UNIVERSITY OF AMSTERDAM

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Who watches the watchmen?

WNT responsive stem cells and the regulation of their niche ligands

van de Grift, Y.B.C.

Publication date
2023

Link to publication

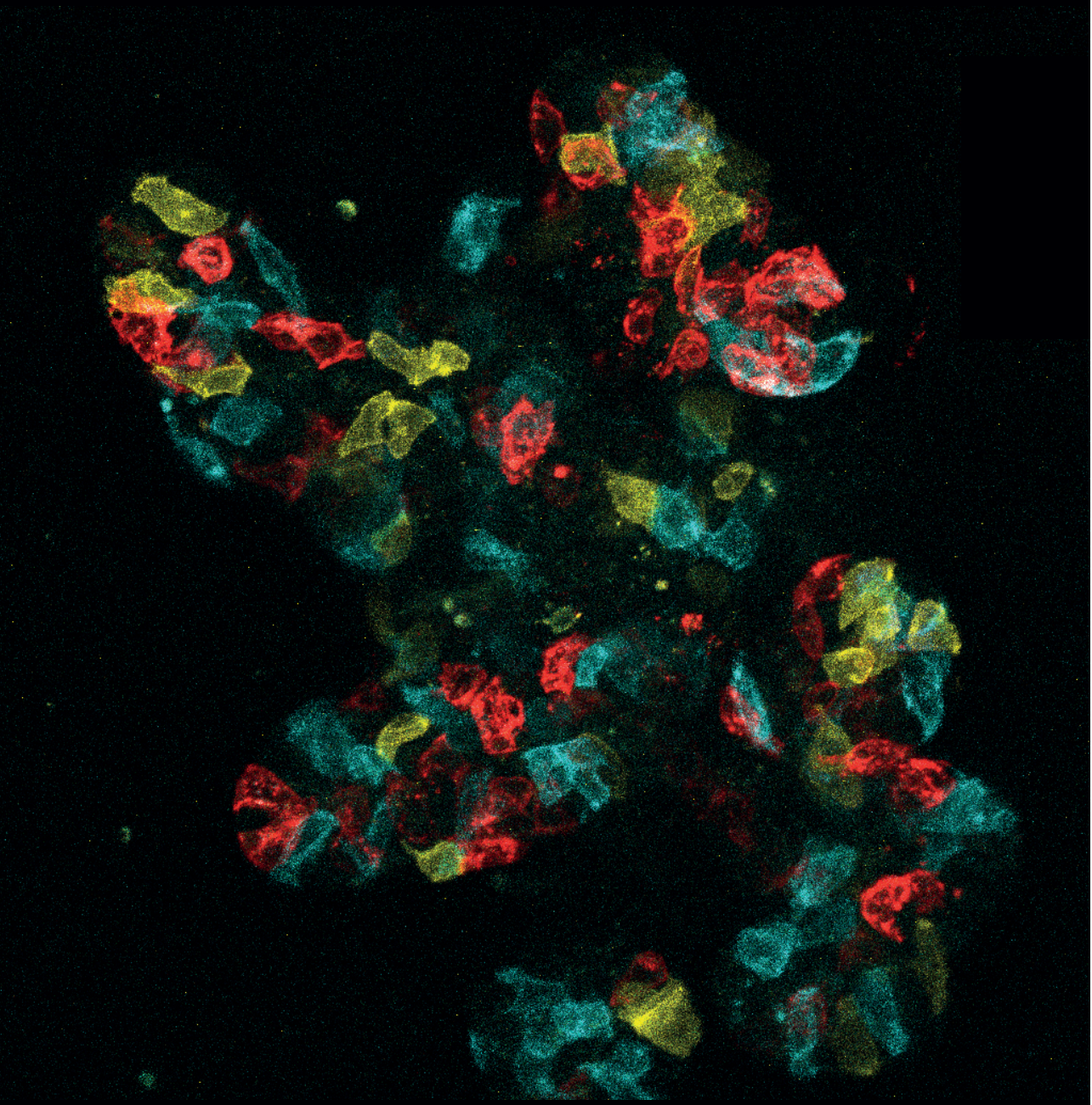
Citation for published version (APA):
van de Grift, Y. B. C. (2023). *Who watches the watchmen? WNT responsive stem cells and the regulation of their niche ligands*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights
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), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations
If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: https://uba.uva.nl/en/contact, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (https://dare.uva.nl)

Download date:16 Jan 2026



'This book was written using 100% recycled words.'

Terry Pratchett

Appendices

Summary

WNT-responsive stem cells & the epigenetic regulation of their niche ligands

Multicellular organisms rely on versatile and robust cell-cell communication mechanisms to control tissue morphogenesis and homeostasis. Remarkably, a limited number of evolutionary conserved developmental signalling pathways is used in many different biological contexts, with different outcomes depending on time and place of their activity. Among these, the WNT signalling pathway controls a myriad of biological processes, balancing cell proliferation and differentiation throughout embryonic development and postnatal life in all metazoans.

In the developing embryo, WNT proteins act as morphogens to induce tissue patterning. During adult tissue homeostasis, they act as self-renewal factors for a plethora of adult stem cells. Here, WNT producing cells form the so-called 'stem cell niche' that controls the stem cell population and thereby tissue homeostasis.

One of the tissues where WNT signalling plays a critical role in tissue morphogenesis both during embryogenesis and in postnatal life is the mammary gland. The mammary gland is a highly dynamic tissue that unique to mammals. It is a milk-producing gland that consist of a fat-pad that harbours a branched network of epithelial ducts. These ducts are bilayered and contain an inner luminal layer and an outer basal (myoepithelial) layer of cells. These ducts are surrounded by a collagen-rich extracellular matrix that contains mostly adipocytes but also harbours stromal fibroblasts, immune cells and endothelial ducts. Several sources of WNT ligands in the mammary gland are studied in detail in Chapters 5-7. Chapter 1 provides a brief overview of all relevant concepts needed to better understand WNT signalling in stem cells and the epigenetic regulation of WNT ligands in the mammary gland.

It remains challenging to directly monitor endogenous WNT/CTNNB1 signalling dynamics in vivo. To mitigate this, we generated and characterized a novel knock-in mouse strain that doubles as a direct fluorescent reporter and lineage tracing driver for WNT/CTNNB1 responsive cells in Chapter 2. We introduced a multi-cistronic targeting cassette at the 3' end of the universal WNT/CTNNB1 target gene Axin2. The resulting knock-in leaves AXIN2 functionally intact, expresses a bright fluorescent reporter (3xNLS-SGFP2) and a doxycycline-inducible driver for lineage tracing (rtTA3). We show that this reporter faithfully labels multiple known *Axin2*+ anatomical sites both during embryogenesis and in postnatal tissues. It recapitulates the subtle and dynamic changes in WNT/CTNNB1 signalling that occur in vivo. Thus this mouse strain can be used to further study WNT/CTNNB1 responsive stem cells

in vivo.

To better understand and study stem cell dynamics as well as cell-cell interactions between for example stem -and niche cells, in Chapter 3 we developed a new knock-in mouse strain (PRIME) that is designed for multicolour lineage tracing, allowing independent and simultaneous visualisation of multiple (stem) cell population and progeny in vivo. Post Cre/Lox recombination this knock-in allele permanently expresses one of three bright membrane-tethered fluorescent proteins: mScarlet-I, mTurquoise2 or mVenus. We show that the *Rosa26*^{PRIME} allele can be used to lineage trace WNT/CTNNB1 responsive cells in embryonic and postnatal tissue *in vivo* as well as label cells in postnatal tissues with an ubiquitously expressed Cre driver. Moreover, the fluorescent clearly highlights cell shape and cell-cell interactions. This offers the additional possibility of straightforward downstream analysis such as cell segmentation and further quantification. We expect the PRIME mouse strain to be a useful resource for biologists who want to visualise cell morphology, cell-cell interactions and trace the location and fate of stem cells and their progeny *in vivo*.

In Chapter 4, we provide a case-study on how to use the plethora of public '-omics' datasets available online to generate novel hypotheses in silico that can be tested in the wet lab without prior expertise. We focus on the mouse mammary gland and take *Wnt7b* as an example. *Wnt7b* is a WNT ligand that is expressed in luminal cells (as shown by scRNA-seq) and whose expression in breast cancer has been associated with a poorer survival rate. *In silico* we identify a mammary specific super-enhancer region close to *Wnt7b*, show the putative *WNT7B* TAD in both mouse and human cells by Hi-C and discover novel candidate cis-regulatory sequences that might control spatiotemporal *Wnt7b* expression in the mouse mammary gland. In Chapter 5 we validate and expand upon the hypotheses generated in Chapter 4 by using more in-depth bioinformatics and wet lab experiments. We establish a framework for *WNT7B* regulation in both the mouse and human mammary gland. We show that a ~100kb locus displays high interaction frequency with both the mouse and human *WNT7B* promoter. In this region we identify novel cis-regulatory elements (some of which were previously discovered in Chapter 4) that form enhancer-promoter loops with *Wnt7b/WNT7B* and are bound by the oestrogen receptor in an oestrogen-dependent manner. A novel class of luminal pioneering factors, GRHL1 and GRHL2, co-operatively bind to this set of enhancers in MCF7 cells. A knockdown of GRHL transcription factors abrogates chromatin accessibility at these enhancers and is sufficient to reduce *WNT7B* expression. Thus showing that binding of GRHL1 and GRHL2 at these enhancers has functional consequences for *WNT7B* expression.

In Chapter 6 we focus on the regulation of *WNT4* in the mouse and human mammary gland. WNT4 drives branching morphogenesis during early pregnancy under the influence of progesterone signalling. WNT4 expression is restricted to hormone-responsive mature luminal cells in the adult mammary gland. The spatiotemporal expression of WNT4 ligand is tightly regulated, however, it is currently unknown how *WNT4* expression is established at the chromatin level and whether other co-factors beyond the progesterone receptor contribute to *WNT4* expression in luminal cells. Here we show that *WNT4* expression is controlled by a conserved distal chromatin hub in both the mouse and human mammary gland. This hub interacts with *Wnt4/WNT4* via a CTCF-mediated enhancer-promoter loop that is present regardless of *WNT4* expression and can be detected across various cell types. Other cis-regulatory elements converge on this chromatin hub to cooperatively drive *WNT4* expression. Deletion of this chromatin hub abrogates *WNT4* expression in both mouse and human breast cells. We identified a novel class of luminal specific pioneering factor GRHL2 that binds at this chromatin hub and regulates WNT4 expression. Other luminal lineage factors, including the progesterone receptor, converge on the chromatin hub via other cis-regulatory elements and form a luminal-specific transcription factor complex that in response to progesterone cooperatively controls *WNT4* expression.

In Chapter 7 we focus on the epigenetic regulation of *Wnt2* in the mouse mammary gland. *Wnt2* expression is restricted to mammary gland fibroblasts. Several recent studies have indicated that the stroma can contribute to stem cell maintenance in the mammary gland and that WNT2 secreted by fibroblasts is among the factors that help maintain epithelial homeostasis. Using a combination of luciferase assay, dCas9 CRISPR activation and 4C chromatin conformation capture we shed light on the epigenetic regulation of *Wnt2* in mouse mammary gland stromal cells and identify a novel *Wnt2* enhancer that is located 15.2kb upstream of *Wnt2*. Moreover, we highlight FOSL1, a transcription factor that potentially regulates *Wnt2*. Although follow-up experiments are required to validate and further investigate the functionality of this *Wnt2* enhancer and the role of FOSL1, these results will help further unravel WNT2 regulation in the mammary gland.

The research and findings in this thesis are summarized and further discussed in Chapter 8. We address drawbacks of our knock-in mouse strains and discuss their future uses. Emerging online bioinformatic tools, such as protein folding algorithms like AlphaFold, and their function in generating new testable hypotheses in the context of this thesis is evaluated. The observations from Chapter 5 & 6 are interpreted together to provide a new perspective on hormone-dependent WNT

expression in the mammary gland and hormone-dependent transcription activation in general. Together, these results provide new insights in WNT/CTNNB1 stem cell dynamics and the epigenetic regulation of their respective niche ligands.

Samenvatting

WNT-afhankelijke stam cellen & de epigenetische regulatie van hun niche liganden

Multi cellulaire organismen zijn afhankelijk van veelzijdige en robuuste cel-cel communicatie mechanismen voor het reguleren van weefsel morfogenese en homeostase. Slecht een klein aantal evolutionair geconserveerde signaleringsroutes word gebruikt in veel verschillende biologische situaties met verschillende uitkomsten afhankelijk van het moment en de locatie van hun activatie. Een van deze signaleringsroutes, de WNT signaleringsroute, reguleert een groot scala aan biologische processen en zorgt voor balans tussen cel deling en differentiatie tijdens zowel embryonale ontwikkeling als volwassen weefsels.

Tijdens de embryonale ontwikkeling fungeren WNT eiwitten als morfogenen die ervoor zorgen dat weefsels zich op de juiste manier organiseren. Later, in postnatale weefsels, fungeren deze WNT eiwitten als signaal moleculen die stam populaties in stand houden in een groot scala aan weefsels. WNT eiwit producerende cellen vormen een 'stam cell niche' die de stam cell populatie reguleert en daardoor weefsel homeostase.

Een van de weefsel waar WNT signalering een belangrijke rol speelt in weefsel morfogenese tijdens zowel de embryonale ontwikkeling als in het postnatale weefsel is het borst weefsel. De borst is een zeer dynamisch weefsel dat kenmerkend is voor zoogdieren. Het is een klier die melk produceert die bestaat uit vetweefsel met daarin een netwerk van melkgangen. Deze melkgangen bestaan uit twee epitheliale celllagen: de binnenste luminale cellen en de buitenste basale cellen. De stroma die deze melkgangen omringt bestaat voornamelijk uit vetcellen maar bevat ook fibroblasten, immuuncellen en endotheliale aderen. Verschillende bronnen van WNT eiwitten in de borst zijn in detail bestudeert in hoofdstuk 5-7. Hoofstuk 1 bied een kort overzicht van alle relevante concepten die nodig zijn om WNT signalering in stam cellen en de epigenetische regulatie van WNT eiwitten in de borst beter te begrijpen.

Het is zeer uitdagend om endogeen WNT signalering direct *in vivo* te meten en visualiseren. Om dit op te lossen hebben we een nieuw knock-in muis model gemaakt die kan functioneren als driver voor lineage tracing maar tegelijkertijd ook cellen die reageren op WNT signalering oplicht met een fluorescerend eiwit. Dit model word verder beschreven in hoofdstuk 2. We introduceren een multicistronische targeting cassette in de 3'UTR van WNT activatie gen *Axin2*. Het knock-in allel wat hierbij ontstaat laat AXIN2 intact en produceert daarnaast ook een fluorescerend

eiwit (3xNLS-SGFP2) en een doxycycline induceerbare driver voor lineage tracing (rtTA3). We laten zien dat deze reporter *Axin2* expressie in verschillende biologische contexten natuurgetrouw nabootst *in vivo*. Dit laat zien dat dit muis model gebruikt kan worden om WNT responsieve stam cellen te bestuderen *in vivo*.

In hoofdstuk 3 hebben we een nieuw knock-in muis model (genaamd PRIME) ontwikkeld en gekarakteriseerd die ons in staat stelt om meerdere stam cel populaties tegelijkertijd te visualiseren en te lineage tracen *in vivo*. Dit stelt ons in staat om nieuwe inzichten te verkrijgen in stam cel dynamieken en cel-cel interacties tussen bijvoorbeeld stam cellen en de niche cellen die de stam cel populatie reguleren. In de cellen waar Cre/Lox recombinatie heeft plaats gevonden brengt dit knock-in allel permanent een van drie fluorescerende eiwitten: mScarlet-I, mTurquoise2, en mVenus tot expressie in het membraan. We laten zien dat dit *Rosa26*^{PRIME} allel gebruikt kan worden voor het lineage tracen van WNT responsieve cellen in embryonale en postnatale weefsels in vivo en cellen in het algemeen in postnatale weefsel wanneer het PRIME allel gecombineerd word met een universele Cre driver. Naast de mogelijkheid om te lineage tracen, is het PRIME allel ook in staat cel morfologie en cel-cel interacties te visualiseren *in vivo*. Dit bied de mogelijkheid om ook cel segmentatie en verdere kwantificatie toe te passen. We verwachten daarom dat het PRIME muis model een waardevol middel kan zijn voor biologen die geïnteresseerd zijn in cel morfologie, cel-cel interacties en lineage tracing van stam cellen in vivo.

In hoofdstuk 4 illustreren we hoe publiek toegankelijke '-omics' data sets gebruikt kunnen worden om *in silico* nieuwe hypothesen te genereren aan de hand van een case-study: Wnt7b in de het borstweefsel van de muis. WNT7B is een WNT eiwit dat tot expressie komt in luminale cellen (zoals te zien is in scRNA-seq data) en wiens expressie in borstkanker geassocieerd is met een lagere overlevingskans. Door middle van *in silico* analyses identificeren we een borstweefsel specifieke super-enhancer regio in de buurt van het *Wnt7b* gen. Daarnaast annoteren we de vermeende *Wnt7b* TAD in zowel mouse als humane cellen en identificeren we nieuwe kandidaat enhancer sequenties die mogelijk *Wnt7b* expressie reguleren in het borstweefsel van de muis. In hoofdstuk 5 valideren we de hypotheses gegenereerd in hoofdstuk 4 met behulp van uitgebreidere bioinformatica analyses en in vitro experimenten. We laten de 3D organisatie van het genoom rond het *WNT7B* gen zien in zowel mouse als humane cellen. Hierbij identificeren we een locus (of loop) van ~100kb waarin een hoge interactie frequentie zichtbaar is tussen distale elementen en *Wnt7b/WNT7B*. In deze regio zijn kandidaat enhancers aanwezig (waarvan enkele al geidentificeerd waren in hoofdstuk 4) die enhancer-promoter

loops vormen met *Wnt7b/WNT7B* en gebonden zijn door de Estrogeen Receptor (ER) wanneer blootgesteld aan estrogeen. Daarnaast laten we zien dat een nieuwe set luminale pionier transcriptie factoren, GRHL1 en GRHL2, coöperatief bind aan dezelfde kandidaat enhancers als ER. Verlies van GRHL expressie zorgt ervoor dat het chromatine van deze enhancers niet meer toegankelijk is en dit is voldoende om *WNT7B* expressie te verminderen. Dit laat zien dat de binding van GRHL1 and GRHL2 aan de geindentificeerde kandidaat enhancers functionele consequenties heeft voor *WNT7B* expressie in borstweefsel.

In hoofdstuk 6 focussen we op de regulatie van *WNT4* in humaan en muis borstweefsel. Het WNT4 eiwit is verantwoordelijk voor het onstaan van vertakking van de melkgangen tijdens de vroege zwangerschap onder invloed van progesteron signalering. *WNT4* expressie beperkt zich in volwassen borstweefsel tot een subset luminale cellen die hormoon responsief zijn. De spatiotemporale expressie van het WNT4 eiwit word strak gereguleerd. Het is echter niet bekend hoe dit word gereguleerd op het niveau van het chromatine en of andere cofactoren naast de progesteron receptor betrokken zijn bij de regulatie van *WNT4* expressie. In dit hoofdstuk laten we zien dat *WNT4* expressie word gereguleerd door een geconserveerde distale ‘chromatine hub’ in zowel muis als humane borstcellen. Deze hub gaat een stabiele interactie aan met *Wnt4/WNT4* via een CTCF gemedieerde enhancer-promoter loop die aanwezig onafhankelijk van *WNT4* expressie. Andere enhancers in de *WNT4* TAD worden gerekruteerd naar deze chromatine hub om samen *WNT4* expressie te reguleren. Een deletie van deze chromatine hub is voldoende om *WNT4* expressie te beperken in zowel muis als humane borstcellen. Verder identificeren we een nieuwe luminale pionier transcriptiefactor, GRHL2, die direct bind aan de chromatin hub en op deze manier *WNT4* expressie reguleert. Andere luminale transcriptiefactoren (o.a. de progesteron receptor) komen via de andere enhancers samen in de chromatin hub om zo een luminaal specifiek transcriptie factor complex te vormen dat onder de invloed van progesteron *WNT4* expressie reguleert.

In hoofdstuk 7 focussen we op de epigenetische regulatie van *Wnt2* in het borstweefsel van de muis. *Wnt2* gen expressie beperkt zich tot fibroblasten in het borstweefsel. Verschillende recente studies laten zien dat het stroma om de melkgangen bijdraagt aan het in stand houden van epitheliale stam cellen in het borstweefsel, en dat het WNT2 eiwit uitgescheiden door de fibroblasten een van de factoren is die hieraan bijdraagt. Doormiddel van een combinatie van ATAC-seq, luciferase assays, dCas9 CRISPR activatie en 4C chromatin conformation capture identificeren we een nieuwe *Wnt2* enhancer op 15.2kb afstand van *Wnt2*. Daarnaast laten we zien dat transcriptie factor FOSL1 mogelijk bijdraagt aan *Wnt2* regulatie.

Verdere experimentele validatie is nodig om de rol van de *Wnt2* enhancer en FOSL1 in de regulatie van *Wnt2* beter te bepalen. Deze resultaten bieden de eerste stappen om de regulatie van *Wnt2* in het borstweefsel beter te begrijpen.

De experimenten en resultaten in deze thesis zijn samengevat en de implicaties hiervan verder bediscussieerd in hoofdstuk 8. We bespreken nadelen van onze knock-in muis modellen en bediscussiëren toekomstige toepassingen. Nieuwe online bioinformatica tools zoals bijvoorbeeld AlphaFold en hun toepassingen in de context van deze thesis word besproken. De observaties in hoofdstuk 5 & 6 worden samen geïnterpreteerd om zo een nieuw perspectief te kunnen bieden over hormoon afhankelijk WNT eiwit expressie in het borstweefsel en hormoon afhankelijke transcriptionele activatie in het algemeen. Samen geven deze resultaten nieuwe inzichten in WNT afhankelijke stam cel dynamieken en de epigenetische regulatie van hun respectievelijke niche liganden.

Acknowledgements

Meer dan 6 jaar, één wereldwijde pandemie, verschillende lockdowns, één lab verhuizing en een dikke pil van een PhD thesis later zijn we eindelijk beland bij wat waarschijnlijk het meest belangrijke onderdeel is van deze thesis, het dankwoord! Het duurde allemaal wat langer dan gedacht, deels omdat ik het liever goed doe dan gehaast en omdat de scope van de thesis uiteindelijk veel groter bleek dan ik initieel voor ogen had maar hier zijn we dan. De dag die je wist dat zou komen is eindelijk hier. De thesis is gedrukt! Echter deze 6 jaar zijn een team effort geweest en ik ben zeker niet de enige gewest die bijgedragen heeft aan dit project, zij het wetenschappelijk of niet en dat is waar deze laatste paragrafen van mijn thesis over gaan.

Renee bedankt dat je mij de kans hebt gegeven om aan dit project te werken. Wat we initieel voor ogen hadden is er nooit van gekomen en mijn werkzaamheden binnen het project zijn over de jaren 180 graden gedraaid maar ik denk dat we op deze manier het uiteindelijk mogelijk nog tot een nog interessanter wetenschappelijk verhaal hebben kunnen pushen. Met het lab hebben we veel ups and downs meegemaakt en ik ben er dankbaar voor dat we tijdens deze tijd in onze 1-op-1's zijn blijven focussen op de wetenschap. Ik waardeer het enorm dat je er altijd tijd was voor deze 1-op-1 meetings en dat je deur altijd open stond. Je had altijd nuttige feedback maar kon ook goed meegaan in mijn ideeën. Dit resulteerde altijd in interessante discussies over mijn of andere projecten in het lab. Ik heb heel veel van je geleerd en prettig met je samengewerkt, bedankt hiervoor! Ik hoop dat we in de toekomst nog vaker kunnen samen werken.

Marten bedankt dat je akkoord ging om last-minute mijn 2e promoter te zijn en feedback te geven op een thesis die in principe weinig te maken heeft met jouw eigen onderzoek. Daarnaast wil je ook bedanken voor je steun tijdens de split van het WNTlab en MolCyto.

The members of my defence committee: Prof. Kessels, Dr. Jacobs, Dr. Stam, Dr. Gjaltema, Dr. Cantù and Prof. van Lohuizen. Thank you for reading and evaluating my thesis. In particular **Claudio** for taking a chance on me, I look forward to working together in Sweden!

Marleen en Thijs bedankt dat jullie mijn sidekicks als paranimfen willen zijn op het moment van de waarheid!

Nika and Katrin thank you getting the project on which most of my thesis is based up and running. Moreover, helping a new PhD student with barely any background or experience in epigenetics getting started on a project that deep dives into enhancers, genomic conservation, histone modifications and 3D genome folding. The discussion we had were always helpful and provided novel insights. Nika your thesis served as a starting point for something that I'd initially didn't really know where and how to start. I've read your thesis from start to finish more times than I can count.

Saskia en Tanne go team microscopy! Jullie waren er altijd om op terug te vallen wanneer er twijfels waren over een antilichaam staining of vragen over gekke microscoop settings. **Saskia** bedankt voor de prettige samenwerking bij de muizen, iets wat niet de meest makkelijke proeven zijn om te doen.

Tanne bedankt voor al het labwerk een stuk gezelliger maken als mijn labbench buurvrouw, hachelijke ritjes achter op de scooter naar Amstel station en natuurlijk het organiseren van een jaarlijkse lab bbq achter in je tuin!

Marleen bedankt dat je het WNT4 project oppakt waar ik het achterlaat (en de onvermijdelijke revisies op je neemt). We hebben prettig samengewerkt in mijn laatste half jaar in het lab aan de laatste loodjes van het WNT4 verhaal. Onze discussion in dat half jaar en erna tijdens het schrijven waren altijd interessant en nuttig! Het project is in goede handen!

Anoeska gefeliciteerd met de nieuwe baan! SILS zal niet hetzelfde zijn zonder je. Je stond altijd paraat om mensen te helpen, eerst als PhD student in het lab en later in het management als er organisatorische vragen waren. Je was altijd in voor een lolletje en een borreltje :D

Ingeborg Bedankt voor je kalme en relaxte blik tijdens de soms hectische verhuizing van het lab! Dat was precies wat nodig was op dat moment. Het was altijd enorm fijn samenwerken met je!

@ entire WNTlab (Renee, Thijs, Nika, Katrin, Anoeska, Amber, Larissa, Saskia, Tanne, Marleen, Ingeborg and all the students) thanks these past 6 years for all the fruitful discussions, insights when needed and help along the way!

Roan bedankt voor al je hulp en dat je mijn sidekick was tijdens het opzetten van het 4C protocol zonder dat je in je stage ooit tot de daadwerkelijke resultaten bent gekomen. Het opzetten van nieuwe technieken is naar mijn mening altijd het meest onbevredigende onderdeel van onderzoek doen maar ondanks dat was je altijd

enthousiast! Na dit 4C protocol kan ik in ieder geval de komende tijd geen DNA smear op een gel meer zien. Mede dankzij jou inzet hebben we het aan de praat gekregen en de uiteindelijke data levered belangrijke inzichten voor het WNT4 verhaal.

Zino het was altijd gezellig om je op het lab erbij te hebben ondanks persoonlijke tegenslagen en het slechtste moment ooit om stage te lopen tijdens COVID en de lockdowns. Ik ben enorm blij voor je dat je hebt doorgezet en ondanks alles je stage hebt afgerond! Ik hoop dat je in het vervolg van je master een project vind waar je je ei in kwijt kunt en enthousiast van wordt!

Thanks to my PhD colleagues: **Tanne, Marleen, Saskia, Anoeska, Nika, Sergei, Eike and Franka** for laughing and complaining together. Lunches and office chats, yearly SILS volleyball tournaments, SILS drinks, Christmas lab decoration (**@Tanne**) and bouldering sessions at the other ‘ het Lab’. In particular **Tanne and Marleen** for the pre but also post-lab writing my thesis drinks!

Current and former SILS PhD council members thanks for organizing the SILS seminars and research day together and all the lunch meetings that were supposed to be short but never were.

Naast de PhD is het enorm belangrijk om leuke dingen te doen! En gelukkig heb ik de beste vrienden hiervoor! Thanks **Jud, Piet, Utje, Luuk, Eelco, Thijsie en Heleen** voor biertjes (heel veel biertjes), heel veel bordspellen, (NK) escaperooms (Spice Fighters represent), klimmen, jaarlijks boulderen @ Fontainebleau en nog veel meer. Daarnaast bedankt voor alle thuiswerk sessie in Utrecht tijdens de lockdowns nadat mijn collega’s al zowat alle hoeken en gaten van mijn miniscule huisje hadden gezien tijdens alle Zoom meetings. Bedankt voor het aanhoren van mijn geklaag wanneer nodig en **Judith** bedankt voor het volledig spellings checken van mijn thesis ondanks dat, en ik quote, ‘je mij al kwijt was na de 1e pagina van de introductie’. Jullie zijn de beste!

Ik wil mijn ouders en schoonfamilie bedanken voor jullie interesse en enthousiasme ondanks dat mijn werk toch soms een specialistische ver weg van jullie bed show is. Jullie hebben altijd in mij geloofd en ondersteund en dat waardeer ik enorm.

Aniek bedankt dat je altijd geduldig was ondanks dat je door mijn soms wat chaotische planning niet altijd wist waar je aan toe was. Dat je mij steunde als ik gestrest was en niet altijd even gezellig. Dat je niet (altijd) gloeiend gek van mij werd het laatste 1.5 jaar omdat we allebei thuiswerkten in ons miniscule huisje, maar vooral omdat je het beste in mij naar boven brengt!

Curriculum vitae

Yorick van de Grift was born on 29 December 1991 in Amersfoort, the Netherlands. After obtaining his VWO diploma and international baccalaureate diploma for English language and literature, A2 higher level at ‘t Atrium in Amersfoort in 2010, he studied Biomedical Sciences at Utrecht University. He conducted his Bachelor research project in the group of Dr. Hugo Snippert under his direct supervision. After graduating in 2013, he started the master programme Cancer, Stem cell & Developmental biology. Here he performed two research internships. The first internship was in the lab of Dr. Hugo Snippert at the Molecular Cancer Research department of the UMC Utrecht under his direct supervision. Here he studied cancer heterogeneity and competition in colorectal cancer organoids, developed novel multicolour lineage tracing reporters and optimized transposon based integration of transgenes in organoids. His second internship was performed at the lab of Prof. Dr. Roel Nusse at the Developmental Biology department of Stanford University, under the supervision of Dr. Bruce Wang and Dr. Weng Chuang Peng. Here he studied novel ways to grow and expand (Axin2+) hepatocytes in vitro. He obtained his Master’s degree in 2016. In February 2017, Yorick started as a PhD candidate under the supervision of Dr. Renée van Amerongen in the section Developmental, Stem Cell & Cancer Biology at the Swammerdam Institute for Life Sciences at the University of Amsterdam. The results of this research project are presented in this thesis.

List of publications

Van de Grift YBC*, Heijmans N*, Aarts M*, Wiese KE*, van Boxtel T, van Amerongen R (202x). Luminal lineage factors converge on a conserved distal chromatin hub to control WNT4 expression in the mammary gland.

Manuscript in preparation.

Van de Grift YBC, Aarts M, van Amerogen R (202x). ESR1 and GRHL co-occupy cis-regulatory elements to control WNT7B expression in luminal breast epithelial cells in an oestrogen dependent manner.

Manuscript in preparation.

Van de Grift YBC, Heijmans N, van Amerongen R (202x). FOSL1 is predicted to bind a novel enhancer in the mouse mammary gland stroma.

Manuscript in preparation.

Van de Grift YBC, van de Moosdik AAA, Messal HA, Hooijkaas IB, Balvers B, van der Swaan B, Kroese L, Huijbers I, Jonkers J, van Rheenen J, van Amerongen R (202x). PRIME: a novel multicolour reporter for lineage tracing, cellular visualisation and cell segmentation.

Manuscript in preparation.

De Man SMA*, **van de Grift YBC***, van de Moosdijk AAA, van der Wal T, van Amerongen R (202x). Characterization of the novel mTq2-Ctnnb1 mouse model WNT/CTNNB1 and epithelial reporter strain.

Manuscript in preparation.

Mourao L*, Zeeman AL*, Wiese KE, Bongaarts A, Oudejans LL, Mora Martinez I, **van de Grift YBC**, Jonkers J, van Amerongen R (202x), Hyperactive WNT/CTNNB1 signaling induces a competing cell proliferation and epidermal differentiation response in the mouse mammary epithelium.

Biorxiv, doi: https://doi.org/10.1101/2021.06.22.449461

Van de Grift YBC, Heijmans N, van Amerongen R (2021), How to use online tools to generate new hypotheses for mammary gland biology research: a case study for Wnt7b.

J Mammary Gland Biol Neoplasia, doi: https://doi.org/10.1007/s10911-020-09474-z

van de Moosdijk AAA*, **van de Grift YBC***, de Man SMA, Zeeman AL, van Amerongen R (2020), A novel Axin2 knock-in mouse model for visualization and lineage tracing of WNT/CTNNB1 responsive cells.

Genesis, doi: https://doi.org/10.1002/dvg.23387

Authors contributed equally*

PhD portfolio

Conference visits and participation

- SILS Research Day 2017, Amsterdam
    - Poster presentation
- OOA retreat 2017, Renesse
    - Poster presentation
- CGC meeting 2017, Amsterdam
- Course Genetic engineering in model organisms, 2017, Leiden
- Dutch Society for Cell Biology (DSCB) meeting 2017, Amsterdam
- European Wnt meeting 2018, Heidelberg Germany
    - Poster presentation
- SILS Research Day 2018, Amsterdam
    - Poster presentation + organisation
- Conference 'Systems Epigenetics: Towards Precision Cancer Medicine', 2018, Amsterdam
- SILS Research Day 2019, Amsterdam
    - Organisation
- SILS Seminar 2020
    - Talk
- SILS Research Day 2020, online
    - organisation
- Dutch Chromatin meeting 2021, online
- Wnt talk January 2022, online
    - Talk
- ENDBC talk 2022, online
    - Talk
- Oncode annual conference 2022, online

Teaching

- Supervision BSc internship: Roan van Scheppingen (BSc Biomedical Sciences)
- Supervision MSc internship: Zino Groen (Developmental and Therapeutic Biology track)
- MSc course Advanced Microscopy (2017-2019, wetlab practical, tutorials and mini-projects)
- BSc course Frontiers in Medical Biology (2018-2020, wetlab practical)
- BSc course Molecular Techniques (2017, wetlab practicals)

- Msc course Shaping a human (2022, developing and teaching bioinformatics practical)

Other

- Active member SILS PhD/PD council (2017-2021)
- Ad Hoc reviewer of multiple scientific journals

Justin Vernon

'Everything that happens is from now on'