

University of Groningen

## Reactive oxygen species in health and disease

van der Wijst, Monique

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2016

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

van der Wijst, M. (2016). *Reactive oxygen species in health and disease: Finding the right balance*. Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

# **Appendices**

**Nederlandse samenvatting**

**Dankwoord**

**Biografie**

**List of publications**

**List of abbreviations**

### **Nederlandse samenvatting**

Zonder zuurstof zou er geen leven zijn voor de mens hier op aarde. Toch is het ook datzelfde zuurstof molecuul dat ons bedreigt! Wanneer zuurstof een extra elektron opneemt, ontstaan vrije zuurstofradicalen. Deze radicalen kunnen met allerlei belangrijke moleculen (o.a. DNA, eiwitten) in ons lichaam reageren, op een zelfde manier zoals ijzer roest (oxideren). Gelukkig heeft het lichaam ook een aantal verdedigingsmechanismen tegen deze vrije radicalen, waaronder de antioxidanten. Antioxidanten, zoals vitamine A en C, neutraliseren de vrije radicalen. Indien er toch nog schade ontstaat, dan zijn er altijd nog DNA reparatie-enzymen en een machinerie die kapotte eiwitten kan afbreken. Maar er is een limiet: wanneer de balans tussen vrije zuurstofradicalen en antioxidanten te veel verstoord raakt, ontstaat er oxidatieve stress. Cellen die zo te veel beschadigd raken, sterven af (vroegtijdige veroudering) of ondergaan gevaarlijke veranderingen. Het is de door oxidatieve stress ontstane schade die ten grondslag kan liggen aan verschillende ziekten, waaronder kanker, diabetes en hart- en vaatziekten.

De vrije radicalen kunnen op verschillende manieren ontstaan; onder andere roken of UV-straling van de zon kan bijdragen aan het ontstaan van vrije zuurstofradicalen in ons lichaam. Daarnaast zijn er ook vele normale processen in onze cellen die deze radicalen produceren. Een van de belangrijkste plekken waar vrije radicalen vrijkomen is in de mitochondriën (de energiefabriekjes van de cel). Tijdens de energieproductie ontstaan als bijproduct ook vrije radicalen. Daarnaast produceren afweercellen vrije radicalen om indringers, zoals bacteriën, te doden. En een goede reden om sushi altijd met wasabi te eten, is omdat de wasabi in de maag vrije zuurstofradicalen genereert die de bacteriën op de rauwe vis doden. Dus ondanks het feit dat vrije radicalen schade aanrichten, hebben ze ook goede eigenschappen in ons lichaam.

Maar hoe weet een cel nu dat deze wordt aangevallen door vrije radicalen en hoeveel verdediging nodig is om zich tegen deze vrije radicalen te beschermen? Het blijkt dat niet alle vrije zuurstofradicalen hetzelfde zijn. Sommige zijn extreem reactief en beschadigend, terwijl andere minder reactief zijn en geen beschadigingen kunnen veroorzaken. Het is die laatste groep vrije zuurstofradicalen die een belangrijke functie in de cel blijkt te vervullen. Deze kunnen als boodschappermolecuul de cel waarschuwen dat er gevaar dreigt (in de vorm van vrije radicalen). Bepaalde eiwitten zijn gevoelig voor deze groep van vrije radicalen; ze kunnen veranderen van vorm of functie op het moment dat de vrije radicaal reageert met het eiwit. Een voorbeeld van zo'n eiwit is Nrf2. Nrf2 is

normaal gebonden aan een ander eiwit, Keap1. Wanneer beiden aan elkaar gebonden zijn, leidt dit tot afbraak van Nrf2. Op het moment dat Nrf2 wordt geoxideerd door een vrije radicaal, wordt de verbinding tussen Keap1 en Nrf2 verbroken. Op dat moment kan Nrf2 ontsnappen aan de Keap1-gemedieerde afbraak van Nrf2. Nrf2 kan vervolgens naar het DNA in de kern van de cel gaan om specifieke genen aan te zetten. Als meesterregulator van o.a. antioxidanten en ontgiftigingsenzymen, is Nrf2 dus een belangrijke speler bij de verdediging tegen oxidatieve stress. Bovendien blijkt dat vele componenten uit ons voedsel Nrf2 kunnen activeren, zoals broccoli, koffie en chocolade.

Niet alleen gezonde cellen, maar ook kankercellen moeten zich beschermen tegen oxidatieve stress. Door hun snelle metabolisme en abnormaal functionerende mitochondriën hebben kankercellen een verhoogd niveau aan vrije zuurstofradicalen in de cel. Om toch te kunnen overleven, hebben kankercellen slimme oplossingen bedacht. Één daarvan is de continue activatie van Nrf2, onafhankelijk van de vrije radicalen. Hierdoor produceren kankercellen een heleboel antioxidanten om al die extra vrije radicalen te neutraliseren. Dit lukt vrij aardig, maar desondanks heeft een kankercel meer oxidatieve stress te verduren dan normale cellen. Dit maakt kankercellen gevoeliger voor extra vrije radicalen ten opzichte van gezonde cellen, aangezien kankercellen al maximaal hun verdedigingsmechanismen in de strijd hebben geworpen terwijl normale cellen deze in tijden van nood nog op kunnen voeren. Hierdoor ontstaat er een therapeutisch venster waarin bij het verhogen van het niveau aan vrije radicalen de kankercellen zullen sterven, maar de gezonde cellen blijven leven. Van deze eigenschap hebben we gebruik gemaakt om verschillende nieuwe anti-kankertherapieën te testen die zijn beschreven in **hoofdstuk 2 t/m 6**.

In **hoofdstuk 2**, hebben we in samenwerking met chemici een molecuul gemaakt, N4Py genaamd, dat de vorming van beschadigende vrije radicalen katalyseert in de cel. Dit molecuul bleek inderdaad bij een bepaalde dosis specifiek de kanker-, maar niet de normale cellen te doden. Vervolgens zijn we in **hoofdstuk 3** gaan kijken hoe complexvorming van N4Py met verschillende metalen de eigenschappen van het molecuul beïnvloedt. In **hoofdstuk 4** hebben we vervolgens gekeken hoe de lokalisatie van het N4Py molecuul bepaalt hoe de cel reageert op het molecuul. Met deze kennis zouden we in de toekomst het basis N4Py molecuul verder kunnen optimaliseren zodat het bij voorkeur kankercellen het efficiëntste dood.

Daarnaast hebben we in **hoofdstuk 5 en 6** gekeken naar de rol van Nrf2 in gezonde en eierstokkankercellen. Eierstokkanker wordt vaak pas laat ontdekt. Op

dat moment is het chirurgisch verwijderen van de tumor vaak niet meer heel effectief, en is chemotherapie (al dan niet in combinatie met bestraling) een van de laatste oplossingen. Helaas worden na een tijdje veel van deze tumoren resistent tegen de chemotherapie. Dit blijkt onder andere te komen doordat Nrf2 overactief wordt in deze tumoren. Op basis hiervan zou het remmen van Nrf2 de chemotherapieresistentie kunnen opheffen. Bovendien zou ook hier weer gelden dat bij voorkeur de kankercellen gevoelig zijn voor het verhogen van het niveau van vrije radicalen, wat kan worden bewerkstelligd door Nrf2 te remmen. In **hoofdstuk 5** zijn we de literatuur ingedoken om te bekijken op welke manieren eierstokkankercellen Nrf2 continu kunnen activeren onafhankelijk van de vrije radicalen. Op basis van deze kennis hebben we in **hoofdstuk 6** een therapeutisch strategie getest waarmee we preferentieel de eierstokkankercellen kunnen doden. Een specifieke subgroep binnen de eierstokkanker bezit een mutatie in het eiwit BRCA1. BRCA1 is betrokken bij de reparatie van dubbelstrengs DNA schade. Door Nrf2 in deze tumoren te remmen, kunnen met name enkelstrengs DNA beschadigingen accumuleren die zijn ontstaan door het toegenomen oxidatieve stress niveau binnen de cel. Door vervolgens de Nrf2 remming te combineren met zogenaamde PARP remmers, enzymen die enkelstrengs DNA repareren, hopen de enkelstrengs DNA breuken zich verder op. Als deze niet worden gerepareerd voordat cellen delen, ontstaan dubbelstrengs DNA breuken. In gezonde cellen zonder BRCA1 mutatie en met lagere oxidatieve stress niveaus kunnen de klappen worden opgevangen, maar dit geldt niet voor de BRCA1 gemuteerde kankercellen. Samengevat, de remming van Nrf2 lijkt een interessante therapie om bij voorkeur kankercellen te doden. Desalniettemin is Nrf2 een belangrijk eiwit dat bijdraagt aan de bescherming van gezonde cellen tegen oxidatieve stress en daarbij kan voorkomen dat deze cellen transformeren in tumoren. Daarom zal men altijd moeten uitkijken voor nare bijeffecten die Nrf2 remming kan hebben in gezonde cellen, en zou het tumorspecifiek remmen van Nrf2 de ultieme oplossing zijn.

Naast het feit dat vrije radicalen DNA mutaties kunnen veroorzaken, en zo kunnen bijdragen aan het ontstaan van kanker, zijn er ook andere manieren waarop ze de carcinogenese stimuleren. Vrije radicalen lijken namelijk ook de epigenetica te beïnvloeden, en zo kankerformatie te kunnen stimuleren. Epigenetische markeringen rondom het DNA kunnen, onafhankelijk van de DNA code, bepalen of bepaalde genen blijvend aan of uit staan. Dus ondanks het feit dat alle cellen in ons lichaam dezelfde DNA code bevatten, kan de epigenetische laag rondom het DNA ervoor zorgen dat elke cel in ons lichaam andere eigenschappen heeft. Elke epigenetische markering wordt aangebracht of

verwijderd door een specifieke groep van enzymen. De belangrijkste epigenetische markeringen zijn DNA (hydroxy)methylatie en histonmodificaties. In ziekten zoals kanker blijkt niet alleen de genetische code vaak gemuteerd te zijn, maar ook de epigenetische laag is vaak veranderd. Maar in tegenstelling tot de genetische code, zijn deze epigenetische markeringen onder bepaalde omstandigheden reversibel en daardoor een interessant doelwit voor therapieën die deze markeringen weer kunnen herstellen naar de oorspronkelijke situatie.

Hoe exact vrije zuurstofradicalen de epigenetica beïnvloeden is nog grotendeels onbekend. Daarom zijn we in **hoofdstuk 7 en 8** gaan kijken hoe dit kan gebeuren. In **hoofdstuk 7** hebben we een groep enzymen onder de loep genomen die ervoor zorgen dat DNA wordt gemethyleerd, de DNA methyltransferases. Uit de literatuur blijkt dat deze enzymen onder specifieke omstandigheden een onverwachte functie hebben; wanneer deze enzymen worden blootgesteld aan extreem grote hoeveelheden vrije radicalen blijken ze een omgekeerde functie te hebben en het DNA te demethyleren. Omdat deze bevindingen waren gedaan in reageerbuisjes, en de hoeveelheden vrije radicalen nodig om deze onverwachte functie te bewerkstelligen extreem dodelijk zouden zijn voor de cel, werd deze functie als niet fysiologisch relevant beschouwd. In dit hoofdstuk beschrijven wij situaties in de cel waarin deze onverwachte functie van DNA methyltransferases toch zou kunnen plaatsvinden. Wij hypothetiseren dat in de kern, heel lokaal rondom het DNA, deze extreem hoge niveaus van vrije radicalen kunnen worden geproduceerd door een specifieke groep van epigenetische enzymen. Doordat de vrije radicaal productie zo lokaal is, is de verwachting dat dit niet toxisch is voor de cel. Wij denken dat dit proces met name belangrijk is bij de regulatie van genen die heel snel, cyclisch switchen tussen de aan- en uitstand, want op deze manier kan hetzelfde enzym zowel het aan- als uitzetten van deze genen bewerkstelligen.

In **hoofdstuk 8** kijken we specifiek naar de vrije zuurstofradicalen die worden geproduceerd in de mitochondriën (de “energiefabriekjes”). Deze mitochondriaal geproduceerde vrije radicalen zijn van het type dat niet zo reactief is, en daarom een belangrijke functie als boodschappermolecuul kan hebben. Er zijn namelijk verschillende aanwijzingen die erop wijzen dat vrije radicalen die geproduceerd worden in de mitochondriën kunnen “communiceren” met de kern van de cel, waarin het genomisch DNA ligt opgeslagen. Dit zou belangrijk kunnen zijn in de zogenaamde mitohormese respons. Dit houdt in dat bij een kortstondige verhoging van de mitochondriale vrije radicaalproductie, signalen worden doorgestuurd naar de kern. Vervolgens worden bepaalde genen in het DNA, die

betrokken zijn bij de bescherming tegen oxidatieve stress, langdurig meer actief. Dit zorgt ervoor dat bij een volgende kortstondige verhoging van de mitochondriale vrije radicaalproductie de cel zich nog herinnert dat hij een keer eerder deze stress heeft ondervonden en al bij voorbaat beter beschermd is tegen deze vrije radicalen.

Deze mitohormetische respons blijkt een belangrijke rol te spelen bij het beschermen tegen de veroudering en de daarmee gepaarde ziekten zoals kanker. Een voorbeeld wanneer zo'n mitohormetische respons optreedt, is tijdens het sporten. Je mitochondriën moeten tijdens het sporten namelijk tijdelijk extra energie produceren, en dus komen er ook tijdelijk extra mitochondriale vrije radicalen vrij. Deze vrije radicalen activeren genen in de kern die je later beter beschermen tegen andere aanvallen van vrije radicalen. Op deze manier zorgen deze mitochondriale vrije radicalen er dus voor dat je gezond blijft.

Omdat deze mitohormetische respons dus een langdurige herinnering achterlaat in de kern, denken wij dat deze herinnering wel eens epigenetisch gereguleerd zou kunnen zijn. Daarom hebben we in **hoofdstuk 8** een systeem opgezet waarmee we specifiek vrije radicalen op verschillende locaties in de mitochondriën zouden kunnen produceren. Dit systeem was gebaseerd op een fluorescent eiwit, SuperNova genaamd, dat specifiek vrije radicalen kan produceren op het moment dat het wordt blootgesteld aan licht van een bepaalde golflengte. Wij hypothetiseerden dat deze mitochondriale vrije radicalen ofwel direct ofwel indirect een effect zouden kunnen hebben op de epigenetische laag in de kern. Deze vrije radicalen zouden direct de functie van epigenetische enzymen kunnen beïnvloeden, zoals bijvoorbeeld is beschreven in **hoofdstuk 7**. Daarnaast zou een hoge dosis aan vrije radicalen de mitochondriën kunnen beschadigen, waardoor deze niet meer zo goed hun werking kunnen uitvoeren. Aangezien een belangrijke functie van de mitochondriën het reguleren van het metabolisme is, zou deze functie aangedaan kunnen zijn. Veel van de epigenetische enzymen hebben specifieke metabolieten uit de mitochondriën nodig om te functioneren. Dus via disfunctionerend mitochondriaal metabolisme zouden mitochondriale vrije radicalen de epigenetica in de kern kunnen beïnvloeden.

Naast het effect van vrije radicalen op de epigenetica in de kern, zouden zij ook de epigenetica rondom het mitochondriaal DNA kunnen beïnvloeden. Mitochondriën bezitten namelijk hun eigen DNA. Miljoenen jaren geleden zijn de mitochondriën zoals we die nu kennen ontstaan uit een samensmelting van een bacterie met eencellige organismen. Deze bacteriën brachten hun eigen DNA

mee, en dat DNA is later het mitochondriaal DNA geworden. Voor lange tijd werd gedacht dat dit DNA kaal was, en dus geen epigenetische laag bevatte. Maar sinds enkele jaren lijkt er nu meer en meer overtuigend bewijs te komen dat deze mitochondriale epigenetische laag toch bestaat. In **hoofdstuk 9** beschrijven we deze aanwijzingen. Ook lijkt er een verband te zijn tussen de status van deze mitochondriale epigenetische laag, en een veelvoud aan verschillende ziekten, van Alzheimer tot Parkinson en van darmkanker tot diabetes. Het is echter onduidelijk of dit om een direct causaal verband gaat. Daarom zijn we in **hoofdstuk 10** gaan onderzoeken wat de functie van deze mitochondriale epigenetische laag is.

Kanker kan ontstaan doordat bepaalde genen die de tumorformatie onderdrukken (tumorsuppressorgenen) uit komen te staan, of genen die de tumorformatie stimuleren (oncogenen) aan komen te staan. We weten nu dat vrije radicalen de epigenetica kunnen beïnvloeden en dat dit vervolgens kan leiden tot disregulatie van tumorsuppressor of oncogenen. Maar wat kunnen we er tegen doen nu we dit weten? Aangezien de epigenetische laag reversibel is, kan de originele epigenetische status dus ook worden hersteld.

Momenteel zijn er zogeheten epigenetische drugs op de markt. Dit zijn medicijnen die al in de kliniek worden toegepast om de gedisreguleerde epigenetica te herstellen in bepaalde vormen van bloedkanker. Helaas werken deze medicijnen niet goed op andere typen kanker. Bovendien zijn deze medicijnen niet specifiek, i.e. ze werken op het hele genoom. Dit heeft tot gevolg dat er ook ongewenste epigenetische veranderingen kunnen plaatsvinden die tot bijwerkingen kunnen leiden, zoals het aanzetten van metastase genen. Om dit te voorkomen, zijn er ook methodes in ontwikkeling waarmee we de epigenetica specifiek rondom één gen kunnen beïnvloeden. In **hoofdstuk 11 en 12** gebruiken we zo'n methode om specifieke tumorsuppressorgenen te re-activeren in baarmoederhalskanker, zodat de kankercellen sterven of niet meer verder kunnen groeien. Deze methode is gebaseerd op de fusie tussen een DNA bindend eiwit, een zogeheten zinkvingereiwit, en een epigenetisch enzym. Het DNA bindend eiwit is zo ontworpen dat het een bepaalde locatie in het genoom kan herkennen. Door de fusie met het epigenetisch enzym zal alleen op deze locatie de epigenetica worden hersteld, waardoor ongewenste bijeffecten kunnen worden voorkomen. Aangezien de epigenetische laag wordt doorgegeven aan de dochtercellen, zullen eventuele nakomelingen van deze cellen ook weer allemaal de originele epigenetische laag bezitten.



In theorie klinkt dit allemaal heel mooi, maar in de praktijk blijkt dat er toch nog wat haken en ogen aan zitten. Zo zijn deze zinkvingereiwitten specifiekere dan epigenetische drugs, maar in sterk mindere mate kunnen ook deze eiwitten de epigenetica op ongewenste plekken veranderen. Bovendien zijn er mogelijk meerdere epigenetische enzymen nodig om blijvende epigenetische veranderingen op het DNA te induceren, alleen de exacte combinatie van enzymen is nog niet precies bekend. Daarom zal er meer onderzoek gedaan moeten worden om deze veelbelovende therapie een stap dichterbij de patiënt te brengen.

Om alles nog eens samen te vatten, een goede balans tussen de productie van vrije zuurstofradicalen en de detoxificatie door antioxidanten is van levensbelang. Een disbalans kan namelijk leiden tot het ontstaan van vele ziekten, waaronder kanker. Dit komt doordat vrije radicalen zowel de genetica als de epigenetica van een cel kunnen veranderen. In dit proefschrift hebben we onderzocht hoe vrije radicalen deze veranderingen teweeg kunnen brengen, en hoe we deze kennis kunnen inzetten in onze zoektocht naar effectieve manieren om kanker te kunnen behandelen.

**Dankwoord**

Het is alweer 4 jaar geleden dat ik aan dit avontuur, promoveren genaamd, ben begonnen. Het zou een hele verandering in mijn leven teweeg brengen; de maïsvelden in Brabant zou ik gaan verruilen voor de aardgasvelden in Groningen. Bovendien was dit het officiële einde van mijn studententijd, en zou ik eindelijk “echt” gaan werken. Gelukkig kan ik nu terugkijkend zeggen dat het een geslaagd avontuur is geworden! En dat was zeker niet gelukt zonder de hulp van familie, vrienden en collega’s. Daarom wil ik bij deze iedereen bedanken die in enige mate heeft bijgedragen aan de totstandkoming van dit proefschrift. Een aantal mensen wil ik echter in het bijzonder benoemen.

Om te beginnen, wil ik mijn promotors bedanken. Ten eerste Marianne, bedankt dat je mij hebt willen begeleiden tijdens mijn promotietraject en me van raad en daad hebt bijgestaan tijdens de soms lastige beslissingen. Ik waardeer het ook dat je me alle kansen en vrijheid hebt gegeven om mezelf verder te ontwikkelen tot een zelfstandige wetenschapper. Ook wil ik mijn tweede promotor Gerard bedanken. Gerard, ondanks dat we elkaar slechts af en toe zagen, wil ik ook jou bedanken voor de bijdrage die jij hebt geleverd aan met name de scheikundige aspecten van mijn onderzoek.

Verder wil ik graag de leden van de leescommissie, Prof. Dr. Klaas Nico Faber, Prof. Dr. Barbara Bakker en Prof. Dr. Wim Vanden Berghe, bedanken voor het beoordelen van mijn proefschrift.

Daarnaast wil ik graag mijn mede PhD studenten aan dit project bedanken: Arjan en Sambika. Ondanks de vele tegenslagen in ons originele onderzoeksplan en het “niet willen luisteren” van jullie moleculen, hebben jullie allebei doorgezet, en daarvoor wil ik jullie bedanken. Beste Arjan, ik heb erg genoten van onze samenwerking en vond het leuk om jou te introduceren in de wondere wereld van de biologie en andersom, heb jij mij kennis laten maken met de moleculaire raadsels van de chemie. Beiden veel succes gewenst met de laatste loodjes van jullie PhD!

Graag wil ik ook alle collega’s van de Epigenetic Editing groep bedanken voor de prettige werksfeer: Anita, Christian, David, Désirée, Fahimeh, Hui, Ineke, Inge, Jelleke, Juan, Julio, Melanie, Marcel, Pytrick, Roelien, Rutger. Marcel, bedankt dat ik altijd even langs kon komen voor een gesprek en een goed advies. David en Fahimeh, I’ll also be your ice queen ;-). En natuurlijk niet te vergeten alle studenten die mij hebben geholpen tijdens mijn promotie: Amanda, Archie, Emmy, Francien, Frederike, Glenn, Lieke, Matthijs, Melinde, Melissa en Kim. Special thanks go to Archie for his contribution to chapter 5. And I’m really proud

that you managed to obtain a PhD grant with which you continue my line of research in our group and in collaboration with Prof. Dr. Klaas Nico Faber. I'm honored that you would like to be my paranymph on this special day.

Ook ben ik dankbaar voor de hulp die alle collega's van de Medische Biologie mij hebben gegeven. Dankzij de kennis en hulp van enkele mensen in het bijzonder, is het mij gelukt om de ontbrekende kennis binnen onze eigen groep aan te vullen. Ghazaleh, thank you for sharing all your reagents/knowledge about ROS and mitochondria. You saved me a lot of time optimizing protocols. Harold, altijd als ik op zoek was naar dat ene stofje, of protocol, bleek jij degene te zijn die mij verder kon helpen – heel erg bedankt hiervoor. Chengcheng, your everlasting smile made my day, everyday ☺, and thank you for introducing me in the Chinese cuisine. I'm grateful that you will be my paranymph today. Vincenzo, thank you for helping me with organizing the MBYS meetings. Thanks to your help it was a great success. Ook niet te vergeten zijn Annet, Susan, Carolien en Hans, dankzij jullie hulp liep alles organisatorisch (bijna) altijd op rolletjes.

Natuurlijk wil ik ook mijn kamergenoten niet vergeten: Christina, Ee-Soo, Grissel, Maaïke, Monica, Ran<sup>2</sup>, Rui. Thanks for the great atmosphere in our office. Grissel, I always enjoyed our talks, doing sports together, having dinners, and I miss your daily “1 minute of complaining”. Christina, Ee-Soo, Ran<sup>2</sup> and Rui, thank you for introducing me into the Chinese culture/food and thanks to all of you, I can speak fluently Chinese now. Maaïke, bedankt voor de leuke gesprekken en de ervaringen die je als “ervaren” wetenschapper met me wilde delen.

Naast werken hoort er natuurlijk ook ontspanning te zijn en dat heb ik kunnen vinden bij bridgeclub APIH. Ik wil dan ook alle leden bedanken voor de gezellige bridge avondjes. Dankzij jullie ben ik aangestoken met het “bridge-virus”. Speciale dank gaat uit naar mijn bridgepartners Hugo, Sjaak en Reinder. Hugo, jij hebt het al die tijd met mij uitgehouden als bridgepartner, bedankt hiervoor. Ik heb genoten van onze Brabantse onderonsjes, jouw kookkunsten, de laatste roddels en avonturen in het lab. Veel succes gewenst met het afronden van je PhD. Sjaak, ik heb genoten van onze Ruitenboeravonturen en daar kom ik graag nog een keertje voor terug naar Groningen. Reinder, met jouw aan tafel was geen enkel potje saai ☺!

Verder zorgden familie en vrienden ook voor de nodige relaxmomentjes. Gert-Jan, Laurie en Maarten, leuk dat jullie mij af en toe kwamen opzoeken in het hoge Noorden. Andersom heb ik ook genoten van de weekendjes in Nijmegen en Utrecht, waar we mooie wandelingen maakten of streden om de eer in een potje Carcassonne. Ook mijn vrienden van de middelbare school, Els, Jessica, Katrien en

Thijs, wil ik graag bedanken. Ondanks het feit dat we elkaar wat minder zien, als we weer samen zijn is het weer als vanouds. Welbekende spelletjesavonden “onder het genot van een hapje en drankje”, of mooie wandelingen en dagjes zwemmen, hebben mij de nodige ontspanning bezorgd.

Ook wil ik ons mam en pap bedanken. Jullie staan altijd voor mij klaar, en steunen mij in alles wat ik doe, al 27 jaar! Het was altijd weer een plezier om een weekendje naar huis te gaan. Met jou, mama, ging ik mooie wandelingen maken, terwijl ik met jou, papa, een spannende mountainbiketocht ging maken in de bossen.

En als allerlaatste, lieve Christian, jij hebt mij door dik en dun gesteund tijdens mijn PhD. Je hebt me alle fijne kneepjes van het Epigenetic Editen geleerd, maar me ook de weg geleid door het hoge Noorden. De laatste 1,5 jaar was je helaas wat verder bij me vandaan, maar gelukkig kon je via Skype en de mooie films die je van onze vakanties maakte toch nog een beetje bij me zijn. Samen met jou hoop ik een mooie toekomst tegemoet te zien, hopelijk binnenkort weer bij elkaar.

### **Biografie**

Monique Geertruda Petronella van der Wijst werd geboren op 27 december 1988 te Veghel. Na in 2007 haar gymnasium diploma behaald te hebben aan het Commanderij College in Gemert, begon ze aan de bachelor Biomedische Wetenschappen aan de Radboud Universiteit Nijmegen. Na deze afgerond te hebben, vervolgde ze haar studie aan de Vrije Universiteit in Amsterdam waar ze de topmaster Oncology ging doen. Als onderdeel van haar master programma liep ze haar eerste masterstage in het Angiogenese lab van Prof. Dr. A.W. Griffioen (VUMC Cancer Center Amsterdam). Daar bestudeerde ze de rol van de transcriptiefactor HEYL in tumorendotheel. Voor haar tweede masterstage vertrok ze voor 9 maanden naar Melbourne, Australië. Daar heeft ze in het lab van Prof. Dr. J.K. Heath (Ludwig Institute for Cancer Research) geholpen om een small molecule screening in zebrafisjes op te zetten naar U12-type splicing modulatoren. Na terugkomst uit Australië heeft ze in augustus 2012 haar mastertitel behaald. Direct daarna is ze naar Groningen verhuisd om te starten met het in deze thesis beschreven PhD onderzoek naar het effect van vrije zuurstofradicalen op de epigenetica en carcinogenese. Na haar promotie zou Monique graag verder gaan in het mitochondriën en/of epigenetica onderzoek.

### **Biography**

Monique Geertruda Petronella van der Wijst was born on the 27th of December 1988 in Veghel, the Netherlands. After completing her pre-university education at the Commanderij College in Gemert, she started her Bachelor's studies at the Radboud University Nijmegen. After receiving her Bachelor's degree, she continued her studies with the topmaster programme in Oncology at the VU University Amsterdam. As part of her Master's degree she performed her first internship in the Angiogenesis lab of Prof. A.W. Griffioen (VUMC Cancer Center Amsterdam). During this internship she studied the role of the transcription factor HEYL in tumor endothelium. For her second internship, Monique went to Melbourne, Australia, for 9 months. Here, she joined the Colon Molecular and Cell Biology lab of Prof. J.K. Heath (Ludwig Institute for Cancer Research). During this internship she set up a small molecule screen in zebrafish to identify U12-type splicing modulators. After returning to the Netherlands, Monique received her Master's degree in August 2012. In September of the same year, she moved to Groningen to embark on her PhD studies in the lab of Prof. M.G. Rots. There she studied the interaction between reactive oxygen species, epigenetics and cancer. After completing her PhD, Monique would like to continue her research in the field of mitochondria and/or epigenetics.

**List of publications**

Li Q\*, van der Wijst MG\*, Kazemier HG, Rots MG, Roelfes G. **Efficient nuclear DNA cleavage in human cancer cells by synthetic bleomycin mimics.** *ACS Chem Biol.* 2014 Apr 18; 9(4):1044-51. doi: 10.1021/cb500057n. Epub 2014 Feb 26.

van der Wijst MG, Brown R, Rots MG. **Nrf2, the master redox switch: the Achilles' heel of ovarian cancer?** *Biochim Biophys Acta.* 2014 Dec; 1846(2):494-509. doi: 10.1016/j.bbcan.2014.09.004. Epub 2014 Sep 28.

van der Wijst MG, Huisman C, Mposhi A, Roelfes G, Rots MG. **Targeting Nrf2 in healthy and malignant ovarian epithelial cells: Protection versus promotion.** *Mol Oncol.* 2015 Aug; 9(7):1259-73. doi: 10.1016/j.molonc.2015.03.003. Epub 2015 Mar 19.

Huisman C, van der Wijst MG, Falahi F, Overkamp J, Karsten G, Terpstra MM, Kok K, van der Zee AG, Schuurung E, Wisman GB<sup>#</sup>, Rots MG<sup>#</sup>. **Prolonged re-expression of the hypermethylated gene EPB41L3 using artificial transcription factors and epigenetic drugs.** *Epigenetics.* 2015 May 4; 10(5):384-96. doi: 10.1080/15592294.2015.1034415. Epub 2015 Apr 1.

van der Wijst MG, Rots MG. **Mitochondrial epigenetics: an overlooked layer of regulation?** *Trends Genet.* 2015 July; 31(7):353-356. doi: 10.1016/j.tig.2015.03.009. Epub 2015 Apr 16.

van der Wijst MG\*, Venkiteswaran M\*, Chen H, Xu GL, Plösch T, Rots MG. **Local chromatin micro-environment determines DNMT activity: from DNA methyltransferase to DNA demethylase or DNA dehydroxymethylase.** *Epigenetics.* 2015 Aug; 10(8):671-6. doi:10.1080/15592294.2015.1062204. Epub 2015 Jun 22.

Huisman C\*, van der Wijst MG\*, Schokker M, Blancafort P, Terpstra MM, Kok K, van der Zee AG, Schuurung E, Wisman GB<sup>#</sup>, Rots MG<sup>#</sup>. **Re-expression of selected epigenetically silenced candidate tumor suppressor genes in cervical cancer by TET2-directed demethylation.** *Molecular Therapy.* 2016 Mar; 24(3):536-47. doi: 10.1038/mt.2015.226. Epub 2015 Dec 21.

van der Wijst MG, van Tilburg AY, Ruiters MH, Rots MG. **Towards revealing the function of mitochondrial DNA methylation.** (Submitted).

Mposhi A, van der Wijst MG, Faber KN, Rots MG. **Regulation of mitochondrial gene expression, the epigenetic enigma.** (Submitted).

\*,<sup>#</sup> These authors contributed equally to these studies

**List of abbreviations**

$^1\text{O}_2$	singlet oxygen
5-aza-dC	5-aza-2'-deoxycytidine (DNMT inhibitor)
5caC	5-carboxylcytosine
5fC	5-formylcytosine
5hmC	5-hydroxymethylcytosine
5mC	5-methylcytosine
AID	activation-induced cytidine deaminase
AMPK	AMP-dependent kinase
AQP8	aquaporin-8
ARE	antioxidant response element
ATF	artificial transcription factor
BER	base excision repair
BLM	bleomycin
BSO	buthionine sulfoximine
CD	catalytic domain
ChIP	chromatin immunoprecipitation
CNL	copy number loss
CpG	cytosine followed by a guanine (linear dinucleotide)
cpYFP	circularly-permuted yellow fluorescent protein
CRISPR/Cas9	clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated 9 protein
DCFH	dichlorodihydrofluorescein
DHE	dihydroethidium
DIP	DNA immunoprecipitation
DNMT	DNA methyltransferase
DNMTi	DNA methylation inhibitor
DSB/dsDNA breaks	double strand DNA breaks
EEE	engineered epigenetic editor
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EOC	epithelial ovarian cancer
ER	estrogen receptor
ER-UPR	endoplasmatic reticulum unfolded protein response
ERK	extracellular-signal regulated kinase
GADD45A	growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45 alpha
GPX	glutathione peroxidase
GSH/GSSH	reduced/oxidized glutathione
$\text{H}_2\text{O}_2$	hydrogen peroxide

H-strand	heavy-strand
HDACi	histone deacetylase inhibitor
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
HR	homologous recombination
HSP	H-strand promoter
IC <sub>50</sub>	half maximal inhibitory concentration
IMS	intermembrane space
KEAP1	kelch like-ECH-associated protein 1
L-strand	light-strand
LC-ESI-MS/MS	liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry
LINE	long interspersed nuclear element
LSD	lysine-specific demethylase
LSP	L-strand promoter
LUMA	luminometric methylation assay
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MAT	methionine adenosyl transferase
MEK	MAPK/ERK kinase
MLS	mitochondrial localization signal
MSP	methylation-specific PCR
mt ...	mitochondrial ...
MTS	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxy phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) assay
mtSSB	mitochondrial single-stranded DNA binding protein
N4Py	<i>N,N</i> -bis(2-pyridylmethyl)- <i>N</i> -bis(2-pyridyl)- methylamine
nDNA	nuclear DNA
NER	nucleotide excision repair
NES	nucleotide export signal
NoED/NoEF	no effector domain
NRF2/NFE2L2	nuclear factor erythroid 2-like 2
NUMT	nuclear integration of mtDNA sequence
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	superoxide anion
OH•	hydroxyl radical
OXPPOS	oxidative phosphorylation
PARP	poly ADP ribose polymerase
PI	propidium iodide
PI3K	phosphatidylinositol 3-kinase
POLG	mitochondrial DNA polymerase $\gamma$



POLRMT	mitochondrial RNA polymerase
PR	progesterone receptor
PTEN	thosphatase and tensin homolog
RARE	retinoic-acid response element
roGFP	redox-sensitive green fluorescent protein
ROS	reactive oxygen species
rRNA	ribosomal RNA
SAM	s-adenosyl methionine
SCF	skp, cullin, F-box containing complex
SKD	super kruppel-associated box domain
SOD	superoxide dismutase
SSB/ssDNA breaks	single strand DNA breaks
TALE	transcription activator-like effector
TDG	thymine-DNA glycosylase
TET	ten-eleven translocation enzyme
TFAM	mitochondrial transcription factor A
TFB2M	mitochondrial transcription factor B2
TOR	target-of-rapamycin
tRNA	transfer RNA
TSA	Trichostatin A (HDAC inhibitor)
TSG	tumor suppressor gene
TSS	transcription start site
VDAC	voltage-dependent anion-selective channel
VP64	four copies of the herpes simplex viral protein 16
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein
ZFP	zinc finger protein
zVAD-FMK	caspase-inhibitor carbobenzoxy-valyl-alanyl-sparyl- [O-methyl]-fluoromethyl-ketone
$\beta$ -TrCP	beta-transducin repeat-containing protein
$\gamma$ H2AX	phosphorylated histone variant H2AX