Universiteit
Leiden
The Netherlands

Delineating the DNA damage response using systems biology approaches

Stechow, L. von

Citation

Stechow, L. von. (2013, June 20). *Delineating the DNA damage response using systems biology approaches*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/20983

Version:	Corrected Publisher's Version
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/20983

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

The handle http://hdl.handle.net/1887/20983 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Stechow, Louise von
Title: Delineating the DNA damage response using systems biology approaches
Issue Date: 2013-06-20

NEDERLANDSE SAMENVATTING
ENGLISH SUMMARY
DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG
LIST OF ABBREVIATIONS
CURRICULUM VITAE
LIST OF PUBLICATIONS

NEDERLANDSE SAMENVATTING

DNA beschadiging is een belangrijke oorzaak voor de ontwikkeling van kanker en veroudering; en therapie die DNA schade induceert is een standaardbehandeling voor verschillende type tumoren. Inductie van DNA beschadiging veroorzaakt een complexe cellulaire reactie, de *DNA damage response* (DDR) genaamd. Deze reactie initieert cellulaire programma's, zoals DNA herstel, om met de DNA-schade om te gaan en dient tegelijkertijd om DDR processen met voortdurende cellulaire functies zoals celcyclus, transcriptie of translatie te coördineren. Een aantal van deze cellulaire signalering routes zijn geïntegreerd om het resultaat van beschadiging van cellulair DNA te bepalen. Dit kan reparatie en regeneratie zijn, of bij onherstelbare DNA schade, het verwijderen van cellen door apoptose, senescence of differentiatie. Overleving van cellen met beschadigd DNA kan leiden tot mutaties en chromosomale afwijkingen en daaropvolgende maligne transformatie. De overvloed van cellulaire reacties op DNA-schade vereist het gebruik van onpartijdige, systeem-brede studies om een duidelijker beeld te krijgen hoe signalen van DNA schade in de cel te worden verwerkt en om uiteindelijk een beter begrip van het ontstaan en de genezing van kanker te komen.

De eerste twee hoofdstukken van dit werk geven een overzicht van DNA-schade geïnduceerde cellulaire reacties zoals DNA reparatie, celcyclus, apoptose en differentiatie van stamcellen **(hoofdstuk I)**; en een overzicht van de recente pogingen om de DDR met systeem-brede studies te onderzoeken **(hoofdstuk II)**. In **hoofdstuk III-V,** worden de verschillende aspecten van de DDR bestudeerd in muis embryonale stam (ES) cellen door middel van RNAi screening, transcriptomics, phosphoproteomics, and metabolomics. ES cellen werden gekozen om een robuuste "wild type" DDR te ontrafelen en daarin kritische elementen te identificeren die vervolgens in verscheidene kankercel typen verder worden onderzocht in **hoofdstuk VI**.

In **hoofdstuk III** is de DDR in ES cellen onderzocht door veranderingen in genexpressie en fosforylering van eiwitten te combineren met de op RNAi-gebaseerde identificatie van DDR modulatoren. Dit leidde tot de vorming van geïntegreerde signaalnetwerken, gebaseerd op veel voorkomende cellulaire signaalwegen. Deze veel voorkomende cellulaire signaalwegen kunnen worden onderverdeeld in drie hoofdgroepen, te weten DDR, celcyclus en overleving, differentiatie en ontwikkeling. Na onderzoek van het belang van verschillende signaleringsnetwerken voor de overleving van ES cellen in aanwezigheid van DNA schade, kan de nadruk gelegd worden op de Wnt signaleringsroute. Deze werd door genotoxische stress opgereguleerd in een p53-onafhankelijke wijze, wat leidde tot verhoogde cellulaire overleving. Verder onderzoek van het Wnt-signalering netwerk identificeerde de CSNK1A1 kinase, die de stabiliteit van β-catenin negatief reguleert, als een belangrijke speler in de door DNA-schade veroorzaakte Wnt-signalering.

In **hoofdstuk IV** leidde een siRNA screen voor cellulaire ubiquitinering en sumoylatie processen tot de identificatie van de E3 ubiquitine ligase ARIH1. Het uitschakelen van ARIH1 maakte ES cellen en kankercellen gevoelig voor genotoxische

stress, ongeacht hun p53 of caspase-3 status. Uit verder onderzoek bleek dat ARIH1 mRNA translatie blokkeerde middels de regulering van 4ehp-binding aan de 5' mRNA cap. 4ehp is een concurrent van de translatie initiatie factor Eif4e en grijpt in op de translatie door de ribosoomwerving te belemmeren. Sensibilisering door ARIH1 knockdown kon worden geblokkeerd door tegelijkertijd translatie via een andere route, te blokkeren, wat aangeeft dat de translatie blokkade door ARIH1 voornamelijk verantwoordelijk is voor zijn pro-survival effect.

In **hoofdstuk V** van dit proefschrift combineerden we cisplatine-geïnduceerde veranderingen in genexpressie met veranderingen van metabole profielen in ES-cellen. Een aantal van de veranderd gereguleerde metabolische enzymen kunnen worden aangeduid als p53-induceerbare genen. Verrijkte metabole signaalwegen, bevatten routes gecentreerd rond de metaboliet S-adenosylmethionine, die fungeert als een methyl donor in cellulaire methyleringsreacties; maar ook metabole routes gericht op het metabolisme van proline en arginine en nucleotide metabolisme. Vescheidene studies hebben een rol voor oxidatieve stress gesuggereerd in de cellulaire reactie op cisplatine. In onze studie spreken de geïdentificeerde metabolische profielen, de transcriptoom veranderingen en directe bepaling van accumulatie van zuurstof radicalen een algemene verhoging van cellulaire oxidatietoestand tegen.

In **hoofdstuk VI** zijn de resultaten van RNAi screens in ES-cellen geëxtrapoleerd naar kanker cellijnen met verschillende genetische achtergronden. We waren in staat om enkele moleculen te identificeren waarvan eliminatie sensibilisering van alle geteste cellijnen veroorzaakte. Onder andere de dubbele specificiteit fosfatase DUSP15, een molecuul dat nog niet in context met DNA schade was gebracht. DUSP15 kan worden betrokken bij de regulatie van p38/MAPK signalering in p53-competente HepG2 cellen, maar niet in p53-deficiënte MCF7 en H1299 cellen. Dit duidt op verschillende werkingsmechanismes in verschillende kankercellijnen.

Zoals samengevat in **hoofdstuk VII**, waren we in staat om met onze systeem-brede studie van de DDR in ES-cellen en kankercellen, nieuwe factoren te identificeren welke belangrijk zijn voor de cellulaire respons op DNA-schade, zoals de CSNK1A1 kinase, de fosfatase DUSP15 of de E3 ubiqtuin ligase ARIH1. We waren in staat om processen zoals Wnt signalering en translationele veranderingen in metabole netwerken te koppelen aan combineren met de cellulaire reactie op DNA schade. Verdere studies zullen de mogelijkheden aantonen om de geïdentificeerde signaleringsnetwerken en DDR factoren te gebruiken als biomerkers en therapeutische targets.

ENGLISH SUMMARY

DNA damage is a major cause of cancer formation and ageing; and DNA damage-inducing therapy is standard treatment for various tumor types. Induction of DNA damage elicits a complex cellular response, termed the DNA damage response (DDR). This response initiates programs to cope with the genotoxic insult, such as DNA repair and at the same time serves to coordinate damage-induced processes with ongoing cellular functions, such as cell cycle progression, transcription or translation. The multitude of those cellular signaling routes is integrated to determine the cellular outcome of DNA damage, which can be repair and recovery, or, if damage is beyond repair, removal of cells by apoptosis, senescence, or differentiation. Cell survival in the presence of DNA damage can lead to mutations and chromosomal aberration and subsequent malignant transformation. The plethora of DNA damage-mediated cellular responses necessitates the use of unbiased, genome-wide studies, in order to get a clearer picture of how DNA damage signals are processed and finally get to a better understanding of the process of cancer formation and its cure.

The first two chapters of this thesis give an overview of DNA damage-induced cellular responses, such as DNA repair, cell cycle arrest, apoptosis and stem cell differentiation **(Chapter I)** and summarize recent attempts to study the DDR using high-throughput, "systems" studies **(Chapter II)**. In **Chapters III-V,** different aspects of the DDR are studied in mouse embryonic stem (ES) cells by means of RNAi screening, transcriptomics, phosphoproteomics, and metabolomics. ES cells were chosen in order to unravel a robust, "wild type" DDR and identify critical elements in that system that are subsequently interrogated in a variety of cancer cell types in **Chapter VI**.

In **Chapter III**, the DDR in ES cells was studied by combining transcriptomic and phosphoproteomic changes with the RNAi-based identification of DDR modulators, leading to the formation of integrated signaling networks, which are based on highly enriched cellular pathways. Those overrepresented cellular pathways fall into three main groups, including DDR, Cell cycle and Survival; and Differentiation and Development-related pathways. After testing different signaling networks for their importance of ES cell survival in the presence of DNA damage, special emphasis could be attributed to the Wnt signaling response, which was upregulated in a p53-independent manner after genotoxic stress and led to enhanced survival. Further investigation of the Wnt signaling network identified the kinase CSNK1a1, which negatively regulates the stability of β-Catenin, as a key player in DNA damage-induced Wnt signaling.

In **Chapter IV,** an siRNA screen for the cellular ubiquitination and sumoylation machinery led to the identification of the E3 ubiquitin ligase ARIH1. Silencing of ARIH1 sensitized ES cells and cancer cells to genotoxic stress, irrespective of their p53 or caspase-3 status. Further investigation determined that ARIH1 mediated a block in mRNA translation, which was achieved by regulation of cap binding of 4ehp. 4ehp is a competitor of the translation initiation factor Eif4e and interferes with translation, by hindering the initiation of ribosome recruitment. Sensitization by ARIH1 knockdown

could be reversed by simultaneously blocking translation via another route, indicating that translation arrest is the main mechanism responsible for the pro-survival role of ARIH1.

In **Chapter V** of this thesis, we integrated cisplatin-induced transcriptomic changes with alterations of metabolic profiles in ES cells. Interestingly, a number of the differentially regulated enzymes within those pathways could be shown to be p53 target genes. Enriched metabolic pathways, included pathways centered on the metabolite S-Adenosylmethionine, which serves as a methyldonor in cellular methylation reactions, as well as the metabolism of arginine and proline and nucleotide metabolism-related pathways. While many studies have suggested a role of oxidative stress in the cellular response to cisplatin, overall metabolic profiles, transcriptomic changes, and direct assessment of accumulation of reactive oxygen species all argue against a general increase of the cellular oxidation status.

In **Chapter VI** findings from ES cell RNAi screens were extrapolated to cancer cell lines of variable genetic backgrounds, identifying a subset of molecules whose knockdown was capable of sensitizing all tested cell lines. Those include the dual-specific phosphatase DUSP15, a molecule, which had not yet been linked to the DDR. DUSP15 appears to be implicated in regulation of p38/MAPK signaling in p53-proficient Hepg2 but not in p53-deficient Mcf7 and H1299 cells, pointing to distinct mechanisms of action in different cancer cell lines.

As discussed in **Chapter VII** our systems approach to study the DDR in ES cells and cancer cells, enabled us to identify novel DDR signaling factors such as the kinase CSNK1a1, the phosphatase DUSP15 or the E3 ubiquitin ligase ARIH1. We could link processes such as Wnt signaling, translation inhibition but also altered metabolic networks to the cellular response to DNA damage. Further studies will show the potential to exploit the identified signaling networks and DDR factors as biomarkers and therapeutic targets.

DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG

Schädigung der DNA ist eine der Hauptursachen für die Entstehung von Krebs und Altern, und DNA Schäden-induzierende Therapie wir als Standard Behandlung für verschiedene Tumorarten angewendet.

Induktion von DNA Schädigung ruft eine komplexe zelluläre Antwort hervor, die als *DNA damage response* (DDR) bezeichnet wird. Diese Reaktion initiiert zelluläre Programme um die Schädigung der DNA zu bewältigen, wie zum Beispiel DNA-Reparatur und dient gleichzeitig dazu DDR-Prozesse mit laufenden Zellfunktionen wie Zellzyklus, Transkription oder Translation zu koordinieren. Die Vielzahl dieser zellulären Signalwege wird integriert, um das zelluläre Ergebnis der DNA-Schädigung zu bestimmen. Dies kann die Reparatur und Regenerierung sein oder, wenn der DNA Schaden irreparabel ist, die Entfernung von Zellen durch Apoptose oder Differenzierung. Überleben von Zellen mit beschädigter DNA kann zu Mutationen und chromosomalen Aberrationen und anschließender maligner Transformation führen. Die Fülle der durch DNA-Schädigung vermittelten zellulären Reaktionen erfordert die Verwendung unvoreingenommene, systemweiten Studien, um ein klareres Bild davon zu bekommen, wie DNA-Schäden in der Zelle verarbeitet werden und zu einem besseren Verständnis des Prozesses der Krebsentstehung und seiner Heilung zu kommen .

Die ersten beiden Kapitel dieser Arbeit geben einen Überblick über DNA-Schädigung-induzierte zelluläre Reaktionen, wie DNA-Reparatur, Zellzyklus, Apoptose und Differenzierung von Stammzellen **(Kapitel I)** und fassen die jüngsten Versuche, die DDR mit systemweiten Studien zu analysieren **(Kapitel II)**. In den **KapiteIn III-V**, wurden verschiedene Aspekte der DDR in embryonalen Stammzellen (ES) Zellen mit Hilfe von RNAi-Screens, Transkriptom, Phosphoproteom und Metabolom Analysen untersucht. ES-Zellen wurden gewählt, um eine robuste, “wildtyp” DDR zu analysieren und kritische Faktoren in diesem System zu identifizieren, die anschließend in **Kapitel VI** in verschiedenen Arten von Krebszellen untersucht wurden.

In **Kapitel III** wurde die DDR in ES-Zellen durch Kombination von Studien von Änderungen der Genexpression und Phosphorylierung von Proteinen, sowie der RNAi-basierten Identifikation von DDR-Modulatoren analysiert. Die verschiedenen Daten wurden zur Bildung von integrierten Signalnetzwerken kombiniert. Überrepräsentierte zelluläre Signalwege ließen sich in drei Hauptgruppen einteilen, DDR; Zellzyklus und Überleben; und Differenzierung und Entwicklung. Nach Prüfung verschiedener Signalnetzwerke für die Bedeutung von ES Zell-Überleben in Gegenwart von DNA-Schädigung konnte besonderes Gewicht auf den Wnt Signalweg gelegt werden. Dieser wurde in einer p53-unabhängigen Weise von genotoxischem Stress hochreguliert und führte zu erhöhten zellulären Überlebenschancen. Weitere Untersuchungen des Wnt Signalnetzwerks, identifizierte die Kinase CSNK1A1, welche die Stabilität des Signalmoleküls β-Catenin negativ reguliert und als wichtiger Akteur der von DNA-Schäden induzierten Wnt-Signalantwort impliziert werden konnte.

In **Kapitel IV**, führte ein siRNA screen für die zelluläre Ubiquitin und Sumo Maschinerie zur einer Identifizierung der E3 Ubiquitin Ligase ARIH1. Ausschalten von ARIH1 sensibilisierte ES Zellen und Krebszellen für genotoxischen Stress, unabhängig von zellulärem p53 oder Caspase-3-Status. Weitere Untersuchungen stellten fest, dass ARIH1 einen Block der mRNA Translation hervorrief, der durch erhöhtes Binden von 4ehp an die Kappenstruktur der mRNA vermittelt wurde. 4ehp ist ein Konkurrent des Translationsinititationsfaktors eIF4E und inhibiert Translation durch Binden an die mRNA Kappenstruktur und Behinderung des Rekrutierens von Ribosomen. Sensibilisierung durch ARIH1 knockdown konnte durch gleichzeitiges Blockierung von Translation über eine andere Route inhibiert werden, was darauf hindeutet, dass der translationsblockierende Effekt von ARIH1 entscheidend für seine überlebensförderende Wirkung war.

In **Kapitel V** dieser Arbeit, kombinierten wir Cisplatin-induzierte Veränderungen der Genexpression mit Analyse von metabolischen Profilen in ES-Zellen. Eine Anzahl von differentiell regulierten metabolischen Enzymen konnte als p53-induzierbare Gene identifiziert weden. Überrepräsentierte, metabolische Signalwege, waren zum Beispiel auf der Metabolit S-Adenosylmethionin, das als Methyldonor in zellulären Methylierungsreaktionen fungiert zentriert. Andere metabolische Signalwege, fokussierten auf den Stoffwechsel von Arginin und Prolin und Nukleotid-Metabolismus. Während viele Studien eine Rolle von oxidativem Stress in der zellulären Antwort auf Cisplatin suggerierten, sprachen die von uns identifizierten metabolischen Profile und transkriptionellen Änderungen, sowie die direkte Analyse der Bildung von Sauerstoff-Radikalen gegen eine allgemeine Erhöhung des zellulären Oxidation Status.

In **Kapitel VI** wurden die Ergebnisse aus RNAi-Screens in ES-Zellen auf Krebszelllinien mit variablen genetischen Hintergründen extrapoliert. Wir konnten somit einige Moleküle identifizieren, deren Ausschaltung die Sensibilisierung aller getesteten Zelllinien gegenüber genotoxischem Stress hervorrief. Zu diesen Molekülen gehöre die dual-spezifische Phosphatase DUSP15, ein Molekül, dessen Funktion zuvor nicht an die zelluläre Antwort auf DNA-Schäden wurde geknüpft worden war. DUSP15 schien eine Rolle in der Regulation des p38/MAPK Signalweges in p53-kompetenten HepG2 Zellen zu haben, jedoch nicht p53-defizienten MCF7 und H1299 Zellen, was einen anderen Wirkmechanismus in anderen Tumor Zelllinien suggeriert.

Wie in **Kapitel VII** zusammengefasst, konnten unsere systemweiten Studien der DDR in ES Zellen und Krebszellen neue wichtige Faktoren für die zelluläre Antwort auf DNA Schädigung identifizieren, so wie die Kinase CSNK1A1, die Phosphatase DUSP15 oder die E3 Ubiqtuin Ligase ARIH1. Wir konnten Prozesse wie Wnt, Translationsinhibition und Änderungen von metabolischen Netzwerken mit der zellulären Reaktion auf DNA-Schädigung verbinden. Weitere Studien werden das Potenzial, die identifizierten Signalnetzwerke und DDR Faktoren als Biomarker und therapeutische Targets zu nutzen zeigen.

LIST OF ABBREVIATIONS

(d)NTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
4ehp	eIF4E-Homologous Protein
53BP1	p53 binding protein 1
Aldh4a1	Aldehyde dehydrogenase 4 family, member A1
ARIH1	Ariadne homologue drosophila 1
ATM	Ataxia-telangiectasia mutated
ATR	ATM and RAD3 related
ATRIP	ATR interacting protein
Bad	BCL2-associated agonist of cell death
BAK	BCL2-antagonist/killer 1
Bcl2	B cell leukemia/lymphoma 2
BD	Becton, Dickinson
BER	Base excision repair
BIO	6-bromoindirubin-3'-oxime
BMP	Bone Morphogenetic Protein
BMPR	Bone Morphogenetic Protein Receptor
BRCA1	Breast cancer 1, early onset
BRCA2	Breast cancer 2, early onset
Btg2	B-cell translocation gene 2
CBP	CREB binding protein
CDC25	Cell division cycle 25
CDCl3	Deuterated chloroform
Cdk	Cyclin-dependent kinase
CHD4	chromodomain helicase DNA binding protein 4
Chk	Checkpointkinase
CP	Cisplatin
Csnk1a1	Casein kinase 1 alpha
CYLD	Cylindromatosis
DDB	Damage-specific DNA binding protein
DDR	DNA damage response
DEM	Diethyl maleate
DHFR	Dihydrofolate reductase
DMAP1	DNA methyltransferase 1-associated protein
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleidacid
DNA-PK	DNA dependent protein kinase
Dox	Doxorubicin
DRAM1	DNA damage regulated autophagy modulator 1
DSB	Double strand break
DUB	Deubiquitinase
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EdU	5-ethynyl-2-deoxyuridine
eiF4E	Eukaryotic translation initiation factor 4 E
eiF4Ebp	Eukaryotic translation initiation factor 4 E binding protein
eiF2α	Eukaryotic translation initiation factor 2 alpha
ES	Embryonic stem
FA	Fanconi Anemia
FACS	Fluorescence activated cell sorting
FADD	Fas-associated death domain protein
FBS	Fetal bovine serum
Fbxw7	F-box and WD repeat domain containing 7
FITC	Fluorescein isothiocyanate
G1	Gap1 (cell cycle phase)
G2	Gap2 (cell cycle phase)
GADD45	Growth arrest and DNA damage-inducible protein 45
GATM	Glycine amidinotransferase

GFP	Green fluorescent protein
GGR	Global genome repair
γH2AX	Phosphorylated histone 2AX
GMEM	Glasgow Minimum Essential Medium
GSH	Glutathione
GSK3β	Glycogen synthase kinase 3 beta
GSTO	Glutathione S-transferase omega 1
gy	Gray
h	Hours
H_2O_2	Hydrogen peroxide
HA	Hemagglutinin (influenza)
HAUSP	Herpesvirus-associated ubiquitin-specific protease
HNPCC	Hereditary non-polyposis colorectal cancer
HR	Homologous recombination
HRP	Horseradish-peroxidase
Hsp27	Heatshockprotein 27
IAP	Inhibitor of apoptosis
IPA	Ingenuity pathway analysis
IRES	Internal ribosomal entry site
Kif11	Kinesin family 11
Lef1	Lymphoid enhancer binding factor 1
LiCl	Lithium chloride
LIF	Leukemia inducible factor
LRP6	Low density lipoprotein receptor-related protein 6
MAPK	Mitogen activated phosphor kinase
MAT	Methionine adenosyltransferase
MC	Mitotic catastrophe
MCF7	Michigan Cancer Foundation - 7
MDM	Mouse double minute
MEF	Mouse embryonic fibroblasts
MEN	menadione
MeOH	Methanol
mg	Milligram
MIARE	Minimum Information About an RNAi Experiment
miR-34	microRNA 34
miRNAs	microRNA
ml	Milliliter
MLH	mutL homolog
μM	Micromolar
mM	Millimolar
MMC	Mitomycin C
MMR	Mismatch repair
MMS	Methyl methanesulfonate
MOI	Multiplicity of infection
MRN	Mre11, Rad50 and Nbs1
mRNA	Messenger RNA
MS	Mass spectrometry
MSH	mutS homolog
MSL2	Male-specific lethal 2 homolog (Drosophila)
MTHFD1L	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1-like
mTOR	Mechanistic target of rapamycin
NAA	N-acetyl-L-aspart
NAAG	N-acetyl-aspartyl-glutamic acid
NaCl	Sodium chloride
NDRG1	N-myc deregulated gene
Nedd	Neural precursor cell expressed
NER	Nucleotide excision repair
NH_4Ac	Ammonium acetate
NHEJ	Non homologous end joining

nM	Nanomolar
NMR	Nuclear magnete resonance
NSCLC	Non-small-cell lung cancer
ORF	Open reading frame
p21	Protein 21
p38	Protein 38
p53	Protein 53
PARP	Poly-(ADP-ribose) polymerase
PBS	Phosphate buffered saline
PCA	Principle component analysis
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PCR	Polymerase chain reaction
PI3K	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase
PINK1	PTEN-induced putative kinase1
Plk	Polo like kinase
PRKCM	Protein kinase D1
PRODH	Proline dehydrogenase (oxidase) 1
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RA	Retinoic acid
RING	Really interesting new gene
RNA	Ribonucletoideacid
RNAi	RNA interference
ROS	Reactive oxygen species
RPA	Replication protein A
Rpl7l1	Ribosomal protein L7-like 1
RRM	Ribonucleotide reductase
Rspry1	Ring finger and SPRY domain containing 1
S-Phase	Synthesis Phase
SAH	S-adenosylhomocysteine
Sal	Salubrinal
SAMe	S-Adenosylmethionine
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SHPRH	SNF2 histone linker PHD RING helicase
shRNA	Short hairpin RNA
SILAC	Stable isotope labeling by amino acids in cell culture
siRNA	Short interfering RNA
Smad	MAD (mothers against decapentaplegic, Drosophila) homolog
SMOX	Spermine oxidase
SMS	Spermine synthase
SSB	Single strand break
SYTL4	Synaptotagmin-like 4
t-RNA	Transfer RNA
Tcf	T-cell factor
TCR	Transcription coupled repair
TGFβ	Transforming growth factor beta
THF	Tetrahydrofolate
TLS	Translesion synthesis
TNFα	Tumor necrosis factor alpha
TOPBP1	Topoisomerase binding protein 1
TOPORS	Topoisomerase I binding
U-HPLC	Ultra-high performance liquid chromatography
U2OS	Human Bone Osteosarcoma Epithelial Cells
Ube1x	Ubiquitin-activating enzyme E1
UBE2D3	Ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3
UMP	Uridine monophosphate
USP	Ubiquitin specific protease
UTR	Untranslated region
UV	Ultraviolet
Wip1	WPP domain interacting protein 1

Wnt	Wingless-type MMTV integration site family
XP	Xeroderma Pigmentosum
Z-VAD-fmk	z-Val-Ala-DL-Asp-fluoromethylketone

CURRICULUM VITAE

Louise von Stechow was born on September 25, 1983 in Lahnstein, Germany. In 2002 she finished her secondary education in Idstein, Germany and started to study Biology at the Johan Wolfgang Goethe-University in Frankfurt am Main. During her studies Louise focused on Cell and Molecular Biology and was awarded for outstanding performances in prediploma. She did various internships at the different divisions of the University of Frankfurt, as well as the Max-Planck institute for Brain Science in Frankfurt am Main. During an internship at the Ruohola-Baker lab at the Institute for Stem Cell research in Washington, Seattle, in 2007 Louise studied the role of *Drosophila* germ line stem cells in the stem cell niche. Louise's Diploma work at the Neurological Institute of the Johan Wolfgang Goethe-University Frankfurt under the supervision of Till Acker focused on the influence of the hypoxic and perivascular niche on tumor stem cell behavior in glioblastoma. She received her Diploma in Biology in 2008. In 2008 Louise started her PhD Project in the Division of Toxicology, LACDR, Leiden University (head, Prof. Bob van de Water) under supervision of Dr. Erik HJ Danen. The research during the PhD period was centered on elucidating the role of DNA damage response in stem cells and cancer cells using systems biology approaches.

LIST OF PUBLICATIONS

1. **von Stechow, L***., Puigvert JC*, van de Water B, Danen EHJ (2009) Integrins and oncogenes: partners in crime. Mol Cell Pharmacol. 1(5):272-277.

2. Pines, A., Kelstrup, C. D., Vrouwe, M. G., Puigvert, J. C., Typas, D., Misovic, B., de Groot, A., **von Stechow, L**., van de Water, B., Danen, E. H., et al. (2011). Global phosphoproteome profiling reveals unanticipated networks responsive to cisplatin treatment of embryonic stem cells. Mol Cell Biol 31, 4964-4977.

3. **von Stechow, L**.*, Carreras Puigvert, J.*, Siddappa, R., Pines, A., Bahjat, M., Haazen, L. C., Olsen, J. V., Vrieling, H., Meerman, J. H., Mullenders, L. H., et al. (2013). Systems biology approach identifies the kinase csnk1a1 as a regulator of the DNA damage response in embryonic stem cells. Sci Signal 6, ra5.

4. **von Stechow L**., Typas D. , Carreras Puigvert, J., Oort L., Siddappa, R., Pines, A., Vrieling H., van de Water, B., Mullenders, L. H.,Danen, E. H. (2013) The E3 ligase ARIH1 protects against genotoxic stress by initiating a 4ehp-mediated mRNA translation arrest. Manuscript submitted.

5. **von Stechow L.***, Ruiz-Aracama A. *, van de Water, B., Mullenders, Peijnenburg A., Danen, E. H., Lommen A. (2013) Metabolic pathways in the DNA damage response in pluripotent stem cells. Manuscript submitted.

6. **von Stechow L.**, van de Water, B., Danen, E. H., (2013) Unraveling the DNA damage response signaling network through RNA interference screening. To be published as a chapter in Toxicogenomics-Based Cellular Models: Alternatives to Animal Testing for Safety Assessment.

7. **von Stechow L.**, van de Water, B., Danen, E. H., (2013) Unraveling DNA damage response signaling networks through systems approaches. Manuscript submitted.

8. Seidel S, Garvalov BK, Wirta V, **von Stechow L**, Schänzer A, Meletis K, Wolter M, Sommerlad D, Henze AT, Nistér M, Reifenberger G, et al. (2010) A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 alpha. Brain. 133(Pt 4):983-95.

** These authors contributed equally to the study*