UNIVERSITY OF AMSTERDAM

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Navigating progestrone-driven gene regulatory networks in the mammary gland

Aarts, M.T.

Publication date
2025

Link to publication

Citation for published version (APA):
Aarts, M. T. (2025). *Navigating progestrone-driven gene regulatory networks in the mammary gland*. [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

Addendum

Summary

The genome encodes all the information necessary for the development, differentiation, and homeostasis of an organism. To carry out these processes in a coordinated and adaptive manner, gene expression must be tightly regulated in space and time. This regulation is governed by a complex network of epigenetic and transcriptional mechanisms in which non-coding DNA elements, particularly enhancers, play a crucial role. Enhancers are short, non-coding DNA sequences bound by transcription factors and co-factors, enabling context-dependent gene activation. In response to intrinsic signals or external stimuli, enhancers loop to their target genes through 3D chromatin interactions, delivering regulatory factors required for transcriptional activation or repression.

One such external stimulus is progesterone, a steroid hormone produced by the ovaries that is essential for female reproductive physiology. Progesterone exerts its effects via the progesterone receptor (PR), which, upon hormone binding, dimerizes and translocates to the nucleus, where it binds progesterone response elements (PREs) typically located within distal enhancer regions. While previous studies have identified PR target genes and their biological effects, the molecular mechanisms underlying progesterone-driven gene regulation, especially at the chromatin level, remain incompletely understood. Therefore, this thesis aims to further elucidate these mechanisms, with a specific focus on enhancer biology.

Chapter 1 introduces the fundamental concepts of enhancer biology and progesterone signaling, and provides an overview of mammary gland development, which is highly dynamic, and in which progesterone plays a pivotal role. It also addresses the knowledge gap around PR, which has long remained in the shadow of the estrogen receptor (ER), resulting in fewer tools and dedicated studies. Therefore, in **chapter 2**, we describe the generation of new tools to quantify PR signaling. We developed optimized luciferase constructs responsive to progesterone and generated PRE-GFP reporter lines to visualize PR activity at single-cell resolution. We also determined that a minimal level of PR expression is required for reliable PR signaling detection and we optimized the culture conditions for cell-based assays. These tools were indispensable for the subsequent studies in this thesis and constitute a valuable resource for the field.

Having established this toolkit, we then focused on a specific PR target gene *Wnt4*, a well-known progesterone target gene in the mammary gland. In **chapter 3**, we dissected the *Wnt4* enhancer landscape in both mouse and human and found that *Wnt4* is regulated by a combination of PR-independent and PR-responsive enhancers. Although individual enhancers were largely non-conserved between species, we identified a conserved 3D chromatin hub, mediated by CTCF looping between the enhancer CRS4 and the *Wnt4* gene. We generated a CRS4 knockout mouse model but did not detect measurable effects in the mammary gland. To further investigate the regulation of *Wnt4*, we developed a bioinformatics pipeline that revealed the involvement of GRHL transcription factors, in addition to PR. Interestingly, *GRHL1* and *GRHL2* themselves are PR targets, suggesting a two-step regulatory model. We propose that a stable 3D enhancer hub composed of GRHL- and PR-dependent and -independent enhancers regulates *Wnt4* expression in both mouse and human mammary tissues.

In **chapter 4**, we first attempted to further optimize *in vivo* detection of progesterone-induced *Wnt4* expression and to assess the impact of the CRS4 enhancer deletion in the mammary gland. We then broadened our focus by analyzing *Wnt4* regulation in two additional tissues, the kidney and the lung, where *Wnt4* plays key developmental roles. By examining both embryonic and adult stages, we mapped the enhancer networks controlling *Wnt4* expression and found that most enhancers were tissue-specific. Notably, CRS4 was the only enhancer identified across all three tissues, underscoring its central role. Using our CRS4 knockout model, we showed that its deletion impaired *Wnt4* expression in the embryonic (E14.5) lung, although this did not lead to an observable phenotype.

The identification of GRHL factors as PR co-regulators in chapter 3 prompted a deeper investigation into their interaction, which is explored in **chapter 5**. We found that PR and GRHL2 physically interact, independent of progesterone presence, and that GRHL2 binding to chromatin is enhanced upon hormone stimulation. Together, PR and GRHL2 bind to distal enhancers to co-regulate shared target genes. By integrating PR HiChIP and CTCF/RAD21 ChIP-seq data, we show that PR and GRHL2 contribute to chromatin looping through both CTCF/Cohesin-dependent and -independent mechanisms, facilitating communication between enhancers and gene promoters.

Finally, **chapter 6** summarizes our findings and places them in the broader context of the literature. We reflect on current challenges in measuring PR signaling, the tissue- and context-specific nature of *Wnt4* regulation, and insights gained from using public omics datasets. We also discuss novel transcription factors downstream of progesterone signaling, the interplay between different hormone receptors and co-regulators, and the ongoing challenges in linking enhancers and transcription factors to their target genes. In conclusion, this thesis provides new insights into progesterone-driven gene regulation and enhancer function, with a particular focus on the mammary gland and breast.

Samenvatting

Het genoom bevat alle informatie die nodig is voor de ontwikkeling, differentiatie en homeostase van een organisme. Om deze processen op een gecoördineerde en adaptieve manier uit te voeren, moet genexpressie nauwkeurig worden gereguleerd in tijd en ruimte. Deze regulatie wordt aangestuurd door een complex netwerk van epigenetische en transcriptionele mechanismen, waarin niet-coderende DNA-elementen, met name enhancers, een cruciale rol spelen. Enhancers zijn korte, niet-coderende DNA-sequenties die gebonden worden door transcriptiefactoren en co-factoren, waardoor contextafhankelijke genactivering mogelijk wordt. In reactie op intrinsieke signalen of externe prikkels maken enhancers via 3D-chromatine-interacties contact met hun targetgenen, en leveren zo de regulerende factoren die nodig zijn voor transcriptieactivatie of -repressie.

Een van deze externe prikkels is progesteron, een steroïdehormoon dat wordt geproduceerd door de eierstokken en essentieel is voor de vrouwelijke voortplantingsfysiologie. Progesteron oefent zijn werking uit via de progesteronreceptor (PR). De progesteron receptor dimeriseert na hormoonbinding en verplaatst zich vervolgens naar de kern, alwaar PR accumuleert en bindt aan progesteron-respons-elementen (PRE's), die zich meestal in distale enhancer regio's bevinden. Hoewel eerdere studies PR-targetgenen en hun biologische effecten hebben geïdentificeerd, zijn de onderliggende moleculaire mechanismen van progesteron-gedreven genregulatie, met name op het niveau van chromatine, nog onvolledig begrepen. Dit proefschrift richt zich daarom op het verder ontrafelen van deze mechanismen, met specifieke aandacht voor enhancerbiologie.

Hoofdstuk 1 introduceert de fundamentele concepten van enhancerbiologie en progesteronsignalering, en biedt een overzicht van de ontwikkeling van borstweefsel, een dynamisch, hormoongevoelig orgaan waarin progesteron een sleutelrol speelt. Ook wordt de kennisskloof rond PR besproken: deze receptor is lange tijd overschaduwd geweest door de oestrogeenreceptor (ER), wat heeft geleid tot een gebrek aan specifieke tools en gerichte studies. Daarom beschrijven we in **hoofdstuk 2** de ontwikkeling van nieuwe moleculaire technieken om PR-signaalactiviteit te kwantificeren. We ontwikkelden geoptimaliseerde luciferaseconstructen die reageren op progesteron en genereerden PRE-GFP-reporterlijnen om PR-activiteit op single-cel-niveau zichtbaar

te maken. Ook bepaalden we wat de minimale expressie van PR is die nodig is voor betrouwbare signaaldetectie, en optimaliseerden we de kweekomstandigheden om de response op progesteron in cellen te kunnen meten. Deze nieuwe tools vormden een onmisbare basis voor de daaropvolgende studies in dit proefschrift en zijn een waardevolle aanwinst voor het veld.

Met deze kennis in handen, richtten we ons vervolgens op een specifiek PR-targetgen: *Wnt4*, een bekend effector gen van progesteronsignalering in het borstweefsel. In **hoofdstuk 3** analyseerden we het enhancerlandschap rondom *Wnt4* in zowel muis als mens. Hoewel individuele enhancers grotendeels niet geconserveerd waren tussen de soorten, identificeerden we een geconserveerde 3D-chromatinehub, gemedieerd door CTCF-looping tussen enhancer CRS4 en het *Wnt4*-gen. We genereerden een CRS4-knockout muismodel, maar vonden geen meetbare effecten in het borstweefsel, wat suggereert dat andere enhancer elementen tijdens de ontwikkeling kunnen compenseren voor het verlies van CRS4. Om de regulatie van *Wnt4* verder te onderzoeken, ontwikkelden we een bioinformaticapijplijn die de betrokkenheid van GRHL-transcriptiefactoren, naast PR, aan het licht bracht. Interessant genoeg bleken *GRHL1* en *GRHL2* zelf ook PR-targetgenen te zijn, wat wijst op een tweestapsreguleringsmechanisme. Wij postuleren dat een stabiele 3D-enhancerhub, samengesteld uit GRHL- en PR-afhankelijke en -onafhankelijke enhancers, de *Wnt4*-expressie reguleert in zowel muis- als menselijke borstweefsels.

In **hoofdstuk 4** probeerden we allereerst de detectie van progesteron-geïnduceerde *Wnt4*-expressie *in vivo* verder te optimaliseren, om zo de impact van CRS4-deletie in borstweefsel beter te kunnen beoordelen. Vervolgens verbreedden we onze focus door *Wnt4*-regulatie te analyseren in twee andere weefsels: de nier en de long, waar *Wnt4* een belangrijke rol speelt in de embryonale ontwikkeling. Door zowel embryonale als volwassen stadia te bestuderen, brachten we de enhancer-netwerken in kaart die *Wnt4* reguleren en vonden we dat de meeste enhancers weefselspecifiek zijn. Opmerkelijk genoeg was CRS4 de enige enhancer die in alle drie de weefsels werd geïdentificeerd, wat het centrale belang ervan benadrukt. Met behulp van ons CRS4-knockoutmodel toonden we aan dat deletie van CRS4 de *Wnt4*-expressie in de embryonale (E14.5) long verstoorde, hoewel dit niet leidde tot een zichtbaar fenotype.

De identificatie van GRHL-factoren als PR-coregulatoren in hoofdstuk 3 leidde tot een diepgaandere verkenning van hun interactie, zoals beschreven in **hoofdstuk 5**. We ontdekten dat PR en GRHL2 een fysieke interactie met elkaar kunnen aangaan, onafhankelijk van de aanwezigheid van progesteron. Daarnaast vonden we dat de binding van GRHL2 aan chromatine toeneemt na progesteron stimulatie. Samen binden PR en GRHL2 aan distale enhancers om gedeelde targetgenen te co-reguleren. Door PR HiChIP- en CTCF/RAD21 ChIP-seq-data te integreren, laten we zien dat PR en GRHL2 bijdragen aan chromatine-looping via zowel CTCF/Cohesin-afhankelijke als -onafhankelijke mechanismen, waardoor communicatie tussen enhancers en promotors mogelijk wordt gemaakt.

Tot slot vat **hoofdstuk 6** onze bevindingen samen en plaatst deze in de bredere context van de literatuur. We reflecteren op de huidige uitdagingen in het meten van PR-signering, de weefsel- en context specifieke aard van *Wnt4*-regulatie, en de inzichten verkregen uit publieke omics-datasets. Ook bespreken we nieuwe transcriptiefactoren die worden gereguleerd door progesteron, de interactie tussen verschillende hormoonreceptoren en co-regulatoren, en de aanhoudende uitdaging om enhancers en transcriptiefactoren aan hun targetgenen te koppelen. Samenvattend biedt dit proefschrift nieuwe inzichten in progesteron-gedreven genregulatie en enhancerfunctie, met bijzondere aandacht voor deze rol in het borstweefsel.

Dankwoord (acknowledgements)

Daar is ze dan, na vier jaar pipetteren, analyseren en schrijven is mijn proefschrift af! PhD'en doe je niet alleen, en er zijn dan ook velen die op een of andere manier hebben bijgedragen aan de totstandkoming van dit proefschrift. Hiervoor wil ik iedereen bedanken! Een aantal mensen wil ik hieronder graag persoonlijk bedanken.

Renée, bedankt dat je het met mij aandurfde en mij de kans gaf om de afgelopen vier jaar in jouw groep te werken. Zo werd ik de derde generatie PhD'er die aan het befaamde en langlopende 'Wnt4 project' heeft gewerkt. Dank voor alle vrijheid die je mij hebt gegeven om tijdens mijn PhD aan invalshoeken en projecten te werken waar ik het meest enthousiast van werd. Daarnaast waardeer ik het enorm dat je altijd hebt geprobeerd tijd te maken voor meetings, ook al zat je agenda soms eigenlijk vol. Bedankt voor de vele nuttige wetenschappelijke discussies en brainstormsessies tijdens mijn 1-op-1's, hier heb ik veel van geleerd en voelde ik ook dat mijn mening en inzichten ertoe deden. Ik heb mij dan ook binnen de groep en onder jouw supervisie vrij kunnen ontwikkelen tot een zelfstandig wetenschapper. Ik hoop in de toekomst nog vaker te kunnen samenwerken!

Thijs, hoe is het? Met jou als co-promotor kreeg ik een deur die altijd openstond voor een vraag, goed advies of gewoon een gezellig gesprek. Dit heb ik erg gewaardeerd (en ook veel gebruikt!). Daarnaast kreeg ik een extra paar ogen die mijn projecten net van een andere invalshoek bekeek en hier en daar wat kon nuanceren als Renée en ik in een tunnel waren beland. Jouw enthousiasme voor de wetenschap werkt aanstekelijk, en zal ik meenemen! Ook bedankt voor het hosten van de lab BBQ en het kerstdiner bij jou op de boot, dat was altijd erg gezellig.

The members of my defense committee: **prof. dr. Aalt-jan van Dijk**, **dr. Harm Krugers**, **prof. dr. Pernette Verschure**, **dr. Maaike Stam**, **dr. Cathrin Brisken** and **prof. dr. Erik Danen**, thank you for reading and evaluating my thesis.

The members of my PhD progress committee: **dr. María dM Vivanco**, **dr. Rutger Gjaltema**, **dr. Suzan Stelloo.** Thank you for your input on my projects on the half-way point of my PhD.

Tanne en **Ingeborg** dank dat jullie mijn paranimfen willen zijn!

Tanne, een groot deel van mijn PhD, waren wij samen de enige twee PhDers in de groep. Jij drinkt geen (alcoholisch) bier en ik geen koffie, geen goede basis als collega's zou je zeggen. Toch konden we het al snel goed vinden en konden we altijd bij elkaar terecht voor een (veel te lang) kantoor gesprek, advies, de nieuwste nieuwtjes of een lekker potje klagen. Daarnaast hebben samen mooie werktrips gemaakt naar Zwitserland en Japan, die zullen mij zeker bijblijven! Ook bedankt voor het zijn van mijn vraagbaak voor alle PhD afrond en lay-out vragen, dat heeft mij erg geholpen!

I**ngeborg**, ik weet dat jij altijd zegt 'iedereen is vervangbaar', maar jij was onvervangbaar tijdens mijn PhD. Je zorgde er niet alleen voor dat alles er netjes en schoon bij lag, de apparatuur werkte, en de voorraad gevuld was, je was ook mijn go-to als ik (na eeuwig zoeken) iets niet kon vinden, advies nodig had, mezelf te veel opwond over t een of ander, of stipt om 12.00 graag wilde lunchen. Bedankt voor de vele fijne gesprekken, jouw nuchtere analyses wanneer mijn nuchtere blik wat was vertroebeld, en de prettige samenwerking bij de muizen! Ik hoop dat we ook na mijn PhD contact blijven houden!

Yorick, ook al hadden wij officieel maar een half jaar overlap op het lab, toch voelt het of je er mijn hele PhD bij bent geweest. We mogen dan wel tegenpolen zijn als het aankomt op de planning en organisatie kant van het onderzoek, als het gaat om de inhoud kunnen we urenlang sparren en discussiëren. Bedankt voor de fijne samenwerking aan het Wnt4 project, dat hopelijk nu echt bijna ten einde komt voor ons. Bedankt voor de gezelligheid en biertjes, en voor al je hulp en jullie gastvrijheid tijdens mijn bezoek aan 't mooie Linköping! We houden contact.

Joelle, **Rhanna**, **Jasper**, **Jeske**, jullie kwamen het lab verrijken in de laatste 1,5 jaar van mijn PhD, dit bracht ontzettend veel nieuwe energie, enthousiasme en uitjes met zich mee. Deze gezelligheid heeft mij heel erg geholpen zo in de laatste fase, dank daarvoor! **Joelle**, niks lijkt jou altijd goede humeur in de weg te kunnen zitten. Ook jouw enthousiasme werkt aanstekelijk, hou dat vast! **Rhanna**, ik heb genoten van jouw organisatorische assertiviteit, zeker zo aan het einde van mijn PhD. Jouw gezelligheid en telkens weer nieuwe hobby's zijn een aanwinst voor het lab! **Jasper**, ik moest even slikken toen jij zowel het - tot dan toe altijd vrije - bureau als de lab bench naast mij toegewezen kreeg, en het binnen een week vol lag met spullen. Gelukkig kon ik hier snel aan wennen en bleek je een gezellige buurman! Ik bewonder jouw duizenden ideeën en interesses, en vond het leuk om daar met je over te sparren. Daarnaast vormden we een goed borrel duo! **Jeske**, een PhD in drie verschillende labs, in twee

verschillende steden, ga er maar aan staan! Ik heb veel respect voor de manier waarop jij dat voor elkaar krijgt. Je maakte altijd tijd om mee te doen aan onze etentjes en bracht veel gezelligheid mee!

Anna, thanks for all the good and valuable conversations when we were both pipetting in the lab. You are very thoughtful and kind, which I really appreciate! It was great to have you in the lab, Molcyto is lucky to have you back!

Caitrín, although I have the feeling that we did not get the chance to really work together, I am sure that you are a valuable addition to the lab! I hope you will enjoy the wonders of breast biology.

Thanks all other PhD colleagues: **Saskia**, **Franka**, **Eike**, **Anoeska** and **Sergei** for the borrels, lunches, office chats, bouldering sessions, and fun making PhD movies! Also, my newer PhD colleagues: **Quint**, **Reza**, **Sebastian**, **Andrea** for the office chats and borrels. Also, we make a great volleyball team!

Thanks to all the students that joined the DSCCB lab during my PhD, you always created a vibrant and nice atmosphere. Speciale dank aan de vier studenten die ik heb mogen begeleiden tijdens mijn PhD voor jullie bijdrage aan dit proefschrift! Ik heb het ontzettend leuk gevonden om samen met jullie aan mijn projecten te werken! **Muriel**, jij was de eerste student die ik begeleide, ook nog eens in de Covid-periode. Ik herinner mij dat ik in quarantaine zat en jou via facetime probeerde uit te leggen hoe je een transformatie moest doen. Gelukkig pakte jij het lab werk soepel en goed op en was dit allemaal geen probleem. Je hebt ontzettend veel voor elkaar gekregen, wat resulteerde in een terecht auteurschap op het PR tools paper! Ik wens je veel succes als ANIOS in het Flevoziekenhuis, en ben benieuwd wat je volgende stappen zijn! **Emma**, jouw oprechte enthousiasme en drive is bewonderenswaardig. Je kwam nog wat onzeker van je kunnen binnen, maar hebt tijdens je stage laten zien dat je veel potentie hebt! Helaas bleek het maken van een GRHL2 knock-out onhaalbaar, maar ook dat was waardevolle informatie. Heel veel succes met je PhD, ik blijf je volgen. **Jeltje**, een bioinformaticastage bij een PhD'er die daar maar weinig ervaring mee heeft, ga er maar aanstaan. Gelukkig kon jij al vanaf het begin goed managen, duidelijk uitleggen en vastleggen wat je allemaal had gedaan. Je kon erg goed de brug slaan tussen Martijs de bioinformaticus/statisticus en Renée en ik, de biologen. Door jouw analyses en de coole dingen die daaruit kwamen, ben ik mij zelf meer gaan verdiepen in bioinformatica. Dit is van grote waarde geweest voor het merendeel van dit proefschrift, dank daarvoor!

Ik wens je heel veel succes met je PhD! **Thomas**, jij kreeg misschien wel het meest lastige project (weten we nu). Bedankt dat je het aandurfde om met Ingeborg en mij op zoek te gaan naar iets van een fenotype in de Wnt4 muis, al was het een lange en uitputtende zoektocht. Met wat aanmoediging hield je de moed erin en heb je veel werk kunnen verzetten. Jij maakte heel makkelijk contact met iedereen om je heen, dat was erg leuk om te zien. Ik wens je veel succes met het afronden van je dubbele master, ik weet zeker dat je toekomstige patiënten bij jou in goede handen zijn!

Claudio, thank you for hosting me in your lab and giving me the opportunity to perform the Cut&Run experiments in Linköping. I had a great time and I am glad that, in the end, it resulted into valuable data for chapter 5 of this thesis! I would also like to thank all members of the Cantù lab: **Anna**, **Tamina**, **Yorick**, **Simon** and the students for making me feel very welcome during my time in Linköping!

Verder wil ik graag nog een aantal SILS collega's bedanken. **Martijs**, bedankt voor de hulp tijdens de stage van Jeltje, en de kans om mijn bioinformatica skills op te krikken tijdens jouw cursus. **Wim**, bedankt voor de snelle hulp als ik weer eens ruzie had met de UvA-server. **Gonzalo** en **Dennis**, dank voor jullie hulp bij de FACS! **Rob**, **Gavin** en alle andere verantwoordelijken in de dierfaciliteit voor de goede zorg voor de muizen!

De allerleukste teamgenoten van **Voordaan D3**, manmanman(d), wat ben ik blij dat ik aan het begin van mijn PhD bij jullie in het team terechtkwam! Hockey is een van de beste uitlaatkleppen geweest tijdens mijn PhD. Dank voor alle uren zweten op het veld, alle liters bier, gezelligheid en oprechte interesse naast het veld. Speciale dank aan **Anneloes** a.k.a **Kees** voor het zijn van mijn PhD-uitlaatklep binnen het team.

Dank aan al mijn lieve vrienden voor de nodige afleiding de afgelopen jaren. **Nik**, **Rens, Flo** en **Daf**, ik koester dat ik jullie 10 jaar na ons afscheid van het Jordan nog steeds mijn vrienden mag noemen. Dank voor de borrels, etentjes en fijne gesprekken, dat er nog vele jaren mogen volgen! Mijn IBB maten: **Marion** en **Dorien**, bedankt voor het zijn van mijn sportmaatjes, ik hoop dat we dat nog lang blijven doen. **Randall**, **Vincent**, **Susanne**, bedankt voor de gezelligheid en goede gesprekken tijdens onze maandelijkse spelletjesavonden! **Raoul**, ik kijk er altijd naar uit als onze drukke schema's samenkomen en het weer tijd is voor bier en lekker eten! **Maaike**, **Michiel**, **Ellen**, en **Celine**, dank voor de leuke avonden en weekendjes weg, leuk om te merken hoe vertrouwd dit jaren later nog kan voelen.

Niek, BMW-vriend van het eerste uur, we haalden tegelijk onze bachelor en master. Al heb jij niet gekozen voor een PhD, toch leuk om ook deze mijlpaal met je te vieren. Dank voor de altijd fijne wandelgesprekken. **Titine**, studiegenoot, commissiegenoot, huisgenoot, vriendin, al heel wat benamingen kunnen we aftikken, en met plezier! Dank voor alle feestjes, spelletjes en fietstochtjes, op nog vele meer!

Bart & **Michelle** dank dat jullie deur altijd openstaat voor gezelligheid in 'limboland'. **Tessa** & **Kevin**, dank voor de vele champagne, en de verrukkelijke pizza's!

Met dank aan mijn **oma**, die deze mijlpaal niet meer bewust meemaakt, maar mijn wetenschappelijke carrière altijd met volle overtuiging heeft gesteund en mij nog meer heeft laten beseffen dat de vrijheid krijgen om je interesses en ambities achterna te gaan, iets is om ongelofelijk dankbaar voor te zijn.

Pap en **Mam**, dank voor alle vrijheid en steun die ik altijd van jullie heb mogen ontvangen. Ook tijdens mijn PhD is dit een belangrijke factor geweest. **Pien**, ook al spreken we elkaar niet dagelijks, ik weet dat we altijd bij elkaar terecht kunnen. De afgelopen 1.5 jaar zijn voor ons allemaal niet makkelijk geweest, maar ik ben blij dat we deze mijlpaal samen kunnen vieren.

Mark, dank voor het zijn van mijn stabiele basis. De afgelopen vier jaar hebben we heel wat hoogte- en dieptepunten samen meegemaakt, maar op jou, op ons, kon ik altijd terugvallen. Ik kijk uit naar de rest van ons leven!

Curriculum vitae

Marleen Aarts was born on 11 January 1997 in Utrecht, the Netherlands. After obtaining her VWO diploma at Montessori Lyceum Herman Jordan Zeist in 2015, she studied Biomedical Sciences at Utrecht University. She conducted her Bachelor research project on the functional interactions between Polycomb and SWI/SNF complexes in development and cancer in the group of Dr. Sander van den Heuvel at Utrecht University.

After graduating from her bachelor in 2018, she started the research master Cancer, Stem Cells, and Developmental biology at the same university. During her master program, she performed two research internships. The first was in the lab of Prof. Dr. René Medema in the Netherlands Cancer Institute, where she studied epigenetic scars after double stranded DNA breaks. After this internship, she performed a short educational internship at Utalent and wrote a literature thesis about the importance of fundamental science under supervision of Wouter de Laat. During her second research internship in the lab of Prof. Dr. Madelon Maurice at the Molecular Cancer Research department of the UMC Utrecht she worked on *AXIN1* mutations in liver cancer.

Directly after obtaining her master's degree in June 2021, she started as a PhD candidate under the supervision of Prof. Dr. Renée van Amerongen and Dr. Thijs van Boxtel in the section Developmental, Stem Cell & Cancer Biology at the Swammerdam Institute for Life Sciences at the University of Amsterdam. During her PhD she spent 6 weeks in the lab of Prof. Dr. Claudio Cantù at Linköping University in Linköping Sweden to learn and perform CUT&RUN analyses. The results of this research project on progesterone driven gene regulatory networks in the mammary gland are presented in this thesis.

List of publications

Aarts M.T., Wagner M., van der Wal T., van Boxtel A.L., Van Amerongen R., (2023). A molecular toolbox to study progesterone receptor signaling. J Mammary Gland Biol Neoplasia 28, 24 (https://doi.org/10.1007/s10911-023-09550-0)

van de Grift, Y.B*., **Aarts, MT***, Wiese, K.E*., Heijmans, N*., Hooijkaas, I.B., Pritchard, C.E., Henneman, L., Krimpenfort, P.J., van Boxtel, A.L., van Amerongen, R. (2025). GRHL and PGR control WNT4 expression in the mammary gland via 3D looping of conserved and species-specific enhancers. bioRxiv, 2025.04.11.648333. https://doi.org/10.1101/2025.04.11.648333. *In submission*

Venhuizen, A.J., Os, Y*. van, Kaptein, M.L.*, **Aarts, M.T.***, Xanthakis, D., Jordens, I., Maurice, M.M. (2024). Hepatocellular carcinoma-associated AXIN1 mutations drive low levels of Wnt/β-catenin pathway activity that allow for niche-independent growth and YAP/TAZ signaling. bioRxiv 2024.11.28.62594 https://doi.org/10.1101/2024.11.28.625941. *In submission*

Aarts M.T., Hooijkaas, I.B., Fleischmann, T.J., van Boxtel, A.L., van Amerongen, R. (202x). Spatiotemporal regulation of *Wnt4* expression across mouse tissues. *Manuscript in preparation*

Aarts M.T., Nordin, A, Cantù, C., A.L., van Amerongen, R. (202x). Mechanistic dissection of GRHL2 and PR transcriptional co-regulation in breast cells. *Manuscript in preparation*

*Authors contributed equally

PhD portfolio

List of poster and oral presentations

- ENBDC workshop 2022, Weggis Switzerland, Poster presentation
- SILS seminar 2022, Talk
- Dutch Chromatin meeting 2022, Leiden, Poster presentation
- EMBO Wnt meeting, 2022, Awaji Japan, Flash talk + poster presentation
- ECR workshop (ENBDC) 2023, Weggis Switzerland, Selected talk
- ENBDC workshop 2023, Weggis Switzerland, Poster presentation
- SILS Research Day 2023, Selected talk
- ENBDC seminar 2023, Online, Talk
- Dutch Chromatin meeting 2024, Amsterdam, Poster presentation
- PALS summer school in transcriptomics, Sandvik Gård Sweden, Poster and Short Talk
- Dutch Chromatin meeting, Utrecht 2025, Poster presentation
- SILS seminar 2025, Talk
- CSB seminar 2025, Talk

Grants

- Travel grant from the Genootschap ter bevordering van de Natuur-, Genees-, en Heelkunde for participating in the EMBO Wnt meeting in Awaji, Japan.
- Travel grant from Amsterdams Universiteits Fonds for participating in the EMBO Wnt meeting in Awaji, Japan.
- Travel grant from the Stichting tot bevordering van het wetenschappelijk onderzoek in de biochemie for participating in the EMBO Wnt meeting in Awaji, Japan.
- Travel grant from the Genootschap ter bevordering van de Natuur-, Genees-, en Heelkunde to visit the lab of Claudio Cantù January - February 2025
- Travel grant from the Dutch Network of Women Professors to visit the lab of Claudio Cantù January - February 2025

Teaching

- Supervision of 4 MSc internships: Muriel Wagner (Developmental and Therapeutic Biology track), Emma Schram (Developmental and Therapeutic Biology track), Jeltje Rommens (Developmental and Therapeutic Biology track), and Thomas Fleischmann (DuMa, Oncology track).
- BSc course Frontiers in Medical Biology (2021 and 2022, wet lab practica and Guest Lecturer)
- BSc Course Inleiding Biomedische Wetenschappen (2022, Workgroup Teacher)
- BSc course The Cell (2022 and 2023, Workgroup Teacher and Guest Lecturer)

Courses

- Laboratory Animal Science (art. 9, Law on Animal Experiments, UvA)
- Mastering Your PhD (FNWI, UvA)
- Genomics and Transcriptomics course (Training in R and Bash for life sciences, UvA)
- Course “Scientific integrity” (FNWI, UvA)
- Didactic skills (FNWI, UvA)
- Introduction to Python workshop (FNWI, UvA).