

## DECIPHERING TUMORIGENESIS DRIVEN BY REPLICATION-ASSOCIATED DNA DAMAGE DIE ROLLE VON REPLIKATIONS-ASSOZIIERTEN DNA-SCHÄDEN BEI DER TUMORENTSTEHUNG



### MASSIMO LOPES

Institute of Molecular Cancer Research  
University of Zurich



### ACHIM WEBER

Department of Pathology and Molecular Pathology  
University Hospital Zurich

**KEYWORDS** - REPLICATION-ASSOCIATED DNA DAMAGE, MOUSE MODELS, HEPATOCELLULAR CARCINOMA

**SCHLAGWÖRTER** – REPLIKATIONS-ASSOZIIERTE DNA-SCHÄDEN, MAUSMODELLE, HEPATOZELLULÄRES  
KARZINOM

### SUMMARY

Hyperproliferation is intrinsically associated with early tumorigenesis. In these cancer-prone conditions, frequently associated with oncogene activation, cells need to adopt a higher DNA replication rate, increasing the probability of replication-associated DNA damage. This sequence of events is observed in chronic liver disease (CLD) and subsequent hepatocellular carcinoma (HCC), which has been modelled in mouse and thoroughly investigated in the Weber lab. The Lopes lab has optimized a portfolio of techniques to investigate replication stress in cancer-relevant conditions, including specialized single molecule approaches on replication intermediates.

Using optimized protocols to derive single, metabolically active cells from the relevant tissues, we aim to explore whether DNA damage observed under these conditions is accompanied by specific marks of replication stress, taking advantage of staining procedures coupled to FACS and fluorescence microscopy. Furthermore, we plan to use DNA fiber spreading and electron microscopy to directly monitor the progression and architecture of individual replication forks, thereby providing mechanistic insight on replication stress associated with these conditions. By applying specialized basic research assays to clinically relevant mouse models our joint studies will shed light on crucial mechanisms of replication stress in early tumorigenesis.

### ZUSAMMENFASSUNG

Ein erhöhtes Zellwachstum ist intrinsisch mit früher Tumorigenese verbunden. Während der Krebsentstehung, die häufig mit einer Aktivierung von Onkogenen einhergeht, unterliegen die Zellen einer höheren DNA-Replikationsrate, was die Wahrscheinlichkeit für Replikations-assoziierte DNA-Schäden erhöht. Diese Abfolge von Ereignissen wird bei der chronischen Lebererkrankung (CLD) und dem Hepatozellulären Karzinom (HCC) beobachtet. Mit Hilfe von etablierten Mausmodellen im Labor von Achim Weber und einem Portfolio von Techniken zur Untersuchung von Replikationsstress – einschliesslich *single-cell* Analysen - im Labor von Massimo Lopes soll untersucht werden, ob die beobachteten DNA-Schäden mit spezifischen Anzeichen von Replikationsstress einhergehen. Dazu werden unter anderem auch spezifische Färbeverfahren in Verbindung mit FACS und Fluoreszenzmikroskopie genutzt. Die Anwendung von *DNA fibre spreading Assays* und Elektronenmikroskopie erlaubt es, die Progression und die Architektur einzelner Replikationsgabeln zu untersuchen und dadurch einen mechanistischen Einblick in den Replikationsstress zu geben. Ziel ist es durch die Anwendung innovativer Testverfahren in klinisch relevanten Mausmodellen wichtige Mechanismen des Replikationsstresses in der frühen Tumorigenese besser zu verstehen.