



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Forward and reverse genetics strategies for improving oncolytic reoviruses

Dautzenberg, I.J.C.

Citation

Dautzenberg, I. J. C. (2018, June 14). *Forward and reverse genetics strategies for improving oncolytic reoviruses*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/62736>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/62736>

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

Cover Page



Universiteit Leiden

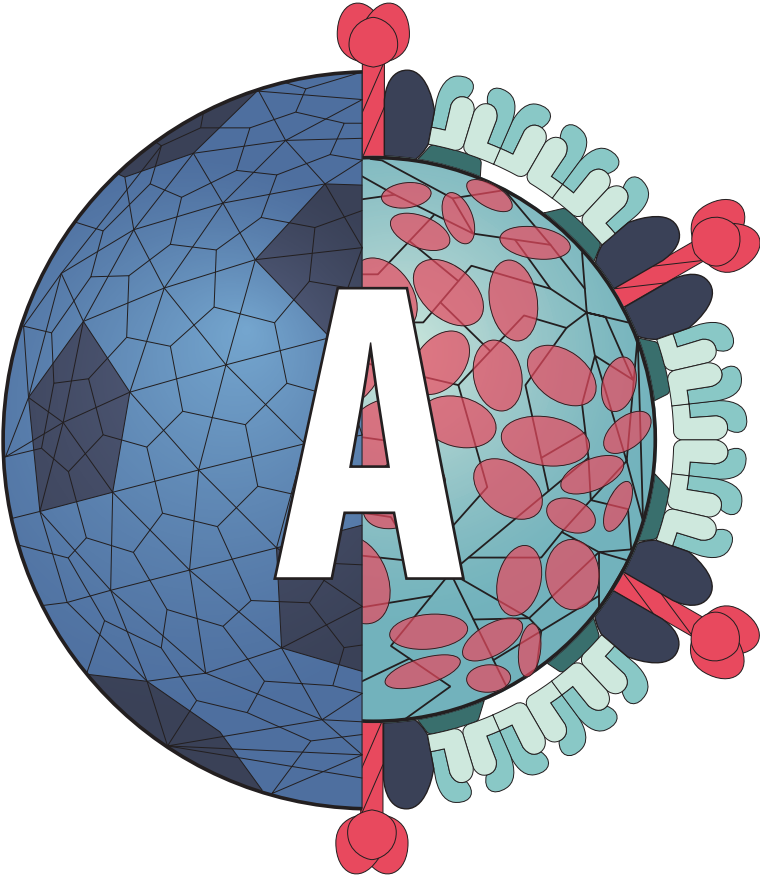


The handle <http://hdl.handle.net/1887/62736> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Dautzenberg, Iris

Title: Forward and reverse genetics strategies for improving oncolytic reoviruses

Date: 2018-06-14



ADDENDUM

- SCIENTIFIC SUMMARY
- NEDERLANDSE SAMENVATTING
- LIST OF PUBLICATIONS
- CURRICULUM VITAE

SCIENTIFIC SUMMARY

Oncolytic viruses are highly promising agents for cancer therapy and recently the first oncolytic virus has been approved for use in the treatment of melanoma. Reovirus Type 3 Dearing (T3D) and adenovirus type 5 are also potent representatives of this new type of treatment and they are being tested in a multitude of clinical trials. In these studies reovirus and adenovirus display a good safety profile, but anti-tumour efficacy remains poor. Several hurdles were identified that frustrate their oncolytic potential. The work described in this thesis mainly concentrated on attacking the hurdles that thwart the entry and spread of reovirus and adenovirus in tumours by means of genetic modification of the viruses.

Adenoviruses, consisting of a linear double-stranded (ds)DNA genome packaged into an icosahedral-shaped protein capsid of 60-90 nm in diameter, are the most widely studied viruses for gene delivery and oncolytic virotherapy, not least because they are relatively easy to genetically engineer. **Chapter 2** described the improved transduction of tumour cells by genetically modified human adenoviruses type 5 which were equipped with a tumour-targeting ligand (HER2/neu-binding ZH *affibody* molecule) fused to the minor capsid protein IX. It was hypothesized that high-affinity binding between the protein IX-coupled ZH targeting ligand and its HER2/neu receptor may result in inadequate release of the virus from the targeting receptor and thereby entrapment of viral particles in the endosomes. To allow for intracellular release of the viral particles a cathepsin-cleavage site was introduced between the protein IX anchor and the ZH targeting ligand. This resulted in significantly enhanced transduction of tumour cells in cell culture models and in the context of the chicken chorioallantoic membrane tumour assay. The ability of protein IX to act as an anchor for the fusion of anti-cancer ligands (e.g. tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)¹) is currently further explored. Evaluating the effect of inserting a cathepsin-cleavable site between the protein IX anchor and the targeting ligand would be highly valuable.

Reoviruses are the principal oncolytic entities in Chapter 3-7. Reoviruses have a segmented dsRNA genome and an icosahedral protein capsid composed of an outer and an inner shell. Reovirus Type 3 Dearing (T3D) is the archetype oncolytic reovirus and the subject of investigation in many clinical trials. In **Chapter 3** the absence of proofreading activity in the reovirus' RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) was utilized to generate mutant reoviruses with an expanded tropism via a bioselection approach. Reovirus was propagated on glioblastoma cells that are negative for the reovirus receptor, the Junction Adhesion Molecule-A (JAM-A). The obtained mutants

were capable of infecting various cancer cell types independent of JAM-A, whilst primary human fibroblasts remained insensitive. These JAM-A-independent (*jln*) mutants harbour mutations in the attachment protein-encoding genome segment of the virus, resulting in amino acid substitutions in the sialic acid binding region of the $\sigma 1$ attachment protein. It was speculated that the altered affinity for sialic acids underlies the expanded tropism of the viruses. The *jln* mutants are currently evaluate for their oncolytic capacity in JAM-A negative tumours in mice and *ex vivo*. Moreover, as their JAM-A-binding head domain is dispensable, this domain can be replaced by foreign sequences (see Chapter 5).

In **Chapter 4** it is described that the presence of JAM-A on the cell surface is not an absolute requirement for reovirus' ability to infect tumour cells, as also JAM-A-negative tumour cells could be efficiently infected. Under standard two dimensional cell culture conditions these JAM-A-lacking glioblastoma cells were resistant to reovirus, whereas these cells became sensitive to reovirus infection when cells were grown as three-dimensional spheroids. This could be assigned to upregulated secretion of proteases, e.g. cathepsins, by the spheroid cultures. These extracellular proteases were thought to convert intact reovirus virions into intermediate sub-viral particles (ISVPs), which are able to infect the spheroid cells independent of JAM-A. Since tumours tend to secrete high levels of proteases into their environment, the tumour spheroid model appears to be a highly relevant *in vitro* model, which mimics the actual *in vivo* situation more faithfully as compared to adherent two-dimensional cell cultures.

A forward-genetics approach was employed in **Chapter 5** to genetically modify reovirus. As the *jln-3* reovirus mutant infects cells independent of JAM-A, as a result of a single amino acid substitution in the tail region of the $\sigma 1$ protein, the JAM-A-binding head domain of $\sigma 1$ could be replaced by foreign sequences. The head domain of the S1 segment was replaced with the coding sequence for the fluorescent protein iLOV and a 'self-cleavage' element (porcine teschovirus-1 (P2A)) to ensure the release of the iLOV proteins from the truncated $\sigma 1$. The resulting virus remained replication competent, retained its oncolytic capacity and displayed iLOV fluorescence in both JAM-A positive and JAM-A negative cells. Currently, the introduction of a therapeutic transgene (able to kill tumour cells) in the S1 gene segment is under investigation in our group. Genetic engineering of reovirus is challenging and still in its infancy, however regarding the progression in ameliorating this technique in recent years, further improvements can be foreseen.

A proof-of-concept study was described in **Chapter 6**, using a non-oncolytic viral vector (baculovirus) as a tool to increase the anti-tumour performance of oncolytic reovirus. The baculovirus *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (AcMNPV), an

insect virus, has potential for tumour therapy; it has the ability to transduce a broad panel of mammalian cells and to penetrate through several cell layers into spheroids and tumours. We generated a recombinant baculovirus equipped with full-length JAM-A receptors to allow for the binding of reovirus particles, resulting in biviral complexes in which baculovirus and reovirus were coupled. In this biviral context, reovirus was able to infect, replicate in and kill glioblastoma cells, which were resistant to treatment with reovirus as a single agent. Moreover, coupled to baculovirus, reovirus showed deeper penetration and spread into glioblastoma tumour spheroids and increased spheroid cell death. Currently, recombinant baculoviruses are used extensively to generate products for clinical use, however baculovirus itself is not approved for use in humans. Regarding the potential of BV vectors for use in (oncolytic) gene therapy and the pre-clinical efforts that are being made, clinical admission of baculovirus vectors is readily conceivable in the near future.

Chapter 7 describes the induction of macroautophagy in reovirus infected cells. Autophagy is highly conserved and allows for the disassembly of cellular components for recycling purposes. In mouse embryonic fibroblasts (MEFs) and glioblastoma cell lines we demonstrated that reovirus induces several key features of autophagy. Additionally, our results demonstrated that a productive reovirus infection is not strictly necessary, but strongly stimulates the induction of autophagy. Literature reports contradictory roles of autophagy in viral infection, either combating or, on the contrary, facilitating viral infection. Also the role of autophagy in cancer is intricate. This necessitates additional research on the cellular pathways involved in reovirus replication and cancer cell death, which may provide valuable information to improve reovirus' antitumour efficacy.

In the general discussion (**Chapter 8**) the experimental results obtained in this thesis are reviewed and the current status of the research on reovirus as an immunotherapeutic agent is described. Until recently, the immune system was regarded as a negative factor in oncolytic virotherapy, however pre-clinical and clinical evidence also reveals a synergistic role of oncolytic viruses and the immune system. Nowadays, extensive studies on reovirus as a cancer-targeting immunotherapeutic agent are performed and also the potential synergistic effects of reovirus in combination with other cancer immunotherapies are investigated. These projects demand close collaboration between researchers in multidisciplinary teams. Finally, it is important to point out that tumours display extensive inter- and intra-tumour variability in molecular-genetic features, which most likely results in distinct susceptibility to different types of oncolytic viruses. For that reason, advances in the development of personalized oncolytic virotherapies are foreseen.

REFERENCES

1. Wang, Z. *et al.* A novel capsid-modified oncolytic recombinant adenovirus type 5 for tumour-targeting gene therapy by intravenous route. *Oncotarget* **7**, 47287-47301, doi:10.18632/oncotarget.10075 (2016).

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Oncolytische virussen zijn in staat om kankercellen te infecteren en te doden, terwijl ze weinig schade aan kunnen richten aan gezonde cellen. In 2015 is het eerste oncolytische virus onder de naam Imlygic™ toegelaten als medicijn tegen huidkanker. Ook reovirus type 3 Dearing en adenovirus type 5 zijn veelbelovende oncolytische virussen en hun werking tegen verschillende kankertypen (o.a. prostaatkanker, hersentumoren, borstkanker en huidkanker) wordt geëvalueerd in klinische studies. Uit deze studies komt naar voren dat, hoewel de virussen veilig zijn voor gebruik in mensen, hun effectiviteit tegen tumoren moet verbeteren. Verschillende knelpunten die anti-tumor effectiviteit van de virussen bemoeilijken zijn geïdentificeerd. In dit proefschrift wordt voor twee van deze knelpunten, de moeilijke spreiding van reovirussen en adenovirussen in tumoren en de geringe mate waarin de virussen de tumorcellen binnen kunnen gaan, een remedie gezocht. Dit gebeurt onder andere via het aanbrengen van veranderingen in de genetische informatie (genoom) van de virussen.

Adenovirussen bestaan uit een eiwitmantel met daarin een genoom van dubbelstrengs deoxyribonucleïnezuur (dsDNA). In dit dsDNA zijn relatief eenvoudig veranderingen aan te brengen en mede daarom wordt dit virus al sinds vele jaren bestudeerd en is er veel kennis beschikbaar. Om adenovirus beter aan een tumorcel te laten binden (om daarna de cel binnen te kunnen gaan) wordt vaak, via verandering in het genoom van het virus, een extra stukje eiwit op de buitenkant van de eiwitmantel van het virus aangebracht. Dit extra stukje eiwit wordt een peptide of een polypeptide genoemd en is in staat om stevig te binden aan specifieke eiwitten op het oppervlak van de tumorcel, zogenaamde receptoren. Daarna kan het virus de tumorcel binnen gaan. De binding tussen het virale peptide en het receptoreiwit kan zo sterk zijn dat het adenovirus binnen in de cel niet los kan komen van de oppervlakte-eiwitten van de cel. Hierdoor kan het virus zijn infectiecyclus niet voortzetten en kan het de tumorcel niet doden. In **hoofdstuk 2** wordt een methode beschreven waarmee het adenovirus binnen in de cel weer losgeknippt wordt van de cellulaire oppervlakte-eiwitten. Op deze manier kan adenovirus zijn infectiecyclus vervolgen door in de cel honderden of zelfs duizenden nakomelingen te produceren. Wanneer de tumorcel aan het einde van deze infectiecyclus openbarst, komen deze nieuwe virusdeeltjes vrij om op hun beurt weer andere cellen in de tumor te infecteren en te doden.

Reovirussen zijn de hoofdrolspelers in de hoofdstukken 3 tot en met 7. Reovirus bestaat, net als adenovirus, uit een eiwitmantel met daarin het virale genoom. Het genomische materiaal van reovirus bestaat uit dubbelstrengs ribonucleïnezuur (dsRNA). DNA- en RNA-moleculen lijken sterk op elkaar, maar ze verschillen onder

andere in functie en stabiliteit. Net als adenovirus kan reovirus in een tumorcel vele nakomelingen maken waarbij het dsRNA genoom steeds wordt gekopieerd en ingepakt in een nieuwe eiwitmantel. Het enzym dat het reovirus genoom kopieert maakt hierbij relatief veel fouten, waardoor er veranderingen in de genetische code komen, zogenaamde mutaties. Gemiddeld levert dit één mutatie per genoom kopie op. In **hoofdstuk 3** wordt deze eigenschap van het reovirus gebruikt om 'nieuwe' reovirussen te laten ontstaan die beter in staat zijn ten opzichte van hun voorouders om bepaalde tumorcellen te doden. Reovirussen kunnen moeilijk binden aan tumorcellen die niet de juiste receptoreiwitten op hun oppervlak hebben en deze cellen kunnen daarom moeilijk geïnfecteerd en gedood worden door reovirus. Voor reovirus is het Junction Adhesion Molecule-A (JAM-A) op de cel het belangrijkste receptoreiwit. Af en toe lukt het een reovirus toch om een tumorcel zonder JAM-A binnen te dringen, zich in die cel te vermeerderen en de tumorcel te doden. Enkele van de nakomelingen van dit virus kunnen op hun beurt weer ieder een nieuwe tumorcel infecteren en zo ontstaan er langzaam meer mutaties in het genoom. Deze aangepaste virussen die mutaties hebben die gunstig zijn voor het infecteren van dit specifieke type cel zullen zich sneller vermeerderen dan virussen met ongunstige mutaties. In hoofdstuk 3 is er via deze zogenaamde bioselectie methode een set van virussen ontstaan, genaamd *jln* mutanten, die tumorcellen zonder JAM-A effectief kunnen infecteren en doden.

Standaard worden tumorcellen buiten het lichaam als een enkele laag cellen, een monolaag, gekweekt met daarboven een laag vloeibaar groeimedium. Zoals in hoofdstuk 3 wordt beschreven kunnen tumorcellen zonder het receptoreiwit JAM-A op het celoppervlak onder deze omstandigheden zeer moeilijk door reovirus worden geïnfecteerd. In **hoofdstuk 4** wordt beschreven dat deze tumorcellen wel gevoelig worden voor een reovirus infectie als ze als bolletjes, zogenaamde sferoïden, worden gekweekt. Deze sferoïden bestaan uit vele duizenden tumorcellen en het groeimedium bevindt zich rondom. Bepaalde stoffen, proteasen, worden door de sferoïden in een veel hogere concentratie uitgescheiden in het groeimedium dan door monolaag celkweken. De proteasen zijn in staat kleine stukjes van de eiwitmantel van het reovirus te knippen waardoor zogenaamde intermediate sub-viral particles (ISVPs) ontstaan. Deze reovirus ISVPs zijn in staat tumorcellen te infecteren zonder gebruik te maken van de JAM-A receptoreiwitten. Het is bekend dat tumoren in het lichaam ook grote hoeveelheden van deze proteasen uitscheiden en sferoïde celkweken zijn daarom een relevant modelsysteem om echte tumoren na te bootsen.

Naast het bioselecteren van mutant reovirussen zoals in hoofdstuk 3, kunnen er ook gericht specifieke mutaties in het reovirus genoom worden aangebracht. Voor adenovirussen met één lang dsDNA genoom wordt deze technologie al decennia op

redelijk eenvoudige wijze toegepast. Reovirussen hebben daarentegen een dsRNA genoom dat bovendien bestaat uit tien verschillende stukken (segmenten). Hierdoor is het zeer ingewikkeld gebleken genetische aanpassingen in het reovirus genoom te verwezenlijken en staat deze techniek, 'reverse genetics' genaamd, voor dit virus nog in de kinderschoenen. In **hoofdstuk 5** wordt reverse genetics gebruikt om veranderingen in het genoom van een van de *j1n* mutanten uit hoofdstuk 3 aan te brengen. Dit *j1n-3* virus is in staat cellen zonder de JAM-A eiwitreceptor te infecteren omdat het sterker kan binden aan andere receptoreiwitten op het celoppervlak. Het dsRNA gedeelte van het virus dat zorgdraagt voor JAM-A binding kan in deze virussen vervangen worden door een ander stuk dsRNA, terwijl het virus de capaciteit behoudt om tumorcellen te infecteren. In hoofdstuk 5 is dit deel van het virale genoom vervangen door een stuk dsRNA dat codeert voor een lichtgevend eiwit, iLOV. Dit eiwit wordt geen onderdeel van de eiwitmantel van het virus, maar bevindt zich 'los' in de cel. Hierdoor lichten geïnfecteerde cellen onder de microscoop op, terwijl het reovirus zijn oncolytische eigenschappen behoudt.

In **hoofdstuk 6** wordt met behulp van een ander virus, een baculovirus, de anti-tumorwerking van reovirus verbeterd. Baculovirus kan zich alleen vermeerderen in insectencellen, maar het kan zoogdiercellen wel goed binnendringen. Ook kan redelijk makkelijk een extra gen in het genoom van baculovirus worden ingebouwd. Gebruikmakend van dit principe is de genomische informatie van het reovirus receptoreiwit JAM-A ingebouwd in het baculovirusgenoom. Als deze baculovirussen worden opgegroeid, presenteren ze het JAM-A eiwit aan de buitenkant van hun virusdeeltje. Reovirus is vervolgens in staat om te binden aan JAM-A op het baculovirus waardoor er een complex van twee virussen ontstaat. Tumorcellen die geen JAM-A op het oppervlak hebben kunnen in deze bivirale context efficiënt door reovirus worden geïnfecteerd en gedood terwijl reovirus alleen hier niet toe in staat is. Bovendien kan reovirus, als het gebonden is aan baculovirus, dieper doordringen en verder spreiden in sferoiden en is er meer tumorcel dood in dit model. Op dit moment is baculovirus nog niet toegestaan in humane klinische studies, maar de verwachting is dat dit in de toekomst wel gaat gebeuren. Bovendien is het zeer relevant om het mechanisme te onderzoeken waardoor baculovirus in staat is goed te spreiden in tumoren. Dit mechanisme zou toegepast kunnen worden in andere oncolytische virussen.

In **hoofdstuk 7** wordt beschreven dat reovirus in staat is tot het induceren van autofagie in geïnfecteerde (tumor)cellen. Autofagie is een recycleproces in de cel dat ervoor zorgt dat eiwitten en andere componenten die op dat moment geen functie hebben, worden afgebroken en hun onderdelen komen hierdoor beschikbaar voor de bouw van nieuwe eiwitten. Over de rol van autofagie bij een virale infectie is over het algemeen nog

weinig bekend en ook de rol van autofagie in kanker is nog niet doorgrond. Meer onderzoek naar de cellulaire processen die een rol spelen bij de vermeerdering van reovirus en de daaropvolgende tumorcel dood kan bijdragen aan de verbetering van de anti-tumorwerking van reovirus.

Hoofdstuk 8 omvat een algemene discussie over de experimentele resultaten die zijn verkregen in dit proefschrift. De rol van reovirus in de immunotherapie komt in dit hoofdstuk ook uitgebreid aan bod. Tot enkele jaren geleden werd het immuunsysteem gezien als een negatieve factor in de oncolytische virotherapie omdat in veel gevallen antilichamen gericht tegen het oncolytische virus aanwezig zijn in het bloed van de kankerpatiënten. De antilichamen kunnen het virus neutraliseren en zo de effectiviteit van de therapie sterk verminderen. In de praktijk laten resultaten van klinische studies zien dat oncolytische virussen en het immuunsysteem van de patiënt in veel gevallen juist samenwerken (synergie) om een tumor te verwijderen. Momenteel wordt veel onderzoek gedaan om meer inzicht te krijgen in dit mechanisme. Tot slot is het belangrijk te vermelden dat verschillende typen kanker en ook tumoren van hetzelfde kankertype onderling zeer sterk kunnen verschillen in hun gevoeligheid voor een bepaald oncolytisch virus. Behandeling op maat voor iedere patiënt, zogenaamde 'personalized medicine' wordt daarom essentieel in de toekomst.

LIST OF PUBLICATIONS

1. **Dautzenberg, I.J.C.**, Van den Hengel, S.K., De Vrij, J., Ravesloot, L., Cramer, S.J., Hong, S.-S., Van den Wollenberg, D.J.M., Boulanger, P., Hoeben, R.C. (2017). Baculovirus-assisted Reovirus Infection in Monolayer and Spheroid Cultures of Glioma cells. Scientific Reports **7**(1): 17654.
2. Kemp, V., **Dautzenberg, I.J.C.**, Limpens, R.W.A.L., Van den Wollenberg, D.J.M. and Hoeben, R.C. (2017). "Oncolytic Reovirus Infection Is Facilitated by the Autophagic Machinery." Viruses **9**(10).
3. Van den Wollenberg, D.J.M., **Dautzenberg, I.J.C.**, Ros, W., Lipinska, A.D., Van den Hengel, S.K. and Hoeben, R.C. (2015). "Replicating reoviruses with a transgene replacing the codons for the head domain of the viral spike." Gene Ther **22**(3): 267-279.
4. **Dautzenberg, I.J.C.**, Van den Wollenberg, D.J.M., Van den Hengel, S.K., Limpens, R.W.A.L., Barcena, M., Koster, A.J. and Hoeben, R.C. (2014). "Mammalian orthoreovirus T3D infects U-118 MG cell spheroids independent of junction adhesion molecule-A." Gene Ther **21**(6): 609-617.
5. Van den Hengel, S.K., Balvers, R.K., **Dautzenberg, I.J.C.**, Van den Wollenberg, D.J.M., Kloezeman, J.J., Lamfers, M.L., Sillivis-Smit, P.A.E. and Hoeben, R.C. (2013). "Heterogeneous reovirus susceptibility in human glioblastoma stem-like cell cultures." Cancer Gene Ther **20**(9): 507-513.
6. Van den Wollenberg, D.J.M.*, **Dautzenberg, I.J.C.***, Van den Hengel, S.K., Cramer, S.J., De Groot, R.J. and Hoeben, R.C. (2012). "Isolation of reovirus T3D mutants capable of infecting human tumour cells independent of junction adhesion molecule-A." PLoS One **7**(10): e48064.
7. de Vrij, J., **Dautzenberg, I.J.C.**, Van den Hengel, S.K., Magnusson, M.K., Uil, T.G., Cramer, S.J., Vellinga, J., Verissimo, C.S., Lindholm, L., Koppers-Lalic, D. and Hoeben, R.C. (2012). "A cathepsin-cleavage site between the adenovirus capsid protein IX and a tumour-targeting ligand improves targeted transduction." Gene Ther **19**(9): 899-906.
8. Van den Hengel, S.K., **Dautzenberg, I.J.C.**, Van den Wollenberg, D.J.M., Sillevs Smitt, P.A.E. and Hoeben, R.C. (2012). Genetic Modification in Mammalian Orthoreoviruses. Reverse Genetics of RNA Viruses, John Wiley & Sons, Ltd: 289-317.
9. De Vrij, J., Van den Hengel, S.K., Uil, T.G., Koppers-Lalic, D., **Dautzenberg, I.J.C.**, Stassen, O.M.J.A., Barcena, M., Yamamoto, M., De Ridder, C.M., Kraaij, R., Kwappenberg, K.M., Schilham, M.W. and Hoeben, R.C. (2011). "Enhanced transduction of CAR-negative cells by protein IX-gene deleted adenovirus 5 vectors." Virology **410**(1): 192-200.
10. Schenk, E., Essand, M., Bangma, C.H., and the GIANT FP6 Consortium: Barber, C., Behr, J.P., Briggs, S., Carlisle, R., Cheng, W.S., Danielsson, A., **Dautzenberg, I.J.C.**, Dzojic, H., Erbacher, P., Fisher, K., Frazier, A., Georgopoulos, L.J., Hoeben, R.C., Kochanek, S., Koppers-Lalic, D., Kraaij, R., Kreppel, F., Lindholm, L., Magnusson, M., Maitland, N., Neuberg, P., Nilsson, B., Ogris, M., Remy, J.S., Scaife, M., Schooten, E., Seymour, L., Totterman, T., Uil, T.G., Ulbrich, K., Veldhoven-Zweistra, J.L., De Vrij, J., Van Weerden, W., Wagner, E. and Willemsen, R.A. (2010). "Clinical adenoviral gene therapy for prostate cancer." Hum Gene Ther **21**(7): 807-813.

11. De Vrij, J., Willemsen, R.A., Lindholm, L., Hoeben, R.C., and the GIANT FP6 Consortium: Bangma, C.H., Barber, C., Behr, J.P., Briggs, S., Carlisle, R., Cheng, W.S., **Dautzenberg, I.J.C.**, De Ridder, C., Dzojic, H., Erbacher, P., Essand, M., Fisher, K., Frazier, A., Georgopoulos, L.J., Jennings, I. Kochanek, S., Koppers-Lalic, D., Kraaij, R., Kreppel, F., Magnusson, M., Maitland, N., Neuberger, P., Nugent, R., Ogris, M., Remy, J.S., Scaife, M., Schenk-Braat, E., Schooten, E., Seymour, L., Slade, M., Szyjanowicz, P., Totterman, T., Uil, T.G., Ulbrich, K., Van der Weel, L., Van Weerden, W., Wagner, E. and Zuber, G. (2010). "Adenovirus-derived vectors for prostate cancer gene therapy." Hum Gene Ther **21**(7): 795-805.
12. Van den Wollenberg, D.J.M., Van den Hengel, S.K., **Dautzenberg, I.J.C.**, Kranenburg, O. and Hoeben, R.C. (2009). "Modification of mammalian reoviruses for use as oncolytic agents." Expert Opin Biol Ther **9**(12): 1509-1520.
13. Van den Wollenberg, D.J.M., Van den Hengel, S.K., **Dautzenberg, I.J.C.**, Cramer, S.J., Kranenburg, O. and Hoeben, R.C. (2008). "A strategy for genetic modification of the spike-encoding segment of human reovirus T3D for reovirus targeting." Gene Ther **15**(24): 1567-1578.

CURRICULUM VITAE

Iris Dautzenberg werd geboren op 13 mei 1983 te Geleen. In 2001 behaalde zij het gymnasiumdiploma aan het Sintermeertencollege te Heerlen en startte zij met de studie Biotechnologie aan Wageningen University. Tijdens de afstudeerfase deed zij onderzoek naar de potentiële suppressie van het RNA-silencing mechanisme door het NS1 eiwit van het influenzavirus in het Laboratorium voor Virologie van Wageningen University onder leiding van prof. dr. M. Prins en prof. dr. R. Goldbach. Vervolgens voerde zij een afstudeeronderzoek uit bij de afdeling Moleculaire Celbiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) onder leiding van dr. D.J.M. van den Wollenberg en prof. dr. R.C. Hoeben, waarbij ze de effecten van verschillende modificaties aan het reoviruseiwit $\sigma 1$ op de bindingscapaciteit aan celreceptoren onderzocht. Haar finale afstudeerstage vond plaats aan het Norris Cancer Center van de University of Southern California in Los Angeles onder leiding van dr. J.S. Galler en dr. I.A. Laird-Offringa en betrof de identificatie van DNA methylatiemarkers voor het opsporen van mesothelioom (longvlieskanker). Hiermee behaalde zij in 2008 de ingenieurstitel (MSc). Aansluitend startte zij aan het LUMC onder leiding van prof. dr. R.C. Hoeben haar promotieonderzoek naar de oncolytische capaciteit van reovirussen en adenovirussen, resulterend in dit proefschrift. In 2014 en 2015 is ze werkzaam geweest buiten het werkveld van de life sciences. Vanaf begin 2016 heeft ze de functie van studiemanager bekleed bij het contract- en manufacturing GMP-laboratorium van Eurofins|MicroSafe te Leiden. Hier heeft ze virologische en biotechnologische projecten in opdracht van bio(medische) bedrijven gecoördineerd. Sinds begin 2017 is ze opnieuw werkzaam bij het LUMC waar ze het onderzoek aan oncolytische virussen voortzet als postdoctoraal onderzoeker bij de afdeling Cel en Chemische Biologie onder leiding van prof. dr. R.C. Hoeben.

