

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel e:Med-Juniorverbund MelBrainSys-Teilprojekt B.1: Integrative Multi-Omics-Daten-Analyse und modellbasierte Therapieprädiktion für Melanom-Hirnetastasen	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] PD Dr. Seifert, Michael	5. Abschlussdatum des Vorhabens Juli 2025
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Technische Universität Dresden Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus Institut für Medizinische Informatik und Biometrie (IMB) Fetscherstraße 74 01307 Dresden	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 01ZX1913B
	11. Seitenzahl 2+22
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen 1
	15. Abbildungen 1
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Im Teilprojekt B.1 des e:Med-Juniorverbundes MelBrainSys wurden innovative bioinformatische und systemmedizinische Methoden entwickelt, um die Analyse der Multi-Omics-Daten unserer einzigartigen Melanommetastasenkohorte zu realisieren. Erstmals konnte durch den Einsatz von Hidden-Markov-Modellen eine vollständig personalisierte Analyse von DNA-Methylierungs- und Genexpressionsdaten von patientenspezifischen Melanommetastasepaaren (Hirn- vs. Nichthirn) umgesetzt werden. Die Analyse der veränderten Gene mit Hilfe des Netzwerkansatzes hat es darüber hinaus ermöglicht, Kandidatengene zu ermitteln, die vermutlich ursächlich zur Metastasenbildung beitragen. Gemeinsam mit den gefundenen veränderten Signalwegen haben diese Gene eine wichtige Grundlage für die Experimente der experimentell arbeitenden Teilprojekte (B.2-4) gelegt, um Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnetastasen besser zu verstehen. Die von uns gefundenen Kandidatengene und Signalwege können eine gute Grundlage für die zukünftige Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren und Therapien sein. Somit wurde durch unser Teilprojekt ein wichtiger Beitrag zur Integration von systemmedizinischen Verfahren in die klinische Forschung an Melanomen geleistet.	
19. Schlagwörter Melanommetastasen, Bioinformatik, Systemmedizin	
20. Verlag	21. Preis

Schlussbericht

„e:Med-Juniorverbund - MelBrainSys: Modell-basierte Vorhersage und experimentelle Validierung neuer therapeutischer Interventionen für Melanom-Hirnmetastasen“

MelBrainSys-Teilprojekt B.1: Integrative Multi-Omics-Daten-Analyse und modellbasierte Therapieprädiktion für Melanom-Hirnmetastasen

Förderkennzeichen:

01ZX1913B

Förderzeitraum:

01.12.2019 bis 31.07.2025

Zuwendungsempfänger:

Technische Universität Dresden

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

I. Kurzbericht

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung

Das Hauptziel des MelBrainSys-Teilprojekts B.1 war die Analyse der gemessenen Multi-Omics-Daten unserer einzigartigen Melanometastasenkohorte mit Hilfe von innovativen bioinformatischen und systemmedizinischen Methoden. Dabei sollten Gene und Signalwege identifiziert werden, die Hirn- von Nichthirnmetastasen unterscheiden. Diese Veränderungen sollten die grundlegende Ausgangsbasis für Validierungsexperimente durch die experimentell arbeitenden Teilprojektpartner legen. Um rechnergestützt molekulare Veränderungen zu bestimmen, sollten Hidden- Markov-Modelle für die personalisierte Omics-Datenanalyse der einzelnen Metastasenpaare entwickelt und ein netzwerkbasierter Ansatz für die Analyse von Transkriptomen etabliert werden. Darüber hinaus sollte versucht werden, mittels validierter molekularer Marker und phänotypischer Charakteristiken von behandelten Melanomzellen, einen modellbasierten Algorithmus für die Prädiktion der potentiellen Wirksamkeit von therapeutischen Interventionen für individuelle Hirnmetastasen zu entwickeln. Erkenntnisse daraus sollten von uns auf Basis einer rechnergestützten retrospektiven Analyse an unabhängigen Proben überprüft werden und durch die experimentell arbeitenden Teilprojektpartner in Zellkulturen und einem Mausmodellsystem analysiert werden.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Hirnmetastasen waren und sind die häufigste Todesursache von Melanopatienten. Im Gegensatz dazu lassen sich Nichthirnmetastasen heutzutage meist sehr gut behandeln. Tiefere Erkenntnisse über molekulare Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen von Melanopatienten lagen zum Projektstart noch nicht vor. Bisher wurden solche Unterschiede zumeist durch den Vergleich von Proben von verschiedenen Patienten ermittelt. Dies ermöglichte aber nur einen recht groben und stark limitierenden Einblick, weil die patientenspezifische evolutionäre Entwicklung der Metastasen dabei nicht berücksichtigt wurde. Nur der paarweise Vergleich von Proben eines Patienten erlaubt genaue Rückschlüsse auf molekulare Veränderungen, die zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen vorliegen. Daher wurde im Rahmen von MelBrainSys auf eine Kohorte zurückgegriffen, die nur Patienten enthielt, die im Laufe ihrer Erkrankung sowohl von einer Hirn- und als auch einer Nichthirnmetastase betroffen waren. Für diese Metastasepärchen standen zu Beginn des Projekts bereits erste Transkriptom- und Methylommessungen zur Verfügung. Dieser Datensatz bildete einen hervorragenden Ausgangspunkt, um die angestrebten bioinformatischen und systemmedizinischen Methoden zu entwickeln und mit Hilfe dieser Methoden, zielgerichtet molekulare Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen zu identifizieren.

3. Ablauf des Vorhabens

Das Forschungsvorhaben erfolgte in enger Zusammenarbeit mit den anderen Teilprojektleiterinnen des MelBrainSys-Juniorverbunds und unterlag corona- und elternzeitbedingten Anpassungen. Auf Basis der zum Projektstart vorliegenden Transkriptom- und Methylommessungen der Melanometastasepärchen wurde ein Hidden- Markov-Modell-Ansatz entwickelt, der die personalisierte Analyse einzelner patientenspezifischer Metastasenpaare erlaubte. Mit Hilfe dieses Ansatzes konnten zielgerichtet Genexpressions- und DNA-Methylierungsveränderung prädiziert werden, die Hirn- von Nichthirnmetastasen unterscheiden. Auf Basis der betroffenen Gene, konnten zudem auch krebsrelevante Signalwege identifiziert werden, die in Hirnmetastasen verändert waren. Darüber hinaus haben sich starke Hinweise auf eine spezifische Anpassung von Melanometastasen an das Mikromilieu des Gehirns ergeben. Die ermittelten veränderten Gene wurden anschließend

zielgerichtet mit Hilfe des Netzwerkansatzes untersucht, um deren potenzielle Wirkung auf andere Gene und Signalwege zu ermitteln. Alle veränderten Gene und Signalwege wurden mittels intensiver Literaturrecherchen untersucht und an die anderen Teilprojekte als Basis für Validierungsexperimente übergeben. Weiterhin konnten wir Assoziationen von einigen dieser Gene mit dem Überleben von Melanompatienten nachweisen und deren Expressionsverhalten in öffentlich verfügbaren Melanomeinzelzelldaten untersuchen. Unser Teilprojekt konnte somit einen wichtigen und essentiellen Beitrag für den Gesamterfolg von MelBrainSys legen.

4. Wesentliche Ergebnisse und Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Im Rahmen des Teilprojektes B.1 wurde eine umfassende bioinformatische Analyse der Omics-Daten der Melanommetastasen durchgeführt. Erstmals konnte durch den Einsatz von Hidden-Markov-Modellen eine vollständig personalisierte Analyse von DNA-Methylierungs- und Genexpressionsdaten von patientenspezifischen Hirn- vs. Nichthirnmetastasepaaren umgesetzt werden. Die Analyse der veränderten Gene mit Hilfe des Netzwerkansatzes hat es darüber hinaus ermöglicht, Kandidatengene zu ermitteln, die vermutlich ursächlich zur Metastasenbildung beitragen. Gemeinsam mit den gefundenen veränderten Signalwegen haben diese Gene eine wichtige Grundlage für die Experimente der anderen Teilprojekte gelegt, um Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen besser zu verstehen. Die von uns entwickelten Methoden und Datenanalysen wurden in Form von Poster und Vorträgen auf einer Vielzahl von Konferenzen vorgestellt und im Laufe des Projektes in fünf Fachpublikationen veröffentlicht (Teilprojektmitarbeiter fett):

- **D. Westphal, ..., K. Grützmann, ..., M. Seifert:** Identification of Epigenetically Regulated Genes Distinguishing Intracranial From Extracranial Metastases, *Journal of Investigative Dermatology*, 2023, 143(7), 1233 – 1245.e17.
- **T. Kraft, K. Grützmann, ..., M. Seifert:** Patient-specific identification of genome-wide DNA-methylation differences between intracranial and extracranial melanoma metastases, *Scientific Reports*, 2023, 13, 444.
- **K. Grützmann, T. Kraft, ..., M. Seifert:** Network-based analysis of heterogeneous patient-matched brain and extracranial melanoma metastasis pairs reveals three homogeneous subgroups, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2024, 23, 1036 – 1050.
- **T. Kraft, K. Grützmann, ..., M. Seifert:** Personalized identification and characterization of genome-wide gene expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs, *Acta Neuropathologica Communications*, 2024, 12:67.
- **K. Grützmann, M. Seifert:** Single-cell transcriptome analysis suggests cells of the tumor microenvironment as a major discriminator between brain and extracranial melanoma metastases, *Biology Direct*, 2025, 20, 97.

Darüber hinaus hat der Teilprojektleiter seine Habilitation abgeschlossen, die Doktorandin ihre Doktorarbeit im November 2025 erfolgreich verteidigt und das BMG im Dezember 2025 ein Nachfolgeprojekt genehmigt (STAR-MBM, FKZ: 2526FSB005).

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse im Einzelnen mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Der wesentliche Teil der Zuwendung wurde für Personalausgaben und die Beschaffung eines leistungsstarken Compute-Servers verwendet. Diese Ausgaben spiegeln sich in den erzielten Ergebnissen der drei bearbeiteten Arbeitspakete wider. Die Ausgaben für die Projektmitarbeiter und den Teilprojektleiter waren für die durchzuführende bioinformatische Methodenentwicklung und die damit verbundenen systemmedizinischen Omics-Datenanalyse der Melanommetastasen notwendig. Ohne den für das Projekt beschafften Compute-Server wären diese Analysen nicht möglich gewesen. Die entstandenen Reisekosten resultieren aus der Teilnahme an wissenschaftlichen Fachtagungen, welche als Plattformen für die Präsentation der projektspezifischen Forschungsergebnisse und den allgemeinen fachlichen Austausch genutzt wurden.

Nähere Erläuterungen zu den zugehörigen Positionen des Gesamtfinanzierungsplans sind unter Punkt 2 „Darstellung der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises“ dargelegt.

Die nachfolgenden Abschnitte beinhalten die Darstellung der Ergebnisse der drei Arbeitspakete. Für jedes dieser Arbeitspakete erfolgt zunächst eine Darstellung der gesetzten Ziele, danach werden der definierten Aufgabenstellung die erzielten Ergebnisse gegenübergestellt und anschließend kritisch gewürdigt.

Arbeitspaket B.1.WP1: Multi-Omics-Analyse von Melanommetastasen

Zielstellung:

Das Hauptziel des Arbeitspaketes war die Entwicklung und darauf aufbauende Anwendung von Methoden und Datenanalysepipelines für die integrative Analyse von molekularen Hochdurchsatzdaten von Melanommetastasen. Dabei sollten hauptsächlich DNA-Methylierungs- und Genexpressionsmessungen analysiert werden, aber auch die Analyse von Immunmarkerdaten unterstützt werden. Für die Analyse der Methylom- und Transkriptomdaten war die Entwicklung eines Hidden-Markov-Modell-Ansatzes geplant, welcher eine vollständige personalisierte Analyse von patientenspezifischen Metastasenpaaren erlaubt. Für die Entwicklung und Anwendung des Hidden-Markov-Modells (HMM) existierte bereits zum Projektstart eine sehr gute Datengrundlage. Diese Datenbasis sollte durch die experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen im Laufe des Projekts erweitert und vervollständigt werden. Insgesamt sollten so molekulare Messungen von bis zu 20 patientenspezifischen Melanommetastasenpaaren verfügbar sein, um mittels des

HMM-Ansatzes molekulare Marker (z. B. Drivergenkandidaten, Signalwege) zu identifizieren, die intrakraniale von extrakraniellen Melanometastasen unterscheiden. Die gefundenen Gene sollten umfassend auf Basis einer Fachliteraturanalyse charakterisiert werden und so einen wichtigen Ausgangspunkt für die experimentelle Validierung durch die anderen Teilprojektleiterinnen legen.

Ergebnisse:

Insgesamt konnten DNA-Methylierungsdaten von 37 Melanometastasen von 14 Patienten erfolgreich analysiert werden. Mittels einer initial durchgeführten hierarchischen Clusteranalyse wurde die Erkenntnis gewonnen, dass Metastasen eines spezifischen Patienten untereinander sehr viel ähnlicher zueinander sind als zu Metastasen anderer Patienten. Dies wurde bei der Auswahl und Entwicklung einer geeigneten Methode zur Realisierung einer patientenspezifischen Analyse der DNA-Methylierungsprofile berücksichtigt. Daher wurde von uns ein Hidden-Markov-Modell-Ansatz für die patientenspezifische Analyse der DNA-Methylierungsprofile entwickelt. Der HMM-Ansatz ermöglicht einen direkten Vergleich der DNA-Methylierungsveränderungen einer intrakraniellen und einer extrakraniellen Metastase eines Patienten auf Basis von chromosomspezifischen Log-Ratio-Profilen. Für das Training eines biologisch motivierten HMM mit drei Zuständen konnte gezeigt werden, dass die Integration von biologisch relevantem Vorwissen (Interpretation des Log-Ratios eines CpGs) zu einer deutlichen Qualitätssteigerung bei der Prädiktion der DNA-Methylierungszustände führt. Unter Einsatz des projekteigenen Compute-Servers konnte der Parameterraum der potenziellen HMMs systematisch abgesucht werden, um gezielt einen HMM-Parametersatz zu bestimmen, welcher die präzise Zuordnung jedes CpGs im genomweiten DNA-Methylierungsprofilen zu einem der drei HMM-Zustände (verringerte, erhöhte oder ähnliche Methylierung in Hirn- und Nichthirnmetastase) erlaubt. Mit Hilfe des dadurch ermittelten HMM konnten biologisch plausible Prädiktionen der DNA-Methylierungszustände der einzelnen CpGs in den genomischen Regionen für individuelle Patienten vorgenommen werden.

Das entwickelte HMM und die zugehörige Analyse der DNA-Methylierungsprofile wurden in einem Fachartikel in Scientific Reports publiziert (Kraft *et al.* (2023)). Der HMM-Ansatz wurde dabei gezielt eingesetzt, um Unterschiede zwischen den DNA-Methylierungsprofilen der intrakraniellen und der zugehörigen extrakraniellen Metastase einzelner Patienten zu ermitteln. Dabei hat sich für die meisten Patienten eine globale Demethylierung in der intrakraniellen Metastase im Vergleich zur zugehörigen extrakraniellen Metastase gezeigt. Jedes Metastasenpaar wies darüber hinaus auch spezifische Veränderungen von Genen im Bereich der zugehörigen Promotorregionen auf. Weiterhin zeigten viele Gene auch deutliche DNA-Methylierungsveränderungen verteilt über die gesamte Genstruktur (Gene Body). Mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Genexpressionsdaten wurden diese Erkenntnisse genutzt, um Einflüsse von DNA-Methylierungsveränderungen auf die Expression der betroffenen Gene zu untersuchen. Dabei hat sich gezeigt, dass sich Kandidatengene

mit differentieller DNA-Methylierung im Gene Body auch signifikant in ihrer Expression zwischen intrakranialen und extrakranialen Metastasen unterscheiden.

In einer weiteren Fachpublikation, die 2023 gemeinsam mit der Projektleiterin des Teilprojektes B.2 im Fachjournal *Journal of Investigative Dermatology* publiziert wurde, haben wir zusätzlich den Zusammenhang zwischen Promotormethylierungs- und Genexpressionsveränderungen mittels eines Gruppenvergleichs der intra- und extrakranialen Melanommetastasen untersucht (Westphal *et al.* (2023)). Dabei wurden mit Hilfe der von uns entwickelten bioinformatischen Datenanalysestrategien 38 diskriminative Kandidatengene identifiziert, deren Promotormethylierung einen signifikanten Einfluss auf die Expression der zugehörigen Gene hatte und dadurch eine gute Unterscheidung zwischen intra- und extrakranialen Metastasen erlaubt hat. Mittels Signalweg- und Literaturrecherchen wurden elf vielversprechende Gene gemeinsam mit den experimentell arbeitenden Partnern ermittelt und von diesen umfassend validiert. Dabei wurden deutliche Hinweise auf eine spezifische Anpassung der intrakranialen Metastasen an das Mikromilieu des Gehirns gefunden, die insbesondere im Zusammenhang mit der Veränderung des Zusammenspiels von *PRKCZ* und *GBR10* stehen könnten.

Zur Untersuchung der Transkriptomebene standen Genexpressionsprofile von 37 Melanommetastasen von insgesamt 16 Patienten zur Verfügung. Für jeden Patienten standen Expressionsdaten für mindestens ein Metastasenpaar bestehend aus einer intrakranialen und einer zugehörigen extrakranialen Melanommetastase zur Verfügung. In Übereinstimmung mit den Erkenntnissen aus der Analyse der DNA-Methylierungsdaten konnten wir auch für die Genexpressionsdaten wieder nachweisen, dass die Metastasen eines spezifischen Patienten untereinander sehr viel ähnlicher zueinander sind als die Metastasen im gleichen Gewebe von anderen Patienten. Um diese Erkenntnis für die Datenanalyse der zu berücksichtigen, wurde, ähnlich zur vorherigen Analyse der DNA-Methylierungsdaten, ein HMM für die patientenspezifische Analyse der Genexpressionsprofile von Metastasenpaaren entwickelt. Dabei wurde zunächst ein Genexpressionsdatensatz erstellt, der für jedes Gen die Expressionsdifferenz zwischen der intrakranialen und der zugehörigen extrakranialen Metastase quantifiziert. Diese Daten wurden dann zum Lernen eines HMM genutzt, um das Expressionsverhalten jedes Gens einem der drei folgenden Zustände zuzuordnen: erhöhte intrakraniale Expression ($\log\text{-Ratio} \gg 0$), unveränderte intrakraniale Expression ($\log\text{-Ratio} \sim 0$) oder verringerte intrakraniale Expression ($\log\text{-Ratio} \ll 0$) im Vergleich zur gepaarten extrakranialen Metastase. Der projekteigene Compute-Server wurde genutzt, um einen HMM-Parametersatz zu finden, der eine gute Prädiktion der Genexpressionszustände in Kombination mit biologischer Plausibilität der Ergebnisse realisierte.

Das so ermittelte HMM wurde dann genutzt, um eine detaillierte Auswertung der individuellen Expressionsprofile der einzelnen Melanommetastasenpaare

durchzuführen. Dabei wurden für jedes Metastasenpaar Gene mit erhöhter oder verringerter Expression in der intrakraniellen Metastase bestimmt. Diese Gene wurden dann genutzt, um für jedes Melanommetastasenpaar signifikant veränderte Signalwege zu ermitteln. Dabei hat sich gezeigt, dass insbesondere der ECM-, der cAMP-, der Jak-STAT- und der PI3K/Akt-Signalweg über die Mehrzahl der Metastasenpaare hinweg gleichartig verändert waren. Darüber hinaus wurden die Gene mit erhöhter und verringerter Expression über die Metastasenpaare hinweg auf Basis der Häufigkeit der jeweiligen Genexpressionsveränderung separat geordnet und dann mittels einer Gene Ontology (GO) Analyse untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass Gene mit erhöhter Expression potenziell in Verbindung mit der Etablierung eines hirnspezifischen Phänotyps stehen könnten und dass Gene mit verringerter Expression auf eine Unterdrückung des Immunsystems hindeuten. Die Gene, die in der Mehrzahl der Patienten in gleicher Weise in ihrer Expression verändert waren, wurden weiterhin einer Literaturrecherche unterzogen, um deren zelluläre Funktionen im Kontext von Metastasen oder Krebs besser einzuordnen. Darüber hinaus haben wir die von uns ermittelten Top-Kandidatengene zu den Ergebnissen von drei bereits publizierten ähnlichen Studien verglichen, die auch einen Vergleich von intra- und extrakraniellen Melanommetastasen durchgeführt haben. Dabei konnten wir acht Gene ermitteln, die sich in mindestens zwei der drei Studien im Expressionsverhalten genau so verhalten haben wie in unserer Studie (*CLIP*, *DPT*, *FGF7*, *LAMP3*, *MEOX2*, *TMEM119*, *GLDN*, *PMP2*). Eine zusätzliche Analyse des Genexpressionsverhaltens dieser Gene in der TCGA-Melanomkohorte hat darüber hinaus noch gezeigt, dass das Expressionsverhalten einiger Gene signifikant mit dem Überleben assoziiert ist. Der HMM-Ansatz und die zugehörige patientenspezifische Genexpressionsdatenanalyse wurde als Fachartikel in *Acta Neuropathology Communications* publiziert (Kraft *et al.* (2024)).

Kritische Würdigung:

Mit der Realisierung von Arbeitspaket B.1.WP1 ist es uns gelungen, einen HMM-Ansatz zu entwickeln, der erstmals eine vollständig personalisierte Analyse von DNA-Methylierungs- und Genexpressionsprofilen von patientenspezifischen Melanommetastasenpaaren ermöglicht hat. Die dabei ermittelten veränderten Gene und Signalwege stellen eine wichtige Grundlage für die Experimente der anderen Teilprojektleiterinnen dar, um deren gezielten Einfluss auf die Entwicklung von Hirnmetastasen weiter zu untersuchen und somit eine Basis für die Identifikation von neuen therapeutischen Zielstrukturen zu legen.

Die in diesem Arbeitspaket entwickelten HMM-Ansätze und die gewonnenen Erkenntnisse der zugehörigen Datenanalysen wurden in zwei Fachartikeln publiziert und stehen somit allen Forschenden im Bereich von Melanommetastasen frei zur Verfügung [T. Kraft *et al.* (2023): Patient-specific identification of genome-wide DNA-methylation differences between intracranial and extracranial melanoma metastases, *Scientific Reports*, 2023, 13, 444; T. Kraft *et al.* (2024): Personalized identification and characterization of genome-wide gene expression differences between patient-

matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs, *Acta Neuropathologica Communications*, 2024, 12:67.]. Die Entwicklung der beiden HMM-Ansätze und die anschließend durch die Doktorandin (unter Betreuung des Teilprojektleiters) durchgeführten Datenanalysen bildeten die Grundlage für die erfolgreiche Einreichung der Doktorarbeit im Dezember 2024.

Weiterhin konnte gemeinsam mit der Teilprojektleiterin von B.2 eine umfassende Arbeit zu den Zusammenhängen zwischen Promotormethylierung und Genexpression bei Melanommetastasen publiziert werden [D. Westphal *et al.* (2023): Identification of Epigenetically Regulated Genes Distinguishing Intracranial From Extracranial Metastases, *Journal of Investigative Dermatology*, 2023, 143(7), 1233 – 1245.e17].

Die Ergebnisse des Arbeitspakets wurden darüber hinaus im Laufe des Projektes auf einer Vielzahl von Konferenzen in Form von Posterpräsentationen und Vorträgen vorgestellt. Besonders hervorzuheben ist dabei der Preis für das beste Poster, welchen wir im Rahmen eines EMBO-Workshops 2023 erhalten haben [T. Kraft, K. Grützmann, M. Meinhardt, F. Meier, D. Westphal, M. Seifert: Personalized identification and characterization of genome-wide gene expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs, EMBO Workshop: Computational models of life: from molecular biology to digital twins, 26.11.2023 – 01.12.2023, Sant Feliu de Guixols, Spain.].

Arbeitspaket B.1.WP2: Netzwerk-basierte Prädiktion von Kandidatengenen für die Entwicklung von neuen Therapieansätzen

Zielstellung:

Ziel des Arbeitspaketes war es, auf Basis von öffentlich verfügbaren Melanom-Omics-Daten, ein genomweites genregulatorisches Netzwerk zu lernen, welches dann gezielt für die Analyse der im Projekt erhobenen Omics-Profile der patientenspezifischen intra- und extrakranialen Melanommetastasen genutzt werden sollte, um die Wirkung von veränderten Genen auf therapierelevante Zielstrukturen (z. B. Signalwege, Stoffwechselwege, Immunmarker) zu bestimmen.

Ergebnisse:

Für die Realisierung des Arbeitspaketes wurden zunächst öffentlich verfügbare Genexpressions- und DNA-Methylierungsdaten von 470 Patienten aus der Melanomstudie des The Cancer Genome Atlas heruntergeladen und aufbereitet. Nach Inspektion der dazugehörigen klinischen Daten und der Selektion von Patienten mit aussagekräftigen Meta-Informationen (Tumorgehalt > 80 % und möglichst genaue Diagnose, Geschlecht, Alter und Überlebensinformationen verfügbar) wurde für die verbliebenen 272 Patienten für jede der genannten Omics-Schichten ein einheitlicher Datensatz erstellt, der jeweils Messwerte für 7928 Gene enthielt. Im nächsten Schritt wurde auf Basis des bereits in der Arbeitsgruppe etablierten R-Pakets regNet damit begonnen, ein Genregulationsnetzwerk unter Einbeziehung der Genexpressions- und DNA-Methylierungsdaten zu lernen. Anschließend wurden zugehörige randomisierte

Netzwerke gleicher Komplexität abgeleitet, um diese mit den auf den realen Daten gelernten originalen Netzwerken zu vergleichen. Die dabei etablierte regNet-Pipeline wurde dann genutzt, um mittels des projekteigenen Compute-Servers 25 genomweite, melanomspezifische Genregulationsnetzwerke zu trainieren. Jedes dieser Netzwerke wurde auf Basis der Genexpressions- und Promotormethylierungsdaten einer zufällig erstellten Trainingskohorte gelernt und im Anschluss an der verbliebenen netzwerkspezifischen Testkohorte überprüft. Für diese Überprüfungen wurden Korrelationen zwischen den prädiktierten und den ursprünglich gemessenen Genexpressionswerten berechnet. Die Verteilung der Korrelationswerte war dabei signifikant in den positiven Bereich verschoben. Dies hat sehr deutlich gezeigt, dass die gelernten Netzwerke das Expressionsverhalten der Gene für Melanome gut abbilden können. Auch im Vergleich zu zugehörigen zufälligen Netzwerken von gleicher Komplexität hat sich dies nochmals bestätigt. In einem weiteren Test wurde die Promotormethylierung als Prädiktor aus den Netzwerkmodellen entfernt. Die daraus resultierenden Modelle wiesen eine verringerte Vorhersagekraft für das Expressionsverhalten auf. Daraus lässt sich schließen, dass der von uns entwickelte Netzwerkansatz, der erstmals auch die Promotormethylierungen mitberücksichtigte, eine sehr wertvolle Erweiterung des bisher existierenden regNet-Algorithmus darstellt und somit eine passgenaue Anknüpfung an die erhobenen Daten ermöglichte.

Aufbauend darauf wurden die gelernten Netzwerke genutzt, um zu untersuchen, ob diese auch prädiktiv für die in MelBrainSys erhobenen Genexpressions- und Promotormethylierungsdaten der Melanom-Metastasen sind. Dabei haben sich deutlich positive Korrelationen zwischen den vorhergesagten und gemessenen Expressionswerten gezeigt, auch wenn diese Korrelationen etwas geringer ausfielen als in der vorherigen Testung auf Basis der TCGA-Testdaten. Diese verringerte Prädiktionsgüte war zu erwarten, da es sich um Daten von unterschiedlichen experimentellen Plattformen handelt und in unserem Projekt nicht primär Tumore, sondern direkte Messungen für Metastasen vorlagen. Um die Relevanz der trainierten Netzwerke noch weiter zu untermauern, wurde die Netzwerkkonnektivität von bereits bekannten Melanomtreibergenen untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass bekannten Treibergene zu den Genen mit den meisten ausgehenden Gen-Gen-Interaktionen gehörten, was nochmals eingehend verdeutlichte, dass die gelernten Netzwerke relevante, melanomspezifische Informationen abbilden können.

Darauf aufbauend wurde ein Netzwerkflussalgorithmus entwickelt, um potenzielle regulatorische Einflüsse von veränderten Genen auf alle anderen Gene im Netzwerk bestimmen zu können. Dieser Netzwerkflussalgorithmus wurde genutzt, um für alle Gene, die eine veränderte Expression durch eine veränderte Promotormethylierung zeigten, zu ermitteln, welche anderen Gene und Signalwege davon in den patientenspezifischen Melanommetastasenpaaren beeinflusst werden. Dabei haben Clusteranalysen der ermittelten Einflüsse auf Signal- und Stoffwechselwege gezeigt, dass sich die Patienten unserer Kohorte in drei phänomenologische

Metastasenpaarsubgruppen auftrennen lassen. Diese drei Subgruppen wurden dann als Grundlage für weitere Untersuchungen genutzt. Patientenspezifische Listen von Genen, die in intra- und in extrakraniellen Metastasen am stärksten beeinflusst waren, wurden auf überrepräsentierte Signal-, Immun- und Stoffwechselwege untersucht. Dabei wurden Regulationswege gefunden, die spezifisch für jede Subgruppe sind und innerhalb der drei Subgruppen in allen oder den meisten Metastasenpaaren auftraten.

Weiterhin wurde auch der Zusammenhang zwischen den ermittelten Einflüssen auf Gene und deren Expression untersucht, um die eigentliche Bedeutung der potenziellen Einflüsse besser zu verstehen. Dabei hat sich gezeigt, dass das Einflussverhalten und die resultierende Expression negativ korreliert waren. Die mittlere Expression der Regulationswege war oft ähnlich verändert, aber deren Regulation durch die ermittelten subgruppenspezifischen Einflüsse unterschied sich in einer Patientensubgruppe stark von den anderen Subgruppen. Neben bekannten Krebsignalwegen waren in allen Analysen oft auch Immunsignalwege dereguliert.

Darüber hinaus wurde gezielt nach Kandidatengenen mit veränderter Regulation zwischen den intra- und extrakraniellen Metastasen gesucht. Im Gegensatz zu den differentiell methylierten Genen mit veränderter Expression, die in B.1.WP1 mit Hilfe des HMM-Ansatzes ermittelt wurden und die kaum zwischen den Patienten überlappen, sind die Kandidatengene, die mit Hilfe des Netzwerkansatzes gefunden wurden, nicht nur spezifisch für das jeweilige Metastasenpaar, sondern finden sich auch in allen Paaren einer Subgruppe wieder, was diese Gene besonders interessant für experimentelle Untersuchungen macht. Die gefundenen subgruppenspezifischen Kandidatengene wurden weiterhin umfassend mittels Fachliteraturrecherchen untersucht und mit den experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen diskutiert.

Die Ergebnisse des Arbeitspakets B.1.WP2 wurden als Fachartikel im Computational and Structural Biotechnology Journal veröffentlicht (Grützmann *et al.* (2024)). Neben den angewandten Datenanalysen wurden dabei auch die regNet-Erweiterungen für interessierte Anwender frei zugänglich gemacht.

Kritische Würdigung:

Mit der Umsetzung von Arbeitspaket B.1.WP2 ist es uns gelungen, einen netzwerkbasierenden Ansatz zu etablieren, der in der Lage ist, zielgerichtet Gene zu bestimmen, die einen starken Einfluss auf andere Gene und zelluläre Signalwege haben. Dieser Ansatz integriert erstmals neben der Genexpressionsmessungen auch Promotormethylierungsmessungen in den Netzwerkerinferenzalgorithmus und in den Netzwerkflussalgorithmus des bereits existierende regNet-Paket. Dies ermöglichte passgenaue Prädiktionen für die projektspezifischen MelBrainSys-Daten. Somit war es uns möglich, die molekularen Daten der patientenspezifischen intra- und extrakraniellen Melanometastasen umfassend zu analysieren, um übergeordnete Gene zu bestimmen, die potenziell einen großen Einfluss auf therapierelevante

Zielstrukturen (z. B. Signalwege, Immunsignalwege) haben könnten. Die mit Hilfe des Netzwerkansatzes ermittelten Driverkandidatengene bildeten eine wichtige Basis für die Experimente der anderen Teilprojektleiterinnen, um deren Beitrag zur Entwicklung von Melanomhirnmetastasen weiter zielgerichtet zu untersuchen. Dies könnte zukünftig eine Grundlage für die Charakterisierung neuer therapeutischer Angriffspunkte bilden. Darüber hinaus wurden die in diesem Arbeitspaket entwickelte Netzwerkmethodik und die gewonnenen Erkenntnisse der zugehörigen Datenanalysen in einem Fachartikel publiziert und stehen somit allen Forschenden frei zur Verfügung [K. Grützmann *et al.* (2024): Network-based analysis of heterogeneous patient-matched brain and extracranial melanoma metastasis pairs reveals three homogeneous subgroups, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2024, 23, 1036 – 1050.]. Die Ergebnisse wurden im Laufe des Projektes auf einer Vielzahl von Konferenzen als Poster vorgestellt. Besonders hervorzuheben ist neben diversen Posterpräsentationen auf den e:Med-Meetings aber auch die Präsentation der Ergebnisse des Arbeitspakets in Form eines Vortrags auf dem GMDS-Workshop für mathematische Modelle in der Biologie und Medizin in Stuttgart im Sommer 2023.

Arbeitspaket B.1.WP3: Modellbasierte Therapieprädiktion für Melanom-Hirnmetastasen

Zielstellung:

Im Rahmen des Arbeitspakets sollte untersucht werden, ob die in den Arbeitspaketen B.1.WP1 und B.1.WP2 gefundenen molekularen Veränderungen, die intrakranialen von extrakranialen Melanommetastasen unterscheiden, geeignet sind, um Rückschlüsse auf den Therapieerfolg zu ziehen. Dies sollte mit Hilfe von statistischen Verfahren oder maschinellen Lernansätzen untersucht werden. Dazu sollte zunächst eine retrospektive Analyse unserer projekteigenen MelBrainSys-Kohorte erfolgen und diese Ergebnisse dann an Transkriptomdaten der projekteigenen Melanomzelllinien überprüft und verfeinert werden. Da die initialen Assoziationsstudien für unsere projekteigene MelBrainSys-Patientenkohorte, wie bereits in den jeweiligen Zwischenberichten dargelegt, auf Basis der verfügbaren klinischen Daten keinen Erfolg hatten, musste die Zielstellung des Arbeitspakets entsprechend angepasst werden. Die gefundenen veränderten Gene wurden daher im Rahmen der wesentlich größeren TCGA-Kohorte von metastasierenden Melanomen untersucht. Darüber hinaus sollte mittels bereits öffentlich verfügbarer Einzelzellgenexpressionsdaten von intra- und extrakranialen Melanommetastasen untersucht werden, in welchen spezifischen Zelltypen die Kandidatengene exprimiert sind, um neue zusätzliche Anhaltspunkte für die experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen zu liefern.

Ergebnisse:

Zunächst wurden in sehr enger Zusammenarbeit mit der Leiterin des Teilprojekts B.2 die verfügbaren klinischen Meta-Informationen zu den Melanommetastasen aus unserer Kohorte umfassend aufbereitet und vervollständigt. Diese klinischen Daten

wurden dann genutzt, um zu überprüfen, ob die gefundenen patientenspezifischen DNA-Methylierungsveränderungen im Zusammenhang mit den vor der Entnahme der Metastase verabreichten Therapien standen. Dabei konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen dem Grad oder der Anzahl der genomweiten Methylierungsveränderungen und den verschiedenen Therapien hergestellt werden. Ebenso war es nicht möglich, eine Assoziation zwischen der Anzahl der Methylierungsveränderungen und dem Überleben nach dem Auftreten einer Hirnmetastase herzustellen. Zwei Faktoren, die sehr wahrscheinlich einen großen Einfluss auf diese Beobachtungen hatten, sind die relativ kleine Größe der von uns untersuchten MelBrainSys-Kohorte und die große molekulare Heterogenität der einzelnen Metastasen zwischen den Patienten.

Weiterhin wurde diese Analyse auf bereits verfügbare Studien mit Melanomzelllinien ausgedehnt, welche in engem Zusammenhang mit unserem Forschungsvorhaben standen. Im Rahmen der Studien von Vizoso *et al.* (2015) und Chatterjee *et al.* (2017) standen jeweils DNA-Methylierungsdaten für den Vergleich von Paaren von metastasierenden und zugehörigen primären Melanomzelllinien zur Verfügung. Insbesondere für die Studie von Vizoso *et al.* wurde eine große Übereinstimmung im Verhalten der DNA-Methylierungsmarker gefunden. Marker, die gut zur Trennung von metastasierenden und primären Zelllinien geeignet waren, konnten auch unsere intrakraniellen und extrakraniellen Metastasen gut unterscheiden. Sehr interessant war auch, dass das von Vizoso *et al.* gefundene Top-Kandidatengen *TBC1D16* mit reduzierter Methylierung in den metastasierenden Melanomzelllinien auch bei unseren Patienten in 10 von 14 Fällen eine Reduktion der Methylierung in den intrakraniellen Metastasen im Vergleich zu zugehörigen extrakraniellen Metastasen aufwies. Somit könnte die von Vizoso *et al.* gefundene Reduzierung der Methylierung, die eine metastasierende Kaskade aktiviert, potenziell auch für die Absiedlung und Entwicklung von Hirnmetastasen eine wichtige Rolle spielen.

Die Assoziationsanalysen wurden nachfolgend zielgerichtet auf die verfügbaren Genexpressionsdaten unserer MelBrainSys-Kohorte übertragen. Dabei konnte aber wieder, wie für die DNA-Methylierungsdaten, kein direkter Zusammenhang zwischen dem Grad oder der Anzahl der gefundenen Genexpressionsveränderungen und den verschiedenen Therapien, die vor der Entnahme der Metastase verabreicht wurden, aufgedeckt werden.

Auf Basis der Erkenntnisse für die DNA-Methylierungs- und Geneexpressionsdaten hatten weitere Assoziationsversuche mit den zugehörigen klinischen Daten unserer MelBrainSys-Kohorte keine Erfolgsaussichten und wurden daher nicht weiterverfolgt. Daher wurde das Ziel entsprechend angepasst und im nächsten Schritt die wesentlich größere TCGA-Kohorte von 270 Patienten mit metastasierenden Melanomen untersucht. Diese Daten wurden genutzt, um zu untersuchen, ob einige der in B.1.WP1 und B.1.WP2 ermittelten Kandidatengene mit dem Überleben der Patienten in Verbindung stehen. Dafür wurde eine Analysestrategie entwickelt, die das Expressionsverhalten der Kandidatengene im Hinblick auf das Überleben untersucht.

Wir konnten zeigen, dass die Expression einer Vielzahl der Kandidatengene, die wir als differentiell exprimiert zwischen intra- und extrakraniellen Melanometastasen gefunden hatten, mit dem Überleben der Patienten assoziiert war. Die überwiegende Mehrzahl dieser Gene war in intrakraniellen Metastasen herunterreguliert und hat darüber hinaus wichtige Funktionen bei der Regulation des Immunsystems. Die daraus resultierende potenzielle Immunsuppression in den Hirnmetastasen wurde daraufhin auf Proteinebene mittels Immun-Panel-Daten weiter untersucht (Zelldichten, Immuninfiltration, Zellnachbarschaften). Dafür wurden durch die Leiterin des Teilprojekts B.3 Daten von drei Immun-Panels bereitgestellt (zytotoxische T-Zellen (CD8-Panel), T-Helfer-Zellen (CD4-Panel), Makrophagen) bereitgestellt, die sowohl Messungen für intrakranielle also auch für extrakranielle Melanometastasen umfassten. Diese Daten wurden von uns aufbereitet und dem Teilprojekt B.3 wieder bereitgestellt, sodass aufbauend darauf genauere Rückschlüsse zum Auftreten einer Immunsuppression und der beteiligten Faktoren gezogen werden konnten.

Darüber hinaus haben wir die von uns gefundenen veränderten Gene, welche auf Basis der im Projekt vorliegenden Bulkdaten in den Arbeitspaketen B.1.WP1 und B.1.WP2 ermittelt wurden, auf deren Expressionsverhalten in Einzelzelldaten untersucht. Dazu wurde ein bereits öffentlich verfügbarer Datensatz zu Einzelzelldaten von Melanometastasen von Biermann *et al.* (2022) systematisch, unter Nutzung neuester methodischer Erkenntnisse des sich rasant entwickelnden Forschungsfelds der Einzelzelldatenanalyse, aufbereitet. Dafür konnten wir auf Genexpressionsmessungen von tausenden Einzelzellen von 15 intrakraniellen und 10 extrakraniellen Melanometastasen zurückgreifen. Dabei konnten wir insgesamt eine hohe Homogenität der Tumorzellexpressionsprofile innerhalb und zwischen den verschiedenen Metastasen aufzeigen, wobei diese für Zellen von Hirnmetastasen sogar noch höher ausfiel, was auf eine spezifische metastatische Anpassung an das vermeintlich eingeschränktere Mikromilieu des Gehirns hindeutet. Während das Expressionsverhalten der Tumorzellen sehr homogen war, zeigten Zellen des Mikromilieus der Metastasen, insbesondere Lymphozyten und damit verbundene Immun-Tumor-Interaktionswege, eine größere Divergenz zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen. Dies deutet darauf hin, dass die Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen vermutlich eher auf das Mikromilieu zurückzuführen sind. Darüber hinaus zeigte ein Vergleich der Einzelzelldaten mit unseren MelBrainSys-spezifischen Bulkdaten, dass eine Vielzahl der von uns auf Basis der Bulkdaten gefundenen Gene nicht nur in Tumorzellen, sondern auch oder manche ausschließlich in Zellen des Mikromilieus exprimiert werden. Dies lieferte wichtige neue Erkenntnisse für alle experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen und legt damit eine wichtige Grundlage, um zukünftig noch präziser molekulare Zielstrukturen für die Entwicklung von hirnspezifischen Therapieansätzen zu identifizieren.

Die Ergebnisse der durchgeführten Einzelzelltranskriptomanalyse und die dafür implementierten methodischen Ansätze wurden abschließend im Fachjournal *Biology*

Direct publiziert und stehen somit allen interessierten Forschern frei zur Verfügung [K. Grützmann and M. Seifert (2025)]. Von uns als veränderte gefundene Gene, die mit dem Überleben von TCGA-Patienten mit metastasierenden Melanomen assoziiert waren, wurden als Teil der HMM-Genexpressionsanalysestudie (B.1.WP1) im Fachjournal *Acta Neuropathologica Communications*, publiziert [T. Kraft *et al.* (2024)].

Kritische Würdigung:

Mit der Umsetzung von Arbeitspaket B.1.WP3 ist es uns gelungen, für Gene, die sich in ihrer Expression zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen unterscheiden, einen Zusammenhang zum Überleben von TCGA-Patienten mit metastasierenden Melanomen herzustellen. Die bekannten zellulären Funktionen der Gene deuten dabei auf eine Immunsuppression hin, da besonders viele Immungene mit verringerter Expression mit signifikant kürzerem Überleben assoziiert waren. Spezifische Assoziationen der von uns gefundenen Gene innerhalb der uns zur Verfügung stehenden MelBrainSys-Patientenkohorte konnten nicht aufgedeckt werden. Dazu war der vorliegende Datensatz zu klein und zu heterogen, so dass sich trotz intensiver Bemühungen keine signifikanten Assoziationen mit den verfügbaren klinischen Informationen ermitteln ließen. Somit konnte im Rahmen des Arbeitspakets auch keine Prädiktion von potenziellen Therapieoptionen umgesetzt werden, aber die gefundenen Assoziationen mit dem Überleben auf Basis der unabhängigen TCGA-Daten ermöglichen vielleicht in Zukunft neue Ansatzpunkte für die Entwicklung von Therapieoptionen für Hirnmetastasen, wobei wahrscheinlich besonders die Rolle des Immunsystems mit beachtet werden muss.

Die rasante Entwicklung von Techniken zur Messung von Einzelzelltranskriptomen während der Projektlaufzeit hat dazu geführt, dass wir die von uns gefundenen Gene umfassend auf Basis von Daten einer öffentlich verfügbaren Melanomstudie zu Einzelzelltranskriptomen von Hirn- und Nichthirnmetastasen untersuchen konnten. Dies hat wichtige neue Erkenntnisse darüber geliefert, welche spezifischen Zelltypen diese Gene überhaupt exprimieren und wie sich die Tumorzellen gegenüber Nichttumorzellen verhalten. Insgesamt haben unsere TCGA-Assoziationsstudie und das Expressionsverhalten der zugehörigen Gene in Einzelzellen wichtige neue Erkenntnisse für die experimentell arbeitenden Teilprojektleiterinnen geliefert, um zukünftig noch zielgerichteter bei der Suche und Charakterisierung von neuen Therapieansatzpunkten für Melanomhirnmetastasen vorzugehen. Die Ergebnisse der Einzelzelltranskriptomanalysen wurden auf mehreren Konferenzen im Rahmen von Postervorstellungen präsentiert. Darüber hinaus konnte die Studie gemeinsam mit den implementierten methodischen Ansätzen als Fachpublikation veröffentlicht werden [K. Grützmann und M. Seifert (2025): Single-cell transcriptome analysis suggests cells of the tumor microenvironment as a major discriminator between brain and extracranial melanoma metastases, *Biology Direct*, 20, 97]. Dies ist somit ein ganz wichtiger Ausgangspunkt für zukünftige Studien.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Kostenart	Ausgaben bis einschl. 2025
wiss. Personal (Position 0812)	604.086,31 €
allg. Verwaltungsausgaben (Position 0843)	0,00 €
Dienstreisen (In- und Ausland), (Position 0846)	12.266,78 €
Investitionen (Position 0850)	72.387,60 €
Gesamtausgaben	688.740,69 €

Tabelle 1: Übersicht der Ausgaben im MelBrainSys-Teilprojekt B.1 (Dresden)

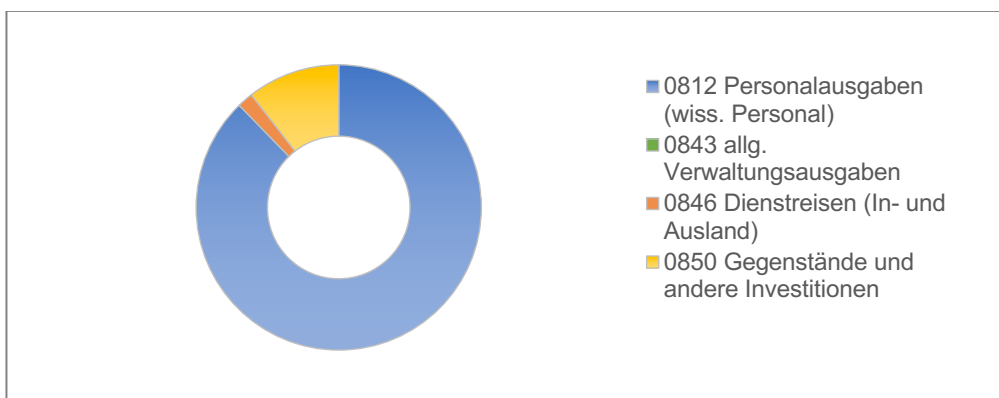


Abb. 1: Grafische Darstellung der verwendeten Mittel im Projektzeitraum

Für die Bearbeitung der einzelnen Arbeitspakete des Vorhabens wurde Personal beschäftigt, für welches Gesamtkosten i. H. v. insgesamt 604.086,31 € entstanden sind. Diese Kosten umfassten die anteilige Finanzierung des Teilprojektleiters (25 %), die anteilige Finanzierung eines wissenschaftlichen Mitarbeiters (Postdoc, 75 %) und die vollständige Finanzierung einer Doktorandenstelle (65 %).

Für die Realisierung der im Projekt geplanten Datenanalysen wurde ein Compute-Server mit SAN beschafft, ohne welchen die durchgeführten Analysen der drei Arbeitspakete nicht hätten realisiert werden können. Für diesen projektspezifischen Compute-Server sind Beschaffungskosten i. H. v. insgesamt 65.377,60 € entstanden. Dieser Compute-Server stand während der gesamten Projektlaufzeit ausschließlich für die Realisierung der drei Arbeitspakete zur Verfügung. Der Compute-Server wird nach dem Ende des Vorhabens weiterhin für die Datenanalysen von verschiedenen Krebsforschungsprojekten genutzt. Weiterhin wurde im Rahmen des Projekts für den Postdoc und die Doktorandin jeweils ein wissenschaftlicher Rechner beschafft. Die Beschaffungskosten für diese beiden Rechner beliefen sich auf 7.010,00 €. Die beiden Rechner werden nach dem Ende des Vorhabens weiterhin als sehr leistungsfähige Arbeitsplatzrechner verwendet.

Während der gesamten Projektlaufzeit wurden insgesamt 12.266,78 € für vorhabenbezogene Dienstreisen und virtuellen Teilnahmen an wissenschaftlichen Fachtagungen/Konferenzen verwendet. Im Rahmen der Teilnahmen wurden die projektspezifischen Forschungsergebnisse in Form von Posterpräsentationen oder Fachvorträgen präsentiert. Darüber hinaus gab es mehrere geplante Konsortialmeetings, um die Ergebnisse der jeweiligen Arbeitspakete zu besprechen und die nächsten Schritte gemeinsam abzustimmen.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Forschungsarbeiten im Teilprojekt B.1 des e:Med-Juniorverbundes MelBrainSys sowie die dafür aufgewandten Ressourcen waren notwendig und angemessen, da sie der im initialen Projektantrag und im zuwendungsneutralen Laufzeitverlängerungsantrag dargelegten Planung entsprachen und alle wesentlichen im Arbeitsplan formulierten Aufgaben erfolgreich bearbeitet wurden. Bei den ursprünglich veranschlagten Kosten für die Beschaffung eines Compute-Servers konnte durch die Ausschreibung deutlich gespart werden. Die teilprojektspezifischen Publikationen konnten über den Publikationsfonds der TUD finanziert werden, wodurch die zunächst im Budget eingeplanten Publikationskosten eingespart werden konnten. Die insgesamt eingesparten Mittel wurden im Rahmen der zuwendungsneutralen Laufzeitverlängerung eingesetzt, um das Teilprojekt B.1 des MelBrainSys-Juniorverbundes erfolgreich abzuschließen.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die Entwicklung neuer zielgerichteter Therapien hat in den letzten Jahren zu guten Fortschritten bei der Behandlung von Melanommetastasen geführt. Dennoch versterben noch immer mehr als die Hälfte der Melanompatienten. Die Haupttodesursache sind Hirnmetastasen, die im Vergleich zu Nichthirnmetastasen nicht andauernd oder ausreichend auf bisher verfügbare Therapieoptionen ansprechen. Das Teilprojekt B.1 des MelBrainSys-Juniorverbundes hat sehr wichtige Grundlagen zur Erforschung und Entwicklung von neuen Therapiestrategien für Melanomhirnmetastasen gelegt. Dies wurde durch die Entwicklung und Anwendung innovativer bioinformatischer und systemmedizinischer Methoden im Rahmen der Arbeitspakete des Teilprojektes B.1 ermöglicht. Mittels dieser Methoden konnte ein weltweit einzigartiger, projektspezifischer Melanommetastasendatensatz analysiert werden, wobei wir mit Hilfe unserer Methoden erstmals eine vollständig personalisierte genomweite Analyse zum Vergleich von patientenspezifischen Hirn- vs. Nichthirnmetastasen durchgeführt haben. Dies hat maßgeblich dazu beigetragen, potenzielle Drivergenkandidaten und zelluläre Schlüsselsignalwege zu identifizieren, die Hirn- von Nichthirnmetastasen unterscheiden. Diese Erkenntnisse stellen einen sehr wichtigen Beitrag dar. Sie sind bereits in die Forschungsarbeiten der anderen

experimentell arbeitenden Teilprojektleiterinnen eingeflossen und könnten zukünftig eine Basis für die Entwicklung neuer hirnspezifischer Therapieansätze liefern.

Das Teilprojekt B.1 konnte durch die Entwicklung innovativer rechnergestützter Methoden für die Analyse von molekularen Tumordaten, die in enger interdisziplinärer Zusammenarbeit mit den Teilprojektpartnerinnen erfolgte, somit einen essentiellen Beitrag zur Etablierung der systemmedizinischen Forschung in Deutschland – dem zentralen förderpolitischen Ziel der e:Med-Initiative – leisten.

Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Die im Rahmen des Teilprojekts B.1 entwickelten innovativen computerbasierten Verfahren für die Analyse von molekularen Tumordaten und die erzielten Ergebnisse der durchgeführten Datenanalyse für die weltweit einzigartige Patientenkohorte stellen ausgezeichnete Grundlagen für weiterführende Experimente und Studien zur Entwicklung und Charakterisierung von neuen Behandlungsstrategien für Melanompatienten mit Hirnmetastasen dar.

Die durch die experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen bereitgestellten DNA-Methylierungsdaten und Genexpressionsdaten bildeten die grundlegende Datenbasis, um Gene und zelluläre Signalwege zu bestimmen, die intra- von extrakraniellen Melanommetastasen unterscheiden. Die initialen hierarchischen Clusteranalysen der genomweiten Methylierungs- und Expressionsdaten haben sehr deutlich gezeigt, dass eine patientenspezifische Analyse von Melanommetastasen erforderlich ist, um deren gemeinsame evolutionäre Entwicklungsgeschichte in die präzise Charakterisierung von molekularen Unterschieden mit einzubeziehen. Der dafür entwickelte methodische Ansatz auf Basis von Hidden-Markov-Modellen (HMM) hat gezeigt, dass die Identifikation von patientenspezifischen Methylom- und Genexpressionsveränderungen möglich ist. Dies hat es uns erlaubt, Kandidatengene und Signalwege zu ermitteln, die in der Mehrzahl der Metastasenpaare jeweils in gleicher Weise verändert waren. Diese Gene und Signalwege bilden eine wichtige Grundlage für die sich anschließenden Experimente der Teilprojektpartnerinnen. Darüber hinaus konnte durch eine ergänzende Fachliteraturanalyse und die Gegenüberstellung des Expressionsverhaltens in verschiedenen Geweben die Kandidatengenliste noch weiter verfeinert werden, was den Teilprojektpartnerinnen eine noch zielgerichtetere Auswahl von Kandidatengenen für ihre experimentellen Analysen ermöglicht hat. Die von uns entwickelten HMM-basierten Ansätze für die Analyse der DNA-Methylierungs- und Genexpressionsdaten wurden erfolgreich in angesehenen Fachjournals publiziert (T. Kraft *et al.* (2023), T. Kraft *et al.* (2024)). Auch der zugehörige gruppenbasierte Genexpressionsvergleich der Melanommetastasen konnte erfolgreich publiziert werden (D. Westphal *et al.* (2023)). Insbesondere ist auch zu erwähnen, dass wir für unsere HMM-basierte Genexpressionsdatenanalyse im November 2023 einen Posterpreis erhalten haben (EMBO-Workshop: Computational

models of life: from molecular biology to digital twins, Sant Feliu de Guixols, Spanien, Spanien).

Darüber hinaus konnten wir einen modifizierten Algorithmus zur Inferenz von genomweiten, melanomspezifischen Geninteraktionsnetzwerken entwickeln, der erstmals neben der Verwendung von Genexpressionsdaten auch die Integration von Promotormethylierungsdaten erlaubt hat. Ebenso konnte auch der zugehörige Netzwerkflussalgorithmus, welcher Rückschlüsse auf die potenzielle Wirkung von veränderten Genen auf andere Gene oder zellulären Signalwegen ermöglicht hat, entsprechend erweitert werden. Diese netzwerkbasierenden Verfahren wurden intensiv genutzt, um unsere projekteigenen Metastasenpaare zu analysieren. Dabei wurden potenzielle Einflüsse von veränderten Genen auf relevante Signalwege oder andere Gene bestimmt. Die dabei gefundenen drei robusten Subgruppen innerhalb der Kohorte der Metastasenpaare wurden weiter untersucht und mit Hilfe einer Validierungskohorte überprüft. Dabei konnten auch die ursprünglich gefundenen Signalwegsmuster der Subgruppen und ein Großteil der Kandidatengene bestätigt werden. Die zugehörige Studie, die die netzwerkbasierte Analyse der Metastasenpaare beschreibt, wurde in einem angesehenen Fachjournal publiziert (Grützmann *et al.* (2024)).

Darüber hinaus haben wir unsere Analysen auch auf während der Projektlaufzeit veröffentlichte Einzelzellgenexpressionsdaten von Melanommetastasen übertragen. Dabei hat sich gezeigt, dass Melanomtumorzellen allgemein sehr ähnliche Genexpressionsprofile innerhalb und zwischen den verschiedenen Metastasen haben. Dahingegen weist das Expressionsprofil von Zellen des Mikromilieus der Metastasen zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen deutlichere Unterschiede auf. Somit lassen sich die Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen wahrscheinlich eher auf das Mikromilieu zurückzuführen. Weiterhin konnten wir zeigen, dass viele der von uns gefundenen Gene auf Basis der MelBrainSys-spezifischen Bulkdaten nicht nur in Tumorzellen, sondern auch oder manche ausschließlich in Zellen des Mikromilieus exprimiert werden. Dies sind sehr wichtige neue Erkenntnisse für die experimentell arbeitenden Teilprojektpartnerinnen, um zukünftig noch präziser molekulare Zielstrukturen für die Entwicklung von hirnspezifischen Therapieansätzen zu identifizieren. Die Ergebnisse der durchgeführten Einzelzelltranskriptomanalyse wurden erst kürzlich in einem angesehenen Fachjournal publiziert (Grützmann *et al.* (2025)).

Insgesamt bilden die im Rahmen des Teilprojekts B.1 gefundenen Kandidatengene, Signalwege, Subgruppen und die Charakterisierung des Expressionsverhaltens in verschiedenen Zelltypen eine sehr wichtige Grundlage für die weiterführenden experimentellen Analysen der Teilprojektpartnerinnen. Somit konnte das Teilprojekt B.1 essentiell dazu beitragen, dass der MelBrainSys-Juniorverbund erfolgreich abgeschlossen wird. Übergeordnet führen die von uns erzielten Ergebnisse auch zu einer sehr guten Ausgangsbasis für zukünftige Forschungsprojekte, die eine durch

interdisziplinäre Zusammenarbeit neue Ansatzpunkte für die Behandlung von Melanomhirnmetastasen liefern könnten.

Wirtschaftliche Verwertung

Zurzeit gibt es noch keine zielgerichtete Therapie für Melanomhirnmetastasen, die über einen längeren Zeitraum anspricht. Daher ist die Suche nach und die Entwicklung von neuen zielgerichteten Therapien gegen Hirnmetastasen dringend erforderlich und auch unter gesundheitsökonomischen Aspekten wichtig. Eine gute Ausgangsbasis dafür konnte durch die im Teilprojekt B.1 durchgeführten Multi-Omics-Datenanalysen gelegt werden. Dabei wurden erstmals systematisch Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmetastasen mit Hilfe von patientenspezifischen Vergleichen von Melanommetastasenpaaren erzielt. Insbesondere die ermittelten differentiell exprimierten Gene, veränderte Signal- und Immunwege sowie das Expressionsverhalten der veränderten Gene in verschiedenen Zelltypen bilden eine sehr gute Grundlage für weiterführende Experimente mit Hilfe von Zellkulturen und Mausmodellen und sich potenziell anschließende klinische Studien, um neue zielgerichtete Therapien für Melanomhirnmetastasen zu entwickeln. Auch die von uns mit Hilfe des Netzwerkansatzes erfolgte Einteilung der Hirnmetastasen in drei homogene Subgruppen, könnte von großer Wichtigkeit für die Entwicklung von neuen therapeutischen Ansätzen sein, weil sich die sehr heterogenen, patientenspezifischen Metastasen zumindest auf zellulärer Signalwegesebene recht homogen verhalten. Die Kenntnis entsprechender molekularer Zielstrukturen könnte hier eine breitere Anwendung von neuen Therapieansätzen erlauben.

Somit haben die im Teilprojekt B.1 durchgeführten Datenanalysen mittelfristig das Potenzial, einen wichtigen Beitrag für die Entwicklung von neuen zielgerichteten Therapien für Melanomhirnmetastasen zu leisten. Dies könnte potenziell dazu beitragen, den Therapieerfolg zu erhöhen und gleichzeitig das Risiko für die Gabe einer wirkungslosen Therapie zu reduzieren. Somit würden unnötige Belastungen für Patienten vermieden und unnötige Behandlungskosten verhindert. Das tatsächliche Potenzial kann aber erst nach eingehender Prüfung in zukünftigen klinischen Studien ermittelt werden. Dies könnte vielleicht auch zur Entwicklung von diagnostischen Tests durch Gesundheitsdienstleister führen und einen zielgerichteten Einsatz von neuen Therapien für die pharmazeutische Industrie interessant machen. Die Sichtbarkeit von solchen potenziellen Verwertungsoptionen sind sehr wahrscheinlich aber erst in einem Zeitraum von fünf bis zehn Jahren nach Projektende zu erwarten.

Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Der Fokus des MelBrainSys-Teilprojekts B.1 lag auf der Entwicklung und Anwendung von innovativen bioinformatischen und systemmedizinischen Methoden für die patientenspezifische Analyse von Multi-Omics-Daten von Melanommetastasen. Das große Potenzial dieser Methoden wurde durch die Identifikation von differentiell

exprimierten Genen, veränderten zellulären Signalwegen und der Ermittlung des zugehörigen Expressionsverhaltens in verschiedenen Zelltypen eindeutig belegt und durch insgesamt fünf Publikationen in angesehenen Fachjournalen, welche sowohl die implementierten Methoden als auch die zugehörigen Datenanalysen beinhalten, frei zugänglich gemacht. Somit wurde durch das Teilprojekt B.1 eine extrem wichtige Ausgangsbasis gelegt, um Unterschiede zwischen Hirn- und Nichthirnmastasen zukünftig durch weiterführende Experimente und Studien zu untersuchen. Darüber hinaus lassen sich die im Teilprojekt B.1 entwickelten Methoden auch auf andere Krebsarten oder Erkrankungen übertragen. Gemeinsam mit den fünf Publikationen kann dies eine sehr wichtige Grundlage für die Einwerbung von Nachfolgeprojekten legen, die auf den Erkenntnissen des MelBrainSys-Juniorverbunds aufbauen. Erste Schritte in diese Richtung wurden bereits 2025 durch die Beteiligung an einer EU-Ausschreibung unternommen (EP-PerMed 2025), um potenziell den nächsten Schritt zu ermöglichen und dabei die Erforschung von Melanomhirnmetastasen und deren Ansprechen auf bereits existierende Medikamente auf molekularer Ebene präzise zu charakterisieren. Das BMG hat im Dezember 2025 dieses Nachfolgeprojekt genehmigt (STAR-MBM, FK: 2526FSB005). Der Teilprojektleiter von B.1 wird zukünftig seine Expertise im Bereich der Melanomforschung in ein für drei Jahre gefördertes EU-Verbundprojekt einbringen und dabei interdisziplinär mit Partnern aus Greifswald, Wien, Bergen und Budapest zusammenarbeiten. Darüber hinaus konnte der Teilprojektleiter während der Laufzeit des MelBrainSys-Juniorverbundes seine Habilitation abschließen und sich somit für potenziell mögliche weitere Karriereschritte qualifizieren. Ebenso konnte die Doktorandin, welche die HMM-Ansätze für das Teilprojekt implementiert hat, auf Basis ihrer Publikationen ihre Doktorarbeit erfolgreich abschließen. Auch der Postdoc, der maßgeblich den Netzwerkansatz weiterentwickelt hat und die Einzelzellanalysen durchgeführt hat, konnte sich durch die beiden zugehörigen Publikationen für den nächsten Karriereschritt weiterqualifizieren. Somit konnte durch die Förderung des Teilprojekts B.1 des MelBrainSys-Juniorverbunds auch ein nachhaltiger Beitrag für die Etablierung der Systemmedizin in Deutschland gelegt werden.

5. Während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Nach der Identifikation von Kandidatengenen, die Hirn- von Nichthirnmastasen unterscheiden, gab es Hinweise durch Genannotationsanalysen, dass Gene, die für die Ausbildung und Funktion von Synapsen wichtig sind, überrepräsentiert waren und eine Adaptation an das Mikromilieu des Gehirns erfolgen könnten. Dies deutete darauf hin, dass vielleicht eine biologisch relevante Kommunikation zwischen Melanometastasezellen im Gehirn und Neuronen stattfinden könnte. Dies wurde bereits in ähnlicher Weise für Hirntumore gezeigt [Venkataramani *et al.* 2019, PMID: 31534219]. Dies wurde daraufhin in enger Zusammenarbeit mit der Teilprojektleiterin

des Teilprojekts B.4 untersucht. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollen in eine gemeinsame Publikation einfließen, die ausgehend von den finalen Ergebnissen noch von der Teilprojektleiterin des Teilprojekts B.4 finalisiert werden muss.

Die im MelBrainSys-Juniorverbund zur Verfügung stehenden Genexpressionsdaten der weltweit einzigartigen Melanompatientenkohorte, wurden auf Basis einer Bulktranskriptomsequenzierung gemessen und haben daher keine Einblicke auf Einzelzellebene erlaubt. Um besser zu verstehen, wie sich die von uns gefundenen Kandidatengene und Signalwege auf Einzelzellebene verhalten und in welchen Zelltypen diese Gene und Signalwege überhaupt exprimiert sind, wurde es durch die rasante Entwicklung von Einzelzellsequenzierungstechnologien während der Projektlaufzeit möglich, auf bereits publizierte Einzelzelldaten zurückzugreifen [Biermann *et al.* (2022), PMID: 35803246]. Diese Daten wurden von uns systematisch analysiert und gezielt im Hinblick auf die von uns gefundenen veränderten Kandidatengene und Signalwege untersucht. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sind sehr wichtig für alle anderen Teilprojekte (B.2-4). Die durchgeführte Analyse legt die Grundlage dafür, dass noch gezielter Gene für experimentelle Analysen ausgewählt werden können, um deren Einfluss auf die Entwicklung von Hirnmetastasen zu untersuchen. Diese Datenbasis könnte zukünftig dazu beitragen, geeignete molekulare Zielstrukturen für die Entwicklung von hirnspezifischen Therapieansätzen auszuwählen.

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Erfolgte projektspezifische wissenschaftliche Veröffentlichung (peer-reviewed, Teilprojekt-B.1-Mitarbeiter fett, MelBrainSys-Konsortialpartner unterstrichen):

1. D. Westphal, M. Meinhardt, **K. Grützmann**, L. Schöne, J. Steininger, L. T. Neuhaus, M. Wiegel, D. Schrimpf, D. E. Aust, E. Schröck, G. B. Baretton, S. Beisert, T. A. Juratli, G. G. Schackert, J. Gravemeyer, J. C. Becker, A. von Deimling, C. Koelsche, B. Klink, F. Meier*, A. Schulz*, M. H. Muders*, **M. Seifert***: Identification of Epigenetically Regulated Genes Distinguishing Intracranial From Extracranial Metastases, *Journal of Investigative Dermatology*, 2023, 143(7), 1233 – 1245.e17. (*: shared senior authorship)
2. **T. Kraft**, **K. Grützmann**, M. Meinhardt, F. Meier, D. Westphal, **M. Seifert**: Patient-specific identification of genome-wide DNA-methylation differences between intracranial and extracranial melanoma metastases, *Scientific Reports*, 2023, 13, 444.
3. **K. Grützmann**, **T. Kraft**, M. Meinhardt, F. Meier, D. Westphal, **M. Seifert**: Network-based analysis of heterogeneous patient-matched brain and extracranial melanoma metastasis pairs reveals three homogeneous subgroups, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2024, 23, 1036 – 1050.
4. **T. Kraft**, **K. Grützmann**, M. Meinhardt, F. Meier, D. Westphal, **M. Seifert**: Personalized identification and characterization of genome-wide gene

expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs, *Acta Neuropathologica Communications*, 2024, 12:67.

5. **K. Grützmann, M. Seifert:** Single-cell transcriptome analysis suggests cells of the tumor microenvironment as a major discriminator between brain and extracranial melanoma metastases, *Biology Direct*, 2025, 20, 97.

Posterpräsentationen von Zwischenständen obiger Publikationen:

1. German Conference on Bioinformatics, 2021, virtuell: [2,3]
2. e:Med Meeting on Systems Medicine, 2021, virtuell: [2,3]
3. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2022, Göttingen: [2,3]
4. German Conference on Bioinformatics, 2022, Halle (Saale): [3,4]
5. e:Med-Meeting on Systems Medicine, 2022, Heidelberg: [1,3,4]
6. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2023, Stuttgart: [4]
7. German Conference on Bioinformatics, 2023, Hamburg: [3,4]
8. e:Med-Meeting on Systems Medicine, 2023, Berlin: [1,3]
9. EMBO Workshop: Computational models of life: from molecular biology to digital twins, 2023, Sant Feliu de Guixols, Spain: [3]
10. 5th Central German Meeting on Bioinformatics, 2024, Jena: [3,4]
11. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2024, Dresden: [3,4]
12. German Conference on Bioinformatics, 2024, Bielefeld: [4]
13. e:Med-Meeting on Systems Medicine, 2024, Hamburg: [4]

Posterpreis:

1. T. Kraft, K. Grützmann, M. Meinhardt, F. Meier, D. Westphal, M. Seifert: Personalized identification and characterization of genome-wide gene expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs, EMBO Workshop: Computational models of life: from molecular biology to digital twins, 26.11.2023 – 01.12.2023, Sant Feliu de Guixols, Spain.

Vorträge auf Konferenzen/Workshops:

1. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2022, Göttingen: “Patient-specific identification of genome-wide DNA-methylation differences between intracranial and extracranial melanoma metastases”
2. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2023, Stuttgart: “Network-based analysis of heterogeneous patient-matched brain and

extracranial melanoma metastasis pairs reveals three homogeneous subgroups”

3. e:Med-Meeting on Systems Medicine, 2023, Berlin: “Personalized identification and characterization of genome-wide gene expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs”
4. e:Med-Juniorverbundsymposium, 2024, Frankfurt: “MelBrainSys: Model-based prediction and experimental validation of novel therapeutic interventions for melanoma brain metastases”
5. Workshop on Computational Models in Biology and Medicine, 2024, Dresden: “HMM-based identification of gene expression differences between patient-matched melanoma metastasis pairs”
6. GMDS, 2024, Dresden: “Hidden Markov Models for personalized identification of genomewide gene expression differences between patient-matched melanoma metastasis pairs”

Öffentlichkeitsarbeit

1. D. Westphal, M. Seifert (2021): Interview mit Dana Westphal und Michael Seifert: *“Komplexe Fragestellungen kann man nur durch Interdisziplinarität beantworten.”* - Interdisziplinärer Juniorverbund forscht an neuen Therapieansätzen für Melanom-Hirnmetastasen, gesundhyte.de, Ausgabe 14 Dezember 2021, 73-76.
2. D. Westphal, R. Wehner, F. Meier, M. Karreman, M. Seifert (2021): e:Med-Juniorverbund: MelBrainSys – Modellbasierte Vorhersage und experimentelle Validierung neuer therapeutischer Interventionen für Melanom-Hirnmetastasen, Spitzenforschung in der onkologischen Dermatologie. Innovationen und Auszeichnungen 2021, ALPHA Informations-GmbH, Lampertheim, 38-48.
3. Beiträge zur e:Med Systems Medicine Twitterweek, 2021
4. D. Westphal, M. Seifert (2022): Interview with Dana Westphal and Michael Seifert: *“Interdisciplinarity is the only way to answer complex questions”* – Interdisciplinary junior research alliance is investigating new therapeutic approaches to melanoma brain metastases, gesundhyte.de, Issue 14 June 2022, 73-76.
5. MelBrainSys-Vorstellung, EXPLORE Precision Medicine, 09. Oktober 2023, Futurium Berlin.

6. D. Westphal, R. Wehner, F. Meier, M. Karreman, M. Seifert, Hautkrebs im Hirn begegnen: Gehirnmetastasen beim Melanom, Systemmedizin – Die Forschung hinter der Präzisionsmedizin, Seite 29, Ausgabe Oktober 2023.

Abschlussarbeiten

1. M. Seifert: Computational Cancer Research: Network-based analysis of cancer data disentangles clinically relevant alterations from molecular measurements, 2022, Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät TU Dresden.
2. T. Kraft: Patient-specific identification of genome-wide methylation and expression differences between patient-matched intracranial and extracranial melanoma metastasis pairs using Hidden Markov Models, 2025, Doktorarbeit, Medizinische Fakultät TU Dresden.