

# Role of Apoptosis-Antagonizing Transcription Factor (AATF) in DNA damage signaling and p53 response: studies in highly proliferating versus postmitotic tissues

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

vorgelegt von

Safiya Khurshid

aus Baramulla, Kashmir (India)

Berichterstatter:  
(Gutachter)

Prof. Dr. Thorsten Hoppe

Prof. Dr. Thomas Benzing

**Abstract:**

**Background:** In response to DNA damage, cells activate a complex signaling network to prevent further cell-cycle progression. Activation of this signaling cascade, which is collectively referred to as the DNA damage response (DDR), provides time for DNA repair recruiting repair machinery to the sites of genotoxic damage, or, if the lesions are beyond repair capacity, leads to the activation of additional pathways mediating apoptosis. The tumor suppressor p53 lies at the heart of this DNA damage response and contributes to these two distinct cellular outcomes. However, it remains incompletely understood, which signaling molecules dictate the choice between these different cellular responses. DNA damage signaling is of profound importance to the cells and has evolved in order to maintain their genomic integrity. Since the embryo undergoes extensive proliferation, and is susceptible to intrinsic DNA damage via proliferative stress, the DNA damage machinery needs to be in place from the very outset. In contrast, the post mitotic cells in the body utilize the DNA damage response machinery to maintain their post mitotic status in the adult life.

**Main findings and conclusion:** Here, we identify the apoptosis-antagonizing transcription factor (AATF/Che-1) as a critical regulator of the cellular outcome of the p53 response. Upon genotoxic stress, AATF is phosphorylated by the checkpoint kinase MK2. Phosphorylation results in the release of AATF from cytoplasmic MRLC3 and subsequent nuclear translocation. In the nucleus AATF binds to the *PUMA*, *BAX* and *BAK* promoter regions to repress p53-driven expression of these pro-apoptotic genes. Moreover AATF was found to be indispensable for the development of the epidermis *in vivo* since the epidermal knockout of AATF leads to barrier dysfunction causing early postnatal death. In contrast, the knockout of AATF in post mitotic cells like podocytes does not compromise the development of the animals but instead leads to the progressive loss of podocytes and histologically to the development of Focal Segmental Glomerulosclerosis. Therefore, AATF, an important DNA damage-signaling molecule, antagonizes p53 dependent apoptosis and is indispensable for the normal development and homeostasis of the highly proliferating epidermis. Furthermore, AATF contributes to the maintenance of the post mitotic status of cells like podocytes by inhibiting apoptosis and consequently preventing the early onset of end stage renal disease.

**Zusammenfassung:**

Hintergrund: Als Reaktion auf DNA-Schäden aktivieren Zellen ein komplexes Signaltransduktions-Netzwerk mit dem Ziel, den Zellzyklus zu unterbrechen und damit weitere Zellteilungen zu verhindern. Die Aktivierung dieser Signalkaskade, welche allgemein als DNA-Damage-Response (DDR) bezeichnet wird, gibt der Zelle Zeit, DNA-Reparatursysteme zu aktivieren und an den Ort der genotoxischen Schäden zu rekrutieren. Sollten die Schäden die Reparaturkapazität übersteigen werden zusätzliche Signalwege aktiviert, die zur Apoptose führen. Im Zentrum der DDR steht das Tumorsuppressorprotein p53. Welche Signalmoleküle die p53-Antwort in die eine oder andere Richtung treiben ist nach wie vor weitgehend unklar. Die DDR ist von großer Bedeutung für einen Organismus, um die genomische Integrität sicher zu stellen. Da der Organismus während der Embryonalentwicklung hohem proliferativem Stress und somit der Gefahr intrinsischer DNA Schäden ausgesetzt ist, müssen die DNA-Reparatursysteme von Beginn an aktiv sein. In postmitotischen Zellen hingegen werden DNA-Reparatursysteme benötigt um den postmitotischen Status zu erhalten und Apoptose zu verhindern.

Hauptaussagen und Schlussfolgerung: In biochemischen und zellbiologischen Arbeiten identifizierten wir den Transkriptionsfaktor apoptosis-antagonizing transcription factor (AATF/Che-1) als entscheidenden Regulator der durch p53 kontrollierten Antwort auf DNA-Schäden. Infolge von genotoxischem Stress kommt es zur Phosphorylierung von AATF durch die Kinase MK2. Dies inhibiert die Interaktion von AATF mit dem zytoplasmatischen Protein MRLC3 und hat die nukleäre Translokation von AATF zur Folge. Im Zellkern bindet AATF an die Promotorregionen von *PUMA*, *BAX* und *BAK*, um die p53-gesteuerte Expression dieser proapoptotischen Gene zu verhindern. Darüber hinaus konnten wir in einem Mausmodell *in vivo* zeigen, dass AATF für die Entwicklung der Epidermis unabdingbar ist: Der epidermale Knockout von AATF führt zu einem frühen postnatalem Tod. Im Gegensatz dazu führt ein Knockout in postmitotischen Zellen,

## Abstract

beispielsweise in Podozyten der Niere, nicht zu einem schweren Entwicklungsdefekt, sondern zu einem fortschreitenden Verlust von Podozyten im erwachsenen Tier. Histopathologisch zeigt sich eine fokal-segmentale Glomeruloskelose (FSGS), die in ein terminales Nierenversagen übergeht. Unsere Daten weisen AATF als zentrales DNA-Damage-Signalmolekül aus, das die DNA-Reparatur unterstützt und der p53-abhängigen Apoptose entgegenwirkt. AATF ist essentiell für die normale Entwicklung und Homöostase der Epidermis sowie für den Erhalt postmitotischer Zellen.