

KIT
Karlsruher Institut für Technologie
Die Forschungsuniversität in der
Helmholtz-Gemeinschaft

PTE-N Nr. 18

BMBF geförderte FuE zu
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Juli - 31. Dezember 2018

Projekträger Karlsruhe (PTKA)
Entsorgung

Juli 2019

PTE-Berichte

Der Projektträger Karlsruhe (PTKA) informiert mit Fortschrittsberichten über den aktuellen Stand der von ihm administrativ und fachlich betreuten FuE.

Die Fortschrittsberichtsreihen behandeln folgende Themenschwerpunkte:

- Entsorgung gefährlicher Abfälle in tiefen geologischen Formationen (PTE Nr. x seit 1991, fortlaufend *)
- Stilllegung und Rückbau kerntechnischer Anlagen (PTE-S Nr. x seit 2001, fortlaufend #)
- Nukleare Sicherheitsforschung (PTE-N Nr. x seit 2010, fortlaufend)

Die Fortschrittsberichtsreihen sind online verfügbar:

www.ptka.kit.edu/ptka-alt/wte/287.php

Verantwortlich für den Inhalt sind die Autoren bzw. die entsprechenden Forschungsstellen. Das KIT übernimmt keine Gewähr insbesondere für die Richtigkeit, Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter.

** Bis Ende des Jahres 2011 wurde in dieser Fortschrittsberichtsreihe auch über die BMBF-geförderte FuE zur untertägigen Entsorgung chemotoxischer Abfälle informiert. Die FuE-Schwerpunkte „Untertägige Entsorgung chemotoxischer Abfälle“ und „Sicherheitsforschung für Bergbauregionen“ wurden zum 31.12.2011 beendet.*

Bis Ende des Jahres 2016 wurde in dieser Fortschrittsberichtsreihe auch über die BMBF-geförderte FuE zu Stilllegung und Rückbau kerntechnischer Anlagen informiert. Seit 1.10.2016 wird dieser Förderschwerpunkt durch den Projektträger GRS betreut.

Vorwort

Das KIT betreut im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) Referat 723* als Projektträger FuE-Vorhaben auf dem Gebiet „Nukleare Sicherheitsforschung“.

Die „Nukleare Sicherheitsforschung“ ist einer der Förderschwerpunkte des BMBF-Förderkonzeptes „Grundlagenforschung Energie 2020+“ und umfasst FuE-Aktivitäten zu den Themenbereichen Sicherheitsforschung für Kernreaktoren, Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung und Strahlenforschung.

Jeder Fortschrittsbericht stellt eine Sammlung von Einzelberichten über Zielsetzung, durchgeführte Arbeiten, erzielte Ergebnisse, geplante Weiterarbeiten etc. dar, die von den Forschungsstellen selbst als Dokumentation ihres Arbeitsfortschritts in einheitlicher Form erstellt werden.

Der Fortschrittsbericht wird vom Projektträger *halbjährlich* herausgegeben, um alle Beteiligten aktuell über die durchgeführten Arbeiten zu informieren.

Dem Bericht liegt folgendes Gliederungsprinzip zugrunde:

- Im *Teil 1* sind die FuE-Vorhaben dem jeweiligen *Themenbereich* zugeordnet.
- Im *Teil 2*, dem Hauptteil, sind die „formalisierten Zwischenberichte“ der FuE-Vorhaben, geordnet nach *Themenbereichen*, aufgeführt.
- Im *Teil 3* sind die *Forschungsstellen* alphabetisch aufgelistet.

* neue Referatsbezeichnung (bis Oktober 2018 Referat 722)

Inhaltsverzeichnis

1	Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....	1
1.1	<i>Sicherheitsforschung für Kernreaktoren.....</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung</i>	<i>3</i>
1.3	<i>Strahlenforschung</i>	<i>7</i>
2.1	SICHERHEITSFORSCHUNG FÜR KERNREAKTOREN.....	11
2.2	SICHERHEITSFORSCHUNG ZUR NUKLEAREN ENTSORGUNG	31
2.3	STRAHLENFORSCHUNG.....	73
3	Verzeichnis der Forschungsstellen	165

1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

02 NUK 027A	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern	TU Dresden	📖 12
02 NUK 027B	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens	TU Dresden	📖 14
02 NUK 027C	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 16
02 NUK 027D	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten	Hochschule Zittau/Görlitz	📖 18
02 NUK 027E	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	TU Dresden	📖 20
02 NUK 041A	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integralexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	TU Dresden	📖 22

- 02 NUK 041B** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  24
- 02 NUK 041C** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem **Framatome GmbH, Erlangen**  26
- 02 NUK 041D** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen **TH Deggendorf**  28

1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

02 NUK 039A	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 32
02 NUK 039B	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 34
02 NUK 039C	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C	Ruprecht-Karls- Universität Heidel- berg	📖 36
02 NUK 039D	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 38
02 NUK 039E	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E	TU München	📖 40
02 NUK 044A	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A	Leibniz Universität Hannover	📖 42
02 NUK 044B	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B	Johannes Gutenberg- Universität Mainz	📖 44
02 NUK 046A	Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A	TU Dresden	📖 46

- 02 NUK 046B** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  48
- 02 NUK 046C** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C **Universität Leipzig**  50
- 02 NUK 051A** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A **Universität Hannover**  52
- 02 NUK 051B** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  54
- 02 NUK 051C** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C **Universität Jena**  56
- 02 NUK 051D** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D **Universität Bremen**  58
- 02 NUK 051E** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E **Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V.**  60
- 02 NUK 053A** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A **Forschungszentrum Jülich GmbH**  62
- 02 NUK 053B** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  64
- 02 NUK 053C** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C **Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)**  66

- 02 NUK 053D** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D **Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ**  68
- 02 NUK 053E** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E **Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ**  70

1.3 Strahlenforschung

02 NUK 017A	Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	📖 74
02 NUK 032	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 76
02 NUK 034A	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A	TU Darmstadt	📖 78
02 NUK 034B	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B	TU Darmstadt	📖 80
02 NUK 034C	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	📖 82
02 NUK 034D	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg	📖 84
02 NUK 035A	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Universität des Saarlandes	📖 86
02 NUK 035B	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 88
02 NUK 035C	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	TU Dresden	📖 90
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter	📖 92
02 NUK 035E	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Medipan GmbH, Dahlewitz	📖 94
02 NUK 036AX	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A	IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 96

02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	Elbe Kliniken Städte-Buxtehude	📖 98
02 NUK 036C	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 100
02 NUK 036D	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	TU Darmstadt	📖 102
02 NUK 037A	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	📖 104
02 NUK 037B	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	📖 106
02 NUK 037C	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C	TU Darmstadt	📖 108
02 NUK 038A	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A	Klinikum rechts der Isar der TU München	📖 110
02 NUK 038B	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 112
02 NUK 042A	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 114
02 NUK 042B	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 116
02 NUK 042C	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen	📖 118
02 NUK 042D	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	TU Darmstadt	📖 120

02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	Forschungszentrum Jülich GmbH	 122
02 NUK 043B	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	 124
02 NUK 043C	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C	Universität Rostock	 126
02 NUK 045A	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	 128
02 NUK 045B	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	 130
02 NUK 045C	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C	TU München	 132
02 NUK 047A	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	 134
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	 136
02 NUK 047C	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	Klinikum der Universität München	 138
02 NUK 047D	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Universitätsklinikum Essen	 140
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Charité - Universitätsmedizin Berlin	 142
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	 144
02 NUK 048A	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	 146
02 NUK 048B	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	Universität Ulm	 148

- 02 NUK 049A** Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A **GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH**  150
- 02 NUK 049B** Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B **Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg**  152
- 02 NUK 050A** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A **GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH**  154
- 02 NUK 050B** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B **TU Darmstadt**  156
- 02 NUK 050C** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C **TU Darmstadt**  158
- 02 NUK 050D** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D **Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main**  160
- 02 NUK 050E** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E **Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**  162

2 Formalisierte Zwischenberichte

2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 637.525,92 EUR	Projektleiter: Prof. Dr.-Ing. Lippmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt soll gesicherte Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines langsam ausdampfenden bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens sowohl innerhalb der Brennstabündel von Brennelementen (BE) als auch in den Zwischenräumen zwischen den BE liefern, um damit die Entwicklung der axialen und radialen Stabtemperaturprofile als Funktion der Zeit bei unterschiedlichen Störfallszenarien berechnen zu können. Dafür soll ein Integralexperiment aufgebaut werden, welches die thermohydraulischen Vorgänge in einem repräsentativen Ausschnitt des BE-Lagerbeckens ganzheitlich umfasst. Aufbauend auf den Experimenten soll ein Lagerbecken-Modul für den Thermohydraulikcode ATHLET entwickelt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

- AP0: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, TUD-ISM, HZDR, HSZG)
- AP1: Auslegung, Errichtung und Inbetriebnahme der Integralversuchsanlage, Durchführung und Bewertung der Experimente (TUD-WKET, TUD-ISM, HZDR, HSZG)
- AP2: Erprobung spezieller Instrumentierungen, fluiddynamische Einzeleffektexperimente an BE-Dummy (TUD-ASP, HSZG)
- AP3: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE (TUD-ISM, HZDR)
- AP4: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS (TUD-WKET, TUD-ISM, HZDR, HSZG)

Beginnend mit dem Zeitraum der Projektaufstockung gliedern sich die Arbeitspakete wie folgt:

- AP0*: Analyse des erreichten Standes in SINABEL, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Simulationen (TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)
- AP1*: Vorbereitung, Aufbau und Inbetriebnahme der Experimentiereinrichtungen, Durchführung und Bewertung der Experimente (TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)
- AP2*: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE (TUD-ISM, HZDR)
- AP3*: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS (TUD-WKET, TUD-ISM, HZDR, HSZG)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP0*:

- Eine Versuchsmatrix für die durchzuführenden Experimente unter Verwendung des Überströmkanals an der Versuchsanlage ALADIN wurde erarbeitet.
- Als Basis für die Auslegung und Konstruktion des Spraykühlungssystems, um welches die Versuchsanlage ALADIN erweitert werden soll, erfolgte eine Literaturrecherche.

AP1*:

- Die Versuchsanlage ALADIN wurde um einen Strömungskanal zur Untersuchung des Einflusses von Querüberströmung erweitert. Ein Funktionstest aller Komponenten wurde durchgeführt. Der Kanal ist fertiggestellt und wurde in Betrieb genommen.
- Eine Kalibrierung der neu installierten Thermoelemente mittels Kalibrator wurde durchgeführt.
- Die Thermoelemente sind an Edelstahlröhren mit 0,5 mm Durchmesser befestigt, welche im Kanal gespannt sind, um deren Einfluss auf die Strömung zu minimieren.
- Eine Überprüfung des thermischen Anemometers wurde mittels des Tischwindkanals beim Projektpartner TUD-ISM durchgeführt. Die Messwerte sind innerhalb des vom Hersteller angegebenen Messunsicherheitsintervalls korrekt.
- Die Vermessung der Geschwindigkeitsfelder für die geplanten Betriebspunkte erfolgt mittels eines thermischen Anemometers in der definierten Geschwindigkeitsmessebene. Das Geschwindigkeitsfeld ist für die geplanten Untersuchungen hinreichend gleichmäßig.
- Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde in die Anlage ein Dummy eingesetzt, welcher den Kopf eines Siedewasserreaktorbrennelementes nachbildet. Der am oberen befindliche Griff ragt in den Überströmkanal hinein.
- Eine Erweiterung des Messprogramms ist erfolgt, um die Auswertung der hinzugefügten Thermoelemente zu ermöglichen.
- Mit den experimentellen Untersuchungen gemäß der erstellten Versuchsmatrix wurde begonnen.

AP2*:

- Nach Inbetriebnahme wurden die finalen geometrischen Daten des Überströmkanals den Projektpartnern als CAD-Modell zur Verfügung gestellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP0*:

- Fertigstellung einer Übersicht der bisher durchgeführten Untersuchungen.
- Erstellung einer Versuchsmatrix für die experimentellen Untersuchungen mit Spraykühlung.

AP1*:

- Weiterführung und Auswertung der Experimente mit Zusatzkomponenten.
- Integration der Spraykühlung in die bestehende Versuchsanlage.

AP2*:

- Die Bereitstellung von Messdaten aus den experimentellen Untersuchungen.

AP3*:

- Die Modellerweiterung in ATHLET für eine Spraykühlung sowie die Durchführung von Rechnungen und Vergleich mit ALADIN- Experimenten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

P. Zedler, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado: Experimental study of the influence of cross-overflow on the decay heat removal from spent fuel pools Poster: 16th Multiphase Flow Conference, 2018 Dresden, Germany, November 14-16, 2018

P. Zedler, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado: Experimental study of the influence of cross-overflow in spent fuel pools using the test facility ALADIN Poster: KompOst Doktorandenseminar 2018, 2018 Zittau, Germany, December 13, 2018

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 489.910,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Fröhlich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Gesamtvorhabens ist die Gewinnung gesicherter Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines teilweise bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens (BE-LB). Mittels Experimenten und Simulation erfolgt die Prognose unterschiedlicher Störfallszenarien. Im vorliegenden Teilprojekt werden CFD-Simulationen des experimentell untersuchten Brennstabbündels unter Berücksichtigung aller wesentlichen Mechanismen durchgeführt. Besonderes Augenmerk liegt auf dem Wärmetransport durch Konvektion und Leitung im Gas, der Wärmeleitung innerhalb der Brennstäbe (BS) sowie dem Strahlungsaustausch. Simulationen des Brennelement Dummys der HS Zittau-Görlitz (02NUK027D) dienen der Validierung der numerischen Methode und sind prototypisch für Brennelemente von Druckwasserreaktoren. Die gewonnenen Ergebnisse der Modellierung eines Brennelementes liefern eine Datenbasis für das HZ Dresden Rossendorf (02NUK027C), während dort durchgeführte Simulationen des Containments als Randbedingungen in die eigenen Simulationen zurückfließen. Simulationen des am WKET durchgeführten Integralexperimentes (IE) (02NUK027A) an einem für Siedewasserreaktoren typischen Brennelements dienen zur Verifizierung der dort gewonnenen Daten und als Basis für die Weiterentwicklung der Integralcodes (02NUK027A).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Der Zuwendungsempfänger ist an folgenden Arbeitspaketen im Forschungsvorhaben beteiligt:

- AP0: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien
- AP1: Auslegung, Errichtung und Inbetriebnahme der Integralversuchsanlage, Durchführung und Bewertung der Experimente
- AP3: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von Brennelementen im Brennelement-Lagerbecken und der Atmosphäre über den Brennelementen
- AP4: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zweiten Halbjahr 2018 erfolgten Simulationen zur Analyse der Auswirkungen der bei den Ausdampfexperimenten im Integralexperiment ALADIN festgestellten instationären,

geysirartigen Verdampfung (AP2). Es wurde untersucht, inwiefern sich der schwankende Dampfmassestrom auf die Stabtemperaturen auswirkt. Die Modellierung der instationären Massestrom-Randbedingung war kompliziert, da keine Messwerte für diese Anlage vorliegen. Deshalb wurden die Amplitude und Frequenz der Schwankung aus den Temperaturverläufen der Versuchsanlage ALADIN sowie Messungen an einer vergleichbaren Versuchsanlage (ADELA-II) abgeleitet. Es wurde gezeigt, dass selbst bei unwahrscheinlich großen Amplitudenverhältnissen die Änderung der Stabtemperatur in einem Bereich von zwei bis vier Kelvin bleibt. Dies liegt an der hohen thermischen Trägheit der Festkörper, die sehr langsam auf Temperaturänderungen des Dampfes reagieren. Die Untersuchung hat gezeigt, dass die Schwankung des Dampfmassestroms nur einen geringen Einfluss auf die Stabtemperaturen hat.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeiten im zweiten Halbjahr 2018 waren Untersuchungen zu den Erweiterungen im Integralexperiment bei TUD-WKET (02NUK027A, AP1+2). Hierzu wurden Variantenrechnungen mit stationären Randbedingungen für ausgewählte Parameterkombinationen aus Füllstand und Geschwindigkeit im Überströmkanal durchgeführt. Es zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Temperatur und Zusammensetzung von der Position in der Versuchsanlage. Aufgrund der unterschiedlichen Geometrie dringt die kalte Luft in Rand- und Ekelemente schwerer ein als ins Zentralbündel. Bei gleichem Füllstand steigt die Temperatur im Zentralbündel bei Erhöhung der Geschwindigkeit der Querüberströmung. Dieses Ergebnis deckt sich mit den bisherigen Erkenntnissen in diesem Teilprojekt. Die Ergebnisse legen nahe, dass die Temperaturentwicklung des Brennelementes sehr empfindlich auf eine Änderung der Randbedingung der Querüberströmung reagiert. Bei Erhöhung der Heizleistung steigt die maximale Stabtemperatur an und es dringt deutlich weniger kalte Luft in das Heizpatronenbündel ein, da mehr Dampf produziert wird, der einem Eindringen entgegen wirkt.

Der Zeitplan im Teilprojekt wurde zum Berichtszeitpunkt um ca. 4 Monate überschritten. Dies liegt zum einen an unerwarteten Problemen bei der Realisierung geeigneter Randbedingungen für die Simulation. Zudem verzögerte sich der Aufbau der experimentellen Arbeiten durch die zeitweise unbesetzte Bearbeiterstelle bei TUD-WKET und bei HSZG-IPM durch Änderungen im Versuchsaufbau. Dadurch verzögern sich auch die Simulationen, da die Validierung erst nach Vorliegen gesicherter Messwerte möglich ist.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zur weiteren Unterstützung und Interpretation der Messungen werden die CFD-Simulationen zum Integralexperiment mit Überströmung fortgeführt (AP2). Im Jahr 2019 wird außerdem mit der Analyse mesoskaliger Effekte begonnen (AP2). Zur Übertragung von Ergebnissen aus Detailanalysen auf der Skala Einzel-BE auf die Situation im Lagerbecken werden CFD-Simulationen mit einem größeren Teilbereich durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

T. Hanisch, F. Rüdiger, J. Fröhlich: Analyse der Thermohydraulik in einem partiell freigelegten nuklearen Brennelement, In: 36. CADFEM ANSYS Simulation Conference, Leipzig, Germany, 2018

T. Hanisch, E. Frense, F. Rudiger, J. Frohlich: Numerical study of the mixing of steam and air in a fuel assembly in cross-flow, In: International Heat Transfer Conference 16, Beijing, China, 2018, pp. 7804–7811

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 434.844,00 EUR	Projektleiter: Dr. Krepper	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zur Berechnung der axialen und radialen Stabtemperaturprofile bei unterschiedlichen Störfallszenarien sowie zur Beurteilung der Kühleffektivität unterschiedlicher Mechanismen im Brennelement-Lagerbecken (Zirkulationsströmungen, Verdampfung, Dampfaufstieg, Kaltgas-einbruch, Strömungsinstabilitäten, Gasphasenturbulenz) werden im vorliegenden Teilprojekt CFD-Methoden mit dem Ansatz des porösen Körpers angewendet. Die notwendige Validierung der zu entwickelnden Modelle erfolgt sowohl an integralen als auch kleinskaligen Experimenten mit einem hohen Instrumentierungsgrad, die in anderen Teilprojekten des Verbunds durchgeführt werden. Der Modellansatz des porösen Körpers wird speziell mit Hilfe der Versuche an der TU-Dresden und den CFD-Simulationen für ein einzelnes Brennelement im HZDR sowie an der TUD-ISM entwickelt und parametrisiert.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten beginnen mit einem ausführlichen Literaturstudium. Als Ergebnis werden konkrete Störfallszenarien herausgearbeitet und kritische Konstellationen identifiziert. Hierfür und für die Identifizierung des interessanten Parameterbereichs werden die an der TU-WKET durchgeführten ADELA-Experimente analysiert.

Die Strömung in einem Brennelement wird auf der Grundlage des Ansatzes des porösen Körpers simuliert. Hierzu werden die Größen des Modells des porösen Körpers abgeleitet, die die Strömung im Einzelbrennelement in guter Näherung wiedergeben.

Ausgehend von diesen Ergebnissen wird ein CFD-Modell für eine Anordnung mehrerer Brennelemente in einem Lagerbecken sowie der Raum darüber erstellt. Unter Anwendung des erarbeiteten CFD-Modells werden die ausgewählten Störfallszenarien simuliert, die von einer konkreten Beladungsstruktur und Kühlsituation ausgehen.

Schließlich werden Schnittstellen für die Modellierung mit Lumped Parameter Codes bestimmt. Die Anwendung dieser Codes für diese Aufgabe ist zwar weniger zuverlässig aber dafür weniger aufwendig und kann deshalb flexibler durchgeführt werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zurückliegenden Berichtszeitraum wurde der geschaffene Modellkomplex für die Simulation einer vollständigen Freilegung der eingelagerten Brennelemente angepasst. Hierbei kamen die bereits existierenden CFD-Modelle verschiedener SWR-Lagerbeckengeometrien (Fukushima gemäß Gauntt et al. [2012], SWR-Referenzanlage nach Steinrötter et al. [2014]) zum Einsatz und wurden entsprechend erweitert. Bei einer vollständigen Freilegung hängt die Kühlung der Brennelemente entscheidend von der Verteilung der Zerfallswärmeleistung im Lagerbecken ab. Es bedarf einer Unterspülung der Brennelemente mit kälterem Gas aus der Reaktorgebäudeatmosphäre. Diese Unterspülung ist nur dann gewährleistet, wenn im Querschnitt des Lagerbeckens zusammenhängende Bereiche existieren, durch welche das kältere Gas ungehindert bis zum Beckenboden vordringen kann, bspw. durch freie Lagergestellzellen. Eine gleichförmige Verteilung der Zerfallswärmeverteilung ist hierbei von Nachteil und würde zu einem Wärmestau führen. Bei einer partiellen Freilegung erweist sich die Anordnung von Brennelementen höherer Zerfallswärme in der Nähe der Beckenwand als günstig, wie die zurückliegenden Arbeiten gezeigt haben. Zudem wirkt sich eine derartige Anordnung stabilisierend auf die Strömung im Lagerbecken aus: Kälteres Gas dringt überwiegend im Lagerbeckenzentrum ein, während das warme Gas entlang der Lagerbeckenwand aufsteigt. Übertragen auf das Szenario einer vollständigen Freilegung bedeutet dies, dass bei wandnaher Anordnung der Brennelemente das kältere Gas auf direktem Weg zum Beckenboden absinkt und die Unterspülung sehr ausgeprägt ist. Die Simulationsergebnisse bestätigen diese Annahme, zeigen allerdings auch, dass eine ausreichende Kühlung der Brennelemente selbst bei Vorhandensein eines stabilen Naturumlaufs nur für ausreichend abgeklungene Brennelemente realistisch ist. Um diesbezüglich Aussagen treffen zu können, wurde der Zeitpunkt des Störfalleintritts, d. h. die Abklingzeit, als zusätzlicher Parameter eingeführt. Im Fall von Fukushima legen die Simulationsergebnisse nahe, dass eine Luftkühlung nur bei einem um zweihundert Tage verschobenen Störfalleintritt möglich gewesen wäre.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im weiteren Verlauf der Arbeiten wird der bestehende Modellkomplex für die Simulation höherer Hüllrohrtemperaturen (>650 K) ertüchtigt. Hierfür muss die Wärme- und Wasserstofffreisetzung aufgrund der Oxidation des Hüllrohrmaterials einbezogen werden, welche die Charakteristik der Strömung in der Lagerbeckenatmosphäre gegebenenfalls beeinflusst.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Die Ergebnisse der in enger Kooperation mit dem Projektpartner TUD-ISM(*) durchgeführten theoretischen Arbeiten (CFD-Simulation einer partiellen Freilegung auf unterschiedlichen Längenskalen) wurden in der Fachzeitschrift „Nuclear Engineering and Design“ publiziert: Oertel, R., Hanisch*, T., Krepper, E., Lucas, D., Rüdiger*, F., & Fröhlich*, J. (2019): Two-scale CFD analysis of a spent fuel pool involving partially uncovered fuel storage racks. Nuclear Engineering and Design, 341, 432-450

Zuwendungsempfänger: Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		Förderkennzeichen: 02 NUK 027D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 712.104,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kästner	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt soll in einer Kombination von Experiment und Simulation erweiterte Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse im Fall eines teilweise bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens (BE-LB) sowohl innerhalb der Brennstabbündel von Brennelementen als auch in den Zwischenräumen zwischen den BE liefern. Aufbauend auf den Ergebnissen, die im Verbundvorhaben SINABEL (FKZ 02NUK027) im Zeitraum von 2013 bis 2017 gewonnen wurden, stehen das Strömungs- und Temperaturfeld im Bereich des BE-Kopfes im Mittelpunkt des Interesses, weil die dortigen Verhältnisse den axialen Wärmetransport aus dem BE heraus entscheidend beeinflussen. Das betrifft sowohl die Überströmverhältnisse der umgebenden Atmosphäre als auch den Eintrag von Wassertropfen bei Spraykühlsystemen.

Die Basis der experimentellen Untersuchungen bilden die in o. g. Verbundvorhaben errichteten Versuchsanlagen ALADIN bei TUD-WKET und DVABEG bei HSZG sowie die bei TUD-ASP entwickelten Messmethoden. Zusatzeinrichtungen an den jeweiligen Anlagen dienen der Erfassung der Strömungs- und Temperaturfelder bei gezielter Überströmung über den Kopfbereich von SWR- und DWR-BE. Neben den Untersuchungen zur Temperaturentwicklung in der Integralanlage ALADIN liefern die Experimente vor allem Daten für die angestrebte Modellierung mit Integralcodes (TUD-WKET und HSZG) und CFD-Codes (TUD-ISM und HZDR). Insbesondere für die anspruchsvolle CFD-Modellierung werden Messdaten benötigt, die an den erweiterten Versuchsanlagen auf Grundlage der Ausrüstungen und Erfahrungen aus SINABEL gewonnen werden sollen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm des Verbundes gliederte sich vor der Aufstockung in 5 Arbeitspunkte (AP-B).

- AP-B0: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien
- AP-B1: Auslegung, Errichtung und Inbetriebnahme der Integralversuchsanlage, Durchführung und Bewertung der Experimente
- AP-B2: Erprobung spez. Instrumentierungen, fluiddyn. Einzeleffekt-Experimente an einem BE-Dummy
- AP-B3: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im Lagerbecken und der Atmosphäre über den BE
- AP-B4: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS

Aufstockung: Nach der Aufstockung des Vorhabens wurde die Zuordnung der Arbeiten im Verbund zu den AP-A in der Form angepasst, dass die experimentellen Arbeiten an der Integral- und Einzeleffektanlage im AP-A1 zusammengefasst wurden und eine Änderung der Nummerierung der folgenden Arbeitspakete erfolgte.

- AP-A0: Analyse des erreichten Standes in SINABEL, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Simulationen (TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)
- AP-A1: Vorbereitung, Aufbau und Inbetriebnahme der Experimentiereinrichtungen, Durchführung und Bewertung der Experimente
- AP-A2: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE
- AP-A3: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden Arbeiten zu den AP-A1 und AP-A3 der Aufstockung fortgesetzt, wobei die aus der komplexen Geometrie und den Bestandteilen des Kompaktlagergestells der DWR-Referenz-Anlage abgeleitete 3×1 BE-Konfiguration geplant, gefertigt und aufgebaut wurde. Nach der Inbetriebnahme wurden experimentelle Untersuchungen zur Erstellung des Geschwindigkeitsprofils der Horizontalströmung durchgeführt. Bei den experimentellen Untersuchungen mit Vertikalströmung ohne Horizontalströmung wurde optisch und messtechnisch das Verhalten der Strömung unter dem Einfluss des Absorberschachtes analysiert, was bei den generischen Einzeleffektexperimenten mit dem Einzel-BE-Dummy bisher unberücksichtigt blieb.

Im AP-A3 wurden erste Berechnungen mit dem TH-Modul des Systemcodes COCOSYS Version 2.4 zum Störfall „station blackout“ der DWR-Referenzanlage für Normal- und Vollbeladung des BE-LB durchgeführt. Dafür wurde eine Grobnodalisierung mit 3 Zonen gewählt (beladene und unbeladene Zone im BE-LB und Dombereich). Die Modellierung der zeitlichen Änderung der Nachzerfallsleistung erfolgte mit zwei zeitabhängigen Vorgaben separat für den Wasser- bzw. Gasbereich der Zonen. Dabei entspricht die Summe dieser beiden Leistungskurven jeweils der gesamten transienten Nachzerfallsleistung im BE-LB. Als Ergebnisse wurden die Füllstandsabsenkung im BE-LB und Druck- und Temperaturanstieg in den Zonen bestimmt. Für den Fall der Normalbeladung stellte sich zunächst eine Gasströmung derart ein, dass aus dem Dom kälteres Gas in die heißere beladene Zone des BE-LB absinkt und von dort über die unbeladene Zone wieder in den Dombereich aufsteigt. Dieses prinzipielle Verhalten stimmt gut mit Ergebnissen der stationären CFD-Analysen im Teilprojekt C überein. Dieser Kreislauf drehte sich nach ca. 570 h um. Ursache dafür ist die Reduzierung der Verdampfungsmenge infolge der verringerten Wärmezufuhr in das Sumpfwasser (bei abgesunkenem Füllstand und zunehmender Freilegung der BE) und die dadurch erhöhte Wärmezufuhr in den Gasraum.

Weiterhin wurden erste Analysen mit COCOSYS für den kleinskaligen Versuchsstand durchgeführt, in dem Versuche mit Modellgas (Argon) für die Horizontalströmung und Luft als Arbeitsmedium für die Vertikalströmung vorgesehen sind. Dazu wurden die relevanten Stoffwerte für Argon in COCOSYS implementiert. Eine Bewertung der Simulationsergebnisse für die kleinskaligen Experimente kann erst nach deren Durchführung vorgenommen werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Als nächster Arbeitsschritt werden die Arbeiten zur AP-01 und AP-03 fortgesetzt, wobei die Untersuchungen nach der vordefinierten Versuchsmatrix mit Luft-Luft und mit Modellgas-Luft abgeschlossen werden. Parallel dazu erfolgen Arbeiten für eine feinere COCOSYS-Nodalisierung für den Referenz-DWR und entsprechende Simulationsrechnungen. Es werden die experimentellen Ergebnisse mit CFD-Rechnungen und COCOSYS-Simulationen verglichen und der fachliche und administrative Inhalt des Abschlussberichtes abgestimmt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen statt:

Arbeitstreffen am 09.10.2018 an der TU-Dresden zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner

Es wurde ein Paper im Rahmen der internationalen Konferenz NUTHOS eingereicht und akzeptiert:

Chahi, H.: „Investigation of density driven exchange of gases in spent fuel storage pool of pressurized water reactor“, NUTHOS-2018

Es wurde ein Vortrag auf dem Doktorandenseminar des Kompetenzzentrums Ost für Kerntechnik an der Hochschule Zittau/Görlitz am 13.12.18 gehalten:

Chahi, H.; Kästner, W.; Alt, S.: „Experimental investigations to density driven exchange of gases at the upper part in PWR-spent fuel pool racks with an extended 3×1 FA-dummy configuration“, KompOst 2018

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 449.159,40 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hampel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Verbundprojektes sollen die Wärmetransportprozesse ausdampfender Brennelemente-Nasslager für verschiedene Störfallszenarien untersucht und modelliert werden. Dazu ist die Kenntnis der Gasphasentemperatur und -geschwindigkeit in den Zwischenräumen einzelner Brennstäbe im Brennelement von essentieller Bedeutung. Aufgrund der erschwerten mechanischen sowie optischen messtechnischen Zugänglichkeit ist die Anwendung konventioneller Messmethoden eingeschränkt. Das Ziel des Teilprojektes ist die Entwicklung eines minimalinvasiven Messsystems zur Bestimmung der ortsaufgelösten Messung der Gasphasentemperatur und -geschwindigkeit für den Einsatz in einem Integralexperiment.

Im Verbundprojekt besteht Zusammenarbeit mit folgenden Einrichtungen:

- Technische Universität Dresden, Fakultät Maschinenwesen, Institut für Energietechnik, Professur für Wasserstoff- und Kernenergietechnik
- Technische Universität Dresden, Fakultät Maschinenwesen, Institut für Strömungsmechanik
- Hochschule Zittau-Görlitz
- Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Analyse ADELA-Experimente für spezielle Messtechnik, Literaturstudium

AP2: Selektion/Erprobung von Messverfahren

AP3: Entwicklung und Aufbau der Instrumentierung

AP4: Erprobung und Kalibrierung spezieller Instrumentierung an eigenem Strömungsversuchsstand

AP5: Unsicherheitsanalysen

AP6: Einsatz der Strömungsmessverfahren am Integralexperiment, Datenanalysen

Aufstockung AP0: Analyse bisheriger Versuche und Messtechnologierecherche

Aufstockung AP1: Optimierung, technologische Umsetzung und Experimente

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Aufstockungsphase/API1:

In der neu entwickelten Elektronik wird der Heizstrom so abgeführt, dass die Messschaltung von diesem nicht mehr erhitzt wird. Dies wurde über analoge Schalter realisiert, welche von einem Mikrocontroller gesteuert werden. Darüber hinaus wurden MELF-Widerstände eingesetzt, welche einen deutlich geringeren Temperaturkoeffizienten des Widerstandes aufweisen. Basierend auf den Ergebnissen zur neuartigen bidirektionalen Sonde wurde eine experimentelle Studie durchgeführt. Dazu wurde ein Prototyp, bestehend aus zwei zylindrische Temperatursensoren, aufgebaut. Diese sind bezüglich ihrer Hauptachse kollinear angeordnet. Der Sensor wurde konzentrisch in einem Rohr montiert und sowohl Strömungsgeschwindigkeit als auch Anströmrichtung variiert. Die experimentellen Ergebnisse bestätigen die Aussagen der theoretischen Vorstudien, wonach die Strömungsrichtung aus dem Vergleich der gemessenen Überhitzungen beider Temperatursensoren bestimmbar ist. Für den Einsatz in der ALADIN-Anlage wurden zwei Designvarianten erstellt.

Für die Erweiterung des Messbereiches auf den Randspalt zwischen dem Rohrbündel und der Kanalwand wurden verschiedene Ausführungsvarianten erstellt und bewertet. Bei allen Varianten ist eine weitere Reduzierung der geometrischen Abmaße des Thermoanemometriegittersensors notwendig, um die Invasivität des Sensors auf die Strömung zu reduzieren. Bedingt durch die geometrischen Bedingungen der Versuchsanlage ALADIN wurde der aktuelle Sensor allerdings bereits so dimensioniert, dass er den mechanischen Belastungen beim Einbau standhält. Eine weitere Reduzierung der Bauteilgrößen wird als problematisch angesehen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aufstockungsphase/API1:

Nach Fertigstellung der neuentwickelten Elektronik wird deren Funktionsweise durch geeignete Versuche validiert. Die Designvarianten der bidirektionalen Sonde werden auf deren technologische Umsetzbarkeit überprüft und gegebenenfalls angepasst. Vor dem Einsatz in der Versuchsanlage ALADIN erfolgt eine Sensitivitätsanalyse, Kalibrierung und Unsicherheitsanalyse.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2020		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.817.155,95 EUR		Projektleiter: Prof. Dr.-Ing. Lippmann

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, gesicherte Kenntnisse über das Verhalten und die Wärmetransportprozesse von passiven Systemen zu erhalten. Für experimentelle Untersuchungen ist an der TUD die Versuchsanlage GENEVA errichtet worden. Sie bildet ein passives Nachzerfallswärmeabfuhrsystem ab. An der Anlage werden die Wärmeübertragungsprozesse Kondensation an und Verdampfung in leicht geeigneten Rohren messtechnisch vertieft untersucht. Anhand der erzielten Ergebnisse werden die im Systemcode ATHLET vorhandenen Modelle für passive Systeme validiert und gegebenenfalls ertüchtigt. Des Weiteren sind Integraleexperimente zur Untersuchung der Zweiphasenstabilität vorgesehen. Unter Anwendung dieser erhaltenen Daten erfolgt die umfassende Bewertung der Stabilität des zweiphasigen Naturumlaufs mit der RAM/ROM-Methodik der nichtlinearen Stabilitätsanalyse.

Die GRS (Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit gGmbH) ist als Unterauftragnehmer für die TU-Dresden tätig. Sie wirkt als wichtiger Schlüssel zur Weiterentwicklung des Systemcodes ATHLET.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

- AP1: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP2: Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, Instrumentierung der Versuchsanlagen und Erprobungsphase (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP3: Durchführung von Experimenten, Datenauswertung und –aufbereitung für die Modellentwicklung und Stabilitätsanalyse (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP4: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems durch Einsatz der neuen Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR)

Seitens der GRS wurden Arbeitspakete wie folgt definiert:

AP1.1: Recherche (bis 12/2015)

AP1.2: Modellentwicklung und Validierung (10/2016 bis 06/2018)

AP2: Technischer Support (01/2017 bis 12/2018)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Abgeschlossen
 AP2: Abgeschlossen
 AP3: Durchführung und Auswertung von Experimenten zum Wärmeübergang am Verdampferrohr (mehrere Rohre)
 Experimentelle Untersuchung des Stabilitätsverhaltens bei Erhöhung des Strömungswiderstandes vor der Heizsektion
 konstruktive Umsetzung der geänderten Rohrleitungsometrie des Steigrohres
 AP4: Durchführung der Modellordnungsreduktion durch Proper Orthogonal Decomposition und der nichtlinearen Stabilitätsuntersuchung mittels RAM-ROM-Methode anhand eines Hochdruck-Naturumlaufsystems, Charakterisierung des der GENEVA zugrundeliegenden partiellen Differentialgleichungssystems auf dessen Gültigkeit (Fokus: adiabate Volumendampfgehaltsproduktion)
 Überprüfung der ATHLET-Modelle für den Wärmeübergang bei Kondensation und Verdampfung anhand des Vergleiches zwischen experimentellen Daten und Simulation
 AP5: noch nicht begonnen
 GRS: Anwenderunterstützung (Implementierung einer Programmierschnittstelle zu Python)
 Modellentwicklung und Validierung (Postprocessing-Werkzeug für die Visualisierung von Strömungskarten), Anpassung des COSMEA-ATHLET-Datensatzes + erneute Simulation der stationären COSMEA-Experimenten

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: Durchführung von Experimenten und Auswertung der Daten: Abschluss der Experimente zum Wärmeübergang am Rohrbündel und der Integraleexperimente
 AP4: Modellentwicklung: Weiterentwicklung und Anwendung der RAM/ROM-Methode an der Versuchsanlage GENEVA; Entwicklung, Implementierung und Validierung neuer Modelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren
 AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems: Bewertung der Stabilitätseigenschaften und ATHLET-Simulation der GENEVA und des GEKO)

Arbeitspakete im Rahmen der Aufstockung

- AP1: Literaturstudium zum Wärmeübergang mit nichtkondensierbaren Gasen, zur Stabilität von Naturumlaufsystemen und zu Zweiphasenströmung (01/2019 bis 06/2019)
 AP2: Vorbereitung und Durchführung von Experimenten (01/2019 bis 06/2020)
 AP3: Weiterentwicklung RAM-ROM, Durchführung von Simulationen (07/2019 bis 06/2020)
 AP4: Validierung der Modelle und Methoden (04/2020 bis 09/2020)
 AP5: Erstellen des Abschlussberichts (10/2020 bis 12/2020)
 GRS: Validierungsrechnungen anhand von Experimenten am modifizierten COSMEA-Versuchsstand und gegebenenfalls Modifizierung der ATHLET-Modelle (inkl. Strömungskarten)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Advanced natural circulation reduced order model with inclined channel for low pressure conditions; R. Manthey, A. Knospe, C. Lange, C. Schuster, A. Hurtado; Proceedings: ICONE- 26, London, Vereinigtes Königreich, Juli 2018

Investigation of flow patterns during boiling in a slightly inclined tube; F. Viereckl, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; Präsentation: Multiphase Flow Conference, Dresden-Rossendorf, November 2018

Anwendung der Proper Orthogonal Decomposition auf ein Niederdruck-Naturumlaufsystem; R. Manthey, A. Knospe, C. Lange, A. Hurtado; Vortrag IKET-Seminar, Karlsruher Institut für Technologie, Karlsruhe, Dezember 2018

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.134.305,95 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hampel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Mit Hilfe der bei den beiden Experimenten im HZDR und an der TUD-WKET generierten Experimentaldaten sollen neue Verdampfungs- und Kondensationsmodelle für CFD- und Integralcodes entwickelt werden, die das reale thermohydraulische Verhalten von passiven Wärmeabfuhrsystemen möglichst allgemein wiedergeben können. Dieses thermohydraulische Verhalten umfasst sowohl den Wärmetransport und die Wärmeübertragung auf die Wärmesenke als auch die sich dabei einstellende Naturumlaufströmung, welche integral betrachtet stabilitätsgefährdet ist.

Ziel ist die Entwicklung von Modellen mit den wesentlichen physikalischen Eigenschaften, die sich ohne zu großen numerischen Aufwand insbesondere für technische Geometrien zielgenau auf industrielle Probleme anwenden lassen, die aber auch in numerischen Codes implementiert werden können.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP2: Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, Instrumentierung der Versuchsanlagen und Erprobungsphase (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP3: Durchführung von Experimenten, Datenauswertung und –aufbereitung für die Modellentwicklung und Stabilitätsanalyse (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP4: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems durch Einsatz der neuen Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Eine ausführliche Literaturstudie zu Mehrphasenströmungen und Wärmeübertragung wurde durchgeführt. Sie wurde erweitert auf verschiedene Typen der Kondensation, wie direkte Kontaktkondensation, Filmkondensation und Kondensation von Tröpfchen. Es erfolgte die Einarbeitung in die am HZDR entwickelten Modellansätze zur Mehrphasenströmung, wie iMUSIG, AIAD und GENTOP. Gemeinsam mit drei anderen Doktoranden des PANAS-Projektes wurde ein Übersichtspaper zu Systemen der passiven Wärmeabfuhr begonnen. Wegen der großen Datenmenge wurde beschlossen, den Inhalt auf zwei Journalpublikationen zu verteilen. Beide Teile werden aktuell noch überarbeitet und werden anschließend im internationalen “Journal of Nuclear Engineering and Design“ eingereicht.
- AP2: Es wurde die Wandstärke des Kondensationsrohres der thermohydraulischen Versuchsanlage COSMEA mittels Ultraschall-Messtechnik neu vermessen und dessen Wert auf durchschnittlich 2.6 mm ermittelt. Die entsprechenden Konstruktionszeichnungen wurden angepasst und den Projektpartnern zeitnah zur Verfügung gestellt.

- AP3: Der neue Ansatz zur zeitlich aufgelösten Füllstandsbestimmung des Kondensats im Kondensatorrohr ergab einen zu hohen Fehler, als dass dessen Werte für die Validierung von numerischen Modellen genutzt werden können.
In der Verlängerung des Projektes ist eine Verbesserung der Röntgen-CT-Anlage geplant, welche durch den Einsatz eines neuen Strahlungsdetektors erreicht werden soll. Aktuell werden verschiedenen Detektor-Modelle analysiert.
- AP4: Um die Vorgänge im Innern des Rohres zu simulieren ist zunächst die Wandkondensation zu betrachten. In ANSYS-CFX ist nur ein einfaches Wandkondensationsmodell für Einphasenströmung unter Vernachlässigung des Films an der Wand verfügbar. Daher wurde ein eigenes Wandkondensationsmodell unter Berücksichtigung des Flüssigkeits-Filmes an der Wand entwickelt. Anschließend soll auch die an der Flüssig-Dampf-Grenzfläche stattfindende Direkte Kontaktkondensation (DCC) berücksichtigt werden. Ausführliche Literaturstudien zu dieser Thematik wurden durchgeführt. Drei verschiedene Korrelationen für den Wärmeübertragungskoeffizienten wurden getestet. Schließlich wurde ein Modell entwickelt, das sowohl Wandkondensation als auch DCC umfasst. Hierfür wurden vereinfachend zwei kontinuierliche Phasen modelliert. Die disperse Phase wurde vernachlässigt.
Durch die zuvor in AP2 aufgeführte Wandstärkenkorrektur des Kondensationsrohres, wurden alle bisherigen CFD-Simulationen mit der neuen Wandstärke von 2,6 mm wiederholt. Daher wird auch die Nachbearbeitung der Simulationen wiederholt. Da wir in den vorangegangenen Simulationen 3,2 mm Wandstärke verwendet haben, wurden die Wärmestromwerte um ca. 20 % unterschätzt. Die neuen Simulationsergebnisse mit der neuen Wandstärke ergaben im Vergleich zum Experiment eine deutliche Verbesserung.
Darüber hinaus wurden in Zusammenarbeit mit THD die ersten Schritte zur CFD-Modellierung der GENEVA-Anlage durchgeführt. Die Geometrie und das Netz werden mit ANSYS Mesh generiert. Das entwickelte Kondensationsmodell für COSMEA wird auch für die GENEVA-Anlage implementiert, und die Simulationen sind fertig. Weitere Arbeiten zur Modellierung der GENEVA-Anlage in Zusammenarbeit mit THD werden während der Projekterweiterung durchgeführt.
Weiterhin wurde während der letzten sechs Monate eine Analyse zur möglichen Steigerung der Kondensationsrate und des Wärmeflusses durch Einfügen geeigneter Einbauten durchgeführt. Grundidee: Da der Flüssigkeitsfilm den Wärmefluss verringert, führt eine Störung des Flüssigkeitsfilms zu einem höheren Wandwärmefluss und damit zu einer höheren Kondensationsrate. Zu diesem Zweck wurde eine umfassende Literaturrecherche durchgeführt. Weitere Arbeiten zur Modellierung verschiedener Arten von Einbauten werden durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Neuerscheinende Publikationen werden regelmäßig analysiert und nutzbare Informationen bei der Weiterarbeit berücksichtigt.
- AP2: Umbau der Sekundärseite der COSMEA-Anlage mit dem Ziel, die Kühlbedingungen zu optimieren. Dazu wird die Instrumentierung wesentlich erweitert und der Kühlwasserstrom gleichgerichtet. Anschließend werden die Messungen mit niedrigen Dampfgehalten durchgeführt und ausgewertet.
- AP3: Anfragen von den Projektpartnern bezüglich der durchgeführten Versuche und der experimentellen Ergebnisse werden weiterhin schnell und kompetent beantwortet.
Des Weiteren werden die vorliegenden Messdaten analysiert, um weitere Informationen zur Modellbildung bereitzustellen. Zusätzlich werden, soweit technisch möglich, für die ermittelten experimentellen Daten Unsicherheiten bestimmt, um eine hohe Qualität beim Vergleich mit den numerischen Ergebnissen zu gewährleisten.
- AP4: - Detailliertere Untersuchungen zum GENTOP-Konzept
- Weitere Arbeiten zur Modellierung der GENEVA-Anlage
- Validierung und Verifikation der Modelle anhand der Experimente mit höherem Flüssigkeitsgehalt innerhalb des Rohres
- Detailliertere Untersuchung des Einflusses von inneren Einbauten auf den Wärmeübertragungskoeffizienten
- Weiterarbeit an der Promotionsschrift und an Journal Publikation

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Iskander, K. N. A. (2018): Study on optimal scintillation detectors for ultrafast electron beam X-ray CT scanners. Masterarbeit. Anhalt University of Applied Science.
- Bieberle, A., Boden, S., Beyer, M., & Hampel, U. (2018): Results of the stationary measurements at COSMEA-I facility - CT part [Data set]. <http://doi.org/10.14278/rodare.4>

Zuwendungsempfänger: Framatome GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 041C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 320.606,00 EUR	Projektleiter: Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen dieses Verbundprojektes werden die thermohydraulischen Besonderheiten der Energieübertragung und Stabilität der bei passiven Wärmeabfuhrsystemen auftretenden Kondensations- und Verdampfungsvorgänge mit experimentellen und theoretischen Methoden untersucht. Der Schwerpunkt liegt auf der Verbesserung von System- und CFD-Codes mit aus Integral- und Einzelexperimenten gewonnenen Daten.

Ziel ist die Entwicklung von Modellen mit den wesentlichen physikalischen Eigenschaften, die sich ohne zu großen numerischen Aufwand zielgenau auf industrielle Probleme und Maßstäbe anwenden lassen, die aber auch in numerischen Rechenprogrammen implementiert werden können.

Framatome unterstützt die Verbundpartner bei der Festlegung durchzuführender Szenarien und bei der Abstimmung der Versuchsdurchführung und des Instrumentierungskonzeptes und stellt experimentelle Daten des INKA Teststandes zur Verfügung. Darüber hinaus ist die Zusammenarbeit bei der Nutzung experimenteller Daten als Grundlage für die verbesserte Modellierung und bei der Implementierung dieser entwickelten Modelle vorgesehen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Framatome GmbH bringt Ihre Erfahrungen bei der Festlegung von Versuchsszenarien, der Erarbeitung messtechnischer Verfahren und bei der Instrumentierung der Versuchsanlagen ein. Sie wirkt bei der Planung der notwendigen Teststandmodifikationen mit und stellt ferner Daten von INKA-Experimenten bereit. Framatome wirkt bei der Entwicklung neuer Integralmodelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren mit und skaliert diese auf die industrielle Anwendbarkeit in einem kommerziellen CFD-Code. Diese werden an experimentellen Daten validiert und kommen in einer Integralcode-Simulation des Notkühlsystems zum Einsatz.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen der CFD-Arbeiten wurde der COSMEA-Teststand am HZDR abgebildet, das vom HZDR entwickelte CFD Modell implementiert und zur Stabilisierung der Simulationen modifiziert. Die durchgeführten Vergleichsrechnungen zeigen gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen vom HZDR. Hinsichtlich der industriellen Anwendbarkeit der Modelle wurde als wesentlicher Bestandteil die Auflösung des Rechengitters schrittweise mit dem Ziel reduziert, einerseits den numerischen Aufwand für die Berechnung des gesamten Notkondensators in vertretbaren Rahmen zu halten, andererseits sollten die dadurch resultierenden Abweichungen in den Berechnungsergebnissen vertretbar sein.

Unter Umsetzung der gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Rechengitterauflösung wurde ein CFD-Modell für die Primärseite des Notkondensators als industrielle Anwendung erstellt und getestet. Hierzu wurde in einem ersten Schritt die Sekundärseite des Notkondensators als Randbedingung berücksichtigt. Die durchgeführte Validierungsrechnung zeigt eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen des INKA-Teststandes. Erkennbare Abweichungen lassen sich im Wesentlichen auf die vereinfachte Repräsentation der Sekundärseite zurückführen, dessen Implementierung in einer weiteren Rechnung umgesetzt wurde. Aufgrund der langen Simulationszeiten konnte diese im Projektzeitraum nicht abgeschlossen werden.

Im Rahmen der Systemcode-Arbeiten wurde unter Berücksichtigung eines revidierten mechanistischen Kondensationsmodells die empirische Korrelation in dem Wärmeübertragungsmodell mit Phasenübergang überarbeitet und erweitert, basierend auf den experimentellen Daten vom NOKO-Teststand COSMEA am HZDR. Diese Korrelation wurde anschließend in S-RELAP5 implementiert.

Die Wärmeübertragungsparameter in der Nachrechnung der Experimente von 2014 und 2017 liefern hierzu akzeptable Abweichungen zu den experimentell abgeleiteten Größen.

Mit Hilfe der experimentellen Daten vom Versuchstand GENEVA der TU Dresden wurde ein Integralmodell für den Wärmetransport an geneigten Rohren erarbeitet, basierend auf der Theorie der Wärmeübertragung durch tröpfchenweise kondensierenden Dampfes. Im Anschluss daran wurde die abgeleitete Korrelation in den Systemcode S-RELAP5 implementiert und mit experimentell abgeleiteten Wärmeübertragungsparameter verglichen. Die optionale Simulation des gesamten Notkühlsystems konnte aufgrund der numerischen Herausforderung innerhalb des Projektzeitraums nicht zusätzlich durchgeführt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Mit Ablauf des Jahres 2018 sind keine weiteren Arbeiten in diesem Teilprojekt geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz- Platz 1, 94469 Deggendorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 041D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 494.528,40 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Leyer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Passive Wärmeabfuhrsysteme sind Teil des Sicherheitssystems vieler Anlagen der Generation III, finden sich aber auch schon in Generation II Reaktoren. Ihr Vorteil ist die Unabhängigkeit von externen Energiequellen bzw. von I & C-Systemen. Demnach können diese Systeme auch bei Station-Black-Out Szenarien den Reaktor kühlen und damit die Barrieren zum Sicheren Einschluss von radioaktivem Material gewährleisten. Allerdings zeigen Störfälle wie in der Anlage Fukushima Daiichi wie wichtig eine sorgfältige Auslegung passiv tätiger Systeme ist.

Ziel des PANAS Vorhabens ist die Beschaffung der physikalischen Grundlagen für passive Nachzerfalls-Wärmeabfuhrsysteme, um diese in numerisch berechenbare Korrelationen zu übersetzen, die dann in thermohydraulische Codes eingearbeitet werden können. Ein zentraler Punkt ist die Beschreibung des Wärmeeintrags, da passive Wärmeabfuhrsysteme durch den Dichteunterschied, der durch die Erwärmung bzw. Abkühlung des Kühlmediums hervorgerufen wird, angetrieben werden. Die Modellierung des Wärmeeintrags ins passive System bzw. der Wärmeaustausch zwischen den Phasen des Kühlmediums im stationären bzw. transienten Betrieb ist die zentrale Fragestellung des Teilprojektes PANAS D. Damit ist das Teilprojekt direkt mit den experimentellen Vorhaben im Rahmen des Verbundprojektes verknüpft.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das PANAS Teilprojekt D behandelt die Modellierung der statischen und transienten Wärmeübertragungsvorgänge einer Zweiphasen-Wasser-Dampf-Strömung sowie die Wärmeüberträger-Strukturen. Ausgehend von den in der Literatur verfügbaren Modellen und auf Basis kinetischer Modelle werden die Messergebnisse, die an den Testständen GENEVA der Technischen Universität Dresden und des Teststandes zur Wärmedurchgangsmessung in geneigten Rohren des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf analysiert und optimierte Wärmeübergangsmodelle erarbeitet. Daran anschließend wird die Implementierbarkeit dieser Modelle in gängige Fluidynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

- AP1: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen
- AP2: Erstellung von 1D dynamisch thermischen Kopplungsmodellen sowohl im stabilen als auch im transienten Zustand mit ATHLET aufgrund der Daten von GENEVA und COSMEA Teststände
- AP3: Vergleich des Simulationsresultats mit dem Messergebnis und Entwicklung von Modellen im Hinblick auf vorhandene Zweiphasenströmungs-Instabilitäten und transienten Modellen. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch-statischer und thermisch-dynamischer Kopplungen

AP4: Entwicklung von 3D Modellen mit kleinem Kontrollvolumen zur Beschreibung dynamischer thermischer Kopplungen mithilfe von CFX

AP5: Beurteilung der Implementierbarkeit von zeitabhängigen Wärmeübergangs-Mechanismen in bestehende Programm-Strukturen

Der Terminplan wurde an die Änderungen im PANAS Projekt angepasst.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Das AP1 und 2 sind erfolgreich abgeschlossen. Die Arbeiten im Rahmen des AP3 und 4 sind in der Bearbeitung. Die ATHLET- Berechnungen wurden wiederholt durchgeführt, denn aufgrund einer Geometrie-Änderung der COSMEA-Experimente ergaben sich neue Eingabe-Parameter für die Simulation. Die Abweichung der Wärmestromdichte und Kondensationsrate zwischen Simulation und Experimente sind groß: die berechneten Werte liegen 25 Prozent unter den experimentellen Daten. Eine Literaturrecherche der verschiedenen Kondensationsmodelle wurde durchgeführt und die Modelle wurden mithilfe eines Python-Programms in die ATHLET-Rechnung implementiert. Die Berechnungen basieren auf den experimentellen Ergebnissen der COSMEA im Jahr 2014. Die Simulation der Wärmestromdichte wurde verbessert, die Resultate zeigen jedoch nach wie vor eine relativ große Differenz zu den Experimenten. Zum momentanen Zeitpunkt wird der physikalische Hintergrund für diese Modelle gerade analysiert. Sensitivitätsanalysen der Wärmeübergangskorrelationen (z. B. Chato, Cavallini und Dobson usw.) wurden bereits teilweise durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Schritt werden die Sensitivitätsanalysen der Wärmeübergangskorrelationen komplett abgeschlossen. Die Kondensationsmodelle werden in ATHLET wieder implementiert und mit neuen COSMEA-Daten validiert. Es ist geplant, an einer Konferenz (NURETH-18) teilzunehmen. Außerdem wird der Datensatz von COSMEA analysiert und die Methodik für die Verbesserung der Kondensationsmodelle wird untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Vortrag (Investigate of condensation process in COSMEA with ATHLET code) wurde im 2nd SG-FANS Symposium präsentiert

Eine Veröffentlichung (An investigation of condensation process in COSMEA with ATHLET code) wurde im Zeitschrift (Kerntechnik) veröffentlicht

Eine Veröffentlichung (Overviewpaper für die verschiedenen Wärmeübertragungsmodelle) wird durch internal Review von Prof. Hampel gerade überprüft

Ein Konferenzpaper (Evaluation of stratified condensation models for a slightly inclined tube using ATHLET code) ist bei der NURETH-18 geplant

2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 039A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.916.145,00 EUR	Projektleiter: Dr. Altmaier	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Projekts ThermAc ist die Erweiterung des Kenntnisstands und der thermodynamischen Datenbasis für Actinide, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für Langzeitsicherheitsanalysen zur Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender nuklearer Abfälle. Angesichts der existierenden Lücken ist ein signifikanter Wissenszuwachs nur auf Basis eines integrierten Konzepts zu realisieren, mit folgenden strategischen Komponenten:

- (i) Systematische Anwendung von verschiedenen Schätzmethode für thermodynamische Daten und Modellparameter. Basierend hierauf erfolgt die geochemische Modellierung von Referenzsystemen.
- (ii) Umfassende und belastbare experimentelle Validierung der unter (i) erarbeiteten Vorhersagen unter Nutzung verschiedener komplementärer experimenteller und quantenchemischer Ansätze.
- (iii) Grundlegende Untersuchungen zum verbesserten Prozessverständnis der Actinidenchemie bei höheren Temperaturen.
- (iv) Kritische Evaluation der Arbeiten in (i)-(iii), hinsichtlich der Fragen (A) in wie weit sind die Schätzmethode hinreichend qualifiziert um im Rahmen von Langzeitsicherheitsanalysen belastbar eingesetzt zu werden, und (B) welche Systeme sind weiterhin thermodynamisch unterbestimmt bzw. welche relevanten Prozesse bei höheren Temperaturen können nicht hinreichend verstanden werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

(Gesamtprojekt ThermAc, Arbeiten von KIT-INE und dessen Unterauftragnehmern)

KIT-INE arbeitet in allen Arbeitspaketen von ThermAc mit Ausnahme von AP4.

AP1: Initialisierungsarbeiten

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei erhöhten Temperaturen

AP3: Erarbeitung von thermodynamischen Daten zur Speziation der Actiniden in wässrigen und festen Systemen

AP5: Bewertung von Schätzmethode

AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- KIT-INE, Projektmanagement: Organisation von Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Np(V)-Löslichkeitsexperimente bei $T = 80\text{ °C}$. (ii) Manuskript Lee et al. „Solubility of Ca–U(VI)–CO₃(s) systems at $T = 25$ and 80 °C “ abgeschlossen. (iii) Fertigstellung: Manuskript Lee et al. zu „Impact of T on Np(V) solid phases“ nach Integration neuer Daten. (iv) Fertigstellung: Manuskript Lee et al. „Redox chemistry of Np at elevated T “. (v) Manuskript Endrizzi et al. „U(VI) solubility in dilute to concentrated NaCl at $T = 25, 55, 80\text{ °C}$ “ akzeptiert bei RCA, proofs bearbeiten. (vi) Abschluss des Experimentaufbaus für Arbeiten mit Th(IV).
- Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS: (i) ergänzende isopiestic Versuche im System NaCl–Na₃Fe(CN)₆·H₂O. Isoaktivitätslinien bestätigten ideale Mischung aus den beiden binären Randsystemen (Zdanovskij-System). (ii) Ergänzung des thermodyn. Modells für Hexacyanoferrate. (iii) Entwicklung Zwei-Stufen-Modell zur Änderung des Redoxpot. für NaCl- und MgCl₂-Lösungen.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos21: (i) Arbeiten zur Publikation zum “Nd(III)-OH and Nd(III)-Cl system”, mit KIT-INE und Uni Heidelberg. (ii) Erstellung Technischer Datenblätter zu Schätzmethode und -werten. (iii) Bewertung von Unsicherheiten bei der Verwendung von SIT-Parametern bei $T = 25\text{ °C}$ für höhere Temperaturen.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES: (i) Vergleich von Experimenten in ThermAc mit isocoul. Extrapolationen. (ii) Abschätzung der T -Abhängigkeit ausgewählter An(VI)-Carbonato-, Fluorido-, Chlorido-, Sulfato-, und Hydroxo-Komplexe (mit TUM Daten). (iii) Testrelease der ThermoHub-Datenbank mit SUPCRT98-, PSI/Nagra-, und Cemdata18-Daten. (iv) Verbesserung der Software-Klienten zur Berechnung von thermodyn. Daten, zur Generierung von Reaktionsstöchiometrien, und zum Datenexport aus der ThermoHub-Datenbank.

4. Geplante Weiterarbeiten

- KIT-INE, Projektmanagement: Kommunikation im Verbund ThermAc, Organisation von Projekttreffen, Dissemination, Ausrichtung ThermAc-Abschlussworkshops 27.+28. Juni 2019, Karlsruhe.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (1) Präparation von Th(IV)-Festphasen für Studien bei verschiedenen Temperaturen. Equilibrierung der Festphasen als $f(T)$. (ii) Beginn der Th(IV)-Löslichkeitsexperimente bei höheren Temperaturen. (iii) Fertigstellung bzw. Einreichung der verschiedenen o. g. Manuskripte von Lee et al. bzw. Endrizzi et al. in ThermAc.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS: (i) Experimentelle Messungen: (a) Speziation von Fe(II) in chloridischen und sulfatischen Lösungen. (b) Kalorimetrische Messungen an Mg-Hexacyanoferraten. (ii) Löslichkeitsmessungen in ternären Hexacyanoferrat Systemen bei $T > 25\text{ °C}$. (iii) Neues elektronisches Tool zur Umrechnung von Redoxpotentialen in H₂- bzw. O₂-Partialdruck.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos21: (i) Schätzmethode für Enthalpie und Entropiedaten: Phosphat und Karbonatsysteme. (ii) Fortentwicklung Technischer Datenblätter. (iii) Analyse der verwendeten Schätzmethode: Bedeutung für Abbau von Unsicherheiten im Safety Case.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES: (i) Manuskripte zu: (a) isocoul. Reaktionen zur Temp.-Extrapolation von Gleichgewichtskonstanten. (b) ThermoFun-Programmibibliothek. (ii) Temp.-Extrapolationsmethoden mit Ryzhenko-Bryzgalin-Modell. (iii) Dokumentation der entwickelten Softwaretools, deren Fertigstellung für den ThermAc-Workshop und öffentliche Freigabe.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Lothenbach et al. (2018): Cement and Concrete Research 115, 472-506

Endrizzi et al. (2018): J. Chem. Thermodynamics 120 (2018) 45–53

Miron et al. (2019): Thermodynamic properties of aqueous species calculated using the HKF model: Geofluids. in press

Lee et al.: Vortrag bei ISSP Konferenz, Tours, Frankreich (07.2018)

Altmaier et al., Poster, ACS Konferenz, Boston (USA) (08.2018); (6) Altmaier, Poster bei ISSP Konferenz, Tours, Frankreich (7.2018)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 039B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 31.12.2019		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 785.091,00 EUR		Projektleiter: Dr. Huittinen

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundprojekt ThermAc (sieben Partner, Koordination KIT-INE) zielt auf die Erweiterung des Kenntnisstands und der thermodynamischen Datenbasis für Actiniden, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für Langzeitsicherheitsanalysen zur Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender Abfälle. Das Projekt adressiert den Temperaturbereich bis 90 °C, und vorrangig anorganische Systeme bei niedrigen oder mittleren Ionenstärken. Angesichts der existierenden thermodynamischen Lücken wurde ein integriertes Konzept mit vier strategischen Komponenten entwickelt um einen signifikanten Wissenszuwachs innerhalb der ersten Projektphase zu generieren:

- a) Systematische Anwendung von Schätzmethode für thermodynamische Daten und Modellparameter; mit nachgeschalteter geochemischer Modellierung von Referenzsystemen.
- b) Experimentelle Validierung dieser Vorhersagen
- c) Untersuchungen zum verbesserten Prozessverständnis der Actinidenchemie.
- d) Finale kritische Evaluation der Schätzmethode für Belange der Langzeitsicherheitsanalysen und Ableitung noch notwendiger Experimente für thermodynamisch unterbestimmte Systeme und relevante Prozesse.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Initialisierungsarbeiten
(Literaturstudie zu Komplexbildungs- und Löslichkeitskonstanten der Actiniden und den wesentlichen Liganden)
- AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei höheren Temperaturen
- AP3: Erarbeitung von thermodynamischen Daten zur Speziation der Actiniden in wässrigen und festen Systemen
- AP5: Bewertung von Schätzmethode – Vergleich mit Experimenten
- AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Cm(III)-Phosphat: Die Untersuchungen zum Cm(III)-Phosphat-System bei $-\log[\text{H}^+] = 2.5$ sowie unterschiedlichen Temperaturen (25 – 90 °C) und Ionenstärken ($I=0.5\text{-}2.0\text{ M}$) sind abgeschlossen. Es konnten $\log\beta^0(T)$, Ion-Ion-Wechselwirkungsparameter ε und die thermodynamischen Parameter für die Reaktion $\text{Cm}^{3+} + 2\text{H}_3\text{PO}_4 \leftrightarrow \text{Cm}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2^+ + 2\text{H}^+$ bestimmt werden. Darüber hinaus wurden zwei weitere Cm(III)-Phosphat-Komplexe, $\text{Cm}(\text{HPO}_4)^+$ und $\text{Cm}(\text{HPO}_4)_2^-$ bei höherem $-\log[\text{H}^+] = 3.2$ identifiziert.
- U(VI)-Silikat: Hier erfolgten erste temperaturabhängige Lumineszenz-Untersuchungen im sauren pH-Bereich. Es war möglich eine Komplexbildungskonstante sowie thermodynamische Daten für $\text{UO}_2\text{OSi}(\text{OH})_3^+$ abzuleiten. Im alkalischen pH-Bereich konnte, in Kollaboration mit dem PSI und der TU München, die Bildung des monodentaten ternären $\text{UO}_2(\text{OH})_2\text{OSi}(\text{OH})_3^-$ Komplex bestätigt werden. Dazu erfolgten die ersten spektroskopischen Versuche sowie Auswertungen der Daten im alkalischen pH-Bereich, um die Bildung des ternären Komplex mittels TRLFS bestätigen zu können.
- U(VI)-Chlorid/Fluorid: Im Rahmen einer Masterarbeit wurde die Wechselwirkung von Uranyl(VI) mit Fluorid bzw. Chlorid in Lösung aufgeklärt. Lumineszenz-Spektren der einzelnen U(VI)-Chlorid und U(VI)-Fluorid Komplexe konnten isoliert werden. Der Quenchingprozess von Uranyl(VI) mit Chlorid wurde ebenfalls untersucht, hier konnte mittels Stern-Volmer-Analyse die Aktivierungsenthalpie, -entropie und -energie des dynamischen Quenchingprozesses bestimmt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Cm(III)/Eu(III)-Phosphat: Die spektroskopischen Daten für dieses System bei einem pH-Wert von $-\log[\text{H}^+] = 3.2$ werden ausgewertet und daraus Komplexbildungskonstante und thermodynamische Daten für die gefundene Komplexe abgeleitet. Danach folgen komplementäre Versuche mit Eu(III).
- U(VI)-Silikat: Entsprechende spektroskopischen Untersuchungen werden abgeschlossen und die Daten in zwei Publikationen sowie einer Dissertation veröffentlicht. ESI-TOF-Messungen werden noch im zweiten Quartal 2019 erfolgen.
- U(VI)-Chlorid/Fluorid: Mit Hilfe der isolierten Lumineszenz-Spektren für die einzelnen Komplexe soll eine Berechnung der Speziesverteilung erfolgen. Darauf basierend erfolgt die Ableitung von Komplexbildungskonstanten. Die Ergebnisse zu Quenching- und Komplexierungsverhalten von Uranyl(VI) mit Chlorid und Fluorid sollen in einer Publikation zusammengefasst werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Maximilian Demnitz: Temperaturabhängige Untersuchungen von Uran-Redoxreaktionen in halidhaltigen Lösungen, Masterarbeit, 17.09.2018, Technische Universität Dresden

H. Lösch, J. Tits, M. Marques, B. Baeyens, T. Stumpf, N. Huittinen: Uranium(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic to alkaline pH-range, Plutonium Futures 2018, 11.09.2018, San Diego, USA

N. Jordan, M. Demnitz, H. Lösch, S. Starke, V. Brendler, N. Huittinen: Elucidating the impact of elevated temperature on the complexation of Cm(III) and Eu(III) with phosphate ions by luminescence spectroscopy, ATAS 2018, 06.-09.11.2018, Nizza, Frankreich

Zuwendungsempfänger: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 039C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 654.706,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Panak	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen dieses Verbundprojekts werden Untersuchungen durchgeführt, die den Kenntnisstand und die thermodynamische Datenbasis für Actinide, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für Langzeitsicherheitsanalysen zur Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender nuklearer Abfälle erweitern. Schwerpunkte der geplanten Arbeiten im Rahmen dieses Teilprojekts sind die Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen durch Anwendung von Speziationsmethoden wie z. B. der zeitaufgelösten Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS), Röntgenabsorptions- und UV/Vis-Spektroskopie bei erhöhten Temperaturen sowie die Bestimmung von thermodynamischen Daten für Komplexierungsreaktionen und löslichkeitsbestimmende Festphasen, die im Hinblick auf die Endlagerung in natürlichen geologischen Formationen eine wesentliche Rolle spielen. Dadurch werden grundlegende Informationen bezüglich der Bildungsreaktionen sowie der Stabilität der Komplexe/Festphasen erhalten, die eine zuverlässigere Beschreibung des Migrationsverhaltens von Actiniden in natürlichen Systemen und insbesondere im Nahfeld eines Endlagers ermöglichen.

Das Forschungsvorhaben wird in enger Kooperation mit den Verbundpartnern des HZDR, KIT-INE, FZJ sowie der GRS und der TU München durchgeführt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- WP1: Komplexierung von dreiwertigen Actiniden mit Chlorid
- WP2: Hydrolyse von Cm(III) und Eu(III) bei erhöhten Temperaturen
- WP3: Komplexierung von Np(V) mit anorganischen Liganden bei erhöhten Temperaturen
- WP4: Charakterisierung von Festphasen
- WP5: Bewertung von Schätzmethode; Qualitätsmanagement/Dokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

WP3:

Die ursprünglich für die Fluoreszenzspektroskopie entwickelte Hochtemperaturzelle wurde modifiziert um absorptionspektroskopische Untersuchungen bis $T = 200\text{ °C}$ zu ermöglichen.

Sie besteht aus einer TiPd-Legierung mit einem Massenanteil von 0.2 % Pd, welche eine sehr hohe Korrosionsbeständigkeit und einen geringen Wärmeausdehnungskoeffizienten aufweist. Dies ermöglicht die spektroskopische Untersuchung der NpO_2^{+2} -Komplexierung unter schwach sauren Bedingungen bei hohen Salzkonzentrationen und Temperaturen. Die Messzelle besitzt vier optische Fenster (Durchmesser der Fensterhalterung: 8 mm) aus Saphirglas. Diese sind mit Ringdichtungen aus Fluoropolymer abgedichtet. Die Zelle wurde für einen maximalen Druck von 30 bar (TÜV geprüft) und Temperaturen bis 200 °C ausgelegt. Zur Aufnahme von Absorptionsspektren wurde die Zelle mit Vis-IR-Lichtleitern aus Quarzglas an das UV/Vis-Spektrometer gekoppelt. Die numerische Apertur an den Faserenden auf Seiten der Hochtemperaturzelle wurde durch Kollimationslinsen korrigiert. Messungen der Absorption des NpO_2^+ -Aquoions in dieser neuen Zelle und Vergleich mit analogen Untersuchungen in Quarzküvetten zeigen bei 25 °C ein vergleichbares Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR).

Mittels des neuen experimentellen Aufbaus wurde die Komplexierung von NpO_2^+ mit SO_4^{2-} im Temperaturbereich bis 200 °C untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die Sulfatkomplexierung mit steigender Temperatur deutlich zunimmt. Dabei wurde im untersuchten Temperaturbereich lediglich der $[\text{NpO}_2(\text{SO}_4)]^-$ Komplex gebildet. Höhere Komplexe wurden nicht identifiziert. Eine Extrapolation der ermittelten konditionalen $\log \beta^0_1(T)$ auf $I_m = 0$ entsprechend der SIT ergab $\log \beta^0_1(25 \text{ °C}) = 1.05 \pm 0.08$, welcher sich mit steigender Temperatur auf $\log \beta^0_1(200 \text{ °C}) = 2.94 \pm 0.46$ erhöht. Anhand der integrierten Van't Hoff Gleichung wurde die Standardreaktionsenthalpie ($\Delta_r H^0_{1,m} = 31 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$) und -entropie ($\Delta_r S^0_{1,m} = 123 \pm 9 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) ermittelt. Des Weiteren wurde der SIT-spezifische $\Delta \epsilon_{01}(T)$ bestimmt. Dieser zeigt keine deutliche Änderung im untersuchten Temperaturbereich, weshalb ein T-unabhängiger Ioneninteraktionskoeffizient $\epsilon(\text{Na}^+, \text{NpO}_2(\text{SO}_4)^-)$ = 0.07 ± 0.11 ermittelt wurde. Die erhaltenen $\log \beta^0_1(T)$ (bis 85 °C), $\Delta \epsilon_{01}(T)$, $\Delta_r H^0_{1,m}$ und $\Delta_r S^0_{1,m}$ sind in sehr guter Übereinstimmung mit den analogen Daten der Untersuchungen in Quarzküvetten bis 90 °C, wodurch die Anwendbarkeit der modifizierten Hochtemperaturzelle eindeutig verifiziert wurde.

4. Geplante Weiterarbeiten

WP1: Evaluierung der thermodynamischen Daten für den $\text{Cm}(\text{F})_2^+$ -Komplex bis 200 °C.

WP3: Untersuchung der Komplexierung von $\text{Np}(\text{V})$ mit Cl^- und Nitrat bis 200 °C.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: Thermodynamics of the complexation of curium(III) with chloride in alkali and alkali earth metal solutions at elevated temperatures, *J. Chem. Thermodyn.*, 131, 219-224, (2019)

Maiwald, M. M., Fellhauer, D., Skerencak-Frech, A., Panak, P. J.: The complexation of neptunium(V) with fluoride at elevated temperatures: Speciation and thermodynamics, *Appl. Geochem.*, accepted.

Skerencak-Frech, A.: Radionuclide chemistry in Nuclear Waste Disposal – application of modern spectroscopy for molecular process understanding and actinide thermodynamics, 35th International Conference on Solution Chemistry, Szeged, Hungary, August 26-30, 2018 (eingeladener Vortrag).

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 039D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 30.11.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 582.309,00 EUR	Projektleiter: Dr. Brandt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Projekts ist die Erweiterung der thermodynamischen Datenbasis für Actiniden, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für die Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender Abfälle. Der Fokus liegt auf dem Verhalten in aquatischen Systemen bei erhöhten Temperaturen bis 90 °C und niedrigen bis mittleren Ionenstärken - unter Nutzung von Abschätzungsalgorithmen, neuen experimentellen Untersuchungen und quantenchemisch gestützten Strukturinformationen. Um dieses Ziel zu erreichen, werden die beteiligten Verbundpartner aus Universitäten und nationale Forschungseinrichtungen ihre Expertise und Aktivitäten in Synthese, Charakterisierung, und Theorie bündeln, um zu einem tieferen Verständnis der Thermodynamik der ausgewählten Systeme zu gelangen. Durch die das Projekt im Wesentlichen tragenden Doktoranden und Post-Doc Stellen und die verbesserte Vernetzung der beteiligten Institutionen wird ein wichtiger Beitrag zur Nachwuchsförderung mit dem Ziel des Erhalts und der Erweiterung von radiochemischer und kerntechnischer Kompetenz in Deutschland geleistet.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Rahmen der Fortsetzungszeit von ThermAc bearbeitet das IEK-6 folgende Arbeitspakete:

- AP1: Herstellung und Charakterisierung von definierten Mischkristallen für Rekristallisationsexperimente
- AP2: Makroskopische Rekristallisationsexperimente zur Wechselwirkung von Radium mit (Ba,Sr)SO₄ Mischkristallen
- AP3: Mikroskopische und nanoanalytische Untersuchung von Proben aus AP2
- AP4: Auswertung der Experimente und Überprüfung des Modells
- AP5: Ergebnisdokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die nachfolgend beschriebenen AP's beziehen sich auf die Fortsetzung ab 01.03.2018.

- AP1: Die benötigten Mischkristalle wurden hergestellt und mittels SEM/EDX, XRD charakterisiert (AP1 des Fortsetzungsantrags).
- AP2: Rekristallisationsexperimente mit den neu hergestellten Mischkristallen in Gegenwart von Radium bei insgesamt drei unterschiedlichen Temperaturen laufen. Allerdings fehlen wesentliche Daten zum Zeitpunkt dieses Berichts aufgrund eines anhaltenden Gerätedefekts (ICP-MS), der erst vor kurzem behoben werden konnte.
- AP3: Mikroskopische und nanoanalytische Arbeiten an Proben aus AP2 wurden begonnen und erste Ergebnisse bei dem Projekttreffen im PSI vorgestellt.
- AP4: Thermodynamische Modellrechnungen liegen bereits vor und wurden in die Planung der Experimente einbezogen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die experimentellen Arbeiten werden fortgeführt und die erzeugten Daten in AP4 mit den Modellvorhersagen verglichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vinograd V. L., Kulik D. A., Brandt F., Klinkenberg M., Weber J., Winkler B. and Bosbach D. (2018): Thermodynamics of the solid solution - Aqueous solution system (Ba,Sr,Ra)SO₄ + H₂O: I. The effect of strontium content on radium uptake by barite. *Appl. Geochemistry* 89, 59–74

Poonoosamy J., Brandt F., Stekiel M., Kegler P., Klinkenberg M., Winkler B., Vinograd V., Bosbach D. and Deissmann G. (2018): Zr-containing layered double hydroxides: Synthesis, characterization, and evaluation of thermodynamic properties. *Appl. Clay Sci.* 151, 54–65

Klinkenberg M., Weber J., Barthel J., Vinograd V., Poonoosamy J., Kruth M., Bosbach D. and Brandt F. (2018): The solid solution–aqueous solution system (Sr,Ba,Ra)SO₄ + H₂O: A combined experimental and theoretical study of phase equilibria at Sr-rich compositions. *Chem. Geol.* 497, 1–17

Brandt F., Klinkenberg M., Poonoosamy J., Weber J. and Bosbach D. (2018): The Effect of Ionic Strength and Sr aq upon the Uptake of Ra during the Recrystallization of Barite. *Minerals* 8

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 039E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 31.08.2019		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 575.528,00 EUR		Projektleiter: Dr. Krüger

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziele:

Quantenmechanische Modellierung von Neptuniumhydroxid- und Carbonatkomplexen der Oxidationsstufen V und VI zur Charakterisierung ihrer Speziation, Geometrie, und thermodynamischer Parameter. Unterstützung der Interpretation entsprechender spektroskopischer Experimente der Projektpartner.

Bezug zu anderen Vorhaben: Teilprojekt im Verbund ThermAc.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst folgende Arbeitspakete:

- AP1: Methodenevaluierung
- AP2: Einkernige Neptunium(V)-Komplexe
- AP3: Einkernige Neptunium(VI)-Komplexe
- AP4: Mehrkernige Neptuniumkomplexe
- AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexbildung
- AP6: Unterstützung spektroskopischer Experimente

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Einkernige Np(V)-Komplexe; AP3: Einkernige Np(VI)-Komplexe, AP4: Mehrkernige Np-Komplexe; AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexbildung

Arbeiten zur Charakterisierung der zweikernigen anionischen Hydroxocarbonatkomplexe $(AnO_2)_2CO_3(OH)_3^-$, $An = U(VI)$ und $Np(VI)$ (AP4) wurden um Berechnungen von Schwingungsspektren ergänzt. Dabei wurde deutlich, dass die hier und in der Literatur verwendeten Komplexmodelle lediglich Moden qualitativ wiedergeben, aber dennoch damit die bisherige Interpretation der Experimente stützen. Das Modell der Solvatumgebung ist jedoch für eine gute Bestimmung der Schwingungsfrequenzen nicht ausreichend.

Rechnungen zu Komplexen $\text{AnO}_2(\text{SO}_4)_n^q$ (AP3) wurden für U(VI) fortgeführt und um Np(VI) erweitert. Es wurden vor allem systematisch die Isomere dieser Komplexe bestimmt, um der offenen Frage nachzugehen, wie Sulfat an Aktinylen koordiniert. Während für U(VI)-Monosulfat eine bidentate Koordination bevorzugt ist, sind beide Koordinationsmoden für Np(VI)-Monosulfat nahezu entartet. Für die An(VI)-Disulfatkomplexe unterscheiden sich verschiedene Koordinationsmoden der Liganden nur um bis zu 5 kJ/mol mit einer Tendenz zu bidentater Koordination für U(VI). Weiterhin ist eine Tendenz zur Stabilisierung geringerer Koordinationszahlen für Np(VI) gegenüber U(VI) auf Grund seiner geringeren Größe zu beobachten. Strukturparameter werden in guter Übereinstimmung mit Experimenten (EXAFS, HEXS) berechnet. Mittlere An-O Bindungslängen sind nahezu unabhängig von den Koordinationsmoden. An-O-Bindungen zu Sulfaten sind kürzer als Bindungen zu Aqualiganden. An-S-Abstände werden für die stabilsten Isomere etwas unterschätzt, da diese durch Wasserstoffbrücken stabilisiert sind, die aufgrund der Lösungsdynamik nur zeitweise bestehen. Komplexierungsenergien werden in den Modellrechnungen wie gewöhnlich stark überschätzt, geben jedoch gemessene Trends wieder. Die Energien sind für U und Np nahezu gleich, während die akzeptierte Komplexierungskonstante (NEA) für Np(VI) etwas größer ist. Die Additionsenergie des zweiten Sulfates ist deutlich geringer als die des ersten. Derzeit werden diese Modellierungen auf Np(V)-Sulfatkomplexe ausgedehnt.

Modellierungen zur Temperaturabhängigkeit von Aktinyl-Halogenidkomplexen (AP3 und 5) für F und Cl wurden um Np(VI)- und Np(V)-Komplexe erweitert. Np(VI)-Komplexe zeigen Koordinationszahlen von 4 und 5 während für Np(V)-Dihalogenide nur Spezies mit einer Koordinationszahl von 4 erhalten wurden. Cis- und Transisomere der Dihalogenide dürften im Gleichgewicht vorliegen. Bindungslängen werden qualitativ richtig wiedergegeben, jedoch wird die Halogenidbindungslänge modellbedingt etwas unterschätzt. Wie im Experiment für U(VI) ist allgemein die schwache Chloridbindung länger als die der Aqualiganden, während die Fluoridbindung kürzer ist.

In Übereinstimmung mit Messungen wurde für alle Komplexe eine Stabilisierung mit steigender Temperatur erhalten. Diese Stabilisierung ist für U(VI) und Np(VI) gleich und etwas schwächer für Np(V). Obwohl Cl schwächer komplexiert als F ergeben die Rechnungen eine sehr ähnliche Temperaturstabilisierung, was experimentell noch zu bestätigen ist. Energien der Cis- und Transisomere der Dihalogenide zeigen eine sehr ähnliche Temperaturabhängigkeit, so dass deren Gemisch als effektive Spezies betrachtet werden kann.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Einkernige Np(V)-Komplexe; AP3: Einkernige Np(VI)-Komplexe, AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexierung

5. Berichte, Veröffentlichungen

2. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag A. Gray, I. Chiorescu S. Krüger, N. Rösch: Density Functional Modeling of $(\text{AnO}_2)_2\text{CO}_3(\text{OH})_3^-$: A New View on a Complex System, 4. Internationaler Workshop Advanced Techniques in Actinide Spectroscopy, 6.-9. November 2018, Nizza, Frankreich

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 044A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 882.354,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im vorliegenden Projekt sollen geochemische Einflüsse untersucht werden, die das Migrationsverhalten von Pu oder Tc wesentlich beeinflussen. Da die umgebenden Materialien meist sehr inhomogen sind, müssen Speziation und Sorptionsmechanismen mikroskopisch betrachtet werden. Dazu soll in Zusammenarbeit zwischen dem Institut für Radioökologie und Strahlenschutz an der LUH sowie dem Institut für Kernchemie und dem Institut für Physik an der JGU Mainz das kombinierte Verfahren der orts aufgelösten Sekundärionen-Flugzeit-Massenspektrometrie mit effizienter und elementselektiver Laser-Resonanzionisation der sekundären Neutralteilchen entwickelt (Laserresonanzionisations-SNMS) und an jeweils einem entsprechend spezialisierten Gerät in Mainz und Hannover eingesetzt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Kopplung von TOF-SIMS mit resonanter Laser-ionisation Planung
 AP2: Charakterisierung des Messverfahrens, Untersuchung systematischer Effekte
 AP3: Durchführung analytischer Messungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Der Aufbau des Lasersystems wurde für die geplante Integration zusätzlicher Laser umgebaut und vorbereitet, eine Reihe kleinerer Optimierungen wurde implementiert.
 AP2: Die laufende Bachelorarbeit (Physik) zur Optimierung von Geräteparametern wurde erfolgreich abgeschlossen und resultierte in einer deutlichen Verbesserung von SIMS-Messungen. Außerdem wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Gerätekonfiguration erstellt, die nun SNMS-Messungen auf nichtleitenden Proben ermöglicht.
 Basierend auf diesen Ergebnissen konnte die Auflösung von SIMS-Messungen verbessert werden, sodass nun U-236 von Untergrundsignal getrennt werden kann, was die Messung von U-Isotopenverhältnissen mit SIMS erheblich verbessert.
 Für die SNMS wurden mehrere am Institut für Physik in Mainz entwickelte zweistufige Anregungsschemata getestet. Americium konnte dabei mit einem solchen Schema - unter Unterdrückung der Plutoniuminterferenz - erfolgreich gemessen werden. Im Falle des Plutoniums konnte jedoch die Uraninterferenz mit dem zweistufigen Schema nicht ausreichend unterdrückt werden, sodass die bestehenden dreistufigen Anregungsschemata weiterverfolgt werden. Außerdem wurde der Einfluss des Extraktionsdelays auf das Untergrundsignal der SNMS systematisch gemessen und weitere Messungen entsprechend optimiert.

AP3: In zwei weiteren Bachelorarbeiten (Physik), davon eine abgeschlossen und eine in den letzten Schritten, wurden sehr gute Ergebnisse erzielt: In der abgeschlossenen Arbeit wurden 26 Partikel identifiziert und mittels REM und EDX untersucht sowie literaturbekannte Zusammenhänge zwischen chemischer Zusammensetzung und Morphologie reproduziert. In der zweiten Arbeit wurde zuerst ein Verfahren zur Herstellung von feinen Nadeln aus Wolfram-Draht entwickelt, einzelne Partikel mithilfe der produzierten Nadeln extrahiert sowie auf einem eigens entwickelten Probenträger mit SIMS vermessen.

Drei der extrahierten Partikel wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Gareth Law (Universität Helsinki, ehemals Manchester) an der Swiss Light Source (SLS) mittels XANES, XRF und XRD erfolgreich vermessen, die Auswertung der Ergebnisse steht noch aus.

Durch die in AP2 gelisteten Verbesserungen der SIMS Messparameter sowie durch die Extraktion einzelner Partikel konnte eine systematische Untersuchung der U-Isotopenverhältnisse begonnen werden, die mit der Literatur übereinstimmende Ergebnisse liefert.

Zusätzlich wurden erste Am-Messungen mittels SNMS nicht nur dem ersten, in Indium gepressten Partikel, sondern außerdem auch an weiteren, extrahierten Partikeln auf W-Nadeln erfolgreich durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: - Erweiterung des Lasersystems um zwei Gitter-Titan:Saphir-Laser.

AP2: - Charakterisierung der Gitter-Ti:Sa-Erweiterung, Testmessungen.

- Test der Abhängigkeit des SNMS Messsignals von der Laserpolarisation

- Weiterentwicklung der Partikelsuche durch Kombination weiterer Methoden (Flotation, Scanning)

AP3: - Weitere Partikelextraktion

- Gamma-Messungen der isolierten Partikel für Am-241-, Eu-154- & Cs-137

- Messung von Uran-Isotopenverhältnissen mit SIMS für weitere Umweltpartikel

- Auswertung der Beamline-Experimente für XANES, XRF und XRD-Daten

- Untersuchung der Löslichkeit einzelner Partikeln, sequentielle Extraktion

5. Berichte, Veröffentlichungen

Bullwinkel, M.: „Ortsaufgelöste Massenspektrometrie auf nicht leitenden Umweltproben“, 30.10.2018, Bachelorarbeit

Leifermann, L.: „Lokalisierung und Vergleich von uranhaltiger Partikel in Bodenproben“, 04.10.2018, Bachelorarbeit

Bosco, H., Weiß, M., Raiwa, M., Wendt, K., Walther, C.: “Analysis of Plutonium containing Particles by Resonant Laser-SNMS”, Plutonium Futures 2018, San Diego California, USA, 9.-14.9.2018, Vortrag

Bosco, H., Weiß, M., Raiwa, M., Wendt, K., Walther, C.: „Spatially resolved particle analysis by SEM and resonant Laser-SNMS”, seminar Lawrence Livermore National Laboratory, 4.9.2018, eingeladener Vortrag

Raiwa, M., Bosco, H., Weiß, M., Wendt, K., Walther, C.: “Spatially resolved analysis of micrometer sized hot particles from the Chernobyl environment by rL-SNMS”, ATAS 2018, Nice, France, 6.-9.11.2018, Vortrag

Raiwa, M., Weiß, M., Bosco, H., Walther, C., Wendt, K.: “Analysis of radionuclide containing particles from Chernobyl by resonant Laser-SNMS”, SIMS Europe 2018, Münster, Germany, 16.-18.9.2018, Vortrag

Weiß, M., Bosco, H., Raiwa, M., Walther, C.: “Spatially resolved analysis of nuclear fuel particles in environmental samples”, ERA13, Cambridge, UK, 17.-20.09.2018, Vortrag

Zuwendungsempfänger: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 044B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 964.500,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Reich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Sicherheitsanalyse eines geologischen Tiefenlagers für Wärme entwickelnde radioaktive Abfälle muss das geochemische Verhalten von Plutonium und den minoren Actiniden sowie von langlebigen Spaltprodukten berücksichtigen. Im Falle einer Leckage der Abfallbehälter hängt das Ausbreitungsverhalten der Radionuklide wesentlich von Wechselwirkungen mit den das Endlager umgebenden geotechnischen Barrieren, den geologischen Formationen und dem Deckgebirge ab. Im Projekt sollen die geochemischen Einflüsse untersucht werden, die das Migrationsverhalten von Pu und Tc wesentlich beeinflussen. Da die umgebenden Materialien meist sehr inhomogen sind, müssen Speziation und Sorptionsmechanismen der Radionuklide mikroskopisch betrachtet werden. Dazu wird das Verfahren der orts aufgelösten Sekundärionen-Flugzeit-Massenspektrometrie (TOF-SIMS) mit effizienter und elementselektiver Laser-Resonanzionisation kombiniert. Im Rahmen dieses Verbundprojektes arbeiten das Institut für Kernchemie und das Institut für Physik der Universität Mainz mit dem Institut für Radioökologie und Strahlenschutz der Universität Hannover zusammen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die im Institut für Kernchemie vorhandene TOF-SIMS III-Apparatur soll optimiert und mit dem vorhandenen Lasersystem zum kombinierten Verfahren der Sekundärneutralteilchen-Laserionisations-Massenspektrometrie gekoppelt werden. Nach den Entwicklungs- und Kalibrationsarbeiten sollen die Sorption und Diffusion von Pu in Tongesteinen untersucht und später auf Tc ausgedehnt werden.

Die folgenden Arbeitspakete sind vorgesehen:

- Simulationen zur Ionenoptik des TOF-SIMS und deren Modifikation
- Entwicklung des Lasersystems für den Kooperationspartner Hannover und Tests
- Kopplung der TOF-SIMS mit resonanter Laserionisation
- Charakterisierung des Messverfahrens, Untersuchung systematischer Effekte
- Durchführung analytischer Messungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Institut für Kernchemie:

Zur Optimierung der Messparameter für die Laser-SNMS von Pu auf nichtleitenden Substraten wurden als Modellsystem Lösungen von 10^{15} Atomen ^{239}Pu auf Macor®-Scheiben getropft. Bei der Optimierung der Messparameter lag das Hauptaugenmerk auf der Verwendung der Flood Gun zur Ladungskompensation und einer damit einhergehenden Änderung der Unterdrückungsspannung an der Extraktorelektrode. Weiterhin mussten der Raster-Modus der Primärionenquelle verändert und die Parameter des Massenanalysators angepasst werden. Nach diesen Optimierungen wurden verschiedene nichtleitende Probensysteme untersucht; eine Probe mit Pu auf Kunststoff (KEL-F®) und Proben, bei denen Pu an Tonpulver bzw. einem Zementdünnschliff sorbiert war.

Institut für Physik:

An der Mainzer Spektroskopieapparatur MABU wurden verschiedene zweistufige Anregungsschemata für Pu entwickelt und Beiträge nicht-resonanter Prozesse in U untersucht, die bei der resonanten Ionisation von Pu stören können. Zur Überprüfung der Elementselektivität und relativen Effizienz der Anregungsschemata für U und Pu wurden diese an synthetischen Actinidenmischungen mit 10^{16} U-Atomen (^{235}U und ^{238}U) und 10^{12} Pu-Atomen ($^{239-242}\text{Pu}$) getestet, wobei eine Unterdrückung von U um sechs Größenordnungen demonstriert werden konnte. Des Weiteren wurde der Einfluss unterschiedlicher relativer Laser-Polarisationen in einer Mischung von $^{239-242}\text{Pu}$ -Isotopen auf die Ionisationsrate untersucht, insbesondere im Hinblick auf die korrekte Reproduktion der vorliegenden Isotopenverhältnisse. Bei Ausnutzung der Abhängigkeit vom Kernspin können Isotope mit gerader Neutronenzahl gegen einen störenden Hintergrund unterschieden werden. Dieser Effekt wurde an der Laser-SNMS Apparatur der LU Hannover bestätigt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Institut für Kernchemie:

- Systematische Untersuchung des Einflusses der Probenmatrix auf die Sputterrate von neutralem Pu für die Laser-SNMS
- Untersuchungen zur Sorption und Diffusion von Pu in Zement- und Tonstein

Institut für Physik:

- Entwicklung zweistufiger Anregungsschemata für ^{233}Th , $^{236-237}\text{Np}$ und ^{244}Cm sowie deren Charakterisierung hinsichtlich Selektivität und Sättigungsverhalten
- Bestimmung absoluter Ionisationseffizienzen am RISIKO-Massenseparator
- Aufbau des in Mainz entwickelten automatisierten Gitter-Lasersystems an der LU Hannover und Adaption an die dortige Laser-SNMS Apparatur

5. Berichte, Veröffentlichungen

D. Schönenbach, P. Schönberg, F. Berg, D. Hagenlocher, R. Haas, D. Renisch, T. Reich: Setup and Characterization of a Resonant Laser-SNMS System for Conductive and Non-Conductive Plutonium Samples, Poster auf der SIMS Europe 2018, 16.-18.09.2018, Münster, Deutschland

F. Berg, P. Schönberg, M. Breckheimer, D. Schönenbach, R. Haas, S. Amayri, T. Reich: SIMS and Resonant Laser-SNMS Measurements on Pyrite Particles Contacted with ^{239}Pu , Poster auf der SIMS Europe 2018, 16.-18.09.2018, Münster, Deutschland

F. Berg: Charakterisierung und Anwendung der Laser-SNMS für die Analyse von Plutonium, 2018, Diplomarbeit

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.123.790,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Weigand

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Vorhaben sollen Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und naturstoffrelevanten Derivate, strukturanlogene tripodale Ligandsystemen und Liganden auf Basis von funktionalisierten Chitosan in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt untersucht werden. Zur Aufklärung solcher Wechselwirkungsmuster werden verschiedene Teilaspekte bearbeitet, die von der Synthese der verschiedenen Ligandentypen über experimentelle und theoretische Studien zum Komplexbildungsverhalten in Lösung bis hin zur Bestimmung thermodynamischer Kenngrößen sowie der Beschreibung von Verteilungs- und Transportmechanismen in umweltrelevanten Systemen reichen und eine Ableitung der geltenden Struktur-Wirkungsbeziehungen erlauben.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Verbundprojekt soll an der TU Dresden die Komplexbildung zwischen f-Elementen und Naturstoff-basierten Liganden untersucht und relevante Struktur-Wirkungsbeziehungen abgeleitet werden. Als Ligandsysteme sind dabei tripodale Liganden mit zentralen N-, P-, P=O-, CH-Funktionen vorgesehen. Als Substituenten sind insbesondere Amid- und Glucosamineinheiten sowie Phosphanyl- und Phosphoryleinheiten geplant. Als Naturstoff-Ligand kommt Chitin zum Einsatz das geeignet isoliert und funktionalisiert wird. Neben der Synthese und Charakterisierung ausgewählter Ligandtypen sind experimentelle Studien zum Komplexbildungsverhalten gegenüber f-Elementen in Lösung bzw. die gezielte Darstellung relevanter Komplexverbindungen und ihre strukturelle Charakterisierung geplant. Arbeitspakete:

- Synthese und Charakterisierung der unterschiedlichen Ligandtypen: tripodale Liganden, phosphorylierten Pyrazolone, funktionalisiertes Glucosamin
- Isolierung und Charakterisierung von Chitin
- Studien zur Komplexbildung relevanter Zielliganden mit ausgewählten f-Elementen in Lösung mittels UV/Vis- und NMR-Spektroskopie
- Darstellung von kristallinen Metallkomplexen unter Variation der experimentellen Bedingungen sowie deren Charakterisierung durch Elementaranalyse und IR-Spektroskopie
- Ermittlung der charakteristischen Komplexstrukturen durch NMR-Spektroskopie sowie Röntgenkristallstrukturanalyse
- Spektroskopische Studien der Lanthanid- und Actinidkomplexe an chemisch nicht modifiziertem Chitin und an Chitosan
- Thermogravimetrische und dynamische differenzkalorimetrische Untersuchungen der Komplexe sowie Extraktionsuntersuchungen im wässrig-organischen Zweiphasensystem
- Untersuchung des Absorptionsverhaltens von f-Elementen an chemisch nicht modifiziertem Chitin und Chitosan
- Ableitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die detaillierten Untersuchungen zur Koordination von UO_2^{2+} durch *N*-Salicyliden-D-glucosamin sowie 2-(2-Hydroxy-1-naphthylidene)-D-glucosamine wurden fortgeführt. Vertiefende NMR- und MS-Untersuchungen zeigen an, dass das beobachtete Koordinationsmuster mit einem verbrückendem μ -Oxo-Liganden nur in Anwesenheit eines großen Überschusses von Wasser gebildet wird. Eine mögliche Aktivierung von Sauerstoff als alternative Quelle konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse wurden zur Internationalen Konferenz „The 10th International Symposium on Nano & Supramolecular Chemistry“ 2018 in Dresden, im Rahmen eines Vortrages vorgestellt und eine Veröffentlichung ist in Vorbereitung.

In den Arbeiten zu tripodalen Ligandensystemen wurde weitere P-zentrierter Liganden synthetisiert und charakterisieren. Neben Phosphanen konnte eine Reihe von Phosphinoxiden isoliert werden. Das Komplexbildungsverhalten der Liganden gegenüber Uranylionen sowie ausgewählter Seltener Erden wurde in Lösung NMR-spektroskopisch untersucht. Aktuell werden Kristallisationsexperimenten zur Gewinnung von Einkristallen der Liganden und relevanter Metallkomplexe durchgeführt.

Weiterhin wurde im 2. Halbjahr 2018 in enger Zusammenarbeit mit der Gruppe von Prof. Stumpf am HZDR die Arbeiten zur Adsorption von Europium und Curium an Chitin, Chitosan sowie den entsprechenden Monomeren (n-Acetylglucosamin, Glucosamin) im Hinblick auf die geplante Veröffentlichung weitgehend abgeschlossen. Dabei wurden neben spektroskopischen Untersuchungen an den Adsorptionskomplexen auch ICP-MS-Untersuchungen zur Quantifizierung ausgeführt. Des Weiteren wurden auch die Untersuchungen zur Adsorption von Europium und Uran an Biosilikat von Diatomeen weitgehend abgeschlossen. Beide Publikationen werden derzeit geschrieben und sollen im Frühjahr 2019 eingereicht werden. Des Weiteren wurde in Zusammenarbeit mit allen FENABIUM-Projektpartnern ein die Biopolymere Chitin und Chitosan betreffender Teil des gemeinsamen Review-Artikels in *Coord. Chem. Rev.* (zum Druck angenommen) verfasst.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Spektroskopische Studien der Ligand-Metallion-Wechselwirkungen der tripodalen Liganden in Lösung
- Durchführung von Kristallisationsexperimenten zur Gewinnung von Einkristallen der Liganden und relevanter Metallkomplexe
- Aufklärung der Ligand- bzw. Komplexstruktur durch Röntgeneinkristallstrukturanalyse
- Darstellung und Charakterisierung von iminfunktionalisierten Aminosäuren sowie tripodaler Ligandensystemen auf Basis von Glucosamin bzw. Aminosäuren
- Untersuchung ausgewählter Maillardprodukte als alternative Modellschubstanzen für Naturstoff-basierten Liganden
- Thermogravimetrische und dynamische differenzkalorimetrische Untersuchungen der synthetisierten Komplexverbindungen
- Ausdehnung der Untersuchungen auf spezielle Arten von Chitin (z. B. Schwammchitin, chemisch modifiziertes Chitin) sowie auf lebende Diatomeenzellen

5. Berichte, Veröffentlichungen

Coordination Chemistry of f-block metal ions with ligands bearing bio-relevant functional groups, L. Götzke, G. Schaper, J. März, P. Kaden, N. Huittinen, T. Stumpf, K. K. K. Kammerlander, E. Brunner, P. Hahn, A. Mehnert, B. Kersting, T. Henle, L. F. Lindoy, J. J. Weigand, *Coord. Chem. Rev.* 2019, accepted

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 675.486,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Stumpf

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Durch Bündelung der Forschungsaktivitäten und Expertisen der Verbundpartner wird durch grundlegende Forschung zu den besonderen komplexchemischen Eigenschaften organischer Liganden mit naturrelevanten Bindungsfunktionen sowie vergleichende Studien am Bioliganden Schwammchitin gegenüber ausgewählten Actinid- und Lanthanidelementen ein innovativer Beitrag zur Koordinationschemie der f-Elemente geleistet.

Das Projekt zielt auf eine wesentliche Erweiterung der Kenntnisse zur Koordinationschemie ausgewählter Actinidelemente als Funktion von Oxidationszustand, Ionenladung, und -radius in komplexen wässrigen Systemen unter umweltrelevanten Bedingungen ab. Es werden umfassende Aussagen zur Speziation dieser Elemente sowie mögliche Verteilungs- und Transportmechanismen unter dem Einfluss ausgewählter Komplexbildner mit naturrelevanten Bindungsfunktionen gewonnen, wodurch deren Einfluss auf Bindungsstärke, Transportphänomene und Struktur besser beschrieben wird.

Der mit den Forschungsaktivitäten einhergehende allgemeine Zugewinn an Erkenntnissen zur Actinidchemie wird weitreichende Konsequenzen für die Interpretation spezifischer Wechselwirkungsprozesse dieser Ionen bei ihrer Lagerung, gegebenenfalls nach unkontrollierter Freisetzung bei Störfällen sowie notwendiger Dekontamination belasteter Bereiche in der Umgebung aber auch bei der Abtrennung der hochradioaktiven minoren Actinidionen aus radioaktiven Abfällen haben.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese der Liganden
- AP2: Radionuklide ausgewählter Lanthanide
- AP3: Komplexbildungsstudien
- AP4: Adsorptions- und Desorptionsuntersuchungen
- AP5: Zusammenfassung und Bewertung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Frau Louisa Köhler und Herr Bodo Felsner haben ihre Masterarbeiten im Berichtszeitraum abgeschlossen und sehr erfolgreich verteidigt. Frau Köhler beginnt ab Dezember ihre Doktorarbeit in einem verwandten Thema an unserem Institut. Die geplanten Dienstreisen zur ISNSC (Dresden – ein eingeladener Vortrag, vier Vorträge, ein Poster (Posterpreis)) haben wie geplant Anfang Juli stattgefunden. Die Dienstreisen zur Plutonium Futures 2018 (San Diego, USA, ein Vortrag, ein Poster) und zur Goldschmidt 2018 (Boston, USA, ein Vortrag) wurden erfolgreich durchgeführt.

- AP1: Es wurden Liganden der Salenserie mit para-Flour-Substitution hergestellt. Zudem wurden Carbenliganden synthetisiert und im Festkörper per SC-XRD nachgewiesen.
- AP2: Arbeiten zu AP2 sind erst ab Ende 2018 geplant.
- AP3: Fluor-modifizierter Schiffsche Basen wurden mit einer Serie von tetravalenten Metallen (Zr, Hf, Ce, Th, U, Np) umgesetzt und in Lösung vollständig charakterisiert. Die Komplexierung von Actiniden mit einfachen Carbenen führte zu interessanten Strukturen im Festkörper. Es ist jeweils eine Publikation der

Daten in Vorbereitung. Die Serien der Amidinate wurde auf andere Oxidationsstufen erweitert (U(III), Np(III) und zum Vergleich Ce(III)). Mit Liganden aus der Serie der Schiffischen Basen wurden die ersten Pu(IV) Komplexe hergestellt und in Lösung wie im Festkörper charakterisiert. Laserspektroskopische Untersuchungen an An(III)- und Ln(III)-Komplexen zur Identifikation des Einbaus in Biosilikate wurde gemeinsam mit dem AK Brunner (TUD) durchgeführt.

- AP4: Der Einfluss des Dekontaminationsmittels DTPA auf die advektive Migration von Eu(III) als Analogon dreiwertiger Actinide wurde in Säulenexperimenten mit Quarzsand (up-flooding/down-flooding, verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten) bei pH 6,5 untersucht, wobei ^{152}Eu als Radiotracer eingesetzt wurde. Die bisherigen Ergebnisse lassen auf eine stark mobilisierende Wirkung von DTPA schließen.
- AP5: Es entstehen derzeit Publikationen zu den Amidinat-Systemen und den Schiffischen Basen. Auf der ISNSC 2018 in Dresden wurden die Arbeiten in insgesamt fünf Vorträgen, davon ein eingeladener Vortrag, präsentiert. Frau Köhler gewann mit ihrem Poster zudem den Posterpreis der ISNSC. Mit einem Vortrag und einem Poster wurden die Arbeiten auf der Plutonium Futures vorgestellt. Abweichend von der Beantragung wurden die Arbeiten zum Transport auf der Goldschmidt nicht durch den angestellten Postdoc Herrn Dr. Karimzadeh, sondern durch seinen Kollegen Herrn Dr. Lippold präsentiert. Über die beantragten Konferenzen hinaus wurden die Arbeiten dieses FENABIUM-Teilprojekts in einer Vielzahl an Konferenzbeiträgen und zwei peer-reviewed Publikationen kommuniziert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Erkenntnisse aus den Komplextierungsversuchen (AP3) fließen laufend in die Synthese neuer Ligandensysteme ein. Das Design der Liganden wird zudem maßgeblich durch begleitende quantenchemische Arbeiten im Haus unterstützt.
- AP2: ^{86}Y für PET-Untersuchungen soll am Leipziger Zyklotron durch Kernreaktion von Protonen mit einem ^{86}Sr -Target hergestellt werden. Die Aufarbeitungsschritte zur Isolation des Radionuklids sind hinsichtlich Reinheit und Ausbeute zu optimieren.
- AP3: Die Arbeiten zur Komplextierung von Amidinaten und Schiffischen Basen mit Th(IV), U(IV), Np(IV) und Pu(IV) werden weitergeführt. In Komplexen der Amidinate soll neben weiteren In-situ-Oxidationen und Reduktionen die Möglichkeit der Modifizierung an den Chloridfunktionalitäten geprüft werden. Arbeiten zur Komplextierung von dreiwertigen An(III) und Ln(III) an Biosilikaten (mit AK Brunner (TUD)) mittels TRLFS werden fortgesetzt. Zudem werden Arbeiten zur Charakterisierung von Calix[4]aren-Komplexen mittels NMR (mit AK Kersting (Uni Leipzig)) aufgenommen.
- AP4: Mittels ^3H -H₂O als konservativem Tracer werden die hydrodynamischen Parameter des Säulensystems bestimmt. Anhand dessen werden unter Verwendung des in Batchversuchen kalibrierten Oberflächenkomplextierungsmodells die Durchbruchs- und Spülkurven für Eu(III) in An- und Abwesenheit von DTPA berechnet. Eventuelle Abweichungen zwischen Theorie und Experiment sollen in darauffolgenden Untersuchungen (ggf. Desorptionskinetik, Fließfeldanalyse mittels PET) aufgeklärt werden.
- AP5: Die Publikationen zu den Ergebnissen von Serien tetravalenter Actinid-Komplexe mit Amidinaten und Schiffischen Basen werden derzeit geschrieben. Die Kooperationsarbeiten mit der TUD (AK Weigand und AK Brunner) sollen ebenso in peer-reviewed Journalen publiziert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Schöne, S.; Radoske, T.; März, J.; Stumpf, T.; Ikeda-Ohno, A.: Synthesis and Characterization of Heterometallic Iron–Uranium Complexes with a Bidentate N-Donor Ligand (2,2'-Bipyridine or 1,10-Phenanthroline), *Inorganic Chemistry*, 2018, 57 (21), 13318-13329

Martin, N. P.; März, J.; Feuchter, H.; Duval, S.; Roussel, P.; Henry, N.; Petricek, V.; Ikeda-Ohno, A.; Loiseau, T.; Volkringer, C.: Synthesis and structural characterization of the first neptunium based metal-organic frameworks incorporating {Np₆O₈} hexanuclear cluster, *Chemical Communications*, 2018, 54 (51), 6979-6982

Vorträge:

Schöne, S.; Radoske, T.; Kloditz, R.; Köhler, L.; Kaden, P.; Patzschke, M.; Roesky, P. W.; Stumpf, T.; März, J.: Coordination Chemistry of Tetravalent Actinides: Series & Trends, ISNSC - 10th International Symposium on Nano and Supramolecular Chemistry 2018, 08.-13.07.2018, Dresden, Deutschland (eingeladener Vortrag)

Schöne, S.; Radoske, T.; Felsner, B.; Patzschke, M.; März, J.; Kaden, P.: Metal-organic complexes of tetravalent actinides with soft-donor ligands investigated by paramagnetic NMR spectroscopy, ISNSC - 10th International Symposium on Nano and Supramolecular Chemistry 2018, 08.-13.07.2018, Dresden, Deutschland

Schöne, S.; März, J.; Kaden, P.; Weigand, J. J.; Roesky, P. W.; Stumpf, T.; Ikeda-Ohno, A.: Synthesis and characterization of the first chiral benzamidinate complexes of tetravalent actinides (An(IV)), ISNSC - 10th International Symposium on Nano and Supramolecular Chemistry 2018, 08.-13.07.2018, Dresden, Deutschland

Zuwendungsempfänger: Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		Förderkennzeichen: 02 NUK 046C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 489.065,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kersting	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Hauptziel des Projektes ist die Erweiterung des Kenntnisstandes über die Komplexbildung von Lanthanoid- sowie Actinoiden gegenüber Chelatbildnern mit naturrelevanten Bindungsmustern. Hierbei soll besonders der Einfluss des Oxidationszustandes, der Ionenladung sowie des Ionenradius des *f*-Elements auf die Komplexbildung untersucht werden. Zur Einordnung der Ergebnisse ist ein Vergleich zwischen den Lanthanoid- und Actinoidspezies unerlässlich, um Gemeinsamkeiten sowie Unterschiede in den Wechselwirkungen sowie Bindungsmustern verifizieren zu können.

Dazu sollen im Rahmen des Projekts neue, ionenselektive Liganden synthetisiert werden. Hierbei handelt es sich um calixarenbasierte Liganden, welche mit naturnahen Bindungsfunktionen substituiert werden sollen, um *f*-Elemente selektiv zu binden. Chitosan soll dabei als Vorbild dienen. Dabei kann durch die Variation der Anzahl sowie Position der Substituenten am Grundgerüst die Bindungselektivität, Löslichkeit oder das Extraktionsverhalten eingestellt werden. Die Synthese der Komplexe soll in Anlehnung an bereits literaturbekannte Verfahren zur Darstellung ähnlicher Verbindungen erfolgen. Zur ausreichenden Charakterisierung dieser kann ein breites Spektrum moderner Analysemethoden genutzt werden. Dazu zählen unter anderem NMR-Spektroskopie, IR-Spektroskopie, Raman-Spektroskopie, UV/Vis-Spektroskopie, ESI-MS, pH-Potenziometrie, Laserfluoreszenz, isotherme Titrationskalorimetrie und Spektroelektrochemie.

Ein anderer wichtiger Teil des Projektes besteht in der Aufklärung der Struktur der eingesetzten Komplexe sowie deren *f*-Elementkomplexen in Lösung und im Feststoff. Um Aussagen über die elektronischen Begebenheiten, die Funktion der Strukturelemente sowie die strukturellen Besonderheiten der Zielverbindungen treffen zu können, kann auf Methoden wie Röntgenbeugung oder die EXAFS-Spektroskopie zurückgegriffen werden.

Dieses Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem Institut für Ressourcenökologie des Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V. durchgeführt (Prof. Dr. T. Stumpf). Hinzukommend ist eine Zusammenarbeit mit den Abteilungen für Chemie und Lebensmittelchemie der Technischen Universität Dresden vereinbart (Prof. Dr. J. Weigand sowie Prof. Dr. E. Brunner).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben ist in insgesamt 5 Arbeitspakete unterteilt. Eine detaillierte Beschreibung der Arbeitspakete ist im Projektantrag tabelliert. Unsere Arbeitsgruppe ist in die Arbeitspakete 1, 3 und 5 involviert. Mit Beginn des Projektes zum 01. November 2016 wurden die Arbeiten zu den Arbeitspaketen aufgenommen (Mitarbeiter: M.Sc. Peter Hahn). Ab dem 01.01.2017 arbeiten auch M.Sc. Anne Mehnert und M.Sc. Tony Zielke an den skizzierten Experimenten.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Weitere Vertreter von Hybrid-Schiff-Base/Calix[4]arenliganden sowie Liganden auf Thiocalix[4]arenbasis wurden erfolgreich synthetisiert und Komplexierungsstudien gegenüber trivalenten Lanthanoiden durchgeführt. Ebenso wurden erste Ergebnisse im Bereich der spektrophotometrischen Titration erhalten. Diese Untersuchungen werden fortgeführt und auf andere analytische Methoden (z. B. Fluoreszenzspektroskopie) ausgeweitet, um die Komplexierungseigenschaften vollständig zu charakterisieren.

Trotz weiterführender Versuche, Zucker an das Calix[4]aren Grundgerüst anzubinden, konnte kein Erfolg vermeldet werden. Da dieses Unterfangen sich als nicht umsetzbar entpuppte, wird es nicht weiterverfolgt werden.

Anhand magnetischer Untersuchungen an bereits dargestellten Komplexen konnte ein SMM-(Einzel-Molekülmagnetismus)-Verhalten für einen zweikernigen Dysprosium(III)-Komplex nachgewiesen werden. Das Vermögen von o-Vanillin-funktionalisierten Schiff-Base/Calix[4]arenliganden, Komplexe mit Thorium(IV) zu bilden, wurde mittels UV/Vis-Spektroskopie nachgewiesen.

Mehrere heterodinukleare Lanthanoid/Alkali-Metallkomplexe funktionalisierter Calix[4]arenliganden mit Imino-phenol-Bindungsgruppen wurden erhalten und strukturell charakterisiert. Die Bindung des Alkalimetallions erfolgt über Kation- π -Wechselwirkungen im Calixarenrückgrat. Ein „Antenneneffekt“ der Schiff-Base wurde durch Fluoreszenzspektroskopie nachgewiesen (eingereicht bei Dalton Trans, Januar 2019, DT-ART-01-2019-000292). Die Komplexbildungskonstanten einiger Komplexe wurden durch isothermale Titrationskalorimetrie und begleitend durch UV/vis-spektroskopische Titration ermittelt.

Anne Mehnert und Peter Hahn arbeiteten an der Veröffentlichung eines Review-Artikels mit den weiteren Teilnehmern des FENABIUM-Verbundprojekts (AK Weigand, AK Stumpf, AK Brunner). Hierzu wurden neben ausführlichen Literaturrecherchen und dem Schreiben der Teilartikel weitere Zuarbeiten zum Gelingen des Artikels getätigt. Das Manuskript befindet sich im Druck.

Zur Präsentation der bisherigen Forschungsergebnisse in Form eines Posters besuchten alle Mitarbeiter die ISNSC 2018 (International Symposium on Nano and Supramolecular Chemistry) in Dresden (Deutschland).

Des Weiteren erfolgte die Teilnahme von Anne Mehnert und Peter Hahn an der EuCheMS in Liverpool, wobei zwei Poster präsentiert wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Ziel der nachfolgenden Monate ist die vollständige analytische Charakterisierung bereits erhaltener Verbindungen. Hierbei soll der Fokus auch in Richtung magnetochemischer und lumineszenzspektroskopischer Untersuchungen ausgeweitet werden, um auch die Elektronenstruktur der Verbindungen näher zu charakterisieren. Uns vorliegende Ergebnisse zu den magnetochemischen Eigenschaften zweikerniger Tb und Dy-Komplexe sollen in der ersten Jahreshälfte 2019 veröffentlicht werden.

Die Synthese von Thiocalixarenkomplexen wird optimiert. Das Koordinationsverhalten wird untersucht. Darüber hinaus sollen Komplexbildungskonstanten und andere thermodynamische Reaktionsparameter mittels der ITC vervollständigt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Coordination Chemistry of f-block metal ions with ligands bearing bio-relevant functional groups, L. Götzke, G. Schaper, J. März, P. Kaden, N. Huittinen, T. Stumpf, K. K. K. Kammerlander, E. Brunner, P. Hahn, A. Mehnert, B. Kersting, T. Henle, L. Lindoy, Jan J. Weigand, *Coord. Chem. Rev.* 2019, CCR_2018_392, in press

Dinuclear Lanthanide Complexes supported by a hybrid Salicylaldiminato/ Calix[4]arene-Ligand: Synthesis, Structure, Magnetic and Luminescence Properties of $(\text{HNEt}_3)[\text{Ln}_2(\text{HL})(\text{L})]$ ($\text{Ln} = \text{Sm}^{\text{III}}$, Eu^{III} , Gd^{III} , Tb^{III}), S. Ullmann, P. Hahn, L. Blömer, A. Mehnert, C. Laube, B. Abel, B. Kersting, *Dalton Trans.* 2019, DT-ART-01-2019-000292 (in revision)

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 051A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 31.08.2020		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 811.518,00 EUR		Projektleiter: Dr. Riebe

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über das oberflächennahe Grundwasser in den Boden interessant. Ziel ist ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen, das zu einer verbesserten Risikoabschätzungen für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume führen soll. Einen wesentlichen Fortschritt bildet hierbei die Aufklärung der Aufnahmemechanismen der Radionuklide in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlaubt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Bodencharakterisierung, Tracerherstellung, Einfluss des Bodens auf Radionuklidspeziation
- AP2: Säulenversuche; Radioanalytik
- AP3: Pflanzenanzucht, Bestimmung von Transferfaktoren für verschiedene Radionuklide
- AP4: Klonierung von Transportern, Expression und Transportmessung in Oozyten, Analyse der Wirkung von Wurzelexsudaten
- AP5: Analyse und Auswertung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Für eine weitergehende Untersuchung der Adsorptionseigenschaften der Referenzböden wurden Kinetik-Experimente mit I-125 in unterschiedlichen Konzentrationen für RefeSol 01-A und 03-G durchgeführt. Die nach 0,2, 1, 2, 4, 8, 14, 21 Tagen gemessenen Proben zeigten, dass die Sorption unter den gegebenen Bedingungen unabhängig von der Konzentration nach 8 Tagen abgeschlossen war. Für alle vier Referenzböden wurden weitere K_D -Werte für I-125 und Am-243 bestimmt. RefeSol 02-A zeigte dabei die höchsten und RefeSol 04-A die geringsten K_D -Werte für I-125. Für Am-243 wurde erwartungsgemäß eine Korrelation der K_D -Werte mit steigender Kationenaustauschkapazität beobachtet.
- AP2: In Vorbereitung der anstehenden Lysimeterversuche zur Radionuklidspeziation im Boden wurde zunächst Vorversuche in Testsäulen auf einer kleineren Skala angelegt, um die op-

timalen Bedingungen für die Befüllung der Lysimeter zu ermitteln. Weiterhin fand im Juli ein Treffen in Jena (FS-AnGeo/Öko-Institut/ LUH-IRS) zu Experimentdesign und Parametererfassung statt sowie eine vorgeschaltete Sitzung vor dem Projekttreffen im Oktober in Dresden zu Modellentwicklung und Parametererfassung.

- AP3: Die Gefäßversuche zur Bestimmung von Transferfaktoren (TF) wurden weitergeführt. Für I-125 zeigte sich, dass die TF für den dosisrelevanten essbaren Anteil (TF = 0,02 bis 2,80) am geringsten waren, während die TF für Wurzeln um einen Faktor 10 bis 100 über dem der essbaren Anteile lagen. Bei Tc-99 lagen die TF der essbaren Anteile ebenfalls am niedrigsten (TF = 0,15 bis 4,4), die der Wurzeln (TF = 0,82 bis 21,8) und Blätter (TF = 93,1 bis 2218,1) unterschieden sich jedoch um 1-2 Größenordnungen. Für Pu-238 waren die Transferfaktoren folgendermaßen verteilt: essbarer Anteil (TF = 0,0005 bis 0,067), gefolgt von den Blättern (TF = 0,008 bis 0,10) und Wurzeln (TF = 1,37 bis 18,1). Für Am-243 wurde die gleiche Verteilung in ähnlichen Größenordnungen gefunden wie für Pu-238. Alle Radionuklide wiesen für die bisher untersuchten Pflanzen in RefeSol 01-A die höchsten TF auf.
- AP4: Die Charakterisierung der Aufnahme und Wechselwirkung von AtGLR3.7 wurde mit Cm(III) weitergeführt. Hierzu werden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Ressourcenökologie (IRE/HZDR) die zeitauflösende laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie (TRLFS) und Flüssig-Szintillationszählung (LSC) verwendet. Des Weiteren wurden der Nitrat-Transporter AtNRT1.1 sowie der Eisentransporter AtIRT1.1 erfolgreich von *A. thaliana* in den Oozyten Expressionsvektor kloniert. Erste Untersuchungen des Ionen-transportes von AtPHT1.4 zeigten einen kleinen Strom. Allerdings wurden die Oozyten, welche den Transporter exprimierten, sehr schnell porös und starben vermehrt ab. Erste Experimente bezüglich der Aufnahme von Technetium in Oozyten, welche AtPHT1.4 exprimieren, wurden in Zusammenarbeit mit dem IRS (Uni Hannover) begonnen. Ziel ist es mit Hilfe der LSC Messungen zu untersuchen, ob die Oozyten mit dem Transporter mehr Tc aufnehmen als ohne den Transporter. Mit der elektrophysiologischen Charakterisierung des AtIRT1.1 wurde begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Bestimmung Aktivitätskonzentrationen der Böden/Berechnung der Transferfaktoren aus weiteren Gefäßversuchen.
- Fortführung der Säulenversuche, Start der Lysimeterversuche.
- SIMS-Messungen an verschiedenen Pflanzenteilen.
- Aufnahme und Wechselwirkung von Cm(III) mit AtGLR3.7 in Oozyten, Aufnahme von Tc durch AtPHT1.4 sowie Aufnahme von Am durch AtIRT1.1
- Elektrophysiologische Charakterisierung des Ionen-transportes durch AtPHT1.4, AtIRT1.1 sowie AtNRT1.1 in Oozyten
- Analyse der Expression der untersuchten Metabolitransportern in Pflanzen

5. Berichte, Veröffentlichungen

Linus Holtmann: Gammaskpektrometrische Bestimmung der Sorption von I-125 und Am-243 an vier verschiedenen Referenzböden (Bachelorarbeit)

Elisa Lamottke: Elektrophysiologische Untersuchung des Ionen-transportes durch den pflanzlichen Anionentransporter AtPHT1.4 (Bachelorarbeit)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 051B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 31.08.2020		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 520.337,00 EUR		Projektleiter: Dr. Sachs

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über das oberflächennahe Grundwasser in den Boden interessant. Ziel ist ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen, das zu verbesserten Risikoabschätzungen für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume führen soll. Einen wesentlichen Fortschritt bildet hierbei die Aufklärung der Aufnahmemechanismen der Radionuklide in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlaubt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Bestimmung von Wurzelexsudaten, pflanzlichen Zellkulturexsudaten und Untersuchung von deren Wechselwirkung mit Actiniden
- AP2: Charakterisierung der reduzierenden Wirkung von Plasmamembran-Vesikeln bzw. des Wurzelsystems von Pflanzen
- AP3: Nachweis des metallreduzierenden Proteins an der Plasmamembran von Wurzeln
- AP4: Mikroskopischer Nachweis der Actinid- bzw. Eisen-Reduktion an der Plasmamembran von Wurzeln

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Aufbauend auf den Arbeiten zu Zeit- und Konzentrationsabhängigkeit der Bioassoziation von U(VI) und Eu(III) mit Brassica napus (Raps)-Zellen wurde die Freisetzung von Pflanzenzellmetaboliten in das Nährmedium weiterführend untersucht. Durch die Verwendung von Referenzsubstanzen konnten zwei Metabolite (p-Cumarsäure, Fumarsäure) mittels HPLC und Massenspektrometrie (Zusammenarbeit mit IRS Hannover) identifiziert werden. Die Komplexierung von U(VI) mit p-Cumarsäure wurde mittels UV/VIS-Spektroskopie untersucht, wobei keine Komplexierung des U(VI) nachweisbar war. Die Untersuchung der Komplexierung von U(VI) mit Fumarsäure erfolgte mittels zeitaufgelöster Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS). Es wurde eine mittelstarke bis schwache Komplexierung des U(VI) in Form eines 1:1-Komplexes bestimmt ($\log K: 3,22 \pm 0,49; 23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}, 0,1 \text{ M NaClO}_4$).
- AP2: Zur Bestimmung der U(VI)-Toxizitätsschwelle von Nicotiana tabacum L. cv Bright Yellow (BY-2)-Zellen wurde deren Viabilität in Gegenwart von 2,5 bis 50 μM U(VI) über einen Zeit-

raum von 6 bis 96 h mittels Evans Blue Test untersucht. Ab einer U(VI)-Konzentration von 20 μM zeigt U(VI) eine hohe Toxizität auf die Zellen, die mit zunehmender Expositionszeit ansteigt. Die Viabilität der Zellen sinkt von 90 auf 80 % nach 24 bzw. 96 h Exposition. Parallel dazu wurde der Einfluss von U(VI) auf die metabolische Aktivität der BY-2-Zellen mittels Mikrokalorimetrie untersucht.

Zur Identifizierung potentieller Elementtransporter für Uran in BY-2-Zellen, wurde die intrazelluläre Konzentration relevanter Mikro- und Makroelemente nach Exposition der Zellen mit 20 μM U(VI) untersucht. Die Detektion der Spurenelemente erfolgte nach regelmäßigen Zeitintervallen (tmax: 96 h) mittels ICP-MS. Für alle untersuchten Mikro-/Makroelemente (Ca, K, P, Mg, Mn, Zn, Fe, Mo, Cu, Co) wurde ein Anstieg der intrazellulären Konzentration beobachtet. Zusätzlich wurde die Bioassoziation von U(VI) unter Eisenmangelbedingungen untersucht. Im Gegensatz zu *Brassica napus*-Zellen nehmen BY-2-Zellen bei Abwesenheit von Eisen im Nährmedium weniger Uran auf und die Zellvitalität ist höher, was darauf hinweist, dass es keine direkte, jedoch regulierte Wechselwirkung zwischen U(VI) und Fe in BY-2 Zellen gibt.

Daucus carota (Karotte)-Kalluszellen wurden erfolgreich etabliert und in Suspensionszellkultur überführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Identifizierung weiterer Zellmetabolite nach Bioassoziation von U(VI)/Eu(III) mit *Brassica napus*-Zellen (Zusammenarbeit mit IRS) und Untersuchung von deren Komplexbildungsverhalten mit U(VI). TRLFS-Modelluntersuchungen mit relevanten phosphathaltigen Bioliganden zur Identifizierung der U(VI)-Spezies, deren Freisetzung von den Zellen in das Nährmedium in zeitabhängigen Untersuchungen zur Bioassoziation vermutet wurde. Die Ausdehnung dieser Arbeiten auf *Daucus carota*-Suspensionszellkulturen ist geplant.

AP2: Zur Aufklärung des unterschiedlichen U(VI)-Aufnahmeverhaltens von *Brassica napus*- und BY-2-Zellen unter Eisenmangelbedingungen wird das Expressionslevel von Eisen-Reduktasegenen und -transportern als Reaktion auf die U(VI)-Exposition der Zellen untersucht. Außerdem soll die mögliche Rolle von Endocytoseprozessen bei der Aufnahme von U(VI) in die Zellen betrachtet werden. Dazu soll das Cytoskelett der Zellen durch geeignete Reagenzien abgebaut und das bioassoziierte U(VI) in/an den Zellen mittels Transmissions-elektronenmikroskopie visualisiert werden.

Die Arbeiten zur Wechselwirkung von Oozyten (Modellsystem für Metabolittransporter) mit Cm(III) werden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Zellbiologie und Biophysik der Universität Hannover fortgeführt. Ziel ist die fluoreszenzspektroskopische Charakterisierung der Cm(III)-Spezies im Nährmedium sowie nach Wechselwirkung mit den Zellen zur Beschreibung des Metalltransports in die Zellen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Masterarbeit: Jenny Jessat: Studien zur Wechselwirkung von Pflanzenzellen mit Uran(VI) und Europium(III) und zur stressinduzierten Metabolitfreisetzung, TU Dresden, September 2018

Stedtner, R., Hilpmann, S., Bader, M., Jessat, J., Sachs, S., Cherkouk, A.: Mechanistic understanding for biochemical and biological processes of uranium(VI) by time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS). 4th International Workshop on Advanced Techniques in Actinide Chemistry, ATAS, Nice, France, 06.-09.11.2018, Vortrag

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		Förderkennzeichen: 02 NUK 051C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 31.08.2020		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 443.493,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Schäfer

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über das oberflächennahe Grundwasser in den Boden interessant. Ziel ist ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen, das zu einer verbesserten Risikoabschätzungen für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume führen soll. Einen wesentlichen Fortschritt bildet hierbei die Aufklärung der Aufnahmemechanismen der Radionuklide in der ungesättigten Zone und in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlaubt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Bodenentwicklung unter dem Einfluss langfristiger klimatischer Veränderungen
- AP1.J.2a: Definition der vier Referenzbodentypen zusammen mit Öl, Beschaffung und Charakterisierung der Ausgangsmaterialien
- AP2: Modellierung von Speziation, Sorption & Migration von RN für repräsentativ bewirtschaftete Böden
- AP2.4.1a: Aufbau der bodenspez. Strömungs- und Transportmodelle in IcP
- AP2.4.2a: Berechnung von Langzeitreihen für Bodenfeuchte und RN-Konzentrationen für (diskrete) Referenzklimata in icP mit den Parametern von UB-IUP
- AP2.5.2a: Einbau des Kolloidtransports (mobile Oberflächenspezies) (PHREEQC)
- AP3: Redoxverhalten und Speziation von RN im Grundwasser und in verschiedenen repräsentativen landwirtschaftlich genutzten Böden
- AP3.2.1: Planung & Aufbau Laborversuche, Befüllen der Säulen, Herstellen der Modellwässer, Variation der Kontaktzeiten mit organischen/anorganischen Kolloiden
- AP3.3.1: Experimente mit Modellwasser
- AP3.4.1: Säulenexperimente, Probenahme Wasser und Boden, chemische Trennung und Speziation der Nuklide
- AP3.4.2a: Optimierung der Messmethode und Quantifizierung (SF-ICP-MS, AMS)
- AP3.5: Auswertung der Ergebnisse, Interpretation und Aufbereitung der Daten für AP2

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Status: Bodenanalytik der Referenzbodentypen wurde nahezu vollständig durchgeführt. Allein die Ergebnisse der spezifischen Oberfläche und die Quantifizierung der mineralogischen Zusammensetzung stehen noch aus. Ein Abstimmungstreffen ÖI/FSU-AnGeo/LUH-IRS zu Modellentwicklung und zum Experimentdesign/Parametererfassung fand im Juli 2018 in Jena statt. Zum weiteren Vorgehen beim Modellaufbau und ggf.

Auswahl geeigneter Modellansätze erfolgte eine vorgeschaltete Sitzung vor dem Projektmeeting in Oktober (FSU-AnGeo/LUH-IRS/ÖI).

AP2: Status: Konzeption eines Boden- Grundwasserströmungsmodells zur Prognose des Transports in der Bodenzone unter Verwendung der klassischen Richards-Gleichung. Aufgrund der Unsicherheit der klassischen Ansätze zur Wasserspeicherung wird die Implementierung neuer Ansätze und ihre Auswirkung auf die Prognose des Stoffflusses untersucht. Derzeit sind nur Entwässerungskurven bzw. Desorptionskurven vorhanden und die Möglichkeit der Messung der kapillaren Bewässerungskurve (Sorptionskurve) wird untersucht, um Daten zur Modellierung der Hysterese zu erhalten. Die inverse Modellierung der Wasserretentionskurven liefert die Parameter zur Lösung der Richards-Gleichung.

AP3: Status: Der Start der Laborlysimeter-Experimente in einer Klimakammer und Installation der Logger-Technik ist für Anfang Februar 2019 geplant. Das Befüllen wird in Kooperation mit LUH-IRS durchgeführt, um vergleichbare Trockendichten für die beiden Ist- und die beiden Sollböden in den Lysimeterexperimenten zu erreichen. Die Lysimeter sind mit Sonden für physikochemische und bodenphysikalische Parameter sowie einem System zur Messung von pH, pO₂ und pCO₂ in 2D Auflösung mittels chemisch-optischer Sensoren (VisiSens) ausgestattet. Neben den Lysimeter- Materialtests zur artefaktfreien repräsentativen in-situ Beprobung von Porenwasser und natürlichen Nanopartikeln mit Borosilikat-Saugkerzen (Förderer, 2018; Seyfarth, 2018) wurde ein weiteres Projektmodul zu Tests der Langzeit-Sorptionskinetiken der Bodenlösung mit diesen Saugkerzen durchgeführt (Dittmann, 2019) und Bromid als geeigneter konservativer Tracer in Umlaufsäulenexperimenten identifiziert (Reiff, 2018). Eine Masterarbeit zur Entwicklung einer Methode zur Unterscheidung von anorganischen Kolloiden und Biokolloiden mittels Nanopartikel Tracking Analyse (Fluo-NTA) wurde durchgeführt (Nettemann, 2019). Vielversprechende Ansätze mittels Fluoreszenzfarbstoffen werden weiterverfolgt.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Untersuchungen zur geochemischen Charakterisierung der vier Referenzböden werden durchgeführt und die Quantifizierung der Bodenmineralogie, speziell kolloidaler Quellen, abgeschlossen.

AP2: Die inverse Modellierung von Wasserretentionskurven (unter Verwendung verschiedener Modelle) zur Berechnung der Richards-Gleichung wird aufgebaut. Zur inversen Modellierung wird RETC und andere Software verwendet (eigenes Script). Zur Vorwärtsmodellierung werden Hydrus-1D, COMSOL und andere Softwareprogramme (eigenes Script) verwendet.

AP3: Gleichgewichtsporenwasser der vier Referenzbodensubstrate mit Modellwasser sollen generiert und charakterisiert werden. Zur Einschätzung der hydraulischen Transporteigenschaften werden Bromid- Tracer-Experimente durchgeführt. Nachfolgend sind reaktive Transportexperimente mit Se-Spezies sowie Radionuklidhomologen geplant. Modifikationen des Lysimetersystems zur Injektion der Tracer-/Salzlösung werden entwickelt und Umlaufsäulenexperimente zum Transport unter gesättigten Bedingungen sind geplant. Experimente zur Methodenentwicklung für die qualitative und quantitative Analyse von Nanopartikeln mittels (Fluo-)NTA werden konzipiert und durchgeführt. Eine erste Veröffentlichung ist hier geplant. Referenzbodensubstrate und das Grimsel-Modellwasser sollen mittels AMS zur Bestimmung der Radionuklid- Hintergrundkonzentrationen untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Förderer, A.D. (2018): The sorption behavior of mini-glass suction cups in regard to dissolved solution component. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Pauer, V. (2018): Mechanismen der Selenabsorption an einem natürlichen Bodensubstrat. Projektmodulbericht, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Reiff, T. (2018): Untersuchung von RefeSol 03-G in Batch-Experimenten und zukünftige Entwicklung der Braunerden Deutschlands in zwei Klimaszenarien. Projektmodulbericht, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Scheuerer, F. (2018): Verschneidung von Böden und Geologie auf untersuchungswürdigen Gesteinsformationen für die Endlagerung von hochradioaktiven Abfällen. Projektmodulbericht, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Seyfarth, R. (2018): Das Sorptionsverhalten von Miniglassaugkerzen in Hinblick auf die Kolloidfraktion. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Reiff, T. (2018): Untersuchung des Transports langlebiger Radionuklide und deren Homologen (Eu, Hf, Th,U, Se, I) sowie ausgesuchter Elemente bei Wechselwirkung der Braunerde 03-G mit Grundwasser im geschlossenen Säulenversuch. Masterarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Zuwendungsempfänger: Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 051D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 31.08.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 256.465,00 EUR	Projektleiter: Dr. Fischer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über das oberflächennahe Grundwasser in den Boden interessant. Ziel ist ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen, das zu einer verbesserten Risikoabschätzung für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume führen soll. Einen wesentlichen Fortschritt bildet hierbei die Aufklärung der Aufnahmemechanismen der Radionuklide in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlaubt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Am Institut für Umweltphysik (IUP) der Universität Bremen wurde mit Hilfe des geochemischen Speziationscodes PHREEQC ein Modell entwickelt, das mehrere sorbierende Komponenten enthält und auch die Komplexierung von Kationen an gelöste und ortsfeste organische Substanz berücksichtigt. Das Modell konnte für Cs, U, und Ni erfolgreich validiert werden.

Nach einer Literaturstudie (AP2.1.1) soll das Modell soweit erweitert werden, dass es die Sorption und Speziation von Am, Tc, Pu, I, und Se erfassen kann (AP2.2.1). Dabei sollen im Falle von I und Se auch die stabilen Isotope als Konkurrenzspezies berücksichtigt werden. Zunächst sollen die für die betrachteten Böden wichtigsten, in der Literatur schon beschriebenen Prozesse implementiert werden, für die auch schon die für die Modellierung wichtigen thermodynamischen Konstanten vorliegen. Auch hier soll das Modell – soweit möglich - anhand von Literaturdaten validiert werden (AP2.3.1). Die Modellierung der hydrologischen Prozesse und Stofftransport erfolgt in AP2.4.1b durch ÖI und in AP2.4.2 durch FSU-AnGeo. Danach soll für mindestens einen (Referenz-)Boden die Abhängigkeit der Verteilungskoeffizienten bzw. der für die Pflanzenaufnahme relevanten Spezies in der Bodenlösung von verschiedenen einzelnen Bodenparametern wie pH und Gehalt an organischen Substanzen bestimmt werden (AP2.4.1). Dabei soll auch der Einfluss von landwirtschaftlichen Maßnahmen (Düngung) untersucht werden.

Im nächsten Schritt soll das Modell auf die gemeinsam mit den Projektpartnern ausgewählten (Referenz-) Böden angewendet und die Ergebnisse mit den experimentellen Studien von LUH-IRS, FSU-AnGeo und HZDR-IRE (Verteilungskoeffizienten und Speziation) verglichen werden (AP2.5.1). Wenn der Vergleich wichtige nicht berücksichtigte Prozesse erkennen lässt und/oder die Studien neue thermodynamische Daten zu Komplexierung und Sorption liefern, können die Einzelmodelle gegebenenfalls verfeinert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die ersten Gesamtversionen der PHREEQC-Sorptionsmodelle für Am, Pu, Tc und Se wurden implementiert. Es wurde die Anzahl der Bindungsstellen der einzelnen Modellkomponenten jeweils für sechs verschiedene Referenzböden berechnet. Zurzeit werden die Modelle für Am, Pu und Tc mit Hilfe der von der Universität Hannover im Rahmen dieses Projekts durchgeführten Batchversuche validiert und bei Bedarf modifiziert. Das Sorptionsmodell für Am wird zusätzlich anhand Daten aus der Literatur getestet.

Für die Sorption von I, die zeitlich verzögert verläuft, wurden zwei kinetische Modelle aus der Literatur implementiert, eines davon in PHREEQC, das andere ist analytisch. Beide Modelle werden zurzeit mit Hilfe der von der Universität Hannover im Rahmen dieses Projekts durchgeführten kinetischen Batchversuche getestet und miteinander verglichen. Möglicherweise ist die Entwicklung eines eigenen, analytischen Modells nötig, um die Versuchsergebnisse befriedigend nachzuvollziehen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Folgende Arbeiten sind für den nächsten Berichtszeitraum geplant:

- Weitere Validierung (und ggf. Modifikation) der Modelle anhand experimenteller Daten
- Erweiterung des Modells für Selen
- Vergleich der beiden kinetischen Modelle für Iod anhand experimenteller Daten

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 051E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 31.08.2020		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 338.312,63 EUR		Projektleiter: Dr. Ustohalova

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über das oberflächennahe Grundwasser in den Boden interessant. Ziel ist ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen, das zu einer verbesserten Risikoabschätzungen für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume führen soll. Einen wesentlichen Fortschritt bildet hierbei die Aufklärung der Aufnahme-mechanismen der Radionuklide in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlaubt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1.1.1: Auflistung Bodentypen und relevanter Parameter nach World Reference Base For Soil Resources (RWB) und RefeSol
- AP1.1.2b: Definition der vier Referenzbodentypen, mit FSU-AnGeo, dazu Ermittlung von Bodentypen und Grundwasserflurabständen mit ARC-GIS und passenden Bodenkarten.
- AP1.2.1: Abgleich Parameter mit Experimenten und Modellierung, Entscheidung Erweiterung RefeSol-Systematik
- AP1.3.1: Definition von Boden und Klimaszenarien
- AP1.3.2: Ermittlung Pedogenese Ist-Böden/Soll-Böden mit BIOCLIM-Daten
- AP1.4.1: Definition und Festlegung der extrapolierten Soll-Böden für die Experimente
- AP1.5.1: Absprache mit Projektpartnern zum Projektfortschritt, nach Bedarf Anpassungen in der Bodenparametrisierung
- AP2.1.2: Erstellung einer Datenbank mit Parametern zur Bodenhydrologie
- AP2.4.1b: Unterstützung FSU-AnGeo beim Aufbau des bodenspez. Strömungs- und Transportmodelle in IcP (COMSOL Part)
- AP2.5.2b: Berechnung von Langzeitreihen der Biosphere Dose Conversion factors (BDCF) für diskrete Klimazustände (ECOLEGO) ausgehend aus den Ergebnissen FSU-AnGeo
- AP2.5.2a: Bewertung der Ergebnisse, Unsicherheitsanalyse der RN-Konzentrationen und BDCF (ECOLEGO)
- AP4.4: Entwicklung eines verbesserten Kompartimentmodells für den Transfer Boden-Pflanze in ECOLEGO mit Konzepten und gemessenen Parametern des laufenden Projektes (ECOLEGO)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.1.2b: Die Auswertung der klimatischen, hydrogeologischen und bodenkundlichen Karten der relevanten Regionen (Regionen der RefeSol Bodenentnahme und Regionen der Klimaextrapolation – AP1.3.1) wurde abgeschlossen. Nach Bedarf, gemäß dem Fortschritt des Projektes, wird eine ergänzende Analyse durchgeführt.
- AP1.2.1: Die in der RefeSol-Systematik vorgegebenen Bodenparameter der gelieferten RefeSol-Böden (Ist-/Soll-Böden (AP1.4.1) wurden im Labor nachgeprüft (FSU-AnGeo/LUH-IRS). Die Parameter der Modellierung und des Gesamtdesigns der Experimente (insb. Lysimeteraufbau) wurden vorläufig abgestimmt: Fokus liegt auf Simulation der zyklischen Wasserspiegel- und Temperaturschwankung (Randbedingung) sowie Saugspannungsmessung zur Bestimmung der sättigungsabhängigen Wasserleitfähigkeit (transport-relevanter Parameter).
- AP1.3.1: Die Betrachtung der klimatischen Entwicklung der zwei Referenzhauptregionen Nord- und Süddeutschland entlang der zwei ausgewählten Klimaszenarien: „warm (sommertrocken/ Csa-Csb)“ und „kalt (humid kalt-gemäßigt/ Dfc-Dfb)“ im Hinblick auf die Bodenauswahl und die Durchführbarkeit der Experimente führte im Ergebnis zur Fokussierung auf die norddeutsche Region/Niedersachsen repräsentiert durch jew. 2 Soll-/Ist-Böden (vgl. AP1.4.1).
- AP1.3.2: Die klimabedingte Bodenhorizontentwicklung der ausgewählten Ist- und der zugehörigen Soll-Böden wurde im Wesentlichen mit der Datenbasis der klimatischen, hydrogeologischen und bodenbezogenen Kartenunterlagen in ArcGIS ausgearbeitet (Verlinkung mit AP1.1.2b).
- AP1.4.1: Aufgrund des gegebenen Projektzeitrahmens und der konstruktiven Einschränkungen (AP1.2.1) wurde beschlossen die Langzeitexperimente im Lysimeter mit jeweils 2 Ist- und 2 Soll-Böden (statt ursprünglich geplanten 4 Ist- und 4 Soll-Böden) durchzuführen wobei ausschließlich „gestörte“ Soll/Ist-RefeSol-Böden eingesetzt werden (vgl. AP1.3.1).
- AP1.5.1: Ein Abstimmungstreffen Öko-Institut/FS-AnGeo/LUH-IRS zu Modellentwicklung und zum Experimentgesamtdesign/Parametererfassung fand im Juli 2018 in Jena statt. Zum weiteren Vorgehen beim Modelllaufbau und ggf. Auswahl geeigneter Modelansätze erfolgte eine vorgeschaltete Sitzung vor dem Projektmeeting in Oktober (FSU-AnGeo/LUH-IRS/ÖI) sowie eine Telefonkonferenz mit FSU-AnGeo zu Parameterbetrachtung in ECOLEGO/Phreeqc.
- AP2.1.2: Der systematisierte Aufbau der Datenbank der Parameter wird fortgesetzt: neben der Zuverlässigkeitsbewertung der recherchierten Parameterwerte fließen schrittweise die experimentell ermittelten Werte (FS-AnGeo/LUH-IRS) mit ein.
- AP2.4.1b: Die bis dato entwickelten Modellansätze des Öko-Instituts und der Modellierungsarbeiten FS-AnGeo (1D-Transport)/ UB-IUP sowie die Optionen der Verknüpfung (Datentransfer) mit der Modellierung in ECOLEGO (AP2.5.2b) werden kontinuierlich fortgesetzt. Dabei werden die Software Phreeqc und weitere Optionen wie CoupModell oder Hydrus einbezogen (ÖI).
- AP2.5.2b: Die Programmierarbeiten zu Transportberechnungen und zur Berechnung der Dose Conversion Factors (BDCF) werden um den Modul Monte-Carlo Simulation ergänzt, die Arbeiten dazu starteten im Herbst 2018.
- AP4.4: Fortsetzung der Prüfung methodischer Ansätze mit Fa Facilia zur Downskalierung auf die Mikroebene für das Kompartimentmodell.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.1.2b: Abgeschlossen, nach Bedarf ergänzende GIS-Analyse.
- AP1.3.1: Abgeschlossen, nach Bedarf verfeinerte Analyse der Klimaszenarien mit Fokus Norddeutschland.
- AP1.3.2: Ermittlung abgeschlossen, Dokumentation mit Erläuterungen zur Auswahl der RefeSol Soll-Böden und zur Extrapolation der Klima- und Bodenhorizontentwicklung in Bearbeitung.
- AP1.5.1: Kontinuierliche Absprache mit Projektpartnern zum Fortschritt: Treffen und TK Konferenzen; Abschätzungen zu realistischen und experimentellen Quelltermen entsprechend den Anpassungen im Experimentdesign, Prüfung Modelansätze, u. a. Hydrus/CoupModell.
- AP2.1.2: Fortsetzung Aufbau Datenbank mit Parametern zur Bodenhydrologie.
- AP2.5.2b und 4.4: Fortsetzung der vorbereitenden Programmierarbeiten in ECOLEGO.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 053A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 631.302,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Bosbach	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Mit dem – komplementär aus Mitteln des BMBF und der HGF geförderten – multidisziplinären Vorhaben iCross sollen wissenschaftliche Grundlagen für die Beantwortung dringender Fragen und Herausforderungen im Zusammenhang mit der sicheren Entsorgung radioaktiver Abfälle geschaffen werden. Wesentliches Ziel dabei ist die Entwicklung eines umfassenden Prozessverständnisses auf Basis fortschrittlicher Experimente im Labormaßstab sowie in Untertagelaboren, um Unsicherheiten quantifizieren zu können und wesentliche Prozesse inkl. ihrer Kopplungen zu beschreiben und relevante Prozessparameter zu identifizieren. Diese Prozesse und Prozessparameter sollen in innovative Simulations- und Modellprogramme implementiert werden, um verlässliche und realitätsnähere Vorhersagen für die Entwicklung eines Endlagersystems vornehmen zu können. Das Vorhaben soll dabei u. a. auch die wissenschaftlichen Grundlagen für einen kriterien-basierten Vergleich verschiedener Endlagersysteme in unterschiedlichen Wirtsgesteinsformationen sowie unterschiedlichen Standortregionen liefern.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben gliedert sich in 4 Arbeitspakete (AP):

- AP1: Laborexperimente: Charakterisierung von Probenmaterial aus der sandigen Fazies des Opalinustons und Durchführung von Diffusionsexperimenten mit HTO und Ra-226.
- AP2: Feldexperimente in URLs: Analyse des Einflusses makroskopischer Heterogenitäten und von Temperatureffekten auf Radionuklidmigration und Nahfeldgeochemie.
- AP3: Simulation: Entwicklung mathematisch und physikalisch konsistenter Beschreibungen gekoppelter Prozesse sowie modellbasierte Analyse von Effekten von Heterogenitäten.
- AP4: Integration: Wissenschaftlich/technische Koordination des Vorhabens; Integration der Ergebnisse.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Abstimmung mit dem Projektpartner KIT bzgl. der Beschaffung von Probenmaterial aus der sandigen Fazies des Opalinuston aus dem Untertagelabor Mont Terri und erforderlichen Randbedingungen bzgl. Probengewinnung, -vorbereitung und -lagerung hinsichtlich der Vermeidung von Oxidations- und Alterationsprozessen. Vorplanungen zur Durchführung der Diffusionsexperimente inkl. Abstimmung zu methodischen Aspekten mit Experten vom Paul-Scherrer-Institut.
- AP2: Sichtung und Analyse gegenwärtig im URL Mont Terri laufender Forschungsarbeiten im Hinblick auf die vorgesehenen Arbeiten zur Quantifizierung des Einflusses makroskopischer Heterogenitäten im Opalinuston (z. B. bzgl. potentiell hydraulisch gekoppelter Bereiche mit erhöhter Porosität/Permeabilität) auf (Radionuklid) Transportprozesse und zum Einfluss von Temperatureffekten auf geochemische Nahfeldprozesse.
- AP4: Vorbereitung des iCross Kick-off meetings.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im 1. Halbjahr 2019 soll – nach Erhalt von Probenmaterial – im Rahmen des AP1 mit den Arbeiten zur Charakterisierung von Probenmaterialien der sandigen Opalinustonfazies, die in den Diffusionsexperimenten eingesetzt werden sollen, bzgl. Mineralbestand, chemischer Zusammensetzung und Mikrostruktur sowie mit Untersuchungen bzgl. des Sorptionsverhalten begonnen werden. Im Rahmen von AP2 sind die Teilnahme am Technical Meeting TM-37 des Mont Terri Projects sowie Abstimmungs- und Planungsarbeiten mit den Verbundpartnern bzgl. der Beteiligung an bereits existierenden Untertagelaborexperimenten sowie Vorplanungen zu den im Rahmen von iCross vorgesehenen URL-Experimenten geplant. Im Rahmen von AP3 sind erste Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Porositäts-Permeabilitätsbeziehungen (inkl. Ansätzen zur Berücksichtigung der Reaktivität von Mineraloberflächen) in reaktive Stofftransportmodelle auf dem Kontinuumsmaßstab geplant. Des Weiteren erfolgen Organisation und Durchführung des iCross Kick-off meetings (AP4).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 053B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 502.109,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Stumpf	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben "iCross" bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsbereichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalenübergreifend mit fortgeschrittenen Simulationen zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Die Arbeiten konzentrieren sich auf Wirtsgesteine (Kristalline und Ton), die in der Vergangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen.

Das Projekt wird im Rahmen eines Verbundvorhabens mit dem FZJ, KIT, UFZ und GZF durchgeführt.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben gliedert sich in Arbeitspakete:

- AP1: Laborexperimente
- AP2: Feldexperimente in URLs
- AP3: Modellentwicklung, Simulation
- AP4: Integration

Der Verbundprojektpartner HZDR liefert im Rahmen der Förderung Beiträge zu den Arbeitspaketen AP1 und AP3.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Erarbeitung eines experimentellen Konzeptes zur Beschreibung der Wechselwirkung von Cm(III) und Eu(III) mit kristallinen Gesteinen, Vorbereitung der Granitgesteinsproben sowie deren Charakterisierung
- AP3: Durchführung von vier Arbeitstreffen mit UFZ und GFZ zur Erarbeitung einer Strategie für die Implementierung des smart K_d -Konzeptes in OpenGeoSys (OGS). Erarbeitung eines einfachen Testfalles als Benchmark für reaktive Transportsimulationen

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Durchführung von Untersuchungen zur Sorption von Eu(III) an Graniten verschiedener Herkunft (μ -TRLFS, Autoradiographie und Batchversuche), Probencharakterisierung der Granite mit verschiedenen Methoden (erfolgt mithilfe von Polarisationsmikroskopie, Raman-Mikroskopie, Interferometrie sowie Autoradiographie)
Synchronisation der experimentellen Randbedingungen (inkl. Probenauswahl) mit KIT
- AP3: Durchführung weiterer Arbeitstreffen mit den Verbundpartnern HZDR und UFZ, GFZ in Leipzig zur Entwicklung des konzeptuellen Modelles zur Implementierung wichtiger geochemischer Prozesse/Parameter in OGS
Auswahl des Testfalls, Simulation des Testfalls mit verschiedenen Modellen. Auswertung des Testfalls
Implementierung der chemischen und kinetischen Parameter in bestehende reaktive Transportmodelle, Diese Parameter werden durch experimentelle Arbeiten zur quantitativen Sorption von Lanthaniden an sandigen und karbonathaltigen Proben aus dem Opalinuston in AP1 bereitgestellt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 053C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 540.067,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Geckeis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben „iCross“ bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsbereichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalenübergreifend mit fortgeschrittenen Simulationen zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Schwerpunkt der Arbeiten in URLs liegt auf Mt. Terri (Tonstein), wo derzeit mit starker deutscher Beteiligung ein neuer Experimentaltunnel entsteht. Weitere Beteiligungen an Experimenten im Grimsel Felslabor (Kristallingestein) sind vorgesehen. Die Arbeiten konzentrieren sich damit auf Wirtsgesteine, die in der Vergangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen. Ein weiterer Fokus liegt auf der Einbindung und Vernetzung junger Wissenschaftler/innen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten von KIT-INE im Rahmen von iCross gliedern sich in folgende Arbeitspakete:

- AP1: Laborexperimente: Diffusion und Grenzflächenprozesse
- AP2: In-situ-Experimente Untertagelabor
- AP3: Reaktive Transport Modellierung
- AP4: Koordination und Integration der Projektergebnisse

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden von KIT-INE in iCross die folgenden Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Planung und Abstimmung der experimentellen Randbedingungen. Es wurden erste Diffusionszellen hergestellt und Vorbereitung für die Experimente getroffen. Zur Ermittlung des ‚representative elementary volume‘ der sandigen Fazies des Opalinuston wurde mit einem Literaturreview zu den dazu genutzten Methoden begonnen und mögliche Herangehensweisen mit den Kooperationspartnern am PSI-LES besprochen. Bohrkerne der sandigen Opalinustonfazies (parallele und Z-Schichtung), durch swisstopo vom Mont Terri-Untertagelabor (Schweiz) bereitgestellt, wurden von uns abgeholt. Zwei Bohrkerne wurden an den Projektpartner HZDR für GeoPET-Untersuchungen übergeben. Ein erstes Setup zur Untersuchung der Actinidendiffusion in Opalinuston im Labor einschließlich der Zusammensetzung des Porenwassers wurde mit PSI-LES besprochen.
- AP2: Im Zuge der Masterarbeit von D. Glückman wurde ein Verfahren zur Probenpräparation und Bestimmung von fünf Actinidnukliden (^{233}U , ^{237}Np , ^{244}Pu , ^{243}Am und ^{248}Cm) im Ultraspurenbereich in Opalinuston mittels AMS getestet. Die detektierten Stoffmengen betragen ca. 10^{-19} – 10^{-15} mol (105 bis 109 Atome).
- AP3: Literaturrecherche und Entwicklung konzeptioneller Modelle zur Unterstützung der geplanten Experimente.
- AP4: Kick-off Meeting auf Ebene der Projektpartner: Vorstellung der Projektbeteiligten in den einzelnen Workpackages und Diskussion möglicher Themen für den Proof-of-Concept. Vorbereitung interner und bilateraler Meetings zur Absprache experimenteller Details.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum sollen von KIT-INE in iCross folgende Arbeiten durchgeführt werden.

- AP1: Weitere Vorbereitungen der Experimente, wie z. B. Aufreinigung des verwendeten Bentonits. Anschließend wird eine umfassende Charakterisierung der eingesetzten Bentonit- und Eisenphasen erfolgen und es werden erste Vorversuche durchgeführt. Entwicklung eines Setups zur Bestimmung des ‚representative elementary volume‘ über die elektrische Leitfähigkeit. Verarbeitung der Opalinustonbohrkerne zum Pulverton für Sorptionsversuche und Bereitstellung von Aliquoten des Pulvers für die Projektpartner.
- AP2: Erstellung einer Publikation auf Basis der Ergebnisse aus der Masterarbeit von D. Glückman.
- AP3: Vorläufige Reaktive-Transport-Modellierung der geplanten Experimente unter Verwendung der Programme PhreeqC und Retraso-Code Bright.
- AP4: Planung und Durchführung weiterer Meetings/Workshops zur Abstimmung der experimentellen- und Modellierungsarbeiten. Offizielles kick-off Meeting im April in Leipzig.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam		Förderkennzeichen: 02 NUK 053D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.279.364,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kühn	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben „iCross“ bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsbe-
reichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der
molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt
Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalen-
übergreifend mit fortgeschrittenen Simulationsmethoden zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validie-
rung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Schwerpunkt der Arbei-
ten in URLs liegt auf Mont Terri (Tonstein), wo derzeit mit starker deutscher Beteiligung ein neuer
Experimentaltunnel entsteht. Weitere Beteiligungen an Experimenten im Grimsel Felslabor (Kristal-
lingestein) sind vorgesehen. Die Arbeiten konzentrieren sich damit auf Wirtsgesteine, die in der Ver-
gangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen.

Verbundpartner des iCross-Projektes sind die folgenden Helmholtz-Zentren:

- Forschungszentrum Jülich GmbH (FZJ)
- Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum (GFZ)
- Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR)
- Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
- Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH (UFZ)

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben iCross ist in folgende vier Arbeitspakete (AP) untergliedert:

AP1: Laborexperimente, AP2: Experimente in Untertagelaboren, AP3: Modellierungen und Simulati-
onen zum Prozessverständnis und der Systemanalyse, AP4: Integration

Im Rahmen des BMBF-Vorhabens erfolgen vom GFZ Beiträge in folgenden Arbeitspaketen:

AP1 - Aufgabe 1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse

AP2 - Aufgabe 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung

AP4 - Aufgabe 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse

Das für die Experimente erforderliche Probenmaterial aus dem Untertagelabor Mont Terri wurde angefordert. Die Projektarbeiten werden mit der Einstellung eines Mitarbeiters zum 01.02.2019 beginnen.

AP2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung

Im Rahmen dieses Arbeitspakets ist die Akquisition seismischer Pilotmessungen im Untertagelabor Mont Terri geplant. Die Ergebnisse der Pilotmessungen sowie einer Wiederholungsmessung ca. ein Jahr nach den ersten Messungen werden einen Beitrag zur untertägigen Standorterkundung leisten. Im September 2018 haben zwei GFZ-Mitarbeiter die ersten Installationsarbeiten im Felslabor durchgeführt, die im November 2018 durch Installationen, die ein Kontraktor ausgeführt hat, ergänzt wurden. An 32 Positionen wurden mit Ankerrohren Messpunkte zur reibungslosen und wiederholbaren Durchführung von seismischen Messungen gesetzt.

AP4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren

Die fünf am Projekt beteiligten Helmholtz-Zentren sind mit dem 1. Juli 2018 offizieller Partner des Untertagelabors Mont Terri in der Schweiz und haben somit auch einen Sitz im „Steering Committee“, der aktuell durch den Leiter des AP2 Michael Kühn wahrgenommen wird. In dem Rahmen erfolgt die Koordination der Beteiligung der Wissenschaftler des Projekts iCross an den Experimenten im dortigen Tunnelsystem. Anfang Juli 2018 erfolgte eine Informationsveranstaltung am GFZ für die Projektpartner zu aktuellen und geplanten Experimenten durch den Manager des Labors in Mont Terri Christophe Nussbaum. Über weitere Austauschgespräche zwischen GFZ, FZJ, KIT, HZDR und UFZ wurde so über die Beteiligung an Experimenten in der aktuell laufenden Experimentierperiode (Juli 2018 bis Juni 2019) entschieden. Damit wurde der erste Meilenstein M4.1 erreicht.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse

Im Februar 2019 wird ein Doktorand die Arbeit in diesem Arbeitspaket aufnehmen. Arbeiten im nachfolgenden Berichtszeitraum umfassen die Probenaufbereitung und erste Labortests.

AP2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung

Im Januar 2019 wird eine seismische Messkampagne als Pilotversuch im Untertagelabor Mont Terri durchgeführt. Dabei werden drei verschiedene Typen seismischer Quellen eingesetzt mit dem Ziel, geeignete Messkonfigurationen zur hochauflösenden Charakterisierung des Opalinus Tons im Umfeld des Felslabors zu bestimmen. Im Folgenden werden die akquirierten Daten analysiert. Der Schwerpunkt liegt dabei auf dem Potential dieser Daten zur quantitativen Charakterisierung des Opalinus Tons im Hinblick auf seine elastischen Eigenschaften und die Möglichkeiten einer umfassenden untertägigen Standorterkundung. Die Datenanalyse wird durch seismische und petrophysikalische Modellierungen unterstützt werden.

AP4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren

Im ersten Halbjahr 2019 erfolgt die Vorbereitung der kommenden Experimentierperiode in Mont Terri von Juli 2019 bis Juni 2020. Dies beinhaltet ein Technical Meeting in der Schweiz Anfang Februar 2019, an dem auch Wissenschaftler des Projekts iCross teilnehmen werden sowie die daraufhin folgenden Steering Meetings des Konsortiums, in denen das Experimentierprogramm durch die Partner gemeinsam abgestimmt und festgelegt wird.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig		Förderkennzeichen: 02 NUK 053E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 740.139,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kolditz	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des iCross-Vorhabens ist die Entwicklung einer neuen Plattform für die Endlagerforschung, dabei geht es insbesondere um ein verbessertes, skalenübergreifendes Prozess-verständnis der thermo-hydro-mechanisch/chemisch-mikrobiologischen (THM/CB) Vorgänge im Nah- und Fernfeld potentieller Standorte in verschiedenen Wirtsgesteinen.

Das BMBF-Vorhaben ist eng verknüpft mit einer Sondermaßnahme des Impuls- und Vernetzungsfonds der Helmholtz-Gemeinschaft (Förderkennzeichen SO-093).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Durch den Antragsteller werden numerische Methoden zur Analyse thermisch-hydraulisch-mechanisch-geochemischer (THMC) Prozesse in untertägigen Gesteinen unter Berücksichtigung struktureller Diskontinuitäten entwickelt und in die wissenschaftliche Open-Source-Software OpenGeoSys implementiert, was im Rahmen einer gemeinsamen Programmentwicklung von Verbundpartnern den direkten und effizienten Zugriff durch alle Entwickler erlaubt. Als Gesteine werden Ton und Kristallin mit dafür typischen Diskontinuitäten unter Verwendung spezieller numerischer Ansätze betrachtet. Während Laborexperimente von Verbundpartnern dem Nachweis der grundsätzlichen Eignung der erarbeiteten Verfahren dienen, bilden In-situ-Experimente die Grundlage für die Definition und Parametrisierung praxisrelevanter Testbeispiele sowie typischer numerischer Benchmarks zur Modell- und Softwarevalidierung. Dieses Vorgehen dient wesentlich der Entwicklung und Validierung von Methoden im Hinblick auf das angestrebte skalenübergreifende Systemverständnis in verschiedenen wechselwirkenden Kompartimenten eines Endlagersystems.

Das Vorhaben ist in vier mit einander verknüpfte Arbeitspakete strukturiert: Laborversuche (WP1), Experimente in Untertagelaboren (WP2), Modellierung und Simulation für die Prozess- und Systemanalyse (WP3) sowie Integration und Synthese der Arbeiten und Ergebnisse (WP4). Das multidisziplinäre Vorhaben integriert die Forschungsaktivitäten des FZJ, KIT und HZDR im Rahmen des Helmholtz-Programms NUSAFE (Forschungsbereich Energie), im Bereich Radio/Geo/Biochemie, mit der Expertise von UFZ und GFZ (Forschungsbereich Erde und Umwelt) in den Geowissenschaften und der Systemanalyse.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Durch Verzögerungen im Vorhabenbeginn und die damit verbundene verspätete Einstellung von Projektpersonal wurden zunächst Aktivitäten vorgezogen, die durch Haushaltspersonal bearbeitet werden konnten (Weiterentwicklung der Modellierungsplattform OpenGeoSys und Virtuelles Untertagelabor). Ungeachtet der derzeit generell schwierigen Situation, qualifiziertes Personal aus dem Bereich der In-

genieurwissenschaften mit dem notwendigen fachspezifischen und informationstechnischen Hintergrund zu gewinnen, konnten neben dem Start des Arbeitspakets Mehrphasenprozesse zum 01.01.2019, weitere Stellen erfolgreich besetzt werden (Unsicherheitsanalyse zum 01.03.2019; Reaktive Transportmodellierung zum 01.04.2019; Mikrobiologie zum 1.04.2019).

In diesem Rahmen wurden im Berichtszeitraum nachstehende Aufgaben bearbeitet:

- Vorstellungsgespräche mit geeigneten Kandidatinnen und Kandidaten, Auswahl der Stelleninhaberinnen und Stelleninhaber, Vorbereitung der Einstellungen. Arbeitsbeginn des ersten Mitarbeiters (Mehrphasenprozesse) zum 01.01.2019.
- Erster Workshop am 10.07.2018 in Leipzig (UFZ) zur Abstimmung in der Reaktiven Transportmodellierung (an diesem Thema sind alle 5 Zentren beteiligt). Bilaterales Treffen mit dem GFZ am 19.12.2018 in Leipzig zur geochemischen Modellierung.
- Erstes gemeinsames Projekttreffen am 10.-11.10.2018 in Köln zur Abstimmung der laufenden Arbeiten in den einzelnen Arbeitspaketen und übergeordneten Aktivitäten.
- Projekttreffen der an chemisch-mikrobiologischen Fragestellungen arbeitenden Partner (GFZ, HZDR, UFZ) am 10.12.2019 in Leipzig (UFZ) zur Vorstellung der Arbeitsinhalte, Abstimmung der Aktivitäten und zur weiteren Zusammenarbeit.
- Entwicklung eines ersten Prototyps für das Virtuelle URL Mt. Terri (Dr. Rink, Hr. Bilke) und Präsentation im Visualisierungszentrum der UFZ (Beiträge zu WP2 und WP4).
- Weiterentwicklung der Forschungsplattform OpenGeoSys (OGS) hinsichtlich mechanischer Prozesse in kristallinen, Ton- und Salzgesteinen. Beteiligung an Benchmarking-Initiativen (z. B. DE-COVALEX).
- Kultivierung einer methanogenen eisenoxidierenden Modellkultur zur Vorbereitung von gezielten Laborexperimenten zur Physiologie, Biochemie und Phylogenie (Beitrag zu WP1).

4. Geplante Weiterarbeiten

In der nächsten Projektphase sind folgende Arbeiten geplant:

- Durchführung von Laborexperimenten zur Physiologie, Biochemie und Phylogenie methanogener eisenoxidierender Modellkulturen (WP1).
- Entwicklung einer ersten Version des OGS-TH2M Modells für die Simulation nichtisothermer Mehrphasenströmungen in Tongesteinen: Dabei geht es insbesondere um die Anpassung und Entwicklung von Modellen, die auf Gastransportphänomene in geo-technischen Barrieren abzielen und klassische Mehrphasenströmungsansätze verbessern werden (WP3-AP1).
- Entwicklung des Konzepts für stochastische Unsicherheitsanalysen: Dabei soll ein kompletter Workflow für eine prozessbasierte mechanische Unsicherheitsanalyse für Tongesteine entwickelt werden (WP3-AP3).
- Numerische Modellierung reaktiver Transportprozesse in geotechnischen und geologischen Tonbarrieren: Dabei soll ein systematisches Benchmark-Konzept für reaktive Transportprozesse von Radionukliden in verschiedenen Wirtsgesteinen erarbeitet werden (WP3-AP2).
- Virtual URL (WP4): Es soll eine kontinuierliche Weiterentwicklung des Virtuellen Untertagelabors anhand aktueller und geplanter Experimente in Mt. Terri erfolgen, dabei soll in der nächsten Phase insbesondere die Planung des CD-A Experiments unterstützt werden. Weiterhin werden Daten des regionalen Strukturmodells in das VR-System integriert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Kolditz O, Görke U-J, Shao HB, Shao H, Wang W, Rink K, Bilke L, Nagel Th (2018): Work-flows in Energy Geotechnics: Examples and Perspectives. 8th International Congress on Environmental Geotechnics, ICEG 2018, Hangzhou (China)

2.3 Strahlenforschung

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 017A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2018	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.07.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.915.981,00 EUR	Projektleiter: Dr. Fournier	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem hier vorgestellten Projekt soll die Langzeitwirkung von niedrigen Dosen dicht-ionisierender Strahlung (α -Strahlung, beschleunigte Ionen) untersucht werden. Hierbei sollen sowohl genetische Effekte als auch die für den therapeutischen Nutzen wichtigen Mechanismen der Entzündungshemmung untersucht werden. Dazu ist geplant, eine Radon-Expositionskammer zu bauen, in der Zellkulturen und Kleintiere (Mäuse) mit α -Teilchen bestrahlt werden können. In Tierexperimenten soll die Verteilung der α -Emitter physikalisch und biologisch untersucht werden. Durch die Analyse von Chromosomenaberrationen sollen die Induktion von Schäden sowie mögliche Langzeitfolgen der Strahlenexposition abgeschätzt werden. Die entzündungshemmende Wirkung von Radon soll mit der von Röntgenstrahlung verglichen werden. Zur Aufklärung der zellulären und molekularen Wirkungsmechanismen sollen sowohl Aspekte der humoralen als auch der neuronalen Signalvermittlung zwischen den relevanten Zelltypen betrachtet werden. Da die entzündungshemmende Wirkung des Radons um Wochen verzögert auftritt und dann Monate lang anhält, soll auch ein möglicher Einfluss auf die Schmerzwahrnehmung über entsprechende Ionenkanäle in der Zellmembran untersucht werden. Um die entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung in chronisch entzündlichen Geweben nachvollziehen zu können, sollen die Untersuchungen auch in präklinischen, transgenen arthritischen Mäusen durchgeführt werden. Ziel ist es, für den Strahlenschutz relevante Erkenntnisse zu langlebigen radioaktiven Isotopen zu erlangen und Verbesserungen bei der therapeutischen Anwendung von Radon und niedrig-dosierter Strahlentherapie zu erarbeiten.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer, physikalische Dosimetrie für die Bestrahlungsexperimente
- AP2: Biologische Dosimetrie, Schadensinduktion durch Radon in Zellkulturen und Gewebe
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen und im Knochen

AP5: Intrazelluläre Signaltransduktion (insbesondere NFκB), Regulation von Adhäsionsmolekülen

AP6: Untersuchung entzündungshemmender Reaktionen durch cholinerge Mechanismen

AP7: Inhibition der Schmerzentstehung durch Veränderung der Aktivität von Ionenkanälen

AP8: Diskontinuierliche Dosis-Effekt-Beziehung (DNA-Reparatur, Stressantwort, ROS)

AP9: Untersuchung immunologischer Gefahrensignale und entzündlicher Reaktionen im Tiermodell

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Alle Arbeiten wurden im Berichtszeitraum beendet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Projekt zum 31.07.2018 beendet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 032
Vorhabensbezeichnung: DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.100.891,60 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rothkamm	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

DNA-Doppelstrangbrüche (DSB) sind nach ionisierender Bestrahlung die wichtigsten DNA-Schäden. Zellen verfügen daher über ein komplexes Netzwerk, diese Schäden zu erkennen und erfolgreich zu reparieren. Bezüglich dieses Netzwerkes zeigen Tumorzellen im Vergleich zu Normalzellen deutliche Abweichungen. Dies betrifft die Initiierung, die Regulierung als auch die Effektivität der verschiedenen Reparaturwege. Diese Abweichungen in der DSB-Reparatur bieten die außerordentliche Chance, neue Zielstrukturen für eine spezifische Inaktivierung von Tumorzellen zu etablieren. Das primäre Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es daher, diese tumorspezifischen Veränderungen der DSB-Reparatur zu erfassen und die dafür verantwortlichen molekularen Mechanismen aufzuklären. Darauf aufbauend sollen neue Targets für eine zielgerichtete Inaktivierung von Tumoren identifiziert werden, um damit langfristig höhere Heilungsraten für Tumormpatienten zu erreichen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Alternatives Endjoining

Mittels funktioneller Tests (Reparaturplasmide; Nachweis von Reparaturfoci) soll die Regulation der DSB-Reparatur und vor allem die Bedeutung des alternativen Endjoinings primär in Prostata Tumoren untersucht und Ansätze zur zielgerichteten Therapie basierend auf dem „Synthetic Lethality“-Konzept entwickelt werden.

AP2: Homologe Rekombination (HR) und Replikation

Ihre Interaktion und die Bedeutung der in vielen Brusttumoren eingeschränkten HR-Funktion als Ansatz für die selektive Tumorinaktivierung sollen mittels Biomarkern und funktionellen Assays untersucht werden.

AP3: EGFR und ERK-Signalwege

Beeinflussen die zelluläre Strahlenreaktion und DSB-Reparaturwege in vielen Tumoren. Hier sollen die zu Grunde liegenden Mechanismen erforscht und Möglichkeiten der tumorspezifischen Strahlensensibilisierung in Kopf-Hals-Tumoren und Glioblastomen erforscht werden.

AP4: HPV-Infektion

Es sollen die bei HPV-assoziierten Kopf-Hals-Tumoren beobachteten Störungen der DNA-Schadensantwort näher charakterisiert und darauf aufbauend Biomarker zur Stratifizierung sowie Ansätze für angepasste Behandlungsstrategien entwickelt werden.

AP5: Lehre in Strahlenbiologie & Experimenteller Radioonkologie

Lehrinhalte in Bachelor-, Master- und Medizinstudiengängen sollen auf vielfältige Weise mit aktuellen Forschungsfragen aus Medizin und Naturwissenschaften verknüpft werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Ein Manuskript zur Etablierung eines auf dem Nachweis residueller strahleninduzierter DNA-Doppelstrangbrüche mittels gamma-H2AX/53BP1-Immunfluoreszenz beruhenden Biomarkers zur Identifikation von Reparaturdefekten in frischem Prostatatumorgewebe (M1.3) wurde zur Veröffentlichung im International Journal of Cancer angenommen. Arbeiten zur Bedeutung von ERG für Reparaturdefekte in Prostatatumoren wurden an Hand von frischem Gewebeproben weitergeführt.
- AP2: Arbeiten zur Etablierung neuer Targets zur gezielten Strahlensensibilisierung von Brusttumoren mit Replikationsstörungen sowie funktioneller Assays/Biomarker für HR- und Replikationsdefekte wurden weitergeführt. Der „molecular combing“-Ansatz wurde mit dem herkömmlichen DNA-Fiber-Assay verglichen. Arbeiten zur Automatisierung der „molecular combing“ und DNA-Fiber-Assays wurden fortgesetzt.
- AP3: Ein Manuskript zur Identifikation, Charakterisierung und mechanistischen Analyse eines für das Therapieansprechen bei GBM relevanten Signalwegs (M3.2/3.3) befindet sich erneut in Revision. Ein anderes Manuskript zur Bedeutung der Rezeptor-Tyrosinkinase MET für die Sorafenib-vermittelte Radiosensitivierung von Kopf-Hals-Tumorzellen (M3.2/3.3) ist in Head & Neck als „epub“ erschienen (siehe 5.). Untersuchungen zu Targets und Biomarkern wurden fortgeführt, u. a. mittels Kinom-Analysen.
- AP4: Die Validierung der Biomarker mittels TMA (M4.4) hat Fortschritte gemacht. Arbeiten zur Etablierung neuer Targets und neuer molekularer Therapieansätze für HPV-positive HNSCC wurden intensiviert (M4.5). Basierend auf einer intensiven Literaturrecherche zur Thematik der molekularen Kombinationstherapien wurde ein Übersichtsartikel entworfen.
- AP5: Eine strahlenbiologische Fortbildung für Assistenzärzte der Strahlentherapie wurde konzipiert und begonnen. Arbeiten zur kontinuierlichen Aktualisierung, curricularen Abstimmung und Forschungsvernetzung der strahlenbiologischen Lehrinhalte in Vorlesungen, Seminaren und Praktika wurden fortgesetzt. Diese Veranstaltungen werden inzwischen von Studierenden der Medizin, Physik, Biologie, Molecular Life Sciences, Nanowissenschaften sowie einzelner anderer Fachrichtungen besucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Etablierung von neuen Targets im Bereich von HR- und Replikationsstörungen und deren Validierung (M2.4 & M2.5).
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zu Biomarkern für individualisierte Therapieansätze in HNSCC und GBM und deren Validierung (M3.3 & M3.4).
- AP4: Biomarker-Validierung und Etablierung neuer Targets für HPV-pos HNSCC (M4.4 & M4.5).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms. Insbesondere Aufnahme neuer Aspekte in die Wahlpflichtvorlesung zur molekularen Strahlenbiologie sowie Umgestaltung des assoziierten Blockpraktikums.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Beizaei K, Gleißner L, Hoffer K, Bußmann L, Steinmeister L, Laban S, Möckelmann N, Mün-scher A, Petersen C, Rothkamm K, Kriegs M (2018): Receptor tyrosine kinase MET is a new potential target of multi-kinase inhibitor and radiosensitizer sorafenib in HNSCC but MET inhibition fails to radiosensitize HNSCC cells. Head Neck, doi: 10.1002/hed.25440. Epub 2018 Dec 15

Köcher S, Beyer B, Lange T, Nordquist L, Volquardsen J, Burdak-Rothkamm S, Schlomm T, Petersen C, Rothkamm K, Mansour WY (2018): A functional ex vivo assay to detect PARP1-EJ repair and radiosensitization by PARP-inhibitor in prostate cancer. Int J Cancer, in press

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.130.602,80 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziel dieses Projekts ist die Untersuchung der biologischen Wirkung geringer Dosen ionisierender Strahlung auf das sich entwickelnde Gehirn. Langfristig soll so eine verbesserte Risikoabschätzung für strahleninduzierte neurologische Spätfolgen sowie ein erweitertes Verständnis der molekularen Mechanismen der biologischen Strahlenantwort von neuronalen Stammzellen gewonnen werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Dieses Arbeitspaket untersucht die relative Bedeutung der unterschiedlichen Reparaturwege für, durch Strahlung induzierte, DNA Doppelstrangsbrüche (DSBs) während der Differenzierung neuronaler Stammzellen zu Oligodendrozyten, Astrozyten und Neuronen. Darüber hinaus soll auch die Beteiligung unterschiedlicher DNA-Reparaturproteine an den jeweiligen Reparaturwegen in Abhängigkeit des Differenzierungsstatus aufgeklärt werden. Diese Untersuchungen sollen mit der Hilfe von in vitro kultivierten neuronalen Stammzellen durchgeführt werden, die zu den verschiedenen Zelltypen differenziert und zu verschiedenen Differenzierungsstadien bestrahlt werden. Für diese Arbeiten sollen sowohl Zelllinien, als auch frisch isolierte Stammzellen aus der Subventrikulärzone bzw. dem Hippocampus unterschiedlich alter Mäuse verwendet werden. Damit trägt dieses AP zu einem besseren Verständnis zu den sich im Laufe der Embryonalentwicklung beständig verändernden Mechanismen der strahleninduzierten DNA-Reparatur bei.

AP2: Im zweiten AP sollen die im ersten AP gewonnenen Erkenntnisse mit der in vivo Situation verglichen werden. Die Wahl des DNA-Reparaturweges sowie die Beteiligung unterschiedlicher DNA-Reparaturproteine soll nach der Bestrahlung von Wildtyp-Mäusen unterschiedlichen Alters (embryonal bis postnatal) für die verschiedenen Zelltypen des Gehirns untersucht werden. Diese Informationen sollen daraufhin in die geplanten Untersuchungen zur Empfindlichkeit der unterschiedlichen Zelltypen gegenüber Bestrahlung einfließen. Für die detaillierte Untersuchung der Rolle einzelner Proteine auf Reparatur und Überleben sollen zusätzliche Versuche mit Knockout-Mäusen durchgeführt werden. Langfristiges Ziel dieses APs ist es also, den Einfluss von DNA-Reparatur auf das Überleben und die genomische Integrität unterschiedlicher Zelltypen des zentralen Nervensystems nach Bestrahlung zu evaluieren.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: In diesem Halbjahr sollten die in Arbeitspaket 1 begonnenen Experimente zur Untersuchung der DNA DSB Reparatur mittels HR in embryonalen Mausfibroblasten aus allen drei zu untersuchenden Mauslinien (WT, Nek1-KO, Rad54-KO) abgeschlossen werden. Wie bereits im letzten Halbjahr konnten wir jedoch keine Ergebnisse für Fibroblasten aus Rad54-KO Mäusen generieren, da diese nicht die dafür benötigten Wachstumsraten zeigten. Die Isolation neuer Fibroblasten aus Rad54-defizienten Embryos war aufgrund von umfangreichen Problemen in der Zucht dieser Mauslinie ebenfalls nicht möglich, so dass der geplante Abschluss dieser Experimente noch aussteht. Allerdings konnte in Versuchen mit Fibroblasten aus postnatalen Tieren gezeigt werden, dass Rad54-defiziente Fibroblasten einen Reparaturdefekt aufweisen, der zu späten Zeitpunkten nach Bestrahlung erkennbar wird. Im nächsten Halbjahr sollen diese Ergebnisse mit Fibroblasten aus postnatalen Nek1-KO Mäusen verglichen werden.

Neben den in vitro Experimenten aus Zellen von Knockout- und WT-Mäusen wurden in diesem Halbjahr zusätzlich Experimente mit Zellen intensiviert, welche aus den für Arbeitspaket 2 gezüchteten, induzierbaren Rad54-Knockin (KI) Mäusen isoliert wurden. Ursprünglich war geplant, die Zellen aus nicht-induzierten, homozygoten KI-Mäusen zu isolieren, und den KI anschließend mittels einer Cre-Transfektion der Zellen zu aktivieren. Vorversuche zur Effizienz einer solchen Transfektion zeigten jedoch keine befriedigenden Resultate. Deshalb wurden alternativ Zellen aus KI-Mäusen isoliert, in denen der KI vorher durch eine Verpaarung mit Mäusen aktiviert wurde, die eine permanent aktive Form der Cre-Rekombinase exprimieren. Diese Zellen waren für den KI jedoch lediglich heterozygot. In diesen Zellen konnte mittels PCR nachgewiesen werden, dass eine Aktivierung des KI stattgefunden hat. Inwieweit die daraufhin exprimierte Rad54-Variante jedoch funktional ist, war bislang noch unklar. Anhand von Lasertrack- und Röntgen-Bestrahlungen dieser Zellen konnten wir jedoch nun zum ersten Mal erfolgreich die Akkumulation der mutierten Rad54-Varianten an DNA-Doppelstrangbrüchen (DNA-DSBs) nachweisen: Mittels Antikörperfärbungen gegen das an die Rad54-Varianten gekoppelte GFP konnte die Formation von "Tracks" und "Foci" nachgewiesen werden, die mit gammaH2AX als typischem Marker für DNA-DSBs colokalisierten. Somit konnte erstmals der Nachweis erbracht werden, dass das KI-Rad54-Protein - wie auch das WT-Protein - an DNA-DSBs akkumuliert. Dies ist ein wichtiger Hinweis auf dessen tatsächliche Funktionalität. Zellen die homozygot für den aktivierten KI sind, sollen im nächsten Halbjahr für DNA-Reparaturkinetiken isoliert werden.

Parallel hierzu wurde daran gearbeitet Experimente mit Zellen aus Rad54-KI Mäusen zu etablieren, in denen eine mittels Tamoxifen aktivierbare Cre-Rekombinase exprimiert wird. Hierfür wurden sowohl Zellen die hetero-, als auch homozygot für den KI sind isoliert. Die Experimente mit heterozygoten Zellen zeigten, dass nach Tamoxifen-Behandlung in etwa 50 % der untersuchten Zellen der KI aktiviert wird. In diesen Zellen konnten - ähnlich zum oben genannten Experiment - nach Röntgenbestrahlung GFP-Foci nachgewiesen werden, die mit gammaH2AX Foci colokalisierten. Reparaturstudien in Zellen die homozygot für den KI sind konnten jedoch aufgrund von Problemen mit den verwendeten Antikörpern nicht durchgeführt werden. Diese verhinderten den erfolgreichen Nachweis, dass es im Zuge der Tamoxifen-Behandlung zu einer erfolgreichen Aktivierung des KI in beiden Allelen kommt.

Zuletzt konnten im letzten Halbjahr erstmals Fibroblasten aus drei Wochen alten, Nek1-defizienten Mäusen isoliert werden. Diese sollen für Vergleichsstudien mit embryonalen Fibroblasten Nek1-defizienter Mäuse verwendet werden, in denen bislang kein Reparaturdefekt nachgewiesen werden konnte.

AP2: Im letzten Halbjahr wurden planmäßig erste in vivo Bestrahlungen mit drei Wochen alten Nek1-defizienten Mäusen durchgeführt. Vorläufigen Auswertungen zur Folge zeigen Nek1-KO Mäuse nach Bestrahlung im Vergleich zu WT-Tieren erstmals eine verlangsamte Progression durch den Zellzyklus sowie eine erhöhte Anzahl an unreparierten DNA-DSBs. Eine abschließende Aussage hierzu kann jedoch erst im nächsten Halbjahr erfolgen, wenn alle erforderlichen Experimente durchgeführt sind und das dazugehörige Material ausgewertet ist.

Für die Arbeiten mit den Rad54 KI-Mäusen in denen der KI permanent aktiv ist, wurde uns inzwischen eine Zuchterlaubnis erteilt. Im letzten Halbjahr konnten dementsprechend die ersten zwei von insgesamt drei Kreuzungsschritten für beide KI-Zuchtlinien durchgeführt werden. Der dritte Kreuzungsschritt, durch den die für die Analyse benötigten homozygoten Tieren entstehen können, erfolgt im nächsten Halbjahr. Diese Experimente lassen dann eine Aussage darüber zu, inwieweit die Regulation der Aktivität von Rad54 durch dessen Phosphorylierung und somit die zellzyklusabhängige Regulation der HR in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Maus eine Rolle spielt.

Die Zucht von Mäusen in denen die Rad54 KI-Mutationen mittels Tamoxifen induziert werden kann, ist im letzten Halbjahr ebenfalls vorangeschritten. So konnten für den KI homozygote, embryonale Fibroblasten für in vitro Versuche isoliert werden (siehe Arbeitspaket 1). Die Zucht dieser Mauslinie ist inzwischen so weit vorangeschritten, dass sie direkt als Alternative für in vivo Versuche zur Verfügung steht, falls die Versuche mit den permanent aktivierten KI-Linien aufgrund von zu starker Belastung der Mäuse abgebrochen werden müssen. Für diesen Fall wird jedoch ein weiterer Tierversuchsantrag benötigt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Halbjahr sollen die Arbeiten zur Untersuchung der Regulation der homologen Rekombination durch Rad54 und Nek1 im Laufe der Entwicklung des zentralen Nervensystems soweit komplettiert sein, dass ein Manuskript zur Veröffentlichung erstellt werden kann. Dies soll die in vivo und in vitro Versuche aus den Arbeitspaketen 1 und 2 beinhalten, welche auf den Versuchen mit Nek1- und Rad54-defizienten Mäusen basieren. Darüber hinaus sollen die Experimente zur Regulation der Aktivität von Rad54, welche auf den Rad54-KI Mäusen bzw. den daraus isolierten Zellen basieren, weitergeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 899.352,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Laube	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziel dieses Projekts ist die Untersuchung der biologischen Wirkung geringer Dosen ionisierender Strahlung auf das sich entwickelnde Gehirn. Langfristig soll so eine verbesserte Risikoabschätzung für strahleninduzierte neurologische Spätfolgen sowie ein erweitertes Verständnis der molekularen Mechanismen der biologischen Strahlenantwort von neuronalen Stammzellen gewonnen werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP3: Ziel des Projekts ist die Erfassung der Auswirkungen geringer Strahlendosen auf die DNA-Reparaturkapazität und die physiologische Funktionalität ausdifferenzierter Astrozyten und Oligodendrozyten in vivo und in vitro. Für die geplanten Versuche wird das in AP4 beschriebene neuronale Stammzellkultursystem verwendet. Nach der Ausdifferenzierung der NSZ in Astrozyten/Oligodendrozyten wird mit speziellen Markern die Reinheit und Funktionalität überprüft. Anschließend wird die Expression verschiedener Ionenkanäle in den Astrozyten und Oligodendrozyten untersucht und die Funktionalität durch elektrophysiologische Messungen an verschiedenen Ionenkanälen (spannungs-abhängige sowie inhibitorische und exzitatorische Liganden-gesteuerte Kanäle) überprüft. Die so charakterisierten glialen Zellen werden anschließend mit geringen Dosen IR bestrahlt um eventuelle Veränderungen im physiologischen Status dieser Zellen aufzeigen zu können.

AP4: In dem vorliegenden Arbeitspaket wird der Einfluss ionisierender Strahlung auf die morphologische und funktionelle Ausbildung von Neuronen und neuronaler Netzwerke während der neuronalen Differenzierung von NSZ untersucht. Diese Untersuchungen sollen mit der Hilfe von in vitro kultivierten neuronalen Stammzellen durchgeführt werden, die zu den verschiedenen Zelltypen differenziert und in verschiedenen Differenzierungsstadien bestrahlt werden. Hierfür werden ES-deriverte und primäre NSZ nach etablierten Protokollen in vitro zu Neuronen differenziert. Für die morphologischen und funktionellen Analysen werden die NSZ in verschiedenen Entwicklungsstadien mit unterschiedlichen Dosen bestrahlt und deren Effekte auf die Ausdifferenzierung der Neurone und der neuronalen Netzwerke elektrophysiologisch untersucht. Die Neuriten- und Synapsenbildung wird während der neuronalen Differenzierung quantitativ und qualitativ erfasst und anhand elektrophysiologischer Untersuchungen ein Entwicklungsprofil erstellt

A8: Ziel dieses Arbeitspaketes ist es, anhand verhaltensbiologischer Analysen bestrahlter Mäuse (embryonal bis postnatal) eine Risikoabschätzung niedriger Strahlendosen für die Entwicklung des Gehirns zu ermöglichen. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen wird auf der Korrelation neurologischer Auffälligkeiten und von Defiziten im räumlichen Lernen mit dem Bestrahlungszeitpunkt liegen, um besonders strahlenempfindliche Phasen der Entwicklung des Gehirns zu identifizieren.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3: Im AP3 sollte im letzten Zwischenbericht (1. Halbjahr 2018) Gründe für das erhöhte Aufkommen des Reparaturproteins 53BP1 nach 500 mGy Röntgenstrahlung in Neuronen im Vergleich zu Astrozyten untersucht werden. Neurone sind metabolisch sehr aktiv und besitzen evtl. eine erhöhte Strahlensensitivität. Die erhöhte Rate von Doppelstrangbrüchen könnte letztendlich zu Apoptose führen. Um diese Theorie zu über-

prüfen wurden adulte Neurone und Astrozyten (10 Tage *in vitro* differenziert) mit 500 mGy bestrahlt und nach 4 h, 6 h und 8 h überprüft, ob Apoptose in den Zellen eingeleitet wurde. Dies wurde anhand des Apoptosefaktors Cleaved-Caspase 3 (c-Caspase 3) festgestellt. Weder in Neuronen noch in Astrozyten konnte eine massive Einleitung der Apoptose nach 500 mGy Bestrahlung nachgewiesen werden. In Astrozyten stieg die Anzahl der c-Caspase 3 positiven Zellen zu keinem Zeitpunkt über 1,5 % an. Bei den Neuronen stieg die Anzahl der c-Caspase 3 positiven Zellen nach Bestrahlung, zu keinem Zeitpunkt über 2 % der Gesamtanzahl der Zellen an. Weitere Versuche haben gezeigt, dass 53BP1 und γ H2AX Marker sowohl in Neuronen, als auch in Astrozyten fast zu 100 % ko-lokalisieren und beide Zelltypen ähnlich schnell DSBs reparieren. Dies könnte auf spezifische Regulationsvorgänge von DSBs in Neuronen z. B. für die Transkription von Genen hinweisen (Madabhushi et al. 2015).

- AP4: In den vorherigen Berichten wurden Messungen durchgeführt, die gezeigt haben, dass niedrig-Dosis Bestrahlung in murinen neuronalen Stammzellen zu einem verzögerten Anstieg der Leitfähigkeit spezifischer Kaliumkanäle führt. Diese erhöhte Leitfähigkeit kann mit einem Anstieg auf Transkriptions- als auch Proteinebene bestätigt werden. Darüber hinaus kommt es zu einem Anstieg der NOS1 was für eine durch Strahlung ausgelöste Anreicherung von Stickoxid spricht. Da sowohl der Anstieg der Kaliumleitfähigkeit, als auch die erhöhte Expression von NOS1 für die Einleitung der Differenzierung spricht, wurde das Auftreten früher neuronaler Differenzierungsmarker überprüft. Hierbei konnte 24 Stunden nach Bestrahlung von 0,25 Gy als auch 0,5 Gy eine dosisabhängige erhöhte Expression von DCX als auch Mash1 gezeigt werden. In einem weiteren Versuchsansatz sollte überprüft werden ob die durch Niedrigdosis-Strahlung erzeugten Radikale ausreichen, um einen für seine durch ROS/RNS Modulation bekannten, heterolog exprimierten Kaliumkanal, in seiner Leitfähigkeit zu verändern. Hier konnte gezeigt werden, dass es 24 Stunden nach Bestrahlung zu einem Verlust der Inaktivierung und einer deutlichen Erhöhung in der für den Kanal spezifischen Stromantwort kommt.
- AP8: Seit dem letzten Zwischenbericht wurden die verhaltensbiologischen Untersuchungen zum Zeitpunkt E14,5 abgeschlossen. Weiterhin wurden Bestrahlungen (500 mGy) während verschiedener Lernphasen des Morris Water Maze durchgeführt (im Alter von 2 Monaten), um zu analysieren, in welchem Maße sich ionisierende Strahlung während des Lernprozesses im adulten Nagerhirn auswirkt. Die letzte zu diesem Zeitpunkt untersuchte Dosis von 125 mGy zeigte geringere Effekte auf das räumliche Lernverhalten als die beiden höheren Dosen (250 mGy, 500 mGy). Die 125 mGy Tiere erlernten die Plattformpositionen im Vergleich zur Kontrollgruppe nur tendenziell langsamer, jedoch konnte eine signifikante Verringerung bei der Verwendung der direkten Suchstrategie während der initialen Lernphase beobachtet werden. Damit konnte gezeigt werden, dass selbst die niedrigste hier verwendete Dosis Einfluss auf das räumliche Lernverhalten hat. Insgesamt vervollständigt diese Dosis somit das beobachtete Bild einer dosisabhängigen Beeinflussung des räumlichen Lernverhaltens. Die bisher angefertigten immunhistologischen Färbungen zeigen einen Unterschied zwischen Sham bestrahlten Tieren und 500 mGy Tieren (E14,5) bezüglich des Vorläuferzellmarkers Doublecortin (DCX). DCX wird von Progenitorzellen in der subgranulären Zone des Gyrus dentatus exprimiert, welche sich zu reifen Neuronen ausdifferenzieren. Der Marker DCX dient hierbei als Nachweis für die stattfindende Neurogenese. Diese Neubildung von Nervenzellen steht in engem Zusammenhang mit Plastizitäts- und Lernvorgängen im Gehirn. Bei der Quantifizierung dieses Zelltyps im adulten Tier wurden hierbei nach Bestrahlung mit 500 mGy zum Zeitpunkt E14,5 weniger DCX positive Zellen beobachtet als in den Kontrolltieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im AP3 soll in weiteren Experimenten nun untersucht werden, ob die gefundene regulatorische Beeinflussung von Glutamat auf Neurone und DSBs auch funktionell nachgewiesen werden kann. Dafür sollen die Stammzellen der Zelllinie J1 zu einem vollständigen neuronalen Netzwerk ausdifferenziert werden und die Spontanaktivität über das sogenannte MEA (=Microelectrode Array)-System gemessen werden. Im AP4 soll nochmals der zeitliche Verlauf der Bildung von NO nach Bestrahlung genauer untersucht werden und ob die erhöhte Kaliumkanalleitfähigkeit auf eine direkte Aktivierung der Kaliumkanäle zurückzuführen ist. Im AP8 ist in der nächsten Phase geplant die Histologie für die Zeitpunkte E14,5 und P10 abzuschließen und die Gruppengrößen zu erhöhen. Des Weiteren ist geplant die histologischen Analysen mit Hirngewebe der Rad54^{-/-} Tiere zu beenden um mögliche Auswirkungen einer Niedrigdosisbestrahlung bei HR-Defizienz zu untersuchen. Die Verhaltensexperimente mit Bestrahlung während verschiedener Lernphasen in wt und Rad54^{-/-} werden abschließend ausgewertet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Zwei abgeschlossene Bachelorarbeiten. Mehrere Vorträge/Poster im Rahmen der Tagung der Gesellschaft für Biol. Strahlenschutz in Frankfurt.

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 406.411,00 EUR	Projektleiter: Dr. Ritter	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die wissenschaftlichen Ziele des Projekts sind einerseits die Verbesserung der Risikoabschätzung für strahleninduzierte neurologische Spätfolgen und zum anderen ein erweitertes Verständnis der biologischen Strahlenantwort von neuronalen Stammzellen (NSZ). Hierzu wird ein großes methodisches Spektrum eingesetzt. Es reicht von der Charakterisierung der molekularen Mechanismen der Strahlenantwort auf Einzelzellebene über die Erfassung von Effekten auf das Gehirngewebe bis hin zur Bewertung längerfristiger neurologischer Folgen für den Organismus. Um diese Ziele zu erreichen, arbeiten am Forschungsvorhaben Partner mit ausgewiesener strahlen- bzw. neurobiologischer Expertise eng zusammen. Da es bisher nur wenige Daten zur Wirkung von dicht-ionisierenden Strahlen gibt, wird im Rahmen unseres Arbeitspaketes der Einfluss von Teilchenstrahlen (z. B. Kohlenstoff- oder Heliumionen) auf die neuronale Entwicklung näher untersucht. Als Modellsystem dienen murine NSZ, die auch von den anderen Verbundpartnern genutzt werden. Ergänzend sind Versuche mit humanen NSZ geplant. Zunächst soll untersucht werden, inwieweit dicht-ionisierende Strahlung die Fähigkeit von NSZ zur Selbsterneuerung und Differenzierung beeinflusst. Weiterhin sollen zytogenetische Untersuchungen durchgeführt werden, um nähere Informationen über die Genauigkeit der DNA-Reparaturprozesse nach einer Strahlenexposition zu erhalten. Da die Migration ein wichtiger Vorgang bei der Bildung des Nervensystems ist, soll die Fähigkeit der NSZ zu wandern in einem „Migrationstest“ gemessen werden. Für alle ausgewählten Endpunkte werden entsprechende Experimente mit Röntgenstrahlen durchgeführt. Neben dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn leistet das Forschungsvorhaben einen wichtigen Beitrag zur Nachwuchsförderung und zum Kompetenzerhalt in der Strahlenforschung. Die jungen Projektmitarbeiter erhalten eine intensive wissenschaftliche Aus- bzw. Weiterbildung mit interdisziplinärer Kompetenz in Strahlenforschung, Neurobiologie, Molekularbiologie und Verhaltensforschung. Weiterhin wird in Vorlesungen und Praktika um potenziellen wissenschaftlichen Nachwuchs geworben.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben wird von mehreren Arbeitsgruppen aus drei Einrichtungen, d. h. der Technischen Universität Darmstadt (TUD), dem GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung (GSI) und der Universitätsklinik Erlangen (UE) durchgeführt. Es beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (AP):

- AP1: DSB-Reparatur in neuronalen Zellen in unterschiedlichen Differenzierungsstadien (TUD)
- AP2: Strahlenempfindlichkeit neuronaler Stammzellen *in vivo* (TUD)
- AP3: *Self-renewal* und Differenzierung neuronaler Stammzellen (TUD)
- AP4: Morphologie und Funktionalität sich entwickelnder Neurone und neuronaler Netzwerke (TUD)
- AP5: Einfluss von dicht-ionisierender Strahlung auf die neuronale Entwicklung *in vitro* (GSI)
- AP6: Analyse histomorphologischer Veränderungen im Gehirn von bestrahlten Mäusen (TUD)
- AP7: Physiologische Untersuchungen mittels funktioneller Magnetresonanztomographie (UE)
- AP8: Verhaltensbiologische Untersuchungen bestrahlter Mäuse (TUD)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Messungen der Apoptoserate von NSZ im Zeitraum von 12 Stunden bis 14 Tage nach Röntgenstrahlung wurden abgeschlossen. Insgesamt liegen nun Daten aus vier unabhängigen Experimenten vor. Sie zeigen, dass die Apoptoserate bis vier Tage nach der Exposition dosisabhängig erhöht ist, danach fällt sie ab und erreicht das Kontrollniveau. Da zu diesem Zeitpunkt auch die Aberrationsrate den Kontrollwert erreicht, belegen unsere Studien, dass geschädigte NSZ effektiv durch Apoptose aus der Population eliminiert werden. Ein Vergleichsexperiment mit Kohlenstoffionen (ausgedehnter Bragg Peak, LET: 75 keV/ μm) wurde Ende November 2018 am National Centre of Oncological Hadrontherapy (CNAO, Pavia, Italien) durchgeführt.

Weiterhin wurden die Versuche zur Proliferations- und Differenzierungsfähigkeit von NSZ im 3D-Modell fortgeführt. Der Schwerpunkt lag hierbei auf der Sphärenbildung in Abhängigkeit von der Erholungszeit (0, 24 und 48 Stunden nach der Exposition). Für alle Untersuchungszeitpunkte liegen Röntgendaten aus mindestens drei unabhängigen Experimenten vor; für zwei Zeitpunkte (0 und 24 Stunden) liegen auch erste Ergebnisse für Kohlenstoffionen vor. Die Experimente zeigen, dass die Fähigkeit der Zellen zur Neurosphärenbildung mit steigender Dosis abnimmt und dass Kohlenstoffionen zwei- bis dreimal effektiver sind als Röntgenstrahlen. Unabhängig von der Strahlenqualität sind 24 Stunden nach der Exposition noch keine Erholungsprozesse sichtbar. Wird die Neurosphärenbildung jedoch 48 Stunden nach Röntgenbestrahlung initiiert, treten Erholungsprozesse deutlich zu Tage. Die entsprechenden Messungen nach Ionenbestrahlung werden im Februar 2019 an der GSI durchgeführt.

Um zu überprüfen, ob ionisierende Strahlung die Differenzierungskapazität der NSZ beeinflusst, wurden die Zellen mit 0,5, 1 und 2 Gy Röntgenstrahlen bestrahlt, Neurosphären hergestellt und die Genexpression von Markern für NSZ sowie Neurone in 7 und 28 Tage alten Neurosphären mittels qRT-PCR untersucht. Die Experimente zeigen übereinstimmend, dass hohe Dosen (1 und 2 Gy) zu ausgeprägten Störungen in der Differenzierung von NSZ führen. In 7 Tage alten Neurosphären waren im Vergleich zu Kontrollzellen PAX, ein Marker für NSZ sowie die neuronalen Marker SYP, SNAP25 und DCX stark herunterreguliert; in 28 Tage alten Neurosphären trat dieser Effekt nur in den Nachkommen der Zellen auf, die mit 2 Gy bestrahlt wurden. Nach Exposition mit der niedrigsten Dosis (0,5 Gy) wurden keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu Kontrollzellen festgestellt. Ein erstes Experiment mit Kohlenstoffionen wurde in Italien durchgeführt und wird derzeit analysiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Da die Projektlaufzeit am 30.6.2019 endet, sollen die laufenden Experimente abgeschlossen werden. Dies betrifft insbesondere die Untersuchungen zur Wirkung von therapeutisch genutzten Kohlenstoffionenstrahlen im Hinblick auf die Induktion von Chromosomenschäden, Apoptoserate, Differenzierungsfähigkeit und Expression von Markergenen in NSZ. Ergänzend soll die Proteinexpression einiger Markergene mittels Immunohistochemie überprüft werden. Darüber hinaus ist geplant, die Forschungsergebnisse im Sommer 2018 zu publizieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

C. Schielke C. et al.: Generation of neural stem cells for the analysis of radiation-induced impairment of neurogenesis and neuroregeneration – BrainRadiationAssay, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-6, DOI:10.15120/GR-2018-1

Arrizabalaga O. et al.: Early response of human neural stem cells to ionizing radiation, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-5, DOI:10.15120/GR-2018-1

S. Allig S. et al., Effect of extrusion-based bioprinting on neurospheres, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-11, DOI:10.15120/GR-2018-1

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 034D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 431.642,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Uder	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel dieses Projektes ist es, durch Kombination anatomischer und funktioneller Daten eine möglichst vollständige in vivo Struktur-Funktions-Charakterisierung des Mausgehirns nach Bestrahlung vorzunehmen. Wir nehmen hiermit eine nicht-invasive Risikoabschätzung strahleninduzierter neurologischer Spätfolgen am Mausmodell vor und zeigen unmittelbar eine translationale Perspektive für die Klinik auf. Die fMRT-Analyse soll funktionelle Veränderungen von Aktivitäten im Gehirn der in utero und postnatal zu unterschiedlichen Zeitpunkten und mit unterschiedlichen Dosen bestrahlten Mäuse liefern. Diese Ergebnisse werden direkt mit den Ergebnissen aus den Verhaltensstudien (TP8) korreliert. Die hochaufgelösten MR Anatomien erfassen die Strukturveränderungen im Gehirn und dienen zunächst als Atlasreferenzsystem sowie zur direkten Integration der histologischen Untersuchungen (TP6). Hiermit können also Gehirnbereiche definiert werden, die funktionell und/oder strukturell Veränderungen aufzeigen und in denen man daher nach Effekten auf zellulär-molekularer Ebene suchen sollte.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Mit adulten Kontrolltieren sowie zukünftig den Rad54 ko Tieren, nach 500 mG, 250 mG und 125 mG embryonal und P10 Bestrahlung wird zunächst eine „Resting-state“ Aufnahme und anschließend ein fMRT Experiment mit thermisch nozizeptiver Stimulation aufgenommen. Direkt im Anschluss wird nochmals eine „Resting-state“ Aufnahme durchgeführt, um im Vergleich vor und nach nozizeptiver Stimulation, dynamisch-plastische Effekte der Änderungen der Verbindungsstrukturen im Gehirn zu untersuchen. Abschließend wird eine höheraufgelöste Anatomie an den Positionen der funktionellen Bilddaten aufgenommen. Die Daten werden quantitativ mit besonderem Fokus auf die Graphtheorie ausgewertet und entsprechend visualisiert. Auf Ebene der Gruppenstatistik erfolgt synergetisch die Zusammenführung der Ergebnisse aus den anderen TPs, insbesondere die zellulären in vivo Daten aus TP2, die Standardhistologie aus TP6 und die Verhaltensdaten aus TP8.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In dieser Phase des Projektes wurden die MRT- und Schmerzverhaltens-Messungen für die ersten Knockout-Mäuse durchgeführt. Die Knockout-Tiere können das Rad54-Protein nicht synthetisieren, welches eine entscheidende Rolle bei der Reparatur von DNA-Strängen spielt (Rad51 ko). 9 Tiere wurden im postnatalen Alter von 10 Tagen mit 500 mG bestrahlt, 8 mit 0 mG (Sham-Tiere). Im adulten Alter von 3 Monaten wurden alle Tiere im bewährten Experiment-Set up im MRT gemessen: nach einer Resting-State Messung ohne Stimulation folgt eine fMRI-Messung mit thermischer Stimulation (40 °C und 45 °C als nicht schmerzhaft und 50 °C und 55 °C als schmerzhaft Stimulation) und eine abschließende Resting State Messung. Zusätzlich wurde bei allen Tieren sowohl das mechanische als auch das thermische Schmerzverhalten über die Wegzug-Latenz der Hinterpfoten nach mechanischer (von Frey-Test) und thermischer (Hargreaves-Test) Reizung gemessen.

Am Ende der funktionellen fMRT Experimente wurden die Tiere mit Kontrastmittel perfundiert. Die perfundierten Gehirne wurden ex-vivo im MRT einer hochauflösenden Anatomie-Messung unterzogen und anschließend zur weiteren histologischen Untersuchung nach Darmstadt gebracht.

Zurzeit werden die Daten der 8 Wildtyp-Gruppen (vergl. Bericht von 2018 I) ausgewertet, die Ergebnisse werden voraussichtlich Ende April zur Verfügung stehen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Weitere Messungen MRT und Verhalten mit Rad54 Knockout Mäusen sollen durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken	Förderkennzeichen: 02 NUK 035A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.171.890,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rube

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis spezifischer DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit bzw. das individuelle Strahlenrisiko zu etablieren. Dementsprechend sollen in zusammenhängenden Untersuchungen die wissenschaftlichen und technischen Voraussetzungen für die klinische Anwendung von RF geschaffen werden:

AP2: Akkumulation von RF nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung

Im Rahmen einer protrahierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung soll die Akkumulation von RF in verschiedenen Normalgeweben unter Verwendung von Mausstämmen mit unterschiedlicher Reparaturkompetenz untersucht werden. Insbesondere soll analysiert werden, in welchem Ausmaß DNA Schäden in den ausdifferenzierten Funktionszellen und gewebespezifischen Stamm- und Vorläuferzellen verschiedener Organgewebe nach repetitiver Strahlenexposition mit sehr niedrigen Dosen akkumulieren. Darüber hinaus sollen die biologischen Auswirkungen einer DNA Schadensakkumulation hinsichtlich Zellfunktion sowie die pathophysiologischen Konsequenzen einer wiederholten Strahlenexposition mit niedrigen Dosen hinsichtlich der Organfunktion analysiert werden.

AP4: Akkumulierte RF als Marker des Normalgeweberisikos

Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren soll untersucht werden, inwieweit unter einer Radiotherapie akkumulierende RF in Blutlymphozyten, Normal- und Tumorgewebe als Indikator für das individuelle Normalgeweberisiko bzw. Tumorsprechen genutzt werden können. Während der fraktionierten Radiotherapie soll die Akkumulation von RF in den Blutlymphozyten, den Normalgewebs- und Tumorzellen bestimmt und mit der Bestrahlungsdosis, dem Bestrahlungsvolumen, den individuell aufgetretenen Nebenwirkungen, der applizierten Chemotherapie sowie dem jeweiligem Therapieansprechen korreliert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP2: DNA Reparatur-profiziente und -defiziente Mäuse werden täglich bis zu 10 Wochen mit niedrigen Dosen (100 mGy bzw. 10 mGy) bestrahlt. Nach 2, 4, 6, 8 bzw. 10 Wochen werden in den verschiedenen Organgeweben (Gehirn, Haut, Herz, Lunge, Niere, Testis) die RF sowohl in ausdifferenzierten Funktionszellen als auch in Gewebe-spezifischen Stammzellen (spermatogonische Stammzellen in Testis, epidermale Stammzellen der Haarbalgregion) ausgezählt und charakterisiert, um eine potentielle Akkumulation von DNA Schäden zu erfassen. Es sollen mögliche Unterschiede in der Akkumulation von RF in den verschiedenen Funktionszellen und insbesondere in den langlebigen Stamm-/Vorläuferzellen untersucht und zusätzlich mittels der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) charakterisiert werden.

AP4: Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wird vor Therapiebeginn durch die Bestimmung von RF in ex-vivo bestrahlten Blutlymphozyten die individuelle DNA Reparaturkapazität und somit die Strahlenempfindlichkeit des einzelnen Patienten bestimmt. Während der fraktionierten Radiotherapie werden persistierende RF durch wöchentliche Blutanalysen bestimmt und die potentiell akkumulierenden RF mit der individuellen Reparaturkapazität eines Patienten (gemessen anhand prätherapeutisch gewonnener, in vitro bestrahlter Blutlymphozyten) korreliert. Auch soll geprüft werden, inwieweit die im Normal- bzw. Tumorgewebe akkumulierten RF mit der Normalgewebsreaktion bzw. dem Tumorsprechen korrelieren.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Die fraktionierte Niedrig-Dosis-Bestrahlung führt zu einer deutlichen Störung der hippocampalen Neurogenese mit einer langfristigen Abnahme der neuronalen Stamm-/ Progenitorzellen, insbes. im juvenilen Gehirn. Diese

Ergebnisse wurden zwischenzeitlich zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst und eingereicht (Schmal et al. 2019). In den letzten Monaten wurde im Mausmodell der Einfluss einer fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung auf eine potentiell chronische Entzündungsreaktion des Gehirngewebes untersucht. Von zentraler Bedeutung für die Neuroinflammation ist die Neuroglia: Daher wird zu den verschiedenen Zeitpunkten nach der Bestrahlung (1 m, 3 m, 6 m post-IR) die Zellzahl der Mikroglia, der Astrozyten, und der Oligodendrozyten in der Hippocampus-Region bestimmt. Insbesondere sollen die zugrundeliegenden Pathomechanismen für den Übergang einer zunächst protektiven zu einer chronisch-schädigenden Entzündungsreaktion untersucht werden.

AP4: Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und Rektum-Karzinomen wurden vor und während der Radiotherapie Blutproben gewonnen, um die RF wurden in den in vitro bzw. in vivo bestrahlten Blutlymphozyten zu quantifizieren. Die während der Radiotherapie ermittelten Foci-Werte wurden mit der Bestrahlungsdosis, dem Bestrahlungsvolumen, den Nebenwirkungen sowie der applizierten Chemotherapie korreliert. Die Datenauswertung ergab, dass die gemessenen Foci-Werte und Kinetiken in den Blutlymphozyten nur bedingt mit dem Bestrahlungsvolumen und den individuellen Nebenwirkungen korrelierten. Die ultrastrukturelle Charakterisierung der strahleninduzierten RF mit Hilfe der Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) zeigten komplexere DNA Schäden bei kombinierter Radio-/Chemotherapie im Vergleich zu alleiniger Radiotherapie. Nach erfolgreicher Daten-Auswertung wurde zwischenzeitlich ein entsprechendes Publikationsmanuskript erstellt und eingereicht (Lorat Y et al. 2018).

In humanen Fibroblasten wurde nach Strahlenexposition die Induktion und Reparatur von DNA Schäden durch die vergleichenden Foci-Analysen mit verschiedenen hochauflösenden Mikroskopie-Techniken untersucht. In Kooperation mit der Fa. ZEISS wurden hierbei korrelative Techniken etabliert werden, um Informationen aus der Lichtmikroskopie mit der Auflösungskraft der Elektronenmikroskopie zu kombinieren. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst. Für das Imaging System ZEN CONNECT wurde ein white paper in Kooperation mit der Fa. ZEISS erstellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Mittels der Magnet-Resonanz-Tomographie (7-Tesla Kleintier-MRT) wurden 1, 3, 6 und 12 Monate nach der Bestrahlungsserie Bilddaten für die morphologische und volumetrische Analyse verschiedener Hirnstrukturen akquiriert. Nach der Bildakquisition werden derzeit die komplexen MRT-Bilddaten für die morphologische Befundbeurteilung ausgewertet. Durch die hochaufgelöste Darstellung der unterschiedlichen Hirnregionen im zeitlichen Verlauf nach Bestrahlung sowie im Vergleich zu altersentsprechenden Kontrolltieren sollen die morphologischen und strukturellen Veränderungen im Sinne einer potentiellen Neurodegeneration infolge der Bestrahlungsserie erfasst werden. Durch den Vergleich der fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung bei adulten versus juvenile Versuchstieren soll die erhöhte Vulnerabilität während der postnatalen Gehirnentwicklung herausgearbeitet werden. Für die multiparametrische Gewebecharakterisierung sollen auch die Perfusions- und Diffusions-Messungen mit speziellen Gradienten-Techniken berücksichtigt werden, um eine potentielle Neuroinflammation mit regionalen Blutflussänderungen diagnostizieren zu können.

AP4: In Kooperation mit der AG Meier/Borgmann werden bei triple-negativen Mamma-Ca die RF (RPA-foci) im Rahmen der homologen Rekombination vergleichend für radio-sensitiven und radio-resistenten Zelllinien untersucht, und mit TEM ultrastrukturell charakterisiert.

In Kooperation mit der AG Neubeck/Krause werden RF in Tumorzellen (Plattenepithel-Ca) vor und nach Strahlenexposition in unterschiedlich oxygenierten bzw. proliferierenden Regionen von Xenograft-Tumoren bestimmt und mittels TEM ultrastrukturell charakterisiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises hippocampal neurogenesis. Schmal Z, Isermann A, Hladik D, Tapio S, Rube CE. *Radiother Oncol.* 2019, accepted

Hair follicle stem cell fate is dependent on chromatin remodeling capacity following low-dose radiation. Schuler N, Timm S, Rube CE. *Stem Cells.* 2018 Apr;36(4):574-588

Scale of DNA damage in blood lymphocytes during radiotherapy depends on concomitant chemotherapy. Lorat Y, Fleckenstein J, Görlinger P, Rube CE, *PLOS One* 2019, under review

Clustered DNA damage concentrated in particle trajectories causes persistent large-scale rearrangements in chromatin architecture. Timm S, Lorat Y, Jakob B, Taucher-Scholz G, Rube CE. *Radiother Oncol.* 2018 Jul 23

DNA damage assessment and potential applications in laboratory diagnostics and precision medicine. Reddig A, Rube CE, Rödiger S, Schierack P, Reinhold D, Roggenbuck D. *J Lab Precis Med* 2018; 3:31

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 035B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.300.920,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rothkamm	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel der beiden Projekte AP3 und AP6 ist es Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit zu etablieren sowie Reparaturfoci als Marker der genomischen Instabilität bzw. der homologen Rekombination zu etablieren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP3:

Versuch V3.1: Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit

Versuch V3.2: Verschiebung der DSB-Reparatur zum PARP-EJ

Versuch V3.3: Etablierung eines Tumorzellarrays

Versuch V3.4: RF in Tumorbiopsien nach ex-vivo Bestrahlung

AP6:

Versuch V6.1: Genomische Instabilität von Tumorzellen

Versuch V6.2: Genomische Instabilität von Normalzellen

Versuch V6.3: Zelluläre Strahlenempfindlichkeit von Tumorzellen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP3: Die Analyse von Reparaturfoci und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Tumorzell-Array sowie an frischem Tumorgewebe wurde weitergeführt. Diese Arbeiten wurden u. a. als Vortrag bei der GBS-Tagung 2018 präsentiert und ein diesbezügliches Manuskript wurde beim *Int J Cancer* zur Veröffentlichung angenommen.
- AP6: Die Untersuchungen zur Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Tumorzelllinien wurden fortgeführt. Ergebnisse zum Einfluss relevanter Faktoren wie RAD51, CHK1 und BRCA1 auf die Strahlenempfindlichkeit in Brusttumorzelllinien wurden auf der GBS-Tagung 2018 präsentiert. Ein Manuskript ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: Fortführung der Analyse von RF und Charakterisierung der DSB-Reparatur unter verstärkter Berücksichtigung von Einflüssen der Chromatinstruktur und epigenetischer Prozesse.
- AP6: Weiterführung der Versuche zur Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Tumorzelllinien sowie des Einflusses der Chromatinstruktur auf die durch fehlerhafte DNA-Reparatur- und Replikationsprozesse vermittelte genomische Instabilität.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Köcher S, Beyer B, Lange T, Nordquist L, Volquardsen J, Burdak-Rothkamm S, Schlomm T, Petersen C, Rothkamm K, Mansour WY (2018): A functional ex vivo assay to detect PARP1-EJ repair and radiosensitization by PARP-inhibitor in prostate cancer. *Int J Cancer*, in press.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 035C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 412.218,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krause	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des Vorhabens ist es, durch den Nachweis von spezifischen DNA-Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit bzw. das individuelle Strahlenrisiko zu etablieren. Dazu soll eine zusammenhängende Untersuchung verschiedener Aspekte in der Anwendung von RF vorgenommen werden.

Ein Bezug zu anderen Arbeitsprojekten (AP) besteht wie folgt:

AP5.1 - AP6 bzgl. zellulärer Strahlenempfindlichkeit der HNSCC (Borgmann, Mansour, UKE2)

AP5.2 - AP4 bzgl. ex vivo Bestrahlung von Gewebebiopsien (Fleckenstein, Rube, UKS2)

AP5.3 - AP7 bzgl. Automatisierung der RF-Detektion (Fritz, Roggenbuck, MED)

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In Dresden erfolgt die Bearbeitung des AP5: „RF als potentielle Marker der Tumorstahlenempfindlichkeit“. Unter Nutzung von an der Technischen Universität Dresden etablierten und gut charakterisierten humanen Tumormodellen sowie einer histologischen, Mikromilieu-korrigierten semiautomatisierten Bildanalyse wird das Potential der RF als Biomarker für die Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren in vivo bestimmt. Die Methodik wird dabei für den Einsatz an menschlichen Tumorbiopsien sowie für den Hochdurchsatz (High Throughput) weiterentwickelt und validiert, um zukünftig die lokale Tumorkontrolle besser vorhersagen und mögliche Strahlenschäden an gesundem Gewebe einsparen zu können.

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

An zehn Tumormodellen wird die Anzahl der DNA-RF/Zelle nach Bestrahlung von Tumoren in vivo mittels histologischer, Mikromilieu-korrigierter semi-automatisierter Bildanalyse ermittelt und mit vorhandenen Ergebnissen zur Tumorkontrollwahrscheinlichkeit korreliert.

AP5.2: Etablierung eines Klinik-relevanten ex vivo Assays

An Tumorbiopsien soll ein standardisierter und in der klinischen Routine einfach anwendbarer ex vivo Assay zur Bestimmung der intrinsischen Strahlenempfindlichkeit mittels DNA-RF etabliert werden.

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Medipan GmbH (AP7) soll ein Verfahren zur automatischen Quantifizierung von RF entwickelt werden, welches an den in AP5.1 und AP5.2 erstellten Bilddateien validiert wird.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Sieben Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinom (HNSCC) Xenograftmodelle wurden immunhistochemisch und mittels Immunfluoreszenz gefärbt. Die Reparaturfoci wurden ausgewertet und die Kurvensteigungen der dosisabhängigen Reparaturfoci (SDRC) wurden analysiert. Dabei zeigt die SDRC eine signifikante Korrelation mit den Tumorkontrolldosen (TCD50); sowohl nach Einzeldosis-Bestrahlung unter homogener Hypoxie als auch nach fraktionierter Bestrahlung. Das Manuskript wurde eingereicht.

AP5.2: Etablierung eines Klinik-relevanten ex vivo Assays

Durch die statistische Re-Evaluierung mit dem entwickelten gemischten Modell (Rassamegevanon et al. 2017, Radiother. Oncol.) wurde die Heterogenität von Reparaturfoci-Daten aus in vivo bestrahlten Tumoren (Koch et al. 2013, Radiother. Oncol.) und ex vivo bestrahlten Tumorbiopsien statistisch untersucht. Diese Untersuchung zeigte, dass die Kultivierung der Tumorbiopsien zu einer erhöhten Heterogenität der Foci führt (Rassamegevanon et al. 2018, Int J Mol Sci.). Der direkte Vergleich der Dosisantwortkurven von ex vivo bestrahlten Biopsien und in vivo bestrahlten Tumoren zeigte in 4 von 5 Tumormodellen keinen signifikanten Unterschied. Die Steigungen der Reparaturfoci-Kurven konnte Tumoren in 2 Resistenzkategorien klassifizieren. Ein Manuskript ist in Vorbereitung. Die Methodik der ex vivo Kultivierung, Bestrahlung und Foci-Analyse auf lebende Tumorschnitte in zwei HNSCC Xenograftmodellen wurde bereits etabliert.

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Der entwickelte und zum Patent angemeldete Algorithmus zur Erkennung von Gefäßen in Gewebeschnitten wurde auf weitere Tumormodelle angewendet.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Zusätzliche Daten aus verschiedene primären Patientenproben sollen erhoben und mit den Ergebnissen der in vivo Tumoren verglichen werden. Es wird eine Publikation angestrebt.

AP5.2: Etablierung eines Klinik-relevanten ex vivo Assays

Die ex vivo Kultivierung, Bestrahlung und Foci-Analyse auf lebende Tumorschnitte im dritten HNSCC Xenograftmodell wird etabliert und die Analyse der gewonnenen Daten wird fortgeführt. Dabei soll die erhöhte Heterogenität in ex vivo kultivierten, bestrahlten Tumorbiopsien weiter untersucht werden. In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Universitätsklinikum Saarland (AP4) soll der Einfluss der Chromatinstruktur auf RF zwischen ex vivo und in vivo bestrahlte Tumoren festgestellt werden. Es wird eine gemeinsame Publikation angestrebt.

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Der systematische Vergleich (automatisch versus manuell) von erkannten Gefäßstrukturen soll fortgeführt werden. Die Erkennung von Gefäßstrukturen in Immunfluoreszenz gefärbten Tumorgewebeschnitten soll publiziert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Rassamegevanon et al., 2018: Heterogeneity of γ H2AX Foci Increases in Ex Vivo Biopsies Relative to In Vivo Tumors. Int J Mol Sci. 2018 Sep 4;19(9). pii: E2616. doi: 10.3390/ijms19092616

1. Deutscher Krebsforschungskongress (DKFK), Heidelberg, Deutschland, 04 – 05 Februar 2019

Rassamegevanon et al., Poster, Prediction of tumor radiation sensitivity - translation and optimization of γ H2AX foci assay for clinical use

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 035D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 461.008,00 EUR	Projektleiter: Dr. Gomolka	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis spezifischer DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit bzw. das individuelle Strahlenrisiko zu etablieren. Dementsprechend sollen in zusammenhängenden Untersuchungen die wissenschaftlichen und technischen Voraussetzungen für die klinische Anwendung von RF geschaffen werden.

Der Projektteil D ist Teilprojekt eines Verbundes bestehend aus 8 Arbeitspaketen, welcher von der Universität des Saarlandes koordiniert wird und von Projektpartnern aus Wissenschaft und Industrie in München (BfS), Homburg/Saar (Uni Saarland), Hamburg (Uni Hamburg) und Dresden (Uni Dresden, Firma Medipan) bearbeitet wird:

- AP1: RF als Marker einer chronischen Strahlenexposition
- AP2: Akkumulation von RF bei Niedrigdosis-Bestrahlung
- AP3: RF als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit
- AP4: Akkumulation von RF in der Strahlentherapie
- AP5: RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit
- AP6: RF als Marker einer genomischen Instabilität
- AP7: Automatisierung der RF-Detektion
- AP8: Qualitätsmanagement

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer chronischen Strahlenexposition

Es ist zu klären, ob eine chronische Strahlenexposition zu einer Akkumulation von spezifischen RF führt und außerdem die Induktion von DSB und deren Reparatur verändert. Als Untersuchungskollektiv stehen kryokonservierte Lymphozytenproben von nach Alter und Rauchen angeglichenen 300 hoch (Working Level Month > 300) und 100 niedrig (WLM < 50) exponierten Bergarbeitern zur Verfügung. In einem Teilkollektiv dieser Biobank wird die Strahlenexposition durch chromosomale mFISH-Analyse von 75 repräsentativen Probanden verifiziert. Hierbei werden chromosomale Aberrationen wie Translokationen und dizentrische Chromosomen untersucht. Im gleichen Teilkollektiv werden verschiedene RF analysiert, wie z. B. gammaH2AX, ATM, 53BP1.

- Versuch 1 (V1.1): Akkumulation von RF
Nachweis von verschiedenen RF in einem Kollektiv von 75 gut charakterisierten hoch und niedrig exponierten Bergarbeitern
- Versuch 2 (V1.2): Adaption nach chronischer Exposition
Auswirkung der chronischen Strahlenexposition auf die Zahl der durch In-vitro-Bestrahlung erzeugten Schäden und deren Reparatur
- Versuch 3 (V1.3): Validierung der In-vivo-Strahlenexposition mittels mFISH, Vergleich mit RF-Daten.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

V1.1: Der Nachweis von verschiedenen RF mittels Immunfluoreszenz in hoch und niedrig exponierten Uran-Bergarbeitern erfordert eine Methodenetablierung. Dazu konnten die Proteine: γ H2AX, 53BP1, MDC1, pATM, pKAP1, DNA-PK und Rap80 in kryokonservierten G0-Lymphozyten nachgewiesen werden. Diese Proteine sind an der Signalisierung von DNA-Doppelstrangbrüchen und der Reparatur mittels nicht-homologer Reparatur beteiligt. Die Dosis-Effektkurven (0 Gy, 0,05 Gy, 0,1 Gy, 0,25 Gy, 0,5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, 8 Gy) und Reparaturkinetiken (1 h, 4 h, 8 h, 24 h) wurden aus mindestens 4-fachen biologischen Replikaten an einer Cäsium-Quelle erstellt. Die Etablierung erfolgte in Einzelfärbung vom jeweiligen Protein mit automatischer Foci-Detektion und Auswertung mittels Fluoreszenzmikroskopie. Daraus ergeben sich folgende Beobachtungen: Die Bildung von Foci ist für alle untersuchten Protein Dosis-abhängig und die Detektionsgrenze variiert zwischen 0,05 Gy und 0,25 Gy. Die meisten Proteine erreichen üblicherweise ihr Foci-Maximum 1 h nach der Bestrahlung. Im Gegensatz dazu zeigt 53BP1 bei 8 Gy nach 1 h bis 4 h das Foci-Maximum und MDC1 zeigt bei >1 Gy eine Verschiebung des Foci-Maximums. Die Qualität der Foci unterscheidet sich ebenfalls: γ H2AX, 53BP1, MDC1 und Rap 80 bilden große, klare und helle Foci, pATM und DNA-PK bilden filigrane und kleine Foci aus, pKAP1 zeigt ein diffuses Signal. Die Bildung von Foci ist in den biologischen Replikaten von γ H2AX, 53BP1 und pKAP1 relativ stabil. Bei den biologischen Replikaten von MDC1, pATM, Rap80 und DNA-PK treten größere interexperimentelle Schwankungen auf. Zusätzlich zeigen einige Proteine bereits in unbestrahlten Proben diffuse Signale, wodurch eine automatische Auswertung deutlich von der manuellen Auswertung abweicht. In einigen Fällen sind bereits deutliche Foci in unbestrahlten Proben zu beobachten, wodurch die Detektionsgrenze erhöht wird. Generell zeigt die Zellkultur 24 h nach der Bestrahlung viele deformierte Zellen. Im Berichtszeitraum wurden die Rohdateien der einzelnen Versuche in Hinblick auf die Qualität der Färbung und der Zellkultur genauer evaluiert und exemplarisch Foci mit dem Auge ausgezählt.

Durch den Wechsel der Strahlenqualität von Cäsium-137 auf Röntgenstrahlung wurden die gewonnen Ergebnisse aus den Dosis-Effektkurven überprüft. Dabei konnte gezeigt werden, dass bei gleicher Dosis aber anderer Strahlenqualität ähnliche Ergebnisse für die einzelnen Proteine erzielt werden konnten. Die Ergebnisse der gewonnenen Daten aus einer Bestrahlung mit Cäsium-137 sind somit auf Röntgenstrahlung übertragbar. Des Weiteren wurde eine Doppelfärbung von zwei Proteinen in einem Präparat etabliert. Dazu wurden die Kombinationen 53BP1 mit MDC1, γ H2AX mit pKAP1, γ H2AX mit 53BP1 und γ H2AX mit MDC1 etabliert.

Aktuell werden die alle gewonnen Daten statistisch ausgewertet. Im weiteren Verlauf werden für die Untersuchung der exponierten Uranbergarbeiter γ H2AX mit pKAP1 und 53BP1 mit MDC1 in einer Doppelfärbung verwendet. Die Untersuchung der Uranbergarbeiter hat begonnen.

V1.2: Die Aussagekraft zur Strahlenempfindlichkeit des RF Assays und der mFISH Analyse wurde an Lymphozyten von strahlenempfindlichen Kindern (AT-Patienten) im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe überprüft. Die mFISH-Auswertung wurde abgeschlossen. Die Analyse der Reparaturfoci von γ H2AX wurde experimentell ebenfalls abgeschlossen. Die erhaltenen Daten werden derzeit statistisch evaluiert.

V1.3: Mit der mFISH Untersuchung von kryokonservierten Lymphozyten von Wismut-Bergarbeitern wurde begonnen. Die mFISH-Analyse der Chromosomen von 4 niedrig exponierten Kontrollen und 29 kumulativ hoch exponierten Wismutbergarbeitern wurde begonnen. Derzeit befinden sich alle 33 Probanden in Auswertung.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Bucher M., Rößler U., Pätzold J., Werner J., Kulka U., Meese E., Rube C. E., Hornhardt S., Gomolka M.: Systematic screening of radiation induced foci formation and automatic foci scoring of DNA damage response proteins. 21. Tagung der Gesellschaft für biologische Strahlenforschung. 16.-18.09.2019, Frankfurt am Main

Bucher M., Magold T., Endesfelder D., Gomolka M., Hornhardt S., Kulka U., Rößler U.: Limits and possibilities of the automated detection and scoring of γ H2AX foci. 21. Tagung der Gesellschaft für biologische Strahlenforschung. 16.-18.09.2019, Frankfurt am Main

Zuwendungsempfänger: Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz		Förderkennzeichen: 02 NUK 035E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 723.729,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Roggenbuck	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist die automatisierte Erkennung und Auswertung von DNA-Reparaturfoci (RF) zur Bearbeitung großer Probenmengen mittels des AKLIDES® Nuk-Systems. Dies beinhaltet die Entwicklung und Testung von Software sowie die Beschleunigung des Analyseablaufs im Vergleich zur manuellen Auswertung. Schwerpunkt ist die Analyse von DNA-Doppelstrangbrüchen in Lymphozyten mittels gammaH2AX. Gemeinsam mit dem Partner BfS (AP1) geht es um Vergleichsuntersuchungen von Proben nach low-dose Strahlenbelastungen bei Bergarbeitern. Der Partner UKE (AP3+AP6) wird in seinen Vorhaben untersuchen, welche Marker zur Erkennung der individuellen Strahlenempfindlichkeit besonders geeignet sind. Die Marker mit dem größten Potenzial sollen bevorzugt in die Software des AKLIDES® Nuk-Systems implementiert werden. In Zusammenarbeit mit dem Partner OncoRay (AP5) soll die Automatisierung des Nachweises von RF im Tumorgewebe etabliert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP7.1: - Analyse von Blutlymphozyten charakterisierter Spender für die Testung von: Reproduzierbarkeit, Stabilität, Sensitivität, Spezifität für den Nachweis von RF
 - Bestimmung der optimalen Ausgabeparameter
 - Validierung durch Lymphozytenarray und Proben chronisch exponierter Bergarbeiter (AP1)
- AP7.2: - Automatisierung des Nachweises verschiedener RF für Tumorlinien (AP6)
 - Anwendung bei individueller Strahlenempfindlichkeit und genomischer Instabilität
- AP7.3: - Automatisierung des RF Nachweises für Tumorgewebeschnitte (AP5) und für Tumorarray (AP6)
 - Implementierung und Testung verschiedener Ausgabeparameter

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Durch einen stetigen Austausch mit dem Partner OncoRay wurden noch kleinere Nachbesserungen im Algorithmus vorgenommen und das Benutzerinterface angepasst.

Der Prototyp für den Deckel des Probenstisches wurde erstellt und die neu konstruierte LED Matrix wurde in die Auswertesoftware mit aufgenommen. Durch die Software können die LEDs angesteuert und somit das erhaltene Bild optimiert werden.

Für die automatische Überlagerung der Hellfeld- und Fluoreszenzaufnahme wurden weitere Konzepte erarbeitet, mit denen letztendlich eine Erkennung und Separierung der einzelnen Zellen möglich ist. Diese werden in einer kostenneutralen Laufzeitverlängerung durchgeführt und auf ihre Tauglichkeit geprüft.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es werden unterschiedliche Methoden für die Überlagerung der Hellfeld- und Fluoreszenzaufnahmen erarbeitet und auf Genauigkeit, Zeitintensität und Reproduzierbarkeit untersucht. Dabei besteht die Möglichkeit der Triangulierung des gesamten Bildes um schneller einen identischen Bereich zwischen den Bildern zu finden, oder die Verwendung eines Referenzmaterials/ -musters zur Erstorientierung bzw. als Nullpunkt in einem Koordinatensystem. Die daraus ergebende bestmögliche Methode wird anschließend implementiert und im Komplettsystem getestet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036AX
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.251.694,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Boukamp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

UVA, -B, sichtbares Licht (VIS) und Infrarot (IR) haben jeweils ein unterschiedliches biologisches Wirk- und Schädigungsprofil. Für das Verständnis der schädlichen Wirkung für den Menschen und einer daraus resultierenden relevanten Risikoabschätzung ist es essentiell, die kombinierte Aktion von UV- bis IR-Strahlung in ihrer biologischen Wirksamkeit in Modellsystemen der Haut zu untersuchen. Durch die Analyse unterschiedlicher Parameter in 2D- und Gewebe-relevanten 3D organotypischen Kulturen (OTK) sowie in vivo in der Mauhaut wollen wir die Wirkmechanismen kombinierter Strahlung auf zellulärer und (epi)genetischer Ebene aufklären.

Dafür wird eine kombinierte und bezüglich UVA und -B Strahlenintensität variable Strahlenquelle für alle AGs entwickelt. Die Forschungsschwerpunkte der Verbundpartner sind: Gewebe- und Telomerlängenregulation (AG1), epigenetische Kontrolle zellulärer Funktionen auf DNA- bzw. Histon-Ebene (AG2), IR-Signaling, Mitochondrienintegrität und AhR-Signaling (AG3), DNA Reparatur und Damage Signaling (AG4). Die enge Zusammenarbeit der interdisziplinär aufgestellten AGs schafft Synergieeffekte, die neben der wissenschaftlichen Diskussion den Austausch von Methoden und Materialien, gemeinsame Publikationen sowie die Ausbildung von Nachwuchswissenschaftlern betreffen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Teilprojekt A werden folgende Arbeitspakete bearbeitet:

- 2.1) Führt chronische Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR zur tumorigenen Transformation der HaCaT Zellen? • genetisches Profil/Tumorbildung/Invasion
- 2.2) Welche Rolle spielt die Gewebeorganisation für das Schadensprofil durch eine Kombinationsbestrahlung? • Störungen von Gewebsorganisation und Differenzierung/Proliferation und Apoptose/Induktion einer Schadenskaskade/Telomer-längenregulation in Epidermis und Dermis.
- 2.3) Welche Rolle spielen Alters-abhängige Veränderungen in der dermalen Matrix auf das epidermale Schadensprofil nach Kombinationsbestrahlung? • AGE-OTKs: Keratinozyten mit gealterten Fibroblasten/HaCaT Zellen mit gealterten Fibroblasten (Invasion)
- 2.4) Welche Rolle spielen off Target Effekte der Immunsuppressiva für die Entstehung von UV-induzierten Hautcarcinomen? • Langzeitbehandlung (10 Wochen) von HaCaT Zellen mit Cyclosporin A/Einfluss von auf die Epithel-Mesenchym Interaktion (RNA Expressionsanalyse)/Einfluss von Cyclosporin A plus Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zu 2.2) • Telomerlängen Analyse nach chronischer Bestrahlung (3x/W//4W) mit UVA versus UVA+B:

1. UVA (2, 4, 6 und 8 J/cm²): leichte Signalintensitätszunahme in der Epidermis der NHEK OTKs, während es in HaCaT OTKs bei den hohen Dosen zu einer 70 %igen Signalintensitätsreduktion im Epithel kam. In den dermalen Fibroblasten gab es keine signifikanten Veränderungen. 2. UVA+B: in NHEK OTKs gab es keine Regulation in der Epidermis, während es in den HaCaT Epithelien zu einen Telomersignal Intensitätsverlust von ~45 % kam. In der Dermis lag in beiden Fällen eher ein leichter Zugewinn vor. D. h. der Telomereffekt „in vivo“ ist abhängig von der Bestrahlungsart und der Targetzelle.

• *Bestrahlungsexperiment mit der KAUVIR Lampe:*

1. In den Wiederholungsexperimenten zur akuten Bestrahlung mit KAUVIR (1MED, 0,78 kJ/m² UVB) und UVA+B (1MED) von NHEK OTKs wurden trotz verringerter Proliferation (Ki67) in den UVA+B bestrahlten Kulturen keine Unterschiede in der epidermalen Stratifizierung gesehen. 2. Die Wiederholungsexperimente mit den HaSKpw Zellen fielen einer großflächigen Kontamination zum Opfer.

Zu 2.3) • Age-OTKs: 1. Wiederholungsexperimente mit UVA+B versus KAUVIR von „jungen“ und „alten“ Age OTKs mit Fibroblasten unterschiedlich alter Spender (Ausschluss Zell-spezifischer Phänotypen) wurden durchgeführt, mussten aber wegen Kontamination und zusätzlich Gebäude-bedingten Stromausfalls verworfen werden. 2. Im Validierungsexperiment zum positiven Einfluss von KAUVIR auf die Geweberegulation in den „alten“ Age OTKs kam es erneut zu verbesserter epidermaler Morphogenese, verbesserter epidermaler Differenzierung und Verbesserung der Basalmembran. Auch die Dermis erschien strukturierter mit einer deutlichen Verminderung der Myofibroblastenzahl in den „alten“ OTKs. D. h. der positive Einfluss von chronischer Bestrahlung (0.65 MED 3x/Woche für 2 Wochen) mit dem KAUVIR Gesamtspektrum auf OTKs mit „alten“ Fibroblasten konnte bestätigt werden.

Zu 2.4) • Rolle von CsA: 1. Zur Verifizierung der Relevanz des veränderten mTOR Pathways durch CsA wurde der AKT Inhibitor Trecitabine eingesetzt. Wiederholte Ansätze zur Konzentrationsbestimmung mit HaCaT Zellen in konventioneller Kultur zeigten, (Westernblot – Verringerung von phospho-Akt), dass ab 1 µM bereits TCN Wirkung nachweisbar war, und die Toxizitätsgrenze bei 20 µM lag. 2. In den OTK Versuchen mit HaCaT Zellen und NHEK (Ansätze s. u.) in denen 1 µM TCN für 2 Wochen verabreicht wurde, erwies sich 1 µM TCN als zu toxisch. Die Epithelien waren komplett ausdifferenziert und die Fibroblasten fast vollständig eliminiert. Da alle Ansätze ohne TCN vital waren, konnte der Phänotyp eindeutig dem TCN zugeordnet werden. 2. In dem 4ten OTK Ansatz wurde mit folgendem Protokoll: Ansatz der dermalen Äquivalente, 1 Woche Kokultur mit HaCaT Zellen, dann Behandlung der Kulturen mit CsA und Bestrahlung, Zugabe von TCN nach 10 Tagen Kokultur (0,1 µM) für 10 Tage, die verschiedenen Behandlungsschemata durchgeführt: 1. Kontrolle (ohne Behandlung), 2. CsA (10 µg/ml), 3. TCN – 0.1 µM, 4. CsA + TCN sowie + Bestrahlung: 5. KAUVIR (UVB: 0.1 kJ/m²; UVA: 5,4 kJ/m², VIS: 11 kJ/m², IRA: 26.5 kJ/m² entspricht 0.65 MED), 6. CsA + KAUVIR, 7. TCN + KAUVIR, 8. CsA + TCN + KAUVIR. Dieser Versuch konnte erfolgreich abgeschlossen werden (Histologie) und zeigte, dass 0.1 µM TCN ausreicht, um „in vivo“ die Phosphorylierung von AKT deutlich zu reduzieren (Westernblot).

4. Geplante Weiterarbeiten

Zu 2.2) • Wiederholungsexperimente zur akuten Bestrahlung von NHEK und HaSKpw OTKs sowie chronischen Bestrahlung von HaSKpw Zellen

Zu 2.3) • Molekulare Auswertung (Proliferation/Schadensinduktion/Matrixmodulation) der bestehenden und Wiederholungsexperimenten (UVA+B/KAUVIR Gesamtspektrum) mit alten und jungen Fibroblasten

Zu 2.4) • Weitere molekulare Analysen der Behandlungsexperimente zur Relevanz des veränderten mTOR Pathways in der Regulation von CsA-induzierter Invasion in den HaCaT OTKs

5. Berichte, Veröffentlichungen

Juli 2018: Research Symposium Honoring the Scientific Achievements of Petra Boukamp: Molecular Determinants of Skin Carcinogenesis und Vortrag

September 2018: EACR Conference: Goodbye Flat Biology: Advancing 3D-based Models for Cancer Biology and Drug Discovery, Boukamp: Poster, Pavez Lorie: Kurzvortrag

September 2018: 28. Deutscher Hautkrebskongress: Workshop: Experimentelle Dermato-Onkologie und Translationale Forschung, Sitzungsleitung

Oktober 2018: FONA Maßnahmen: Strahlenforschung: UV ist nicht alles

Zuwendungsempfänger: Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade		Förderkennzeichen: 02 NUK 036B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.295.176,00 EUR	Projektleiter: Dr. Greinert	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Zusammenhang der biologischen Wirkungen der einzelnen spektralen Komponenten im solaren Spektrum ist komplex und im Einzelnen nicht verstanden. Durch den Einsatz der Kombinationsstrahlung soll besser verstanden werden, wo Unterschiede zur Einzelbestrahlung auftreten und Erkenntnisse gewonnen werden, wie sich solare Strahlung in ihren biologischen Effekten von eher „artificialer“ Einzelbestrahlung unterscheiden kann. Ziel der Arbeiten ist es, die Bedeutung von zellulären Antworten und Reparaturprozessen für die Hautkrebsentstehung nach Induktion von UV-Schäden durch Kombinationsstrahlung (UV-VIS-IR) im Detail zu erforschen. Dazu ist es notwendig, (i) die Schadeninduktion und im besonderen Maße die nachfolgende DNA-Reparatur nach Kombinationsstrahlung im Vergleich zu anderen UV-Strahlenqualitäten (UVA und UVB) zu untersuchen; (ii) unterschiedliche Expositionsmuster (chronisch vs. akut) miteinander zu vergleichen; (iii) UV-VIS-IR-induzierte epigenetische Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial zu charakterisieren; (iv) molekulare und zelluläre Antwort mittels Ausschalten oder Aktivierung von Schlüsselfaktoren zu beeinflussen. Es ist das Ziel, bei den Punkten (i) – (iv) insbesondere den Einfluss von microRNAs und epigenetischen Faktoren (DNA-Methylierung, Histon-Methylierung) zu bestimmen. In Kooperation mit AG1 (Heidelberg) werden Zellkulturproben (humane Keratinozytenzelllinie) und OTKs (organotypische Kultur) untersucht, die mit einer chronischen oder akuten Kombinationsbestrahlung behandelt sind. In Kooperation mit AG3 (Düsseldorf) werden Schadeninduktion und Reparatur der in vivo mit UV-VIS-IR bestrahlten Mausproben untersucht. Die Messungen zu Reparaturkinetiken und Histonmodifikationen werden eng mit AG4 (Darmstadt) koordiniert.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Untersuchung der epigenetischen Veränderungen (z. B. globale DNA-Methylierung, Promotor-Methylierung oder Histonmodifikationen) und der Expressionsänderungen von microRNAs nach chronischer oder akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.
- AP2: Charakterisierung der epigenetischen Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial.
- AP3: Untersuchung welche Faktoren und Mediatoren nach UV-VIS-IR auftretende epigenetische Modifikationen bewirken.
- AP4: Messung von Reparaturkinetiken nach Kombinationsbestrahlung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspaket 1: Untersuchung der epigenetischen Veränderungen und der Expressionsänderungen von microRNAs nach Bestrahlung mit einer akuten UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

Ergebnisse: HaCaT Zellen wurden mit UVA, UVB, UVA+UVB, VIS+IRA oder mit dem gesamten Spektrum (UVA+UVB+VIS+IRA) akut bestrahlt und nach 6 h bzw. 24 h Regenerationszeit auf strahlungsbedingte epigenetische Veränderungen untersucht. Die Bestrahlungsdosen betragen hierbei UVB: 0,465 kJ/m², UVA: 29,32 kJ/m², VIS: 78,84 kJ/m² und IRA: 259,8 kJ/m². Zunächst wurde die Transkription von 8 cSCC-relevanten miRs (let-7f-5p, miR-16-5p, miR-21-5p, miR-31-5p, miR-34a-5p, miR-155-5p, miR-203a-3p und miR-205-5p) mittels qPCR bestimmt. In den unbestrahlten Zellen zeigten die miRs unterschiedliches Grund-Transkriptionsniveau, wobei die miR-205, miR-16 und let-7f am stärksten und die miR-155 am geringsten transkribiert wurden. Nach einer akuten Bestrahlung konnte bei keiner der Strahlungsarten eine drastische Veränderung der miRNA Expression festgestellt werden. Eine schwächere, jedoch signifikante Transkriptionseränderung konnte lediglich bei miR-31 und zwar 6 h nach VIS+IRA festgestellt werden. Die Veränderungen von einigen anderer Proben erreichten zwar den Grenzwert von 1,5fach, diese waren aufgrund der hohen Schwankungen jedoch nicht signifikant. Dies war hauptsächlich bei den UVB bestrahlten Proben nach 6 h Regenerationszeit der Fall (miR-16, miR-21, miR-155 und miR-203a). Damit deuten die Resultate darauf hin, dass die eingesetzten einmaligen akuten Bestrahlungen nicht in der Lage sind, die miR Transkription stark zu beeinflussen. Wie geplant, wurde daraufhin ein Versuchsansatz mit chronischer Bestrahlung gestartet. Außerdem wurde die Transkriptionsanalyse für die folgenden Versuche auf weitere 40 miRs erweitert und soll mittels Fireplex Technologie im Durchflusszytometer durchgeführt werden. Neben der microRNA-Transkription wurde auch die Änderung der Promotermethylierung von miR-31 und miR-205 nach Bestrahlung untersucht. Dabei zeigte sich ein stabiles Methylierungsmuster bei den beiden miRs, welches unabhängig von den Strahlungsbedingungen unverändert blieb. Auch die globale DNA-Methylierung der akut bestrahlten Proben wich nicht von der unbestrahlten Kontrolle ab.

Arbeitspaket 4: Bestimmung der Reparaturkinetik in HaCaT Zellen nach der akuten Kombinationsbestrahlung. Ergebnisse: Viele Faktoren z. B. die Schadenmenge und die Strahlenqualität können den Reparaturprozess (z. B. Reparaturkinetik) der UV-induzierten CPD-Schäden beeinflussen. Um eine mögliche Beeinflussung durch die einzelnen Spektren der Sonnenstrahlung z. B. UVA, VIS und IRA auf die Reparatur von UVB-induzierten CPDs zu untersuchen, wurde die Reparaturkinetik nach UVB allein, UVA+UVB und UVA+UVB+VIS+IRA in HaCaT bestimmt (gleiche Bestrahlungsdosen wie in AP3). Alle Strahlungsprotokolle induzierten die gleiche Menge an Schäden, die nach 7 Tagen weitgehend repariert waren. Die Reparaturzeitkonstante beträgt nach Bestrahlung mit UVB allein 41,70 h. Eine deutlich langsamere Reparatur mit einer Zeitkonstante von 47,60 h wurde für die Bestrahlung mit UVA+UVB festgestellt. Im Gegensatz dazu wurde eine schnellere Reparatur (Reparaturzeitkonstante = 35,20 h) nach Bestrahlung mit UVA+UVB+VIS+IRA detektiert. Im Einklang dazu konnte eine Beschleunigung der Reparatur durch IRA bei AG Rapp (Darmstadt) festgestellt werden. Nun soll untersucht werden, ob der IRA-Effekt dosisabhängig ist und welche Mechanismen (z. B. Expression von Reparaturgenen, Chromatinstruktur) dahinterstehen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Untersuchung der epigenetischen Veränderungen und der Expressionsänderungen von microRNAs nach Bestrahlung mit einer chronischen UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

AP4: Bedeutung von IRA bei der Reparatur von UVB induzierten CPD-Schäden in HaCaT Zellen nach der akuten Kombinationsbestrahlung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 822.834,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krutmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das solare Spektrum der Sonne wird im Allgemeinen in drei unterschiedliche spektrale Komponenten unterteilt: Die ultraviolette Strahlung (UV), das sichtbare Licht (VIS) und die Infrarotstrahlung (IR). Das Wirk- und Schädigungsprofil jeder einzelnen Strahlungskomponente ist allerdings sehr unterschiedlich. Um eine relevante und aussagekräftige Risikoabschätzung treffen zu können sind Studien, die die kombinierte Aktion von UV- bis IR-Strahlung in ihrer biologischen Wirksamkeit untersuchen, unerlässlich. Durch die Analyse unterschiedlicher Parameter in 2D- wie auch in speziellen, Gewebe-relevanten 3D-organotypischen Kulturen (OTKs) zur Identifizierung und Langzeitregeneration der epidermalen Stammzellen und der in vivo Maushaut soll es ermöglicht werden, die Wirkmechanismen kombinierter Strahlung auf zellulärer und (epi)genetischer Ebene aufzuklären.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Führt die Kombinationsbestrahlung in primären dermalen Fibroblasten zu einer Beeinflussung der mitochondrialen Integrität und der Funktion des Proteasoms?
- AP2: Führt die Kombinationsbestrahlung in primären humanen Keratinozyten zur Aktivierung des Arylhydrocarbonrezeptor (AhR) Signalwegs?
- AP3: Führt die akute Kombinationsbestrahlung in vivo zu gleichen Ergebnissen?
- AP4: Welche Konsequenz hat chronische Kombinationsbestrahlung in vivo?
- AP5: Führt IRA bzw. Kombinationsbestrahlung zur Immunsuppression?

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspaket 1, 2: Wirkung der Kombinationsbestrahlung auf dermale und epidermale Hautzellen.

Ergebnisse: Unsere bisherigen Befunde zeigen, dass i) die Apoptoserate nach simultaner Bestrahlung (UVB+UVA, UVB+UVA+IRA, UVB+UVA+VIS+IRA) im Vergleich zur UVB-Einzelbestrahlung signifikant geringer ist, ii) und dosisabhängig durch UVA-Strahlung vermittelt wird, (iii) dieser Effekt nicht durch VIS und IRA modifizierbar ist, und ihm eine UVA-induzierte Modulation des extrinsischen Apoptose Signalwegs auf Ebene der Zellmembran zu Grunde liegt. In diesem Berichtszeitraum konnte neu gezeigt werden, dass (iv) dieser Effekt sich nicht nur in HaCaT Keratinozyten, sondern auch in primären humanen Keratinozyten beobachten lässt. Darüber hinaus wurde mittels spezifischer Caspase-Inhibitoren und Substanzen, die gezielt die Struktur bzw. die Zusammensetzung der Zellmembran modifizieren, gezeigt, dass (v) die durch UVA-Strahlung vermittelte Modulation der UVB-induzierten extrinsischen Apoptose durch UVA-induzierte Veränderungen in der Lipid-Zusammensetzung der Zellmembran zu erklären ist. Dies führt zu einer verminderten Trimerisierung von Todesrezeptoren und somit zu einer reduzierten Aktivierung der Caspase-8 bzw. Caspase-3.

Arbeitspakete 3, 4 und 5:

Erste Bestrahlungsversuche (Untersuchung der akuten Stressantwort) wurden mit SKH1 Mäusen durchgeführt. Die Zuchtplanung für die Arbeitspakete 3, 4 und 5 ist abgeschlossen und mit dem Versuchstierhaus abgestimmt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1, 2:

Der nach Kombinationsbestrahlung auftretende modulierende Effekt von UVA-Strahlung auf die UVB-induzierte Apoptose soll in den nächsten Experimenten weiter charakterisiert, als auch in Fibroblasten untersucht werden. Hierfür wird das identische Bestrahlungsprotokoll nun auch für primäre Fibroblasten verwendet, um deren Stressantwort zu untersuchen.

Eine Analyse der UV-induzierten Photoprodukte (CPDs) in HaCaT Keratinozyten wird durchgeführt. Dabei werden die Zellen mit unterschiedlichen Dosen bestrahlt und die Proben zur Aufarbeitung bzw. Auswertung zum Elbe Klinikum nach Buxtehude geschickt. Der Versuch wird als interne Kontrolle repliziert. Die detektierten Photoprodukte werden zwecks Qualitätskontrolle und Übereinstimmung mit den anderen Bestrahlungseinheiten verglichen.

Arbeitspakete 3, 4 und 5:

Sobald ausreichend Versuchstiere zur Verfügung stehen und diese zweifelsfrei genotypisiert sind, wird mit der Langzeitstudie begonnen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Krutmann J., Sondenheimer K., Grether-Beck S., Haarmann-Stemmann T. (2018): Combined, Simultaneous Exposure to Radiation Within and Beyond the UV Spectrum: A Novel Approach to Better Understand Skin Damage by Natural Sunlight. In: Krutmann J., Merk H. (eds.) *Environment and Skin* (pp 11-16). Springer, Cham

Sondenheimer K and Krutmann J (2018): Novel Means for Photoprotection. *Front. Med.* 5:162

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 036D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.444.215,00 EUR	Projektleiter: Dr. Rapp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das solare Spektrum enthält unterschiedliche spektrale Komponenten: UVA, -B, sichtbares Licht und Infrarot, die jeweils ein unterschiedliches biologisches Wirk- und Schädigungsprofil aufweisen. Für das Verständnis der schädlichen Wirkung für den Menschen und für eine daraus resultierende relevante Risikoabschätzung ist es essentiell, die kombinierte Aktion von UV- bis IR-Strahlung in ihrer biologischen Wirksamkeit in Modellsystemen der Haut zu untersuchen. Durch die Analyse unterschiedlicher Parameter in 2D- wie auch in speziellen 3D-organotypischen Kulturen zur Identifizierung und Langzeitregeneration der epidermalen Stammzellen und der in vivo Maushaut soll es ermöglicht werden, die Wirkmechanismen kombinierter Strahlung auf zellulärer und (epi)-genetischer Ebene aufzuklären.

Teilprojekt D befasst sich mit folgenden Fragen: Realisierung und Validierung der Strahlungsquelle mit unterschiedlichen spektralen Anteilen. Charakterisierung des DNA Schadens der Kombinationsstrahlung im Vergleich zu den einzelnen Strahlqualitäten. Charakterisierung der DNA Reparaturkinetiken der Kombinationsbestrahlung im Vergleich zu den einzelnen. Differenzierte DNA Schadensprofile in Zellen die der Hautalterung unterlegen sind.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Für die Umsetzung wird eine kombinierte und bezüglich UVA und –B variable Strahlenquelle für alle AGs entwickelt. Die Forschungsschwerpunkte der Verbundpartner sind: Gewebe- und Telomerregulation (AG1); epigenetische Kontrolle zellulärer Funktionen auf DNA- bzw. Histon-Ebene (AG2); IR-Signaling/Mitochondrienintegrität und AhR-Signaling (AG3); DNA Reparatur und Damage Signaling (AG4); Die enge Zusammenarbeit der interdisziplinär aufgestellten AGs schafft Synergieeffekte, die neben der wissenschaftlichen Diskussion den Austausch von Methoden und Materialien, gemeinsame Publikationen sowie die Ausbildung von Nachwuchswissenschaftlern betreffen.

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

- Konstruktion, Charakterisierung und Validierung der Strahlungsquelle
Planung, Simulation und praktische Umsetzung der Konstruktion der Kombinationsstrahlenquelle inklusive Einkopplung in ein Mikroskop (MS1)
- Wellenlängenabhängigkeit der DNA Schadensantwort
Charakterisierung der Schadensantwort im Lebendzellsystem bei Kombinations- und Einzel-Bestrahlung (MS2+3)
- DNA Schadensprofile der Kombinationsbestrahlung
Messung der DNA Schadensprofile nach isolierter und kombinierter Exposition (MS4)

- DNA Schadensantwort und Zellalterung
Vergleichende Charakterisierung der DNA Reparatur in gealterten, Chondrozyten-ähnlichen Fibroblasten und nicht gealterten Fibroblasten, unter Verwendung der Lebendzellmikroskopie (MS5).

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde die geplante physikalische Ring-Kalibrierung aller Lampen des Konsortiums durchgeführt. Es wurde ein transportables, kalibriertes Leihgerät der Firma JETI Technische Instrumente GmbH verwendet. Dabei wurde festgestellt, dass die Lampen nur geringe bauartbedingte Schwankungen aufweisen und der größte Teil der abweichenden Messwerte auf die verbauten internen Kontroll-Spektrometer zurückzuführen ist, deren Kalibrierung durch Transport und Einbau variiert. Diese Ergebnisse wurden an alle Projektpartner weitergeleitet und die Rekalibrierung der verbauten Spektrometer in den Systemen verankert. Die biologische Ringvalidierung wurde erarbeitet und den Partner mitgeteilt und begonnen. Hierfür werden definierte UVB und Gesamt-Spektrum-Dosen verwendet und die Zellen identisch behandelt. Zentral ausgewertet werden diese mittels Durchflusszytometrie nach anti-CPD Färbung in der AG Buxtehude.

Für die Schadenscharakterisierung wurde die CPD Induktion durch UVB und dessen Modulation durch IR-Ko-Exposition weiter untersucht. Der modulierende Effekt der IR Strahlung auf die UVB induzierten CPDs wurde mittels alternativer Methoden in Buxtehude und in Darmstadt bestätigt. Darüber hinaus wurden weitere Dosisabhängigkeiten untersucht. So wurde zum einen die Gesamtexposition, wie auch das Verhältnis von UVB zu IR (konstante UVB Dosis bei simultaner Dosisabhängigkeit von IR) untersucht. Dabei zeigte sich, dass der IR Effekt ebenfalls Dosisabhängig ist und es eventuell einen unteren Schwellwert für die Modulation der CPD Reparatur gibt. Des Weiteren wurde der Effekt von IR ebenfalls dosisabhängig auf die Induktion und Persistenz von 6-4-Photoprodukten untersucht. Diese Messungen werden momentan komplettiert. Einen besonderen Einfluss der IR-Ko-Exposition scheint es auf die Bildung der sogenannten „dark-CPDs“ zu geben. Diese sind bei Ko-Exposition nicht nachweisbar, wohingegen sie bei alleiniger UVB Exposition mit allen verwendeten Methoden zu frühen Zeitpunkten detektierbar sind.

Darüber hinaus wurde der modulierende Effekt von IR-Ko-Exposition auf die Reparatur von UVA induzierten Schäden im Rahmen einer Bachelorarbeit untersucht. Hierfür wurden DNA Schadensprofile über einen Zeitraum von 48 h in den beiden Zelltypen (HaCaT und HaSKpw) analysiert. Dafür kamen sowohl enzym-modifizierte Comet-Assay-Analysen als auch immunologische Detektion von DNA Schäden auf Membranen (Slot-Blot) zum Einsatz. Komplettiert wurden beide Untersuchungen durch dosis- und kombinations-spezifische Koloniebildungsassays, bei denen der modulierende Effekt der IR-Ko-Exposition ebenfalls nachweisbar war.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Schadensprofilmessungen werden weiterhin komplettiert um weitere dosis- und kombinationsabhängige Effekte nachzuweisen. Da diese Ergebnisse teilweise den Daten in der Literatur widersprechen und sehr relevant sind, müssen die Befunde möglichst durch weitere Methoden validiert werden. Darüber hinaus beginnen Untersuchungen zur Kausalität des IR-modulierenden Effekts. Hierbei werden spezifische DNA-Reparatur Inhibitoren als auch chemische Modulation der Chromatinstruktur eingesetzt, um die Wirkung der IR-Koexposition weiter einzuengen. Des Weiteren werden die Experimente zu Effekten der unterschiedlichen Wellenlängenbereiche auf die Zellphysiologie, Mobilität und Adhäsion weiter untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Arras, Paul: Auswirkung kombinierter UV-A und Infrarot-Bestrahlung auf DNA-Schäden und DNA-Reparatur. Bachelor Arbeit

Stricker, N.C., Plitta-Michalak, B.P. and Rapp, A.: Effect of combined UV-VIS-near Infrared Irradiation on human skin keratinocytes. GBS Jahrestagung 2018

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 037A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 992.585,00 EUR	Projektleiter: Dr. Jakob	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem hier vorgestellten Projekt soll der Einfluss der Organisation des Chromatins in Säugerzellen auf die Strahlenantwort und Reparatur der erzeugten Schäden untersucht werden. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei in dem Wechselspiel von Chromatinstruktur und Schadenskomplexität, wie sie bei Verwendung dichtungisierender Teilchenstrahlung auftritt. In Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Prof. Dr. M. Löbrich (TU Darmstadt) und Prof. Dr. G. Iliakis (Universität Duisburg-Essen) werden dazu verschiedene Schwerpunkte bearbeitet und die übergeordnete Fragestellung aus unterschiedlichen Blickwinkeln angegangen. Über das Ziel hinaus, wissenschaftliche Ergebnisse und Erkenntnisse zu gewinnen, soll wissenschaftlicher Nachwuchs ausgebildet werden, um so zum Kompetenzerhalt in der Strahlenforschung beizutragen. Dazu dient die Einstellung von Doktoranden und die Rekrutierung beziehungsweise Weiterbeschäftigung von talentierten Postdoktoranden, die neben der eigentlichen Forschungsarbeit durch die Vernetzung im Verbundprojekt sowie die regelmäßigen Seminare über strahlenbiologische und strahlenbiophysikalische Themen an die Strahlenforschung herangeführt bzw. die vorhandenen Kenntnisse vertieft werden.

Im Teilprojekt (AP1: Einfluss der Chromatinstruktur und strukturbildender Faktoren auf die frühen Ereignisse von Reparaturprozessen nach Bestrahlung) der GSI liegt der Schwerpunkt der Untersuchg. in der Wechselwirkung heterochromatischer und chromatinmodulierender Faktoren auf die Reparatur komplexer DNA Schäden nach Teilchenbestrahlung. Hierbei wird bes. der Einfluss der Komplexität auf die Auswahl des Reparaturweges untersucht, aber auch die räumliche Lage und gegebenenfalls Umorganisation der Schäden bezüglich des nukleären Heterochromatins im zeitlichen Verlauf der Schadensprozessierung und Reparatur mit einbezogen. Ein besseres Verständnis dieser zellulären Vorgänge und insbesondere die Rolle der Chromatinkompaktierung beziehungsweise der räumlichen Lage der DNA Schäden sollen bessere Vorhersagen und Risikoabschätzungen möglich machen. Strahlenbiologisch relevante molekularbiologische und mechanistische Erkenntnisse können dazu beitragen, die Strahlentherapie von Tumoren im Sinne kombinatorischer Therapieansätze weiterzuentwickeln.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1:

- Erfassung und Identifizierung strahlungsinduzierter Interaktionspartner strukturbildender heterochromatischer Faktoren.
- Bestimmung der Relevanz dieser Faktoren oder Interaktionen für die räumlich-zeitliche Organisation der DNA Reparatur und deren Ausgang.
- Optimierung und Erweiterung von Methoden/Techniken zur Beobachtung und Quantifizierung strahlungsabhängiger Chromatindekondensation.
- Geklärt werden soll auch die Größenverteilung der Schadensdomänen als Grundlage für die Weiterentwicklung des „Local Effect Models zur Übertragung experimenteller Daten aus Röntgenstrahlexperimenten auf die Effekte nach Teilchenbestrahlung“.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es konnte nun die Interaktion von CtIP mit RNF138 in G1 mittels Co-Immunopräzipitation gezeigt werden. Des Weiteren stellte sich heraus, dass es sich bei der Ubiquitinierung des Resektionsfaktors CtIP nicht um eine K63-

sondern eine K48-Ubiquitinierung handelt, die zum proteosomalen Abbau des Proteins führt. Lebendzellbeobachtungen bestätigten, dass die Rekrutierung von CtIP an DSBs in G1-Zellen RNF138-abhängig ist; in Wildtyp-Zellen wird CtIP an Laser-induzierte DNA-Doppelstrangbrüche rekrutiert, in RNF138-ko-Zellen nicht. Im Fall von Ku80 konnte bereits in früheren Experimenten gezeigt werden, dass Ku80 unabhängig von RNF138 ubiquitiniert wird. Es gibt indirekte Hinweise, dass Ku80 Ubiquitin-abhängig vom DNA-Schaden in G1-Zellen abgelöst wird, um Resektion zu erlauben; denn Inhibition der ATPase VCP/p97 führte zur Reduktion der Resektion von alpha-Teilchen induzierten DNA-Doppelstrangbrüchen. Ku80 wurde in der Literatur als ein Target von VCP/p97 beschrieben und wir konnten seine Interaktion mit Ku80 in G1-Zellen durch Co-Immunoprecipitation mit Ku80 zeigen.

Für die zuvor generierte HeLa.S-Fucci-RNF138-KO Zelllinie wurde das Überleben von G1-Zellen nach Röntgenbestrahlung im Vergleich zum Wildtyp gemessen; diese Daten dienen als Grundlage und zum Vergleich für spätere Überlebensexperimente von G1-Zellen nach Ionen-Bestrahlung. Wie erwartet konnte nach Dosen von 0,2 - 6 Gy Röntgenstrahlung keine erhöhte Strahlensensitivität der RNF138-defizienten Zellen im Vergleich zu Wildtyp-Zellen ausgemacht werden.

Zusammenfassend konnte somit weiter untermauert werden, dass RNF138 nach Induktion komplexer Schäden auch in G1 die Ubiquitinierung des Resektionsfaktors CtIP stimuliert.

Des Weiteren wurde die Aktivierung von Reparaturfaktoren in Abhängigkeit der Strahlenqualität über ihre strahleninduzierten Rekrutierungen mittels Lebenszellmikroskopie auf Basis von Kinetiken einzelner Reparaturzentren bzw. DSBs analysiert. Dabei ergaben sich interessante Anhaltspunkte für das zeitverzögerte Auftreten von einzelnen Doppelstrangbrüchen (DSB) nach Röntgen bzw. auch im locker ionisierenden Bereich von Ionenspuren. Individuell unterschiedliches Detektionsverhalten verschiedener DSBs einer Zelle ist höchstwahrscheinlich auch mit einer unterschiedlichen Bedeutung für die Reparatur und spätere zelluläre Endpunkte verknüpft.

Im Bereich hochaufgelöste Messung der Chromatinstruktur und deren strahlungsinduzierte Modulation konnte ein Verfahren mittels DNA abhängiger DAB-Polymerisation etabliert werden um spezifisch Chromatin für die Elektronenmikroskopie (EM) zu kontrastieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den anstehenden Strahlzeiten ist geplant, die Rekrutierung von RNF138 an Schwerionen-induzierten DNA-Schäden zellzyklusabhängig zu untersuchen. Zum anderen soll analysiert werden, ob das Ausschalten von RNF138 zu einem Reparaturdefekt Schwerionen-induzierter DSBs in Abhängigkeit vom Zellzyklus führt. Weiterhin soll ein möglicher Einfluss von RNF138 auf das Überleben von G1-Phase-Zellen mit Hilfe der HeLa.S-Fucci- sowie der zuvor generierten HeLa.S-Fucci-RNF138-KO-Zellen nach Ionen-Bestrahlung untersucht werden. Außerdem soll die Frage geklärt werden, ob Ku80 nach Induktion komplexer Schäden in G1 am Schaden verbleibt oder abgelöst wird. Die dazu notwendige Färbung von Ku80-Foci in der Immunfluoreszenz hat allerdings noch optimierungsbedarf. Deshalb soll dies alternativ auch durch Inhibition des Ku80-Bindungspartners DNA-PKcs zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung indirekt untersucht werden. Da frühere Experimente zeigten, dass RNF138 für die Ubiquitinierung von Ku80 nicht essentiell ist, soll nun untersucht werden, ob RNF8 in G1-Zellen für die Ubiquitinierung von Ku80 relevant ist. Dazu werden wir die Ubiquitinierung von Ku80 in Abhängigkeit von RNF8 bzw. RNF8 und RNF138 in G1-Zellen geeigneter Knockdown- bzw. Knockout-Zelllinien (HeLa.S-Fucci+RNF8 Knockdown und HeLa.S-Fucci RNF138 Knockout + RNF8 Knockdown) untersuchen.

Um der Hypothese nachzugehen, dass die verzögerten DSBs aufgrund biologischer Prozessierung „nicht-direkt-induzierten DSBs“ also z. B. dem vergesellschafteten Auftreten von Basenschäden und Einzelstrangbrüchen geschuldet sind, soll in den Lebendzellstudien der Einfluss der Basenexcisionsreparatur auf die verzögert detektierten DSB näher untersucht werden.

Verstärkt soll auch die Analyse strahlungsinduzierter Chromatinveränderungen mittels hochauflösender EM vorangetrieben werden. Spezielles Augenmerk liegt hierbei auf einer Abhängigkeit von der Strahlenqualität (LET).

5. Berichte, Veröffentlichungen

E. Abdollahi, G. Taucher-Scholz and B. Jakob: Application of fluorescence lifetime imaging microscopy of DNA binding dyes to assess radiation-induced chromatin compaction changes. *Intl. J. Mol. Sci.*, Aug 14;19(8)
 S. Timm, Y. Lorat, B. Jakob, G. Taucher-Scholz and C. E. Rube: Clustered DNA damage concentrated in particle trajectories causes persistent large-scale rearrangements in chromatin architecture. *Radiother Oncol.* 2018 Dec;129(3):600-610

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 037B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.08.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 752.328,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Seit vielen Jahren war die gängige Hypothese in der Strahlenbiologie, dass DSB Reparatur ausschließlich durch die Mechanismen des C-NHEJ und der HRR stattfindet. Allerdings zeigen neuere Arbeiten, die zu einem wesentlichen Anteil aus unserem Institut kommen, dass, bei Versagen des C-NHEJ, nicht HRR sondern eine alternative Form von NHEJ (alt-EJ) die Funktion von C-NHEJ übernimmt. In den letzten Jahren ist auch das Zusammenwirken von genomischer Architektur und Protein-Modifikation bei der DSB Reparatur in den Fokus geraten. Welcher Reparaturweg gewählt wird, scheint neben der Komplexität des Schadens, auch von der Chromatinstruktur im Schadensbereich bestimmt zu werden. Ziel des vorliegenden Projektes ist es den Einfluss der Chromatinstruktur auf die Funktion des alt-EJ zu untersuchen und zu testen inwiefern die starke Einschränkung dieses Reparaturweges, die in G0 Zellen beobachtet wird, auf die Kondensierung des Chromatins zurückzuführen ist.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Die Rolle der Kondensierung des Chromatins auf die Hemmung von B-NHEJ. DAPI-Färbung in Kombination mit quantitativer Bildanalyse wird für die Quantifizierung der Kondensierung des Chromatins eingesetzt.
- AP2: Der Einfluss von induzierten Änderungen der Chromatinstruktur durch hypotonische Behandlung auf den B-NHEJ in G0-Zellen.
- AP3: Die Zusammenhänge zwischen der Änderung der DNA Methylierung und der Chromatin Kondensierung einerseits und zwischen der Änderung der DNA Methylierung und B-NHEJ andererseits. Dafür wird die Behandlung mit 5-Aza-C und die damit assoziierten Änderungen der Chromatinstruktur durch DAPI Färbung erfasst und quantifiziert. Ziel ist es, unter optimierten Behandlungsbedingungen, die eine maximale Veränderung in der Chromatinstruktur verursachen, die B-NHEJ Aktivität zu quantifizieren. Die DNA Methylierung wird auch mittels Elisa bestimmt und durch Sequenzierung von Bisulfit modifizierter DNA in Gruppen von 3-6 CpGs verifiziert.
- AP4: Der Methylierungsstatus von G0 und G1 Zellen wird untereinander und mit Parametern, die die B-NHEJ Aktivität beeinflussen, verglichen.
- AP5: Der Einfluss von miRNAs, die die Expression von DNA Methyltransferase (DNMT1) regulieren, auf die Aktivität von B-NHEJ.
- AP6: Die Auswirkungen von Proteinen der HP1 Familie durch Überexpression bzw. Suppression mittels RNA-Interferenz auf die B-NHEJ Aktivität.
- AP7: Da Zellen mit Defekten in DNA-PKcs keine Hemmung von B-NHEJ in G0 zeigen, sollen die Wechselwirkungen von DANN-PK auf die Chromatinstruktur analysiert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es konnte gezeigt werden, dass die globale Änderung des Chromatins, induziert durch die Behandlung mit anisotonom Medium, reversibel ist sobald die Bedingungen zurückgesetzt werden. Die Auswirkungen auf die Bildung von Reparaturprotein-Foci lassen sich ebenfalls so umkehren. Diese Beobachtungen erklären die moderaten Effekte auf das Überleben der Zellen nach Bestrahlung trotz markanter Verschlechterungen der DSB-Reparaturwege, da das Protokoll für den Koloniebildungstest so angepasst werden musste, dass die Zellen nur transient mit hypotonem bzw. hypertonem Medium behandelt werden. Bei einem Vergleich zwischen den induzierten Effekten auf die DNA Schadenssignalübertragung und auf die DSB-Reparatur, konnten interessante Abweichungen entdeckt werden, die auf sehr interessante mechanistische Zusammenhänge hindeuten, und welche in weiterführenden Experimenten untersucht werden sollen.

In vorherigen Arbeiten wurde eine verbesserte Reparatur mittels alt-EJ in serum-deprivierten HCT116 Lig4^{-/-} Zellen nach Behandlung mit dem SUV39H1 Methyltransferase-Inhibitor Chaetocin festgestellt. Um diese Effekte weiter zu untersuchen wurde ein SUV39H1 Knockdown in MEF Lig4^{-/-} durchgeführt sowie SUV39H1-defiziente MEF Zellen in Kombination mit dem DNA-PK Inhibitor NU7441 verwendet. Nach Knockdown der Methyltransferase konnte eine geringfügige Verbesserung der alt-EJ Reparatureffizienz festgestellt werden. In den Zelllinien, die keine SUV39H1 mehr besitzen, wurde allerdings eine Verschlechterung nicht nur von alt-EJ sondern auch von cNHEJ nach Serumdeprivation ermittelt.

Die Rolle von DNA-PKcs auf alt-EJ wurde eingehend mit Hilfe einer Reihe von Phosphomutanten, speziell in der G0 Phase des Zellzyklus untersucht. Diese Mutanten haben Änderungen in Phosphorylierungsstellen, die entweder die Aktivität oder die Regulation/ strukturelle Konformation des Proteins beeinflussen. Sie sind deshalb besonders dafür geeignet, die Rolle dieser Kinase in der Abschaltung von alt-EJ in der G0 Phase zu untersuchen. Die Experimente konnten zeigen, dass die Kinaseaktivität für diese Funktion nicht benötigt wird. Auf der anderen Seite spielen Mutationen in Phosphorylierungsstellen, die sich im sogenannten ABCDE Cluster befinden und die Struktur des Proteins nach Bestrahlung regulieren, eine entscheidende Rolle. Wie diese Mutationen funktionell wirken, wird Gegenstand von zukünftigen Untersuchungen sein.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt ist abgeschlossen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 037C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.08.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 719.412,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Schwerpunkt des Projekts liegt auf der Untersuchung der Chromatindynamik während der Homologen Rekombination (HR) in der G2-Phase und der Mitose. Mit der Erforschung dieses wissenschaftlichen Feldes soll ein Beitrag zum besseren Verständnis zur Entstehung von Chromosomenaberrationen und chromosomalen Instabilitäten geleistet werden. Dies umfasst die Untersuchung von HR-assoziierten Vorgängen in der Mitose. Hierbei stellt sich die Frage, welche HR-Intermediate die Mitose durchlaufen und welches Schicksal die Zellen im darauffolgenden Zellzyklus erfahren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Bisherige Vorarbeiten haben gezeigt, dass Chromatinremodellierer, wie zum Beispiel ATRX und Rad54, Funktionen bei der Homologen Rekombination einnehmen. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen soll nun im Rahmen dieses APs untersucht werden, bei welchen Schritten der HR die Chromatin-verändernden Funktionen dieser Proteine benötigt werden. Durch die Anwendung der RNA-Interferenz (si- und sh-RNA) und der Herstellung von Knock-out-Zelllinien (CRISPR/Cas9) soll die genaue Funktion dieser Chromatinremodellierer bei einzelnen Schritten der HR mittels fluoreszenzmikroskopischer Methoden und biochemischer Interaktionsstudien analysiert werden.
- AP2: Im zweiten AP soll untersucht werden, mit welchen HR-Intermediaten die Zellen in die Mitose laufen, um welche Strukturen es sich hierbei handelt und welche Proteine an diesen Prozessen beteiligt sind. In der Mitose ist das Chromatin im Gegensatz zur G2-Phase stark kondensiert, so dass sich die Frage stellt, welche HR-assoziierten Proteine an unreparierten DSBs verweilen können und möglicherweise in der Mitose weiterhin Reparaturprozesse durchführen. Um diese Fragestellung zu erörtern, sollen bekannte HR-Proteine, welche an unterschiedlichen Schritten der HR beteiligt sind und somit spezifisch an verschiedene HR-Intermediate binden, in den verschiedenen Phasen der Mitose mikroskopisch visualisiert und charakterisiert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspaket 1:

Im bisherigen Verlauf des Projekts konnte etabliert werden, dass ATRX eine Funktion bei der Reparatur von DSBs durch den Prozess der HR besitzt. Darüberhinaus wurde ein neuer Ansatz etabliert, der eine Visualisierung der DNA-Reparatursynthese während des HR-Prozesses in der Immunfluoreszenz ermöglicht. Mit diesem Ansatz konnten nach Induktion von DSBs Reparatursynthese-Prozesse in Wildtyp-Zellen nachgewiesen werden, jedoch nicht in ATRX-defizienten Zellen oder in verschiedenen ATRX-Deletionsmutanten, die spezifische Defekte in unterschiedlichen Eigenschaften von ATRX aufwiesen. Im weiteren Verlauf des Projekts konnten mit PCNA und RFC zwei Faktoren identifiziert werden, die für die ATRX-abhängige DSB-Reparatur von Bedeutung sind. So wurden nach Depletion dieser Faktoren ebenfalls der für ATRX-defiziente Zellen charakteristische DSB-Reparaturdefekt sowie eine ausbleibende DNA-Reparatursynthese beobachtet. Außerdem konnte eine direkte Interaktion von ATRX mit PCNA und RFC nachgewiesen werden. Im vorherigen Berichtszeitraum konnte nun gezeigt werden, dass die Rolle von ATRX im HR-Prozess auf seiner Funktion als Chromatin-Remodellierer beruht. Es war bereits bekannt, dass ATRX zusammen mit dem Faktor DAXX für den Einbau der Histonvariante H3.3 ins Chromatin benötigt wird. In unseren Studien konnten wir nun einen solchen Einbau von Histon H3.3 im Zuge des HR-Prozesses nachweisen, welcher durch eine Depletion von ATRX, DAXX, PCNA oder RFC unterbunden wurde. Darüberhinaus wurden nach H3.3- oder DAXX-Depletion vergleichbare Defekte in der DSB-Reparatur und der DNA-Reparatursynthese nachgewiesen, wie sie zuvor in ATRX-defizienten Zellen beobachtet wurden.

Es sind einige Tumorklinien bekannt, welche kein ATRX exprimieren, aber dennoch in der Lage sind DSBs mittels HR zu reparieren. Um zu klären, wie der HR-Prozess in diesen Zellen abläuft, wurden bereits früher Experimente durchgeführt, welche nun zum Ende des Förderzeitraums weitergeführt wurden. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass die ATRX-defiziente Tumorklinie U2OS einen spezifischen Unterweg der HR verwendet, um DSBs zu reparieren. Dieser sogenannte SDSA-Weg (SDSA = Synthesis-dependent strand-annealing) zeichnet sich durch eine limitierte DNA-Reparatursynthese sowie eine ausbleibende Ausbildung von Crossovers zwischen den beiden Schwesterchromatiden aus. Diese sogenannten Sister chromatid exchanges (SCEs) stellen ein typisches Endprodukt von HR-Prozessen dar. In U2OS konnten nun weder ausgedehnte Reparatursynthese-Prozesse noch eine Induktion von SCEs nachgewiesen werden, wobei DSBs aber effizient repariert wurden. Dies verdeutlicht, dass ATRX-unabhängige Unterwege der HR existieren. ATRX scheint somit nur für die HR-Prozesse relevant zu sein, die eine ausgedehnte Reparatursynthese beinhalten, welche eine Remodellierung des Chromatins nötig machen. Das Zusammenspiel der HR-Unterwege soll in weiterführenden Studien genauer charakterisiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt ist beendet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Juhász, S., Elbakry, A., Mathes, A., Löbrich, M. (2018): ATRX Promotes DNA Repair Synthesis and Sister Chromatid Exchange during Homologous Recombination. doi:10.1016/j.molcel.2018.05.014

Elbakry, A., Juhász, S., Mathes, A., & Löbrich, M. (2018): DNA repair synthesis and histone deposition partner during homologous recombination. doi:10.1080/23723556.2018.1511210

Zuwendungsempfänger: Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 038A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 762.720,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Multhoff	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Neben der linearen dosis-abhängigen Zunahme des Krebsrisikos nach Bestrahlung werden sog. „deterministische“ Effekte diskutiert, die nach Überschreiten eines Schwellenwerts zu Hypoplasien und Zelluntergang im Normalgewebe führen können. Epidemiologische Studien zu strahleninduzierten kardiovaskulären und zerebrovaskulären Effekten und experimentelle Daten zu Strahlen-induzierten immunologischen Reaktionen untermauern die Zweifel an der „Schwellenwert“-Hypothese. Das kritischste Zielgewebe später Schäden nach niedrigen und mittleren Strahlendosen ist die Mikrovaskulatur d. h. am Endothel sensitiver Organe. Risikoanalysen niedriger und mittlerer Strahlendosen und -dosisraten und deren Mechanismen sollen im vorliegenden Forschungsvorhaben an Labortieren untersucht werden. Zielsetzung dieses Antrages ist es, primäre Endothelzellen aus unterschiedlichen Organsystemen nach zielgerichteter Bestrahlung in hoher Qualität reproduzierbar zu gewinnen (Siewert et al. PLoS One 2014) und molekular zu charakterisieren.

Arbeitshypothese: Epidemiologische Studien belegen, dass eine niedrig-dosierte Bestrahlung am Herzen nach einer 5 bis 20-jährigen Latenzzeit die Häufigkeit von Myokard-Infarkten signifikant erhöht, obwohl das Herz über viele Jahre hinweg als eines der strahlenresistentesten Organe angesehen wurde (Schultz-Hector et al. 2007). Unsere Arbeitshypothese besagt, dass ionisierende Strahlung chronische Entzündungen in der Mikrovaskulatur auslöst, die langfristig dann Schäden am Kardiovaskulären System am Herzen verursachen können. Mit unserer neu entwickelten Methode können wir lebende und funktionell aktive primäre mikrovaskuläre Endothelzellen aus verschiedenen Geweben der Maus (Sievert et al. 2014; Pressler 2008) in verschiedenen Altersgruppen isolieren.

Zusammenarbeit mit HMGU Institut für Strahlenbiologie Dr. Tapio (02NUK038B). Folgevorhaben von 02NUK007E (Verbundprojekt „Individuelle Strahlenempfindlichkeit und genomische Instabilität“).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Aufklärung der funktionellen Änderungen von pathogener Relevanz in mikrovaskulären Endothelzellen (mECs) isoliert aus Herz, Haut, Leber und Lunge von C57Bl/6 Mäusen nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlendosen (0,2 Gy, 2 Gy, 4 Gy, 8 Gy, 16 Gy).
- Vergleichende phänotypische Charakterisierung von frisch isolierten mECs aus nicht bestrahlten und bestrahlten (2 Gy, 4 Gy, 8 Gy, 16 Gy) Tieren mittels Durchflusszytometrie.
- Analyse der migratorischen Kapazität von mECs unter statischen Kulturbedingungen und unter Fluss-/Scherstressbedingungen (IBIDI System) (Riederer et al. 2008).
- Interaktion von mECs (nicht bestrahlt und bestrahlt) mit Subpopulationen von Leukozyten unter statischen Bedingungen und unter Fluss/Scherstressbedingungen.
- Erfassung der histologischen und immunhistologischen Änderungen von nicht bestrahlten und mit niedrigen Dosen bestrahlten mECs. Quantifizierung der infiltrierenden Lymphozyten.
- Vergleichende Proteom-Analyse von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- Vergleichende Transkriptom-Analysen von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- Integrierung der Daten zu einem Modell über den biologischen Mechanismus der strahlen-induzierten Pathogenese.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Verwendung des neu etablierten Bestrahlungsprotokolls an der CT-bildgestützten Bestrahlungsanlage „Small Animal Radiation Research Platform“ (SARRP) ermöglichte eine komplette Herz-Bestrahlung, bei der nur 18 % der Lunge direkt mitbestrahlt wurden. Dadurch konnte das symptomfreie Überleben der Mäuse nach einer klinisch relevanten Herz-Bestrahlungsdosis von 16 Gy auf mind. 50 Wochen verlängert werden. Das neue Bestrahlungsprotokoll erlaubt somit erstmals die Analyse von Langzeiteffekten nicht nur am Herzen, sondern zusätzlich auch am bestrahlten Lungengewebe sowie deren Auswirkung auf das nicht bestrahlte Lungengewebe, um potentiell abscopale Effekte auf das Lungengewebe zu untersuchen. Wir konnten erstmals zeigen, dass ähnlich wie bei Herzendothelzellen, die klassischen Entzündungsmarker ICAM-1 und VCAM-1 auf Lungenendothelzellen auch 20 bis 50 Wochen nach einer Bestrahlung von nur 18 % des gesamten Lungengewebes signifikant erhöht waren. Die erhöhte Expression von ICAM-1 und VCAM-1 konnte auch auf Endothelzellen aus nicht-bestrahltem Lungengewebe mit geringerer Ausprägung nachgewiesen werden. Diese Befunde lassen auf einen abscopalen Bestrahlungseffekt nach Herzbestrahlung in der Lunge schließen. Ein weiterer Entzündungsmarker ICAM-2 zeigte, im Gegensatz zu Herzendothelzellen selbst 50 Wochen nach 8 und 16 Gy Bestrahlung eine signifikant erhöhte Expression auf bestrahlten und nicht-bestrahlten Endothelzellen der Lunge. Dieser Befund weist darauf hin, dass Lungenendothelzellen eine höhere Strahlensensibilität als Herzendothelzellen aufweisen. Die langanhaltende erhöhte Expression von ICAM-1 und VCAM-1 auf bestrahlten Herz- und Lungen-Endothelzellen sowie auch auf nicht-bestrahlten Lungen-Endothelzellen (abscopaler Effekt) bis zu 50 Wochen könnte zu einer chronischen Entzündung führen, die anschließend kardiovaskulären Schäden verursachen. Um Unterschiede der Strahlensensitivität von nicht-proliferierenden (Normalgewebsendothel) und proliferierenden Geweben (Tumore) zu analysieren, wurden neben Herz-Endothelzellen auch primäre Endothelzellen aus subkutanen Melanom-Tumoren (B16F0) nach lokaler 16 Gy in vivo Bestrahlung des Tumors isoliert und durchflusszytometrisch analysiert. Erste Ergebnisse aus diesen Untersuchungen weisen darauf hin, dass Entzündungsparameter auf proliferierenden Endothelzellen aus dem Tumor verstärkt exprimiert sind. Weiterführende Analysen hierzu sind in Bearbeitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es soll ein systematischer Vergleich der Strahlenlangzeiteffekten auf Entzündungsmarker von proliferierenden und nicht-proliferierenden Endothelzellen in Normal- und Tumorgeweben erfolgen. Diese Arbeiten sollen Aufschluss über die Strahlenempfindlichkeit von Normal und Tumorgewebsendothelzellen geben. Die Auswertung der Daten von Tumor-Endothelzellen nach 16 Gy in vivo Bestrahlung wird zurzeit durchgeführt. Die Ergebnisse könnten zu einer verbesserten Bestrahlungsplanung und Tumorkontrolle führen. Zusätzlich ist eine Proteom-Analyse der eingefrorenen Endothelzellen aus nicht bestrahlten und bestrahlten Tumoren in Vorbereitung (Institut für Strahlenbiologie, HMGU). Weitere in vivo Bestrahlungsversuche mit 16 Gy an Melanom-Tumore sind vorgesehen. Der Einfluss von Shear-Stress auf die Expression von Entzündungsmarkern auf Endothelzellen aus unterschiedlichen Geweben soll in einem Flusssystem untersucht werden. Zusätzlich dazu stehen noch Interaktionsanalysen von Endothelzellen mit Leukozyten im Flusssystem (Ibidi) an. Dazu muss jedoch ein Versuchsaufbau bestehend aus unterschiedlichen Zelltypen neu etabliert werden. Zurzeit wird ein Manuskript über Strahlenlangzeiteffekte von bestrahlten und nicht bestrahlten Lungen-Endothelzellen erstellt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Poster: Wolfgang Sievert: Improved overall survival of mice by reducing lung side effects after high-precision heart irradiation using SARRP, Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung (GBS), Frankfurt, September 2018

Breuninger S. et al.: Membrane Hsp70 – A novel target for the isolation of circulating tumor cells after epithelial-to-mesenchymal transition. *Front Oncol* 8:497, doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00497>, 2018

Stangl S. et al.: Preclinical evaluation of the Hsp70 peptide tracer TPP-PEG24-DFO[89Zr] for tumor-specific PET/CT imaging. *Cancer Res* 78(21):6268-628, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0707, 2018

Stangl S. et al.: Heat shock protein 70 and tumor-infiltrating NK cells as prognostic indicators for patients with squamous cell carcinoma of the head and neck after radiochemotherapy: A multicentre retrospective study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG). *Int J Cancer* 142(9): 1911-1925, doi: 10.1002/ijc.31213, 2018

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 038B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 367.263,00 EUR	Projektleiter: Dr. Tapio	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des vorliegenden Projektes ist es, die Wirkung niedriger, mittlerer und hoher Dosen ionisierender Strahlung in einem Bereich zwischen 0,2 Gy und 16 Gy auf mikrovaskuläre Endothelzellen (ECs) gewonnen aus unterschiedlichen Normalgeweben zu studieren. Im Besonderen sollen die Interaktionen zwischen mikrovaskulären ECs und Immuneffektorzellen in vitro und im Mausmodell untersucht werden. Wir werden uns auf Herz, Subkutis, Leber und die Lunge als Hochrisiko-Organ konzentrieren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Vergleichende Proteom-Analyse von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- AP2: Vergleichende Transkriptom-Analysen von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- AP3: Integrierung der Daten zu einem Modell über den biologischen Mechanismus der strahlen-induzierten Pathogenese.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Zwischenbericht vom 31.07.2016 ist die etablierte Plattform schon beschrieben. Hieran wurde nun für weitere Vorhaben die Analyseplattform geändert. Die Datenakquise wurde von einem Datenabhängigen in einen Datenunabhängigen Modus geändert, was eine Anpassung der Analyse-Software erforderte.

Aufgrund der erstmals verwendeten Analyse-Software wurde weiterhin eine weitere Freeware etabliert, um die noch neue datenunabhängige Auswertung durch ein zweites Analysetool zu validieren. Die Ergebnisse hierfür liegen jetzt vor und werden ausgewertet. Zunächst wurde in Rücksprache mit den Kooperationspartnern vom Klinikum rechts der Isar um Prof. Dr. Gabriele Multhoff, der Vergleich der statischen und mit Scherspannung kultivierten Zellen auf primäre Herzzellen beschränkt. Zusätzlich ist nun eine Veröffentlichung des Vergleichs bestrahlter (10 Gy Röntgenstrahlung des ganzen Thoraxbereiches) und nicht bestrahlter primärer Mauslungenendothelzellen in Bearbeitung. Hierbei konnte eine starke Immunreaktion des Lungenendothels auf die erfolgte Bestrahlung festgestellt werden. Die Zahl der deregulierten Proteine deutet auf eine funktionelle Veränderung der Proteinexpression hin. Wie schon berichtet, ist die Reaktion der primären, murinen Endothelzellen weniger stark ausgeprägt als im mitbestrahlten Lungenendothel, was auf eine höhere Strahlensensitivität des Lungenendothels zurückzuführen ist.

Um detaillierter die strahlenbedingte Entzündungsreaktion in Endothelzellen zu untersuchen, wurde des Weiteren eine humane Endothelzelllinie mit Strahlendosen von Niedrigdosenbereichen bis Hochdosenbereichen bestrahlt (0 – 10 Gy ¹³⁷Cs Gamma) und zu verschiedenen Zeitpunkten (4 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden, 1 Woche) geerntet. Aus dem daraus resultierenden Proteomdatensatz erwarten wir die Rolle der Enzyme der Schaltstellen der Immunreaktion zu entschlüsseln. Hieraus können sich mögliche Therapieansätze ergeben.

4. Geplante Weiterarbeiten

Geplant ist weiterhin die Validierung der primären Herzendothelzellen unter Scherspannung mit einem *in silico* Vergleich schon generierten Transkriptomdaten. Weiterhin sind geplant die Auswirkungen des Sekretoms der Endothelzellen auf Kardiomyocyten zu analysieren. Eine Proteom-Analyse der Endothelzellen von unbestrahlten und bestrahlten Melanomen ist vorbereitet. Ein Manuskript von den bestrahlten primären Lungenendothelzellen ist bereits in der Verarbeitung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag: Jos Philipp, Radiation-Induced Endothelial Inflammation Is Transferred via the Secretome to Recipient Cells in a STAT-Mediated Process; Radiation Research Society (RRS), Chicago, 26.09.2018

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.03.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 3.336.492,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Schmidberger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist die Erforschung des Zusammenhangs zwischen therapeutischer Strahlenexposition im Kindesalter mit genetischen Veränderungen in Bezug auf Langzeitfolgen. Dies soll mit epidemiologischen Methoden im Rahmen einer Kohorten-Studie zur Auswertung der im DKKR erfassten Zweitumor-Ereignisse untersucht werden (AP1). Mit einer molekularepidemiologischen Fall-Kontroll-Studie werden Zellproben von Personen ohne Tumorereignis mit denen von Patienten von primären und sekundären Tumoren in Bezug auf das Genom und Genexpression vor und nach Bestrahlung verglichen (AP2). Die notwendigen statistischen und bioinformatischen Mittel werden in AP3 entwickelt. Strahlenbedingte epigenetische Veränderungen in der Genregulation werden in AP4 untersucht. Untersuchungen auf genomischer Ebene zur Erforschung spontaner und strahleninduzierter Veränderungen der Telomere (AP7a) und dosimetrische Untersuchungen zur Ganzkörperdosisbelastung durch strahlentherapeutische Behandlungen mittels strahleninduzierter genomischer Läsionen (AP7b) sind geplant.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Epidemiologische Auswertung von im DKKR erfassten Second-Tumor Ereignissen nach therapeutischer Exposition zu Strahlung (SCAR)
- AP2: Fall-Kontroll-Studie zu Krebserkrankungen im Kindesalter und molekularer Epidemiologie (KIKME) - Genomweite Analyse von Unterschieden in der strahlenassoziierten, genetischen Krebs susceptibility
- AP3: Statistische Techniken zur integrativen genomweiten Analyse
- AP4: Copy-Number-Variation und Methylierung vor und nach Bestrahlung
- AP7a: Genomische Stabilität bei Malignomerkrankungen im Kindesalter
- AP7b: Biologische Dosimetrie nach Radiotherapie
- AP Koord.: Koordination des ISIBELA-Verbundes sowie der Aus- und Weiterbildung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die notwendigen Regressionsmodelle zur statistischen Auswertung wurden entwickelt und können nun validiert und angewendet werden. Es wurden 2 medizinische Promotionsarbeiten zur Rekonstruktion der Bestrahlungspläne bei Hodgkin-Lymphomen und ZNS-Tumoren vergeben.
- AP2: Im vergangenen Halbjahr wurden von der Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie und dem Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie in Kooperation mit der Studienleitung in Bremen weitere Patienten mit mehreren primären Neoplasien und dazu gematchte Patienten mit nur einer primären Neoplasie sowie krebsfreie Kontrollpatienten rekrutiert. Die neu gewonnenen Hautbiopsien (42 FPN, 11 CO) wurden im Labor der Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie unmittelbar nach Entnahme erstkultiviert und DNA extrahiert. Des Weiteren wurden Fibroblasten aus 6 ge-

matchten Triplets zeitgleich bestrahlt und die RNA aus den Experimentalproben im Labor extrahiert.

- AP3: Die neuen RNA-Seq Daten wurden Qualitätskontrollen unterzogen und prozessiert. Die erhaltenen 60 WGS Daten wurden unter Verwendung von MOGON II Qualitätskontrollen und den ersten Prozessierungsschritten unterzogen.
- AP4: Die Korrelation der CGH Analysen 2N, 1N und 0N Datensätze mit RNA-SEQ Datensätzen des Triplett Experiments sind abgeschlossen. Bestätigungsexperimente wurden im Rahmen einer med. Doktorarbeit erfolgreich durchgeführt. Die Daten sind nun in der Form einer Publikation zusammengefasst. Das Programm für die Korrelation von RNA-Seq und Methylierungsdaten wurde an zwei unabhängigen Datensätzen- Kopf-Hals, und Brustkrebs, der TCGA Datenbank erfolgreich getestet. Die Methylierungsanalyse in Kooperation mit Würzburger Wissenschaftlern ist erfolgreich verlaufen.
- AP7a: Bestrahlungsexperimente mit 21 Triplets, d. h. 63 Zelllinien von 3 gematchten Spendern (Kontrolle, PN und SN) der GenkiK/ KiKme Phase I Fibroblasten, wurden erfolgreich durchgeführt. Die Analysen zeigen keine Unterschiede in der zellulären oder chromosomalen Radiosensitivität zwischen den Studienpopulationen. SN-Spender zeigen spontane chromosomale Instabilitäten.
- AP7b: Die Analyse von strahleninduzierten DNA Doppelstrangbrüchen in peripheren Leukozyten von 22 Patienten zeigen bisher keine Unterschiede in der Dosisbelastung der Patienten zwischen den Bestrahlungstechniken.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Behandlungsdaten aus den Krankenhäusern werden über den Treuhänder erhoben und an die Studie übermittelt. Die rekonstruierten Behandlungspläne werden mit alten Patientenakten validiert und anschließend in das Dosimetriesystem implementiert.
- AP2: Im folgenden Halbjahr sollen innerhalb des AP2 am Standort in Mainz in Kooperation mit der Studienleitung in Bremen weitere essentielle Kontrollprobanden rekrutiert werden. Zudem wird Probanden, die bisher aus zeitlichen oder gesundheitlichen Gründen nicht an der Studie teilnehmen konnten eine nachträgliche Teilnahme ermöglicht. Die gewonnenen Hautbiopsien werden weiterhin im Labor erstkultiviert und DNA extrahiert. Bereits vorhandenen Proben sollen vermehrt werden und nach erneuter Pseudonymisierung durch die Studienleitung weiterhin anderen Teilprojekten zur Verfügung gestellt werden. Des Weiteren soll mit der Bestrahlung von Fibroblasten in größeren Matchinggruppen mit anschließender Extraktion von RNA begonnen werden.
- AP3: Alle WGS und die RNA-Seq Daten werden fertig prozessiert und anschließend integrativ ausgewertet. Für die integrative Auswertung wird Methodenforschung betrieben.
- AP4: Aufgrund technischer Probleme (Ausfall der QPCR-Maschine) die aber inzwischen behoben sind, haben sich die Bestätigungsanalysen für weitere Publikationen und die Doktor-Arbeit verzögert, werden aber weitergeführt. Die Datenauswertung der genomweiten Methylierungsanalysen ist weitgehend abgeschlossen, das Paper wird nun geschrieben. Die Arbeiten zur Korrelation von RNA-Seq und Methylierungsdaten werden in Form einer Publikation zusammengefasst.
- AP7a: Statistische Analyse der Daten und Publikation.
- AP7b: Patientenrekrutierung und Analyse.

5. Berichte, Veröffentlichungen

SECOND PRIMARY CANCER AFTER CHILDHOOD CANCER IN GERMANY 1980-2014 – INCIDENCE AND INFLUENCE OF RADIOTHERAPY Scholz-Kreisel P, Kaatsch P, Spix C, Blettner M; 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, Japan November 16-19, 2018

Zuwendungsempfänger: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.066.254,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hankeln	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Forschungsverbund ISIBELA verfolgt das übergeordnete Ziel, den Zusammenhang zwischen einer Strahlenexposition und der Entstehung von Folge-Neoplasien bei Primärtumoren im Kindesalter zu erforschen. Die Verbundpartner (Universitätsmedizin Mainz, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Technische Universität Darmstadt, Leibniz Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie Bremen) untersuchen die Fragestellung unter Anwendung epidemiologischer, biostatistischer, radiobiologischer, zell- und molekularbiologischer sowie genetischer Arbeitstechniken. Durch Anwendung von Hochdurchsatz-Genomforschung sollen insbesondere mögliche genetische Prädispositionen für die Entstehung strahleninduzierter Krebserkrankungen aufgedeckt werden. Erkenntnisse zur strahleninduzierten Karzinogenese könnten zu einer Optimierung strahlentherapeutischer Behandlungsansätze führen.

Im Teilprojekt B an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz werden standardisierte Verfahren zur Anwendung von Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologie (NGS) im Rahmen multizentrischer epidemiologischer Studien entwickelt und die entsprechenden Sequenzdaten für das Projekt produziert (Teilprojekt 8).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Absprache und Synchronisierung der Arbeitsschritte für die NGS-Analysen
- AP2: RNA-Sequenzierung von Zellkultur-Proben vor und nach radioaktiver Bestrahlung
- AP3: DNA-Sequenzierung des Genoms ausgewählter Probanden
- AP4: Replikation der genetischen Daten in einem zweiten unabhängigen Probandenkollektiv

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen von Vor- und Hauptversuchen wurden in der zweiten Jahreshälfte 2018 insgesamt 234 RNA-Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen, die wir von AP2 erhalten haben, zu RNA aufgearbeitet, per Spektrometrie und Kapillargelelektrophorese (Bioanalyzer) qualitätsüberprüft und mit dem standardisierten TrueSeq-Verfahren von Illumina die entsprechenden Sequenzier-Bibliotheken erstellt. 270 Bibliotheken (teilweise aus RNAs der Berichtsphase 1 des Jahres 2018) wurden mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren auf der HiSeq 2500-Plattform sequenziert. Somit konnte die im Bericht 1/2018 geplante Verarbeitung von >200 Proben für das 2. Halbjahr 2018 erfolgreich umgesetzt werden.

Wie in den bisherigen Versuchen wurden sowohl die Dosis der Bestrahlung als auch die Zeit bis zu Extraktion der RNA variiert. Die Proben wurden gemäß der von uns festgelegten Standards (beschrieben in Bericht 1/2016) überführt, gelagert und qualitativ begutachtet. Alle eingegangenen RNA-Proben erfüllten erneut die Qualitätsanforderungen und wurden daher problemlos zur Konstruktion der Sequenzierbibliotheken eingesetzt. Die Sequenzierung wurde jeweils mit der angestrebten und mittlerweile routinemäßig umgesetzten Sequenziertiefe von ca. 20 Mio. Reads pro Bibliothek gemäß den Standardprotokollen der Firma Illumina für single read/high output-Läufe auf dem HiSeq 2500-Sequencer durchgeführt. Die Daten wurden zu weiteren Auswertung per FTP an die Bioinformatikgruppe (AP3, IMBEI Mainz) transferiert. Die Details der Abläufe sind im Bericht 1/2016 erläutert. Die schrittweise erstellten und verbesserten Erfassungen der Laufparameter und Datensatzstatistiken wurden in den Berichten 2/2016 und 1/2017 dargestellt.

Die entsprechenden Proben für die DNA-Sequenzierung wurden qualitätsgeprüft und für die weitere Prozessierung weitergeleitet. Leider kam es gegen Ende 2018 zu einer das Sequenziergerät NovaSeq und seine Flowcell-Komponenten betreffenden technischen Störung, die erst zu Beginn des Jahres 2019 behoben werden konnte. Die Bearbeitung der DNA-Proben fällt somit unter den nachfolgenden Bericht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im ersten Halbjahr 2019 werden die letzten 51 Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen der Versuchsreihe (erhalten von AP2) zu RNA aufgearbeitet und entsprechende Sequenzierbibliotheken erstellt. Diese werden zusammen mit 36 noch nicht sequenzierten Bibliotheken aus 2/2018 ebenfalls mit dem erprobten Illumina-Hochdurchsatzverfahren sequenziert. Die Whole-Genome-Sequenzierung wird ebenfalls im ersten Halbjahr 2019 erfolgen. Somit kann die geplante Laufzeit des Vorhabens bis 30.06.2021 aller Voraussicht nach eingehalten werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Noch keine. Es entstehen derzeit Veröffentlichungen, die das allgemeine Versuchsdesign und die Ergebnisse der Versuche mit Bestrahlung von Zellkulturen unter verschiedenen Bedingungen beschreiben.

Zuwendungsempfänger: Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr.30, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 042C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 711.627,00 EUR	Projektleiter: Dr. Marron	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Strahlenexposition und Krebsentstehung im Kindesalter sowie der Entwicklung von Folgeneoplasien als Langzeitfolge stellen das übergeordnete Ziel des ISIBELA Forschungsverbundes dar. Die enge Zusammenarbeit mit weiteren drei Verbundpartnern (Universitätsmedizin Mainz, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz und Technische Universität Darmstadt) verknüpft verschiedenste Herangehensweisen aus der molekularen Epidemiologie, der Biostatistik, der Genomik, der Molekularbiologie und der Radiodosimetrie. Durch diese umfassende Betrachtung der Zusammenhänge von strahleninduzierten Krebserkrankungen und genetischer Disposition können grundlegende Informationen zu den Mechanismen der Karzinogenese gewonnen werden. Diese können zu Optimierungen in der Strahlentherapie herangezogen werden und als Grundlage zur Entwicklung von Markern für eine genetische Krebsdisposition nach Expositionen durch Strahlung (z. B. nach Strahlentherapie oder Strahlenunfällen) dienen.

Das Teilprojekt C am Standort Bremen ist dabei für die wissenschaftliche Leitung des Arbeitspaketes 2 (AP2) des ISIBELA Verbundes zuständig. Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Durchführung der molekular-epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie KIKME (Krebserkrankungen im Kindesalter und molekulare Epidemiologie) und der genomweiten Identifizierung von Genen und Gen-Strahlen-Interaktionen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Leitung und Design der Fall-Kontroll-Studie KIKME, in der ehemalige Kinderkrebspatienten mit und ohne Folgeneoplasie sowie krebsfreie Kontroll-Probanden miteinander verglichen werden
- AP2: Genomweite Identifizierung von Genen und Gen-Strahlen-Interaktionen durch die Kombination von Bestrahlungsexperimenten an Probandenzelllinien der KIKME Studie mit Methoden der Hochdurchsatz-Entschlüsselung von Genomen und Transkriptomen
- AP3: Weitere Auswertung der erhobenen KIKME Studiendaten, insbesondere die lebenslange medizinische Strahlenbelastung unter Berücksichtigung von Chemotherapie sowie das familiäre Auftreten von Erkrankungen
- AP4: Als Vertrauensstelle in einer essentiellen Schlüsselposition die Verantwortung für die Mehrfachpseudonymisierung der Proben und Untersuchungsergebnisse für alle Projektpartner

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Rekrutierung von ehemaligen Kinderkrebspatienten (Fällen) mit einer Primärneoplasie (FPN (First Primary Neoplasm)) und mehreren Primärneoplasien (SPN (Second Primary Neoplasm)) sowie von krebsfreien Kontrollen (CO) wurde fortgeführt. Von insgesamt 195 angeschriebenen SPN Patienten

ten haben sich 81 (42 %) zur Studienteilnahme bereit erklärt. Mit einer Einwilligungsrate von 22 % konnten zudem 357 FPN Probanden (von 1590 angeschriebene FPN Probanden) rekrutiert werden. Darüber hinaus sind 124 (60 %) der bisher 208 in der Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Mainz direkt angesprochenen Kontrollen zur Studienteilnahme bereit. Nach wie vor nimmt über 60 % der Fälle (62 % SPN, 60 % FPN) eine Rekrutierung bei einem unserer 182 kooperierenden Hautärzte in ihrer Wohnortnähe in Anspruch. Alle Probanden wurden weiterhin unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht sowie bei den ehemaligen Kinderkrebspatienten von Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung, Matchinggruppen zugeordnet. Informationen zu den Bioproben der Probanden wurden in die Bioprobendatenbank eingepflegt. Zu den vorliegenden Informationen gehören neben dem aktuellen Probenstatus auch Informationen zur Qualität in Quantität (Informationen zu: Probenentnahme, Kultivierungsphasen, Zellentwicklung, Verbleib und Qualität von Extraktionen) der mittlerweile 4584 Bioproben (3332 Fibroblastenzelllinien, 347 Speichelproben, 742 DNA- und 162 RNA-Extraktionen). Zudem wurde die Eingabe von Informationen der Teilnehmer in die Studiendatenbank qualitätsgesichert und standardisiert in einer parallelen Doppelteingabe von zwei Personen an getrennten Bildschirmen weitergeführt (derzeit 472 (84 %) eingegebene Fragebögen). In Zusammenarbeit mit dem Labor der Radioonkologie und Strahlentherapie in Mainz wurden Bestrahlungen an Fibroblasten von weiteren 18 Probanden (6 Triplets mit je 1 SPN, 1 FPN, 1 CO) durchgeführt. Für diese Versuche wurden insgesamt 3 gezählte und G0 synchronisierte Zelllinien pro Proband mit den festgelegten Strahlungsdosen 0 Gy, 0.05 Gy und 2 Gy zeitgleich bestrahlt bzw. nicht bestrahlt. Die 54 Experimente wurden nach 4 Stunden beendet, RNA und DNA wurde extrahiert und sowohl Qualität als auch Quantität der Proben gemessen. Darüber hinaus wurde die DNA-Extraktion aus Speichelproben fortgeführt. Sowohl die DNA-Extrakte aus Speichel als auch die Experimentalproben aus Fibroblasten (RNA und DNA) wurden nach erneuter Pseudonymisierung zur Sequenzierung an die „Core-Unit Nucleic Acid (CUNA)“ der Universität Mainz weitergegeben. Insgesamt liegen für 144 Probanden Genexpressionsdaten vor und nach Bestrahlung sowie genomweite DNA-Sequenzierungen vor. Aufgrund der überschrittenen Zielzahlen an ehemaligen Kinderkrebspatienten (SPN und FPN), war es innerhalb der verbleibenden Projektlaufzeit aus Zeit- und insbesondere Kostengründen nicht möglich, alle rekrutierten Probanden auszuwerten. Daher wurde eine Projektaufstockung um weitere 24 Monate erfolgreich beantragt, um weitere Bestrahlungsversuche in größeren Matchgruppen für detaillierte Auswertungen mit größerer statistischer Aussagekraft durchführen zu können. Zudem wurde eine erste Publikation mit Beschreibung des Studiendesigns, des Rekrutierungsverhaltens und ersten Auswertungen der Bestrahlungsexperimente erstellt. Das Manuskript befindet sich derzeit zur Kommentierung bei den Co-Autoren. Die Veröffentlichung wird für Anfang 2019 angestrebt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zur weiteren Vergrößerung des Studienkollektivs sollen Probanden, die aus zeitlichen, persönlichen oder gesundheitlichen Gründen (z. B. Schwangerschaft, Stillen, Krankheit) bisher noch nicht an der Studie teilnehmen konnten, eine nachträgliche Teilnahme ermöglicht werden. Zudem soll die Rekrutierung von Kontrollen weitergeführt werden, um für die Vervollständigung weiterer Matching-Gruppen essentielle Probanden zu gewinnen. Alle teilnehmenden Probanden (SPN, FPN und CO) werden weiterhin Matchinggruppen basierend auf Alter, Geschlecht, Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung zugeordnet. Um die statistische Power zu erhöhen, wird das Matching jedoch auf maximal 1:1 - 4:1 mit fast doppelt so vielen Probanden (N=287) und 753 Experimente erweitert. Des Weiteren sollen erste Bestrahlungsexperimente unter Berücksichtigung der vergrößerten Matching-Gruppen entwickelt werden und anschließend RNA- und DNA-Pseudonyme für Fibroblasten und Speichel für die RNA- und DNA-Sequenzierung in AP8 bereitgestellt werden. Informationen zu Probanden und gewonnenen Bioproben sollen weiterhin qualitätsgesichert und unter Berücksichtigung der festgelegten Standards in die Bioprobendatenbank und die Studiendatenbank eingegeben werden. Außerdem soll die Publikation zur Genexpression der zweiten Reihe von Bestrahlungsversuchen mit 495 Versuchen erstellt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 042D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.190.568,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens liegt in der Erforschung des Zusammenhangs zwischen einer genetischen Prädisposition und der Entstehung von Krebs im Kindesalter. Die Rekrutierung der Probanden, Etablierung der Zelllinien, molekulare/zelluläre Untersuchungen werden von verschiedenen Arbeitsgruppen durchgeführt, die eng verzahnt arbeiten. Schwerpunkt der von der Arbeitsgruppe Prof. Löbrich durchgeführten Arbeitspakete 5 und 6 ist es, zelluläre Untersuchungen mit molekularen Analysen zu komplementieren, um einen tieferen Einblick in die einer Tumorentstehung zugrundeliegenden molekulargenetischen Ursachen zu erlangen. Dabei wird untersucht, inwieweit sich Checkpoint- und Reparaturkapazität im Hinblick auf für die Krebsentstehung vorbelasteten Personen von gesunden Probanden unterscheidet. Genomische Analysen sollen Einblick in mögliche genetische Ursachen der Krebsentstehung liefern. Schließlich sollen die Daten der verschiedenen Endpunkte korreliert und gemeinsam veröffentlicht werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP5: DSB-Reparatur- und G2/M-Checkpoint-Messungen und Genomanalysen prädisponierter Personen:

Im Rahmen des ISIMEP-Projekts wurden rund 40 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer sekundären Neoplasie nach einem Ersttumor im Kindesalter sowie Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer primären Neoplasie im Kindesalter ohne Folgoneoplasie auf ihre Checkpoint- und Reparaturkapazität untersucht. Diese Untersuchungen werden nun an 20 neu etablierten, gematchten Kontrollzelllinien gesunder Probanden durchgeführt. Außerdem sollen von allen insgesamt 60 Zelllinien molekulargenetische Analysen durchgeführt und eventuell vorliegende genomische Auffälligkeiten in Genen der DNA-Reparatur oder Zellzykluskontrolle mit dem zellulären Verhalten korreliert werden. Auffällige Zelllinien werden schließlich eingehenden Reparatur- und Zellzyklusstudien unterzogen.

AP6: Identifizierung genetischer Prädispositionen der spontanen und strahleninduzierten Karzinogenese im Zusammenhang mit Doppelstrangbrüchen und Zellzykluskontrolle:

Nach der Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) durch z. B. Röntgenstrahlung verlangsamen Zellzyklus-Checkpoints die Proliferation, um den Reparaturmechanismen Zeit für die Beseitigung der Läsionen zur Verfügung zu stellen. Störungen in der DNA-Schadensantwort können zu einer erhöhten Chromosomeninstabilität und letztlich zur Entstehung von Krebs führen. Die im Rahmen des Kooperationsprojektes AP2 rekrutierten ca. 300 Zelllinien aller drei Patientengruppen (primäre Neoplasie, sekundäre Neoplasie und gesunde Kontrollgruppe) werden mit einem halbautomatischen Screening-Verfahren auf ihr Zellzyklusverhalten und ihre Reparaturkapazität nach hohen und niedrigen Dosen ionisierender Strahlung untersucht. Diese Daten werden statistisch ausgewertet und mit den epidemiologischen und molekulargenetischen Resultaten korreliert.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP5: Die 40 Zelllinien der GenKIK-Studie aus der ersten Förderperiode (ISIMEP), d. h. insgesamt 20 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einem Zweittumor nach Ersttumor im Kindesalter sowie 20 Zelllinien von Patienten mit einem Tumor im Kindesalter (ohne Zweittumor), wurden bei unserem Kooperationspartner in Mainz durch weitere 20 Zelllinien von gesunden, gematchten Probanden ergänzt. Sämtliche Zelllinien, einschließlich derer, die schon in der ersten Förderperiode analysiert wurden, wurden auf ihre individuelle Reparaturkapazität nach niedrigen Strahlendosen hin untersucht. Dies war unabdingbar, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aller 60 Zelllinien zu gewährleisten. Inzwischen wurden die Experimente mit allen Zelllinien durchgeführt und Bildaufnahmen zur automatisierten Auswertung angefertigt. Die nachfolgende Auswertung der Bilddateien wurde im zweiten Halbjahr des Jahres 2017 für 40 Zelllinien abgeschlossen. Bei den fehlenden 20 Zelllinien war die Qualität der Immunfluoreszenzfärbung nicht ausreichend, um eine Auswertung vorzunehmen. Daher wurden die Experimente mit diesen Zelllinien wiederholt. Die Qualität der Färbung dieser Wiederholungsexperimente war gut, sodass die angefertigten Bildaufnahmen ausgewertet werden können.

Die Daten aus den Reparaturstudien sowie Daten aus vorangegangenen Studien der Projektpartner sollen im Rahmen von AP5 durch genomische Untersuchungen komplementiert werden. Dazu wurde das gesamte Exom der GenKIK-Zelllinien sequenziert. Lediglich eine Zelllinie musste von den Untersuchungen ausgeschlossen werden, da deren DNA, auch nach erneuter Einsendung des Probenmaterials, zu stark fragmentiert war. Die Rohdaten der Sequenzen wurden an AP3 übergeben, die das sogenannte Alignment der Sequenzen vornehmen. Anschließend werden die Sequenzdaten der Ein- und Zweitumortpatienten untereinander sowie mit den Sequenzdaten der Zelllinien von gesunden Probanden verglichen.

AP6: Im aktuellen Berichtszeitraum wurden uns von AP2 weitere Zelllinien bereitgestellt, die im Rahmen der KIKME Phase 2 von rekrutierten Patienten sowie von gesunden, gematchten Probanden etabliert wurden. Derzeit befinden sich 51 pseudonymisierte Triplets (153 Zelllinien) in Darmstadt, welche sukzessive für die Experimente expandiert und bis zur Durchführung der Experimente im Kryotank eingelagert werden. Beginnend mit 7 Triplets wurden im Mai 2018 Experimente zur Induktion des G2/M-Checkpoints sowie zur Analyse der Reparaturkapazität (analog zu AP5) durchgeführt und Bildaufnahmen zur automatisierten Auswertung angefertigt. Die Auswertung der Bilddateien konnte für die Reparaturkapazität dieser Zelllinien abgeschlossen werden. Für 7 weitere Triplets wurden im vergangenen Berichtszeitraum je drei Experimente zur Checkpoint-Induktion und Reparaturkapazität mit diesen Zelllinien durchgeführt. Sukzessive werden nun Bilder am Scanning-Mikroskop aufgenommen und für die automatisierte Auswertung vorbereitet.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Die Bilddateien der Experimente mit den letzten 20 Zelllinien werden ausgewertet. Nach dem Abschluss der Auswertung wird in Kooperation mit AP3 und AP7 eine umfassende Interpretation der Ergebnisse und die Identifikation auffälliger Zelllinien erfolgen. Anschließend werden mit auffälligen Zelllinien detaillierte Analysen zur DNA-Reparatur durchgeführt.

AP6: Die Bildaufnahme und Auswertung der Experimente wird fortgesetzt. Sukzessive werden weitere Zelllinien für die Experimente expandiert bzw. in den Experimenten auf ihre Reparaturkapazität und auf ihre Checkpoint-Sensitivität hin untersucht. Die Ergebnisse werden mit den bisherigen Daten aus der GenKIK-Studie verglichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im November wurde das Programm zur automatisierten Auswertung der Reparaturkapazität im Journal Scientific Reports veröffentlicht: Lengert N, Mirsch J, Weimer RN, Schumann E, Haub P, Drossel B, Löblich M.: AutoFoci, an automated high-throughput foci detection approach for analyzing low-dose DNA double-strand break repair. Sci Rep. 2018 Nov 23;8(1):17282

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 043A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 883.050,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kriehuber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zentrales Ziel des Vorhabens ist die Charakterisierung der zellzyklusabhängigen zellulären DNA-Schadensantwort nach Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB) unterschiedlicher Komplexität in Abhängigkeit der Lokalisation des Schadens im Chromatin. Hierbei soll im Besonderen aufgeklärt werden, welche Faktoren die Auswahl der involvierten Reparaturprozesse bestimmen und inwieweit die unterschiedliche Komplexität der DNA-Läsionen die Güte (Fehlerhaftigkeit) der Reparatur beeinflussen und wie dies sich in der zyto- und genotoxischen Schädigung der Zellen widerspiegelt.

Hierzu sollen über geeignete Auger Elektronen Emitter (AEE) unterschiedlicher Halbwertszeiten, Energien und durchschnittlich emittierten Elektronen pro Zerfall und über diverse β -Emitter DNA-Läsionen von unterschiedlicher Komplexität in die DNA eingeführt werden. Aufgrund der kurzen Reichweite von Auger Elektronen soll durch gezielte Positionierung der AEE über AEE-markiertem-UdR und AEE-markierten DNA Triplex-bildenden Oligonukleotiden exklusiv Bereiche des Eu- und Heterochromatins geschädigt werden und die Qualität der Schadensprozessierung in Relation zur Lokalisation und Komplexität des induzierten DSB zellzyklusabhängig untersucht werden. Über gezielte Schädigung von eingeführten DNA-Konstrukten soll des Weiteren die molekulare Signatur von Mutationsereignissen charakterisiert werden. Die genexpressionsbasierte Analyse von Signalwegen soll Hinweise darauf geben, welche zellulären Prozesse die Auswahl der involvierten Reparaturmechanismen steuern.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

- AP1: Wie unterscheidet sich die Reparatur von komplexen DSB die in heterochromatischen Bereichen lokalisiert sind im Vergleich zu euchromatisch lokalisierten DSB? Dazu soll in synchronisierten Jurkat, SCL-II und NIH 3T3 Zellen ein Puls-Labeling mit ^{125}I -UdR/ ^{123}I -UdR oder ^3H -UdR in früher bzw. später S-Phase durchgeführt werden, so dass exklusiv entweder eu- bzw. heterochromatische Bereiche der DNA gelabelt werden. Nachfolgend soll der Einfluss der Schäden in hetero- und eu-chromatischen Bereichen auf Zellzyklusverlauf, die DSB Reparatur und die Genexpression untersucht werden.
- AP2: Wie unterscheidet sich die Qualität der Reparatur von DSBs unterschiedlicher Komplexität auf dem Level des einzelnen Bruches? Zu diesem Zweck soll ein Genreporterkonstrukt erstellt und stabil in das Genom von SCL-II Zellen integriert werden. Der verwendete Genreporter verfügt über TFO-Bindesequenzen, so dass mit Hilfe von ^{125}I und ^{131}I markierten TFOs sequenzspezifische Schäden, unterschiedlicher Komplexität erzeugt werden können.

Nach Reparatur der induzierten DNA-Läsionen soll das Konstrukt mittels einer Pull-Down Reaktion aus der genomischen DNA der Zellen aufgereinigt und hinsichtlich Mutationsfrequenz, -typ und -lokation untersucht werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Microarray-Genexpressionsanalysen ^{125}I UdR-markierter Zellen (frühe S-Phase-Markierung/Euchromatin bzw. späte S-Phase-Markierung/Heterochromatin) bei jeweiliger Zerfallsakkumulation in den nachfolgenden G1- und G2/M-Zellzyklusphasen erbrachten keine signifikant unterschiedlichen Genexpressionsänderungen in Eu- versus Heterochromatin-markierten Zellen. Parallel durchgeführte Apoptose-Messungen zeigten in den bestrahlten Zellen eine ca. 2,6 bis 3,4-fach erhöhte Induktion gegenüber zugehörigen Kontrollzellen. Bezüglich Apoptoseinduktion ist kein signifikanter Unterschied zwischen früher und später S-Phase ^{125}I UdR-Markierung nachweisbar. Für die Methyl- ^3H -Thymidin-Experimente wurden die Markierungsbedingungen sowie die Aktivitäts-Messmethode optimiert. Puls-Labeling Experimente mit Methyl- ^3H -Thymidin zeigten, dass ausreichende Mengen an Tritium in die Zellen eingebaut werden können; 1000 akkumulierte Tritium-Zerfälle führen zu einer Induktion von ca. 10 γH2AX Foci.
- AP2: Mittels „Long-Read-Sequencing“ wurde die Kopienzahl des stabil in SCL-II Zellen integrierten p2RT Vektors bestimmt, die bei ca. 10 Kopien pro Zelle liegt. Die Kopien sind direkt hintereinander im Genom integriert. Letzteres ist bedeutsam, da der Vektor die Zielsequenz für das TFO I-125-TFO-p2RT enthält und hierüber eine lokale Anhäufung komplexer DNA-Läsionen generiert wird. Dies erklärt z. B. die vorab, bei gleicher Anzahl an ^{125}I -Zerfällen, festgestellten hohe Apoptoseraten mit I-125-TFO-p2RT im Vergleich zu I-125-TFO-MBS, deren Zielsequenzen nicht lokal gehäuft auftreten. ^{125}I - und ^{32}P -markierte Cas9 Ribonukleoproteinen wurden als Carrier-System für die zielgerichtete DNA-assoziierte Lokalisation von Radionukliden weiterführend untersucht. ^{125}I -markierte Cas9 Ribonukleoproteine zeigten eine deutliche zytotoxische Wirkung auf damit behandelte Zellen. Bei ca. 300 akkumulierten ^{125}I -Zerfällen reduzierte sich die Überlebensrate im CFA bereits auf ca. 30 % im Vergleich zur Kontrolle.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: ^{125}I UdR-exponierte Zellen werden bzgl. DSB-Induktion ausgewertet. Untersuchungen bezüglich cyto- und gentoxischer Wirkung nach Puls-Labeling von synchronisierten Zellen mit verschiedenen Methyl- ^3H -Thymidin-Aktivitätskonzentrationen werden durchgeführt.
- AP2: Die mit ^{125}I -Cas9 behandelten Zellen sollen mittels Blue-White Screening, PCR und Sequenzierung auf eine erhöhte Mutationsrate hin untersucht werden. Durch eine Erhöhung der „Read-Length“ in der verwendeten Sequenziermethode soll die genaue genomische Lokalisation des p2RT Kopien-Clusters erreicht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Unverricht-Yeboah M, Giesen U, Kriehuber R.: Comparative gene expression analysis after exposure to ^{123}I -iododeoxyuridine, γ - and α -radiation - potential biomarkers for the discrimination of radiation qualities. *Journal of Radiation Research*, Vol. 59, 4, 2018, 411–429
<https://doi.org/10.1093/jrr/rry038>

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 043B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 30.06.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.279.559,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

1.1 UDE-1: Untersuchung der biologischen Effekte komplexer DNA-Läsionen in der Form von DSB-Clustern mit Hilfe eines eigens entwickelten Modellsystems zur gezielten Induktion von DSB mit einer Restriktionsendonuklease (I-SceI).

1.2 UDE-2: Weiterentwicklung des vorliegenden Modellsystems zur Induktion von DSB Clustern. Dazu sollen Systeme zur induzierbaren Expression und Destabilisierung von I-SceI eingeführt werden. Diese würden eine bessere zeitliche Kontrolle der DSB-Induktion und dadurch eine bessere Approximation der Situation nach Exposition an ionisierende Strahlung ermöglichen.

1.3 UDE-3: Der Effekt der erhöhten DSB Komplexität durch kombinierte Behandlung mit Cisplatin und ionisierende Strahlung (IR) auf die Strahlensensitivierung von Lungenkarzinomen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

UDE-1: Bereits vorhandene klonale CHO Zelllinien mit Integrationen des Systems zur Induktion von DSB-Clustern sollen um Klone mit zusätzlichen Integrationen erweitert werden. Das System soll in eine immortalisierte humane Fibroblasten-Zelllinie eingebracht und eine Batterie an Klonen mit unterschiedlicher Anzahl von Integrationen generiert werden. Der Einfluss der DSB-Cluster auf das Zellüberleben in sämtlichen klonalen Zelllinien soll getestet werden. Der Einfluss von DSB-Clustern auf die Entstehung von chromosomalen Aberrationen soll bestimmt werden. Die Einwirkung von DSB-Clustern auf die genomische Stabilität soll anhand der Detektion einer Vielzahl genomischer Veränderungen durch Next Generation Sequencing (NGS) untersucht werden. Der Einfluss der Abstände zwischen den I-SceI Sites auf die Letalität des Clusters wird geprüft. Die Auswirkung von DSB-Clustern mit inkompatiblen Enden sowie der Resektion auf die Zellletalität wird ermittelt.

UDE-2: Parameter für eine regulierte Aktivierung der I-SceI Endonuklease im Zellkern sollen ermittelt werden. Dafür wird die Expression von mit Glucocorticoid-Rezeptor- (GCR) und Destabilisierungsdomänen (DD) gekoppelter I-SceI Proteine in Abhängigkeit der Konzentrationen der jeweiligen Liganden und ihrer Inkubationszeiten und die daraus resultierende Induktion von DSB gemessen. Im Folgenden soll das System zur induzier- und regulierbaren Expression von I-SceI in die im Rahmen von AP3 generierten Zelllinien, die bereits Integrationen des Systems zur Induktion von DSB-Clustern durch I-SceI enthalten, eingebracht werden. Dies ermöglicht eine bessere zeitliche Kontrolle der DSB Induktion und erlaubt es, den Prozess der Transfektion und den damit verbundenen Stress für die Zellen zu vermeiden. In den so erzeugten modifizierten Zellklonen sollen dann ebenfalls das Zellüberleben, die Bildung von Chromosomenaberrationen sowie weitere genomische Alterationen (NGS) in Folge der Induktion von DSB-Clustern untersucht werden.

UDE-3: Mögliche Parameter für die Cisplatin- und Strahlenresistenz werden gesucht und Strategien entwickelt um diese zu umgehen. Hierzu wollen wir die Wirkung von Cisplatin und IR induzierten komplexen DNA Schäden auf die Checkpoint-Aktivierung im Zellzyklus, die Wahl der Reparaturwege, genomische Instabilität und Strahlenempfindlichkeit in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomzelllinien (NSCLC) bewerten. Die Beziehung zwischen diesen funktionellen Endpunkten und möglichen Prädiktoren (Aktivierung unterschiedlicher Reparaturwege, Zellzyklusphasenabhängigkeit, Akkumulation residualer Schäden während fraktionierter Bestrahlung, die Chromatinstruktur, d. h. Histonmodifizierungen und EGFR Status der Zellen) werden analysiert.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

UDE-1: In CHO-WT sowie DNA-PKcs- und Ku80-mutierten Klone mit induzierbaren DSBs unterschiedlicher Komplexität wurden unter verschiedenen Bedingungen klonogenes Überleben gemessen und zytogenetische Analysen durchgeführt. DNA-PKcs-mutierte Klone zeigen eine hohe Anzahl von Translokationen und geringes Überleben nach Induktion. Die Translokationsbildung ist in Ku80-Mutanten im Vergleich zu DNA-PKcs-Mutanten geringer. Vorläufige zytogenetische Ergebnisse zeigten in DNA-PKcs-Mutanten mit Schnittstellen in umgekehrter Orientierung nach PARP1-Inhibierung eine Zunahme, während in Mutanten mit Schnittstellen in direkter Orientierung ein Rückgang von Translokationen zu beobachten war. Da die E3-Ubiquitin-Ligasen RNF8 und RNF168 eine wichtige Rolle für die Entwicklung der DDR spielen, wurde ihr Einfluss in diesem System durch RNAi untersucht. Experimente in Klonen, die einfache DSBs (1xS.D) und DSB-Cluster (4xS.R) enthalten, deuten an, dass ein Knockdown von RNF8 und RNF168 auf die Reparatur von einfachen DSBs einen stärkeren negativen Einfluss als von komplexen DSBs hat. Dies legt nahe, dass sich einfache DSBs im Vergleich zu komplexeren DSBs stärker auf c-NHEJ verlassen. Es wurden mFISH-Analysen von CHO-Klonen mit I-SceI-Schnittstellen unterschiedlicher Komplexität durchgeführt, die zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit für die Entstehung von Chromosomenaberrationen mit der Komplexität der Bruchstellen zunimmt. In humanen I-SceI Klonen konnte eine erhöhte Kontribution der resektionsabhängigen homologen Rekombination zur Reparatur von komplexen DSB-Clustern festgestellt werden. Die Sequenzierung von transgenen Zellklonen zur präzisen Lokalisation der Integrationen zur Induktion von DSBs wurden fortgeführt.

UDE-2: Bisher konnten mit den zwei neuen Plasmiden, die das chimäre ER-I-SceI-DD-Protein exprimieren, noch keine stabilen Zelllinien erzeugt werden. Daher verwendeten wir jene mit transienter Transfektion um induzierbare Zustände zu erzeugen. Unsere Ergebnisse mit diesem System bestätigen, dass gruppierte DSBs überwiegend durch resektionsabhängige DSB-Reparaturpfade verarbeitet werden.

UDE-3: Der Einfluss des MRN Komplexes auf die Strahlenempfindlichkeit nach kombinierter Radiochemotherapie mit Cisplatin (Cpt) in NSCLC Linien wurde in weiteren Zelllinien untersucht. Fluoreszenzmikroskopische Analysen zeigen erhöhte Signale des excision repair cross-complementation 1 (ERCC1) proteins bei Cpt resistenten Zelllinien. Inhibierung des MRN Komplexes mittels Mirin oder siRNA führte zu einem verstärkten strahlensensibilisierenden Effekt in sonst Cpt resistenten Zelllinien (A549, H1299, H1975), nicht aber in sensitiven Linien (H460, H661, H820). Dieser selektive Effekt des Mirin in Cpt-resistenten Zelllinien war auf die Erhöhung der CP-Addukte und dem erhöhten Anteil residualer strahleninduzierter Reparaturfoci (γ H2AX und Rad51) 24 h nach Bestrahlung in Cpt-resistenten Zelllinien, nicht aber in sensitiven Zelllinien, zurückzuführen.

Die Erhöhung der radiosensibilisierenden Wirkung von Cpt in A549 und H460 durch Metformin (MET) ging mit einer reduzierten Expression des ERCC1 Proteins einher. Dies führte zu einem erhöhten Anteil von Cpt-Addukten. Auch die Reparatursignalwege für DSBs wurden negativ beeinflusst, mit einem erniedrigten Anteil initialer Rad51 Foci sowie einem erhöhten Anteil residualer Reparaturfoci (γ H2AX, 53BP1) 24 h nach Bestrahlung.

4. Geplante Weiterarbeiten

UDE-1: Alle Experimente in mutierten CHO-Klonen mit und ohne Behandlung durch Inhibitoren sowie nach Knockdown von RNF8/168 werden wiederholt um statistische Signifikanz zu erreichen. Die Bildung chromosomaler Translokationen nach RNAi wird untersucht. Ebenso wird eine Überexpression von RNF8/168 angestrebt um deren Auswirkung auf verschiedene Endpunkte nach Induktion von DSBs zu untersuchen. Die mFISH-Analysen werden fortgeführt und mit Sequenzierungsdaten korreliert. Die durch Sequenzierung gewonnene Kenntnis der genauen Positionierung der integrierten I-SceI-Erkennungsstellen innerhalb des Genoms ermöglicht die Vorhersage potentieller Bruchpunkte und könnte die Identifizierung von Regionen bevorzugter Translokationsbildung unter verschiedenen Bedingungen ermöglichen.

UDE-2: Es wird nach alternativen Strategien zur Erzeugung eines zeitlich eng regulierbaren induzierbaren Systems gesucht. Mittlerweile werden Experimente mit transienter Transfektion durchgeführt.

UDE-3: Wir wollen den Effekt der Inhibierung des MRN Komplexes auf die Aktivierung von NER weiter untersuchen und ggf. zusätzlich weitere Zelllinien mit aufnehmen. Welchen Einfluss hat Mirin auf die Expression des ERCC1? Welchen Einfluss hat es auf die Kolo-kalisation von ERCC1 und RPA70 Foci? Hat die Inhibierung des ERCC1 denselben Effekt wie die des NER Komplexes? Wie ist der Einfluss von Mirin auf die Wirkung von unterschiedlichen Platinderivaten u. a. von Cisplatin und Oxaliplatin?

5. Berichte, Veröffentlichungen

Iliakis, M., et al.: DEFINED BIOLOGICAL MODELS OF HIGH-LET RADIATION LESIONS, Radiat Prot Dosimetry. 2018 Dec 19. doi: 10.1093/rpd/ncy248. [Epub ahead of print]

Zuwendungsempfänger: Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock	Förderkennzeichen: 02 NUK 043C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 237.438,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wolkenhauer

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die transkriptionellen Veränderungen nach DNA Schädigungen werden basierend auf Messungen von Genexpressionsdaten durch das Collar-Konsortium sowie von Datenerhebungen externer Quellen (TRANSFAC, String Datenbank) genutzt um genregulatorische Netzwerke, die zelluläre Mechanismen und regulatorische Interaktionen von DNA Schadensantworten beschreiben, vorher zu sagen. Zu diesem Zweck werden neue Herangehensweisen für die Kombination heterogener Netzwerkinterferenzen entwickelt und anhand von Computermodellen und experimentellen Genexpressionsdaten evaluiert. In Zusammenarbeit mit der Universität Duisburg-Essen und dem Forschungszentrum Jülich wird ein bioinformatischer Arbeitsablauf für die Datenanalyse von Sequenzierungen zu Genexpressionen erstellt und in Folge dessen zelluläre Antworten nach unterschiedlich komplexen Doppelstrangbrüchen untersucht. Außerdem werden die durch Doppelstrangbrüchen induzierten Einflüsse auf Hetero- und Euchromatin (via ^{125}I -UdR) in den drei Zellzyklusphasen (G2, G1, S Phase) untersucht. Das Rahmenkonzept beinhaltet eine multivariate, statistische Analyse, Algorithmen zur Mustererkennung und eine funktionelle Analyse wichtiger Signalwege, die aktive Veränderungen zeigen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Identifizierung und Auswahl von öffentlich verfügbaren und geeigneten Genexpressionsdatensätzen
- AP2: Entwicklung eines halbautomatischen bioinformatischen Arbeitsablaufes für die Analyse von Genexpressionsdaten und weiterführenden Datentypen
- AP3: Untersuchung von genomweiten Expressionsveränderungen nach der Anpassung und der zielgerichteten Schädigung an Hetero- und Euchromatin
- AP4: Vorhersage von genregulatorischen Netzwerken, die zelluläre Antworten nach strahlungsinduzierten DNA-Doppelstrangbrüchen aufzeigen
- AP5: Entwicklung eines Arbeitsablaufes für die Prozessierung von „Next Generation Sequencing“ Daten um genomische Veränderungen, generiert durch Anhäufung von Doppelstrangbrüchen, aufklären zu können

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurden zusätzliche Datenbanken (lncRNA-miRNA und TF-target Wechselwirkungen) recherchiert, die in den halbautomatischen Arbeitsablauf für die Datenvorverarbeitung integriert werden können.
- AP2: Zwei Mikroarray Datensätze, einer aus einer vorangegangenen Studie der andere aus öffentlich verfügbaren Mikroarray Datensätzen, die sich auf dem Gene Expression Omnibus (GEO) befinden, wurden analysiert. Dabei konnten signifikante Kandidaten für strahlungs-reagierende Gene identifiziert werden. Diese Kandidaten zeigten sich für verschiedene Strahlungsdosen und Zeitpunkte in beiden Datensätzen. Die zuvor entwickelte Pipeline für die multiplen Sklerose Datensätze wurde angepasst, um auf die obigen Datensätze anwendbar zu sein. Aus den Datensätzen zu Hetero- und Euchromatin und zu Radon-bestrahlten Adipozyten konnten signifikante Kandidaten für strahlungs-reagierende Gene identifiziert werden.
- AP3: Aus den Datensätzen zu Hetero- und Euchromatin und zu Radon-bestrahlten Adipozyten konnten signifikante Kandidaten für strahlungsreagierende Gene identifiziert werden.
- AP4: Die benötigten Netzwerke zur weiterführenden Analyse der Daten aus AP2 wurden erstellt. Diese Netzwerke sollen analysiert werden.
- AP5: Die „Next Generation Sequencing“- (NGS)-Daten wurden verschiedenen Qualitätskontrollen unterzogen. Die NGS-Daten wurden auf ein Referenzgenom abgebildet und weitere Qualitätskontrollen durchgeführt. Die verschiedenen Variationen der untersuchten Gene in den NGS-Daten wurden untersucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Netzwerkanalyse in AP2 soll abgeschlossen werden. Weiterhin soll die hierfür entwickelte Pipeline auch auf die signifikanten Kandidaten für strahlungsreagierende Gene im Zusammenhang mit Hetero- und Euchromatin oder mit Radon-bestrahlten Adipozyten angewendet werden. Es werden auch Netzwerke aufgebaut, die auf NGS-Genkandidaten basieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Wolfien M: Vortrag über „Structured Analysis and Integration of RNA-Seq Experiments: de.STAIR“ auf dem 2ten NGS Workshop in MV in Dummerstorf (10.10.2018)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 045A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019		Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 988.930,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Graw

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In der Frage niedriger Dosen ionisierender Strahlen besteht dringender Forschungsbedarf sowohl hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen als auch hinsichtlich der biologischen Mechanismen. Bereits vor Beginn des Projekts wurden die Mäuse einmalig im Alter von 10 Wochen mit Dosen zwischen 0 Gy und 0,5 Gy (^{60}Co) bestrahlt und die Auswirkungen auf das Auge und das Verhalten der Mäuse beiderlei Geschlechts im Verlauf der folgenden 2 Jahre betrachtet. In dieser Zeit wurden systematisch biologische Proben verschiedener Organe, Blutzellen und Plasma gesammelt. Diese Proben werden mit vielfältigen molekularen und „OMICS“-Untersuchungen einschließlich einer systembiologischen Analyse auf strahleninduzierte Veränderungen untersucht. Das Ziel des Verbundes ist es, ein ganzheitliches Verständnis der Wirkung niedriger Dosen ionisierender Strahlen auf einen Säugetierorganismus zu erhalten. Das Vorhaben leistet einen Beitrag zum Förderschwerpunkt „Strahlenforschung“ und hier insbesondere zur Nachwuchsförderung auf dem Gebiet der Strahlenbiologie im Rahmen des „Kompetenzverbund Strahlenforschung - KVSF“.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Augenruppe (HMGU-Auge; Jochen Graw; AP1) untersucht die Auswirkungen niedriger Strahlendosen auf die Linse und die Retina.

Das Verhaltensteam (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter; AP2) untersucht die Auswirkungen niedriger Strahlendosen auf das Verhalten von Mäusen und Veränderungen im Gehirn.

Die Transkriptomgruppe (HMGU-ZYTO, Kristian Unger, AP5) analysiert die Transkriptomte in einen Teil der asservierten Organe.

Die Bestrahlungsgruppe (HMGU-AMSD, Helmut Schlattl; Z1) berät die Projektpartner hinsichtlich einer optimierten Bestrahlungsplanung betreut den nötigen Anlagenbetrieb.

Die Pathologie-Gruppe (HMGU-Patho, Frauke Neff; Z2) führt eine standardisierte Sektion der wichtigsten Organe aller Mäuse aus der Studie durch.

Die Datenintegrations-Gruppe (HMGU-ICB, Fabian Theis; Z3) verknüpft die Daten der einzelnen Arbeitspakete und führt eine systembiologische Analyse durch.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Ergebnisse des 2. Halbjahres 2018 wurden im Rahmen einer INSTRA-Vollversammlung am 06.12.2018 vorgetragen und diskutiert; hier erfolgt nur eine kurze Darstellung:

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Die histologischen Analysen der Linsen 24 Monate nach Bestrahlung haben ergeben, dass gehäuft posteriore und/oder anteriore Katarakte auftreten, sodass alle Proben 12-24 Monate nach Bestrahlung untersucht werden. Die Bestrahlung von Linsenepithelzellen zeigte ein Verschwinden der Doppelstrangbrüche (angezeigt durch γ H2AX und 53BP1) nach 24 h.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die immunhistochemischen Untersuchungen an Gehirnschnitten ergaben einen dosisabhängigen Effekt auf die Anzahl von Neuronen und Gliazellen im Gyrus dentatus des Hippocampus 24 Monate nach Bestrahlung. Mit spezifischen Markern wird nun der Frage nachgegangen, ob dies durch eine erhöhte Neuroinflammation begründet ist.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die Ergebnisse der Transkriptom-Analyse im Blut wurden detaillierter untersucht; bei den höheren Altersgruppen standen nur noch wenige Tiere zur Verfügung. Die Untersuchungen von Schilddrüsengewebe wurde begonnen; es wurden 9 Proben mit neoplastischen, papillären Strukturen mit korrespondierendem Normalgewebe und nicht verändertem Schilddrüsengewebe von scheinbestrahlten Mäusen für das Ausschneiden von Gewebeproben ausgewählt. Aus den daraus isolierten RNA Proben wurden Transkriptomprofile erstellt.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es wurden keine Bestrahlungen mehr für das Projekt durchgeführt.

Z2: Pathologie (HMGU-PATHO; Frauke Neff): ausgeschieden

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Um Effektivität und Benutzerfreundlichkeit maximieren zu können, wurde eine neues, auf Graphenstruktur basierendes, Datenbankmodell für INSTRA entwickelt. Die neue Datenbankstruktur homogenisiert zuvor erstellte Daten und beschleunigt Datenbankabfragen, welche für die Integration der Daten notwendig ist.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Es werden weitere histologische Analysen der Proben von 12-14 Monate nach Bestrahlung durchgeführt, um den Beginn der Veränderungen festzustellen.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die immunhistologischen Untersuchungen an Gehirnschnitten werden fortgeführt, um eine mögliche erhöhte Neuroinflammation zu erkennen.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die 9 Fälle mit Schilddrüsentumoren werden histologisch analysiert, um die perfekte Lage zur Probenentnahme zu ermitteln, und um damit die Zahl der benötigten Proben für die Transkriptom-Analyse des Blutes festzulegen.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es werden keine Bestrahlungen durchgeführt.

Z2: Pathologie (PATHO; Frauke Neff): ausgeschieden

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Neu erstellte Daten werden in die INSTRA Datenbank eingepflegt. Basierend auf den neu gewonnenen Informationen wird das Regressionsmodell zur Datenintegration weiterentwickelt und optimiert um anschließend die homogenisierten Daten zu analysieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Es wurden die INSTRA-Ergebnisse auf verschiedenen deutschen und internationalen Kongressen vorgestellt.

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 045B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 30.04.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 262.634,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kulka	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In der Frage niedriger Dosen ionisierender Strahlen besteht dringender Forschungsbedarf sowohl hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen als auch hinsichtlich der biologischen Mechanismen. Bereits vor Beginn des Projekts wurden die Mäuse einmalig im Alter von 10 Wochen mit Dosen zwischen 0 mGy und 500 mGy (^{60}Co) bestrahlt und die Auswirkungen auf das Auge und das Verhalten der Mäuse beiderlei Geschlechts und zweierlei Genotypen im Verlauf der folgenden 2 Jahre betrachtet. In dieser Zeit wurden systematisch biologische Proben verschiedener Organe und Plasma gesammelt. Diese Proben werden mit vielfältigen molekularen und „OMICS“-Untersuchungen einschließlich einer systembiologischen Analyse auf strahleninduzierte Veränderungen untersucht. Das Ziel des Verbundes ist es, ein ganzheitliches Verständnis der Wirkung niedriger Dosen ionisierender Strahlen auf einen Säugetierorganismus zu erhalten. Verschiedene Fragestellungen sollten verfolgt werden: (i) Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen 0 Gy und 500 mGy zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung der Tiere (24 Stunden, 12, 18, 24 Monate nach Bestrahlung) (ii) Vergleich der Effekte der verschiedenen Strahlendosen (0 mGy, 63 mGy, 125 mGy, 500 mGy) (iii) Einfluss der rezessiven Mutation *Erc*^{2S737P} auf dem Phänotyp. Das Vorhaben leistet einen Beitrag zum Forschungsschwerpunkt „Strahlenforschung“ und hier insbesondere zur Nachwuchsförderung auf dem Gebiet der Strahlenbiologie im Rahmen des „Kompetenzverbund Strahlenforschung - KVSF“.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Untersuchungen von Markern für Herz-Kreislauf- und Entzündungserkrankungen (AP3; Ulrike Kulka, Sabine Hornhardt, Maria Gomolka, Monika Hauptmann, Ute Rößler):

AP1: Untersuchungen am Plasma:

Das gesammelte und isolierte Blutplasma wird für die Bestimmung inflammatorischer Faktoren und Stoffwechselmetaboliten verwendet.

AP2: Untersuchungen an der Milz:

Durch Proteomanalysen wurden Proteine identifiziert, die möglicherweise als Kandidaten für Strahlenempfindlichkeit angesehen werden können. Diese Daten wurden an humanen lymphblastoiden Zelllinien und Fibroblastenzellen erhoben und sollen nun an den Milzzellen der Mäuse verifiziert werden.

AP3: Untersuchungen an der Leber:

In kryokonserviertem Material der Mäuseleber soll die Strahlenantwort auf der Ebene der Phosphoproteine mittels Proteomics untersucht werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zu 1: Untersuchungen am Plasma: Strahleninduzierte inflammatorische Faktoren wurden in wissenschaftlich-technischer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Dr. Stefan Lehr am Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie des Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf (Unterauftragnehmer) untersucht. Dabei werden mit Hilfe des Multiplex Immunassays Konzentrationsveränderungen von 32 Zytokinen und C-reaktivem Protein (CRP) gemessen. Hierfür wurde eine Auswahl Plasmaproben von 121 männlichen Versuchstieren getroffen. Die Auswertung der Daten wurde im zweiten Halbjahr abgeschlossen. Von den gemessenen 32 Zytokinen konnten 8 Zytokine in die Auswertung gehen, von den restlichen 24 Zytokinen waren einige Messungen unter der Nachweisgrenze. Dabei konnte eine strahlenabhängige, negative Tendenz der Konzentration von Eotaxin über alle Zeitpunkte beobachtet werden. Dies bestätigt ebenfalls die Analyse der ersten Messung im Jahr 2016. Eotaxin vermittelt physiologisch oxidativen Stress und ist als Reaktion auf ionisierende Strahlung herunterreguliert. Zudem gab es einen signifikanten Anstieg von G-CSF 24 Stunden nach Bestrahlung. G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating factor) spielt eine Rolle in der inflammatorischen Reaktion und vor allem in der nativen Immunabwehr. Die Expression der gemessenen Zytokine zeigt große interindividuelle Variabilität.

Zu 2: Untersuchungen an der Milz: Die Herstellung von Proteinextrakten aus Milzgewebe wurde abgeschlossen. In ersten Experimenten wurden 13 Kandidatenproteine mittels Western Blot analysiert, um die Wirkung der Strahlendosis 500 mGy zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung der Tiere (4, 24 Stunden, 12, 18 Monate nach Bestrahlung) zu verfolgen. Ein strahlenabhängiger Effekt konnte bei keinem der Proteine festgestellt werden. In Proben aller Behandlungsgruppen konnte 18 Monate nach Bestrahlung im Vergleich zu früheren Zeitpunkten ein Anstieg der Expression von p53 beobachtet werden. Dieser Alterseffekt wird momentan noch in laufenden Experimenten weiter untersucht.

Zu 3: Untersuchungen an der Leber: Die Analyse der Proteinexpression in der Leber wurde mittels 2D-DIGE durchgeführt. Es gingen 126 Tiere in die Untersuchungen ein, dabei wurde der Fokus auf die Zeitpunkte 24 Stunden und 18 Monate gelegt. Nach der Auswertung mit dem Programm ProteomweaverTM wurden 110 differenziell regulierte Proteine massenspektrometrisch mittels MALDI-TOF in Düsseldorf untersucht. 32 der deregulierten Proteinspots können identifiziert werden. 25 identifizierte Proteine betreffen dabei zelluläre und metabolische Prozesse und Signalwege. Das Programm DeCyderTM wurde für die weitergehende Auswertung der Proteomics-Daten herangezogen. Diese dauert momentan noch an.

Das BFS beteiligte sich bei allen Arbeiten zur Asservierung der Mausorgane.

Das zweite Jahrestreffen 2018 des INSTRA-Verbundes fand am 06.12.2018 am Helmholtz-Zentrum München statt.

4. Geplante Weiterarbeiten

In der Schlussphase werden die Ergebnisse der DIGE-Auswertung durch die Programme ProteomweaverTM und DeCyderTM 2D verglichen und gegebenenfalls noch weitere Spots massenspektrometrisch analysiert. Die mittels MALDI TOF-Analyse identifizierten Proteine müssen noch mittels Western Blot validiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Dalke C., et al.: Lifetime study in mice after acute low-dose ionizing radiation: a multifactorial study with special focus on cataract risk. *Radiat Environ Biophys* 2018; 57:99-113.

Stellner N, et al.: Lifetime Study in whole-body irradiated mice focusing on markers for radiation-induced DNA damage and inflammatory processes. Poster *Jahrestagung der Gesellschaft für Strahlenbiologie (GBS)*, 17.-19.09.2018, Frankfurt/Main

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München	Förderkennzeichen: 02 NUK 045C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018
Gesamtkosten des Vorhabens: 208.353,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Atkinson

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In der Frage niedriger Dosen ionisierender Strahlen besteht dringender Forschungsbedarf sowohl hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen als auch hinsichtlich der biologischen Mechanismen. Bereits vor Beginn des Projekts wurden die Mäuse einmalig im Alter von 10 Wochen mit Dosen zwischen 0 Gy und 0,5 Gy (^{60}Co) bestrahlt und die Auswirkungen auf das Auge und das Verhalten der Mäuse beiderlei Geschlechts im Verlauf der folgenden 2 Jahre betrachtet. In dieser Zeit wurden systematisch biologische Proben verschiedener Organe, Blutzellen und Plasma gesammelt. Diese Proben werden mit vielfältigen molekularen und „OMICS“-Untersuchungen einschließlich einer systembiologischen Analyse auf strahleninduzierte Veränderungen untersucht. Das Ziel des Verbundes ist es, ein ganzheitliches Verständnis der Wirkung niedriger Dosen ionisierender Strahlen auf einen Säugetierorganismus zu erhalten. Das Vorhaben leistet einen Beitrag zum Förderschwerpunkt „Strahlenforschung“ und hier insbesondere zur Nachwuchsförderung auf dem Gebiet der Strahlenbiologie im Rahmen des „Kompetenzverbund Strahlenforschung - KVSF“.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Vergleichende Proteom-Analyse von Hippocampus und Cortex Schein-bestrahlter und bestrahlter Wildtyp- und heterozygoter (Ercc2) Mausmutanten. Erkenntnisse der in vivo Beobachtungen werden in vitro unter Verwendung zweier Zellmodelle (HT22- und Ntera2-Zellen) vertieft.
- AP2: Analyse strahlen-induzierter Proteom-Veränderungen im Herz von Wildtyp- und heterozygoter (Ercc2) Mausmutanten.
- AP3: Proteom-Analyse mesenchymaler Stammzellen (MSCs) von Wildtyp- und heterozygoter (Ercc2) Mausmutanten. Fokus hierbei liegt auf Proteinen, die mit dem Verlust der Stammzell-Multipotenz, Differenzierung und Seneszenz in Zusammenhang stehen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurde eine Alters- und Dosisabhängige Veränderung im Verhalten der Mäuse festgestellt, deren molekulare Ursachen durch Proteomanalysen untersucht wurden. Für das Protein-Profiling wurde eine markierungsfreie („label-free“) LS-MS/MS Quantifizierung durchgeführt und mit der Software „Progenesis Q1“ ausgewertet. Die Ergebnisse der Proteom-Analyse zeigten signifikante Unterschiede, die abhängig von Geschlecht und Genotyp variierten. Die größte Veränderung im Proteom wurde bei den Wildtyp-Männchen nach 4 Monaten und bei den Wildtyp-Weibchen nach 24 Monaten nach der Bestrahlung festgestellt. Die MS-Daten dieser Gruppen wurden unter Verwendung des Software-Tools „INGENUITY Pathway Analysis“ bioinformatisch ausgewertet. Der zentrale deregulierte Signalweg nach Bestrahlung war der CREB Signalweg. Dieser spielt eine wichtige Rolle in der Erhaltung der normalen Funktionalität von Neuronen, indem die Apoptose blockiert und die Proteinbiosynthese induziert wird. Durch Western Blot-Analyse zentraler Proteine konnte die Relevanz in der Strahlenantwort verifiziert werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass 24 Monate nach Bestrahlung bei den Wildtyp-Weibchen, abhängig von der Strahlendosis, anti-oxidative Signalwege aktiv sind. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass nach niedrigdosierte Bestrahlung (0.063 Gy) eine neuroprotektive Wirkung hat. Eine moderate Dosis (0.125 Gy) induzierte sowohl schützende Mechanismen, führte allerdings schon zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses. In der höchsten Dosis (0.5 Gy) konnten verschiedene Anzeichen für Entzündung und Zelltod gemessen werden. Diese Ergebnisse können die in den Verhaltenstests beobachteten Veränderungen erklären und stimmen mit Ergebnissen der anderen Teilprojekte überein. Zudem wurden die Effekte von niedriger Dosisstrahlung *in vitro* untersucht. Dazu wurde die immortalisierte Zelllinie des murinen Hippokampus HT22 verwendet. Es konnte gezeigt werden, dass bei der niedrigsten Dosis von 0.063 Gy die DNA-Brüche langsamer repariert wurden als bei den höheren Dosen (0.125, 0.5 und 2 Gy). Nur die mit 0.5 Gy und 2 Gy bestrahlten Zellen waren in der Lage einen Zellzyklus anzuhalten, was wiederum die Erklärung für die präzisere DNA Reparatur als bei der niedrigsten Dosis sein könnte. Um die Strahlensensitivität zu messen wurde ein Apoptose-Experiment gemacht, dass aber keine signifikante Zelltodrate bei irgendeiner Dosis zeigte.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Regulierung des Transkriptionsfaktors CREB soll in allen Proben über die Zeit verfolgt werden. Zudem wird die in den MS-Daten gefundene Deregulierung von Neurofilamentproteinen mittels eines Western-Blotting-Verfahrens validiert.

Die finalen Ergebnisse werden mit den immunhistochemischen Analysen von AP2 verglichen werden und zu einem Manuskript zusammen gefasst.

Die mesenchymale Stammzellen, die aus dem Knochenmark der zu untersuchenden Tiere isoliert wurden, werden kurzzeitig für die Proteom-Analyse *in vitro* propagiert und hinsichtlich der Expression von Stammzell-Markern charakterisiert. Speziell werden Proteine untersucht, die mit Verlust der Stammzell-Multipotenz, mit einer verstärkten spontanen Differenzierung sowie beschleunigter Seneszenz im Zusammenhang stehen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 806.645,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Zitzelsberger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Verbundprojekts ZiSStrans sollen molekulare Zielstrukturen und Signalnetzwerke identifiziert werden, die eine Modulation der zellulären Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals-Tumoren erlauben, ohne die Normalgewebstoxizität zu erhöhen. Ausgehend von den im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Signalnetzwerken der Strahlenantwort werden Zellkultur- und Tiermodelle zur Charakterisierung der Signalwege, zur systembiologischen Modellierung der Netzwerke und zur Validierung identifizierter Netzwerkpräsentanten eingesetzt. Die gewonnenen Hypothesen werden in translationalen Studien an Tumor- und Normalgewebeproben von Patientenkollektiven untersucht, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind.

Dabei soll der wissenschaftliche Austausch und Nachwuchs gefördert werden und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden.

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (HGMU; Koordination), Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin (CUB), Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen (IFZ), Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilian-Universität München (LMU), Klinik für Strahlenheilkunde Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg (UKF).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in vier Arbeitspakete (APs) unterteilt, die von den sechs Projektpartnern (HMGU, BfS, CUB, IFZ, LMU und UKF) gemeinsam bearbeitet werden:

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP1.1: Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort

Die Analyse der zeitaufgelösten Transkriptomdaten der LUCY und Cal33 Zellkulturmodelle hinsichtlich der Identifizierung von übergeordneten Transkriptionsregulatoren wurde abgeschlossen. Die Transkriptomdaten von Mausexplantaten (UKE) wurden generiert und werden derzeit analysiert. Die Daten aus RNAseq, DNA Methylierungsarrays und Whole Exome Sequenzierung wurden präprozessiert und werden derzeit analysiert.

AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken

AP2.1: Funktionelle Analyse der Wirkung von Repräsentanten der untersuchten Netzwerke auf die Strahlensensitivität von Tumorzellen in vitro

Zur funktionellen Charakterisierung und präklinischen Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken wurde vom Projektpartner LMU ein HNSCC- Zelllinien Panel (n=11) zur Verfügung gestellt. Dieses wurde am HMGU zusammen mit der immortalisierten humanen Keratinozyten-Zelllinie (OKF6/Tert1) expandiert, auf Mykoplasmen untersucht und deren Abstammung mittels STR-Analyse sichergestellt. Im Anschluss wurde das HNSCC-Panel für weitere Analysen an das IFZ und BfS verteilt.

Am Halbjahres-Meeting des Verbundes ZiSStrans am 22./23.11 am BfS München wurde beschlossen eine gemeinsame Publikation mit dem Fokus auf der Charakterisierung des unbehandelten HNSCC- Zelllinien-Panels anzustreben. Hierfür wurden am HMGU Omics Daten (Whole RNA Sequencing, Exome Sequencing, DNA Methylation) generiert, die derzeit ausgewertet werden. Zudem wird die Charakterisierung des HNSCC-Zelllinien Panels mittels SKY, aCGH (HMGU) und Radiosensitivierungsdaten (LMU) weiter vervollständigt.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP3.1: Retrospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Tumorgewebe

Die Aufarbeitung des prospektiven Tumorkollektivs adjuvant strahlentherapierter HNSCC Patienten (LMU-KKG Kollektiv) wurde weiter vorangetrieben. Aus Gewebeproben wurde RNA und DNA isoliert sowie der HPV-Status der Tumorproben ermittelt (immunhistochemische Färbung von p16^{INK4a} und PCR-Analysen zum Nachweis von HPV auf DNA-Ebene). Des Weiteren wurden globale Mikroarray-Analysen (aCGH und miRNA) erhoben, deren Datenanalyse derzeit erfolgt.

Aus Tumorblöcken des prospektiven und retrospektiven Tumorkollektivs adjuvant strahlentherapierter HNSCC Patienten wurden zudem Gewebe-Mikroarrays erstellt.

Aus dem retrospektiven Tumorkollektiv adjuvant strahlentherapierter HNSCC Patienten konnte eine 5-miRNA-Signatur zu identifiziert werden (Hess et al., 2018), die eine Patientenstratifikation von HPV-negativen Patienten im Hinblick auf Überleben und Tumorkontrolle ermöglicht.

AP3.3: Prospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Tumor- und Normalgeweben

Vom Projektpartner Freiburg (UKF) wurden primäre Keratinozyten-Zellen für die Etablierung von Chromosomenanalysen an Metaphasenpräparaten zur Verfügung gestellt. Hierzu wurde am HMGU ein Protokoll zur Metaphasenpräparation für primäre Zellen und geringe Zellzahlen etabliert und die Ergebnisse am Halbjahres-Meeting des Verbundes ZiSStrans am 22./23.11 am BfS München vorgestellt.

AP4: Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch

AP4.3: Interdisziplinärer Austausch

Theresa Heider besuchte das UKF vom 16.-17.7.18 zum Laboraustausch und erlernte den Spread-Assay. Diesen wendete sie erfolgreich am HMGU an zwei HNSCC-Zelllinien (Cal33 und Cal27) und der immortalisierten humanen Keratinozyten-Zelllinie OKF6/Tert-1 an.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes ZiSStrans fand am 22./23. November am BfS in München statt. Für das HMGU nahmen H. Zitzelsberger, K. Unger, J. Hess, T. Heider und S. Mwibieri teil.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Hess, J. et al. (2018): A Five-MicroRNA Signature Predicts Survival and Disease Control of Patients with Head and Neck Cancer Negative for HPV-infection. *Clinical Cancer Research* 2018, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0776

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 047B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 516.332,00 EUR	Projektleiter: Dr. Hornhardt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete Ziel dieses Verbundprojekts ist die Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die die zelluläre Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals Tumoren modulieren. In einem zweiten Schritt werden diese Signalwege und Repräsentanten auch in Normalgeweben auf ihre Beteiligung bei Strahlenreaktionen überprüft. Basierend auf den in vitro und in vivo Modellen mit charakterisierter Strahlenempfindlichkeit des Vorgängerprojekts ZiSS (02NUK024) und den identifizierten gemeinsamen Signalwegen von strahlenresistenten, normalsensitiven und hypersensitiven Zellkulturmodellen wird die Hypothese überprüft, ob diese gemeinsamen Signalwege eine zentrale Bedeutung bei der Ausprägung eines strahlenresistenten Phänotyps in Kopf-Hals Tumoren sowie bei der Strahlenreaktion im Normalgewebe haben. Durch Perturbationsexperimente werden die regulatorischen Netzwerke modelliert, um zentrale Netzwerkrepräsentanten als mögliche Biomarker und therapeutische Angriffspunkte zu charakterisieren. Konsequenterweise erfolgt daraufhin die Übertragung der Erkenntnisse aus den präklinischen in vitro und in vivo Modellen auf menschliche Primärgewebeprobe. Hierzu werden zunächst geeignete Nachweismethoden entwickelt und etabliert. Darüber hinaus werden Kollektive für Tumor- und Normalgewebe etabliert, die eine Verknüpfung der gemessenen Marker mit klinisch strahlenempfindlichen oder strahlenresistenten Phänotypen erlauben. Schließlich sollen im geplanten Verbundprojekt der wissenschaftliche Austausch und Nachwuchs gefördert werden und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden. Weitere Verbundpartner sind Abt. für Strahlenzytogenetik, HelmholtzZentrum München; Institut für Pathologie, Charite Berlin; Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen; Klinik u. Poliklinik für Strahlentherapie u. Radioonkologie, Ludwig-Maximilians-Universität München; Klinik für Strahlenheilkunde, Universitätsklinikum Freiburg.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
Schwerpunkt BfS: 1.3 Implementierung von Nachweismethoden
- AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken
Schwerpunkt BfS: 2.4 Funktionelle Analyse und Validierung therapeutisch relevanter Netzwerkrepräsentanten und Knotenpunkte für die Normalgewebstoxizität in vitro
- AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe
Schwerpunkt BfS: 3.2 Retrospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Normalgewebe; 3.3 Prospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Tumor- und Normalgeweben
- AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch
Alle Arbeiten erfolgen in enger Zusammenarbeit mit den Verbundpartnern

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Krankheitsbedingt und aufgrund des Weggangs des bearbeitenden Wissenschaftlers wurden in erster Linie Evaluationsarbeiten an bereits generierten Daten vorgenommen.

- AP1: Aus der Sichtung der durch den 2D-DIGE Screen identifiziert Proteine gingen vor allem zellzyklusspezifische Proteine sowie Proteinuntereinheiten des Prä-Replikationskomplexes und Strukturproteine hervor. Aus Netzwerkanalysen und Signaltransduktionswegen wurden vielversprechende Netzwerkknoten/Repräsentanten ermittelt und Interaktionspartner des G1/S-spezifischen Rb-Netzwerkes als Marker-Kandidaten identifiziert. Rb, RbAP48, mehrere Untereinheiten des MCM-Proteinkomplexes und seine Interaktionspartner Cdc6 und Cdc45 sowie Strukturproteine (LaminA, Septin) wurden für weitere Untersuchungen ausgewählt.
- AP2: Um die ausgewählten Protein-Kandidaten auf ihr Potential als Biomarker der Strahlensensitivität zu testen, wurden die Proteinlevel der ausgewählten Kandidatenproteine Rb, RbAP48, LaminA, Septin, Cdc6, Cdc45 und der Untereinheiten des MCM-Proteinkomplexes auf ihre Abundanzmuster in Zellextrakten lymphoblastoider Zelllinien untersucht. Hierzu wurden Zeitverlaufsexperimente von asynchronen Kulturen normaler (20037) sowie verschiedenen sensibler LCL Patienten-Zelllinien (4028, 4039, 4040, 4060, 4064) durchgeführt. Durch Western Blot Analyse wurden die Kandidaten-Proteine untersucht und die spezifischen Proteinmengen zu verschiedenen Zeitpunkten in den unbestrahlten sowie mit 10 Gy bestrahlten Zellen bestimmt und verglichen. Die Analyse der Proteinlevel zeigte bei mehreren der Kandidaten ein signifikant unterschiedliches Abundanzmuster zwischen der normal-sensitiven Linie 20037 und der radiosensitiven Linie 4060. Diese möglicherweise strahlungsabhängigen Veränderungen in den Proteinmengen der Interaktionspartner bzw. eine Veränderung in der Komplexstöchiometrie müssen überprüft werden.
- AP3: Es wurden mit allen Verbundpartnern Grundlagen zur Aufarbeitung und Analyse des Patientenmaterials des Partners Universitätsklinikum Freiburg ausgearbeitet. Es werden regelmäßig Blutproben von Patienten aus Freiburg im BfS aufgearbeitet.

Das Projekttreffen aller Kooperationspartner fand am 22.-23. November 2018 am BfS, organisiert vom HMGU, statt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 047C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 688.212,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lauber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Verbundprojekts ZiSStrans sollen molekulare Zielstrukturen und Signalnetzwerke identifiziert werden, die eine Modulation der zellulären Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals-Tumoren erlauben, ohne die Normalgewebstoxizität zu erhöhen. Ausgehend von den im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Signalnetzwerken der Strahlenantwort werden Zellkultur- und Tiermodelle zur Charakterisierung der Signalwege, zur systembiologischen Modellierung der Netzwerke und zur Validierung identifizierter Netzwerkpräsentanten eingesetzt. Die gewonnenen Hypothesen werden in translationalen Studien an Tumor- und Normalgewebeproben von Patientenkollektiven untersucht, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind.

Dabei soll der wissenschaftliche Austausch und Nachwuchs gefördert werden und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden.

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (HMGU; Koordination), Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin (CUB), Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen (IFZ), Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilian-Universität München (LMU), Klinik für Strahlenheilkunde Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg (UKF)

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in vier Arbeitspakete (APs) unterteilt, die von den sechs Projektpartnern (HMGU, BfS, CUB, IFZ, LMU und UKF) gemeinsam bearbeitet werden:

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des Projektpartners LMU zu AP1-4 dargestellt: Gemeinsam mit den anderen Projektpartnern wurde die geplante Publikation zur Bedeutung der zellulären Seneszenz und des damit verbundenen sekretorischen Phänotyps weiterbearbeitet. Die Abbildungen wurden finalisiert, und erste Teile des Manuskripttexts wurden erstellt und überarbeitet. Eine Submission ist für Q2/3-2019 geplant.

Die Daten, die mit den generierten radioresistenten Cal33-Zellklonen von den verschiedenen Partnern erhoben wurden, wurden gesichtet und zusammengestellt. Aus Gewebeproben explantierter Tumore, die vom Partner IFZ generiert wurden, wurde RNA extrahiert. Diese soll für RNASeq-Untersuchungen an den Partner HMGU weitergegeben werden. Ziel ist die zeitnahe Erstellung eines Publikationskonzepts.

Darüber hinaus wurden aus der heterogenen Ausgangszelllinie Cal33 insgesamt 20 neue Subklone isoliert, die aktuell radiobiologisch und zellbiologisch charakterisiert werden.

Für die geplante HNSCC-Zelllinien-Publikation wurde die Erhebung von Klonogenitätsdaten abgeschlossen.

Dr. Radostin Galabov, der neu rekrutierte wissenschaftliche PostDoc-Mitarbeiter, wurde erfolgreich eingearbeitet und ist nun mit allen erforderlichen Techniken zur Fortsetzung des Projekts vertraut. Da die Nachbesetzung dieser Stelle mit einem geeigneten Mitarbeiter sehr lange gedauert hat, ist leider eine Verzögerung von 10 Monaten in der Projektbearbeitung eingetreten.

Sonstiges:

Dr. Radostin Galabov besuchte gemeinsam mit Mitarbeiterinnen des Partners IFZ vom 07.-08.01.2019 den Partner UKF (Laboraustausch) zur Erlernung der primären Keratinozytenkultur. Die dort generierten Proben befinden sich aktuell in der Aufarbeitung.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 22./23.11.2018 am BfS in München statt. Für den Partner LMU nahmen Radostin Galabov und Kirsten Lauber teil.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Da die Nachbesetzung dieser Stelle mit einem geeigneten Mitarbeiter sehr lange gedauert hat, ist leider eine Verzögerung von 10 Monaten in der Projektbearbeitung eingetreten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Krombach J, Hennel R, Brix N, Orth M, Schoetz U, Ernst A, Schuster J, Zuchtriegel G, Reichel CA, Bierschenk S, Sperandio M, Vogl T, Unkel S, Belka C, Lauber K: Priming anti-tumor immunity by radiotherapy: Dying tumor cell-derived DAMPs trigger endothelial cell activation and recruitment of myeloid cells. *Oncoimmunology*.8(1):e1523097. doi: 10.1080/2162402X.2018.1523097. eCollection 2019

Kongressbeiträge:

Klymenko O, Baumeister P, Drexler GA, Zitzelsberger H, Unger K, Hess J, Schotz U, Belka C, Lauber K: HNSCC derived cell lines and subclones differ in genomic copy number changes and radiation response. *Strahlenther Onkol* 194, S54-55, Meeting Abstract: DEGRO Jahrestagung Leipzig

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 047D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 739.080,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Jendrossek	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Verbundprojekts ZiSStrans sollen molekulare Zielstrukturen und Signalnetzwerke identifiziert werden, die eine Modulation der zellulären Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals-Tumoren erlauben, ohne die Normalgewebstoxizität zu erhöhen. Ausgehend von den im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Signalnetzwerken der Strahlenantwort werden Zellkultur- und Tiermodelle zur Charakterisierung der Signalwege, zur systembiologischen Modellierung der Netzwerke und zur Validierung identifizierter Netzwerkpräsentanten eingesetzt. Die gewonnenen Hypothesen werden in translationalen Studien an Tumor- und Normalgewebeproben von Patientenkollektiven untersucht, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind. Dabei soll der wissenschaftliche Austausch und Nachwuchs gefördert werden und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden.

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (HMGU; Koordination), Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin (CUB), Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen (IFZ), Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), Klinik für Strahlenheilkunde Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg (UKF)

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in vier Arbeitspakete (APs) unterteilt, die von den sechs Projektpartnern (HMGU, BfS, CUB, IFZ, LMU und UKF) gemeinsam bearbeitet werden:

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
- AP2: HNSCC-Tumormodelle und Normalgewebsmodelle zur funktionellen Charakterisierung und präklinischen Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken
- AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe
- AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeiten des IFZ in AP1-4:

Die Versuchsserien zur Analyse des differentiellen Einflusses der pharmakologischen Inhibition eines in ZiSS identifizierten SASP Faktors auf die Strahlenantwort von subkutanen Tumoren sowie frühe (0-3 Wochen) und späte (ca. 25 Wochen) Lungenveränderungen nach einer Thoraxbestrahlung in vivo

laufen weiterhin nach Plan. Derzeit erfolgt die vertiefte Auswertung der Gewebeproben der bereits beendeten Versuchsserien. Parallel dazu werden aktuell weitere Experimentalserien zur statistischen Absicherung der Ergebnisse durchgeführt. Zur Komplettierung der erhaltenen Daten werden weiterhin komplementäre in vitro Untersuchungen an humanen und murinen Normalgewebszellen durchgeführt. In einem parallelen Ansatz werden die Untersuchungen zu potentiell differentiellen Effekten der Hemmung eines weiteren identifizierten Faktors mit immun-modulierenden Eigenschaften in Kombination mit Bestrahlung im Tumor- und Normal-gewebsmodell in immunkompetenten Mäusen incl. der Untersuchungen zu Veränderungen im Immunzellkompartiment fortgesetzt. Gemäß Planung wurden außerdem weitere Gewebeproben (RNA und DNA-Isolate von HNSCC-Tumorexplantaten) zur Durchführung von Transkriptomanalysen nach München (HMGU) gegeben. Eine intensive immunhisto-chemische Analyse der verschiedenen HNSCC-Tumorproben (7 unterschiedliche HNSCC Xenograftumore gewachsen auf NMRI Nu/Nu Nackt-Mäusen) wird derzeit durchgeführt und erfolgt in enger Kooperation mit dem HMGU. Xenograftumore von weiteren 4 HNSCC-Zelllinien (Komplettierung des HNSCC-Zellpanels) werden derzeit gewonnen und in der Folge ebenfalls entsprechend charakterisiert. Die detaillierte Auswertung der Transkriptom-Datensätze zur zeitlaufgelösten Analyse muriner Normalgewebsproben (0 versus 15 Gy Thoraxbestrahlung) gemeinsam mit dem HMGU steht noch aus.

Die bislang im Projekt beschäftigte Post Doc Frau Dr. de Leve ist seit dem 20.08.2018 aus der Elternzeit zurückgekehrt und hat ihre Arbeit im Projekt wieder aufgenommen. Gemeinsam mit der Doktorandin Ch. Hansel besuchte sie am 7.-8.01.19 den Partner UKF (Laboraustausch) zur Erlernung der primären Keratinozyten-Kultur. Dieses humane Modell zur Primärzellkultur wird derzeit auf das Mausmodell übertragen.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 22./23.11.2018 am BfS in München statt. Für das IFZ nahmen V. Jendrossek, D. Klein, Ch. Hansel und S. de Leve teil.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Preise: PD Dr. Diana Klein erhielt den Preis der Deutschen Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung für die beste Publikation 2018 im Bereich Biologie

PDDr. Diana Klein erhielt außerdem den Dr.-Franz-Holeczke-Preis 2018 des Verbands für medizinischen Strahlenschutz (VMSÖ)

Publikationen:

Wirsdörfer F, de Leve S, and Jendrossek V: Combining radiotherapy and immunotherapy in lung cancer: can we expect limitations due to altered normal tissue toxicity? *Int J Mol Sci.* 2018 Dec 21;20(1). pii: E24. doi: 10.3390/ijms20010024. Review.

Publizierte Abstracts (EACR 2018, Amsterdam):

S De Leve, A Meyer, F Wirsdörfer, D Klein, M Stuschke, V Jendrossek: Overcoming the limitations of lung cancer radiotherapy by targeting the cd73/adenosine immune checkpoint. *ESMO Open* 2018;3(Suppl 2):A1–A463. doi:10.1136/esmoopen-2018-EACR25.26.

A Wiesemann, J Ketteler, S Alexis, K Röck, D Engel, V Jendrossek, D Klein: The senescence associated secretory phenotype (sasp)-factor ccl2 fosters vascular dysfunction and endothelial cell loss in radiation-induced lung disease. *ESMO Open* 2018;3 (Suppl 2):A1–A463. doi: 10.1136/esmoopen-2018-EACR25.637.

de Leve S, Wirsdörfer F, Meyer AV, Thompson LF, Jendrossek V: The immunoregulatory CD73/Adenosine system limits successful radiotherapy. *Strahlenther Onkol* 194 (Suppl 1), 2018.

Zuwendungsempfänger: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 047E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 582.708,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Blüthgen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Verbundvorhabens ist die Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, welche die zelluläre Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals Tumoren modulieren. Deren Relevanz wird auch in Normalgeweben überprüft. Außerdem soll eine Übertragung der Erkenntnisse aus Modellsystemen auf menschliche Proben erfolgen. Dabei soll der wissenschaftliche Nachwuchs gefördert und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden. Das Projekt ist ein Verbundprojekt mit dem Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), dem Institut für Zellbiologie (IFZ) der Universitätsklinikum Essen, der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), der Abteilung für Strahlenzytogenetik des Helmholtz Zentrums München (HMGU) sowie der Klinik für Strahlenheilkunde des Universitätsklinikums Freiburg (UKF).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

CUB ist verantwortlich für die systembiologischen Analysen im Konsortialprojekt, die Arbeitsgruppe koordiniert das Arbeitspaket AP1 und alle Arbeiten der CUB werden in AP1 „Netzwerkanalyse und Systemmodellierung“ durchgeführt.

Im Einzelnen gliedert sich das Arbeitsprogramm in folgende Punkte. Jeder dieser Punkte wird in enger Kooperation mit den Konsortialpartnern bearbeitet.

- AP1.1: Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort
- AP1.2: Identifizierung von Repräsentanten der Modulaktivität
- AP1.3: Implementierung von Nachweismethoden
- AP1.4: Zeitaufgelöste Messung der Netzwerkaktivitäten
- AP1.5: Modellierung der Netzwerke und Identifizierung von Modulationsknoten
- AP1.6: Datenhandling und -management

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Hauptziele der Arbeiten in der Berichtsperiode waren die Etablierung und Durchführung von Zytokinmessungen an bestrahlten Primärmaterialien, die Durchführung von Zytokinmessungen an bestrahlten Zelllinien sowie Vorbereitungen für den großen Perturbationscreen, der die Grundlage des „Comparative Modelling“ sein wird.

In Kooperation mit dem Freiburger Verbundpartner wurden Zytokine in den Überständen von bestrahlten und unbestrahlten primären Keratinozytenkulturen mit Hilfe des Luminex-Systems gemessen. Hier zeigte sich im Vergleich zu den Zelllinien (gewonnen aus Plattenepithelkarzinom der Zunge), an denen ähnliche Untersuchungen bereits durchgeführt werden, dass das durch die Bestrahlung induzierte Sekretom der primären Zellen zwischen Spendern variiert, generell aber eher den parentalen Zelllinien mit mittlerer Strahlensensitivität entspricht, und die resistenten oder sensitiven Klone sich deutlich von den primären Zellkulturen unterscheiden.

Weiterhin wurden in Kooperation mit der LMU ausstehende Zytokinmessungen durchgeführt, um die Arbeiten am SASP Phänotyp als eine mögliche Determinante der Strahlensensitivität abzuschließen.

Bei der Durchführung der Perturbationsexperimente zur Generierung von quantitativen Daten zur Charakterisierung der Signaltransduktion an den verschiedenen resistenten Klonen wurde festgestellt, dass sich einige Signalwege nicht durch die ausgewählten Substanzen effektiv aktivieren ließen, so dass hier nach neuen Substanzen/Stimulanzen gesucht wurde, um diese Signalwege optimal perturbieren zu können. Hierzu wurden Konzentrationsreihen mit Substanzen, die in der Literatur beschrieben wurden, durchgeführt und nun somit genügend geeignete Substanzen identifiziert. Weiterhin wurden Teile des Assays ausgetauscht und in Kooperation mit einer spezialisierten Firma neue Assays etabliert, die deutlich sensitiver und individualisierbarer sind. Diese Assays werden im 1. HJ 2019 zur Verfügung stehen, so dass dieser Screen dann durchgeführt wird.

Es wurde weiterhin in Kooperation mit dem BfS und HMGU eine Strategie zum Profilen der Signaltransduktion im Zelllinienpanel, das im Konsortium verwendet wird, um Unterschiede in den Signalnetzwerken zu charakterisieren. Hierzu werden Zelllysate in München hergestellt und nach Berlin verschickt, um dann im Luminex-System ihren Signalzustand zu messen. Dabei soll auch Personal vom BfS geschult werden, um später ähnliche Messungen auch selber vor Ort durchführen zu können.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die wichtigsten Schritte im 1. HJ 2019 werden sein, dass zum einen in Kooperation mit dem BfS und der HMGU die Signaltransduktion im Zelllinienpanel gemessen wird, zum anderen werden die Perturbationsstudien abgeschlossen, und die ersten Modelle der Signaltransduktion erstellt, um die Änderungen der Signaltransduktion zwischen parentaler Zelllinie und ihren abgeleiteten resistenten und sensitiven Klonen zu erfassen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2017 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 611.208,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Henke	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

ZiSStrans ist das Folgeprojekt zu ZiSS. In ZiSS identifizierte Signalwege der Seneszenz, des Zellzyklus, Immunsystems und von PI3K/Akt werden in weiterführenden Experimenten systembiologisch und funktionell spezifiziert und ihre Deregulation in humanen Proben validiert. Darüberhinaus sollen aus zusätzlichen Daten durch entsprechende Analysen weitere, neue Knotenpunkte und Repräsentanten in den Netzwerken der Strahlenantwort identifiziert werden. Sowohl Zellkulturmodelle als auch Patientenproben, die durch klinische Parameter hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind, werden untersucht.

Das Freiburger Projekt ist Teil eines Verbundes, dessen 5 Arbeitspakete von 6 Projektpartnern gemeinsam bearbeitet werden: Bundesamt für Strahlenschutz, AG-SG1.1 (Dr. S. Hornhardt, Dr. M. Gomolka), Helmholtz-Zentrum München, Abteilung für Strahlenzytogenetik (Prof. Dr. H. Zitzelsberger, Dr. J. Heß, Dr. K. Unger), Charité Berlin, Institut für Pathologie (Prof. Dr. Nils Blüthgen), Universitätsklinikum Essen, Institut für Zellbiologie (Prof. Dr. V. Jendrossek), LMU München, Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, (Prof. Dr. K. Lauber, Prof. Dr. med. Belka), Universitätsklinik Freiburg, Klinik für Strahlentherapie (Prof. Dr. M. Henke, H. Bunea, Dr. A. Thomsen).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: „Netzwerkanalyse und Modellierung“ (CUB/HMGU/BfS)
 AP2: Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in HNSCC Tumormodellen“ (LMU/HMGU/IFZ)
 AP3: „Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in Normalgewebs-Modellen“ (IFZ/HMGU/BfS/UKF)
 AP4: „Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe“ (BfS/HMGU/LMU/UKF/IFZ)
 AP5: „Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch“ (BfS/CUB/HMGU/LMU/UKF/IFZ)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeiten des UKF in AP1 - AP2: entfällt, da im UKF-Teilprojekt nicht vorgesehen.

Arbeiten des UKF in AP3:

Es wurde, retrospektiv, ein Datensatz von Patienten mit Kopf-Halstumoren identifiziert, der Strahlendosis zur Ausprägung von Nebenwirkungen (Mukositis) und zur Tumorkontrolle erfasst. Von diesen Patienten sind asservierte Speichelproben (Zellen und Flüssigkeit für weitere Analysen verfügbar; diese werden - nach Spezifizierung der zu bestimmenden Marker –den Projektteilnehmern BfS, IFZ, HMGU und LMU für

die Analyse von Netzwerkkomponenten zur Verfügung gestellt. Proben tiefgefrorener Zell-Pellets von Speichelzentrifugaten konnten erfolgreich vom Projektpartner IFZ zur Zytokinbestimmung verwendet werden; weitere Proben sind verfügbar.

Für die prospektiven klinischen Untersuchungen von ZiSStrans wurde ein klinisches Studienprotokoll für Patienten mit Kopf-Halstumoren erstellt, von der Ethikkommission der Universität Freiburg (413/17) bewertet und ist initiiert. 29 Patienten wurden seither in die Untersuchung eingeschlossen, neun sind aus verschiedenen Gründen ausgeschieden, 20 wurden protokollgemäß behandelt; von ihnen wurden klinische Daten erhoben, Bioproben asserviert, und Normalgewebs - In-vitro-Radiosensitivitätsteste (Mundschleimhaut) durchgeführt.

Dafür wurde ein Test (spread-assay) neu entwickelt. Er erfasst die Proliferations- und die Migrationsfähigkeit von Mundschleimhaut-Keratinocyten, sowohl unbestrahlt als auch bestrahlt. Dieser wurde bislang an 40 Probanden/Patienten durchgeführt. Eventuelle Einflüsse des Bestrahlungszeitpunktes während der Zellkultur auf die Zelladhäsion und Radiosensitivität sowie des Biopsiezeitpunktes und einer Kryokonservation auf das Testergebnis wurden bestimmt. Darüberhinaus wurden der Test bei 15 Spendern mit Ergebnissen eines klassischen klonogenen Radiosensibilitätstest (der für bioptisch gewonnene Keratinocyten schwierig durchzuführen ist) verglichen; erfreulicherweise konnte eine hohe Übereinstimmung beider Ergebnisse beider Verfahren und eine Validierung des Testes am HGMU (nach einem Methodenaustausch; Th. Haider, s. AP5) an den Zelllinien Cal27, Cal33 und OKF6-TERT1 erzielt werden. Ein erster Vergleich der im spread-assay festgestellten individuellen, patientenbezogenen Radiosensitivität mit Inzidenz und Schweregrad der Radiomukositis wurde angestellt, erbrachte jedoch noch keine signifikante Korrelation.

Arbeiten des UKF in AP4:

Zu Patientengewebe und Normalgewebsreaktionen vergleiche auch oben, AP3 Abs. 2 und 3. Das Studienprotokoll erfasst die Tumorkontrolle. Die im Protokoll vorgesehenen und entnommenen Proben – insbesondere auch die FF-Tumorgewebsproben - sollen zur prospektiven Validierung der präklinisch identifizierten prädiktiven Biomarker (vgl. AP1-3) verwendet werden. Die Daten der bisher eingebrachten und behandelten Patienten sind erfasst und entsprechende Biomaterialien für die spätere Analyse asserviert.

Arbeiten des UKF in AP5:

Da der im UKF entwickelte spread-assay für Fragestellungen der Kooperationspartner durchaus geeignet ist entwickelte eine lebhafte Zusammenarbeit. So durften wir in unserem Labor im April 2018 und Januar 2019 Mitarbeiter IFZ begrüßen (Verena Jendrossek und Christine Hansel, Simone DeLeve) im Sommer dann vom HGMU (Theresia Haider) und im Januar 2019 von der LMU (Samet Mutlu).

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

Speichelproben, Serumproben und Tumorproben werden weiterhin entsprechend Studienprotokoll in Freiburg gesammelt und tiefgefroren gelagert, klinische Daten kontinuierlich erfasst. EDTA- und Heparin-antikoaguliertes Vollblut wird für zelluläre Analysen an den Projektpartner BfS gesendet, der nach Anreicherung der mononukleären Zellen diese an die anderen Partner versendet.

Auch In-vitro-Radiosensitivitätsteste an Keratinocyten werden für die neu-eingeschlossenen Patienten durchgeführt. Überstände entsprechender spread-assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert. Die Daten bisheriger assays werden den Partnern an LMU und CUB für die Bestimmung von technischer Validität und zur Berechnung eines Radiosensitivitäts-Score übermittelt. Schließlich sollen – als weitere Validierung der Radiosensitivität - bestrahlte Keratinocytenkulturen auf γ H2AX (BfS) analysiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 048A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 819.068,00 EUR	Projektleiter: Dr. Wollschläger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zur Beurteilung kardialer Spätfolgen durch die moderne Radiotherapie besteht weiterer Forschungsbedarf. Insbesondere fehlen aussagekräftige große Studien mit deutschen Patientinnen. Vor diesem Hintergrund wurde im Jahr 2013 die PASSOS-Herzstudie initiiert (BMBF, FKz: 02NUK026B). Zur PASSOS-Studie gehörten ca. 12.000 ehemalige Brustkrebspatientinnen, die zwischen 1998 und 2008 an den Universitätskliniken Mainz und Ulm (und 16 regionalen Ulmer Netzwerkkliniken) behandelt worden sind. Mehr als 75 % aller Studienteilnehmerinnen der PASSOS-Kohorte erhielten eine RT im Rahmen der Primärtherapie. Die Auswertung der PASSOS-Daten zeigte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Lateralität und dem kardialen Mortalitäts- oder Morbiditätsrisiko. Methodische Einschränkungen der PASSOS-Herzstudie ergeben sich aus der kurzen Beobachtungszeit (durchschnittliche Follow-up Dauer ca. 7 Jahre). Zudem ist die Lateralität möglicherweise ein unzureichendes Proxy für die tatsächliche Dosisbelastung des Herzens. Das ESKaRa-Verbundprojekt ist die Fortsetzung und Erweiterung der PASSOS-Herzstudie.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

ESKaRa ist eine Kohortenstudie mit eingebetteter Fall-Kontroll-Studie. Dabei nutzt ESKARA klinische Daten, die bereits für die Studienteilnehmerinnen der PASSOS-Kohorte erhoben worden sind: prognostische Faktoren, Details der Brustkrebstherapie und kardiovaskuläre Komorbiditäten zum Zeitpunkt der Brustkrebstdiagnose. Darauf aufbauend wird ESKaRa ein zeitlich erweitertes Follow up zur Mortalität durchführen sowie eine erneute Fragebogenerhebung zur kardialen Morbidität. Neben den kardialen Spätfolgen wird ESKaRa zudem den Endpunkt „Zweitumore nach Brustkrebstherapie“ betrachten. Schließlich wird mit optimierten dosimetrischen Ansätzen eine exakte, individuelle Charakterisierung der Strahlenexposition des Herzens erfolgen:

AP1: Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018.

AP2a: Fragebogenerhebung zur Erfassung inzidenter kardialer Ereignisse nach RT sowie von Zweitmalignomen (Selbstangabe).

AP2b: Zur systematischen Erfassung von Zweitumoren wird für Mainzer Patientinnen (ergänzend zum Fragebogensurvey) ein Abgleich mit dem Krebsregister in Rheinland-Pfalz durchgeführt. Für Patientinnen aus Ulm sollen alternative Vorgehensweisen geprüft werden (Klinisches Krebsregister Baden-Württemberg, CCC Ulm).

AP3: Fall-Kontroll-Studie mit exakter Dosimetrie: Fälle sind Patientinnen mit kardialen Ereignissen nach RT. Die „kardialen Ereignisse“ wurden in der PASSOS-Vorläuferstudie ermittelt (kardiale Mortalität oder Morbidität). Für Fallpersonen und für Kontrollpersonen (Letztere ohne kardiale Erkrankungen nach RT) wird die Herzdosis individuell auf Basis der Bestrahlungsplanung bestimmt – sowohl für das Ganzherz als auch für relevante Teilstrukturen. Bei Patientinnen, für die kardiale Ereignisse im Rahmen des zweiten Fragebogensurvey (AP2a) festgestellt werden sowie bei zugehörigen Kontrollpersonen wird die Herzdosis geschätzt.

AP4: Statistische Analyse: Dosis-Wirkungs-Analyse mit verschiedenen Endpunkten (Mortalität, Morbidität) unter Berücksichtigung von individuellen Confoundern (Ko-Morbiditäten, Lebensstilfaktoren etc.).

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Anfragen an Einwohnermeldeämter zum Vitalstatus der ehemaligen Brustkrebspatientinnen in Rheinland-Pfalz konnte im Dezember 2018 abgeschlossen werden. Von 1.096 Frauen (als lebend dokumentiert im Juni 2014) sind 124 Frauen zum 31.06.2018 als verstorben gemeldet worden (11,3 %). Die Recherche zu den Todesursachen der Verstorbenen (Anfragen an Gesundheitsämter) beginnt im Januar 2019.
- AP2a: Fragebogenerhebung: Anpassung der Erhebungsinstrumente (Fragebogen, Patientinnen-Information, Einverständniserklärung) und Modifikation gemäß Vorschlägen der Ethik-Kommission.
- AP2b: Identifikation von inzidenten Zweitumoren durch Record Linkage der Kohorte mit bevölkerungsbezogenen Krebsregistern: Absprache zu dem Prozedere mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz abgeschlossen. Das Krebsregister Baden-Württemberg hat seine Bereitschaft für ein Record Linkage bekundet. Systematische Erfassung von Krebserkrankungen in Baden-Württemberg erst seit 2009. Somit ist der Zeitraum zwischen 1998 und 2008 in diesem Bundesland nicht abgedeckt.
- AP3: - Entwicklung eines standardisierten Verfahrens zum Privacy Preserving Record Linkage zur Identifikation der die Strahlentherapie durchführenden Klinik bei Patientinnen mit Primärtherapie in einer Ulmer Netzwerkklinik. Testläufe des Record Linkage in Mainz und Ulm.
 - Entwicklung von SOPs zur Akquise elektronischer Daten zur Strahlentherapie aus den Netzwerkkliniken in Absprache mit Ulmer Kooperationspartner.
 - Entwicklung eines DICOM- Pseudonymisierungswerkzeuges zum datenschutzkonformen Transfer der DICOM-Daten zur Strahlentherapie.
 - Aufsetzen und Test einer Online-Plattform zum Austausch und eines dedizierten Servers für die im Rahmen der Studie erhobenen DICOM-Daten.
 - Überarbeitung des PASSOS Herzatlas (AVH-Struktur und Lungen) und Überarbeitung der SOPs.
 - Erstellung von Listen bereits namentlich bekannter Fallpersonen aus Mainz und Ulm zur Akquise der elektronischen Daten zur Strahlentherapie.
 - Geschichtete zufällige Ziehung von jeweils 2 gematchten Kontrollpersonen für jede Fallperson aus Mainz und Ulm nach dem Incidence-Density-Sampling Verfahren.
 - Konturierung und Erfassung von technischen Parametern der Patienten aus der Fall-Kontroll-Studie.
 - Start Transfer von DICOM Daten im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie aus Ulm.
 - Start Export von DVHs im Rahmen der Fall-Kontroll-Studie.
 - Rekrutierung der Strahlentherapie Süd zur Gewinnung der DICOM-Daten zur Strahlentherapie von Patientinnen mit Primärtherapie in einer NWK. Erstes Privacy Preserving Record Linkage mit ca. 10.000 Patientinnen von 14 NWK-Gynäkologien und ca. 33.000 Patienten der Strahlentherapie Süd ergab ca. 400 Treffer. Kooperationsvertrag wurde von Strahlentherapie Süd akzeptiert. Prüfung des Transfers von DICOM-Daten über Online-Plattform in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Januar 2019: Beginn der Anfragen an Gesundheitsämter zur Einholung der Totenscheine. Codierung der Todesursachen für Ende 2019 geplant.
- AP2a: Einrichten einer Projekt-Webseite zur Außendarstellung gegenüber Studienteilnehmerinnen und an der Datenerhebung beteiligten Kliniken.
- AP2b: Sondierungsgespräche: Klinisches Krebsregister Baden-Württemberg, CCC Ulm.
- AP3: Kontaktaufnahme mit den Strahlentherapien in Ostfildern-Ruit und Heidenheim zwecks Record Linkage zwischen Netzwerkklinik-Gynäkologien und Strahlentherapie-Kliniken mit anschließender Rekrutierung der Strahlentherapiedaten für Fälle und Kontrollen mit Primärtherapie.
 Fortsetzung der Dosimetrie für Fälle und Kontrollen mit Primärtherapie in Mainz und Ulm.
 Transfer der DICOM-Studiendatensätze aus Mainz, Ulm und weiteren Netzwerkkliniken auf den dedizierten Server sowie Export der für die statistische Auswertung relevanten DVHs.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		Förderkennzeichen: 02 NUK 048B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 270.727,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wiegel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Anschlussprojekt zum Forschungsvorhaben PASSOS. Untersuchung von kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Strahlentherapie bei Brustkrebspatientinnen in Deutschland unter Berücksichtigung individueller (kardiovaskulärer) Vorerkrankungen und Risikofaktoren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Follow-up für Brustkrebspatientinnen (Diagnose 1998-2008). Das Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018 (maximale Beobachtungszeit 20 Jahre). Bei verstorbenen Patientinnen individuelle Todesursachen-Recherche. Endpunkte: kardiale Mortalität, Krebssterblichkeit.
- AP2: Recherche zu inzidenten Zweitmalignomen und kardialen Ereignissen bis zum 30.06.2018. Fragebogenerhebung aller noch lebenden Kohortenmitglieder. Ergänzender Abgleich mit dem Krebsregister in Rheinland-Pfalz. Endpunkte: (Krebs-) Morbidität, kardiale Morbidität.
- AP3: Für alle Patientinnen nach Radiotherapie mit kardialen Ereignissen bis zum 31.12.2013 sowie für ereignisfreie Kontrollpersonen der Kohorte wird die Herzdosis individuell auf Basis der Bestrahlungsplanung bestimmt – sowohl für das Ganzherz als auch für relevante Teilstrukturen. Für Patienten mit kardialen Ereignis (Mortalität und Morbidität kombiniert) nach dem 31.12.2013 bis zum 30.06.2018 sowie für zugehörige Kontrollpersonen wird die Herzdosis geschätzt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1+2: Anschreiben bezüglich Vitalstatusabgleich/Adressabgleich an die Einwohnermeldeämter von 14 externen Zentren, über Patienten, bei denen die patientenbezogenen Daten nicht in Ulm vorliegen. Dokumentation der Rückläufe der Einwohnermeldeamtsabfragen in 7 externen Zentren. Beginn Vitalstatusabgleich/Adressabgleich der Ulmer Patienten; bislang zu 1/3 abgeschlossen
- AP3: Patientenliste entsprechend Fall-Kontroll-Design in Studienzentrale Mainz selektiert und von Gynäkologie Ulm de-anonymisiert an Strahlentherapie übermittelt. CTs mit Behandlungsplänen von Originaldatenträgern (Tape/CD) auf Server übertragen. Datentransformation für Segmentierung in aktueller Planungssoftware ECLIPSE. Inter-Observer-Vergleich zum PASSOS-Herzatlás. Für insgesamt 400 Patienten Herz mit Teilstrukturen Myokard, linke/rechte Herzvorderwand, Aortenklappe, Pulmonalklappe, Reizleitungssystem konturiert und Dosisvolumenhistogramme erstellt (Stand Januar 2019). Für insgesamt 100 Patienten eine verbesserte Teilstruktur zur Repräsentation des Reizleitungssystems konturiert. Dokumentation zugehöriger Fall- und Behandlungsdaten in ESKaRa-spezifischem Standard-Format. Verschlüsselung der Patientenennung zum Abgleich zwischen Gynäkologie- und Strahlentherapie-Patienten bei Studienzentrale Mainz. Fünfzig anonymisierte Bilddatensätze sowie Bestrahlungsplandaten von Ulm nach Mainz transferiert. Konturierungsanleitung für die Segmentierung der Lunge erstellt. Lunge Rechts/Links/Gesamt für 100 Patienten konturiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1+2: Abgleich mit den Einwohnermeldeämtern bei den fehlenden zwei externen Zentren; Planung von weiteren Zweitbesuchen in den externen Zentren und Abschluss des Vitalstatusabgleichs bis 31.05.2019; Vitalstatusabgleich/Adressabgleich der Ulmer Patienten, geplanter Abschluss bis 31.03.2019; Versand der Patientenanschriften an Patienten, die im Rahmen von PASSOS ihre Einwilligung zu einer erneuten Kontaktaufnahme gegeben hatten; Anschreiben der Gesundheitsämter um für die Todesursachenrecherche die Sterbeurkunden „neu Verstorbener“ anzufordern.
- AP3: Fortsetzung der Konturierung/Dokumentation von Index- und Kontrollfällen. Pseudonymisierte Archivierung der CTs mit Behandlungsplänen, re-konturierten Herz- und Lungenstrukturen. Für sämtliche Fälle Konturierung aller definierten Organstrukturen. Auswertung der für die Lungen ermittelten Dosen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 049A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines <i>in vitro</i> Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2017 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 596.000,00 EUR	Projektleiter: Dr. Schröder	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Strahleninduzierte Schäden des zentralen Nervensystems (ZNS) stellen ein immenses Problem sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie pädiatrischer Tumore dar und führen zu einer progressiven Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten, ähnlich wie sie in Demenz- und Alzheimerpatienten beobachtet wird. Als Ursache wird die Schädigung von Stamm- und/oder Vorläuferzellen im Gehirn und eine damit verbundene gestörte Neurogenese/Neuroregeneration diskutiert, die noch verstärkt wird durch Kombination mit Chemo- und Immuntherapie und/oder anderen Medikationen zur Behandlung von Komorbiditäten. Die genauen Wirkmechanismen dieser Kombinationstherapien auf das gesunde ZNS und insbesondere die Rolle ionisierender Strahlung dabei sind weitgehend unbekannt und es gibt weltweit kein System das es erlaubt, die Diversität dieser chronischen und kumulativen Langzeiteffekte und deren Risiko umfassend zu untersuchen. Im Verbundprojekt BrainRadiationAssay wird daher basierend auf humanen embryonalen Stammzellen (hESZ) ein *in vitro* System entwickelt, das die *in vivo* Entwicklung und Regeneration von Neuronen und Mikroglia, welche als Makrophagen des Gehirns eine Schlüsselrolle sowohl in der Reaktion auf neurotoxische Einflüsse als auch in der Neurogenese selbst spielen, in allen Stadien realistisch nachbildet. So können die Mechanismen der Neurotoxizität von ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Therapieformen systematisch molekularbiologisch und elektrophysiologisch untersucht und potentielle Biomarker zur Prädiktion neurotoxischer Strahlenschäden identifiziert werden. Zusammenfassend stellt das Projekt einen wichtigen Baustein in der besseren Handhabung und Minimierung von strahleninduzierten Langzeitfolgen der Tumordetektion und –behandlung dar.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapeutika, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Berichtszeitraum lag das Hauptaugenmerk auf der Charakterisierung der im ersten und zweiten Halbjahr 2018 hergestellten Organoide auf der mRNA- und Proteinebene. Übereinstimmend mit den Veröffentlichungen von Lancaster et al. (z. B. Nature Biotechnology 35, 2017, 659-666) konnte morphologisch die Ausbildung polarisierenden Neuroektoderms (Tag 8-10) sowie von Neuroepithel (ca. Tag

15) beobachtet werden. Umfangreiche mRNA Analysen ergaben einen hohen Gehalt an Markern für neurale Vorläuferzellen wie SOX2, Nestin und PAX6. Letzteres war in den 3D-Organoiden deutlich stärker exprimiert als in 2D-Ansätzen. Die Ausbildung des polarisierenden Neuroektoderms und des Neuroepithels wurde durch die Expression von TJP1, welches Tight Junction Transmembran-Proteine verbindet, bestätigt. Die Anwesenheit von neuronalen Vorläuferzellen und unreifen Neuronen wurde durch die Marker DCX und b-III-Tubulin sowie NEUROD1, als Masterregulator der Neurogenese, gezeigt. Die frühe Neurogenese wurde auch durch die Expression von MAP2 indiziert. Hier müssen weitere Analysen zeigen, ob sich gegenüber frühen Stadien der Organoidbildung eine Reduktion dieses Markers ergibt, welches für eine Reifung der Neurone spräche. ASCL1, ein Regulator der Oligodendrogenese, wurde dagegen nur schwach exprimiert. Das gleiche gilt für Synaptophysin, einen weiteren Marker reifer Neurone. GAD2, ein Regulator der GABA Synthese, wurde nur in zwei Proben nachgewiesen, ebenso wie CALB1, ein Marker für Interneurone. Nicht exprimiert wurden GFAP, ein Marker für Astrozyten, und MBP, ein Marker für Oligodendrozyten. Somit konnte eine erfolgreiche Neurogenese, nicht aber die Bildung von Gliazellen wie Astrozyten und Oligodendrozyten nachgewiesen werden.

Immuncytochemische Analysen in Kryoschnitten der Organoide bestätigten diese Befunde.

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Nanobiosystemtechnik der TU Ilmenau wurden erste Prototypen von PLGA-Kopolymerstrukturen hergestellt, um die Generierung der Organoide reproduzierbarer zu gestalten. Im Rahmen eines Gastaufenthalts einer Studentin der TU Ilmenau während der GSI Summer School 2018 wurden ebenfalls einige der Prototypen zur Herstellung von neuronalen Vorläuferzellen (neurale Rosetten) getestet, jedoch konnte keine Verbesserung einer Initiation der Neurogenese erreicht werden.

Für das AP2 wurden neuronale Stammzellen, Neurosphären und Organoide zur Verfügung gestellt, um Messungen der Zellfunktion mithilfe von MEAs zu optimieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Strahlenexperimente mit Kohlenstoffionen, die für den Herbst 2018 geplant waren, wurden aufgrund von technischen Problemen in der Beschleunigeranlage verschoben. Sie sollen nun im Februar und April nachgeholt werden und dienen im Wesentlichen der Ermittlung der Strahlensensitivität der Organoide. Parallel dazu werden Röntgenexperimente als Referenz durchgeführt.

Weitergeführt werden soll innerhalb der Kooperation mit der Arbeitsgruppe Nanobiosystemtechnik der TU Ilmenau die Herstellung und Testung von PLGA-Kopolymerstrukturen zur reproduzierbaren Bildung von Gehirn-Organoiden. Gastaufenthalte eines Doktoranden der TU Ilmenau sowie die Anfertigung einer Masterarbeit durch jene Studentin der TU Ilmenau, die schon Vorversuche im Rahmen der GSI Summer School durchgeführt hat, sollen diese Arbeiten ermöglichen.

Die Herstellung von neuronalen Vorläuferzellen (neurale Rosetten), die statt der bislang für die Generierung von Organoiden verwendeten hESZ, eingesetzt werden sollen, wird weiter optimiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

L.V. Nguyen: In vitro model for long-term side effects of ion beam therapy of brain tumors, GSI International Summer School Program 2018, The book of reports, 1st edition, September 2018

C. Schielke, O. Arrizabalaga, M. Mayer, C. Thielemann, S. Ritter and I. Schroeder: Generation of neural stem cells for the analysis of radiation-induced impairment of neurogenesis and neuroregeneration – BrainRadiationAssay, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-6, DOI:10.15120/GR-2018-1

O. Arrizabalaga, S. Sadeghi, J. Kunz, E. Nasonova, I.S. Schroeder, S. Ritter: Early response of human neural stem cells to ionizing radiation, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-5, DOI:10.15120/GR-2018-1

S. Allig, M. Mayer, O. Arrizabalaga, S. Ritter, I. Schröder and C. Thielemann: Effect of extrusion-based bioprinting on neurospheres, GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-11, DOI:10.15120/GR-2018-1

Zuwendungsempfänger: Technische Hochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 049B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2017 bis 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 389.735,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Thielemann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Strahleninduzierte Schäden des zentralen Nervensystems (ZNS) stellen ein immenses Problem sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie pädiatrischer Tumore dar und führen zu einer progressiven Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten, ähnlich wie sie in Demenz- und Alzheimerpatienten beobachtet wird. Als Ursache wird die Schädigung von Stamm- und/oder Vorläuferzellen im Gehirn und eine damit verbundene gestörte Neurogenese/Neuroregeneration diskutiert, die noch verstärkt wird durch Kombination mit Chemo- und Immuntherapie und/oder anderen Medikationen zur Behandlung von Komorbiditäten. Die genauen Wirkmechanismen dieser Kombinationstherapien auf das gesunde ZNS und insbesondere die Rolle ionisierender Strahlung dabei sind weitgehend unbekannt und es gibt weltweit kein System das es erlaubt, die Diversität dieser chronischen und kumulativen Langzeiteffekte und deren Risiko umfassend zu untersuchen. Im Verbundprojekt BrainRadiation-Assay wird daher basierend auf humanen embryonalen Stammzellen (hESZ) ein in vitro System entwickelt, das die in vivo Entwicklung und Regeneration von Neuronen und Mikroglia, welche als Makrophagen des Gehirns eine Schlüsselrolle sowohl in der Reaktion auf neurotoxische Einflüsse als auch in der Neurogenese selbst spielen, in allen Stadien realistisch nachbildet. So können die Mechanismen der Neurotoxizität von ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Therapieformen systematisch molekularbiologisch und elektrophysiologisch untersucht und potentielle Biomarker zur Prädiktion neurotoxischer Strahlenschäden identifiziert werden. Zusammenfassend stellt das Projekt einen wichtigen Baustein in der besseren Handhabung und Minimierung von strahleninduzierten Langzeitfolgen der Tumordetektion und -behandlung dar.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/ mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapeutika, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden AP2 die ersten Organoiden von AP1 zur Verfügung gestellt und auf den MEA Chips kultiviert. Dabei zeigte sich, dass die Organoiden durch alleinige Beschichtung des Substrats mit den herkömmlich verwendeten Adhäsionsproteinen, nicht auf den MEA Chips adhären. Daher wurden spezielle Gewichte aus Edelstahl und Platin angefertigt, die auf den Organoiden platziert wurden und diese dadurch an die Oberfläche des MEA Chips drücken. Durch die Verwendung dieser Gewichte wurde eine Adhäsion der Organoiden auf den MEA Chips erzielt. Bereits einen Tag nach der Beschwerung der Organoiden mit den Gewichten konnten auswachsende Zellen und Neurite beobachtet werden. Die Kultivierung erfolgte über einen Zeitraum

von 3 Wochen, in der sich sowohl die Anzahl, als auch die Auswuchsweite der Neurite und Zellen kontinuierlich erhöhte. Neuronale Signale konnten jedoch noch nicht detektiert werden.

Des Weiteren wurden die Versuche mit den Neurosphären fortgeführt. Hierbei wurde untersucht, ob die Anzahl der elektrisch aktiven Kulturen durch eine verlängerte Kultivierungszeit der Neurosphären in Suspension (ursprüngliches Protokoll: 18 Tage in Suspension) sowie durch den Einsatz eines anderen Kultivierungsmediums erhöht werden kann. Dabei zeigte sich, dass sich die Anzahl der aktiven Kulturen mit steigender Kultivierungszeit in Suspension erhöhte. Die besten Ergebnisse wurden mit einer Kultivierungszeit von 35 Tagen erzielt. Ferner wurde das ursprünglich verwendete Neurobasal Medium durch das von der Firma ThermoFisher neu angebotene Neurobasal plus Medium ersetzt. Der Einsatz dieses Mediums bei der Kultivierung der Neurosphären in Suspension erwies sich als ungeeignet, da er die Adhäsion der Neurosphären am Substrat der low adhesion flasks zur Folge hatte. Diese Eigenschaft erwies sich hingegen bei der Kultivierung der Neurosphären auf den MEA Chips als positiv. Durch den Einsatz dieses Mediums wurde ein erhöhtes Auswachsen der Neurone und Neurite aus den Neurosphären und damit eine bessere Adhäsion beobachtet. Die Kombination aus einer längeren Kultivierungszeit in Suspension sowie den Einsatz des Neurobasal Plus Mediums führt zu einer erhöhten Anzahl elektrisch aktiver Kulturen.

Ferner wurden weitere Neurosphären auf den CMOS-basierten high density MEAs (HDMEA) kultiviert. Hierbei zeigte sich, dass eine alleinige Beschichtung mit Polyethylenimin (PEI) einer Doppelbeschichtung mit PEI und Laminin vorzuziehen ist. Des Weiteren wurden im Berichtszeitraum die ersten neuronalen Signale von Neurosphären mit den HDMEAs detektiert. Die Analyse dieser Signale wird derzeit durchgeführt.

Der Algorithmus zur Quantifizierung der Synchronität "Spike-contrast" wurde hinsichtlich seiner Robustheit gegenüber fehlerhaft detektierter Spikes untersucht. Insbesondere bei Signalen von hESC basierenden Neuronen ist diese Fehleranfälligkeit, aufgrund des niedrigen Signal-Rausch-Verhältnisses, besonders hoch. Im Vergleich mit anderen State-of-the-Art Algorithmen zeigte sich, dass der gemessene Synchronitätswert von Spike-contrast signifikant robuster ist, als die verglichenen Algorithmen, welche zum Teil sehr sensitiv auf eine fehlerhafte Spike-detektion reagierten. Bei der Anwendung auf experimentelle Daten, zeigte sich zudem, dass Spike-contrast mit einer höheren statistischen Signifikanz den Synchronitätsanstieg der Chemikalie Bicucullin ermitteln konnte.

4. Geplante Weiterarbeiten

Weitere Experimente, bei denen Organoide auf MEA Chips kultiviert und abgeleitet werden sollen, werden durchgeführt sobald die nächsten Kulturen von AP1 zur Verfügung gestellt werden können. Hierbei werden unterschiedliche Herangehensweisen ausgetestet, um die neuronalen Signale der Organoide detektieren zu können, wie beispielsweise die Verwendung anderer Gewichte zur Beschwerung der Organoide oder das Anfertigen von Slices.

Des Weiteren werden die Versuche mit Neurosphären fortgeführt. Hierbei soll die Wirkung von ausgewählten Antiepileptika untersucht werden, die im weiteren Projektverlauf auch an den Organoiden ausgetestet werden soll.

5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Mayer, O. Arrizabalaga, F. Lieb, M. Ciba, S. Ritter and C. Thielemann: A new approach for spike detection in a low signal-to-noise environment; GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-9, DOI: 10.15120/GR-2018-1

S. Allig, M. Mayer, O. Arrizabalaga, S. Ritter, I. Schröder and C. Thielemann: Effect of extrusion-based bioprinting on neurospheres; GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-11, DOI: 10.15120/GR-2018-1

C. Schielke, O. Arrizabalaga, M. Mayer, C. Thielemann, S. Ritter and I. Schröder: Generation of neural stem cells for the analysis of radiation-induced impairment of neurogenesis and neuroregeneration – BrainRadiation-Assay; GSI-FAIR Scientific Report 2017, Research-APPA-HEALTH-6, DOI: 10.15120/GR-2018-1

S. Allig, M. Mayer and C. Thielemann: Workflow for Bioprinting of Cell-Laden Bioink; Lekar a tehnika – Clinician and Technology 2018, vol. 48 (2), pp. 46-51

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.944.335,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Fournier	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Aufbauend auf die im GREWIS-Projekt erzielten Ergebnisse soll die Langzeitwirkung von Radonexposition näher untersucht werden, anknüpfend an die Notwendigkeit der Aufklärung biologischer Mechanismen im Niedrigdosis-Bereich, um fundierte Erkenntnisse zur therapeutischen Anwendung zu erarbeiten und die Unsicherheiten in der Einschätzung der Wirkung von niedrigen Dosen insbesondere von α -Strahlung zu reduzieren. Die Radonkammer und die im GREWIS-Projekt etablierten Methoden der physikalischen und biologischen Dosimetrie sollen verwendet werden, um die Aktivitätskonzentrationen in der Lunge von exponierten Mäusen und in einem einfachen Lungenmodell zu quantifizieren, und dabei zwischen Radon und Folgeprodukten zu unterscheiden sowie eine Dosis abzuschätzen. In einem biologischen Lungenmodell sollen Zelltypen mit besonderem Risiko für bleibende genetische Schäden identifiziert werden. In Arbeiten des GREWIS-Projektes wurde in Fettgewebe (*ex vivo*) eine Akkumulation von Radon beobachtet sowie in der ersten Radon-Patientenstudie eine immunmodulierende und entzündungshemmende Wirkung, die sich auch auf Faktoren des Fettgewebes erstreckt. Die Antwort von Fettzellen auf Exposition mit α -Teilchen- bzw. Radon sowie der Zusammenhang zu den beobachteten Veränderungen von Immun-, Gelenk- und Knochenzellen soll in weiteren Patientenstudien sowie durch *ex vivo* Untersuchung von Patientenmaterial und *in vitro* aufgeklärt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Radon-Diffusion/ Löslichkeit und Aerosole

- Radonkammer, Service Strahlenschutz
- Dosisdeposition von Radon im mechanischen Lungenmodell
- Radon-Löslichkeit und Konzentration (Gewebe, Organe, Mäuse; mit HPGe-Detektor)
- Radon-Diffusion in Gewebeschichten (Fett, Knochen, Bindegewebe; in Radonkammer)
- Exposition von Mäusen in Radonkammer

AP3: Zytogenetische Untersuchungen

- Etablierung der organotypischen Kultivierung und Differenzierung von HBEZ
- Genetische, zellbiologische und molekulare Endpunkte (Photonen und α -Bestrahlung)
- Differenzierungsfähigkeit/Funktionalität der HBEZ nach einer Strahlenexposition
- Genetische Marker in Patienten(blut) nach Radon-Exposition

AP4: (Osteo-) immunologische und entzündliche Reaktionen

- Osteo-immunologische Veränderungen in Patientenblut (LD-RT-, RAD-ON02-Studie)
- Untersuchung von Vorläuferzellen *ex vivo* vor und nach Therapie (LD-RT, RAD-ON02)
- *Ex vivo* Bestrahlung von Synovial-Gewebe von Patienten und gesunden Spendern
- Vergleich des Einflusses von Photonen- und α -Strahlung auf OB-Vorläuferzellen
- Wirkung von Radon-Adsorption in hTNF- α -tg Mäusen;IDO-Expression in Lunge und Haut
- Adhäsion von Lymphozyten auf Endothelzellen (organotypische), anti-oxidativer Einfluss

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Auswertung der ersten Messungen im Radonheilstollen in Bad Kreuznach ergab eine abgeschätzte Dosis im Bereich weniger μGy . Inzwischen wurde das Mess-Setup optimiert, unter anderem durch Bestimmung des Targetvolumens über eine Parallel-Messung von Kalium. Außerdem wurde ein Standard-Messprotokoll entwickelt. Weiterhin fanden Messungen mit dem mechanischen Lungenmodell statt. Eine Reihe von Maus-Expositionen wurden in der Radonkammer nach Beratung durch AP1 durchgeführt. Die Ergebnisse wurden auf einer Reihe von Konferenzen vorgestellt und fanden eine hohe Resonanz und großes Interesse. Die Publikation zur Radonlöslichkeit und dem Vergleich mit molekulardynamischen Simulationen wird zurzeit begutachtet, die Vorbereitungen für ein Review zum Radon-Thema laufen.
- AP3: Im Rahmen der RAD-ON02 Studie wurden für die zytogenetischen Untersuchungen im AP3 Blutproben von 42 Patienten vor sowie nach Beendigung der Radonkur erhalten, Chromosomenpräparate hergestellt und angefärbt, um dizentrische Chromosomen mittels semi-automatischer Analyse zu bestimmen sowie die Zellproliferation mittels Fluoreszenz-plus-Giemsa Färbung zu überprüfen. Weiterhin wurden humane Bronchialepithelzellen, das zweite Modellsystem, das im AP3 eingesetzt wird, zytogenetisch charakterisiert (Chromosomenanalyse) und Differenzierungsmarker (PCR-Analyse) etabliert. In ersten Bestrahlungsexperimenten mit Röntgen- und Alphastrahlen wurden Chromosomenpräparate hergestellt.
- AP4: In Kooperation mit Prof. Rehart (Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) wurden Gewebeproben aus Knie-OPs als Gewebe- und Zellkulturen etabliert, teilweise bestrahlt und histologisch untersucht. Verschiedene Zelltypen wie Adipozyten oder Blutgefäße können erhalten und histologisch identifiziert werden. Außerdem wurde die Präadipozyten-Isolierung aus dem Fettgewebe etabliert sowie erste Experimente zu der Strahlenantwort des Fettgewebes durchgeführt. Die Auswertung der Transkriptom-Analyse von bestrahlten Präadipozyten wird zeitnah abgeschlossen und auf deren Basis weitere Experimente vorbereitet. Die Ergebnisse zur Strahlenantwort von humanen Präadipozyten wurden publiziert. In Endothelzellen wurden Arbeiten zu strahleninduzierter Seneszenz und Adhäsion weitergeführt. Die RAD-ON02 Studie hat mit den Probenahmen vor Therapie und direkt nach der ersten Badeserie begonnen. Zellen der Probanden wurden isoliert, kultiviert und mit der Auswertung begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Basierend auf dem Messprotokoll sollen die Messungen am freiwilligen Probanden in Bad Kreuznach fortgesetzt werden. Die systematischen Messungen am mechanischen Lungenmodell sollen fortgeführt und deren Auswertung optimiert werden, und weitere Messungen zur Radondiffusion durchgeführt werden. Bestrahlungsservice für andere APs und eigene Mausexperimente sind geplant. Eine Publikation zur Alpha-Bestrahlungsvorrichtung und ein Review über Radon sollen eingereicht werden.
- AP3: Mit der zytogenetischen Analyse von Patientenproben vor Therapiebeginn (RAD-ON02 Studie) wird begonnen. Weiterhin werden Blutproben von Patienten 3 und 6 Monate nach Therapieende aufgearbeitet. Die Untersuchungen zur Wirkung von Röntgen- und Alphastrahlen auf humanen Bronchialepithelzellen (Chromosomenanalyse, Markerexpression) werden fortgesetzt. Um in weiterführenden Experimenten die *in vivo* Situation möglichst genau abzubilden, soll die Technik zur Differenzierung der Bronchialepithelzellen an der Flüssigkeits-Luft-Grenze (air-liquid-interface, ALI) etabliert werden, so dass ein funktionales Epithel mit Basalzellen, muzin-produzierende Becherzellen und kinzilien-tragenden Zellen gebildet wird.
- AP4: Neue Experimente mit hTNF- α - Mäusen in der Radonkammer werden, je nach Zuchterfolg, vorbereitet. Die Untersuchungen zur Strahlenantwort vom Fettgewebe werden weitergeführt. Dabei wird der Fokus auf Freisetzung von pro-inflammatorischen Faktoren gelegt. Die Untersuchungen zur Funktionalität von Präadipozyten nach Bestrahlung werden nach der Auswertung der Transkriptom-Analyse angepasst und weitergeführt. In Endothelzellen wird der Einfluss von laminarer Strömung nach längerer Kultivierung auf Seneszenz weiter untersucht. Die vermutete Minderung der Resorptionsaktivität von Osteoklasten wird anhand veränderter Aktinstrukturen in 3D-Aufnahmen überprüft und eine Publikation der Daten vorbereitet. Das Sammeln und Auswerten der Proben der IMMO-LDRT Studie läuft weiter bis zur geplanten Fallzahl. Die RAD-ON02 Studie wird mit AP5 ab Januar weitergehen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Shreder K., Rapp F., Tsoukala I., Rzeznik V., Wabitsch M., Fischer-Posovszky P., Fournier C.: Impact of X-ray Exposure on the Proliferation and Differentiation of Human Pre-Adipocytes. *Int J Mol Sci*, 19 (9):2717 (2018); DOI: 10.3390/ijms19092717

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 588.971,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWISalpha soll die genetische und die entzündungshemmende Wirkung von dicht ionisierender Strahlung, insbesondere von Radon untersucht werden. Die hier vorgeschlagene interaktive Forschungsarbeit wird zu einem besseren Verständnis der Wirkung von Radon beitragen und die Auseinandersetzung von jungen Wissenschaftlern mit den vielseitigen Aspekten der Radon-Problematik fördern. Wir erwarten wichtige Erkenntnisse für den Strahlenschutz von langlebigen radioaktiven Isotopen und Verbesserungen in der therapeutischen Anwendung von Radon und der niedrig-dosierten Strahlentherapie nicht maligner Erkrankungen gewinnen zu können. Neben Röntgen- und α -Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radonkammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes und in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt. In Zell- und Tier-Versuchen soll die Entzündungshemmende Wirkung von Radon mit molekular-biologischen Mitteln untersucht werden und mit Therapie-Daten verglichen werden. GREWIS verfolgt einen neuen Ansatz: wissenschaftliche Techniken und Kenntnisse verschiedener Institute, auch von Fachleuten, die bis jetzt keine Strahlenbiologie betreiben, zusammen zu bringen und zu verknüpfen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GSI durchgeführt. Schwerpunkte des Forschungsvorhabens der AG Löbrich an der TUD sind folgende Untersuchungen:

- Bestrahlung von Zellkulturen mit einer ^{241}Am -Quelle zur Etablierung eines Korrekturfaktors
- Etablierung der Immunfluoreszenzfärbung von Markern für komplexe Brüche in verschiedenen Geweben
- Exposition von Mäusen mit hohen Aktivitätskonzentrationen von Radon, um die Rolle von Aerosolen bei der Dosisdeposition in der Lunge zu untersuchen
- Etablierung der Immunfluoreszenzfärbung von DNA-Doppelstrangbrüchen im Knochen sowie die Analyse der Radon-induzierten DNA-Doppelstrangbrüche
- Exposition von Mäusen mit hohen Aktivitätskonzentrationen von Radon um die Reparatur von strahleninduzierten DNA-Doppelstrangbrüchen in verschiedenen Organen zu untersuchen
- Umfassende mechanistische Studien zur Reparatur bei niedrigen Strahlendosen in kultivierten Zellen zur Frage, ob Radikalstress die Reparaturkinasen ATM und DNA-PKcs aktivieren kann und dadurch die Reparaturprozesse effizient aktiviert
- Etablierung von weiteren Markern zur *in vitro* Analyse von persistierenden Foci-Signalen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen des Projekts GREWIS wurde in verschiedenen Organen von Mäusen eine ineffiziente DNA-Doppelstrangbruch (DSB)-Reparatur nach Exposition mit therapeutisch relevanter Radon-Aktivitätskonzentrationen festgestellt. Dieses Phänomen kann nicht nur auf die strukturelle Komplexität der durch Radon verursachten Brüche zurückgeführt werden, denn eine ineffiziente Reparatur von DSBs wurde auch nach Exposition mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlen, die weniger komplexe Brüche verursachen, beobachtet. Es ist also denkbar, dass die eingeschränkte Reparatur nicht nur durch das spezifische Schadensmuster einer Strahlenart bedingt ist, sondern auch durch die niedrige Dosis. Vorangegangene Studien in kultivierten Zellen zeigten, dass die Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen vom Radikallevel in der Zelle abhängt (Grudzinski et al., DOI: 10.1073/pnas.1002213107, Dissertation J. Mirsch). Das bedeutet, dass bei niedrigen Dosen nicht genügend Radikale erzeugt werden, um die Reparaturprozesse vollständig zu aktivieren und eine effiziente Reparatur zu gewährleisten. Daher stellte sich die Frage, ob eine der beiden wichtigen Kinasen ATM und DNA-PK bei der DNA-Reparatur durch niedrige Dosen nicht ausreichend aktiviert wird.

Durch Studien von Guo et al. (DOI: 10.1126/science.1192912) ist bekannt, dass Radikale die Kinase ATM aktivieren. Da ATM strukturell verwandt mit DNA-PK ist, ist auch bei dieser Kinase eine Aktivierung durch Radikale denkbar. Um die Aktivität der Kinasen zu beurteilen, wurde ihre Fähigkeit, H2AX zu phosphorylieren (γ H2AX) und in der Immunfluoreszenzmikroskopie sichtbare γ H2AX Foci zu bilden, ausgenutzt. Das bedeutet: wenn eine der Kinasen inhibiert wird, kann die jeweils andere Kinase diesen Verlust vollständig kompensieren und γ H2AX-Foci ausbilden (Stiff et al.; DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3207). Während bei der hohen und mittleren Dosis auch bei der Inhibition einer der beiden Kinasen γ H2AX-Foci beobachtet wurden, konnten nach der Exposition mit niedrigen Dosen und gleichzeitiger Inhibition von ATM kaum Foci beobachtet werden. Durch die Behandlung der Zellen mit Wasserstoffperoxid vor der Bestrahlung mit niedrigen Dosen (und gleichzeitiger Inhibition von ATM) konnten wieder mehr Foci beobachtet werden. Daraus schließen wir, dass DNA-PK bei niedrigen Dosen nicht aktiviert wird, da das Radikallevel nicht hoch genug ist. Da sich die Aktivierung von DNA-PK durch Radikale steigern lässt, könnte dies die zuvor beobachtete bessere Reparatureffizienz bei Zugabe von Radikalen erklären.

4. Geplante Weiterarbeiten

Mechanistische Studien: Um den Zusammenhang der fehlenden DNA-PK-Aktivierung und der ineffizienten Reparatur weiter zu untermauern, soll in einem Experiment die DNA-PK-Aktivität und die Reparatureffizienz gemeinsam erfasst werden. Weiterhin ist es geplant, den Hintergrund für die radikalabhängige DNA-PK-Aktivierung näher zu untersuchen.

Biodosimetrie: Für die Veröffentlichung zur Biodosimetrie von Radon werden Bilder vom Schadensmarker 53BP1 im Lungengewebe aufgenommen und die Focusstruktur analysiert, um den Anteil der komplexen DSBs besser abzuschätzen als dies bei den bisherigen Analysen am Mikroskop möglich war.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im November wurde das Programm zur automatisierten Auswertung der Reparaturkapazität im Journal Scientific Reports veröffentlicht: Lengert N, Mirsch J, Weimer RN, Schumann E, Haub P, Drossel B, Löbrich M.: AutoFoci, an automated high-throughput foci detection approach for analyzing low-dose DNA double-strand break repair. Sci Rep. 2018 Nov 23;8(1):17282

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 398.280,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Thiel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die geplanten Arbeiten werden sich auf Effekte von Strahlung im Allgemeinen und Radonstrahlung im Besonderen auf Prozesse in Zellen jenseits des Zellkerns konzentrieren. Ein zentrales Element in den Arbeiten beruht auf Befunden, die zeigen, dass eine Bestrahlung von Zellen mit niedrigen Dosen im Zytoplasma von Zellen zu einem raschen Anstieg an ROS führt; diese initiale Zellantwort löst wiederum weitere Signalkaskaden aus, die sowohl für die Immunantwort der Zellen aber auch für neurophysiologische Signalweiterleitungen von Bedeutung sein können.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Untersuchungen zu dem zeitlichen und kausalen Zusammenhang zwischen einer Niedrigdosen-Bestrahlung von Zellen des Immunsystems und von Neuronen und dem folgenden Anstieg an ROS in den Zellen und die sich daraus ergebene Auswirkung auf Signalkaskaden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Zentrum eines Arbeitsprogramms stehen Untersuchungen, die Einblick in die Wirkung von ionisierender Strahlung auf Zellen des Immunsystems liefern sollen. In vorhergehenden Arbeiten hatten wir beobachtet, dass schon niedrig dosierte Strahlung in T-Zellen eine Ca^{2+} Signalkaskade auslöst. Dieser Befund ist von großer Bedeutung, da Ca^{2+} als sekundärer Botenstoff ein kritischer Faktor für die Induktion aller Immunreaktionen in T-Zellen ist. Die Doktorandin Frau Tandl hat mit Masterstudenten Experimente durchgeführt, die weitere Detailblicke in diese strahleninduzierte Signalkaskade liefern. Dazu gehören Messungen, die den Einfluss der Mitochondrien auf die Generierung von Sauerstoffradikalen nach Bestrahlung als Quelle von Ca^{2+} Reaktionen zeigen. Ferner zeigen die Messungen, dass ein Einstrom von Ca^{2+} über die Plasmamembran eine zentrale Rolle bei der Induktion der Signalkaskade spielt und dass die Redoxsensitivität von Ca^{2+} leitende Kanäle in der Membran ein mögliches zentrales Element in dieser Reaktionskaskade ist. Im zweiten Arbeitsprogramm soll die Wirkung von Radon auf die Schmerzweiterleitung untersucht werden. In aktuellen Arbeiten konnte mithilfe einer MD-Simulation in Zusammenarbeit mit der AG-Hamacher die Hypothese gefestigt werden, dass Radon, ähnlich wie Xenon, an den NMDA-Rezeptor binden kann und somit durch eine spezifische Anreicherung im nozizeptiven Nervengewebe einen Einfluss auf die Schmerzweiterleitung nehmen könnte. Des Weiteren wurde im Rahmen einer Bachelorarbeit die Etablierung eines geeigneten Kultivierungssystems für Experimente mit α -Strahlen sowie mit Radon fertiggestellt. Hier wurden J1-NSCs zu Neuronen und Astrozyten auf verschiedenen beschichteten Mylar-Folien differenziert und elektrophysiologisch Neuronenspezifische Eigenschaften charakterisiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die laufenden Arbeiten zum Ca^{2+} Signaling in T-Zellen werden im folgenden Berichtszeitraum abgeschlossen und zur Publikation gebracht. In den nächsten Monaten werden im zweiten Teilprojekt Neurone auf O_2 -beschichteten Mylar-Folien mit Alpha-Quellen und Röntgenstrahlen behandelt und elektrophysiologisch charakterisiert. Des Weiteren werden die Langzeiteffekte von α -Strahlung bzw. Radon auf das elektrophysiologische Verhalten von J1-NSC untersucht. Zudem ist geplant, die deponierte Strahlungsdosis nach Radonbehandlung im Mäusehirn qualitativ zu untersuchen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikation:

Tandl, D., Weipert, F., Hehlhgans, S., Smit, T., Voos, P., Fuck, S., Rödel, F., Thiel, G.: Ionizing radiation induces a cytosolic ROS/ Ca^{2+} dependent signaling cascade in Jurkat T-lymphocytes. Abstract Annual Meeting Gesellschaft für Bio. Sicherheit. 2018

Tandl, D., Thiel, G.: Ionizing radiation induces a cytosolic Ros/ Ca^{2+} -dependent signaling cascade in jurkat t-lymphocytes. Annual Meeting of Biophys. Soc. USA. Baltimore

Masterarbeit:

Timo Smit: „Untersuchungen zur Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies und Calciumsignalen als Effekte ionisierender Strahlung auf Jurkat T-Zellen“

Bachelorarbeit:

Philipp Groß: „Effekte von Oberflächenbehandlungen auf das elektrophysiologische Verhalten von J1-NSCs“

Zuwendungsempfänger: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		Förderkennzeichen: 02 NUK 050D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 440.981,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rödel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die niedrig dosierte Strahlentherapie wird vorwiegend zur Behandlung degenerativ-entzündlicher, d. h. benigner Erkrankungen eingesetzt. Die ursächlichen Mechanismen, die zur antientzündlichen Wirkung niedrig dosierter Strahlung führen, sind bislang jedoch nur unzureichend geklärt. Arbeiten unserer und anderer Arbeitsgruppen konnten jedoch in den letzten Jahren für viele Effekte eine nichtlineare Dosis-Wirkungsbeziehung nach Röntgen- und Schwerionen-Bestrahlung beobachten, an der entscheidend reaktive Sauerstoffspezies (ROS) beteiligt sind. Diese werden in der Zelle hochpräzise durch antioxidative Enzyme reguliert und führen im Niedrigdosisbereich funktionell zu einer Minderung der Leukozytenadhäsion als einer wesentlichen Komponente der Inflammation. In Teilprojekt D werden als mögliche Regulatoren des oxidativen Systems und der ROS-Produktion in Endothelzellen und Leukozyten der Transkriptionsfaktor Nrf2 sowie micro(mi)RNAs nach Bestrahlung mit Photonen und mit dicht-ionisierenden Strahlenquellen *in vitro*, *in vivo* und in Patientenstudien in enger Kooperation mit AP1 (Maier & Kraft, GSI), AP4 (C. Fournier, GSI) und AP5 (U. Gaipl & B. Frey, UKER) untersucht.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Entsprechend der im Rahmen des Verbundprojektes GREWIS gewonnenen Erkenntnisse ist das Untersuchungsprogramm des Teilprojektes D (Arbeitspaket 6) wie folgt gegliedert:

Task 21: Der erste Themenkomplex beinhaltet Untersuchungen der Nrf2 Aktivität in Endothelzellen und Leukozyten nach Photonen- und Radon-Bestrahlung.

Task 22: Dieses Arbeitspaket befasst sich mit der Analyse von Nrf2 und dessen Targetgenen nach Bestrahlung von Subpopulationen muriner und humaner Lymphozyten.

Task 23: In diesem Themenkomplex sollen die *in vitro* gewonnenen molekularen Erkenntnisse über die differentielle Regulation der ROS-Produktion durch antioxidative Enzyme und miRNAs *in vivo* im Mausmodell sowie in Patientenstudien bestätigt werden.

Task 24: Gegenstand dieses Arbeitspaketes ist die Identifizierung der an der differentiellen Regulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen und der Leukozytenadhäsion beteiligten miRNAs mittels spezifischer miRNA Inhibitoren und Next Generation Sequencing (NGS).

Task 25: In weiteren funktionellen Analysen werden die anti-oxidativen Einflüsse auf die Lymphozyten-Adhäsion an Endothelzellen mittels Flow Chamber untersucht.

Task 26: Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Etablierung organotypischer Blutgefäß-Kulturen zur Messung von Lymphozyten-Adhäsion nach Niedrigdosisbestrahlung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Unsere vorangegangenen Untersuchungen der Regulation des anti-oxidativen Systems nach Niedrigdosisbestrahlung in Endothelzellen zeigten eine nichtlineare Dosis-Effekt-Beziehung der metabolischen Produk-

tion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) sowie der Expression anti-oxidativer Enzyme wie Catalase, Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GPx). Diese Faktoren wiederum führten zu einer verminderten Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen im Bereich von 0,5 Gy. Ursächlich beteiligt war dabei eine differentielle Expression und Aktivität des Transkriptionsfaktors Nrf2 und die Expression von regulatorischen micro(mi)RNAs in Abhängigkeit der Bestrahlungsdosis. Zur Untersuchung des Einflusses von niedrig dosierter Bestrahlung auf den Bindungspartner von Endothelzellen, die Leukozyten, insbesondere auch im Hinblick der Analyse von Blutproben aus den Patientenstudien IMMO-LDRT01 und RADON-02 in Kooperation mit dem Projektpartner in Erlangen (AP5, Task 23), wurden im Berichtszeitraum mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) von verschiedenen Spendern (n = 3, jeweils 3 unabhängige Versuche) isoliert. Diese wurden *in vitro* mit Dosen zwischen 0 und 1 Gy bestrahlt. Nach 24 h wurde die intrazelluläre ROS-Menge mittels Durchflusszytometrie bestimmt und parallel dazu RNA aus den bestrahlten Leukozyten gewonnen. Die quantitative Bestimmung der Expression von Catalase, SOD1, GPx1 und Nrf2 in den Proben erfolgte mittels der in den vorangegangenen Berichtszeiträumen etablierten Methode der Real-Time PCR mit Standardkurve. Dabei zeigte sich, ähnlich wie in den zuvor untersuchten Endothelzellen, eine nichtlineare Dosis-Wirkungsbeziehung sowohl bei der ROS-Bestimmung mit einem lokalen Maximum bei 0,5 Gy als auch bei SOD1 und Catalase Expression mit einem lokalen Maximum bei 0,5 Gy. Im Gegensatz dazu war die Expression von GPx1 nach Bestrahlung im Vergleich zur unbestrahlten Kontrolle erhöht, verblieb jedoch bei Dosen zwischen 0,3 und 1 Gy auf einem gleichbleibend hohen Level. Interessanterweise war auch die mRNA-Expression des Transkriptionsfaktors Nrf2 bei 0,5 Gy signifikant erhöht. Erstmals wurde auch die mRNA-Expression von Nrf2 nach Bestrahlung im Bereich zwischen 0 und 1 Gy in Ea.hy926 Endothelzellen mittels quantitativer PCR bestimmt. Bislang erfolgte diese nur auf Proteinebene. Auch hier konnte eine nichtlineare Expression in Abhängigkeit der Dosis gemessen werden, mit einem lokalen Minimum bei 0,5 Gy. Diese Ergebnisse zeigen, dass Niedrigdosisbestrahlung auch zu einer nichtlinearen Regulation des anti-oxidativen Systems in PBMC führt und diese Zelltyp-spezifisch ist, was insbesondere im Hinblick auf die Bestimmung der Expression beteiligter Faktoren in Blutproben von Patienten, die einer Bestrahlung zur Behandlung benignen Erkrankungen ausgesetzt sind (IMMO-LDRT01 und RADON-02 Studie), von großer Relevanz ist. Des Weiteren zeigen unsere Daten, dass eine Regulation des Transkriptionsfaktors Nrf2 durch Bestrahlung auch auf mRNA-Ebene erfolgt (Task 21, 22). Die weitere Untersuchung der Beteiligung des anti-oxidativen Systems in Leukozyten an ihren funktionellen Eigenschaften wie der Adhäsion an Endothelzellen nach Bestrahlung erfolgt im nächsten Berichtszeitraum.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im Berichtszeitraum erfolgten die ersten Blutabnahmen innerhalb der RADON-02 Studie. Der Projektpartner in Erlangen (AP5) sammelte jeweils ein PAXgene-Röhrchen für die Isolation von RNA und die Erstellung einer RNA-Bank in Frankfurt. Die RNA-Isolation und die Erstellung einer cDNA-Bank erfolgen dann nach Zusendung der Proben auf Trockeneis in Frankfurt. Ziel der RNA-/cDNA-Bank ist die Bereitstellung dieser einmaligen Patientenproben für alle Projektpartner. Innerhalb des Teilprojektes in Frankfurt werden Faktoren des anti-oxidativen Systems mittels quantitativer Real-Time PCR untersucht (Task 23). Ebenfalls durch den Projektpartner in Erlangen wird im Rahmen der IMMO-LDRT01 Patientenstudie weiterhin RNA aus Blutproben der Patienten gesammelt und nach Frankfurt verschickt, wo die Regulation von Komponenten des anti-oxidativen Systems nach Niedrigdosisbestrahlung mittels quantitativer PCR erfolgt (Task 23). Des Weiteren wird der Einfluss von Schwerionenbestrahlung auf die Regulation des anti-oxidativen Systems und des Transkriptionsfaktors Nrf2 in primären Endothelzellen in enger Kooperation mit dem Verbundpartner an der GSI in Darmstadt (AP4, Task 25) mittels Flow-Chamber und quantitativer PCR untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum wurden folgende Arbeiten publiziert:

Hehlgans S, Booms P, Güllülü Ö, Sader R, Rödel C, Balermipas P, Rödel F, Ghanaati S. Radiation Sensitization of Basal Cell and Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by the Hedgehog Pathway Inhibitor Vismodegib. *Int J Mol Sci* 2018;19: pii: E2485

Dilovic E, Oppermann J, Fournier C, Rödel F, Hehlgans S. Low-dose irradiation modulates the expression of anti-oxidative stress response enzymes in peripheral blood mononuclear cells. Abstract bei der 21. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung e.V., Frankfurt am Main, 2018; PS-2 01: 87

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 050E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2018 bis 31.12.2018	
Gesamtkosten des Vorhabens: 694.760,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Gaipl	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Verbundes knüpft an die Notwendigkeit der Aufklärung biologischer Mechanismen im Niedrigdosis-Bereich an. Der Schwerpunkt wird auf die Wirkung von Radon gelegt, dessen radioaktiver Zerfall und Inkorporation durch den Menschen etwa 30 % der mittleren Strahlenbelastung pro Jahr ausmacht. Andererseits wird eine hohe Zahl an Patienten, die unter chronischen, degenerativen, entzündlichen und schmerzhaften Erkrankungen leiden, in dafür ausgewiesenen Heilbädern mit Radon therapiert. Die Arbeiten des Verbundprojektes sollen dazu beitragen, Risiken und Nutzen einer Radon-Exposition auf wissenschaftlicher Basis besser abwägen zu können. Dazu wurden im vorangegangenen Projekt GREWIS die notwendigen Instrumente und Methoden etabliert bzw. eine entsprechende Infrastruktur (Radonkammer, Patientenstudien, Tier-Modelle) geschaffen und validiert, die nun in GREWISalpha fokussiert eingesetzt werden kann.

Im Hinblick auf die klinische Nutzung von Radon-Exposition sollen im Teilprojekt E basierend auf den aussagekräftigen Vordaten, Immunmatrices identifiziert werden. Diese könnten als Immunbiomarker von Strahlungsexpositionen dienen. Es wird die RAD-ON02-Folgestudie, welche eine temporäre Placebo-Gruppe beinhaltet (*cross-over-design*), durchgeführt werden, um die durch Radonexposition hervorgerufenen osteoimmunologischen Veränderungen klar definieren zu können. Ergänzend zur Immunphänotypisierung sollen zusätzlich auch Zytokine, Chemokine und erweiterte Gefahrensignale im Blut erfasst werden. Schließlich sollen die Immunbiomarker der Niedrigdosis-Exposition von Radon denen für Photonen (IMMO-LDRT-01-Studie) gegenübergestellt werden.

In den Maus-Modellen soll der Fokus verstärkt auf die lokalen und systemischen osteoimmunologischen Veränderungen durch Strahlungsexposition sowie auf das Zell-Mikromilieu im Knochen und am entzündeten Knorpel gelegt werden. Ein weiteres Entzündungsmodell wird hierfür etabliert und genutzt, welches auch schnellere Analysen in höherer Anzahl zulässt. Mit diesen K/BxN (respektive KRN) Mäusen kann der Einfluss von Strahlung auf die mannigfaltigen Interaktionen von Immunzellen mit Osteoblasten, Osteoklasten sowie Fibroblasten-ähnlichen Synoviozyten sehr gut auf molekularer und zellulärer Ebene untersucht und Mechanismen der Strahlungswirkung aufgeklärt werden. Ausgewählte Experimente sollen ebenfalls weiter im hTNF- α -tg Mausmodell durchgeführt werden. Ein Augenmerk soll hierbei insbesondere auf den Einfluss des basalen Entzündungsstatus auf die strahlungsinduzierten osteoimmunologischen Veränderungen gelegt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeitshypothese ist, dass Radonexposition die Populationen und Funktionen von Immunzellen und Zellen des Knochenstoffwechsels moduliert und somit zur Abmilderung von Entzündung beiträgt.

Im Speziellen wird der spezifische Immunstatus von Patienten vor, während und nach Strahlungsexposition im Rahmen der RAD-ON02- und der IMMO-LDRT-01-Studie bestimmt sowie das weitere Mikromilieu im Serum analysiert. Es sollen Immunbiomarker und Immunmatrices der Strahlungsexposition auch im Vergleich zur lokalen Hochdosisbestrahlung definiert werden. Mechanistisch werden osteoimmunologische Untersuchungen zur Wirkung von Radon auf Entzündung und Knochenmetabolismus in den K/BxN und hTNF- α -tg Mausmodellen sowie in *ex vivo* Zellkultursystemen durchgeführt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im September 2018 wurden die Immunphänotypisierung (IPT)-Daten der IMMO-LDRT01 Studie auf der GBS Jahrestagung in Frankfurt a. M. im Rahmen einer Posterpräsentation vorgestellt. Die Analysen ergaben sowohl Veränderungen in den Immunzellzahlen, als auch dem Aktivierungszustand der Zellen nach LDRT. Je nach zugrundeliegender Indikation der Patienten, ließen sich ebenfalls Unterschiede des Immunstatus im Therapieverlauf feststellen. Aus diesem Grund wurde begonnen Subgruppenanalysen des Patientenkollektives durchzuführen. Im Rahmen einer zahnmedizinischen Doktorarbeit wurden Daten zu Lebensqualität und Schmerzparametern der LDRT Patienten evaluiert. Durch einen neu entworfenen, retrospektiven Fragebogen, welcher an ausgewählte Patienten verschickt wurde, konnten weitere Daten zu den Langzeiteffekten der Therapie gewonnen werden, die noch auszuwerten sind. Die Analysen zu Serummarkern wurden mit den in die hauseigene Biobank eingelagerten Serumproben der Patienten etabliert. Die Planung und Vorbereitung der RAD-ON02 Studie wurde fristgemäß beendet, sodass die Studie im November 2018 gestartet werden konnte. Es konnten wie geplant 100 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Die meisten Patienten haben bereits die erste Badeserie durchlaufen. Eine Studienassistentin wurde für die Verwaltung der RAD-ON02 Studie angestellt und hat bereits einige Daten (bspw. die Primärdokumentation) erfasst und digitalisiert. Der Assay zur Immunphänotypisierung im *Single-Tube* wurde bei *Springer Protocols* zur Veröffentlichung akzeptiert. Des Weiteren wurden die Daten zu den Serumanalysen im Rahmen der RAD-ON01 Studie in *Radiation and Environmental Biophysics* publiziert. Die Arbeiten, welche sich mit dem Einfluss der Röntgenstrahlung auf die Polarisierung von Makrophagen beschäftigen wurden in Form einer Bachelorarbeit fortgeführt. Die Experimente zur Untersuchung des Einflusses des Geschlechts sowie der Bestrahlungshäufigkeit auf den Phänotypen von fibroblast-like synoviocytes (FLS) Kulturen wurden weitestgehend abgeschlossen. Die Aufarbeitung der aus den Experimenten gewonnenen RNA Proben und Überständen erfolgt gerade im Rahmen einer medizinischen Doktorarbeit. Die medizinische Doktorarbeit, welche sich mit einer detaillierten Charakterisierung der hTNF- α tg Tiere beschäftigt ist ebenfalls gut angelaufen und die Rekrutierung der zur Probengewinnung benötigten Tiere ist ebenfalls weitestgehend abgeschlossen. Die Arbeiten, welche sich mit dem Einfluss niedrig dosierter Röntgenstrahlung auf entzündlich vorgeprimte sowie gesunde Zellen des Gelenks im Mausmodell beschäftigten wurden erfolgreich in *Frontiers in Immunology* und im *International Journal of Molecular Sciences* veröffentlicht. Die Serumtransferversuche mit Röntgenstrahlung wurden beendet und die Knochen zur Erstellung von Knochenschnitten an die Medizinische Klinik 3 zur Aufarbeitung übergeben. Zur Teilnahme am *European Workshop for Rheumatology Research* wurden drei Abstracts zu GREWIS Themenkomplexen eingereicht und angenommen. Diese Abstracts werden erneut in einem Ergänzungsband in *Annals of the Rheumatic Diseases* veröffentlicht werden. Des Weiteren wurde ebenfalls ein Abstract, welches sich mit der Makrophagenpolarisation nach LDRT beschäftigt, zur Teilnahme an der DEGRO 2019 in Münster eingereicht.

4. Geplante Weiterarbeiten

In 02/2019 werden die bisher erhobenen immunologischen Daten der IMMO-LDRT01 Studie, der RAD-ON01 und der RAD-ON02 Studie auf dem EWRR Kongress in Lyon vorgestellt und im Juni 2019 auf der DEGRO in Münster. Die osteoimmunologischen Serumanalysen der eingelagerten Proben der LDRT-Patienten werden durchgeführt, um diese dann mit den IPT- und Lebensqualität-/Schmerzdaten zu korrelieren. Analoge Analysen werden für die RAD-ON02 Studie begonnen. Die im murinen Modell generierten Daten zum Phänotyp von Osteoklasten, Osteoblasten und FLS bei LDRT sollen im humanen Modell reproduziert werden. Hierfür werden *in vitro* in verschiedenen Zellkultursystemen die unterschiedlichen Zelltypen unter Bestrahlung charakterisiert. Der Assay zur Immunphänotypisierung wird als Paper bei *Methods in Enzymology* eingereicht. Die Arbeiten zum Einfluss der Röntgenstrahlung auf Makrophagen sollen weiter fortgeführt werden. Dies soll im Rahmen einer neuen medizinischen Doktorarbeit (Start 02/2019) sowie einer Bachelorarbeit (Start 03/2019) geschehen. Ein besonderes Augenmerk wird hierbei auf die Funktionalität (iNOS und Arginase1 Freisetzung im Überstand) der bestrahlten Makrophagen sowie auf Genexpressionsanalysen gelegt. In einer weiteren medizinischen Doktorarbeit (Start 03/2019) soll der Fokus vor allem auf das Zusammenspiel von Osteoblasten und Osteoklasten gelegt werden. Eine Versuchsreihe des Serumtransfermodells mit Radonexposition ist in Planung und soll zeitnah durchgeführt werden. Der zweite Tierversuchsantrag des GREWISalpha Projekts soll fertig gestellt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Kullmann et al.: *Radiat Environ Biophys.* 2018 Nov 19
 Deloch et al.: *Int J Mol Sci.* 2018 Oct 16;19(10)
 Falcke et al.: *Int J Mol Sci.* 2018 Nov 13;19(11)
 Deloch et al.: *Front Immunol.* 2018 Sep 18;9:1834

3 Verzeichnis der Forschungsstellen

	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	144
	Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter	
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	92
02 NUK 045B	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	130
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	136
	Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin	
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	142
	Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade	
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	98
	Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich	
02 NUK 039D	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	38
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	122
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A	62
	Framatome GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen	
02 NUK 041C	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	26
	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen	
02 NUK 034D	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	84
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E	162

Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena

- 02 NUK 051C Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C  56

GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt
--

- 02 NUK 017A Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A  74
- 02 NUK 034C Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C  82
- 02 NUK 037A Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A  104
- 02 NUK 049A Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A  150
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A  154

Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden

- 02 NUK 027C Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  16
- 02 NUK 041B Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  24
- 02 NUK 046B Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B  48
- 02 NUK 051B Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B  54
- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  64

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig

- 02 NUK 053E Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E  70

Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg

- 02 NUK 038B Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B  112
- 02 NUK 039B Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B  34
- 02 NUK 045A Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A  128
- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  134

Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam

- 02 NUK 053D Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D  68

Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg

- 02 NUK 049B Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B  152

Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau

- 02 NUK 027D Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegeltriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten  18

IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf

- 02 NUK 036AX Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  96
- 02 NUK 036C Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  100

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main

- 02 NUK 050D Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D  160

- | | |
|---|---|
| Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz | |
| 02 NUK 042B | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B 📖 116 |
| 02 NUK 044B | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur ortsaufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B 📖 44 |
| Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München | |
| 02 NUK 047C | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C 📖 138 |
| Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München | |
| 02 NUK 038A | Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A 📖 110 |
| Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr. 30, 28359 Bremen | |
| 02 NUK 042C | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C 📖 118 |
| Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover | |
| 02 NUK 044A | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur ortsaufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A 📖 42 |
| 02 NUK 051A | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A 📖 52 |
| Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz | |
| 02 NUK 035E | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E 📖 94 |
| Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg | |
| 02 NUK 051E | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E 📖 60 |
| Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg | |
| 02 NUK 039C | Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C 📖 36 |

Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen

- 02 NUK 039A Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A  32
- 02 NUK 053C Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C  66

THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1, 94469 Deggendorf

- 02 NUK 041D Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen  28

Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt
--

- 02 NUK 034A Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A  78
- 02 NUK 034B Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B  80
- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  102
- 02 NUK 037C Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C  108
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  120
- 02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B  156
- 02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C  158

Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden
--

- 02 NUK 027A Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern  12
- 02 NUK 027B Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens  14

- 02 NUK 027E Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  20
- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  90
- 02 NUK 041A Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem  22
- 02 NUK 046A Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A  46
- Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München**
- 02 NUK 039E Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E  40
- 02 NUK 045C Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C  132
- Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen**
- 02 NUK 051D Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D  58
- Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken**
- 02 NUK 035A Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  86
- Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig**
- 02 NUK 046C Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C  50
- Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock**
- 02 NUK 043C Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C  126
- Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm**
- 02 NUK 048B Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  148

Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen

- 02 NUK 037B Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B  106
- 02 NUK 043B Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  124
- 02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  140

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg
--

- 02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  76
- 02 NUK 035B Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  88

Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz
--

- 02 NUK 042A Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  114
- 02 NUK 048A Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  146