

Vorhabenbeschreibung zum Verbundprojekt:

SeneSys:

SENESZENZ-BASIERTE SYSTEMMEDIZINISCHE STRATIFIZIERUNG ZUR INDIVIDUALISIERTEN LYMPHOM-THERAPIE

Teilprojekt SP4

Management, Qualitätskontrolle, Vergleichbarkeit, Ko-Analyse und Verarbeitung umfangreicher molekularer und klinischer Datensätze von DLBCL-Patienten sowie humanen und murinen Lymphommodellen

Förderempfänger: Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Ulf Leser

Zusammenfassung

Personalisierte Präzisionsonkologie strebt an, im Patiententumor detektierte onkogene Aktivitäten mittels zielgerichteter Therapeutika zu blockieren. Trotz prinzipieller Schlüssigkeit sind die tatsächlichen klinischen Erfolge eher bescheiden. Wir verfolgen daher die Strategie, nicht eine einzelne molekulare Läsion, sondern einen vor allem in Tumorzellen vorliegenden "Status-Wechsel" an seinen mannigfaltigen molekularbiologischen Abhängigkeiten anzugreifen. Besonders interessiert uns der Status der zellulären Seneszenz als Apoptose-vergleichbares Zellzyklus-Exit-Programm, in welches vorzugsweise maligne Zellen nach medikamentöser Tumorthherapie eintreten.

Unser klinischer Fokus ist das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom (DLBCL), eine hoch-aggressive Tumorerkrankung, an der etwa ein Drittel der Patienten ultimativ verstirbt. Weder zusätzliche Substanzen noch Genom-Analysen konnten bisher den Jahrzehnte-alten "R-CHOP"-Therapiestandard ablösen und unterstreichen so den großen klinischen Druck. Das DLBCL ist die langjährige Expertise der beteiligten Konsortialpartner, die hochqualitative, kombiniert klinisch-molekulare Datensätze, relevante Modellsysteme sowie klinische Studienerfahrung einbringen und bereits zuvor eng kooperierten.

Spezifisch sollen hier bereits vorhandene, kürzlich von uns erstbeschriebene molekulare DLBCL-Subtypen und mechanistisch-mathematische Seneszenz-Modelle durch funktionelle Signalweg-Perturbation so weiterentwickelt werden, dass statische Molekularprofilierung zum Diagnosezeitpunkt zusammen mit dynamischer Vorwegnahme eines Seneszenz-Zustandes unter zukünftiger Therapie individuelle Langzeit-Verläufe vorhersagen können. Diese systemmedizinische Einordnung in neue „State/Fate“-Cluster-Modelle wird nicht nur als Outcome-Prädiktor, sondern auch zur Erklärung von Therapieresistenz und vor allem für innovative Status-basierte sequentielle Therapiekonzepte wie der selektiven Elimination seneszenten Zellen (sog. „Senolyse“) klinische Relevanz erlangen.

1 Vorhabenziele

1.1 Gesamtziele des Vorhabens

Unser Vorhaben adressiert die klinisch hochrelevanten Frage, inwieweit individuelle Krebserkrankungen gegenüber medikamentöser Tumorthherapie in das Apoptose-alternative ultimative Zellzyklus-Exit-Programm Seneszenz eintreten, und soll den Beitrag dieses seneszenten Zustandswechsels als günstig oder ungünstig für das Langzeit-Therapieergebnis bewerten (Haugstetter et al., 2010; Schmitt et al., 2002). Das Gesamtziel des Vorhabens basiert auf der Hypothese, dass die systemmedizinische Identifikation von Tumor-Subtypen – oder, präziser, von statisch/dynamischen Tumor-Cluster-Modellen – determiniert als Kombination distinkter Molekularprofile und antizipierter Seneszenz-Therapieantwort-Zustände eine wesentliche Zusatzinformation darstellt, deren Relevanz wir i.S. neuer prädiktiver Biomarker, therapielenkender Stratifikatoren und als konzeptionell innovative Zielprinzipien demonstrieren und klinisch nutzen werden.

1.2 Bezug des Vorhabens zu dem förderpolitischen Ziele

Basierend auf präexistenten, umfangreichen und qualitativ hochwertigen klinisch-molekularen Datensätzen von Patienten und funktionellen Mausmodellen werden wir einen einzigartigen systemmedizinischen Forschungsansatz umsetzen, dessen Relevanz für die Verbesserung der klinischen Behandlungsrealität wir konkret an Hand des diffusen großzelligen B-Zell-Lymphoms (diffuse large B-cell lymphoma [DLBCL]) demonstrieren werden. Das DLBCL stellt ein zentrales und für viele Betroffene ungelöstes klinisches Problem („unmet medical need“) dar, da etwa ein Drittel der Patienten durch die Standard-„R-CHOP“-Chemoimmuntherapie (bestehend aus dem Anti-CD20-Antikörper Rituximab, den Chemotherapeutika Cyclophosphamid, Adriamycin und Vincristin sowie Prednison) nicht geheilt werden kann und Rückfall-Therapien auch unter Ausnutzung autologen Blutstammzell-Supports die meisten dieser rezidierten oder primär refraktären Patienten nicht mehr zu heilen vermögen (Sehn et al., 2007). Der aktuell weithin verfolgte Ansatz der „Krebs-Präzisionsmedizin“ strebt an, mittels Next-Generation Sequencing (NGS) identifizierte „actionable Lesions“ – einzelne, besonders aktive Signalwegsmediatoren – gezielt pharmakologisch zu inhibieren. Dabei darf ungeachtet herausragender klinischer Erfolge nicht übersehen werden, dass profitierende Patienten oft nur kurzfristig ansprechen, weil die Tumoheterogenität an sich, Selektion für Therapie-insensitive Zielmolekül-Varianten oder die Aktivierung von Zielmolekül-umgehenden Signalwegen rasche klinische Resistenzentwicklung bedingen. Jedoch ist es ungeachtet enormer NGS-Anstrengungen beim DLBCL bis dato nicht gelungen, den Jahrzehnte-alten Therapiestandard allgemein oder für bestimmte Marker-definierte Patientensubgruppen zu verbessern. Auch die teilweise auf rationalen Signaling-Überlegungen beruhende, teilweise empirische Erweiterung des R-CHOP-Regimes um zielgerichtete Substanzen wie Bevacizumab, Bortezomib, Ibrutinib oder andere sog. „Small Compounds“ hat bisher zu ausnahmslos negativen Phase III-Studienergebnissen geführt (Nowakowski et al., 2016) und somit keinen neuen Standard setzen können. Es erscheint uns daher geboten, grundsätzliche neue Lösungsstrategien zu entwickeln. Im Besonderen sehen wir hier das Potential systemmedizinischer Ansätze, die benannten Limitationen hinsichtlich Vorauswahl mutmaßlich profitierender Patienten und Nachhaltigkeit des Therapieerfolgs durch die mathematische Beschreibung neuer sta-

tisch/dynamischer Zustandsmodelle für so definierte Patienten-Subgruppen klinisch relevant überkommen zu können.

Für unseren Seneszenz-fokussierten Forschungsansatz stellt das DLBCL eine geradezu ideale (Modell-)Erkrankung dar, da extensive Vordaten zur molekularen Charakterisierung bei Diagnose einerseits und zur Auslösung Therapie-induzierter Seneszenz (TIS) andererseits im DLBCL und dieser Entität besonders nahekommenden transgenen Tiermodellen aggressiver B-Zell-Lymphome erhoben wurden und hieran die Antragsteller federführend maßgeblichen Anteil haben (Alizadeh et al., 2000; Ansell et al., 2015; Caro et al., 2012; Chapuy et al., 2013; Chapuy et al., 2018; Chen et al., 2013; Jing et al., 2011; Lenz et al., 2008; Lohr et al., 2012; Milanovic et al., 2018a; Monti et al., 2012; Reddy et al., 2017; Reimann et al., 2010; Rosenwald et al., 2002; Schmitt et al., 2002; Schmitz et al., 2018)(Dörr-JR,... ...Schmitt-CA und Schleich-K,... ...Chapuy-B, Schmitt-CA, Manuskripte in Ausarbeitung). Tatsächlich vermögen alle Komponenten des R-CHOP-Regimes (und Tumortheraeutika generell) nicht nur Apoptose, sondern auch TIS auszulösen (Braig et al., 2005; Dabritz et al., 2016; Schmitt et al., 2002). Da aber – im Gegensatz zum apoptotischen Zelltod – die terminal Zellzyklus-arretierten seneszenten Zellen für unterschiedlich lange Zeiträume viabel im Tumormilieu verbleiben, spielt deren biologischer Zustandswechsel und damit verbundene biologische Funktionalitäten eine potentiell wichtige Rolle für das weitere Schicksal des Tumors im Gesamten. So sezernieren senescente Zellen massiv pro-inflammatorische Zytokine, remodellieren die extrazelluläre Matrix, attrahieren Immunzellen, nehmen Einfluss auf die proliferative Kapazität ihrer Nachbarzellen, präsentieren sich als hypermetabol und durchlaufen einen Reprogrammierungsprozess, der zur Akquisition eines latenten (transkriptionellen) Tumorstammzell-Programms führt, welches, würde eine solche Zelle sich wieder teilen, als Tumor-Reinitiationsfähigkeit dramatisch zur Tumoraggressivität beitragen würde (He and Sharpless, 2017; Herranz and Gil, 2018; Lee and Schmitt, 2019; Milanovic et al., 2018a; Milanovic et al., 2018b). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Seneszenz eine zentrale Komponente der Anti-Tumor-Medikamentenaktivität darstellt, aber ihr günstiger oder ungünstiger Beitrag zum Langzeit-Therapie-Outcome nur begrenzt verstanden ist und rationale Ko-Strategien zur therapeutischen Modulation dieser Rolle weitgehend fehlen.

Hierfür streben wir an, den Verlauf individueller DLBCL-Erkrankungen im Sinne dynamischer, Seneszenz-fokussierter „State/Fate“-Prädiktoren systemmedizinisch zu antizipieren und so Therapie-optimierend zu nutzen. Konkret verfügen wir über molekulargenetische und klinisch ko-annotierte Datensätze von mehreren Hundert DLBCL-Patienten, die im Verlauf uniform R-CHOP-artigen Therapien unterzogen wurden. Auf Boden dieser Daten haben wir kürzlich Maschinenlernen-unterstützt und mit Hilfe von In silico-Modellierung eine neue Cluster-Klassifikation (Cluster C1-C5) vorgestellt, die komplexe molekulare Muster der heterogenen DLBCL-Erkrankung vor Therapiestart in pathogenetisch und klinisch relevante Clustern einordnet (Caro et al., 2012; Chapuy et al., 2013; Chapuy et al., 2018; Chen et al., 2013; Monti et al., 2012). Parallel dazu haben wir ebenso im Vorfeld dieses Projektantrags in genetisch definierten Lymphom-Modellsystemen, primärem humanen Lymphommaterial und einer Multi-Omics-charakterisierten „Clinical Trial-like“ Maus-Lymphom-Kohorte molekulare Regulationsmechanismen, Gen-Signaturen und distinkte biologische Funktionen des seneszenten Zustandswechsels in vitro und in vitro beschrieben und extensiv validiert (Jing et al., 2011; Milanovic et al., 2018a; Reimann et al., 2010; Schmitt et al., 2002). Im Gegensatz zu statischen Molekularprofilen zum Diagnosezeitpunkt sind die letztgenannten, Therapie-begleitenden TIS-fokussierten Datensätze dynamischer Natur. Damit eröffnen diese umfangreichen und hochqualitativen Vordaten die Möglichkeit, im hier beantragten Forschungsvorhaben systemmedizinisch neue statisch/dynamische Tumor-Cluster-Modelle abzuleiten. Im Sinne der förderpolitischen Ziele werden wir

demonstrieren, dass diese aus distinkten Molekularprofilen und antizipierten Seneszenz-Therapieantwort-Zuständen generierten Cluster-Modelle als grundsätzlich neue prädiktive Biomarker, therapielenkende Stratifikatoren und ultimativ innovative Zielprinzipien konzeptionell neuartiger Therapiestrategien zur Verbesserung des Patientenwohls klinisch nutzbringend eingesetzt werden können.

2 Stand der Wissenschaft

Mit der Verfügbarkeit quantitativer Transkriptom-Analyseverfahren, der DNA-Sequenzierung und insbesondere dem Einzug des NGS wurde prinzipiell die Grundlage Läsions-basierter personalisierter Krebsmedizin geschaffen. In der Tat existiert mittlerweile eine Fülle an publizierten Arbeiten, die die Ableitung neuer Prognostikatoren aus der molekulargenetischen Profilierung von oft Hunderten genomisch und transkriptionell analysierter Patienten-Tumorproben als Rohdatenpool zeigt. In eher wenigen Fällen ist es gelungen, diese Information tatsächlich in einen strukturierten Prognose-relevanten Testansatz zu überführen, wie wir dies nun bei Lymphomen bspw. als kliniko-molekularen „m7-FLIPI“ oder Nanostring®-basierten „Lymph2Cx“ kennen (Pastore et al., 2015; Scott et al., 2014). Manche dieser Tests haben prädiktives Potential, d.h. sie liefern eine Aussage über die mutmaßliche Wirksamkeit einer bestimmten Therapie. Dieses Feld ist ein rasant wachsender Markt der sog. Companion Diagnostics, deren Assays die Wahl einer konkreten Tumorthherapie lenken. Dies kann der Nachweis einer distinkten Mutation (wie der Braf-V600E-Mutation beim malignen Melanom bzgl. Vemurafenib, der FLT3-ITD/D835-Alteration bei der akuten myeloischen Leukämie bzgl. Midostaurin, einer K-Ras-Mutation beim kolorektalen Karzinom bzgl. Cetuximab), die Expressionsstärke eines bestimmten Drug Target-Prinzips (wie bspw. die PD-L1-Expression bzgl. verschiedenen Immun-Checkpoint-Blockern) oder gar ein ganzes Gen-Panel zur Frage, ob bspw. in einer bestimmten klinischen Situation eine adjuvante Chemotherapie indiziert sein kann. MammaPrint® ist ein solcher, FDA (US Food and Drug Administration)-zugelassener Test, der die Expression von 70 Markergenen ausliest, um eine Empfehlung für oder gegen eine adjuvante Chemotherapie bei frühen Brustkrebs-Stadien abzugeben. Während Daten der MINDACT-Studie nahelegen, dass zumindest klinischen Hochrisiko-Patientinnen bei einem niedrigen MammaPrint-Score eben diese Chemotherapie ohne signifikanten Überlebensnachteil erspart werden kann (Cardoso et al., 2016), sind derartige Tests in der klinischen Realität hochumstritten. Eine fundamentale konzeptionelle Schwäche all dieser Assays ist die Annahme, mit alleinigen statischen Ein-Punkt-Expressionsdaten bei der Diagnosestellung, die darüber hinaus zumeist auf nur einer begrenzten Zahl an Genprodukten basieren, die spätere Therapiewirksamkeit zu antizipieren.

Hier stellt unser systemmedizinischer Forschungsansatz eine grundsätzliche Alternative dar: uns zur Verfügung stehende, qualitativ hochwertige genomweite DNA- und RNA-basierte Datensätze von mehreren Hunderten DLBCL-Patienten werden mittels komplexer bioinformatischer Algorithmen nach molekulargenetischen Gesichtspunkten fünf distinkten (und somit immer noch relevante Patientenanteile ausmachenden) und prognostisch stratifizierenden Subtypen (Cluster C1-C5 plus Cluster C0) zugeordnet (Chapuy et al., 2018). Diese statischen Profile werden Multi-Omics Datensätzen aus primären Lymphomen eines funktionellen, DLBCL-reminiszenten transgenen transplantablen und immunkompetenten „Clinical Trial-like“ Mausmodells mit und ohne distinkte genetische Defekte gegenübergestellt, für die wir zudem über weitere dynamische Datensätze unter akuter Therapie-Exposition und im nachfolgenden Therapieverlauf verfügen. Im Besonderen haben wir in diesem Modellsystem Therapie-induzierte Seneszenz-assoziierte molekulare Veränderungen im zeitlichen

Verlauf sehr gut dokumentiert (Jing et al., 2011; Milanovic et al., 2018a; Reimann et al., 2010; Schmitt et al., 2002)(Dörr-JR,... ...Schmitt-CA und Schleich-K,... ...Chapuy-B, Schmitt-CA, Manuskripte in Ausarbeitung), um nun aus den humanen und murinen Vordaten systemmedizinisch statisch-dynamische Profile/State-Fate (P/SF)-Cluster-Modelle Signalweg-interrogierend und mathematisch modellierend ableiten zu können (Behar et al., 2013; Benary et al., 2013; Childs et al., 2016; Lichtblau et al., 2017; Tian et al., 2017; Trescher et al., 2017), deren Aussagekraft als konzeptionell neuartige Prognostikatoren und v.a. Prädiktoren anhand klinischer Verlaufspuren (bspw. aus unserer ImbruVerCHOP-DLBCL-Erstlinien-Studie, in der Re-Biopsien auch unter Therapie gewonnen werden) weiter geschärft und in ihrer klinischen Positionierung hier demonstriert werden soll.

Ein weiterer alleinstellender Verwertungsaspekt unseres Ansatzes liegt in seiner intrinsischen Zielsetzung, P/SF-Cluster-Modell-spezifische Aussagen über die günstige oder eher ungünstige Rolle des Therapie-Effektorprogramms Seneszenz machen zu können (Dorr et al., 2013; Jing et al., 2011; Milanovic et al., 2018a; Reimann et al., 2010; Schmitt et al., 2002; Yu et al., 2018), die wir als Risiko-adaptierte Entscheidungsgrundlage für entweder pro-seneszente oder senolytische Sequenztherapien nutzen und präklinisch, ultimativ in selektierten Settings dann auch klinisch pilotierend, prüfen wollen.

Zur Planung des hier beantragten Forschungsvorhabens und seiner möglichen Ergebnisverwertung haben wir selbstverständlich umfangreiche web-basierte Recherchen vorgenommen und sehen uns nach bestem eigenen Wissensstand hier in einer (noch) recht exklusiven Alleinstellungssituation. An einer potentiell Patent-relevanten Ergebnisverwertung sind alle signifikant Beitragenden entsprechend üblicher Regeln zu beteiligen. Alternative Strategien zur Generierung klinisch robuster und den Patientennutzen verbessernden Biomarker gibt es definitiv; diese stehen zu unserem Vorgehen bestenfalls in indirekter Konkurrenz.

Das hier beantragte Teilprojekt SP04 widmet sich vornehmlich dem Management, der Integration, und der statistischen Analyse verschiedener Lymphomdatensätze. Diese stammen von unterschiedlichen Organismen (Human, Maus, Zelllinien), von unterschiedlichen Krankheitsstadien (gesund / Lymphom, ggf. nach Relapse), aus unterschiedlichen Laboren (Göttingen, Charité, MDC), messen unterschiedliche molekulare Readouts (Expression, Proteome, Mutationsprofile etc.) und verwenden auch da, wo gleiche Phänomene gemessen werden sollen, unterschiedliche Technologien (Microarrays versus RNASeq). Management und integrative solcher Datensätze ist sehr anspruchsvoll (Canuel et al., 2015, Bauer et al., 2017). Bzgl. Des Managements werden wir auf etablierte Technologien zurückgreifen, insb. das System SysmoSeek (Wolstencroft et al., 2011), mit dem wir – zur Verwaltung von Metadaten und Ergebnissen – auf umfangreiche Erfahrungen zurückgreifen können. Alternative Systeme, wie TransMart (Scheufele et al., 2014) oder der in unserer Arbeitsgruppe entwickelte OmixAnalyzer (Stollmann et al., 2013) weisen eine in einem eher kleinen Projekt wie SeneSys nicht benötigte Komplexität auf, da statische Analyse und Visualisierungen in SeneSys stets durch Experten in den jeweiligen Arbeitsgruppen mit Hilfe spezialisierte Kommandozeilen-Werkzeuge vorgenommen werden. Bzgl. der Analyse von Multi-Omics Daten gibt es noch keine etablierten Standards (Sun and HU, 2016). Die zwei prinzipiellen Vorgehensweisen dazu sind: (a) Zunächst unabhängige Analyse gefolgt von einer Aggregation auf Ergebnisebene, z.B. durch Schnittmengenbildung, oder (b) integrative Modellierung und Prozessierung, wobei die sehr unterschiedlichen Werteverteilungen und Korrelationen in unterschiedlichen Technologien beachtet werden müssen (Trescher et al., 2017). Im Projekt planen wir beide Verfahrensweisen zu erproben, die auch beide in der Arbeitsgruppe etabliert sind.

3 Zusammenarbeit

3.1 Zusammenarbeit des SP mit Dritten

Teilprojekt SP04 wird auf die Kompetenzen einer Reihe etablierter wissenschaftlicher Partner und Partnerinnen des Lehrstuhls von Prof. Leser zurückgreifen können. Zu Aspekten der Qualitätskontrolle und der skalierbaren Verarbeitung von Omics-Datensätze werden wir mit der Bioinformatik-Core Unit (CUBI) des Berliner Instituts für Gesundheitsforschung (BIG), geleitet von Dr. Dieter Beule, kooperieren. Zur Vergleichbarkeit und zum Vergleich von onkologischen Daten gibt es eine langjährige Kooperation mit der Gruppe für molekulare Tumorphathologie von Prof. Dr. Christine Sers an der Charité Berlin. Im Bereich des Managements und der Analyse klinischer onkologischer Daten werden wir insbesondere die etablierte Zusammenarbeit mit dem Comprehensive Cancer Center der Charité, geleitet von Prof. Dr. Ulrich Keilholz, fortführen. Des Weiteren ist ein intensiver methodischer Austausch mit dem RTG2424, „CompCancer: Computational Methods for Oncology“ geplant, das im Dezember 2018 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft bewilligt wurde und in dem im Sommer 2019 die erste Doktorandenkohorte ihre Forschungsarbeiten aufnehmen werden. UL und CAS sind PIs in diesem Graduiertenkolleg.

3.2 Verbundübergreifende Kooperation

Das Konsortium wird von Clemens A. Schmitt (CAS), einem wissenschaftlich breit verankerten und in Forschungsverbund-Sprecherschaften (Klinische Forschergruppe, SFB/Transregio, Exzellenzinitiative-Graduiertenschule u.a.) erfahrenen Kliniker mit langjähriger oberärztlicher Leitungsroutine und Studien-Expertise, insbesondere im Lymphom-Bereich, koordiniert. Eine der zentralen Aufgaben des Koordinators ist die verantwortliche Übersicht über den Progress des Gesamtvorhabens und die Einhaltung der zeitlich aufeinander abgestimmten Meilenstein-Beiträge der Konsortialpartner – deren Zusammenarbeit im gemeinsam geschlossenen und von allen Konsortialpartnern getragenen Kooperationsvertrag geregelt ist. Jenseits einzelner Meilensteine und konkreter experimenteller Zielsetzungen haben sich die Partner-PIs arbeitsteilig Zuständigkeiten für die folgenden Aufgabenfelder – wissenschaftliche Schlüsselbereiche & administrativ-strategische Kernkompetenzen – zugeordnet:

- CAS: klinisches Probenmaterial und frühe klinische Studien & Rotations-/Austausch-Programm mit anderen Konsortien
- SL/MM: Mausmodelle und molekularbiologische Experimente & Gleichstellungsangelegenheiten
- BC: Tiefensequenzierung und molekulare Tiefencharakterisierung von Lymphomproben & spezifische Betreuung forschender Kliniker
- UL: Daten-Zugang, -Schutz und -Transfer, bioinformatische Analyse von Multi-Omics-Datensätzen, Varianten-Annotation und Filterung & Graduierten-Ausbildung
- JW: Zugang zu mathematischen Modellierungen & Karriereplanungsunterstützung für Postdocs und Nachwuchsgruppenleiter

Gute interne Zusammenarbeit und Kooperation mit Dritten werden für den Erfolg von SeneSys entscheidend sein. Alle aktiv im Konsortium tätigen Wissenschaftler (und ggf. weitere Kollegen der beteiligten Arbeitsgruppen) treffen sich alle sechs Monate zu Progress Meetings. Einmal pro Jahr werden in dieses Format externe Sprecher mit Expertise in Konsortium-relevanten Bereichen bzw. aufkommenden neuen Feldern eingeladen. Besondere Bedeutung wird Interaktionen mit anderen

eMed-Konsortien zukommen, die einmal im Rahmen der gemeinsamen eMed-Treffen initiiert und in der Folge ausgebaut werden, aber auch durch spezifische, durch uns zu organisierende Inter-Konsortial-Konferenzen dort vertieft werden sollen, wo sich besonders enge und fruchtbare Schnittstellen eröffnet haben. Großes erklärtes Interesse besteht seitens SeneSys auch an den eMed-Summer-Schools, an denen wir sicher aktiv partizipieren werden. Zur uns sehr wichtigen Zusammenarbeit mit Dritten zählen auch die aktive Beteiligung am bzw. die etabliert guten Beziehungen zum Deutschen Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK) und zur German Lymphoma Alliance (GLA). Als externe Berater, die zugleich globale Interaktionen und Sichtbarkeit von SeneSys verstärken werden, möchten wir gerne vier bis fünf internationale Top-Experten als Repräsentanten klinischer Hämatologie/Onkologie, der Big Data-Analytik/Modellierung, der Pharma-Industrie, kleineren Biotech-Firmen (bzgl. Biomarker-Assay-Entwicklung) in unser Scientific Advisory Board einladen; namentlich denken wir hier bspw. an Judith Campisi, Buck Institute, Novato/USA; Franziska Michor, Harvard University, Boston/USA; Jan van Deursen, Mayo Clinic, Rochester/USA; Jesus Gil, Imperial College, London/UK; Anas Younes, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York/USA).

4 Notwendigkeit der Zuwendung des SP

Die Arbeitsgruppe von Prof. Leser verfügt über eine Grundausstattung von drei wissenschaftlichen MitarbeiterInnen. Diese sind stark in der Lehre involviert und verfolgen außerdem eigene Forschungs- bzw. Promotionsvorhaben, die zum Teil nur geringer Überlappung mit den geplanten Arbeiten in SeneSys haben (Mario Sängler: biomedizinisches Text Mining; Patrick Schäfer: Klassifikation von Zeitreihen) und zum Teil in ihrer finalen Phase sind, in der neue Daten nicht mehr betrachtet werden können (Raik Otto: Vergleichbarkeit von genomweiten DNA Daten). Die hier geplanten Arbeiten sind daher ohne die beantragten Mittel nicht durchführbar.

5 Arbeitsplanung

Die Arbeitsplanung dieses Förderkennzeichens umfasst die Arbeiten der Arbeitsgruppe von Prof. Leser, Teilprojekt SP4. Die Teilprojekte SP1 und SP2 werden in einer Vorhabensbeschreibung des Partners Charité (Prof. Clemens Schmitt bzw. Dr. Soyoung Lee und Dr. Maja Milanovic) beschrieben. Teilprojekt SP3 wird vom Verbundpartner Universität Göttingen (Dr. Björn Chapuy) und Teilprojekt SP5 vom Verbundpartner Max-Delbrück-Zentrum (Prof. Jana Wolf) erläutert. Im Folgenden wird zunächst eine verbundweite Darstellung der Arbeitsplanung erfolgen, bevor in Abschnitt 5.32 die spezifischen Arbeiten dieses Teilprojekts SP4 beschrieben werden.

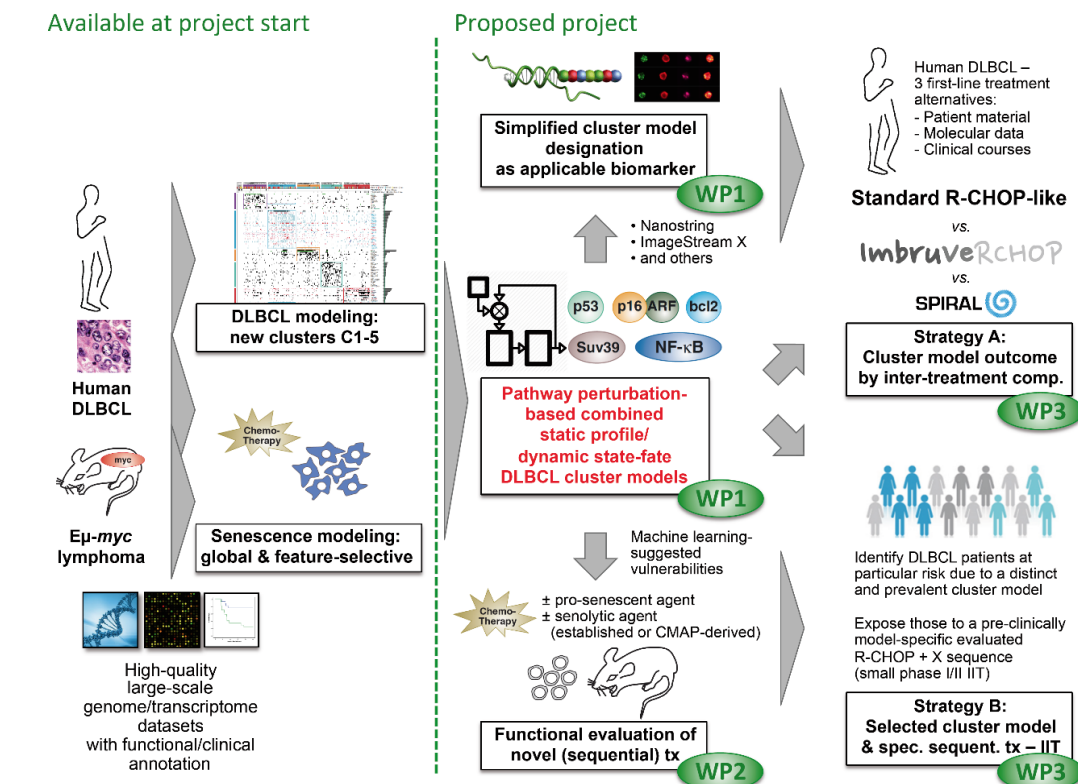
5.1 Verbundweite Projektziele und Arbeitsaufteilung / -planung

Gegenwärtige Therapiekonzepte zur Behandlung aggressiver B-Zell-Lymphome (und der meisten anderen Tumorentitäten ebenso) nutzen molekulare Tumor-Information und insbesondere Tumorzustand-getriebene Strategien nicht, um die Langzeitergebnisse für den individuellen Patienten gezielt zu verbessern. Wir stellen hier die Hypothese auf, dass eine statisch-dynamische systemmedizinische Untersuchung klinischer DLBCL-Datensätze zusammen mit der Spezies-übergreifenden Abfrage SeneSys-fokussierter genetischer Determinanten (stammend aus funktionellen präklinischen Maus-Lymphommodellen und innovativen DLBCL-Therapiestudien) neue Risikogruppen, zugrunde liegende

molekulare Treiber-Mechanismen und distinkte Vulnerabilitäten aufzudecken vermag, die dann weiter mittels neuer pro-seneszenter bzw. senolytischer Sequenztherapien klinisch exploriert werden sollen, also somit im Sinne des Programmaufrufs klinische Relevanz und Nutzen des hier präsentierten Vorgehens werden demonstrieren können.

Wir haben vorgesehen, in dieser Forschungsinitiative die folgenden spezifischen Aufgaben in drei Arbeitspaketen mit allen Partnern kollaborativ, also unter Nutzung unserer komplementären und interdisziplinären Expertisen, anzugehen:

- I. Systemmedizinische Zusammenführung neuer molekularer DLBCL-Subtypen mit distinkten Seneszenz-Eigenschaften zu prädiktiven „Profile/State-Fate (P/SF)“-Clustern
- II. Funktionelle Interrogation zentraler onkogener und Seneszenz-bedingter Vulnerabilitäten in P/SF-Clustern zur Entwicklung Cluster-spezifischer Therapiestrategien
- III. Klinische Bedeutung der P/SF-Cluster-Modelle in unterschiedlich behandelten DLBCL-Patienten-Kohorten und Protokollabfassung für eine kleine „Demonstrator“-Studie



IV.

Abbildung 1. Arbeitsfluss durch das beantragte Forschungsvorhaben mit seinen Arbeitspaketen WP1-3 (Therapie [tx]). Siehe Text bzgl. weiterer Details.

WP1 – Systemmedizinische Zusammenführung neuer molekularer DLBCL-Subtypen mit distinkten Seneszenz-Eigenschaften zu prädiktiven „Profile/State-Fate (P/SF)“-Clustern

Kürzlich von uns erstbeschriebene, komplex molekulargenetisch charakterisierte DLBCL-Subtypen einerseits und wichtige Seneszenz-Funktionalitäten (Zellzyklus-Kontrolle, Sekretion, Stemness, Immunogenität etc.) werden mit Hilfe funktioneller *in vitro* und *in vivo* generierter genetischer und pharmakologischer Signalweg-Pertubationsdaten statisch/dynamisch als P/SF-Cluster ko-modelliert, determinierte Cluster-Modelle mittels Nanostring®- und ImageStream X®-Technologie für die klinische

Anwendbarkeit als Biomarker vereinfacht und deren R-CHOP-prädiktive Rolle in DLBCL-Patientenkollektiven validiert.

Insbesondere die bereits durch BC erfolgte, comprehensive genetische Tiefencharakterisierung von über 300 primären DLBCL-Patienten-Lymphomproben (somatische Mutationen, somatische Kopienzahl-Veränderungen und Struktur-Varianten) mit der Ableitung fünf neuer DLBCL-Subtypen (Cluster C1-C5 plus Cluster C0), schafft die Grundlage für die Identifikation neuer Biomarker. Die Subtypen sind prognostisch relevant, weisen zielgerichtet angreifbare Alterationen auf, präzisieren frühere Ursprungszell-Klassifikationen (ABC- vs. GCB-Subtyp) und zeigen auch eine ABC/GCB-unabhängige, durch p53- und INK4a/ARF-Verluste charakterisierte Gruppe auf.

Die von CAS, SL und MM vorgenommene extensive Charakterisierung Onkogen- und Therapie-induzierter Seneszenz (OIS, TIS) in transgenen Maus-Lymphommodellen mit und ohne spezifizierte Gen-Defekte (bspw. im p53-, INK4a/ARF- und Suv39h1-Genlokus) haben fundamentale neue Einsichten in Tumorbilogie und Therapie-Effektormechanismen und spezifisch Seneszenz-Bereitschaft anzeigende Gen-Signaturen geliefert. Multi-Omics-basierte Analysen von über 50 primären Lymphomproben *in vitro* und *in vivo*, dabei auch in einem „Clinical Trial-like“ Ansatz, sowie die dezidierte Analyse potentiell nachteiliger Aspekte des seneszenten Zustandswechsels – namentlich der pro-inflammatorische Seneszenz-assoziierte sekretorische Phänotyp (SASP), die sporadische Rückkehr aus dem „terminalen“ Arrestzustand zurück in den Zellzyklus und Reprogrammierung in eine Seneszenz-assoziierte Stammzell-Kompetenz (SAS) – geben ein dynamisches Bild günstiger und weniger günstiger Veränderungen im Therapieverlauf wieder, das nun systemmedizinisch in Verbindung mit den obigen Cluster-Subtypen für die Vorhersage Therapie-evozierter Effekte bei DLBCL-Patienten genutzt werden und ultimativ als Entscheidungshilfe für Outcome-verbessernde konsolidierende pro-seneszente oder senolytische Folgetherapien dienen soll.

Konkret streben wir an, die Bedeutung unserer globalen Gen-basierten (p53, CDKN2A, H3K9me3 [d.h. Suv39h1, LSD1, JMJD2C u.a.], Bcl2) und Eigenschaft-fokussierten (wie NF- κ B bzgl. eines pro-inflammatorischer SASP, Smad3 und LRP1 für parakrine Seneszenz sowie Wnt hinsichtlich SAS) Seneszenz-Signaturen in den individuellen DLBCL-Cluster-Subtypen C1-C5 systemmedizinisch zu analysieren, wobei wir hier durchaus erhebliche Unterschiede bzgl. der günstigen oder eher ungünstigen Rolle von TIS in den verschiedenen Subtypen erwarten. Mit Hilfe gezielter Signalweg-Perturbation von Schlüssel-Treibergenen werden wir die Grundlage für die mathematische Modellierung neuer P/SF-Cluster-Modelle auf Basis der statischen Ausgangsprofile und der dynamischen Seneszenz-Zustandswechsel unter Therapie schaffen. Die diesen P/SF-Clustern zugrunde liegenden Algorithmen und ihr unterstelltes prädiktives Potential werden wir extensiv experimentell in P/SF-Cluster-repräsentativen Lymphomproben *in vitro* (humane DLBCL-Zelllinien, primäre E μ -myc-transgene Lymphome) und *in vivo* (DLBCL PDX, E μ -myc-Lymphome) testen. Des Weiteren werden wir aus dem Modellierungsansatz gewichtete Gen-Signaturen ableiten, die in guter Annäherung vereinfacht die neu determinierten P/SF-Cluster beschreiben und somit durch Bestimmung der Expressionslevel eines überschaubaren Transkript-Panels mittels Nanostring®-Technologie als routiniert einsetzbares Diagnostikum für die P/SF-Cluster-Zuordnung zukünftiger DLBCL-Patienten dienen könnten. Eine ähnliche bzw. alternative Strategie wird zelluläre Proteine zur Auswahl eines Surrogat-Marker-Panels für eine ebenso vereinfachte P/SF-Cluster-Zuweisung Durchflussfluoreszenz-bildmikroskopisch in unserem ImageStream X®-Analyzer untersuchen. Sollte das SeneSys-Konsortium darüber hinaus ein Nanostring® Digital Spatial Profiling-System bewilligt bekommen, wäre die Expressionsbestimmung von Transkript- oder sogar Protein-Panels im Lymphomgewebe auf Einzelzell-Ebene *in situ* und damit als topographische Nachbarschaftsanalyse verschiedener Zelltypen in definierten Aktivitätszuständen

möglich. Beispielsweise könnte so eine vielleicht prognostisch entscheidende SAS-Reprogrammierung in bestimmten (bspw. hypoxischen) Arealen der Lymphom-Architektur gefunden werden, und zusätzliche Informationen über benachbarte Immunzellen mit positivem PD-L1/PD1-Signal darauf hinweisen, dass die immunologische Clearance dieser gefährlichen SAS+ Lymphomzellen eher nicht zu erwarten ist – Informationen, die in einer Tumor-„Bulk“-Analyse oder rein durchflusszytometrischen Einzelzell-Analyse ohne Gewebe-Kontext nicht erhältlich wären.

Die in WP1 definierten neuen P/SF-Cluster-Modelle sind natürlich hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung zu validieren; dies erfolgt sowohl in verschiedenen, uns zugänglichen R-CHOP-Standardtherapierten und klinisch ko-annotierten DLBCL-Datensätzen als auch „cross-species“ in den „Clinical Trial-like“ behandelten und molekular breit charakterisierten Lymphom-Proben der Eμ-myc-„PanOmics“-Mauskohorte. Diese Validierungen sollen die Grundlage zur Nutzung der P/SF-Cluster als Prädiktoren für neuen, Nicht-R-CHOP-basierte DLBCL-Therapien und neue Seneszenz-fokussierte sequenztherapeutische Ansätze (siehe im Folgenden) liefern.

WP2 – Funktionelle Interrogation zentraler onkogener und Seneszenz-bedingter Vulnerabilitäten in P/SF-Clustern zur Entwicklung Cluster-spezifischer Therapiestrategien

Mittels Computer-basierter Signalweg-Modelle und Maschinenlernen-unterstützter „Connectivity Map (CMAP)“-Analysen werden Kandidaten-Targets für pro-seneszente und senolytische Sequenztherapien (nach initialer, prinzipiell Seneszenz-induzierender Chemotherapie) ermittelt und an P/SF-Cluster-repräsentativen Lymphom-Proben *in vitro* und *in vivo* getestet.

Im WP2 geht es nun darum, die statisch-dynamische Information der P/SF-Cluster mit Hilfe Signalweg-zentrierter mathematischer Modellierungen, die prinzipiell bereits von uns (v.a. Partner JW) und anderen bspw. hinsichtlich p53-, NF-κB-, TGF-β- und Wnt-Signaling entwickelt wurden und hier weiter zu optimieren sind, auf spezifische Vulnerabilitäten zu prüfen, die zusammen mit der Cluster-immanenten Outcome-Prädiktion unter Standard-R-CHOP Seneszenz-fokussierte differentielle bzw. Ko-Therapie-Strategien ableiten sollen, um Cluster-spezifisch das Therapie-Versagensrisiko zu senken.

Jüngste Erkenntnisse legen nahe, dass biologische Zustandswechsel-Entscheidungen oft von interagierenden Signalwegen getragen werden und im Signal-Netzwerkkontext betrachtet werden müssen. Wir werden daher dynamische Modelle, speziell ODE (ordinary differential equation [gewöhnliche Differentialgleichung])-Systeme, der in WP1 identifizierten Cluster-relevanten Signalwege erstellen und analysieren. Diese werden wir um logische Modellierungsansätze erweitern, die uns erlauben, von kinetischen Detailinformationen abstrahierend auch größere Netzwerke zu integrieren und auf essentielle Signal-Routen zu fokussieren. Diese Computer-generierten Signalweg-Modelle werden wir nutzen, um den Effekt sowohl einzelner als auch multipler Mutationen und anderer Perturbationen, die wir als charakteristisch für distinkte State/Fate-Konditionen erfasst haben, vorherzusagen, die regulatorischen Eigenschaften der Systeme zu verstehen und zusätzliche Zielstrukturen für mögliche Interventionen zu identifizieren. Beispielsweise könnte eine prädominant von einem pro-inflammatorischen SASP getriebene Lymphombiologie durch die sequentielle Elimination residueller seneszenten Zellen i.S.e. Senolyse, konkret durch Absenkung der Bcl2-vermittelten Apoptose-Schwelle (bspw. mittels Venetoclax oder Navitoclax) oder über eine NF-κB-Signaling-antagonisierende Strategie (mittels diverser Kandidaten-Wirkstoffe), angegriffen werden, während eine Wnt-unterhaltene Tumorstammzell-Reprogrammierung (SAS) durch Wnt-Inhibitoren wie ICG-001 oder Salinomycin effektiv neutralisiert werden könnte. Umgekehrt böte ein nur schwach ausgeprägter Seneszenz-Response die Möglichkeit, mittels einer nicht-genotoxischen pro-seneszenten

Verstärker-Therapie, bspw. direkt auf Ebene der G1/S-Phase-Checkpoint-Kontrolle (bspw. mittels Palbociclib) oder des epigenetischen H3K9me3-Relais (bspw. mittels JMJD2C-Inhibitoren), die senescente Tumorkontrolle zu „boostern“. Diese und weitere Substanzen bedürfen selbstverständlich aufgrund ihrer komplexen Wirkcharakteristik und stets begrenzten Spezifität einer besonders sorgfältigen, Perturbations-basierten Signalweg-Modellierung. Um neue Wirkstoffe mit Cluster-selektiv optimal geeignetem und bisher unerkannten senolytischen Potential zu entdecken, werden wir eine sog. connectivity map (CMAP)-Datenbank durch kleine Moleküle („small compounds“) pharmakologisch oder genetisch so perturbieren, dass die entstehenden Veränderungen der Genexpressionsprofile (GEP) mit den Mauslymphom-abgeleiteten (und bereits humanisierten) Seneszenz-Signaturen in Bezug gesetzt werden können. CMAP steht für einen großen verfügbaren Datensatz, der über 1,5 Mio. GEPs von ca. 5,000 kleinen Molekülen und ca. 3,000 genetischen Reagenzien in verschiedenen Zelltypen enthält (<https://www.broadinstitute.org/connectivity-map-cmap>). Die Zielsetzung von WP2 ist die Ermittlung stringenter Kriterien, nach denen die meisten (wenn nicht alle) P/SF-Cluster-Modelle mit einer molekular definierten Therapie jenseits einer Standard-Chemotherapie verlinkt werden können. Es wird darum gehen, Ko-Targeting-Strategien vordringlich für solche P/SF-Cluster-Modelle zu identifizieren, die eine besonders ungünstige Prognose aufweisen, eine auch quantitativ relevante Subgruppe von DLBCL-Patienten repräsentieren und „druggable“, also pharmakologisch gut angreifbare Zielprinzipien aufweisen. Wir werden zunächst in dezidierten Validierungsanalysen für derartig ausgewählte Szenarien in diversen Testsystemen (Primärzellen und/oder Zelllinien *in vitro*, Eμ-myc-Lymphome und/oder DLBCL PDX *in vivo*) zeigen, dass die ermittelten sequentiellen Ko-Therapie-Ansätze Outcome selektiv in „ihrem“ Cluster effektiv, aber möglicherweise ohne Effekt in anderen Clustern sind (Abb. 1). Durch Einsatz sensitiver Bildgebungstechniken, die GFP- oder Luciferase-überexprimierende Lymphome in lebenden Tieren nachweisen können, sowie Lymphom-Verlaufsdagnostik mittels Re-Biopsie plus Serum-basierten „liquid biopsies“ werden wir dynamisch Tumorlast, Tumoheterogenität (also klonale Evolution), und Tumor-Zustandsformen (basierend auf p16^{INK4a}-, Ki67- und H3K9me3-Expression, SA-β-gal [Seneszenz-assoziierte β-Galaktosidase]-Aktivität und Liposfuszin-Gehalt) überwachen, um zu objektivieren, ob eine bestimmte Therapie-Sequenz in der Tat mehr Zellen mit robust „günstiger Seneszenz“ produzierte oder aber effektiv verbliebene SAS⁺ Hochrisiko-Seneszenz-Zellen zu eliminieren vermochte. Die kombinierte Information aus Cluster-Modell-Definition und Cluster-Modell-spezifischer präklinischer Effektivität einer ausgewählten Sequenz-Therapie kann direkt in die Planung einer zukünftigen klinischen Studie eingehen (WP3).

WP3 – Klinische Bedeutung der P/SF-Cluster-Modelle in unterschiedlich behandelten DLBCL-Patienten-Kohorten und Protokollabfassung für eine kleine „Demonstrator“-Studie

In diesem Demonstrator-Projekt für systemmedizinisch getriebene individualisierte Lymphomtherapie verfolgen wir zwei parallele Strategien (Abb. 1), um die präklinischen und mathematischen Modellierungs-Informationen schnellstmöglich in prüfbare klinische Fragestellungen (d.h. eine kleine frühe klinische Studie) und mittelfristig natürlich in die klinische Routine zu überführen. In Strategie-Ansatz A wird das Outcome von DLBCL-Patienten derselben P/SF-Cluster unter R-CHOP vs. unserer ImbruVerCHOP-Studie (und vs. der geplanten SPIRAL-Studie) verglichen. Wir überblicken große Kohorten molekular extensiv charakterisierten und klinisch ko-annotierten DLBCL-Patienten vor Exposition mit einer R-CHOP-basierten Standardtherapie, haben darüber hinaus Zugang zu Probenmaterial aus der laufenden „ImbruVerCHOP“-Studie (mit CAS als Leiter der Klinischen Prüfung)], in der DLBCL-Patienten mit der intensivierten B-Zell-Rezeptor/NF-κB-Signaling doppelt angreifenden Ibrutinib (Imbruvica®)-Bortezomib (Velcade®)-R-CHOP-Kombination behandelt werden, sowie ggf. einer noch in Planung befindlichen Kohorte der „SPIRAL“-Studie (Senolysis of Post-Induction Residual Aggressive

Lymphoma), in der die sequentielle Konsolidationstherapie mit einem Senolytikum nach R-CHOP-Induktion vorgesehen ist. Basierend auf den zeitlich aufgelösten Informationen zu verbliebener Tumormasse und Tumorstadium unter sequentiellen Therapien in präklinischen Modellen in WP1 werden wir hier Ausgangsmaterial zum Diagnosezeitpunkt, aber auch, wann immer verfügbar, Lymphom-Re-Biopsien und Liquid Biopsies unter Therapie aus den benannten DLBCL-Patienten-Kohorten molekularbiologisch untersuchen und so Cluster-Modell- und Therapie-spezifisches Outcome mit Effekten an residuellen Lymphomzellen (und ihrem Stroma-/Immunzell-Mikromilieu) in Bezug zu setzen. Um die Probenzahl und direkte Vergleichbarkeit derselben individuellen Lymphome (und Cluster-Repräsentanten) zu verstärken, werden wir sowohl P/SF-Cluster-zugewiesene DLBCL PDX-Proben als auch Eμ-myc-Lymphome aus der präklinischen PanOmics-Studienkohorte mit allen drei Behandlungsszenarien *in vivo* konfrontieren und hinsichtlich der Rate kompletter Remissionen sowie des Gesamtüberlebens vergleichend bewerten. Damit wird WP3 direkt prüfen, ob eine spezifische Modifikation des Dekaden-alten Standardregimes erfolgversprechende Signale liefert, in distinkten Cluster-Modell-DLBCL-Subgruppen Versagensrisiko zu reduzieren und das Langzeit-Outcome zu verbessern. Perspektivisch werden wir (vermutlich in Kollaboration mit weiteren Kollegen und wahrscheinlich auch anderen eMed-Konsortien) auch molekular und klinisch ko-annotierte Datensätze zusätzlicher Patientenkohorten von Nicht-Lymphom-Tumorentitäten bzgl. der prädiktiven Stärke dort zu determinierender P/SF-Cluster-analoger Modelle untersuchen.

Strategie B nutzt die zuvor erhobenen systemmedizinischen Lymphom-Befunde, um in einigen P/SF-Hochrisiko-Clustern die hierzu jeweils entsprechend präferierte konkrete Seneszenz-modulierende Strategie präklinisch „Trial-like“ zu prüfen und ultimativ (jenseits des aktuellen dreijährigen Förderhorizonts) deren Wirksamkeit auch in einer kleinen pilotierenden Phase I/II-Studie i.S.e. Investigator-initiated Trials (IIT) in einem oder wenigen ausgewählten P/SF-Hochrisiko-Clustern exemplarisch klinisch zu demonstrieren (explorative clinical trial [ECT]). Diese Therapie wird mutmaßlich in einer R-CHOP-konsolidierenden Weise als Einzelsubstanz oder Kombination zweier „Small Compounds“ über einen kurzen zusätzlichen Behandlungszeitraum der R-CHOP-Induktionstherapie angeschlossen. Das Studienprotokoll mit seiner umfangreichen Begleitdokumentation und eines konzisen, vermutlich Nanostring®-basierten, ggf. auch *in situ* ermittelbaren Transkript- und/oder Protein-Panels (siehe WP1 bzgl. Details) zur vereinfachten P/SF-Cluster-Zuordnung als Eingangsscreening für eligible Patienten wird während des dritten Förderjahres durch einen forschungserfahrenen und mit klinischen Studien vertrauten Kliniker mit dem Ziel ausgearbeitet, erste Patienten im Folgejahr (bei einer möglichen Extension des Projekts um ein viertes und fünftes Förderjahr) rekrutieren zu können.

Verbundübergreifende Meilensteinplanung

Eine detaillierte und Progress-Report-relevante Meilensteinplanung findet sich in jedem Teilprojekt-Antrag. Nachfolgend ist hier eine Rahmen-Meilensteinplanung dargestellt, die die Schlüsselleistungen und den zugrunde gelegten Zeitplan für das gesamte Vorhaben als kollaborative Gemeinschaftsaufgaben aufzeigen soll.

WP	SeneSys-weite Meilensteine (Sx.x)	Zeitplan (avisierter Start: 01.07.2019)											
		Jahr 1				Jahr 2				Jahr 3			
		Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
1	S1.1 Integrative Transkriptom-basierte Zusammenführung neuer DLBCL-Cluster (C1-C5) mit zahlreichen Varianten zellulärer Seneszenz-Modelle (CAS, BC, UL)												
	S1.2 Verbindung statischer Molekularprofile und dynamischer Seneszenz-fokussierter Zustandsbeschreibungen mit Perturbation von Treiber-Signalwegen durch mathematische Modellierung zur Definition neuer P/SF-Cluster-Modelle (JW, UL, CAS, SL/MM, BC)												
	S1.3 Experimentelle Validierung der neuen Cluster-Modelle und Prädiktion der Cluster-spezifischen Therapie-Sensitivität (CAS, SL/MM)												
	S1.4 Konversion der komplexen Cluster-Modelle zu vereinfachten, Nano-string*/ImageStream X*-fassbaren diagnostischen Transkript- und/oder Protein-Panels (BC, UL, JW)												
2	S2.1 <i>In silico</i> -Signalweg-Perturbation und mathematische Modellierung Cluster-Modell-spezifischer Therapieantworten (UL, JW)												
	S2.2 Identifikation neuer pharmakologischer Senolyse-Kandidaten mittels CMAP-basierten Maschinen-Lernens (BC)												
	S2.3 Prädiktion von Target-Prinzipien und Entwicklung sequentieller Therapie-Strategien für individuelle DLBCL-Cluster-Modelle (JW, CAS)												
	S2.4 Exploration neuer Therapie-Strategien in murinen und humanen Test-Systemen (<i>in vitro</i> und <i>in vivo</i>) (CAS, SL/MM, BC)												
3	S3.1 Evaluation Cluster-Modell-definierter Risikogruppen und ihr respektives Outcome unter differentiellen Ko-/Sequenz-Therapie-Strategien (JW, CAS, BC)												
	S3.2 Detaillierte Ausarbeitung (vorbereitende Experimente, Abfassung des Studienprotokolls und aller Begleitdokumente/-anträge) für eine klinische „Demonstrator“-Phase I/II-Pilotstudie (CAS, BC)												
	S3.3 Testung der prädiktiven Stärke von P/SF-like-Modellierungsalgorithmen in informationsdichten molekular/klinisch ko-annotierten Datensätzen von Nicht-Lymphom-Tumor-Patienten (CAS, UL, JW)												

5.2 Geplante Arbeiten im SP

Teilprojekt SP4 implementiert im SeneSys-Verbund ein einheitliches Management, Qualitätskontrollen, Sicherstellung der Vergleichbarkeit von Daten, und die Machine-Learning-basierte Analyse umfangreicher molekularer Datensätze von DLBCL-Patienten sowie aus humanen und murinen Lymphommodellen. Die Analyse verfolgt verschiedene Ziele, insbesondere (1) den Vergleich und die Charakterisierung verschiedener Signaturen, basierend auf unterschiedlichen Datentypen (insb. Mutationsprofile versus Expressions- / Proteomsignaturen), (2) die Prädiktion der Auswirkung molekularer Läsionen und ggf. therapeutischer Intervention auf die Projektrelevanten Endpunkte, sowie (3) die Anwendung und Entwicklung robuster Feature Selection Methoden zur Erstellung kompakter und biotechnisch verifizierbarer Signaturen für verschiedene Lymphomtypen bzw. zelluläre Zustände. Bei der Integration stehen eine Vielzahl im Konsortium vorhandener Datensätze zu DLBCL im Vordergrund, die mit öffentlich zugänglich weiteren Omics-Datensätzen und umfangreichen Annotationen kombiniert werden.

Diese Aufgaben werden in insgesamt acht Tasks bearbeitet. Diese werden im Folgenden näher beschrieben.

Task 4.1: Aufbau einer integrierten Datenbank zur Beschreibung der in den Verbund eingebrachten experimentellen Daten

- Aufbau einer integrierten Datenbasis auf Studien / Probenebene, in der die wichtigsten Metadaten erhoben, standardisiert, und einer Suche zugänglich gemacht werden (z.B. Tumorentität, Vorbehandlung, Spezies, etc.). Definition und Ausprägungen der Metadaten werden gemeinsam mit den Projektpartnern festgelegt. Die Datenbasis wird mit einem Framework wie SEEK implementiert werden, ein leichtgewichtiges Framework zur Datenintegration in systembiologischen und systemmedizinischen Projekten, zu dem in der Gruppe bereits umfangreiche Erfahrungen vorliegen. Initial adressierte Datensätze sind insbesondere (siehe auch SP03, Task 3.1) die DLBCL-Kohorte aus Göttingen, Pan-Omics Daten zu Mausmodellen des Schmitt / Lee Lab, und PDX bzw. Zelllinien aller experimenteller Projektpartner.
- Erweiterung der Datenbasis um Ergebnisse von Omics-Analysen auf den Proben, insb. Mutationsprofile und Expressionswerte auf Transkriptom, Proteom-, und Metabolomebene. Eine Integration von experimentellen Rohdaten ist nicht vorgesehen (siehe auch T4.3).
- Eine Speicherung medizinischer Daten ist aus Datenschutzgründen nicht vorgesehen; diese verbleiben bei den jeweiligen Kliniken.
- Die Datenbasis wird allen Projektpartnern über eine einfache Webschnittstelle mit Passwortschutz zugänglich gemacht. Diese Schnittstelle untersucht die Suche nach allen gespeicherten Metadaten. Die Möglichkeit zur webbasierten Datenanalyse ist nicht geplant.
- Dieser Task arbeitet mit allen anderen Arbeitspaketen des Verbunds zusammen.

Task 4.2: Verknüpfung der Verbunddatenbank mit einer integrierten Basis öffentlich zugänglicher Annotationen auf Gen- / und Variantenebene sowie der CMAP

- Die integrierte Datenbasis aus AP34.1 wird mit der in der Gruppe entwickelten Datenbank VIS verknüpft, die genomische Informationen zu allen Tumorentitäten aus 17 Quellen integriert. Die Verknüpfung erfolgt über den Import entsprechender IDs auf Ebene der zentralen molekularen Entitäten (Gene, Varianten, etc.). Damit ist lokal eine automatische integrierte Analyse und Selektion möglich.

- Die integrierte Datenbasis wird ausserdem mit der CMAP Datenbank (siehe SP3, Task 3.4) verknüpft. Die genaue Natur dieser Verknüpfung wurde noch nicht festgelegt.
- Dieser Task arbeitet insbesondere mit SP03 im Bereich der CMAP Daten zusammen.

Task 4.3: Festlegung von Datennormalisierungsverfahren zur Sicherstellung der bestmöglichen Vergleichbarkeit von Hochdurchsatzdaten aus verschiedenen Laboren und erhoben mit verschiedenen Technologien.

- Im Projekt wurden Omics-Daten mit verschiedenen Technologien und an verschiedenen Orten analysiert. Diese sind nicht unmittelbar statistisch vergleichbar. Daher werden in diesem Task projektweit einheitliche Standards (SOPs) definiert, in Absprache mit den Kooperationspartnern.
- Wir fokussieren auf die Vorverarbeitung zentraler Datentypen, insbesondere Affymetrics-Microarrays, RNA-Seq und Whole-Exome-Sequenzierung. Weitere Datentypen werden je nach Dringlichkeit hinzugenommen.
- SOPs für diese Datentypen haben unterschiedliche Natur. Bei Microarrays muss vor allem die Wertenormalisierung, Mapping der Proben auf Gene, und die Behandlung von negativ-Proben festgelegt werden. Bei den Sequenzierungstechniken müssen umfangreiche Pipelines festgelegt werden, die alle Schritte von der Qualitätskontrolle über das Genommapping bis zur Extraktion der relevanten Daten (Varianten bzw. Expressionsstärken) umfassen. Dabei müssen nicht immer alle Schritte bei jedem Partner identisch implementiert werden.
- Für die Fälle, in denen eine Re-Prozessierung nicht geboten erscheint oder nicht möglich ist (weil beispielsweise ein Zugriff auf Originaldaten nicht mehr möglich ist), werden robusteren Vergleichsverfahren (z.B. Rank-Statistiken) und Mindeststandards (z.B. Schranken für Filterschritte) festgelegt.
- Dieser Task arbeitet mit den experimentellen Gruppen der SP01, SP02 und SP03 zusammen.

Task 4.4: Implementierung und Evaluation von überwachten Lernverfahren zur Anwendung von Seneszenz-Signaturen auf den neuen DLBCL Clustern

- Gemeinsam mit SP3, Task 3.1 werden die bekannten Signaturen der neuen DLBCL-Cluster (C1-C5) mit zellulärer Seneszenz-Modelle zur Definition neuer, dynamischer P/SF-Cluster-Modelle zusammengeführt.
- Im ersten Schritt werden dazu auf den verschiedenen vorliegenden Seneszenz-Modellen Signaturen zur Charakterisierung der jeweiligen Zellzustände berechnet.
- Diese müssen in einem zweiten Schritt von den murinen Entitäten auf die humanen Entitäten der DLBCL Cluster übertragen werden, was eine orthologiebasierte Abbildung auf Genebene erforderlich macht. Ggf. ist auch eine Überprüfung der Lokation der Varianten der DLBCL Cluster im Mausgenom notwendig.
- Die Zusammenführung der Signaturen erfolgt durch die Anwendung der Seneszenz-Signaturen auf den DLBCL Clustern, mit dem Ziel, spezifische Clustercharakteristika und ggf. Subcluster zu identifizieren.
- Dafür werden sowohl unüberwachte (Co-Clustern) als auch überwachte Lernverfahren sowie traditionelle statistische Methoden eingesetzt. Zur überachten Analyse wird das Wissen um die Basis der Clusterung der DLBCL Daten als Hintergrundwissen bei der Berechnung der Signaturen in den Mausmodellen eingesetzt.
- Dieser Task arbeitet insbesondere mit SP01 und SP03 zusammen.

Task 4.5 Funktionelle Charakterisierung und Vergleich der Seneszenz-Signaturen mit den DLBCL Clustern

- Während im vorherigen Schritt der Vergleich der DLBCL Cluster mit den Seneszenz-Modellen nur auf Basis der experimentellen Übereinstimmungen durchgeführt wurde, wird in diesem Task eine funktionale (in-silico) Charakterisierung der beiden Gruppierungsmöglichkeiten sowie ihrer Verschmelzung vorgenommen.
- Dazu werden verschiedene funktionelle Charakteristika betrachtet, wie Enrichment von Pathways oder Konzepten der Gene-Ontologie oder Anreicherungen bestimmter Annotationen auf Gen- oder Variantenebene (siehe Task 4.2).
- Außerdem wird eine Analyse basierend auf den in SP5 erstellten Pathways vorgenommen, um eine Differenzierung der verschiedenen Modelle zu erreichen bzw. zu bestätigen.
- Die durch die Verschmelzung der beiden Signaturen entstehenden neuen Subgruppen werden mit medizinischen Daten (siehe dazu auch Task 4.1) korreliert, um charakteristische Phänotypen (z.B.: Überlebensdauer, Ansprechen auf Therapien etc.) zu finden.
- Ebenso werden die Signaturen auf Mausmodellen, insb. den PanOmics-Modellen, verifiziert. Hierzu ist eine Rückübersetzung der Signaturen vom humanen Genom ins Mausgenom notwendig.
- Dieser Task arbeitet insbesondere mit SP02, SP03 und SP05 zusammen.

Task 4.6 Machine-Learning-basierte Vereinfachung der Signaturen aus Task 4.4 zur Ableitung biotechnologisch einfach zu überprüfender Biomarker

- Die in Task 4.4 berechneten Signaturen werden durch die iterative Anwendung von Feature-Selection Verfahren sowie Filterung basierend auf molekularen Eigenschaften schrittweise modifiziert mit dem Ziel, eine biotechnisch möglichst einfach zu identifizierende Menge von molekularen Markern zu finden.
- Hierzu werden verschiedene Strategien erprobt und angewandt (z.B. Selektion basierend auf statistischen Tests oder auf Prädiktion, Subgruppen-basierte Selektion).
- Dazu ist der Rückgriff auf die Annotation der untersuchten Entitäten (siehe ATask 4.1) notwendig, um z.B.: relevante Genomabschnitte zu finden.
- Dieser Task arbeitet eng mit SP02 zusammen zur Überprüfung der Marker durch Nanostring / panel-basierte Diagnostik.

Task 4.7 Evaluation der gefundenen Signaturen in anderen Tumorentitäten

- Die in Task 4.4 und Task 4.6 bestimmten Signaturen sollen auch in anderen Tumorentitäten überprüft werden, bei deren Therapie Seneszenz eine tragende Rolle haben könnte.
- In Kooperation mit SP02 werden geeignete Tumorarten identifiziert. Wesentliches Kriterium ist das Vorliegen öffentlich verfügbarer umfangreicher Datensätze mindestens auf Exom und Transkriptomenebene (z.B. ICGC bzw. TCGA)
- Die ausgewählten Datensätze werden heruntergeladen und gemäß der SOPs (Task 4.3) präprozessiert.
- Validierung der gefundenen Signaturen und funktionelle (in-silico) Charakterisierung der Übereinstimmungen bzw. Abweichungen.
- Dieser Task arbeitet insbesondere mit SP02 zusammen.

Task 4.8 Analyse und simulierte Perturbation der Pathway-Modelle von JW

- Abbildung der Signaturen auf die Pathway-Modelle, die in SP05 erstellt werden, zur Identifikation der Angriffspunkte molekularer Läsionen bzw. gezielter Therapien.
- Übersetzung der Pathway-Modelle in lineare Modelle und Anwendung linearer (Regression, Lasso, Logistische Regression) und nicht-linearer (Deep-Learning) Verfahren zur Vorhersage des Outcomes von Eingriffen in den Pathway.
- Analyse der Parameter der Modelle zur Identifikation kritischer Pathway-Komponenten und Ableitung potentieller Angriffspunkte
- Dieser Task arbeitet insbesondere mit SP05 zusammen.

6 Verwertungsplan

6.1 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Unser systemmedizinischer Forschungsansatz ist von der Motivation getrieben, mit Hilfe innovativer dynamischer Response-Modellierung das molekularpathologische Erkrankungsverständnis so zu erweitern, dass daraus konzeptionell neue Therapie-Strategien entwickelt werden können. Wenn es gelingt, die sicherlich patentierbare Idee der statisch-dynamischen P/SF-Cluster-Modelle und ihrer zugrunde liegenden Algorithmen als neuartige Prognostikatoren (Zeithorizont: kurzfristig [1-5 Jahre]) zu etablieren, wäre nicht nur ein klinisch prospektiv zu validierender (Zeithorizont: mittelfristig [5-10 Jahre]), fundamental andersartiger Biomarker als wissenschaftlicher Mehrwert, sondern auch als prinzipiell wirtschaftlich verwertbares Diagnostikum im Zuge des Projektvorhabens geschaffen worden. Dies würde umso mehr gelten, wenn Cluster-Modell-spezifisch neue – pro-seneszente oder senolytische – Ko-/Sequenz-Therapie-Strategien mit ersten (prä)klinischen Wirksignalen abgeleitet werden könnten (Zeithorizont: kurz-mittelfristig für die pilotierende „Demonstrator“-Studie; mittelfristig für größere Folge-Studien), da dann aus Prognostikatoren klinisch noch wertvollere Prä-diktoren und als solche „Companion Diagnostics“ kommerzialisierbare Entscheidungshelfer (Zeithorizont: mittelfristig) für die Wahl einer individuell wirksamen oder womöglich wirksamsten Behandlung entstehen würden. Sollten wir hier zudem neue pro-seneszente oder senolytische Therapeutika identifizieren und diese gar zur klinischen Anwendungsreife führen, läge in unserer Wirkstoff-Weiterentwicklung ebenfalls ein erhebliches wissenschaftliches und wirtschaftliches Verwertungspotential (Zeithorizont: langfristig [> 10 Jahre]). Da die grundlegende systemmedizinisch geleitete Idee statisch-dynamischer Antizipation des Langzeit-Outcomes einerseits und der daran ansetzenden, spezifischen Therapieoptimierung andererseits mutmaßlich in analoger Ausarbeitung auch für andere Tumorentitäten relevant sein wird, stellt sich der mögliche wirtschaftliche Verwertungshorizont noch weitaus breiter dar (Zeithorizont: mittel-langfristig [> 5 Jahre]).

6.2 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Die wissenschaftlichen Erfolgsaussichten schätzen wir sehr gut ein, da die uns als Eingangsvoraussetzung zum Projektstart bereits vorliegenden über 50 murine und weit über 300 humane Lymphom-Datensätze eine ausgesprochen hohe Daten-Qualität und -Quantität aufweisen, alle erforderlichen Modellplattformen in unseren Händen über Jahre etabliert sind und dabei stetig optimiert werden, die Übersetzung von murinen Gensignaturen in homologe Human-Signaturen (und *vice versa*) im

Konsortium routiniert eingesetzt wird und alle Partner sich seit langem kennen und intensiv interdisziplinär miteinander kollaborieren. Alle methodischen Ansätze – ob Daten-analytisch, komplexe Modellsysteme (wie DLBCL PDX-Mäuse oder Eμ-myc-Lymphom-tragende Mäuse) betreffend oder auf die funktionelle Interrogation im Sinne der hier erforderlichen pharmakologischen und genetischen Interventionstechniken abzielend – dürfen prinzipiell als anspruchsvoll betrachtet werden, sind aber hinsichtlich der erforderlichen Expertise durch einschlägige Vorarbeiten in unserem Konsortium bestens unterlegt. Besondere technische Herausforderungen stellen sicher die akkuraten, möglichst robusten und gegeneinander gut abgegrenzten Definitionen der neuen statisch-dynamischen P/SF-Cluster-Modelle dar, die festzulegen uns sicher gelingen wird, aber vermutlich mit zunehmender Fallzahl und erfahrenerem Umgang mit solch innovativen Tools noch erheblich optimierbar sein werden. Wir können derzeit nicht vorhersagen, inwieweit es möglich sein wird, Cluster-Modelle tatsächlich alleine über Transkript- oder Protein-Panels vereinfacht zu beschreiben; während dies für einen zukünftigen Einsatz als Routine-Diagnostikum (Zeithorizont: mittelfristig [5-10 Jahre]) besonders hilfreich und wünschenswert wäre, ist daran nicht der Erfolg der eigentlichen Projekt-Zielsetzung gekoppelt. Trotz der großen Fallzahlen bereits Omics-analyasierter DLBCL-Patienten- und Eμ-myc-Maus-Lymphomproben ist vorstellbar, dass wir für nicht alle P/SF-Cluster-Modelle über statistisch hinreichend große Fallzahlen bzw. Lymphomproben verfügen; dies gilt insbesondere für PDX-Proben, die nur von einem Teil des primären DLBCL-Materials erfolgreich angelegt werden konnten oder können, und voraussichtlich Proben aus der ImbruVerCHOP-Studie, deren avisierte Gesamtzahl einzuschließender Patienten womöglich nicht in allen P/SF-Cluster-Modellen zu belastbaren Subgruppengrößen führt. Während wir kontinuierlich Probenmaterial von R-CHOP-like-behandelten Patienten zum Diagnosezeitpunkt und teilweise unter Therapie sowie von ImbruVerCHOP-Studienpatienten zu definierten Zeitpunkten vor und unter Therapie sammeln, ist derzeit noch nicht klar, ob die dritte skizzierte Patientenkohorte, die im Rahmen des SPIRAL-Protokolls senolytisch nach R-CHOP-Induktion konsolidiert werden soll (derzeit laufende Abstimmung mit Pharma-Sponsor), tatsächlich rechtzeitig für SeneSys zur Verfügung stehen wird. Allerdings können alle formulierten Projektziele auch ohne die SPIRAL-Kohorte erreicht werden.

6.3 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Wie zuvor ausführlich dargestellt, weist das Forschungsvorhaben auf diversen Ebenen großes wissenschaftliches Innovationspotential und umfangreiche wirtschaftliche Verwertungsperspektiven auf. Unter Verweis auf weitere, Nicht-Lymphom-Tumorentitäten wurde bereits beispielhaft aufgezeigt, wo Folgeprojekte anknüpfen könnten. Ebenso ist die Zielsetzung einer pilotierenden klinischen „Demonstrator“-Studie ab etwaigem Förderjahr 4 klar formuliert, die ihrerseits wiederum potentielle Folgeaktivitäten (wie eine umfangreichere Phase II oder III-Basketstudie auf Basis der verschiedenen P/SF-Cluster-Modelle) nach sich zöge. Besonders zukunftsfähiges wissenschaftliches Anschlusspotential läge auch in der deutlich dezidierten molekular-zellbiologischen Datenauflösung an Lymphom-Gewebe durch die Multiparameter-Transkript/Protein-*In situ*-Analytik in der separat in SP6 begründeten Nanostring®-Digital Spatial Profiling Plattform (NS-DSPP). Es ist vorhersehbar, dass bereits in naher Zukunft universitäre Referenz-Pathologie-Zentren entstehen werden, die gegenüber selbst großen Routine-Pathologien über einzigartige, alleinstellende Expertise in der Multiparameter-Gewebe-Diagnostik verfügen werden und damit als Konsultationseinheit für eine zunehmend zentralisiertere Diagnostik, wie sie ja auch unsere P/SF-Cluster-Modelle als mögliche Biomarker der Zukunft implizieren, fungieren werden. NS-DSPP birgt hier wissenschaftlich und technisch (da Formalin-

fixiertes und Paraffin-eingebettetes Material problemlos zur Untersuchung im NS-DSPP-System eingeschickt werden kann) eine klare wissenschaftliche Anschlussperspektive für hochauflösende 2D-Histo-Tumor/Immun-Status/Funktions-Analytik und eine entsprechende Verwertungsperspektive für die Entwicklung bis dato nicht gekannter ungleich komplexerer, aber womöglich weitaus aussagekräftigerer und für die zukünftige Realisierung wahrhaftig personalisierter Krebs-Präzisionsmedizin auch notwendiger Biomarker-Formate.

Referenzen

- Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., Ma, C., Lossos, I.S., Rosenwald, A., Boldrick, J.C., Sabet, H., Tran, T., Yu, X., et al. (2000). Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 403, 503-511.
- Ansell, S.M., Lesokhin, A.M., Borrello, I., Halwani, A., Scott, E.C., Gutierrez, M., Schuster, S.J., Millenson, M.M., Cattry, D., Freeman, G.J., et al. (2015). PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 372, 311-319.
- Bauer, C. R., Knecht, C., Fretter, C., Baum, B., Jendrossek, S., Ruhlemann, M., Heinsen, F. A., Umbach, N., Grimbacher, B., Franke, A., et al. (2017). "Interdisciplinary approach towards a systems medicine toolbox using the example of inflammatory diseases." *Brief Bioinform* 18(3): 479-487.
- Begay, V., Smink, J.J., Loddenkemper, C., Zimmermann, K., Rudolph, C., Scheller, M., Steinemann, D., Leser, U., Schlegelberger, B., Stein, H., et al. (2015). Deregulation of the endogenous C/EBPbeta LIP isoform predisposes to tumorigenesis. *J Mol Med (Berl)* 93, 39-49.
- Behar, M., Barken, D., Werner, S.L., and Hoffmann, A. (2013). The dynamics of signaling as a pharmacological target. *Cell* 155, 448-461.
- Benary, U., Kofahl, B., Hecht, A., and Wolf, J. (2013). Modeling Wnt/beta-Catenin Target Gene Expression in APC and Wnt Gradients Under Wild Type and Mutant Conditions. *Front Physiol* 4, 21.
- Braig, M., Lee, S., Loddenkemper, C., Rudolph, C., Peters, A.H., Schlegelberger, B., Stein, H., Dorken, B., Jenuwein, T., and Schmitt, C.A. (2005). Oncogene-induced senescence as an initial barrier in lymphoma development. *Nature* 436, 660-665.
- Canuel, V., Rance, B., Avillach, P., Degoulet, P. and Burgun, A. (2015). "Translational research platforms integrating clinical and omics data: a review of publicly available solutions." *Brief Bioinform* 16(2): 280-90.
- Cardoso, F., van't Veer, L.J., Bogaerts, J., Slaets, L., Viale, G., Delaloge, S., Pierga, J.Y., Brain, E., Causeret, S., DeLorenzi, M., et al. (2016). 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 375, 717-729.
- Caro, P., Kishan, A.U., Norberg, E., Stanley, I.A., Chapuy, B., Ficarro, S.B., Polak, K., Tondera, D., Gounarides, J., Yin, H., et al. (2012). Metabolic signatures uncover distinct targets in molecular subsets of diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 22, 547-560.
- Chapuy, B., McKeown, M.R., Lin, C.Y., Monti, S., Roemer, M.G., Qi, J., Rahl, P.B., Sun, H.H., Yeda, K.T., Doench, J.G., et al. (2013). Discovery and characterization of super-enhancer-associated dependencies in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 24, 777-790.
- Chapuy, B., Roemer, M.G., Stewart, C., Tan, Y., Abo, R.P., Zhang, L., Dunford, A.J., Meredith, D.M., Thorner, A.R., Jordanova, E.S., et al. (2016). Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood* 127, 869-881.
- Chapuy, B., Stewart, C., Dunford, A.J., Kim, J., Kamburov, A., Redd, R.A., Lawrence, M.S., Roemer, M.G.M., Li, A.J., Ziepert, M., et al. (2018). Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nature medicine* 24, 679-690.
- Chen, L., Monti, S., Juszczynski, P., Ouyang, J., Chapuy, B., Neuberg, D., Doench, J.G., Bogusz, A.M., Habermann, T.M., Dogan, A., et al. (2013). SYK inhibition modulates distinct PI3K/AKT- dependent survival pathways and cholesterol biosynthesis in diffuse large B cell lymphomas. *Cancer Cell* 23, 826-838.
- Childs, L.H., Mamlouk, S., Brandt, J., Sers, C., and Leser, U. (2016). SoFIA: a data integration framework for annotating high-throughput datasets. *Bioinformatics* 32, 2590-2597.
- Dabritz, J.H., Yu, Y., Milanovic, M., Schonlein, M., Rosenfeldt, M.T., Dorr, J.R., Kaufmann, A.M., Dorken, B., and Schmitt, C.A. (2016). CD20-Targeting Immunotherapy Promotes Cellular Senescence in B-Cell Lymphoma. *Mol Cancer Ther* 15, 1074-1081.
- Dorr, J.R., Yu, Y., Milanovic, M., Beuster, G., Zasada, C., Dabritz, J.H., Lisec, J., Lenze, D., Gerhardt, A., Schleicher, K., et al. (2013). Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy. *Nature*.
- Green, M.R., Monti, S., Rodig, S.J., Juszczynski, P., Currie, T., O'Donnell, E., Chapuy, B., Takeyama, K., Neuberg, D., Golub, T.R., et al. (2010). Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 116, 3268-3277.
- Habibi, M., Weber, L., Neves, M., Wiegandt, D.L., and Leser, U. (2017). Deep learning with word embeddings improves biomedical named entity recognition. *Bioinformatics* 33, i37-i48.

- Hartung, N., Benary, U., Wolf, J., and Kofahl, B. (2017). Paracrine and autocrine regulation of gene expression by Wnt-inhibitor Dickkopf in wild-type and mutant hepatocytes. *BMC Syst Biol* 11, 98.
- Haugstetter, A.M., Loddenkemper, C., Lenze, D., Grone, J., Standfuss, C., Petersen, I., Dorken, B., and Schmitt, C.A. (2010). Cellular senescence predicts treatment outcome in metastasised colorectal cancer. *Br J Cancer* 103, 505-509.
- He, S., and Sharpless, N.E. (2017). Senescence in Health and Disease. *Cell* 169, 1000-1011.
- Herranz, N., and Gil, J. (2018). Mechanisms and functions of cellular senescence. *J Clin Invest* 128, 1238-1246.
- Jargosch, M., Kroger, S., Gralinska, E., Klotz, U., Fang, Z., Chen, W., Leser, U., Selbig, J., Groth, D., and Baumgrass, R. (2016). Data integration for identification of important transcription factors of STAT6-mediated cell fate decisions. *Genet Mol Res* 15.
- Jing, H., Kase, J., Dorr, J.R., Milanovic, M., Lenze, D., Grau, M., Beuster, G., Ji, S., Reimann, M., Lenz, P., et al. (2011). Opposing roles of NF- κ B in anti-cancer treatment outcome unveiled by cross-species investigations. *Genes Dev*.
- Joosten, M., Seitz, V., Zimmermann, K., Sommerfeld, A., Berg, E., Lenze, D., Leser, U., Stein, H., and Hummel, M. (2013). Histone acetylation and DNA demethylation of T cells result in an anaplastic large cell lymphoma-like phenotype. *Haematologica* 98, 247-254.
- Klinghammer, K., Otto, R., Raguse, J.D., Albers, A.E., Tinhofer, I., Fichtner, I., Leser, U., Keilholz, U., and Hoffmann, J. (2017). Basal subtype is predictive for response to cetuximab treatment in patient-derived xenografts of squamous cell head and neck cancer. *International journal of cancer* 141, 1215-1221.
- Kofahl, B., and Wolf, J. (2010). Mathematical modelling of Wnt/beta-catenin signalling. *Biochem Soc Trans* 38, 1281-1285.
- Lee, S., and Schmitt, C.A. (2019). The dynamic nature of senescence in cancer. *Nat Cell Biol* 21, 94-101.
- Lenz, G., Wright, G., Dave, S.S., Xiao, W., Powell, J., Zhao, H., Xu, W., Tan, B., Goldschmidt, N., Iqbal, J., et al. (2008). Stromal Gene Signatures in Large-B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med* 359, 2313-2323.
- Lichtblau, Y., Zimmermann, K., Haldemann, B., Lenze, D., Hummel, M., and Leser, U. (2017). Comparative assessment of differential network analysis methods. *Brief Bioinform* 18, 837-850.
- Lohr, J.G., Stojanov, P., Lawrence, M.S., Auclair, D., Chapuy, B., Sougnez, C., Cruz-Gordillo, P., Knoechel, B., Asmann, Y.W., Slager, S.L., et al. (2012). Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 3879-3884.
- Lorenzin, F., Benary, U., Baluapuri, A., Walz, S., Jung, L.A., von Eyss, B., Kisker, C., Wolf, J., Eilers, M., and Wolf, E. (2016). Different promoter affinities account for specificity in MYC-dependent gene regulation. *Elife* 5.
- Mamlouk, S., Childs, L.H., Aust, D., Heim, D., Melching, F., Oliveira, C., Wolf, T., Durek, P., Schumacher, D., Blaker, H., et al. (2017). DNA copy number changes define spatial patterns of heterogeneity in colorectal cancer. *Nat Commun* 8, 14093.
- Milanovic, M., Fan, D.N.Y., Belenki, D., Dabritz, J.H.M., Zhao, Z., Yu, Y., Dorr, J.R., Dimitrova, L., Lenze, D., Monteiro Barbosa, I.A., et al. (2018a). Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness. *Nature* 553, 96-100.
- Milanovic, M., Yu, Y., and Schmitt, C.A. (2018b). The Senescence-Stemness Alliance - A Cancer-Hijacked Regeneration Principle. *Trends Cell Biol* 28, 1049-1061.
- Monti, S., Chapuy, B., Takeyama, K., Rodig, S.J., Hao, Y., Yeda, K.T., Ingulizian, H., Mermel, C., Currie, T., Dogan, A., et al. (2012). Integrative analysis reveals an outcome-associated and targetable pattern of p53 and cell cycle deregulation in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 22, 359-372.
- Mothes, J., Busse, D., Kofahl, B., and Wolf, J. (2015). Sources of dynamic variability in NF-kappaB signal transduction: a mechanistic model. *Bioessays* 37, 452-462.
- Murakawa, Y., Hinz, M., Mothes, J., Schuetz, A., Uhl, M., Wyler, E., Yasuda, T., Mastrobuoni, G., Friedel, C.C., Dolken, L., et al. (2015). RC3H1 post-transcriptionally regulates A20 mRNA and modulates the activity of the IKK/NF-kappaB pathway. *Nat Commun* 6, 7367.
- Nayak, L., Iwamoto, F.M., LaCasce, A., Mukundan, S., Roemer, M.G.M., Chapuy, B., Armand, P., Rodig, S.J., and Shipp, M.A. (2017). PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood* 129, 3071-3073.
- Nowakowski, G.S., Blum, K.A., Kahl, B.S., Friedberg, J.W., Baizer, L., Little, R.F., Maloney, D.G., Sehn, L.H., Williams, M.E., Wilson, W.H., et al. (2016). Beyond RCHOP: A Blueprint for Diffuse Large B Cell Lymphoma Research. *J Natl Cancer Inst* 108.
- Otto, R., Sers, C., and Leser, U. (2017). Robust in-silico identification of cancer cell lines based on next generation sequencing. *Oncotarget* 8, 34310-34320.
- Pastore, A., Jurinovic, V., Kridel, R., Hoster, E., Staiger, A.M., Szczepanowski, M., Pott, C., Kopp, N., Murakami, M., Horn, H., et al. (2015). Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *The Lancet Oncology* 16, 1111-1122.
- Reddy, A., Zhang, J., Davis, N.S., Moffitt, A.B., Love, C.L., Waldrop, A., Leppa, S., Pasanen, A., Meriranta, L., Karjalainen-Lindsberg, M.L., et al. (2017). Genetic and Functional Drivers of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cell* 171, 481-494 e415.
- Reimann, M., Lee, S., Loddenkemper, C., Dörr, J.R., Tabor, V., Aichele, P., Stein, H., Dörken, B., Jenuwein, T., and Schmitt, C.A. (2010). Tumor stroma-derived TGF- β limits Myc-driven lymphomagenesis via Suv39h1-dependent senescence. *Cancer Cell* 17, 262-272.

- Religio, A., Thomas, P., Medina-Perez, P., Reischl, S., Bervoets, S., Gloc, E., Riemer, P., Mang-Fatehi, S., Maier, B., Schafer, R., et al. (2014). Ras-mediated deregulation of the circadian clock in cancer. *PLoS Genet* 10, e1004338.
- Rosenwald, A., Wright, G., Chan, W.C., Connors, J.M., Campo, E., Fisher, R.I., Gascoyne, R.D., Muller-Hermelink, H.K., Smeland, E.B., Giltner, J.M., et al. (2002). The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 346, 1937-1947.
- Scheller, M., Schonheit, J., Zimmermann, K., Leser, U., Rosenbauer, F., and Leutz, A. (2013). Cross talk between Wnt/beta-catenin and Irf8 in leukemia progression and drug resistance. *J Exp Med* 210, 2239-2256.
- Scheufele, E., Aronson, D., Coopersmith, R., McDuffie, M. T., Kapoor, M., Uhrich, C. A., Avitabile, J. E., Liu, J., Housman, D. and B., P. M. (2014). "tranSMART: An Open Source Knowledge Management and High Content Data Analytics Platform". *AMIA Summits on Translational Science*.
- Schmidt, V., Baum, K., Lao, A., Rateitschak, K., Schmitz, Y., Teichmann, A., Wiesner, B., Petersen, C.M., Nykjaer, A., Wolf, J., et al. (2012). Quantitative modelling of amyloidogenic processing and its influence by SORLA in Alzheimer's disease. *Embo J* 31, 187-200.
- Schmitt, C.A., Fridman, J.S., Yang, M., Lee, S., Baranov, E., Hoffman, R.M., and Lowe, S.W. (2002). A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy. *Cell* 109, 335-346.
- Schmitz, R., Wright, G.W., Huang, D.W., Johnson, C.A., Phelan, J.D., Wang, J.Q., Roulland, S., Kasbekar, M., Young, R.M., Shaffer, A.L., et al. (2018). Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 378, 1396-1407.
- Schwanhauss, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J., Wolf, J., Chen, W., and Selbach, M. (2011). Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 473, 337-342.
- Schwanhauss, B., Wolf, J., Selbach, M., and Busse, D. (2013). Synthesis and degradation jointly determine the responsiveness of the cellular proteome. *Bioessays* 35, 597-601.
- Scott, D.W., Wright, G.W., Williams, P.M., Lih, C.J., Walsh, W., Jaffe, E.S., Rosenwald, A., Campo, E., Chan, W.C., Connors, J.M., et al. (2014). Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 123, 1214-1217.
- Sehn, L.H., Berry, B., Chhanabhai, M., Fitzgerald, C., Gill, K., Hoskins, P., Klasa, R., Savage, K.J., Shenkier, T., Sutherland, J., et al. (2007). The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 109, 1857-1861.
- Stoltmann, T., Zimmermann, K., Koschmieder, A. and Leser, U. (2013). "OmixAnalyzer: A Web-Based System for Management and Analysis of High-Throughput Omics Data Sets". *Int. Conf. on Data Integration for the Life Sciences*, Montreal, Canada.
- Sun, Yan V. and HU, Yi-Juan. Integrative analysis of multi-omics data for discovery and functional studies of complex human diseases. In: *Advances in genetics*. Academic Press, 2016. S. 147-190.
- Thomas, P., Durek, P., Solt, I., Klinger, B., Witzel, F., Schulthess, P., Mayer, Y., Tikk, D., Bluthgen, N., and Leser, U. (2015). Computer-assisted curation of a human regulatory core network from the biological literature. *Bioinformatics* 31, 1258-1266.
- Thomas, P., Rocktaschel, T., Hakenberg, J., Lichtblau, Y., and Leser, U. (2016). SETH detects and normalizes genetic variants in text. *Bioinformatics* 32, 2883-2885.
- Tian, X., Huang, B., Zhang, X.P., Lu, M., Liu, F., Onuchic, J.N., and Wang, W. (2017). Modeling the response of a tumor-suppressive network to mitogenic and oncogenic signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114, 5337-5342.
- Trescher, S., Munchmeyer, J., and Leser, U. (2017). Estimating genome-wide regulatory activity from multi-omics data sets using mathematical optimization. *BMC Syst Biol* 11, 41.
- Wagner, A.S., Politi, A.Z., Ast, A., Bravo-Rodriguez, K., Baum, K., Buntru, A., Strempel, N.U., Brusendorf, L., Hanig, C., Boeddrich, A., et al. (2018). Self-assembly of Mutant Huntingtin Exon-1 Fragments into Large Complex Fibrillar Structures Involves Nucleated Branching. *J Mol Biol* 430, 1725-1744.
- Wolstencroft, K., Owen, S., du Preez, F., Krebs, O., Mueller, W., Goble, C. and Snoep, J. L. (2011). "The SEEK: a platform for sharing data and models in systems biology." *Methods Enzymol* 500: 629-55.
- Yilmaz, Z.B., Kofahl, B., Beaudette, P., Baum, K., Ipenberg, I., Weih, F., Wolf, J., Dittmar, G., and Scheidereit, C. (2014). Quantitative dissection and modeling of the NF-kappaB p100-p105 module reveals interdependent precursor proteolysis. *Cell Rep* 9, 1756-1769.
- Yu, Y., Schleich, K., Yue, B., Ji, S., Lohneis, P., Kemper, K., Silvis, M.R., Qutob, N., van Rooijen, E., Werner-Klein, M., et al. (2018). Targeting the Senescence-Overriding Cooperative Activity of Structurally Unrelated H3K9 Demethylases in Melanoma. *Cancer Cell* 33, 322-336.
- Zimmermann, K., Jentsch, M., Rasche, A., Hummel, M., and Leser, U. (2015). Algorithms for differential splicing detection using exon arrays: a comparative assessment. *BMC Genomics* 16, 136.

Begründung Personalressourcen

Teilprojektes SP4

Verbundvorhaben SeneSys

Teilprojektleiter: Prof. Dr. Ulf Leser
Humboldt-Universität zu Berlin

Folgende Personalressourcen werden im Rahmen des Teilprojektes A beantragt:

1.) Postdoktorand (E13; 100%; 36 PM)

Der Postdoktorand übernimmt federführend alle Aufgaben der Arbeitsplanung. Dazu ist ein/e sehr erfahrender WissenschaftlerIn notwendig, da Kompetenzen in verschiedenen wissenschaftlichen Disziplinen vorliegen müssen sowie Erfahrung in interdisziplinären Forschungsverbünden speziell unter Einbeziehung klinischer Gruppen vorliegen müssen. Grundlegend sind sehr gute bioinformatische und statistische Kenntnisse, dazu eine Spezialisierung in Fragen der Omics-Analyse von onkologischen Daten. Idealerweise liegen schon Erfahrungen mit Lymphomen vor. Der Stelleninhaber muss die Analyse verschiedenster Omics-Daten kennen und nach Möglichkeit bereits erfolgreich angewandt haben. Da auch neue Verfahren entwickelt werden, ist sicherer Umgang mit einer geeigneten Programmiersprache (R, Python), Kenntnisse moderner Maschine-Learning-Verfahren sowie praktische Erfahrung mit domänenspezifischen Bibliotheken (Bioconductor, PyTorch, scikitLearn) notwendig. Es muss darüber hinaus Erfahrung in der Kommunikation über Fachgrenzen hinweg vorliegen, insb. zu MedizinerIn. Der Stelleninhaber muss darüber hinaus fähig sein, seine Erkenntnisse vor einem nicht-bioinformatischen Publikum wirksam darzustellen, was eine sichere Einordnung aller Ergebnisse in ein (prä-)klinisches Setting erfordert. Die Informationen, die zur Bearbeitung des Teilprojektes notwendig sind, liegen außerdem in einer Vielzahl von Datenbanken vor, deren Integration, strukturelle Transformation, und statische Vorverarbeitung sicher beherrscht werden müssen.

Daher erwarten wir mindestens (jeweils nach Abschluss der Promotion) zwei Jahre Berufungsverfahren im Design, Entwicklung und Pflege biomedizinischer Informationssysteme, insb. in Bezug auf Aspekte der Datenintegration (siehe Tasks T4.1-T4.3), sowie mindestens zwei Jahre Erfahrung in der biostatistischen Auswertung von onkologischen Omics-Daten über Speziesgrenzen hinweg (siehe Tasks T4.4-T4.8). Ebenso sind solide Kenntnisse und praktische Erfahrung in modernen Methoden des Maschine Learning notwendig (siehe Tasks T4.8).

Wir planen daher mit einem PostDoc im fünften Jahr nach der Promotion. Entsprechend kalkulieren wir für die ersten zwei Jahre mit Erfahrungsstufe drei und für das dritte Projektjahr mit Erfahrungsstufe 4.

2.) Studentische Hilfskraft (41h/Monat; 36 Monate)

Die studentische Hilfskraft unterstützt das Projekt bei der Transformation projekteigener und öffentlicher Datensätze zur Integration in die Verbundplattform. Es ist auch geplant, dass die technische Pflege dieses Systems nach einer Einarbeitungszeit durch diese Hilfskraft selbständig erfolgen kann, so dass sich der/die PostDoc auf die inhaltliche Weiterentwicklung (neue Datensätze, Anpassung von Normalisierungs-SOPs etc.) konzentrieren kann.

Begründung Reisekostenbedarf

Teilprojektes SP4

Verbundvorhaben SeneSys

Teilprojektleiter: Prof. Dr. Ulf Leser
Humboldt-Universität zu Berlin

Im Rahmen des Teilprojektes SP04 werden für folgenden Zweck Reisemittel beantragt:

- 1.) eMed -Statusmeetings
- 2.) Inländische Konferenzteilnahmen
- 3.) Ausländische Konferenzteilnahmen

Zu 1.) eMed-Statusmeetings

Im Rahmen der eMed-Maßnahme sind jährliche Statusmeetings geplant. Für die Teilnahme des Projektleiters an diesen Veranstaltungen werden folgende Reisemittel beantragt:

• 2019: Statusmeeting (2 Pers.)	Bonn	600€
• 2020: Statusmeeting (2 Pers.)	N.N. (Deutschland)	600€
• 2021: Statusmeeting (2 Pers.)	N.N. (Deutschland)	600€
• 2022: Statusmeeting (1 Pers.)	N.N. (Deutschland)	300€
Gesamt:		2.100€

Zu 2.) Inländische Konferenzteilnahmen

Im Rahmen des Teilprojektes ist die Teilnahme an einer nationalen Konferenz geplant um dort Projektergebnisse vorzustellen, diese mit anderen Forschern zu diskutieren und potentielle wissenschaftliche Kooperationen vorzubereiten. Hierfür werden folgende Reisemittel beantragt:

• 2019: German Conference on Bioinformatics (3 Tage, 1Pers)	Heidelberg	500€
• 2020: German Conference on Bioinformatics (3 Tage, 1Pers)	NN (Deutschland)	500€
• 2021: German Conference on Bioinformatics (3 Tage, 1Pers)	NN (Deutschland)	500€
Gesamt:		1.500€

Zu 3.) Ausländische Konferenzteilnahmen

Im Rahmen des Teilprojektes st die Teilnahme an einer internationalen Konferenz geplant um dort Projektergebnisse vorzustellen, diese mit anderen Forschern zu diskutieren und potentielle wissenschaftliche Kooperationen vorzubereiten. Hierfür werden folgende Reisemittel beantragt:

• 2021: International Conference on Int. Systems for Mol Bio (5 Tage, 1Pers)	N.N. (europ. Ausland)	2.270€ (*)
Gesamt:		2.270€

(*) Kalkulation: Registrierung ~1000.- Euro; Flug ~600.-; 4 Nächte a ~130.-; 5 Tagegelder a ~30.-

Balken- und Meilensteinplanung

Teilprojekt SP4

Verbundvorhaben SeneSys

Teilprojektleiter: Prof. Dr. Ulf Leser
Humboldt-Universität zu Berlin

Balkenplanung

Task	Meilensteine	Zeitplan											
		Jahr 1				Jahr 2				Jahr 3			
		Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
T4.1	Integrierte Datenbank												
T4.2	Verknüpfung mit Annotationsdatenbank												
T4.3	SOPs für Datenpräprozessierung												
T4.4	Ableitung und Verfeinerung DLBCL / Seneszenz-Signaturen												
T4.5	Charakterisierung kombinierter Signaturen												
T4.6	Feature Selection zur Biomarkerdetektion												
T4.7	Übertragung auf andere Tumorentitäten												
T4.8	Prädiktion basierend auf Pathway-Modellen												

Meilensteinplanung

Meilenstein	Zugehörige übergeordneter Meilensteine	Erreicht in Monat	Schließt ab	Beschreibung
M4.1	S1.1, S1.2, S2.1	12	T4.1, T4.2, T4.3	Integrierte Datenbank abgeschlossen; Metadaten und Ergebnisfiles aller eingeschlossenen Studien / Sample sind erfasst und einheitlich beschrieben; Sample sind mit Gene/Variantenannotationen verbunden. SOPs zur Datenpräprozessierung sind verabschiedet.
M4.2	S1.2	6	T4.4	Erste Version kombinierter DLBCL-Cluster / Seneszenz – Signaturen.
M4.3	S1.2, S1.3, S2.1	18	T4.5	Final Fassung kombinierter DLBCL-Cluster / Seneszenz – Signaturen unter Einbeziehung der Ergebnisse aus S1.3 und S2.1
M4.4	S1.4	24	T4.6	Markerwahl für Nanostring / Panel-basierte Diagnostik abgeschlossen.
M4.5	S3.3	36	T4.7	Auswahl geeigneter Tumorentitäten zur Verifikation abgeschlossen und entsprechende Daten wurden selektiert und prozessiert. Anwendung der neuen Signaturen abgeschlossen und Ergebnisse sind in-silico charakterisiert.
M4.6	S2.1	24	T4.8	Übersetzung Pathway-Modelle in lineare/nicht-lineare Modelle zum überwachten Lernen abgeschlossen. Identifikation und Charakterisierung kritischer Komponenten abgeschlossen.