

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein



Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia Legendi
im Fach Kinder- und Jugendmedizin

**Systematische Entschlüsselung kontextabhängiger
Tumor-Vulnerabilitäten zur Verbesserung der Therapie
kindlicher Krebserkrankungen**

vorgelegt von Dr. med. Christian Jörg Braun
aus Bad Hersfeld
im Jahr 2025

Fachmentorat:

Professor Dr. med. Dr. sci. nat Christoph Klein

Professor Dr. med. Irmela Jeremias

Professor Dr. med. Oliver Weigert

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
1 Einleitung und Hintergrund	4
1.1 Personalisierte, pädiatrische Onkologie	4
1.1.1 Die Ursprünge der pädiatrischen Onkologie	4
1.1.2 Generelle Prinzipien der antineoplastischen Therapie	5
1.1.3 Molekulare Therapien und (in)direkte Tumor-Vulnerabilitäten	6
1.2 Funktionelle Screens zur Entdeckung kontextabhängiger Vulnerabilitäten	7
2 Forschungsschwerpunkte und -projekte	9
2.1 Technologieentwicklung zur Hochdurchsatzmodellierung molekularer Krebsphänotypen	9
2.2 Therapeutische Interferenz mit aberranten Genexpressionprogrammen	11
2.3 Klinische Translation pädiatrischer Präzisionstherapien	13
3 Zusammenfassung und Ausblick	15
4 Literaturverzeichnis	16
5 Abkürzungsverzeichnis	20
6 Der Habilitationsschrift liegen folgende Schriften zugrunde	21
7 Lebenslauf (nicht in elektronischer Version)	25
8 Danksagung	27

1 Einleitung und Hintergrund

1.1 Personalisierte, pädiatrische Onkologie

1.1.1 Die Ursprünge der pädiatrischen Onkologie

Tumorerkrankungen begleiten den Menschen seit seiner Entstehung, wie Untersuchungen prähistorischer Skelettfunde nahelegen (Monge et al., 2013; Odes et al., 2016). Fallberichte über solide Tumoren reichen zurück bis zum altägyptischen *Papyrus Ebers*, der Begriff des „Karzinoms“ geht zurück auf Hippokrates („Krebs als ständiger Begleiter der Menschheit“, 2004). Trotzdem dauerte es bis zur Entwicklung der ersten Lichtmikroskope im 19. Jahrhundert und dem darauffolgenden Zeitalter der Zellulärpathologie, bis aus visuellen Beschreibungen korrekte Theorien zum Krebsursprung wurden. Auf Rudolf Virchow geht der Ausdruck „*omnis cellula e cellula*“, also frei übersetzt „Jede Zelle (stammt) von einer Zelle (ab)“, zurück (Virchow, 1858). Dieser kurze Satz fasst ein grundlegendes Prinzip der Pathologie zusammen, das im Wesentlichen bis heute gilt: Krankheiten entstehen durch Störungen der Körperzellen und übertragen auf die Onkologie: Tumoren entstehen aus vormals gesunden Zellen.

Aufgrund ihrer makroskopischen Sichtbarkeit bezogen sich frühe Beschreibungen des Krebses auf solide Tumoren. Michael Biermer, geboren im Jahre 1827 und ein Schüler Virchows, wird dann die erste Beschreibung eines an einer akuten Leukämie leidenden Kindes namens Maria zugeschrieben (Mukherjee, 2011): Aus heiterem Himmel zeigte das Mädchen eine unerklärliche Schwäche, entwickelte Hämatome ohne Trauma und ein hohes Fieber, die mikroskopische Untersuchung ihres Blutes zeigte eine abnorme Zellpopulation, die wir heute als leukämische Blasten kennen. Vielleicht war dies die Geburtsstunde der pädiatrischen Onkologie – auch wenn die Erkenntnisse für fast ein weiteres Jahrhundert nicht bedeuteten, dass an Leukämie erkrankte Kinder sinnvoll therapiert oder gar gerettet werden konnten.

Sidney Farber, ein 1903 in Buffalo, einer heutigen Großstadt im Westen des US-Bundesstaates New York, geborener Pathologe, gilt heute als Wegbereiter der chemotherapiebasierten Heilung an Leukämie erkrankter Kinder. Farbers berufliches Wirken fiel in eine Zeit, in der die Bedeutung der Vitamine Folsäure und B12 für die Hämatopoese erkannt wurde. Auch wenn sie der Folsäure nicht ihren heutigen Namen gab, beschrieb Lucy Wills erstmals den Zusammenhang zwischen Ernährungsmängeln und einer Form der makrozytären Anämie bei schwangeren Frauen in Bombay. Sie beobachtete, dass ein bisher unbekannter Nährstofffaktor – später als Folsäure identifiziert – für die Blutbildung essenziell war (Lucy Wills et al., 1931). Wills erkannte darüber hinaus, dass der zunächst nach ihr benannte „Wills-Faktor“ aus Hefeextrakten gewonnen werden konnte. Die günstigste Quelle für diesen Extrakt war Marmite, ein auch noch heute in englischsprachigen Ländern beliebter, folsäurehaltiger Brotaufstrich. Dass Folsäure also eine wichtige Rolle für die Zellbildung im Knochenmark darstellt, war Farber in den 1940er Jahren also wohl bekannt. Dass Anämien bei alimentärem Folsäuremangel und bei akuter Leukämie unterschiedliche Ursachen haben, aber vermutlich nicht. Deshalb verabreichten Farber und Kollegen Kindern mit akuter Leukämie Pteroyltryglutaminsäure, ein Folsäurekonjugat, in der Hoffnung, den Krankheitsverlauf zu verlangsamen. Statt einer Heilung kam es zu einer Beschleunigung des Krankheitsverlaufs, die Farber und Kollegen als „Acceleration“ bezeichneten und daraus den Schluss zogen, dass nicht Folsäure, sondern Folsäureantagonisten zur Heilung von Leukämie benötigt würden (Farber,

1949). In der Tat konnten in den folgenden Jahren Farber und Kollegen mit dem Folsäureantagonist Aminopterin erstmals passagere Remissionen bei an akuter Leukämie leidenden Kindern erzielen (Farber et al., 1948).

Im Lichte dieser Erfolge im Kampf gegen kindliche Krebserkrankungen firmierte sich auch in Deutschland die pädiatrische Hämatologie und -Onkologie als Fach. Früh setzte sich die Überzeugung durch, dass sich angesichts geringer Fallzahlen nur durch Zentralisierung rasche Fortschritte erzielen lassen. Es entstanden Zusammenschlüsse wie die „Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Leukämie-Forschung und -Behandlung im Kindesalter“ (DAL, 1965), in den 1970er Jahren das erste „West-Berliner Protokoll“ (später „Berlin-Frankfurt-Münster“ – BFM) zur Leukämietherapie, 1973 erfolgt die Gründung der „Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie“ (GPO), 1991 gingen DAL und GPO in der „Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie“ (GPOH) auf (Michael Hertl, 2001). Zentralisierung, strukturierte Therapieoptimierungsstudien und die Entwicklung neuer Therapien führten zur kontinuierlichen Verbesserung der Langzeitprognose an Krebs erkrankter Kinder- und Jugendlicher, die inzwischen bei über 80% liegt (Niemeyer et al., 2018).

1.1.2 Generelle Prinzipien der antineoplastischen Therapie

Folsäureantagonisten wie das von Faber eingesetzte Aminopterin oder das heute verwendete, strukturell verwandte Methotrexat wirken deshalb antineoplastisch, weil sie bestimmte Krebszellen stärker schädigen als gesunde Körperzellen. Der Dosisbereich, in dem eine antineoplastische Therapie wirksam ist, ohne dass inakzeptable Nebenwirkungen auftreten, wird als „therapeutisches Fenster“ bezeichnet. Doch warum existiert diese mehr oder weniger ausgeprägte selektive Wirkung klassischer Chemotherapeutika und molekularer Medikamente gegenüber Krebszellen?

Erhöhte Proliferation. Ein häufig herangezogenes Erklärungsmodell ist die hohe Proliferationsrate vieler Krebszellen, durch die diese verstärkt auf die Synthese neuer DNA-Bausteine angewiesen sind. Folsäureantagonisten hemmen die Synthese von Purinbasen und entfalten daher vermutlich ihre besonders starke Wirkung sowohl gegen hochproliferative Tumoren als auch gegen schnell teilende physiologische Gewebe wie beispielsweise die Mund- und Darmschleimhaut.

Verstärkte Aktivierung des Therapeutikums im Tumor. Manche Chemotherapeutika liegen als sogenannte Prodrugs vor und werden im Tumormilieu stärker in ihre aktiven Metabolite umgewandelt als in gesunden Geweben. Ein Beispiel hierfür ist Mitomycin C – ein Alkylanz, dem zugeschrieben wird, unter hypoxischen Bedingungen verstärkt aktiviert zu werden (Kennedy et al., 1980).

Defekte DNA-Reparatur. Die Inaktivierung zellulärer DNA-Reparaturmechanismen ist ein häufiges Ereignis im Rahmen der Onkogenese unterschiedlichster Tumorentitäten. Mechanistisch ist davon auszugehen, dass diese Inaktivierung zur genetischen Instabilität beiträgt, also das Mutationsreservoir eines Tumors erhöht und den Weg für die Akkumulation weiterer onkogener Mutationen ebnet. Es erscheint folgerichtig, dass fehlerhafte DNA-Reparaturmechanismen die zelluläre Sensitivität für bestimmte Chemotherapeutika erhöhen. Gezeigt werden konnte dies beispielsweise für den Folsäureantagonisten Methotrexat, dessen Wirkung durch Defizienz des Mismatch-Reparatur-Proteins MSH2 verstärkt wird. Mechanistisch wurde dies auf die Methotrexat-vermittelte Induktion oxidativer DNA-Schäden zurückgeführt, die bei Inaktivierung dieses Reparaturweges schlechter repariert werden können (Martin et al., 2009).

Verstärkte Abhängigkeit von Chaperonen. Chaperone sind molekulare Maschinerien, welche Proteine bei ihrer korrekten Faltung unterstützen. HSP90 gehört zu einer bestimmten Untergruppe dieser Familie, den sogenannten Hitzeschockproteinen. In Krebszellen kommt HSP90 und seinen Familienmitgliedern eine besondere Bedeutung zu, denn sie schützen überexprimierte, krebsassoziierte Proteine wie beispielsweise Onkogene vor fehlerhafter Faltung und Abbau. Aus dieser Funktion ergibt sich eine verstärkte Sensitivität vieler Krebszellen gegenüber molekularer HSP90-Inhibitoren (Trepel et al., 2010).

Überexpression onkogener Proteine. Manche Onkogene, wie beispielsweise Rezeptortyrosinkinasen in glialen ZNS-Tumoren, sind therapeutisch direkt inhibierbar. Das therapeutische Fenster ergibt sich aus der funktionellen Abhängigkeit und erhöhten Expression bestimmter Tumorzellen im Vergleich zu gesunden Körperzellen (Tomuleasa et al., 2024).

Expression einer für die Immuntherapie zugänglichen Zielstruktur. Die antikörperbasierte Immuntherapie mit Zielstrukturen wie GD2 (in Neuroblastomen mittels Dinutuximab), CD20 (in B-Zell-Lymphomen mittels Rituximab) und CD19 (in B-Vorläufer-Leukämien mittels Blinatumomab) haben Einzug in die pädiatrische Onkologie gehalten und gehören inzwischen zum Standardrepertoire (Rashed, 2022). Zelluläre Immuntherapien mittels CAR-T-Zellen werden in Studien ausgetestet und klinisch aktuell noch vorwiegend in Rezidivsituationen eingesetzt.

1.1.3 Molekulare Therapien und (in)direkte Tumor-Vulnerabilitäten

Sequenziertechnologien der nächsten Generation (NGS) und ein inzwischen immer breiter werdendes Portfolio molekular zielgerichteter Krebstherapeutika haben auch in der pädiatrischen Onkologie ein Zeitalter der Präzisionsmedizin eingeleitet. Einen besonders großen, klinischen Benefit bringen molekulare Therapeutika dabei immer dann, wenn treibende Onkogene direkt inhibiert werden können, also ein „high evidence target“ (van Tilburg et al., 2021) oder gar ein angreifbares Fusionsprotein (Church et al., 2022) existiert. Trotz aller Fortschritte trifft dies aber auf nur einen Bruchteil unseres pädiatrischen Patientenkollektivs zu: Veränderungen des ALK-Gens in bestimmten Lymphomen und im Neuroblastom, des BRAF-Gens und anderer Kinasen in pädiatrischen Gliomen und der ABL-Kinase in Leukämien sind Kernbestandteil dieser kleinen Gruppe an Mutationen mit direkter therapeutischer Konsequenz (PDQ Pediatric Treatment Editorial Board, 2024). Andere Genomveränderungen, wie die MYCN-Amplifikation in Neuroblastomen, die SMARCB1-Mutation in Rhabdoidtumoren oder die Histonmutation pädiatrischer Mittelhirnlinien-Gliome entziehen sich aktuell noch einer direkten, therapeutischen Angreifbarkeit. Andere genetische Aberrationen, wie beispielsweise der genomische Verlust eines Tumorsuppressors, wären nur durch Restoration dessen Mutation direkt molekular adressierbar – eine Aussicht, die trotz aller Fortschritte im Bereich der Genomeditierung aktuell noch immer ein weit entferntes Ziel bleibt.

Eine Alternative zur direkten molekularen Inhibition derzeit nicht angreifbarer Genveränderungen ist das gezielte Ausnutzen indirekter Tumorzellvulnerabilitäten. Dieses Konzept basiert darauf, dass onkogene Veränderungen Tumorzellen von konkreten, sekundären Prozessen abhängig machen, die für gesunde Zellen entweder irrelevant oder deutlich weniger essenziell sind. Das vielleicht bekannteste Beispiel hierfür ist die synthetische Letalität zwischen BRCA und PARP: Die durch BRCA-Gene kodierten Proteine sind zentrale Bestandteile der homologen Rekombinationsreparatur, einem Mechanismus zur Behebung von DNA-Doppelstrangbrüchen. In Tumoren wie Brust- oder Eierstockkarzinomen sind BRCA-Gene häufig inaktiviert. Obwohl BRCA-Mutationen therapeutisch nicht rückgängig gemacht werden können, zeigt sich, dass BRCA-defiziente

Zellen stark von PARP-vermittelten DNA-Reparaturwegen abhängig sind. Durch die gezielte Hemmung von PARP kann diese Achillesferse ausgenutzt werden, was die molekulare Basis für die erfolgreiche Therapie BRCA-mutierter Tumoren darstellt (Patel et al., 2021).

Auch für pädiatrische Krebserkrankungen existieren solche indirekten, molekularen Vulnerabilitäten. Ein Beispiel, welches sich aktuell in klinischer Prüfung befindet, sind Menin-Inhibitoren. Bestimmte myeloische und lymphoblastische Neoplasien werden angetrieben von Fusionen des Proto-Onkogens KMT2A – einer aktuell noch nicht direkt angreifbaren, genetischen Veränderung. In KMT2A-veränderten Leukämien stellt ein Protein namens Menin eine indirekte therapeutische Vulnerabilität dar, denn die pro-onkogene Aktivierung zahlreicher KMT2A-Zielgene erfordert funktionelles Menin (Cuglievan et al., 2024).

1.2 Funktionelle Screens zur Entdeckung kontextabhängiger Vulnerabilitäten

Da inzwischen genetische Profile nahezu aller adulten und pädiatrischen Tumorentitäten vorliegen, bestehen die brennendsten Herausforderung der translationalen Onkologie darin, mutierten sowie in ihrer Expression oder Funktion dysregulierten Genen präzise molekulare Funktionen zuzuweisen, ihre Rolle im organismalen Kontext zu verstehen und ihr Potenzial als Zielstrukturen für molekulare Krebstherapeutika systematisch zu untersuchen. Funktionelle Genperturbations-Screens beschleunigen diesen Prozess: Mithilfe von Technologien wie CRISPR-Cas oder RNA-Interferenz werden Gene systematisch und gezielt verändert, um ihre funktionelle Relevanz für zelluläre Prozesse wie Proliferation, Überleben oder Therapieantwort zu untersuchen. In der einfachsten Form wird jede genetische Veränderung einzeln in separaten Zellkulturschalen untersucht, um die dadurch verursachten phänotypischen Veränderungen zu analysieren. Sogenannte funktionelle Screens beschleunigen diesen Prozess und ermöglichen es, dass tausende genetische Veränderungen in einer einzigen Zellpopulation gleichzeitig untersucht werden. Dies wird beispielsweise dadurch erreicht, dass eine sgRNA-Bibliothek mithilfe viraler Vektoren so in die Zellkultur eingebracht wird, dass jede Zelle nur eine einzelne, punktgenaue genetische Veränderung trägt. Die gesamte Zellpopulation wird anschließend gemeinsamen definierten Selektionsbedingungen ausgesetzt. Veränderungen in der Häufigkeit spezifischer genetischer Modifikationen werden danach direkt oder indirekt mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung analysiert – ein Verfahren, das als „pooled Screen“ bezeichnet wird (Doench, 2018).

Funktionelle Screens können auch in lebenden Organismen durchgeführt werden. Es wird angenommen, dass translational relevante Genotyp-Phänotyp-Assoziationen durch die *in vivo* Modellierung translational relevanter werden im Vergleich zu konventionellen Zellkulturmodellen maligner Tumoren (Braun & Hemann, 2013). Diese Hypothese basiert auf der Beobachtung, dass sich die Auswirkungen einer bestimmten genetischen Perturbation sowohl zwischen verschiedenen Zellkulturmodellen als auch zwischen Zellen, die *in vivo* im Gewebeverband wachsen, und solchen, die unter Zellkulturbedingungen propagiert werden, unterscheiden. Die Ursache dieser phänotypischen Kontextabhängigkeit genetischer Veränderungen liegt darin, dass die zelluläre Reaktion auf eine genetische Perturbation sowohl durch zelleigene Faktoren als auch durch externe Einflüsse, wie das Gewebemikromilieu, bestimmt wird (Schneider et al., 2017).

Die vermutlich häufigste CRISPR-induzierte Genperturbation ist der Cas9-vermittelte genetische Knockout (CRISPR_{ko}). Dabei wird die aktive Cas9-Nuklease mithilfe einer spezifischen sgRNA

an einen definierten genomischen Locus geleitet, wo sie einen Doppelstrangbruch induziert. Dieser DNA-Schaden wird meist durch den zellulären Reparaturmechanismus „non-homologous end joining“ (NHEJ) behoben, ein fehleranfälliger Prozess, der häufig zu kleinen Insertionen oder Deletionen (INDELs) führt. Treten solche innerhalb einer kodierenden Sequenz auf, kommt es typischerweise zu Leserasterverschiebungen und vorzeitigen Terminationscodons, was in der Regel einen Funktionsverlust des Gens, also einen Knockout, zur Folge hat und die simpelste Genperturbation darstellt (Chehelgerdi et al., 2024).

Das CRISPR-Universum ermöglicht jedoch auch subtilere Genmodifikationen, wie den durch dCas9 (deadCas9) vermittelten Genknockdown, bei dem die Menge des Genprodukts reduziert wird, ohne dass es zu einem vollständigen Verlust kommt. Dieses Verfahren wird als CRISPR-Interferenz (CRISPR_i) bezeichnet. Darüber hinaus kann dCas9 genutzt werden, um transkriptionelle Aktivatoren gezielt an spezifische genetische Loci zu dirigieren. Diese Methode, bekannt als CRISPR-aktivierte Genexpression (CRISPR_a), ermöglicht eine gezielte Steigerung der Genexpression (Chehelgerdi et al., 2024). Genexpressionsveränderungen, die über die mutationsbedingte vollständige Aktivierung oder Inaktivierung hinausgehen, stellen dabei zentrale Mechanismen der Onkogenese dar. Sie können sowohl durch überexpressionsbedingte Aktivierung als auch durch herabregulationsbedingte Inaktivierung zellulärer Signalkaskaden Onkogene beeinflussen. Diese fein abgestimmten Veränderungen der Genexpression tragen entscheidend zur Tumorentstehung und -progression bei, indem sie Signalwege modulieren, die das Zellwachstum, die Differenzierung oder das Überleben steuern.

2 Forschungsschwerpunkte und -projekte

2.1 Technologieentwicklung zur Hochdurchsatzmodellierung molekularer Krebsphänotypen

Nachdem CRISPR_{ko} bereits kurz nach der ersten Anwendung der Cas9-Nuklease in eukaryotischen Systemen auch *in vivo* eingesetzt wurde (Sanchez-Rivera et al., 2014), fehlten zunächst entsprechende Nachweise dafür, dass CRISPR_a und CRISPR_i ebenfalls *in vivo* funktionsfähig sind. Diese Lücke schlossen wir, indem wir mittels dieser Technologien gezielt spezifische Gene in syngeneten, immunkompetenten Mausmodellen in ihrer Expression modulierten (Braun et al., 2016). Wir demonstrierten darüber hinaus, dass diese Technologie für Hochdurchsatzanwendungen genutzt werden kann und führten den ersten, gepoolten CRISPR_a-Screen in einem Maus-Krebsmodell durch (Braun et al., 2016). Das hier verwendete Mausmodell beruhte dabei auf murinen Zelllinien, die *in vitro* propagiert und genmodifiziert werden konnten. Nach CRISPR-Modifikation unter Kulturbedingungen wurden die Zellen dann mittels Schwanzveneninjektion zurück in den murinen Organismus gebracht, wo sie schließlich zu klinisch manifesten Krebserkrankungen führten. Man bezeichnet ein solches Experiment als Transplantations-Screen.

Wie viele Einzelgenperturbationen in Transplantations-Screens parallel *in vivo* untersucht werden können, hängt stark vom verwendeten Mausmodell ab: Leukämie- und Lymphommodelle zeichnen sich typischerweise durch ein sehr gutes Anwachsen transplanteder Zellen aus, während bei soliden Tumoren oft nur wenige Zellen im murinen Organismus anwachsen (Braun et al., 2022). Um eine bestimmte Anzahl an Genperturbationen parallel in einem *in vivo*-Screen zu analysieren, ist es jedoch erforderlich, dass genügend Zellen anwachsen, die jeweils eine einzelne Genperturbation und in der Summe alle Genperturbationen einer CRISPR-Bibliothek tragen. Ist dies nicht gewährleistet, gilt der Screen als „bottlenecked“. Solche Screens sind unzuverlässig, da sie zur starken Dominanz fitnessfördernder Genperturbationen führen und andere gar nicht repräsentiert werden (Braun et al., 2022).

Auch Tumormodelle, die schlecht in der Maus anwachsen, können für Transplantations-Screens verwendet werden, erfordern jedoch kleinere CRISPR-Bibliotheken. Kommerziell verfügbare, kleinere Bibliotheken passen jedoch oft nicht optimal zu spezifischen wissenschaftlichen Fragestellungen, was einen hohen Bedarf an flexibel gestaltbaren, maßgeschneiderten CRISPR-Bibliotheken geschaffen hat. Um dieser Herausforderung zu begegnen, haben wir in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Irmela Jeremias die *in silico*- und Laborplattform CRISPR-CLUE entwickelt (Becker et al., 2020). CLUE ermöglicht es, aus einem einzigen synthetischen Oligonukleotid-Pool beliebig große CRISPR-Bibliotheken zu generieren. Zentral für diese Methode ist dabei eine geschachtelte Barcode-Strategie mit individuellen Primer-Bindungsstellen, so dass verschiedene Bibliotheken gezielt aus einem gemeinsamen Pool herausamplifiziert werden konnten. Wir konnten zeigen, dass mit dieser Methode nicht nur eine gleichmäßige sgRNA-Verteilung erreicht werden konnte, sondern auch Kreuzkontaminationen zwischen verschiedenen Sub-Bibliotheken vermieden werden konnten (Becker et al., 2020).

Neben der Gefahr des Bottleneckings haben Transplantations-Screens einen weiteren großen Nachteil: Verwendet man *in vitro* kultivierte Tumorzellen zur Geneditierung und transplantationsbasierten Tumorinduktion, lassen sich zwar therapeutisch nutzbare Krebs-Schwachstellen gut identifizieren, eine Modellierung der der Onkogenese zugrunde liegenden genetischen Tumorevolution gelingt aber typischerweise nicht (Braun et al., 2022). Um dies zu erreichen, muss die

Genperturbation direkt in physiologischen Geweben und Organen erfolgen. Für bestimmte Gewebe der Maus wie z. B. die Leber sind solche sogenannten „direct *in vivo*-Screens“ auch tatsächlich durchführbar: Unter hohem Druck werden CRISPR-Plasmide in die murine Schwanzvene eingespritzt, es kommt unter dieser Prozedur zum kurzzeitigen Rechtsherzversagen und zum retrograden Eindringen dieser Plasmide über die Lebervenen in Hepatozyten. Man nennt dieses Prozedere in englischer Sprache HTVI, was für „Hydrodynamic tail vein injection“ steht. Für andere Organe, wie zum Beispiel für die Bauchspeicheldrüse, ist hingegen HTVI schlechter geeignet, gemultiplexte CRISPR *in vivo*-Screens funktionieren hier besser mit Methoden wie der Elektroporation und der AAV-basierten viralen Transduktion nach intraperitonealer Injektion. Hier haben wir in der Vergangenheit zu konkreten Protokollen und Handlungsanweisungen für gastrointestinale Tumorerkrankungen beigetragen, welche von Prof. Roland Rads Arbeitsgruppe entwickelt worden waren (Kaltenbacher et al., 2022).

Sowohl die Anzahl verfügbarer Genperturbationssysteme als auch die organspezifischen Genperturbationsmethoden werden zunehmend unübersichtlicher. In der Vergangenheit waren wir deshalb, erneut unter der Federführung der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Roland Rad, an einer umfassenden Übersichtsarbeit zu diesem Thema beteiligt. Diese Arbeit umfasste dabei nicht nur exogen zugeführte Genperturbationssysteme, sondern auch endogene Transposonsysteme transgener Mäuse (Weber et al., 2020).

Konkret für Transplantations- und direct *in vivo*-Screens haben wir, ebenfalls gemeinsam mit der Arbeitsgruppe Herrn Prof. Roland Rads, ein Tutorial verfasst, das eine umfassende Anleitung zur Planung und Durchführung von CRISPR-basierten *in vivo*-Screens bietet (Braun et al., 2022). In dieser Arbeit wird unter anderem erläutert, welche biologischen Fragestellungen mit *in vivo*-Screens adressiert werden können, welche Vor- und Nachteile die verschiedenen CRISPR-Systeme aufweisen, wie Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zwischen Transplantations- und direct *in vivo*-Screens wählen können und wie die bioinformatische Analyse gepoolter Screens durchgeführt wird (Braun et al., 2022).

Die Fähigkeit, Genfunktionen im Hochdurchsatz sowohl in Zellkulturen als auch *in vivo* zu modellieren, hat in der Vergangenheit zahlreiche weitere Kollaborationsprojekte hervorgebracht.

Hierzu zählt beispielsweise eine im Labor von Prof. Stephen Elledge durchgeführte Studie, die die Rolle des Gens PVRL4 untersuchte. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass PVRL4 das Überleben und die Proliferation von Zellen auch ohne Anhaftung an die extrazelluläre Matrix fördert. Dabei spielen durch PVRL4 vermittelte Interaktionen eine entscheidende Rolle, da sie den Integrin- β 4-Signalweg unabhängig von der Matrixbindung aktivieren und so das Überleben der Zellen trotz fehlender Verankerung ermöglichen. In manchen Krebsentitäten, wie beispielsweise Tumoren der weiblichen Brust, liegt der genomische Locus PVRL4s fokal amplifiziert oder als sogenannter *Copy-Number-Gain* vor. Wir konnten die federführenden Autorinnen und Autoren darin unterstützen, zu demonstrieren, dass eine PVRL4-Hemmung das Wachstum im Mausmodell wachsender Tumorzellen herabsetzt (Pavlova et al., 2013).

In einer anderen Kollaboration unterstützten wir die Forschungsgruppe Herrn Prof. Scott Powers dabei, durch funktionelle Screens gezielt jene in Brustkrebszellen überexprimierten Gene zu identifizieren, deren Verlust die Zellfitness nachhaltig beeinträchtigt, und konzentrierten uns anschließend auf CEACAM5 als potenziellen onkogenen Treiber: Die Überexpression von CEACAM5 aktiviert Signalwege wie β -Catenin und verschafft Brustkrebszellen dadurch einen entscheidenden Wachstumsvorteil (Mofunanya et al., 2024).

Dass CRISPR- oder RNAi-induzierte Genperturbationen auch dazu genutzt werden können, zell-intrinsische Resistenzfaktoren gegenüber klassischen Chemotherapien zu modellieren, konnten wir zusammen mit Arbeitsgruppe Prof. Leona Samsons zeigen. Temozolomid (TMZ) ist ein sogenanntes Alkylans – also ein Chemotherapeutikum, das DNA-Schäden verursacht, indem es Methylgruppen an die DNA anfügt. Klinisch wird TMZ zum Beispiel zur Therapie maligner Gliome eingesetzt. Es ist insbesondere dann gut wirksam, wenn Krebszellen das Suizidenzym MGMT nicht exprimieren. Darüber hinaus werden Gliompatientinnen und -patienten typischerweise nicht weiter hinsichtlich der zu erwartenden Wirkung TMZs stratifiziert. In dieser Arbeit konnten wir nun zeigen, dass schon kleine Unterschiede in der Expression des DNA-Mismatch-Reparaturgens MSH2s dazu führen, dass Gliomzellen resistent gegenüber TMZ werden (McFaline-Figueroa et al., 2015).

Funktionelle Screens können auch helfen, Resistenzmechanismen in der Krebsimmuntherapie zu identifizieren. Hier konnten wir in der Vergangenheit Prof. Christian Pallasch unterstützen, der zeigen konnte, dass hämatopoetische B-Zellneoplasien eine immunsuppressive Mikroumgebung im Knochenmark erzeugen, die zu geringen therapeutischen Effekten des Anti-CD52-Antikörpers Alemtuzumab *in vivo* führt. Nachdem ein funktioneller *in vivo*-Screen die Existenz dieser Mikroumgebung aufgedeckt hatte, konnten wir zeigen, dass das Zytostatikum Cyclophosphamid, das als Immunmodulator bekannt ist, dazu verwendet werden kann, diese Mikroumgebung zu durchbrechen und die therapeutische Wirkung von Alemtuzumab zu verstärken (Pallasch et al., 2014).

2.2 Therapeutische Interferenz mit aberranten Genexpressionprogrammen

Aberrante posttranskriptionelle Genexpressionsmechanismen werden von Tumorzellen genutzt, um onkogene Eigenschaften wie Zelltodresistenz, verstärkte Proliferation und Invasion zu erreichen (Braun & Hemann, 2019).

Ein Beispiel hierfür sind in Krebszellen aktive MikroRNA-Moleküle (miRNAs). MiRNAs sind kurze, nicht-kodierende RNA-Moleküle, die durch gezielte Bindung an mRNAs deren Stabilität und Proteintranslation regulieren. Tumorzellen nutzen deren aberrante Expression beispielsweise, um Tumorsuppressoren zu unterdrücken oder Onkogene zu stärken (Peng & Croce, 2016). Um nun besser zu charakterisieren, wie miRNAs mit dem bekannten Tumorsuppressor TP53 in humanen Zellen interagieren, haben wir die TP53-Expression mit *dem small molecule* Nutlin-3 induziert und mittels eines selbst produzierten MicroArrays die sich daraufhin verändernden miRNA-Expressionsmuster analysiert. Neben dem zu diesem Zeitpunkt bereits bekannten TP53-Effektor miR-34a (Chang et al., 2007; Corney et al., 2007; Raver-Shapira et al., 2007; Tarasov et al., 2007; Tazawa et al., 2007), konnten wir zeigen, dass auch die miRNA-Moleküle miR-192, miR-194 und miR-215 als Zielgene des Tumorsuppressors p53 fungieren und in der Lage sind, den Zellzyklus negativ zu beeinflussen (Braun et al., 2008; Georges et al., 2009). Eine verringerte Expression dieser Moleküle in humanen Kolontumoren im Vergleich zu normalem Darmgewebe deutete darüber hinaus auf eine klinisch-translationale Bedeutung hin (Braun et al., 2008).

Einige Jahre später trugen wir dann zu einer Arbeit bei, die das Verständnis des Tumorsuppressors TP53 weiter vertiefte. Neben seinen zahlreichen Funktionen reguliert TP53 in gesunden Zellen den Zellzyklus. Wird TP53 beispielsweise nach DNA-Schäden durch spezifische Kinasen aktiviert, induziert es Zielgene wie p21^{Cip1} und GADD45A (el-Deiry et al., 1993; Kastan et al., 1992), die einen Zellzyklusarrest auslösen. In vielen Krebszellen ist TP53 jedoch inaktiviert. Dennoch

kommt es auch in diesen Zellen nach DNA-Schäden häufig zu einem Zellzyklusarrest. Gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von Prof. Michael Yaffe konnten wir zeigen, dass das RNA-Bindeprotein (RBP) HNRNPA0 in diesem Kontext eine Schlüsselrolle spielt. Nach DNA-Schäden wird HNRNPA0 in TP53-mutierten Zellen durch die Kinase MK2 aktiviert. Aktiviertes HNRNPA0 stabilisiert anschließend die mRNAs von p27^{Kip1} und GADD45A, wodurch ein posttranskriptionell vermittelter Zellzyklusarrest induziert wird. Dieser Prozess verschafft den Zellen Zeit zur DNA-Reparatur. Der genetische Verlust von HNRNPA0 in TP53-defizienten Krebszellen führt zu einer erhöhten Sensitivität gegenüber Cisplatin-basierter Chemotherapie, weshalb HNRNPA0 in diesem genetischen Tumorkontext eine ausnutzbare Vulnerabilität darstellt (Cannell et al., 2015).

Auch wenn eine molekulare Tumolvulnerabilität gefunden wurde, bedeutet dies nicht, dass diese auch einen translationalen Wert besitzt. Dies liegt daran, dass ein erheblicher Teil zellulärer Genprodukte nicht direkt mit klassischen Pharmaka wie z.B. kleinen Molekülen therapeutisch angreifbar ist, was insbesondere auf nicht enzymatische, zelluläre Signalmoleküle wie beispielsweise Transkriptionsfaktoren zutrifft. Dies galt lange bzw. gilt auch heute noch für klassische Onkogene wie MYC, MYCN und KRAS. In einem Kollaborationsprojekt unterstützten wir die Arbeitsgruppe K. Dane Wittrups dabei, das zu dem damaligen Zeitpunkt noch als „undruggable“ geltende KRAS therapeutisch anzugreifen, indem wir einen synthetischen peptidbasierten KRAS-Binder namens R11.1.6 einsetzten, der das krebstherapeutisch hochrelevante KRAS G12D mit höherer Affinität bindet als das in gesunden Zellen vorkommende, nicht mutierte KRAS (Kauke et al., 2018).

Während meiner Zeit als Wissenschaftler im Labor von Prof. Michael Hemann am Massachusetts Institute of Technology konnten wir zeigen, dass das Spleißen sogenannter 'Detained Introns' – intronische Sequenzen, die in ansonsten vollständig gespleißten und polyadenylierten mRNA-Molekülen verbleiben – eine entscheidende Schwachstelle maligner Gliome darstellt (Braun et al., 2017). Grundlage dieser Entdeckung war erneut ein gepoolter *in vivo* Transplantations-Screen, welcher nicht auf CRISPR als Genperturbationsmethode, sondern auf RNA-Interferenz beruhte und mittels nach viraler Transduktion genomisch enkodierten shRNA-Molekülen durchgeführt wurde. Dieser Screen machte uns auf die Argininmethyltransferase PRMT5 aufmerksam, welche nach genetischer oder pharmakologischer Inhibition das Wachstum mehrerer Hirntumormodellsysteme verlangsamte. PRMT5 überträgt Methylgruppen auf Arginine zahlreicher zellulärer Proteine, darunter essenzielle Spleißregulatoren, deren Funktion durch diese Modifikation direkt beeinflusst wird.

Das Ausschalten von PRMT5 führte zu spezifischen Spleißdefekten, die sich insbesondere durch das Verbleiben intronischer Sequenzen in mRNAs von Proliferationsfaktoren zeigten. Diese 'detained introns' blockieren den nukleär-zytoplasmatischen Export der betroffenen mRNA-Moleküle, wodurch diese der Translation nicht mehr zur Verfügung stehen. In der Folge kommt es zu einem Funktionsverlust der kodierten Proteine und damit zur Hemmung der zellulären Proliferation. Interessanterweise ist PRMT5 in zahlreichen Tumoren hoch exprimiert, während neuronale Stammzellen während der Differenzierung PRMT5-Expression verlieren, postmitotisch werden und PRMT5-regulierte intronische Sequenzen in mRNAs von Proliferationsfaktoren anreichern (Braun et al., 2017).

In den folgenden Jahren konnten wir, zusammen mit der Arbeitsgruppe Herrn Prof. Günter Schneiders, dann zeigen, dass auch bestimmte, bösartige Tumoren der Bauchspeicheldrüse von PRMT5 abhängen und PRMT5-Inhibition eine mögliche Therapie für Erkrankte darstellt (Orben et al., 2022). Mechanistisch schien eine PRMT5-Inhibition hier insbesondere diejenigen zellulären Modelle in ihrer Fitness zu beeinflussen, die eine hohe Expression des onkogenen Transkriptionsfaktors MYC sowie dessen Zielgene aufwiesen (Orben et al., 2022).

2.3 Klinische Translation pädiatrischer Präzisionstherapien

Die klinische Translation molekularbiologischer Erkenntnisse ist zweifellos ein anspruchsvoller, oft langwieriger Prozess, der nicht selten von Rückschlägen begleitet wird. Dennoch bleibt sie das übergeordnete Ziel unserer Forschung. Wie entscheidend molekulare Defekte klinische Phänotypen prägen können, verdeutlicht unser Beitrag zur Erkenntnis, dass Loss-of-function (LOF)-Mutationen im Zytokinrezeptorgen IL21R bei betroffenen Kindern zu einer klinisch schwerwiegenden Immundefizienz führen (Kotlarz et al., 2013). Für betroffene Kinder erschienen zielgerichtete, kurative Therapien im Sinne einer Knochenmarkstransplantation zum Greifen nahe – kamen aber aufgrund der starken, körperlichen Beeinträchtigung entweder zu spät oder führten gar zum Tode im Rahmen des Prozederes (Kotlarz et al., 2013). Dieses tragische Beispiel unterstreicht die Dringlichkeit, molekulare Diagnosen frühzeitig zu stellen und Therapieansätze weiter zu optimieren.

Die hämatopoetische Gentherapie stellt hierbei eine Möglichkeit dar, um eine verlorene Genfunktion beispielsweise bei Immundefizienzpatientinnen und -patienten wiederherzustellen. Als Vektor zum Transfer gesunder Genkopien in betroffene Zellen können beispielsweise Retro- und Lentiviren genutzt werden. Die zelluläre Transduktion führt hierbei zur genomischen Integration des Transgens, was dauerhafte Persistenz und hohe Expression verspricht. Als Nachteil gilt hierbei insbesondere die sogenannte Genotoxizität, also die durch Vektorintegration vermittelte Kompromittierung endogener Gene. Diese Genotoxizität kann zur Tumorinduktion führen, indem beispielsweise das Ausschalten eines zellulären Tumorsuppressors durch direkte Insertion des Transgens in den Genkörper oder aber die Aktivierung eines Onkogenes durch virale long-terminal repeats (LTRs) die onkogene Transformation betroffener Zellen begünstigt. In der Vergangenheit war ich an einer klinischen Studie beteiligt, die den therapeutischen Benefit und genotoxischen Effekt einer viralen, hämatopoetischen Gentherapie für an dem Wiskott-Aldrich-Syndrom leidende Jungen untersuchte (Braun et al., 2014). Die Transplantation genveränderter hämatopoetischer Stammzellen führte dabei zwar zur stabilen Expression des Wiskott-Aldrich-Proteins in zahlreichen Zellreihen und zum initialen klinischen Benefit, aber auch zum genotoxizitätsvermittelten klonalen Auswuchs und Leukämieinduktion (Braun et al., 2014). Besonders ausgeprägt waren dabei genomische Vektorinsertionen, die zur Aktivierung des Proto-Onkogens LMO2 sowie zur Induktion mehrerer T-Zell-Neoplasien führten. Die weitere Charakterisierung der Leukämiezellen zeigte neben dieser, vermutlich die Onkogene anstoßenden, LMO2-Aktivierung auch ein breites Portfolio sekundärer molekularer Alterationen (Horak et al., 2020).

Nicht jede Präzisionstherapie genetischer Erkrankungen ist molekularer Natur. Ein Beispiel hierfür ist die sogenannte Epilepsiechirurgie: Bei medikamentös therapapierefraktären Epilepsien kann eine umfassende Diagnostik mittels hochauflösender MRT-Bildgebung sowie invasiver und nicht-invasiver EEG-Ableitung dabei helfen, die klinischen Anfälle einem spezifischen Bereich des Gehirns zuzuordnen (Borggraefe et al., 2023). Manchmal fällt bei dieser Aufarbeitung auf, dass ein niedrigmaliger Hirntumor Ursache der Epilepsie war. Ist dies der Fall und die Epilepsie medikamentös nicht zu beherrschen, dann stellt die Epilepsiechirurgie eine alternative Therapieform dar (Brown & Boop, 2016). Bei Kindern, die an einem hochmalignen Hirntumor und einer refraktären Epilepsie leiden, wird die Epilepsiechirurgie nur sehr selten eingesetzt. Die Ursachen hierfür sind sicherlich vielfältig, zu sehr begrenzte Lebenserwartung vieler Betroffener spielt hierbei aber sicherlich eine wichtige Rolle. Um besser zu verstehen, ob aber auch diese Kohorte Kinder und junger Erwachsener von einer Epilepsiechirurgie profitieren kann, haben wir eine retrospektive, klinische Studie zusammen mit Prof. Ingo Borggräfe durchgeführt. Unsere retrospektiven Ergebnisse zeigten, dass die Epilepsiechirurgie bei dieser Patientengruppe vergleichbare

Ergebnisse wie bei niedriggradigen Tumoren im Hinblick auf Sicherheit und Anfallsfreiheit erzielen kann (Lersch et al., 2025).

3 Zusammenfassung und Ausblick

Mein wissenschaftliches Interesse liegt in der Entdeckung, dem mechanistischen Verständnis und der klinischen Translation personalisierter Therapieansätze für kindliche Tumorerkrankungen.

In der Vergangenheit konnten wir beispielsweise zeigen, dass die therapeutische Hemmung der Arginindimethyltransferase PRMT5 ein intronspezifisches, onkogenes RNA-Spleißprogramm stört, wodurch Tumorzellen wichtige pro-proliferative Genprodukte verlieren. Ferner konnten wir in murinen Modellen nachweisen, dass für bestimmte, besonders PRMT5-abhängige Tumorsubtypen ein therapeutisches Fenster für eine pharmakologische PRMT5-Inhibition besteht. Seit der Veröffentlichung dieser Arbeiten hat PRMT5 als molekulare Zielstruktur große Aufmerksamkeit erfahren, da es möglich ist, PRMT5 mit hoher Spezifität in Zellen zu inhibieren, in denen das Gen MTAP zusammen mit den Tumorsuppressoren CDKN2A/B verloren gegangen ist. Während in Erwachsenen bereits „second generation“-PRMT5-Inhibitoren im Rahmen klinischer Studien getestet werden, sind wir an Forschungsprojekten beteiligt, um diesen Fortschritt auch für krebserkrankte Kinder zugänglich zu machen.

PRMT5 war ein besonders prominenter „Hit“ eines Transplantations-Screens, einer Methode, bei der Gene unter Zellkulturbedingungen funktionell beeinträchtigt, die modifizierten Krebszellen in Mausmodelle transplantiert und die resultierenden Phänotypen unter *in vivo*-Bedingungen systematisch kartiert werden. Diese funktionelle Hochdurchsatzgenomik ist insbesondere vonnöten, um pädiatrischen Tumoren ohne direkte therapeutische Zielstrukturen indirekte Vulnerabilitäten zuzuweisen. Ein Schwerpunkt meiner Forschung liegt darin, diese Methodik weiterzuentwickeln und einem breiteren wissenschaftlichen Umfeld zugänglich zu machen.

Meine Hoffnung ist es, mit dieser Forschung dazu beizutragen, dass nebenwirkungsreiche Chemotherapien in Zukunft an Bedeutung verlieren und eines Tages jedem krebserkrankten Kind eine individuell angepasste, molekular zielgerichtete und personalisierte Therapie angeboten werden kann.

4 Literaturverzeichnis

- Becker, M., Noll-Puchta, H., Amend, D., Nolte, F., Fuchs, C., Jeremias, I., & Braun, C. J. (2020). CLUE: a bioinformatic and wet-lab pipeline for multiplexed cloning of custom sgRNA libraries. *Nucleic acids research*, 48(13), e78. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa459>
- Borggraefe, I., Tacke, M., Kunz, M., Vollmar, C., & Rémi, J. (2023). Epilepsy surgery in pediatric refractory status epilepticus. *Clinical Epileptology*, 36(4), 304–309. <https://doi.org/10.1007/s10309-023-00629-6>
- Braun, C. J., Adames, A. C., Saur, D., & Rad, R. (2022). Tutorial: Design and execution of CRISPR in vivo screens. *Nature Protocols*, 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00700-y>
- Braun, C. J., Boztug, K., Paruzynski, A., Witzel, M., Schwarzer, A., Rothe, M., Modlich, U., Beier, R., Göhring, G., Steinemann, D., Fronza, R., Ball, C. R., Haemmerle, R., Naundorf, S., Kühlcke, K., Rose, M., Fraser, C., Mathias, L., Ferrari, R., ... Klein, C. (2014). Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome-long-term efficacy and genotoxicity. *Science Translational Medicine*, 6(227). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007280>
- Braun, C. J., Bruno, P. M., Horlbeck, M. A., Gilbert, L. A., Weissman, J. S., & Hemann, M. T. (2016). Versatile in vivo regulation of tumor phenotypes by dCas9-mediated transcriptional perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(27), E3892–E3900. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600582113>
- Braun, C. J., & Hemann, M. T. (2019). Functional screens identify coordinators of RNA molecule birth, life, and death as targetable cancer vulnerabilities. *Current Opinion in Genetics and Development*, 54, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2019.04.003>
- Braun, C. J., & Hemann, M. T. T. transcription cycles in cancer. (2013). Unraveling tumor suppressor networks with in vivo RNAi. *Cell Stem Cell*, 12(6), 639–641. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.020>
- Braun, C. J., Stanciu, M., Boutz, P. L., Patterson, J. C., Calligaris, D., Higuchi, F., Neupane, R., Fenoglio, S., Cahill, D. P., Wakimoto, H., Agar, N. Y. R., Yaffe, M. B., Sharp, P. A., Hemann, M. T., & Lees, J. A. (2017). Coordinated Splicing of Regulatory Detained Introns within Oncogenic Transcripts Creates an Exploitable Vulnerability in Malignant Glioma. *Cancer Cell*, 32(4), 411–426.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.08.018>
- Braun, C. J., Zhang, X., Savelyeva, I., Wolff, S., Moll, U. M., Schepeler, T., Ørntoft, T. F., Andersen, C. L., & Dobbstein, M. (2008). P53-responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest. *Cancer Research*, 68(24), 10094–10104. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1569>
- Brown, M. T., & Boop, F. A. (2016). Epilepsy surgery for pediatric low-grade gliomas of the cerebral hemispheres: Neurosurgical considerations and outcomes. *Child's Nervous System: ChNS: Official Journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*, 32(10), 1923–1930. <https://doi.org/10.1007/s00381-016-3162-7>
- Cannell, I. G., Merrick, K. A., Morandell, S., Zhu, C.-Q., Braun, C. J., Grant, R. A., Cameron, E. R., Tsao, M.-S., Hemann, M. T., & Yaffe, M. B. (2015). A Pleiotropic RNA-Binding Protein Controls Distinct Cell Cycle Checkpoints to Drive Resistance of p53 -Defective Tumors to Chemotherapy. *Cancer Cell*, 28(5), 623–637. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.009>
- Chang, T.-C., Wentzel, E. A., Kent, O. A., Ramachandran, K., Mullendore, M., Lee, K. H., Feldmann, G., Yamakuchi, M., Ferlito, M., Lowenstein, C. J., Arking, D. E., Beer, M. A., Maitra, A., & Mendell, J. T. (2007). Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Molecular Cell*, 26(5), 745–752. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.05.010>
- Chehelgerdi, M., Chehelgerdi, M., Khorramian-Ghahfarokhi, M., Shafieizadeh, M., Mahmoudi, E., Eskandari, F., Rashidi, M., Arshi, A., & Mokhtari-Farsani, A. (2024). Comprehensive review of CRISPR-based gene editing: Mechanisms, challenges, and applications in cancer therapy. *Molecular Cancer*, 23(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01925-5>
- Church, A. J., Corson, L. B., Kao, P.-C., Imamovic-Tuco, A., Reidy, D., Doan, D., Kang, W., Pinto, N., Maese, L., Laetsch, T. W., Kim, A., Colace, S. I., Macy, M. E., Applebaum, M. A., Bagatell, R., Sabnis, A. J., Weiser, D. A., Glade-Bender, J. L., Homans, A. C., ... Janeway, K. A. (2022).

Molecular profiling identifies targeted therapy opportunities in pediatric solid cancer. *Nature Medicine*, 28(8), 1581–1589. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01856-6>

Corney, D. C., Flesken-Nikitin, A., Godwin, A. K., Wang, W., & Nikitin, A. Y. (2007). MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Research*, 67(18), 8433–8438. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1585>

Cuglievan, B., Kantarjian, H., Rubnitz, J. E., Cooper, T. M., Zwaan, C. M., Pollard, J. A., DiNardo, C. D., Kadia, T. M., Guest, E., Short, N. J., McCall, D., Daver, N., Nunez, C., Haddad, F. G., Garcia, M., Bhalla, K. N., Maiti, A., Catueno, S., Fiskus, W., ... Issa, G. C. (2024). Menin inhibitors in pediatric acute leukemia: A comprehensive review and recommendations to accelerate progress in collaboration with adult leukemia and the international community. *Leukemia*, 38(10), 2073–2084. <https://doi.org/10.1038/s41375-024-02368-7>

Doench, J. G. (2018). Am i ready for CRISPR? A user's guide to genetic screens. *Nature Reviews Genetics*, 19(2), 67–80. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.97>

el-Deiry, W. S., Tokino, T., Velculescu, V. E., Levy, D. B., Parsons, R., Trent, J. M., Lin, D., Mercer, W. E., Kinzler, K. W., & Vogelstein, B. (1993). WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 75(4), 817–825. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90500-p](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90500-p)

Farber, S. (1949). SOME OBSERVATIONS ON THE EFFECT OF FOLIC ACID ANTAGONISTS ON ACUTE LEUKEMIA AND OTHER FORMS OF INCURABLE CANCER. *Blood*, 4(2), 160–167. <https://doi.org/10.1182/blood.V4.2.160.160>

Farber, S., Diamond, L. K., Mercer, R. D., Sylvester, R. F., & Wolff, J. A. (1948). Temporary Remissions in Acute Leukemia in Children Produced by Folic Acid Antagonist, 4-Aminopteroyl-Glutamic Acid (Aminopterin). *New England Journal of Medicine*, 238(23), 787–793. <https://doi.org/10.1056/NEJM194806032382301>

Georges, S. A., Chau, B. N., Braun, C. J., Zhang, X., & Dobbelsstein, M. (2009). Cell cycle arrest or apoptosis by p53: Are microRNAs-192/215 and -34 making the decision? *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 8(5), 680–681.

Horak, P., Uhrig, S., Witzel, M., Gil-Farina, I., Hutter, B., Rath, T., Gieldon, L., Balasubramanian, G. P., Pastor, X., Heilig, C. E., Richter, D., Schröck, E., Ball, C. R., Brors, B., Braun, C. J., Albert, M. H., Scholl, C., von Kalle, C., Schmidt, M., ... Glimm, H. (2020). Comprehensive genomic characterization of gene therapy-induced T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 34(10), 2785–2789. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0779-z>

Kaltenbacher, T., Löprich, J., Maresch, R., Weber, J., Müller, S., Oellinger, R., Groß, N., Griger, J., de Andrade Krätzig, N., Avramopoulos, P., Ramanujam, D., Brummer, S., Widholz, S. A., Bärthel, S., Falcomatà, C., Pfaus, A., Alnatsha, A., Mayerle, J., Schmidt-Suppran, M., ... Rad, R. (2022). CRISPR somatic genome engineering and cancer modeling in the mouse pancreas and liver. *Nature Protocols*, 17(4), 1142–1188. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00677-0>

Kastan, M. B., Zhan, Q., el-Deiry, W. S., Carrier, F., Jacks, T., Walsh, W. V., Plunkett, B. S., Vogelstein, B., & Fornace, A. J. (1992). A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell*, 71(4), 587–597. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90593-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90593-2)

Kauke, M. J., Tisdale, A. W., Kelly, R. L., Braun, C. J., Hemann, M. T. M. T., Dane Wittrup, K., Wittrup, K. D., & Dane Wittrup, K. (2018). A Raf-competitive K-Ras binder can fail to functionally antagonize signaling. *Molecular Cancer Therapeutics*, 17(8), 1773–1780. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0645>

Kennedy, K. A., Rockwell, S., & Sartorelli, A. C. (1980). Preferential Activation of Mitomycin C to Cytotoxic Metabolites by Hypoxic Tumor Cells1. *Cancer Research*, 40(7), 2356–2360.

Kotlarz, D., Zięta, N., Uzel, G., Weidemann, T., Braun, C. J., Diestelhorst, J., Krawitz, P. M., Robinson, P. N., Hecht, J., Puchałka, J., Gertz, E. M., Schäffer, A. A., Klein, C., Lawrence, M. G., Kardava, L., Pfeifer, D., Baumann, U., Pfister, E.-D., Hanson, E. P., ... Klein, C. (2013). Loss-of-function mutations in the IL-21 receptor gene cause a primary immunodeficiency syndrome. *The Journal of experimental medicine*, 210(3), 433–443. <https://doi.org/10.1084/jem.20111229>

Krebs als ständiger Begleiter der Menschheit. (2004, April 7). *Neue Zürcher Zeitung*. <https://www.nzz.ch/article9ELNG-Id.296886>

Lersch, R., Hartlieb, T., Pieper, T., Kudernatsch, M., Hofer, W., Barba, C., Guerrini, R., Giordano, F., Pommella, M., Schubert-Bast, S., Syrbe, S., Rego, R., Pinheiro, J., Beck, A., Coras, R., Blumcke, I., Alber, M., Tacke, M., Rémi, J., ... Braun, C. J. (2025). Seizure Outcomes Following Epilepsy Surgery in Pediatric and Young Adult Patients with High-Grade Brain Tumors: Results from a European Survey. *Epilepsia*, *accepted*.

Lucy Wills, M. A. Cantab, & B. S. Lond. (1931). Treatment of „pernicious anaemia of pregnancy“ and „tropical anaemia“. *British Medical Journal*, 1(3676), 1059–1064. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.3676.1059>

Martin, S. A., McCarthy, A., Barber, L. J., Burgess, D. J., Parry, S., Lord, C. J., & Ashworth, A. (2009). Methotrexate induces oxidative DNA damage and is selectively lethal to tumour cells with defects in the DNA mismatch repair gene MSH2. *EMBO Molecular Medicine*, 1(6–7), 323–337. <https://doi.org/10.1002/emmm.200900040>

McFaline-Figueroa, J. L., Braun, C. J., Stanciu, M., Nagel, Z. D., Mazzucato, P., Sangaraju, D., Cerniauskas, E., Barford, K., Vargas, A., Chen, Y., Tretyakova, N., Lees, J. A., Samson, L. D., Hemann, M. T., White, F. M., & Samson, L. D. (2015). Minor changes in expression of the mismatch repair protein MSH2 exert a major impact on glioblastoma response to temozolomide. *Cancer research*, 75(15), 3127–3138. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3616>

Michael Hertl. (2001). History of Pediatric Oncology in Germany. *Klinische Pädiatrie*, 213(4), 149–152. <https://doi.org/10.1055/s-2001-16844>

Mofunanya, A., Cameron, E. R., Braun, C. J., Celeste, F., Zhao, X., Hemann, M. T., Scott, K. L., Li, J., & Powers, S. (2024). Simultaneous screening of overexpressed genes in breast cancer for oncogenic drivers and tumor dependencies. *Scientific Reports*, 14(1), 13227. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64297-w>

Monge, J., Kricun, M., Radovčić, J., Radovčić, D., Mann, A., & Frayer, D. W. (2013). Fibrous Dysplasia in a 120,000+ Year Old Neandertal from Krapina, Croatia. *PLOS ONE*, 8(6), e64539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064539>

Mukherjee, S. (2011). *The emperor of all maladies: A biography of cancer* (1st Scribner trade paperback ed). Scribner.

Niemeyer, C., Eggert, A., Gadner, H., Gaedicke, G., & Ritter, J. (Hrsg.). (2018). *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie* (2., vollständig überarbeitete Auflage). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-43686-8>

Odes, E. J., Randolph-Quinney, P. S., Steyn, M., Throckmorton, Z., Smilg, J. S., Zipfel, B., Augustine, T. N., Beer, F. de, Hoffman, J. W., Franklin, R. D., & Berger, L. R. (2016). Earliest hominin cancer: 1.7-million-year-old osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa. *South African Journal of Science*, 112(7/8), Article 7/8. <https://doi.org/10.17159/sajs.2016/20150471>

Orben, F., Lankes, K., Schneeweis, C., Hassan, Z., Jakubowsky, H., Krauß, L., Boniolo, F., Schneider, C., Schäfer, A., Murr, J., Schlag, C., Kong, B., Öllinger, R., Wang, C., Beyer, G., Mahajan, U. M., Xue, Y., Mayerle, J., Schmid, R. M., ... Schneider, G. (2022). Epigenetic drug screening defines a PRMT5 inhibitor-sensitive pancreatic cancer subtype. *JCI Insight*, 7(10), e151353. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.151353>

Pallasch, C. P., Leskov, I., Braun, C. J., Vorholt, D., Drake, A., Soto-Feliciano, Y. M., Bent, E. H., Schwamb, J., Iliopoulou, B., Kutsch, N., N. van R., Frenzel, L. P., Hemann, M. T., Van Rooijen, N., Frenzel, L. P., Wendtner, C. M., Heukamp, L., Kreuzer, K. A., Hallek, M., ... Hemann, M. T. (2014). Sensitizing Protective Tumor Microenvironments to Antibody-Mediated Therapy. *Cell*, 156(3), 590–602. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.041>

Patel, P. S., Algouneh, A., & Hakem, R. (2021). Exploiting synthetic lethality to target BRCA1/2-deficient tumors: Where we stand. *Oncogene*, 40(17), 3001–3014. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01744-2>

Pavlova, N. N., Pallasch, C., Elia, A. E. H., Braun, C. J., Westbrook, T. F., Hemann, M., & Elledge, S. J. (2013). A role for PVRL4-driven cell–cell interactions in tumorigenesis. *eLife*, 2. <https://doi.org/10.7554/eLife.00358>

PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. (2024). Childhood Cancer Genomics (PDQ®): Health Professional Version. In *PDQ Cancer Information Summaries*. National Cancer Institute (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK374260/>

- Peng, Y., & Croce, C. M. (2016). The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>
- Rashed, W. M. (2022). Immunotherapy for Pediatric Cancer. In N. Rezaei (Hrsg.), *Handbook of Cancer and Immunology* (S. 1–38). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-80962-1_246-1
- Raver-Shapira, N., Marciano, E., Meiri, E., Spector, Y., Rosenfeld, N., Moskovits, N., Bentwich, Z., & Oren, M. (2007). Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. *Molecular Cell*, 26(5), 731–743. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.05.017>
- Sanchez-Rivera, F. J., Papagiannakopoulos, T., Romero, R., Tammela, T., Bauer, M. R., Bhutkar, A., Joshi, N. S., Subbaraj, L., Bronson, R. T., Xue, W., & Jacks, T. (2014). Rapid modelling of cooperating genetic events in cancer through somatic genome editing. *Nature*, 516(7531), 428–431. <https://doi.org/10.1038/nature13906>
- Schneider, G., Schmidt-Suprian, M., Rad, R., & Saur, D. (2017). Tissue-specific tumorigenesis: Context matters. *Nature Reviews Cancer*, 17(4), 239–253. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.5>
- Tarasov, V., Jung, P., Verdoodt, B., Lodygin, D., Epanchintsev, A., Menssen, A., Meister, G., & Hermeking, H. (2007). Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 6(13), 1586–1593. <https://doi.org/10.4161/cc.6.13.4436>
- Tazawa, H., Tsuchiya, N., Izumiya, M., & Nakagama, H. (2007). Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(39), 15472–15477. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707351104>
- Tomuleasa, C., Tigu, A.-B., Munteanu, R., Moldovan, C.-S., Kegyes, D., Onaciu, A., Gulei, D., Ghiaur, G., Einsele, H., & Croce, C. M. (2024). Therapeutic advances of targeting receptor tyrosine kinases in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 1–51. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01899-w>
- Trepel, J., Mollapour, M., Giaccone, G., & Neckers, L. (2010). Targeting the dynamic HSP90 complex in cancer. *Nature reviews. Cancer*, 10(8), 537–549. <https://doi.org/10.1038/nrc2887>
- van Tilburg, C. M., Pfaff, E., Pajtler, K. W., Langenberg, K. P. S., Fiesel, P., Jones, B. C., Balasubramanian, G. P., Stark, S., Johann, P. D., Blattner-Johnson, M., Schramm, K., Dikow, N., Hirsch, S., Sutter, C., Grund, K., von Stackelberg, A., Kulozik, A. E., Lissat, A., Borkhardt, A., ... Witt, O. (2021). The Pediatric Precision Oncology INFORM Registry: Clinical Outcome and Benefit for Patients with Very High-Evidence Targets. *Cancer Discovery*, 11(11), 2764–2779. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0094>
- Virchow, R. (1858). *Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre: 20 Vorlesungen, gehalten während d. Monate Febr., März u. April 1858 im Patholog. Inst. zu Berlin*. Hirschwald.
- Weber, J., Braun, C. J., Saur, D., & Rad, R. (2020). In vivo functional screening for systems-level integrative cancer genomics. *Nature Reviews Cancer*, 20(10), 573–593. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0275-9>

5 Abkürzungsverzeichnis

AAV	Adeno-assoziierte Viren
BFM	Berlin-Frankfurt-Münster
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CRISPR _a	CRISPR activation
CRISPR _i	CRISPR interference
CRISPR _{ko}	CRISPR knockout
DAL	Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Leukämie-Forschung und -Behandlung im Kindesalter
dCas9	deadCas9
GPO	Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie
GPOH	Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie
HTVI	Hydrodynamische Schwanzvenen-Injektion
INDELs	Insertionen oder Deletionen
LOF	Loss-of-function
LTRs	Long-terminal repeats
MGMT	O-6-Methylguanin-DNA-Methyltransferase
miRNAs	MikroRNA-Moleküle
NGS	Sequenziertechnologien der nächsten Generation
NHEJ	Non-homologous end joining, ein DNA-Reparatur-Prozess
PRMT5	Protein arginin methyltransferase 5
RBP	RNA-Bindeprotein
TMZ	Temozolomid

6 Der Habilitationsschrift liegen folgende Schriften zugrunde

Becker, M., Noll-Puchta, H., Amend, D., Nolte, F., Fuchs, C., Jeremias, I.*, & Braun, C. J.*. (2020). CLUE: a bioinformatic and wet-lab pipeline for multiplexed cloning of custom sgRNA libraries. *Nucleic acids research*, 48(13), e78. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa459>

JIF (2021) 19.160

Braun, C. J., Adames, A. C., Saur, D., & Rad, R. (2022). Tutorial: Design and execution of CRISPR in vivo screens. *Nature Protocols*, 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00700-y>

JIF (2021) 17.021

Braun, C. J.*, Boztug, K.*, Paruzynski, A.*, Witzel, M.*, Schwarzer, A., Rothe, M., Modlich, U., Beier, R., Göhring, G., Steinemann, D., Fronza, R., Ball, C. R., Haemmerle, R., Naundorf, S., Kühlcke, K., Rose, M., Fraser, C., Mathias, L., Ferrari, R., ... Klein, C. (2014). Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome-long-term efficacy and genotoxicity. *Science Translational Medicine*, 6(227). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007280>

JIF (2021) 19.343

Braun, C. J.*, Bruno, P. M.*, Horlbeck, M. A., Gilbert, L. A., Weissman, J. S., & Hemann, M. T. (2016). Versatile in vivo regulation of tumor phenotypes by dCas9-mediated transcriptional perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 113(27), E3892–E3900. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600582113>

JIF (2021) 12.779

Braun, C. J., & Hemann, M. T. (2019). Functional screens identify coordinators of RNA molecule birth, life, and death as targetable cancer vulnerabilities. *Current Opinion in Genetics and Development*, 54, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2019.04.003>

JIF (2021) 4.665

Braun, C. J., & Hemann, M. T. T. transcription cycles in cancer. (2013). Unraveling tumor suppressor networks with in vivo RNAi. *Cell Stem Cell*, 12(6), 639–641. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.020>

JIF (2021) 25.269

Braun, C. J.*, Stanciu, M.*, Boutz, P. L.*, Patterson, J. C., Calligaris, D., Higuchi, F., Neupane, R., Fenoglio, S., Cahill, D. P., Wakimoto, H., Agar, N. Y. R., Yaffe, M. B., Sharp, P. A., He-mann,

M. T., & Lees, J. A. (2017). Coordinated Splicing of Regulatory Detained Introns within Oncogenic Transcripts Creates an Exploitable Vulnerability in Malignant Glioma. **Cancer Cell**, 32(4), 411-426.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.08.018>

JIF (2021) 38.585

Braun, C. J.*, Zhang, X.*, Savelyeva, I., Wolff, S., Moll, U. M., Schepeler, T., Ørntoft, T. F., Andersen, C. L., & Dobbelstein, M. (2008). P53-responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest. **Cancer Research**, 68(24), 10094–10104. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1569>

JIF (2021) 13.312

Cannell, I. G., Merrick, K. A.*, Morandell, S.*, Zhu, C.-Q., Braun, C. J., Grant, R. A., Cameron, E. R., Tsao, M.-S., Hemann, M. T., & Yaffe, M. B. (2015). A Pleiotropic RNA-Binding Protein Controls Distinct Cell Cycle Checkpoints to Drive Resistance of p53 -Defective Tumors to Chemotherapy. **Cancer Cell**, 28(5), 623–637. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.009>

JIF (2021) 38.585

Georges, S. A., Chau, B. N., Braun, C. J., Zhang, X., & Dobbelstein, M. (2009). Cell cycle arrest or apoptosis by p53: Are microRNAs-192/215 and -34 making the decision? **Cell cycle** (Georgetown, Tex.), 8(5), 680–681.

JIF (2021) 5.173

Horak, P., Uhrig, S., Witzel, M., Gil-Farina, I., Hutter, B., Rath, T., Gieldon, L., Balasubramanian, G. P., Pastor, X., Heilig, C. E., Richter, D., Schröck, E., Ball, C. R., Brors, B., Braun, C. J., Albert, M. H., Scholl, C., von Kalle, C., Schmidt, M., ... Glimm, H. (2020). Comprehensive genomic characterization of gene therapy-induced T-cell acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, 34(10), 2785–2789. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0779-z>

JIF (2021) 12.897

Kaltenbacher, T., Löprich, J., Maresch, R., Weber, J., Müller, S., Oellinger, R., Groß, N., Griger, J., de Andrade Krätzig, N., Avramopoulos, P., Ramanujam, D., Brummer, S., Widholz, S. A., Bärthel, S., Falcomatà, C., Pfau, A., Alnatsha, A., Mayerle, J., Schmidt-Supprian, M., Reichert, M., Schneider, G., Ehmer, U., Braun, C. J., Saur, D., Engelhardt, S., Rad, R. (2022). CRISPR somatic genome engineering and cancer modeling in the mouse pancreas and liver. **Nature Protocols**, 17(4), 1142–1188. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00677-0>

JIF (2021) 17.021

Kauke, M. J., Tisdale, A. W., Kelly, R. L., Braun, C. J., Hemann, M. T. M. T., Dane Wittrup, K., Wittrup, K. D., & Dane Wittrup, K. (2018). A Raf-competitive K-Ras binder can fail to functionally

antagonize signaling. **Molecular Cancer Therapeutics**, 17(8), 1773–1780. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0645>

JIF (2021) 6.011

Kotlarz, D.*, Zięta, N.*, Uzel, G., Weidemann, T., Braun, C. J., Diestelhorst, J., Krawitz, P. M., Robinson, P. N., Hecht, J., Puchalka, J., Gertz, E. M., Schäffer, A. A., Klein, C., Lawrence, M. G., Kardava, L., Pfeifer, D., Baumann, U., Pfister, E.-D., Hanson, E. P., ... Klein, C. (2013). Loss-of-function mutations in the IL-21 receptor gene cause a primary immunodeficiency syndrome. **Journal of experimental medicine**, 210(3), 433–443. <https://doi.org/10.1084/jem.20111229>

JIF (2021) 17.579

Lersch, L.*, Hartlieb, T.*, Pieper, T., Kudernatsch, M., Hofer, W., Barba, C., Guerrini, R., Giordano, F., Pommella, M., Schubert-Bast, S., Syrbe, S., Rego, R., Pinheiro, J., Feucht, M., Beck, A., Coras, R., Blumcke, I., Alber, M., Tacke, M., Rémi, J., Vollmar, C., Kunz, M., Shetty, J., McLellan, A., Sokol, D., Kandasamy, J., Klotz, K. A., San Antonio-Arce, V., Schulze-Bonhage, A., Pepper, J., Lo, W. B., Arzimanoglou, A., Francione, S., Braun, C. J.* and Borggraefe, I.*. Seizure Outcomes Following Epilepsy Surgery in Pediatric and Young Adult Patients with High-Grade Brain Tumors: Results from a European Survey. **Epilepsia** (accepted)

JIF (2021) 6.740

McFaline-Figueroa, J. L., Braun, C. J.*, Stanciu, M.*, Nagel, Z. D., Mazzucato, P., Sangaraju, D., Cerniauskas, E., Barford, K., Vargas, A., Chen, Y., Tretyakova, N., Lees, J. A., Samson, L. D., Hemann, M. T., White, F. M., & Samson, L. D. (2015). Minor changes in expression of the mismatch repair protein MSH2 exert a major impact on glioblastoma response to temozolomide. **Cancer research**, 75(15), 3127–3138. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3616>

JIF (2021) 13.312

Mofunanya, A., Cameron, E. R., Braun, C. J., Celeste, F., Zhao, X., Hemann, M. T., Scott, K. L., Li, J., & Powers, S. (2024). Simultaneous screening of overexpressed genes in breast cancer for oncogenic drivers and tumor dependencies. **Scientific Reports**, 14(1), 13227. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64297-w>

JIF (2021) 4.997

Pallasch, C. P., Leskov, I., Braun, C. J., Vorholt, D., Drake, A., Soto-Feliciano, Y. M., Bent, E. H., Schwamb, J., Iliopoulou, B., Kutsch, N., N., van R., Frenzel, L. P., Hemann, M. T., Van Rooijen, N., Frenzel, L. P., Wendtner, C. M., Heukamp, L., Kreuzer, K. A., Hallek, M., ... Hemann, M. T. (2014). Sensitizing Protective Tumor Microenvironments to Antibody-Mediated Therapy. **Cell**, 156(3), 590–602. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.041>

JIF (2021) 66.850

Pavlova, N. N., Pallasch, C., Elia, A. E. H., Braun, C. J., Westbrook, T. F., Hemann, M., & Elledge, S. J. (2013). A role for PVRL4-driven cell–cell interactions in tumorigenesis. **eLife**, 2. <https://doi.org/10.7554/eLife.00358>

JIF (2021) 8.713

Weber, J., Braun, C. J., Saur, D., & Rad, R. (2020). In vivo functional screening for systems-level integrative cancer genomics. **Nature Reviews Cancer**, 20(10), 573–593. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0275-9>

JIF (2021) 69.800

(* geteilte Autorenpositionen oder geteilte Position als korrespondierender Autor)

8 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinem Mentor, Prof. Christoph Klein, für seine langjährige Unterstützung und Förderung bedanken. Seine Begeisterung für die molekularen Grundlagenwissenschaften, die klinische Translation und die molekulare Therapie kindlicher Erkrankungen haben mir den Weg zu dieser Habilitationsschrift geebnet und mich stets motiviert. Sein Interesse an der Internationalisierung von Forschung, Krankenversorgung und Ausbildung hat meine berufliche Laufbahn seit meinen Studientagen geprägt, mich dazu ermutigt, Europa für viele Jahre zu verlassen, und mich am Ende dazu bewogen, nach München zurückzukehren und meinen medizinisch-wissenschaftlichen Fokus auf die Therapie krebskranker Kinder und Jugendlicher zu legen.

Mein weiterer Dank gilt den Mitgliedern meines Fachmentorats: Prof. Irmela Jeremias und Prof. Oliver Weigert, die mich auf dem Weg zur Habilitation begleitet und unterstützt haben.

Meinem Doktorvater, Prof. Matthias Dobbstein, sowie meinem ersten wissenschaftlichen Mentor, Prof. Norbert Hilschmann (†), gilt mein ganz besonderer Dank. Sie haben mir meine ersten Schritte in der molekularen Wissenschaft ermöglicht, mich in wissenschaftlichem Denken geschult und mich motiviert, den Weg des forschenden Arztes einzuschlagen. Auch viele Jahre nach meiner Promotion in seiner Arbeitsgruppe steht mir Prof. Dobbstein bis heute mit Rat und Tat zur Seite – meine Dankbarkeit dafür könnte nicht größer sein.

Prof. Michael Hemann vom Massachusetts Institute of Technology danke ich dafür, dass er mich als jungen Arzt in sein Labor aufgenommen, mich in die funktionelle Hochdurchsatzgenetik eingeführt und mich in den schönen wie auch schwierigen Momenten meines Werdegangs als Wissenschaftler unterstützt und gefördert hat.

Prof. Roland Rad von der Technischen Universität München möchte ich von Herzen dafür danken, mich vom ersten Moment meiner Rückkehr nach München bis heute persönlich und wissenschaftlich zu unterstützen. Lieber Roland, Deine Freundschaft und Unterstützung sind eine der wichtigsten Grundlagen meines Erfolgs.

Prof. Olaf Witt und Prof. Stefan Pfister vom Hopp-Kindertumorzentrum Heidelberg danke ich für meine Affiliation als externer Gruppenleiter, für ihre Unterstützung unserer Arbeit und dafür, den Weg für die klinische Translation unserer Forschung geebnet zu haben.

Meinen klinischen Vorbildern – Prof. Orsolya Genzel-Boroviczeny, Dr. Susanne Schmidt, Prof. Ingo Borggraefe, Prof. Esther Maier, Dr. Vera Binder, Prof. Irene Schmid, Prof. Michael Albert, Dr. Tanja Vallée, Prof. Fabian Hauck und Prof. Tobias Feuchtinger – danke ich herzlich für ihre Ausbildung, ihre Offenheit gegenüber meinem Modell des klinisch-translationalen ärztlichen Wissenschaftlers und ihre Unterstützung über den klinischen Alltag hinaus. Frau Dr. Vera Binder danke ich besonders dafür, dass sie mir vom ersten Tag in der klinischen Onkologie an Raum zur Entfaltung gegeben und mir das Gefühl vermittelt hat, langfristig Teil eines gemeinsamen Weges zu sein.

Den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe am Dr. von Haunerschen Kinderspital des LMU Klinikums danke ich für ihr Vertrauen in mich und meine Ideen, ihre unermüdliche Motivation und ihre Kreativität. Besonders hervorheben möchte ich Frau Heidi Noll-Puchta, die aus einem nahezu leeren Raum ein funktionierendes Labor aufgebaut hat und noch heute die wichtigste Säule des Laboralltags darstellt.

Der Deutschen Krebshilfe danke ich für ihre Unterstützung über fast 15 Jahre hinweg – zunächst als Postdoktorand im Ausland und schließlich durch die Aufnahme in das Max-Eder-Programm.

Die hier vorgestellten Publikationen sind das Ergebnis zahlreicher Kollaborationen, und ich betrachte die damit verbundenen wissenschaftlichen Fortschritte als gemeinsamen Erfolg.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt ein besonderer Dank für ihre Treue, ihre grenzenlose Unterstützung und insbesondere dafür, dass sie bereit sind, im gemeinsamen Alltag der Krankenversorgung und der Wissenschaft einen so großen Stellenwert einzuräumen.

