli anestetici caratterizzata da contratture muscolari e aumento incontrollato della temperatura, letale nell'uomo) e le miopatie del core (central core disease e multiminicore disease, CCD e MmD, caratterizzate da debolezza muscolare e degenerazione dell'architettura della fibra) risultano da livelli di Ca^{2+} alterati. Molti casi di MH e CCD nell'uomo, sono legati a mutazioni nel gene RYR, che codifica per il canale di rilascio del Ca^{2+} del RS (Durham et al., 2008). Tuttavia, non tutti i pazienti con MH o CCD, mostrano mutazioni del gene. Interessante è che la MH presenta molte somiglianze (stato ipermetabolico, aumento della temperatura corporea, etc.) con gli episodi di surriscaldamento, noti come colpi da calore (heat stroke, HS), scatenati da esercizio molto pesante o in condizioni ambientali difficili (temperatura e umidità elevate, etc.).

Il nostro progetto si basa su:

a – *una importante scoperta*: l'inattivazione del gene della CASQ1 nel topo aumenta la suscettibilità degli animali all'insorgere di episodi letali in risposta a stress da calore o anestetici, che sono alquanto simili alle crisi di MH e a HS nell'uomo (Dainese et al., 2009; Protasi et al., 2009; Protasi et al., 2011).

b – *una ipotesi*: dal momento che la CASQ interagisce con il RYR ed è cruciale per il controllo dei livelli di Ca, è plausibile ipotizzare che una mutazione della CASQ sia coinvolta in MH, HS e miopatie del core o CCD.

Lo scopo del progetto è di collezionare evidenze che avvalorino l'ipotesi, attraverso a) esperimenti su animali; e b) screening genetico su umani con MH e CCD. Cercheremo poi di sviluppare un approccio farmaco/dietetico con lo scopo di prevenire gli episodi di MH/HS e/o di far regredire il fenotipo patologico. I risultati potrebbero avere grande importanza per il trattamento di queste miopatie.

BIBLIOGRAFIA COMPLETA (FELICIANO PROTASI)

Reviews:

- 1 - Franzini-Armstrong, C., and F. **Protasi**. 1997. The ryanodine receptor of striated muscle: a complex channel capable of multiple interactions. *Physiol. Revs.* 77(3):699-729.
- 2 - Franzini-Armstrong, C., F. **Protasi**, and V. Ramesh. 1998. Comparative ultrastructure of calcium release units in skeletal and cardiac muscle. *Ann. NY Acad. Sci.* 853:20-31.
- 3 - **Protasi**, F. 2002. Structural interaction between RyRs and DHPRs in calcium release units of cardiac and skeletal muscle cells. In *The Structure and Function of Calcium Release Channels. Frontiers in Bioscience.* 7:d650-658.
- 4 - Fulle, S., F. **Protasi**, G. Di Tano, T. Pietrangelo, A. Beltramin, S. Boncompagni, L. Vecchiet, and G. Fanò. 2004. The contribution of reactive oxygen species to sarcopenia and muscle ageing. *Exp. Gerontol.* 39:17-24.
- 5 - Franzini-Armstrong, C., F. **Protasi**, and P. Tijsskens. 2005. The assembly of Calcium Release Units in cardiac muscle. *Ann. NY Acad.* 1047:76-85.
- 6 - **Protasi**, F., C. Paolini, and M. Dainese. 2009. Calsequestrin-1: a new candidate gene for malignant hyperthermia (MH) and environmental heat stroke (EHS). *J. Physiol.* 587:3095-3100.
- 7 - **Protasi**, F., Paolini, C., M. Canato, C. Reggiani and M. Quarta. 2011. The lesson of Calsequestrin-1 ablation in vivo: much more than a buffer, after all. *J. Mus. Res. Cell Mot.* 32:257-270.

Articoli originali:

- 8 - Sun, X-H., F. **Protasi**, M. Takahashi, H. Takeshima, D. G. Ferguson, and C. Franzini-Armstrong. 1995. Molecular architecture of membranes involved in excitation-contraction coupling of cardiac muscle. *J. Cell Biol.* 129:659-671.
- 9 - **Protasi**, F., X-H. Sun, and C. Franzini-Armstrong. 1996. Formation and maturation of calcium release apparatus in developing and adult avian myocardium. *Dev. Biol.* 173:265-278.
- 10 - Holtzer, H., T. Hijikata, Z. X. Lin, Z. Q. Zhang, S. Holtzer, F. **Protasi**, C. Franzini-Armstrong, and H. L. Sweeney. 1997. Independent assembly of 1.6 μm long bipolar MHC filaments and I-Z-I bodies. *Cell Structure and Function.* 22:83-93.
- 11 - Nakai, J., T. Ogura, F. **Protasi**, C. Franzini-Armstrong, P. D. Allen, and K. G. Beam. 1997. Functional non-equality of the cardiac and skeletal ryanodine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:1019-1022.
- 12 - **Protasi**, F., C. Franzini-Armstrong, and B. E. Flucher. 1997. Coordinated incorporation of skeletal muscle dihydropyridine receptors and ryanodine receptors in peripheral couplings of BC₃H1 cells. *J. Cell Biol.* 137:859-870.
- 13 - Barone, V., F. Bertocchini, R. Bottinelli, F. **Protasi**, P. D. Allen, C. Franzini Armstrong, C. Reggiani, and V. Sorrentino. 1998. Contractile impairment and structural alterations of skeletal muscles from knockout mice lacking type 1 and type 3 ryanodine receptors. *FEBS letters.* 422:160-164.
- 14 - **Protasi**, F., C. Franzini-Armstrong, and P. D. Allen. 1998. Role of ryanodine receptors in the assembly of calcium release units in skeletal muscle. *J. Cell Biol.* 140:831-842.
- 15 - Franzini-Armstrong, C., F. **Protasi**, and V. Ramesh. 1999. Shapes, sizes and distributions of Ca²⁺ release units and couplons in a variety of skeletal and cardiac muscles. *Biophys J.* 77:1528-1539.
- 16 - Wang, Y., C. Fraefel, F. **Protasi**, R. A. Moore, J. D. Fessenden, I. N. Pessah, A. DiFrancesco, X. Breakefield, and P. D. Allen. 2000. HSV-1 amplicon vectors are a highly efficient gene delivery system for skeletal myoblasts and myotubes. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 278:C619-6126.
- 17 - Ward, C. W., M. F. Schneider, D. Castillo, F. **Protasi**, Y. Wang, S. R. W. Chen, and P. D. Allen. 2000. Expression of ryanodine receptor 3 produces Ca²⁺ sparks in dyspedic myotubes. *J. Physiol (Lond.)* 525:91-103.
- 18 - **Protasi**, F., H. Takekura, Y. Wang, S. R. W. Chen, G. Meissner, P. D. Allen, and C. Franzini-Armstrong. 2000. RyR₁ and RyR₃ have different roles in

- the assembly of calcium release units of skeletal muscle. *Biophys. J.* 79:2494-2508.
- 19 - Ward, C. W., F. **Protasi**, D. Castillo, Y. Wang, S. R. W. Chen, R. A. Moore, I. N. Pessah, P. D. Allen, and M. F. Schneider. 2001. Type 1 and type 3 ryanodine receptors generate different Ca^{2+} release event activity in both intact and permeabilized myotubes. *Biophys. J.* 81:3216-3230.
- 20 - Felder, E., F. **Protasi**, R. Hirsh, C. Franzini Armstrong, and P. D. Allen. 2002. Morphology and molecular composition of sarcoplasmic reticulum surface junctions in the absence of DHPR and RyR in mouse skeletal muscle. *Biophys. J.* 82:3144-3149.
- 21 - Pietrangelo, T., M. A. Mariggio', P. Lorenzon, S. Fulle, F. **Protasi**, M. Rathbone, E. Werstiuk, and G. Fano'. 2002. Characterization of specific GTP binding sites in C2C12 mouse skeletal muscle cells. *J. Mus. Res. Cell. Motil.* 23:107-118.
- 22 - **Protasi**, F., C. Paolini, J. Nakai, K. G. Beam, C. Franzini Armstrong, and P. D. Allen. 2002. Multiple regions of RyR1 mediate functional and structural interactions with α_{1S} -DHPR in skeletal muscle. *Biophys. J.* 83:3230-3244.
- 23 - Shtifman, A., C. Paolini, J. R. Lopez, P. D. Allen, and F. **Protasi**. 2004. Ca^{2+} influx through α_{1S} DHPR may play a role in regulating Ca^{2+} release from RyR1 in skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 286:C73-C78.
- 24 - Lee, E. H., J. R. Lopez, J. Li, F. **Protasi**, I. N. Pessah, D. H. Kim, and P. D. Allen. 2004. Conformational coupling of DHPR and RyR1 in skeletal myotubes is influenced by long-range allostery: evidence for a negative regulatory module. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 286:C179-C189.
- 25 - **Protasi**, F., A. Shtifman, J. Julian, and P. D. Allen. 2004. All three ryanodine receptor isoforms generate rapid cooling responses in muscle cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 286: C662-C670.
- 26 - Paolini, C., F. **Protasi**, and C. Franzini-Armstrong. 2004. The relative position of RyR feet and DHPR tetrads in skeletal muscle. *J. Mol. Biol.* 342: 145-153.
- 27 - Kern, H., S. Boncompagni, K. Rossini, W. Mayr, G. Fano', M. E. Zanin, M. Podhorska-Okolow, F. **Protasi**, and U. Carraro. 2004. Long-term denervation in humans causes degeneration of both contractile and excitation-contraction coupling apparatus that can be reversed by functional electrical stimulation (FES). A role for myofiber regeneration? *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 63: 919-931.
- 28 - Modlin, M., C. Forstner, C. Hofer, W. Mayr, W. Richter, U. Carraro, F. **Protasi**, and H. Kern. 2005. Electrical stimulation of denervated muscles: first results of a clinical study. *Artif. Organs.* 29: 203-206.
- 29 - Fulle, S., S. Di Donna, C. Puglielli, T. Pietrangelo, F. **Protasi**, and G. Fanò. 2005. Age-dependent imbalance of the antioxidative system in human satellite cell. *Exp. Gerontol.* 40: 189-197.
- 30 - Boncompagni, S., L. d'Amelio, S. Fulle, G. Fanò, and F. **Protasi**. 2006. Progressive disorganization of the excitation-contraction coupling apparatus in ageing human skeletal muscle as revealed by electron microscopy: a possible role in the decline of muscle performance. *J. Gerontol. Biol. Sci.* 61:995-1008.
- 31 - Ashley, Z., H. Sutherland, H. Lanmuller, M. F. Russold, E. Unger, M. Bijak, W. Mayr, S. Boncompagni, F. **Protasi**, S. Salmons, J. C. Jarvis. 2007. Atrophy, but not necrosis, in rabbit skeletal muscle denervated for periods up to one year. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 292:C440-451.
- 32 - Divet, A., S. Paesante, C. Grasso, D. Cavagna, C. Tiveron, C. Paolini, F. **Protasi**, C. Huchet-Cadiou, S. Treves, and F. Zorzato F. 2007. Increased Ca^{2+} storage capacity of the skeletal muscle sarcoplasmic reticulum of transgenic mice overexpressing membrane bound calcium binding protein Junctate. *J. Cell Physiol.* 213:464-474.
- 33 - Paolini, C., M. Quarta, A. Nori, S. Boncompagni, M. Canato, P. Volpe, C. Reggiani, P. D. Allen, and F. **Protasi**. 2007. Re-organized stores and impaired calcium handling in skeletal muscle of mice lacking calsequestrin-1. *J. Physiol.* 583:767-784.
- 34 - Ashley, Z., S. Salmons, S. Boncompagni, F. **Protasi**, M.F. Russold, H. Lanmuller, W. Mayr, H. Sutherland, and J. C. Jarvis. 2007. Effects of chronic

- electrical stimulation on long-term denervated muscles of the rabbit hind limb. *J. Mus. Res. Cell Motil.* 28:203-217.
- 35 - Boncompagni, S., H. Kern, K. Rossini, W. Mayr, U. Carraro, and F. **Protasi**. 2007. Structural differentiation of skeletal muscle fibers in absence of innervation in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104:19339-19344.
- 36 - Kern, H., C. Hofer, M. Mödlin, W. Mayr, V. Vindigni, S. Zampieri, S. Boncompagni, F. **Protasi**, and U. Carraro. 2008. Steady state muscle atrophy in long-term paraplegics with complete upper motor neuron lesion. *Spinal Cord.* 46:293-304.
- 37 - Biral, D., H. Kern, N. Adami, S. Boncompagni, F. **Protasi**, and U. Carraro. 2008. Atrophy-resistant fibers in permanent peripheral denervation of human skeletal muscle. *Neurological Research.* 30:137-144.
- 38 - Durham, W. J., P. Aracena-Parks, C. Long, A. E. Rossi, S. A. Goonasekera, S. Boncompagni, D. L. Galvan, C. P. Gilman, N. Shirokova, F. **Protasi**, R. T. Dirksen, and S. L. Hamilton. 2008. RYR1 S-Nitrosilation underlies environmental heat stroke and sudden death in Y522S RyR1 knockin mice. *Cell.* 133:53-65.
- 39 - Rizzi, N., L. Nian, C. Napolitano, A. Nori, F. Turcato, B. Colombi, S. Bicciato, D. Arcelli, A. Spedito, M. Scelsi, L. Villani, G. Esposito, S. Boncompagni, F. **Protasi**, P. Volpe, and S. G. Priori. 2008. Unexpected structural and functional consequences of the R33Q homozygous mutation in cardiac calsequestrin. A complex arrhythmogenic cascade in a knock-in mouse model. *Circulation Research.* 103:298-306.
- 40 - Dobrovolny, G., M. Augello, E. Rizzuto, S. Beccafico, C. Mammucari, S. Boncompagni, S. Belia, F. Wannenes, C. Nicoletti, Z. Del Prete, N. Rosenthal, M. Molinaro, F. **Protasi**, G. Fanò, M. Sandri, and A. Musarò. 2008. Skeletal muscle is a primary target of SOD1^{G93A}-mediated toxicity. *Cell Metabolism.* 8:425-436.
- 41 - Boncompagni, S., A. E. Rossi, M. Micaroni, G. V. Beznoussenko, R. S. Polishchuk, R. T. Dirksen, and F. **Protasi**. 2009. Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures. *Mol. Biol. Cell.* 20:1058-1067.
- 42 - Dainese, M., M. Quarta, A. D. Lyfenko, C. Paolini, M. Canato, C. Reggiani, R. T. Dirksen, and F. **Protasi**. 2009. Anesthetic- and heat induced sudden death in calsequestrin-1 knockout mice. *FASEB J.* 23:1710-1720.
- 43 - Squecco, R., U. Carraro, H. Kern, A. Pond, N. Adami, D. Biral, V. Vindigni, S. Boncompagni, T. Pietrangelo, G. Bosco, G. Fanò, M. Marini, P. M. Abruzzo, E. Germinario, D. Danieli-Betto, F. **Protasi**, F. Francini, and S. Zampieri. 2009. A sub-population of rat muscle fibers maintains an assessable excitation-contraction coupling mechanism after long-standing denervation, despite lost contractility. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 68:1256-1268.
- 44 - Boncompagni, S., A. E. Rossi, M. Micaroni, S. L. Hamilton, R. T. Dirksen, C. Franzini-Armstrong, and F. **Protasi**. 2009. Characterization and temporal development of cores in a mouse model of malignant hyperthermia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106:21996-22001.
- 45 - Kern, H., U. Carraro, N. Adami, D. Biral, C. Hofer, C. Forstner, M. Mödlin, M. Vogelauer, A. Pond, S. Boncompagni, C. Paolini, W. Mayr, F. **Protasi**, and S. Zampieri. 2010. Home-based Functional Electrical Stimulation rescues permanently denervated muscles in paraplegic patients with complete lower motor neuron lesion. *Neurorehabilitation and Neural Repair.* 24:709-721.
- 46 - Royer, L., M. Sztretye, C. Manno, S. Pouvreau, J. Zhou, B. C. Knollmann, F. **Protasi**, P. D. Allen, and E. Ríos. 2010. Paradoxical buffering of calcium by calsequestrin demonstrated for the calcium store of skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* 136:325-338.
- 47 - M. Canato, M. Scorzeto, M. Giacomello, F. **Protasi**, C. Reggiani, and G. J. M. Stienen. 2010. Massive alterations of sarcoplasmic reticulum free calcium in skeletal muscle fibers lacking calsequestrin revealed by a genetically encoded probe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107:22326-22331.
- 48 - Wei, L., G. Salahura, S. Boncompagni, K. A. Kasischke, F. **Protasi**, S-S. Sheu, R. T. Dirksen. 2011. Mitochondrial superoxide flashes: metabolic biomarkers of skeletal muscle activity and disease. *Faseb J.* 25:3068-3078.
- 49 - Rossi, A. E., S. Boncompagni, L. Wei, F. **Protasi**, and R. T. Dirksen. 2011.

Differential Impact of Mitochondrial Positioning on Mitochondrial Ca²⁺ Uptake and Ca²⁺ Spark Suppression in Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 301:C1128-1139.

50 - Paolini, C., M. Quarta, L. d'Onofrio, C. Reggiani, and F. Protasi. 2011. Differential effect of calsequestrin ablation on structure and function of fast and slow twitch skeletal fibers. *J. Biomed. Biotechnol.* Epub Sep 14. PMID: 21941434.

51 - Iannitelli, A., R. Grande, A. Di Stefano, M. Di Giulio, P. Sozio, L. J. Bessa, S. Laserra, C. Paolini, F. **Protasi**, and L. Cellini. 2011. Potential antibacterial activity of carvacrol-loaded PLGA nanoparticles against microbial biofilm. *Int. J. Mol. Sci.* 12:5039-5051.

52 - Kern, H., L. Pelosi, L. Coletto, A. Musarò, M. Sandri, M. Vogelauer, L. Trimmel, J. Cvecka, D. Hamar, J. Kovarik, S. Löfler, N. Sarabon, F. **Protasi**, N. Adami, D. Biral, S. Zampieri, and U. Carraro. 2011. Atrophy/hypertrophy cell signaling in muscles of young athletes trained with vibrational-proprioceptive stimulation. *Neurological Research.*33:998-1009.

53 - Boncompagni, S., F. **Protasi**, and C. Franzini-Armstrong. 2012. Sequential stages in the gradual formation and accumulation of tubular aggregates in aging fast twitch muscle: SERCA and Calsequestrin Involvement. *Age.* 34:27-41.

54 - Tomasi, M., M. Canato, C. Paolini, M. Dainese, C. Reggiani, P. Volpe, F. **Protasi**, and A. Nori. 2012. Calsequestrin (CASQ1) rescues function and structure of calcium release units in skeletal muscles of CASQ1-null mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 302:C575-586.

55 - Yuen, B., S. Boncompagni, W. Feng, T. Yang, J. R. Lopez, K. I. Matthaei, S. R. Goth, F. **Protasi**, C. Franzini-Armstrong, P. D. Allen, and Isaac N. Pessah. 2011. Mice expressing T4826I-RYR1 are viable but exhibit gender- and genotype dependent susceptibility to malignant hyperthermia and muscle damage. *Faseb J.* 26:1311-1322.

56 - Denegri, M., J. E. Avelino-Cruz, S. Boncompagni, S. A. De Simone, A. Auricchio, L. Villani, P. Volpe, F. **Protasi**, C. Napolitano, and S. G. Priori. 2012. Viral gene transfer rescues arrhythmogenic phenotype and ultrastructural abnormalities in adult Calsequestrin-null mice with inherited arrhythmias. *Circulation Research.* 110:663-668.

57 - Boncompagni, S., C. E. Moussa, E. Levy, M. J. Pezone, J. R. Lopez, F. **Protasi**, and A. Shtifman. 2012. Mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of amyloid precursor protein (APP) overexpressing mice. *J. Biol. Chem.* 287:20534-20544.