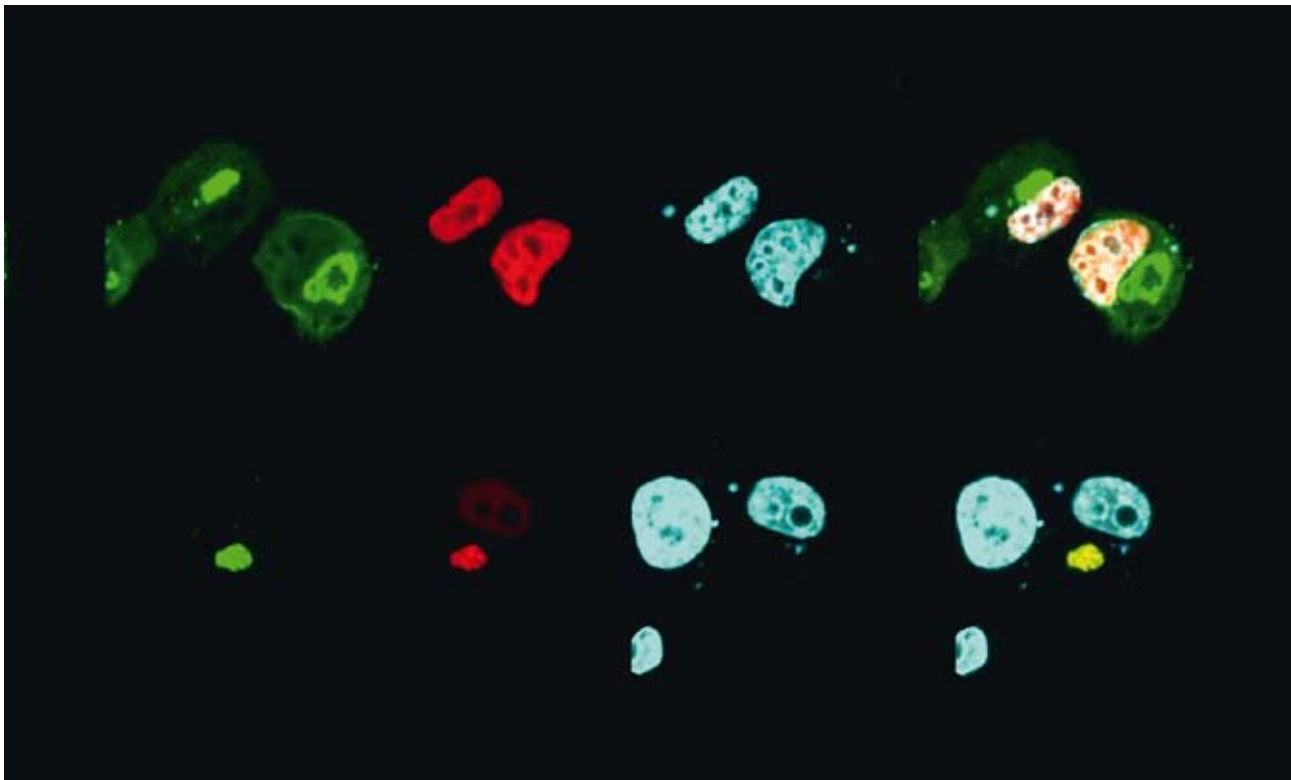


## Interdisziplinäre Abteilungen - Abteilung Molekulare Onkologie Interdisciplinary Departments - Department of Molecular Oncology



Intrazelluläre Relokalisierung des Tumorsuppressors p53 (rot angefärbt) durch das Adenovirus-E1B-Protein (grün angefärbt).  
Intracellular relocalization of the tumor suppressor p53 (red coloured) by the adenovirus E1B protein (green coloured).

### Forschungsschwerpunkte Research Foci

---

- ▷ Modulation und Effektoren/Regulatoren des p53-Systems
  - ▷ Gewebsspezifische Expression des p53-Homologen p63 und seine Rolle im Wnt-Signalweg
  - ▷ Phosphorylierung von RNA Polymerase II und Epigenetik
  - ▷ Regulation hormonabhängiger Transkription durch das Ubiquitin-Proteasom-System
  - ▷ Funktion und Regulation der p53-Familie in normalen und kancerösen Zellen
- ▷ Modulation and effectors/regulators of the p53 system
  - ▷ tissue-specific expression of the p53 homologue p63, and its role in Wnt signalling
  - ▷ RNA Polymerase II Phosphorylation and Epigenetic Regulation
  - ▷ Regulation of Nuclear Hormone Receptor-Dependent Transcription by the Ubiquitin-Proteasome System
  - ▷ Function and regulation of the p53 gene family in normal cells and cancer cells
-



**Abteilungsdirektor** **Head of Department**

Prof. Dr. Matthias Dobbelstein

**Kontaktdaten** **Contact**

Abteilung Molekulare Onkologie  
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN  
 Justus-von-Liebig-Weg 11, D-37077 Göttingen  
 Telefon +49-551 / 39-13840, Fax +49-551 / 39-13713  
 mdobbel@gwdg.de  
 www.moloncol.med.uni-goettingen.de

**Hochschullehrer/innen** **Professors and Lecturers**

+49-551 /

Dobbelstein, Matthias	Prof. Dr.	mdobbel@gwdg.de	39-13840
Johnsen, Steven	JProf. Dr.	sjohnse@gwdg.de	39-10373
Moll, Ute	Prof. Dr. Gastprofessorin	umoll@gwdg.de	39-3576

## ALLGEMEINE EINFÜHRUNG

In der Abteilung Molekulare Onkologie werden die Reaktionen von Säugerzellen auf onkogene Noxen wie etwa Bestrahlung oder Chemotherapie untersucht. Im Mittelpunkt stehen Signalkaskaden, die Wachstum und Überleben der Zelle regulieren. Ein wesentlicher Aspekt besteht dabei in Regulation und Wirkung des Tumorsuppressors p53, seiner Homologen und seiner Assoziationspartner. Neben klassischen zellbiologischen Methoden verwenden wir Hochdurchsatz-Mikroskopie (high content screening) zur umfassenden Analyse ganzer Signalkaskaden. Durch zeitlich und örtlich hochaufgelöste Chromatin-Immunpräzipitation wird v. a. untersucht, wie diese intrazellulären Signale die Transkriptions-Elongation steuern.

## PREFACE

The research in the division of molecular oncology is concerned with the reaction of mammalian cells towards oncogenic stress, such as irradiation or chemotherapy. The focus is on signalling cascades that regulate cell proliferation and survival. A major aspect of this work consists in the regulation and the effects of the tumor suppressor p53, its homologues and its association partners. Besides classical methods of cell biology, we are applying high content screening microscopy for comprehensive analysis of entire signalling cascades. Furthermore, chromatin immunoprecipitation with high temporal and spatial resolution is used to examine how intracellular signals govern transcriptional elongation.

### 1. Modulation und Effektoren/Regulatoren des p53-Systems

#### *Der Tumorsuppressor p53 als Modulator der Antwort auf DNA-Schäden*

Die Antwort der Zelle auf DNA-Schäden wird nicht nur durch Ausmaß und Dauer exogener Schädigung bestimmt, sondern auch durch die Sensitivität der Zelle. Der Tumorsuppressor p53 und die Histonazetyltransferase Tip60 sind miteinander assoziiert und regulieren gegenseitig ihre Aktivitäten. Zusätzlich ist jede dieser Komponenten unabhängig in der Lage, die Antwort der Zelle auf DNA-Schäden zu regulieren. P53 und andere Effektoren dieser Antwort werden auch durch Viren manipuliert. Um die verantwortlichen Signalkomponenten zu identifizieren, führen wir Hochdurchsatz-Screens durch und fanden bereits Kinasen und Phosphatasen als neue Komponenten der Antwort auf DNA-Schäden.

#### *microRNAs als Effektoren und Regulatoren des p53-Systems*

microRNAs stellen eine neu entdeckte Ebene der Genregulation dar, die auch die Tumorprogression beeinflusst. Wir haben microRNAs identifiziert, die durch die proapoptotischen Transkriptionsfaktoren p53 und E2F1 induziert werden, und wir haben die antiprolifera-

tiven Eigenschaften dieser microRNAs charakterisiert. Außerdem haben wir Hochdurchsatzscreens durchgeführt, um microRNAs mit Targets in der p53-Familie zu identifizieren.

### 1. Modulation and effectors / regulators of the p53 system

#### *The tumor suppressor p53 modulating the DNA damage response*

The DNA damage response is not only determined by the extent and duration of exogenous damage, but also by the vigilance of the cell towards such damage. The tumor suppressor p53 and the histone acetyl transferase Tip60 are associated and mutually regulate their activities. In addition, each of them is independently capable of adjusting the extent of DNA damage response. Similarly, p53 and other components of the the DNA damage-inducible signalling cascades are profoundly affected by virus infections. To determine the signalling components responsible for the outcome of DNA damage, we have established high content screening technologies and identified kinases and phosphatases as novel components of the DNA damage response.

#### *microRNAs as effectors and regulators of the p53 system*

microRNAs represent a newly discovered layer of gene regulation, with implications to cancer progression. We have identified microRNAs that are induced by the proapoptotic transcription factors p53 and E2F1, and we characterized the antiproliferative properties of these microRNAs. Furthermore, we have performed high content screening assays to find microRNAs that reduce the expression levels of p53 family members.

#### **Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders**

Prof. Dr. med. Matthias Döbelstein

#### **Kooperationen Cooperations**

Giovanni Blandino and Giulia Piaggio, Regina Elena Cancer Institute, Rome, Italy

Krystyna Biełkowska-Szewczyk, Gdansk, Poland

Reuven Agami, NKI, Netherlands

Torben Ørntoft, Aarhus, Denmark

Tomas Pieler, Göttingen

#### **Drittmittelförderung Funding**

Wilhelm Sander Stiftung 2008.0091: Die Histon-Azetyltransferase Tip60 in der zellulären Antwort auf Bestrahlung und Chemotherapie, 2008-2010

EU-FP6 Active p53: Manipulation tumor suppression - a key to improve cancer treatment; TP 12 deltaNp73/63 and tumor growth, 2004-2009

German Cancer Aid 10-2354: Die Rolle adenoviraler Onkoproteine bei der tumorspezifischen Virusreplikation, 2005-2008

HBFG (automated fluorescence microscopy and high content image analysis), 2007

#### **Publikationen Publications**

Kranz D, Dohmesen C, Döbelstein M (2008): BRCA1 and Tip60 determine the cellular response to ultraviolet irradiation through distinct pathways. *Journal of Cell Biology*, 182(1):197-213

Gurtner A, Fuschl P, Magi F, Colussi C, Döbelstein M, Sacchi A, Piaggio G (2008): NF- $\kappa$ B dependent epigenetic modifications discriminate between proliferation and postmitotic tissue. *PLoS One* 3 (4): e2047

Dohmesen C., Koepfel M., Dobbelstein (2008): Specific inhibition of Mdm2-mediated neddylation by Tip60. *Cell Cycle* 7(2): 222 - 31

D. Kranz and M. Dobbelstein (2006): Non-genotoxic p53 activation protects cells against S phase specific chemotherapy. *Cancer Research* 66, 10274-10280

M. Schümann and M. Dobbelstein (2006): Activating Ras mutations fail to ensure efficient replication of adenovirus mutants lacking VA-RNA. *Cell Cycle* 5, 315-321

M. Schümann and M. Dobbelstein (2006): Adenovirus-induced ERK phosphorylation during the late phase of infection enhances viral protein levels and virus progeny. *Cancer Research* 66, 1282 - 1288

Braun, C.J., Zhang, X., Savelyeva, I., Wolff, S., Moll, U.M., Schepeler, T., Orntoft, T.F., Andersen, C.L. and Dobbelstein, M. (2008) p53-Responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest. *Cancer Res*, 68, 10094-10104

## 2. Gewebsspezifische Expression des p53-Homologen p63 und seine Rolle im Wnt-Signalweg

P63-Proteine haben eine ähnliche Struktur und Funktion wie der Tumorsuppressor p53. Unabhängig von p53 ist p63 aber in der Lage, die Aktivität des kanonischen Wnt-Signalwegs zu manipulieren. Wir fanden, dass p63 direkt mit Transkriptionsfaktoren der LEF/TCF-Familie interagiert, und dies erklärt die Wechselwirkung von p63 mit dem Wnt-Signalweg. P63 verstärkt auch die Bildung von Doppelachsen im *Xenopus*-Modell, was ebenfalls für seine Rolle in diesem Signalweg spricht. In einem assoziierten Projekt fanden wir einen neuen Promoter, der neue Isoformen von p63 induziert, insbesondere in testikulären Zellen. Dieser Promoter kann pharmakologisch reguliert werden.

## 2. Tissue-specific expression of the p53 homologue p63, and its role in Wnt signalling

P63 proteins have a similar structure and function as the tumour suppressor p53. Independently of p53, however, p63 is capable of manipulating the canonical Wnt signalling pathway. We found that p63 directly interacts with the LEF/TCF family of transcription factors, thereby providing a plausible explanation for the functional cooperation of p63 and Wnt signalling. P63 also increases double axis formation upon injection into *Xenopus* embryos, further arguing in favour of its ability to enhance Wnt signalling. In a related project, we have identified a novel promoter that drives the expression of human p63, mostly in testicular cells. This allows the targeted pharmacological upregulation of a p53-homologue.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. med. Matthias Dobbelstein

### Kooperationen Cooperations

Tomas Pieler, Göttingen

### Drittmittelförderung Funding

DO 500/4-IDFG, Forschergruppe Wnt assoziierte Signalwege in Entwicklung und Tumourprogression; TP6 Interaktion und Kooperation des Tumorsuppressor-Homologen p63 mit Faktoren der LEF/TCF -Familie. 2007-2010.

## 3. RNA-Polymerase II-Phosphorylierung und Epigenetische Regulation

Wir untersuchen die Rolle der Phosphorylierung von RNA-Polymerase II in der C-terminalen Domäne hinsichtlich transkriptionaler Elongation und RNA-Prozessierung. Unsere Arbeiten sind primär auf die Rolle des CDK9-Proteins fokussiert. Einen Schwerpunkt bildet der Einfluss von CDK9 auf die Ubiquitinierung von Histon H2B. Die H2B-Ubiquitin-Ligase RNF40 ist in einer subnukleären Struktur namens Cajal Bodies angereichert, und diese Lokalisation ist CDK9-abhängig. Derartige Modifikationen regulieren die 3'-Prozessierung von Histon-mRNAs und könnten Einfluss nehmen auf Zelldifferenzierung und Metastasierung.

## 3. RNA Polymerase II Phosphorylation and Epigenetic Regulation

We are investigating the role of the phosphorylation of the RNA Polymerase II C-terminal domain in transcriptional elongation and co-transcriptional RNA processing. Our work is primarily focused on the role of the Positive Transcription Elongation Factor-b (P-TEFb) component Cyclin Dependent Kinase-9 (CDK9) and its role in directing epigenetic modifications. During the course of our work we identified Histone H2B monoubiquitination as a CDK9-dependent covalent histone modification. We further observed that the H2B ubiquitin ligase RNF40 is enriched in subnuclear Cajal bodies and that this localization is dependent upon CDK9 activity. The functional significance of this localization was shown by demonstrating a dependence of histone mRNA 3' end processing (a process believed to occur in the Cajal bodies) on CDK9 and RNF40. Our future studies will be aimed at identifying and characterizing additional histone modifications that may regulate these processes. We are also currently dissecting the molecular nature of the RNF40 ubiquitin ligase and determining its role in cellular differentiation and the development and/or metastasis of cancer.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Junior Professor Dr. Steven Johnsen

### Kooperationen Cooperations

Dirk Eick, Munich, Germany

Moshe Oren, Rehovot, Israel

Reinhard Lührmann, Göttingen, Germany

### Drittmittelförderung Funding

GGNB Junior group stipend: The Role of Transcription Elongation Regulatory Proteins in Controlling the TGFβ/SMAD Signaling Pathway in Human Cancer. 2008-2009

Georg-August-University Foundation-Anschubfinanzierung: Transkriptionselongation in Tumorzellen. 2007-2009

FCI-Sachkostenzuschuss

### Publikationen Publications

Shema E, Tirosh I, Aylon Y, Huang J, Ye C, Moskovits N, Raver-Shapira N, Minsky N, Pirngruber J, Tarcic G, Hubiarova P, Moyal L, Gana-Weisz M, Shiloh Y, Yarden Y, Johnsen SA, Vojtesek B, Berger SL, Oren M. The histone H2B-specific ubiquitin ligase RNF20/hBRE1 acts as a putative tumor suppressor through selective regulation of gene expression. *Genes Dev*. 2008 Oct 1;22(19):2664-76

#### 4. Regulation der Transkription durch Nukleäre Hormonrezeptoren mittels Ubiquitinierung

Das Ubiquitin-Proteasom-System kontrolliert die transkriptionale Aktivität nukleärer Hormonrezeptoren. Wir identifizierten die Proteine RLIM und CLIM als Kofaktoren des Östrogenrezeptors. RLIM ist eine Ubiquitinligase deren Aktivität wesentlich ist für die Transkriptionsregulation, z. B. in Mammakarzinomen.

#### 4. Regulation of Nuclear Hormone Receptor-Dependent Transcription by the Ubiquitin-Proteasome System

The second focus of the Johnsen group is the role of the ubiquitin-proteasome system in controlling the transcriptional activity of the nuclear hormone receptors. We recently identified the LIM-domain binding cofactors RLIM and CLIM as specific cofactors of the estrogen receptor (ER $\alpha$ ). RLIM is a RING finger protein whose ubiquitin ligase activity is important for its ability to regulate ER $\alpha$  activity. Furthermore, we uncovered a significant correlation between CLIM, ER $\alpha$  and progesterone receptor (PR) expression in a large cohort of breast cancers which surprisingly corresponds to a less differentiated phenotype (although ER $\alpha$  and PR expression generally correlates with a more differentiated phenotype). In our molecular analyses we were able to demonstrate that RLIM is a positive cofactor of ER $\alpha$  activity while CLIM inhibits ER $\alpha$ -dependent transcription. These data suggest that CLIM and RLIM may be important regulators of ER $\alpha$  activity during the onset or progression of breast cancer.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Junior Professor Dr. Steven Johnsen

#### Kooperationen Cooperations

Ingolf Bach, Worcester, Massachusetts (USA)

Klaus Pantel, Hamburg, Germany

J. David Furlow, Davis, California (USA)

Martin Scheffner, Konstanz, Germany

Frank Gannon, Heidelberg, Germany

#### Publikationen Publications

Johnsen, S.A., Güngör, C., Prenzel, T., Riethdorf, S., Riethdorf, L., Taniguchi-Ishigaki, N., Rau, T., Furlow, J.D., Sauter, G., Pantel, K., Scheffner, M., Gannon, F., and Bach, I. Regulation of Estrogen-Dependent Transcription by the LIM Cofactors CLIM and RLIM in Breast Cancer. *Cancer Research*, 69(1):128-36

Waddell, D.S., Baehr, L.M., van den Brandt, J., Johnsen, S.A., Reichardt, H.M., Furlow, J.D., and Bodine, S.C. The Glucocorticoid Receptor and FOXO1 Synergistically Activate the Skeletal Muscle Atrophy Associated MURF1 Gene. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008 Oct;295(4):E785-97

#### 5. Funktion und Regulation der p53-Familie in normalen und kanzerösen Zellen

Ute Moll ist Gastprofessorin der Abteilung und hat hier eine Arbeitsgruppe aufgebaut, während sie weiterhin ihren Verpflichtungen als Professorin der Universität von Stony Brook, New York, nachkommt. Ebenso wie bei den anderen Arbeitsgruppen der Abteilung liegt das Hauptinteresse auf dem Tumorsuppressor p53. p53 ist ein multifunktionales Protein, das nach Schädigung der DNA, nach onkogenem Stress und nach Hypoxie eine ausgeprägte Stressantwort vermittelt. Zwei verwandte aber in ihrer Struktur sehr komplexe Homologe zu p53, genannt p63 und p73, haben wichtige Funktionen in der Entwicklung des Organismus. Dies wird gegenwärtig v. a. im Hinblick auf das zentrale Nervensystem untersucht. Ein weiterer Forschungsschwerpunkt besteht in der Rolle von p63 und p73 in der Tumorentstehung. Die Entfernung von p73 destabilisiert das Genom und führt zu Aneuploidie und Polyploidie. Gegenwärtig untersuchen wir, ob für p63 ähnliche Konzepte zutreffen.

#### 5. Function and regulation of the p53 gene family in normal cells and cancer cells

Ute Moll recently joined the division as a guest professor to set up a group at Göttingen, while maintaining her full professorship at the University of Stony Brook, New York. The idea is to take advantage of local synergies with other researchers at the division of molecular oncology. All groups share their research interest concerning the tumor suppressor p53, but focus on different scientific concepts and experimental approaches. Joint research efforts are particularly expected to enhance our understanding of the regulation and functions carried out by the p53-homologue p63.

p53 is a multi-functional protein that controls a powerful stress response by integrating signals from many types of DNA damage, deregulated oncogenes and hypoxia, leading to p53 activation. Two related but structurally complex family members called p63 and p73 have striking developmental functions. Another focus of our research is to elucidate their role in cancer which is complicated by their complex expression patterns and a lack of clear genetic data. We use a combination of human tumor material and mouse models to better understand their action in malignant transformation.

We found that ablation of the p73 gene reveals a p53-independent genome stabilization function that suppresses polyploidy and aneuploidy in primary cells. On the other hand, we found that human tumors often preferentially upregulate truncated forms of p73 (so-called DeltaTAp73 isoforms) that can act as dominant-negative inhibitors of wild-type p53 and TAp73 and might have prognostic significance in certain tumors. Currently, we are setting up experimental systems to address the question whether p63 performs similar functions in the maintenance of ploidy and genomic stability.

**Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders**

Ute Moll

**Drittmittelförderung Funding**

Deutsche Krebshilfe: The role of p63 in proliferation and development 2009-2011

DFG: Macrophage migration inhibitory factor as a modulator of tumor growth 2009-2011

**Publikationen Publications**

Wolff S, Erster S, Palacios G, Moll UM (2008). p53's mitochondrial translocation and MOMP action is independent of Puma and Bax and severely disrupts mitochondrial membrane integrity. Cell Res. 18(7):733-44

**Anhang Appendix**

**Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere)**

**Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)**

Möriz C, Dr. rer. nat., Tumorsuppressor-Homolog p63 als Modulator des Wnt-Signalweges. Dissertation Universität Göttingen 2006.

**Diplom- und Masterarbeiten Diploma and Master Theses**

Lizé M, Dipl.-Biol., Pharmakologische Aktivierung p53-responsiver Gene. Diplomarbeit Universität Göttingen 2007.

Marinoglou K (2007) Establishment of a Drosophila system to study p53 regulation and functions. Universität Göttingen, Master of Science.

Morawska M (2007) Molecular interactions of the adenovirus E1B-55 kDa oncoprotein. Universität Göttingen, Master of Science.

Hecker R (2006) The role of p63 in the Wnt/b-catenin Signaling Pathway. Universität Göttingen, MSc.

**Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant**

**Reviewer (Journals)**

Cancer Cell

EMBO Journal

The Journal of Cell Biology

Cancer Research

**Reviewer (Grants)**

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB, Normalverfahren)

Deutsche Krebshilfe, Dr. Mildred Scheel-Stiftung

Wilhelm Sander-Stiftung

Studienstiftung des Deutschen Volkes

Telethon (I)

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (I)

**Internationale wissenschaftliche Kooperationen**

**International Scientific Cooperations**

Reuven Agami, NKI, Netherlands

Torben Ørntoft, Aarhus, Denmark

Moshe Oren, Rehovot, Israel

J. David Furlow, Davis, California (USA)

**Drittmittelförderung Funding**

Wilhelm Sander Stiftung 2008.009.1: Die Histon-Azetyltransferase Tip60 in der zellulären Antwort auf Bestrahlung und Chemotherapie, 2008-2010

EU-FP6 Active p53: Manipulation tumor suppression - a key to improve cancer treatment, 2004-2009

German Cancer Aid 10-2354: Die Rolle adenoviraler Onkoproteine bei der tumorspezifischen Virusreplikation, 2005-2008

HBFG (automated fluorescence microscopy and high content image analysis), 2007

Deutsche Krebshilfe: The role of p63 in proliferation and development 2009-2011

DFG: Macrophage migration inhibitory factor as a modulator of tumor growth 2009-2011

**EU-Projekte European Research Projects**

Active p53, LSHC-CT-2004-5035762004 - 2007