

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

PTE-N Nr. 19

BMBF geförderte FuE zu
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Januar - 30. Juni 2019

Projekträger Karlsruhe (PTKA)
Entsorgung

November 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 | 29 |
| 2.3 | STRAHLENFORSCHUNG..... | 71 |
| 3 | Verzeichnis der Forschungsstellen | 157 |

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 041D** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen **TH Deggendorf**  26

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) | 📖 30 |
| 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. | 📖 32 |
| 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 | 📖 34 |
| 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 | 📖 36 |
| 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 | 📖 38 |
| 02 NUK 044A | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A | Leibniz Universität Hannover | 📖 40 |
| 02 NUK 044B | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B | Johannes Gutenberg- Universität Mainz | 📖 42 |
| 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 | 📖 44 |

- 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.**  46
- 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**  48
- 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**  50
- 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.**  52
- 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**  54
- 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**  56
- 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.**  58
- 02 NUK 053A** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A **Forschungszentrum Jülich GmbH**  60
- 02 NUK 053B** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  62
- 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)**  64

- 02 NUK 053D** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D **Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ**  66
- 02 NUK 053E** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E **Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ**  68

1.3 Strahlenforschung

| | | | |
|---------------------|--|---|--|
| 02 NUK 032 | DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets | Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf |  72 |
| 02 NUK 034A | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A | TU Darmstadt |  74 |
| 02 NUK 034B | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B | TU Darmstadt |  76 |
| 02 NUK 034C | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C | GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt |  78 |
| 02 NUK 034D | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D | Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg |  80 |
| 02 NUK 035A | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A | Universität des Saarlandes |  82 |
| 02 NUK 035B | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B | Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf |  84 |
| 02 NUK 035C | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C | TU Dresden |  86 |
| 02 NUK 035D | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D | Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter |  88 |
| 02 NUK 035E | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E | Medipan GmbH, Dahlewitz |  90 |
| 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 |  92 |

| | | | |
|--------------------|---|---|---|
| 02 NUK 036B | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B | Elbe Kliniken Städte-Buxtehude |  94 |
| 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 |  96 |
| 02 NUK 036D | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D | TU Darmstadt |  98 |
| 02 NUK 037A | Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A | GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt |  100 |
| 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 |  102 |
| 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 |  104 |
| 02 NUK 042A | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A | Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz |  106 |
| 02 NUK 042B | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B | Johannes Gutenberg-Universität Mainz |  108 |
| 02 NUK 042C | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C | Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen |  110 |
| 02 NUK 042D | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D | TU Darmstadt |  112 |
| 02 NUK 043A | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A | Forschungszentrum Jülich GmbH |  114 |
| 02 NUK 043B | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B | Universitätsklinikum Essen |  116 |
| 02 NUK 043C | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C | Universität Rostock |  118 |

| | | | |
|--------------------|---|---|---|
| 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 |  120 |
| 02 NUK 045B | Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B | Bundesamt für Strahlenschutz |  122 |
| 02 NUK 045C | Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C | TU München |  124 |
| 02 NUK 047A | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A | Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg |  126 |
| 02 NUK 047B | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B | Bundesamt für Strahlenschutz |  128 |
| 02 NUK 047C | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C | Klinikum der Universität München |  130 |
| 02 NUK 047D | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D | Universitätsklinikum Essen |  132 |
| 02 NUK 047E | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E | Charité - Universitätsmedizin Berlin |  134 |
| 02 NUK 047F | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F | Albert-Ludwigs-Universität Freiburg |  136 |
| 02 NUK 048A | Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A | Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz |  138 |
| 02 NUK 048B | Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B | Universität Ulm |  140 |
| 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 |  142 |
| 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 |  144 |
| 02 NUK 050A | Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A | GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH |  146 |

- 02 NUK 050B** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B **TU Darmstadt**  148
- 02 NUK 050C** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C **TU Darmstadt**  150
- 02 NUK 050D** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D **Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main**  152
- 02 NUK 050E** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E **Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**  154

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Brennstab-bündel 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 der Spraykühlung an der Versuchsanlage ALADIN wurde erarbeitet. Der Einfluss der Stableistung und des Zeitpunktes des Anschaltens der Spraykühlung auf die Staboberflächentemperaturentwicklung sollen untersucht werden.

AP1*: Die experimentellen Untersuchungen mit Überströmkanal sind größtenteils abgeschlossen. Untersucht werden die Szenarien „ausdampfendes Lagerbecken“, „Luftkühlung mit Wasserblockade“ und „Luftkühlung ohne Wasserblockade“. Variiert wurden Stableistungen im Bereich von 10 W bis 50 W und Überströmgeschwindigkeiten bis zu 1,5 m/s. Aufgrund hoher Außentemperaturen war die Zuluft am bisherigen Ansaugpunkt innerhalb des Gebäudes zeitweise so stark erwärmt, dass eine konstante Zulufttemperatur von 25 °C, welche als Randbedingung für alle Versuche festgelegt worden war, nicht gewährleistet werden konnte. Der Aufbau einer alternativen Zuluftstrecke für die Versuchsanlage ALADIN ermöglicht jetzt die Einhaltung der Randbedingungen zu jedem Versuchszeitpunkt.

Die Auswertung der Versuche ist in Bearbeitung. Die Auswertung der Untersuchungen im Szenario „Luftkühlung ohne Wasserblockade“ mit Einzelstableistungen von 10 W ist abgeschlossen. Außerdem ist eine Auswertung der Versuche für das Szenario „ausdampfendes Lagerbecken“ erfolgt. Die Hauptidee der Untersuchungen ist, dass unabhängig vom untersuchten Szenario höhere Überströmgeschwindigkeiten ab 1,0 m/s senkrecht zur Ausströmrichtung aus der Anlage die Wärmeabfuhr behindern. Messungen unterhalb des Überströmgebietes ergeben höhere Temperaturen für höhere Überströmgeschwindigkeiten. Ein Einfluss der Überströmgeschwindigkeit auf die maximalen Staboberflächentemperaturen ist bei Luftkühlung und einer Stableistung von 10 W erkennbar. Für Versuche mit 50 W Stableistung im Szenario „ausdampfendes Lagerbecken“ kann hingegen kein Zusammenhang nachgewiesen werden. Die maximalen Staboberflächentemperaturen innerhalb einer Versuchsreihe mit identischen Randbedingungen sind nicht reproduzierbar. Dies ist auf Geysereffekte zurückzuführen, welche aus möglicherweise stochastischen Gründen in den durchgeführten Versuchen sehr unterschiedlich stark ausgeprägt auftreten und zu einer Wiederbenetzung bereits freigelegter Staboberflächenbereiche führen und diese kurzzeitig bis zu 150 K abkühlen.

Zur Visualisierung des Strömungsprofils im Bereich des Brennelementkopfes wird ein Rauchgenerator genutzt. Für die Zuströmung des Rauchgases wurden zwei Nebellanzen konstruiert und gefertigt. Für die Einleitung des Rauchgases in den Überströmkanal wurden drei mögliche Zuströmpunkte gefunden. Um den Einfluss mehrerer BE-Griffe entlang des Strömungspfades auf das Strömungsprofil untersuchen zu können, ist eine Erweiterung der Anlage um zwei weitere Griffe, zusätzlich zum vorhandenen Dummy, möglich. Diese befinden sich stromauf und stromab des Zentralelementes. Experimentelle Voruntersuchungen zur Visualisierung des Strömungsprofils im Bereich des Brennelementkopfes sind erfolgt.

Die Planung und Konstruktion des Spraykühlungssystems sind abgeschlossen. Die benötigten Komponenten wurden gefertigt. Eine Umgestaltung des Versuchsfeldes zur Integration des Spraykühlungssystems erfolgte. Das Spraykühlungssystem ist in Betrieb genommen und experimentelle Voruntersuchungen durchgeführt. Deionat wird dabei von oben in das Zentralelement der Versuchsanlage ALADIN eingesprüht. Genutzt wird eine Vollkegeldüse mit einem Streukegel von 30°.

AP2*: Bereitstellung von Konstruktionsdaten der Versuchsanlage ALADIN mit Zusatzkomponenten.

Bereitstellung von Messdaten aus den experimentellen Untersuchungen an der Versuchsanlage ALADIN mit Überströmkanal für die CFD-Simulation.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1*: Abschluss der Auswertung der experimentellen Untersuchungen mit Überströmkanal.

Durchführung und Auswertung der Experimente mit Spraykühlung und Rauchgasgenerator

AP2*: Die Bereitstellung weiterer 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

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

Ein Schwerpunkt der Arbeiten im ersten Halbjahr 2019 waren Untersuchungen zu den Erweiterungen im Integralexperiment bei TUD-WKET (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 Eckelemente schwerer ein als ins Zentralbündel. Bei moderater Stabileistung (20 W) führt eine Erhöhung der Geschwindigkeit der Querüberströmung zu einer signifikanten Zunahme der Temperatur im Zentralbündel. Dieses Ergebnis deckt sich mit den bisherigen Erkenntnissen in diesem Teilprojekt. Bei höherer Heizleistung wird dieser Effekt abgeschwächt. Es dringt deutlich weniger Luft in das Heizpatronenbündel ein, da mehr Dampf produziert wird, der einem Eindringen entgegenwirkt. Erste Ergebnisse dieser Untersuchung wurden im Mai beim Annual Meeting on Nuclear Technology in Berlin präsentiert. Weiterhin wurde die Analyse mesoskaliger Effekte an der Geometrie des SWR-Brennelements fortgeführt (AP2). Es wurden zwei Ansätze zur Modellierung der Prozesse im Kopfbereich des Brennelementes untersucht. Zum einen wurde die Genauigkeit der Modellierung des Queraustauschs in einem Brennelement als anisotroper poröser Körper untersucht. Zum anderen wurde ein Modell entwickelt, das die Umlenkung der Strömung durch den Transportbügel durch eine Impulsquelle abbildet. Die Simulationen konnten zeigen, dass die Abbildung des Kopfbereichs mit vereinfachten Modellen keine zufriedenstellenden Ergebnisse im Vergleich zur aufgelösten Simulation liefert. Daher muss der Kopfbereich zwingend geometrisch aufgelöst werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im restlichen Bearbeitungszeitraum werden die noch offenen Arbeitspakete zum Abschluss gebracht. Dies beinhaltet die mesoskalige Simulation eines Teilbereiches eines BE-Lagerbeckens sowie die Ableitung von Konsequenzen aus den erweiterten CFD-Berechnungen für die Modellierung in Integralcodes.

5. Berichte, Veröffentlichungen

R. Oertel, T. Hanisch, E. Krepper, D. Lucas, F. Rüdiger, J. Fröhlich, 2019: Two-scale CFD analysis of a spent fuel pool involving partially uncovered fuel storage racks. Nuclear Engineering and Design 341, 432-450

T. Hanisch, D. Liu, F. Rüdiger, J. Fröhlich: Numerical simulation of flow and heat transfer in a fuel assembly mock-up with horizontal overflow, 50. Jahrestagung Kerntechnik (AMNT), Berlin, 2019

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 von Hüllrohrtemperaturen über 650K ertüchtigt, wobei die Wärmefreisetzung durch Zirkoniumoxidation zunehmend an Bedeutung gewinnt. 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.

Die Rate der Hüllrohroxidation wird vom konvektiven Transport der Wasserdampf- oder Sauerstoffmoleküle zur Oxidschichtoberfläche, dem diffusiven Fluss dieser Moleküle zur Hüllrohroberfläche und schließlich der eigentlichen Reaktionsrate, welche exponentiell mit der Temperatur zunimmt, bestimmt. Unter der Annahme, dass die Konzentration des Oxidationsmittels an der Oxidschichtoberfläche stets ausreichend hoch ist, wird der diffusive Stofftransport zum limitierenden Faktor. Dieser ist von der Dicke der bereits ausgebildeten Oxidschicht abhängig. Laborexperimente liefern üblicherweise eine Information über die Massenzunahme einer Probe über der Zeit für eine konstante Temperatur. Auf der Grundlage eines parabolischen Wachstumsgesetzes lassen sich daraus effektive Arrhenius-Koeffizienten ableiten, welche den Diffusions- und Reaktionsfluss einbeziehen. Im konkreten Fall der Lagerbeckenmodellierung ist jedoch die Temperaturhistorie zu berücksichtigen. Der bei den oben genannten Modellen verwendete quasi-stationäre Simulationsansatz macht eine Modellierung jener Temperatur- und Oxidationshistorie erforderlich. Es wurde angenommen, dass als Oxidationsmittel ausschließlich der an der Wasseroberfläche entstehende Wasserdampf zur Verfügung steht, dessen konvektiver Transport durch das Brennelement die anderen Kühlmechanismen dominiert. Für ein gegebenes Zerfallswärmeprofil lässt sich unter diesen Annahmen eine Zeitintegration vornehmen und die Oxidschichtstärke für einen gegebenen Zeitpunkt abschätzen. Diese stellt eine zusätzliche Eingangsgröße für die temperaturabhängigen Quellterme der Wärme- und Wasserstofffreisetzung dar. Unter der Annahme eines idealen Gemisches wird die Wasserstoffkonzentration als passive skalare Größe auf einem gemeinsamen Geschwindigkeitsfeld mit den anderen Gasen transportiert.

Die Simulationen für verschiedene Wasserspiegel und Zerfallswärmeanordnungen zeigen, dass die Konvektion von der Wasserstofffreisetzung nicht direkt beeinflusst wird. Durch die Verlagerung des Gewichtes der Wärmefreisetzung auf Brennelemente mit höherer Zerfallswärme, d. h. höherer Zirkoniumoxidationsrate, ist jedoch ein indirekter Einfluss gegeben. Entsprechend günstig wirkt sich eine schachtbrettartige Verteilung der Brennelemente entsprechend ihrer Zerfallswärme aus. Die Simulationsergebnisse legen nahe, dass der entstehende Wasserstoff überwiegend entlang der Beckenwand zur Beckenoberkante transportiert wird. Daraus lässt sich als Empfehlung ableiten, dass passive autokatalytische Rekombinatoren möglichst am oberen Beckenrand installiert werden sollten, um eine Ansammlung von Wasserstoff aus dem Lagerbecken im oberen Teil des Reaktorgebäudes / Containments zu verhindern.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aufarbeitung der Ergebnisdarstellung und Erstellung des Abschlussberichtes.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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)

Der AP-A0 enthält für die Untersuchungen an der HSZG Parameteranalysen für Bedingungen nach Ausdampfen von DWR-BE-LB in geschlossener SHB-Atmosphäre

- AP-A1: Vorbereitung, Aufbau und Inbetriebnahme der Experimentiereinrichtungen, Durchführung und Bewertung der Experimente

Der AP-A1 enthält für die HSZG:

- Planung, Errichtung und Inbetriebnahme der Zusatzausrüstung am DVABEG-VS
- Durchführung und Bewertung von Experimenten zur Modellierung
- Einsatz des Gittersensors im BE-Dummy
- Unsicherheitsanalyse
- AP-A2: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE
 Im AP-A2 ist keine direkte Beteiligung der HSZG vorgesehen. Ergebnisse dieses AP werden durch Nutzung von übergebenen Simulationsdaten der Projektpartner für die Anpassung von Versuchsspezifikationen genutzt. Von der HSZG werden Validierungsdaten aus AP1 bereitgestellt
- AP-A3: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS
 Im AP-A3 werden Integralcodes angewandt. Für die Untersuchungen zum Verhalten bei ausdampfenden DWR-BE-LB soll insbesondere das TH-Modul von COCOSYS für Simulationen im meso- bis großskaligen Bereich eingesetzt werden. Diese Simulationen ordnen sich gut zwischen die Einzel-BE-Analysen mittels CFD bzw. ATHLET und die großskaligen CFD-Analysen ein.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die Arbeiten zu den AP-A1 und AP-A3 der Aufstockung fortgesetzt. Anstelle der in der Vorhabensbeschreibung genannten Versuchsanlage DVABEG-VS mit 1BE-Dummy mit Querüberströmung kam der modifizierte Versuchsstand mit 3×1 BE und Querüberströmung (ZiBRA, Zittauer Brennelement Anordnung, vgl. Halbjahresbericht_2/2018) zum Einsatz. Dies stellt die Nachbildung eines Setups aus der realen Anlage eines Lagerbeckens mit der Konfiguration 3×1 dar. Nach der Auswertung der Messungen zu den Vertikalströmungsuntersuchungen in den 3 BE-Dummy wurde der große Einfluss des Spaltes zwischen dem Brennelement (BE) und dem Absorberschacht auf die Verteilung der Strömung im Schacht festgestellt und im Berichtszeitraum intensiv untersucht.

Die Analyse zu diesen Phänomenen beinhaltete die experimentellen Untersuchungen mit dem BE-Dummy mit 3 Abstandshaltern (AH) und die Untersuchungen mit dem BE-Dummy mit 2 Abstandshaltern und deren Vergleich. Der Vergleich ergab hohe Geschwindigkeitsunterschiede zwischen der Geschwindigkeit in den Kühlkanälen und der Geschwindigkeit im Spalt zwischen BE und Absorberschacht für beide BE-Konfigurationen. Dies deutet auf eine signifikante Strömungsverlagerung aus den Kühlkanälen im BE in den Spalt zwischen BE und Absorberschacht hin.

Weiterhin wurde der Einfluss der nacheinander stehenden Brennelemente optisch und messtechnisch experimentell analysiert. Hierbei wurde im Rahmen der isothermen Versuche mit der 3×1 – BE Konfiguration das Strömungsverhalten oberhalb der BE für variable Horizontal- und Vertikalströmung untersucht. Je nach den eingestellten Impulsstromverhältnissen der Horizontalströmung und der Vertikalströmung entstanden instabile Scherschichten.

Beim AP-A3 wurden die Berechnungen mit dem TH-Modul COCOSYS fortgeführt, um die Simulation von Gasströmungen oberhalb der BE-Lagergestelle im Bereich BE-Lagerbecken mit übergeordnetem SHB-Dom zu optimieren.

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen statt:

Arbeitstreffen am 24.01.2019 an der TU Dresden - WKET zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner.

Arbeitstreffen am 10.04.2019 an der TU Dresden - ISM zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner.

4. Geplante Weiterarbeiten

Als nächster Arbeitsschritt werden die Arbeiten zu AP-01 und AP-03 abgeschlossen und der Abschlussbericht erstellt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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:

Die Änderungen an der Schaltung der Messelektronik wurde durch Vorversuche getestet und deren Auswirkung auf die zeitliche Auflösung des Sensors untersucht. Ein Vergleich der ursprünglichen Schaltung und der neu entwickelten Schaltung zeigt eine deutliche Verringerung der Einstellzeit nach dem Wechsel in den Geschwindigkeitsmessbetrieb (positive Sprung im Messsignal). Damit konnte die Verbesserung der zeitlichen Auflösung gezeigt werden.

Auf Basis der experimentellen Voruntersuchungen zur neuartigen bidirektional messenden Sonde wurden mögliche Sensorkonzepte geprüft. Ein mögliches Sonden-Design sieht die Verwendung von Dioden als Sensorelement vor. Es werden zwei Dioden eingesetzt und mittels einer Wechsellspannung nacheinander zur anemometrischen Messung der Fluidgeschwindigkeit genutzt.

Dabei fließt in Flussrichtung der Diode ein Strom konstanter Stromstärke I . Die Diode wird aufgrund des Spannungsabfalls U mit $P = U \cdot I$ erhitzt. Aus $U = U(\vartheta_{\text{Diode}})$ und $\vartheta_{\text{Diode}} = \vartheta_{\text{Diode}}(v)$ folgt demnach $U = U(v)$, woraus bei konstanter Stromstärke I bei variierender Geschwindigkeit v entsprechende Spannungen U resultieren. Der Vorteil dieser Anordnung liegt in einem robusten, einfachen Aufbau der Sonde mit wenigen benötigten elektronischen Bauteilen. Der experimentelle Funktionsnachweis wurde anhand einer einzelnen Diode, welche konzentrisch in einem Rohr angeordnet wurde, durchgeführt. Es wurde eine eingelaufene laminare Luftströmung verwendet und unterschiedliche Stromstärken verwendet. Die Messwerte zeigen, dass die gemessene Spannung mit steigender Leerrohrgeschwindigkeit der Luft größer wird.

Damit konnte der prinzipielle Funktionsnachweis erbracht werden. Allerdings ist die Sensitivität $\Delta U / \Delta v$ sehr gering, was einen Einsatz für den zu untersuchenden Geschwindigkeitsbereich derzeit noch ausschließt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aufstockungsphase/API1:

Es sind weitere technische Umsetzungen für die bidirektionale Sonde zu prüfen und gegebenenfalls experimentell zu validieren. Bei erfolgreicher Vorstudie ist eine geeignete Kalibrierung, Sensitivitäts- sowie Unsicherheitsanalyse durchzuführen.

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 Integralexperimente 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 geneigten 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 Integralexperimente 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)

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

- AP1*: Literaturstudium, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Modellbildung, Arbeiten zur Vorbereitung der Experimente und Simulationen (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP2*: Vorbereitung und Durchführung der Experimente (TUD-WKET, THD, HZDR)
- AP3*: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Durchführung von Simulationen (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP4*: Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP5*: Abschlussbericht (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1*: - Das Literaturstudium zur Stabilität von Naturumlaufsystemen und zu Zweiphasenströmung hat ergeben, dass beim HPR1000 das gleiche Konzept zur Containment-Kühlung wie beim KERENA verfolgt wird. Zu diesem Konzept wurden bereits experimentelle und theoretische Untersuchungen zu Kondensationsschlägen sowie Optimierungsvorschläge hinsichtlich der Geometrie veröffentlicht.
- Das Literaturstudium zum Wärmeübergang mit nichtkondensierbaren Gasen hat ergeben, dass der Einfluss der nichtkondensierbaren Gase auf den Kondensationswärmeübergang bereits unter anderem im INKA Teststand experimentell untersucht wurde. Eine belastbare Quantifizierung dieses Einflusses und die Validierung entsprechender Wärmeübergangsmodelle sind jedoch noch nicht erfolgt.
 - Das erweiterte Instrumentierungskonzept der Versuchsanlage GENEVA enthält zusätzliche Temperaturmessstellen in der Dampfkammer zur Messung der Temperaturverteilung, einen Absolutdrucksensor und ein Massenspektrometer zur Analyse der lokalen Gaszusammensetzung in der Dampfkammer.
- AP2*: - Die Integraleexperimente zur Naturumlaufstabilität mit vier Kondensationsrohren haben eine Reduktion des instabilen Zweiphasengebietes gezeigt. Kleine Phasenverschiebungen der Temperatursignale zueinander in den Kondensationsrohren sind vernachlässigbar.
- Zur Vorbereitung der Kondensationsexperimente werden die notwendige Messtechnik laut Instrumentierungsplan (teilweise über eine öffentliche Ausschreibung) und zusätzliche sicherheitstechnisch erforderliche Komponenten für die Lagerung und den Betrieb von Druckgasflaschen sowie für die Hantierung mit Gasen beschafft.
- AP3*: - Die ersten Vergleiche der Ergebnisse aus den Rechnungen mit dem erstellten Naturumlaufmodell in ATHLET und der experimentellen Ergebnisse zeigen noch Abweichungen in den Stabilitätsgrenzen von ca. $\Delta N_{\text{sub}}=10$.
- AP4*: - noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 04/2020 - 09/2020)
- AP5*: - noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 10/2020 - 12/2020)
- GRS: -

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2*: bis 10/2019: Durchführung der Integraleexperimente zur Naturumlaufstabilität
 ab 10/2019: Einbau und Erprobung der Methode zur Analyse der Gaszusammensetzung
 ab 11/2019: Durchführung von Kondensationsexperimenten
- AP3*: ab 09/2019: Validierung des vereinfachten Naturumlauf-ATHLET-Modells anhand der GENEVA-Integraleexperimente
 ab 10/2019: Weiterentwicklung des Niedrigdruck-Naturumlauf-ROMs und Vorbereitung zur Nichtlinearen Stabilitätsuntersuchung
 ab 02/2020: Überprüfung der ATHLET-Modell zu nichtkondensierbaren Gasen anhand der Ergebnisse der Kondensationsexperimente
- AP4*: ab 01/2020: Überprüfung der RAM-ROM-Methode anhand der Integraleexperimente
 ab 05/2020: Weiterentwicklung und Validierung von Kondensationsmodellen bei Anwesenheit von nichtkondensierbaren Gasen
- AP5*: ab 09/2020: Erstellen des Abschlussberichts
- GRS: -

5. Berichte, Veröffentlichungen

Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; F. Viereckl, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; 4. Projektstatusgespräch zur BMBF-geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung, Karlsruhe, Deutschland, Mai 2019

Reduced order modeling of a natural circulation system by proper orthogonal decomposition; R. Manthey, A. Knospe, C. Lange, D. Hennig, A. Hurtado; Progress in Nuclear Energy, Vol. 114, pp. 191-200, März 2019 (doi: 10.1016/j.pnucene.2019.03.010)

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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: Literaturstudium zum Einfluss von Einbauten auf das Kondensationsverhalten, Update zu neuen Kondensationsmodellen.
- AP2: Planung, Abstimmung und Umbau der COSMEA-Sekundärseite, Abstimmung der Testmatrix. Anpassung Automatisierungstechnik und Messdatenerfassung sowie Inbetriebnahme der Stützdampfleitung. Konsultationen und Support zu den experimentellen Randbedingungen und Ergebnissen.
- AP3: Weiterentwicklung GENTOP-Ansatz, ATHLET-Modellentwicklung und Anwendung sowie vergleichende Untersuchungen mit CFD-Simulationen.
- AP4: Weitere numerische Untersuchungen zur Wirkung von Einbauten zur Erhöhung des Wärmestroms und der Kondensationsrate in der Rohrleitung. Die entwickelten CFD-Modelle werden zur Simulation eines GENEVA-Experiments zur Kondensation auf der Außenseite des Gebäudekondensators angewendet.
- AP5: Abschlussbericht

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Das CFD-Modell wurde für die gemessenen Wanddicken der COSMEA-Anlage aktualisiert. Es wurde eine Literaturstudie über die Auswirkungen von Einbauten auf die Verbesserung der Wärmeübertragung während des Kondensationsprozesses durchgeführt. Zusammen mit drei weiteren Doktoranden des PANAS-Projekts wurde ein Übersichtspapier über passive Wärmeabfuhrsysteme erarbeitet. Aufgrund des großen Umfangs an Rechercheergebnissen wurde beschlossen, den Inhalt auf zwei Zeitschriftenpublikationen aufzuteilen. Beide Teile wurden überarbeitet und schließlich in der internationalen Fachzeitschrift "Annals of Nuclear Energy" eingereicht. Die Dissertation des HZDR-Doktoranden liegt im Entwurf vor.

- AP2: Im 1. Halbjahr 2019 wurde der HZDR-Vorschlag zum Umbau der Sekundärseite am COSMEA-Versuchsstand mit den Projektpartnern diskutiert und deren Vorschläge und Hinweise in die Konstruktionszeichnungen eingearbeitet. Danach wurden die Fertigungsunterlagen erstellt und Angebote angefragt. Des Weiteren wurde eine Technologie zur Fertigung der 24 Thermolanzen erarbeitet, eine Referenzlanze gefertigt und deren Funktion geprüft. Außerdem wurde entsprechend des Arbeitsplanes ein Vorschlag für die Versuchsmatrix erarbeitet und innerhalb des HZDR abgestimmt. Die kompletten Fertigungsunterlagen der Sekundärseite des COSMEA-Versuchsstandes sind verfügbar.
Die Testmatrix für die Kondensationsversuche mit hohem Wassergehalt und einigen ausgewählten Wiederholungsmessungen der Versuchsserie von 2017 steht zur Verfügung.
Die Ergebnisse der Kondensationsmessungen aus dem Jahr 2017 wurden in einer umfangreichen Publikation für die Veröffentlichung in einer wissenschaftlichen Fachzeitschrift zusammengefasst.
- AP3: Das entwickelte CFD-Kondensationsmodell berücksichtigt nur zwei kontinuierliche Phasen. Zur Modellierung für Kondensationsvorgänge bei Strömungen mit geringem Dampfanteil (Pfropfen und Blasenströmung) sollte dem entwickelten Kondensationsmodell eine dispergierte Phase hinzugefügt werden. Daher wird das Zweifluid-GENTOP-Konzept des HZDR verwendet. GENTOP ist die Verbindung des AIAD-Modells mit dem inhomogenen MUSIG-Modell durch Hinzufügen einer kontinuierlichen Gasphase, deren Phasengrenze im Rechengitter aufgelöst werden soll. Durch Einbinden geeigneter Modelle sind somit Übergänge zwischen polydispersen und kontinuierlichen Gasphasen möglich, einschließlich dem möglichen Erscheinen und Verschwinden einer Phase.
Für die im Projekt geplanten, vergleichenden Untersuchungen mit einem Systemcode wurde zuerst mit der Erstellung eines ATHLET-Modells für eine generische Nachwärmeabfuhrkette begonnen. Das Modell beinhaltet eine Wärmequelle (RDB-Simulator) sowie einen Notkondensator und einen Gebäudekondensator mit den entsprechenden Wasservorlagen als Wärmesenke. Die passive Wärmeabfuhr erfolgt durch Naturumlauf. Basierend auf den Erkenntnissen aus den COSMEA-Validierungsrechnungen sollen dann generische Untersuchungen zu Leckstörfällen (Füllstandstransienten) durchgeführt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Nachdem die Versuchsmatrix im HZDR abgestimmt wurde, ist diese mit den externen Projektpartnern zu diskutieren. Wenn mindestens drei Angebote für die Fertigung der Sekundärseite vorliegen, sind die erforderlichen Finanzmittel zu entsperren und die Fertigung ist zu beauftragen. Außerdem sind die Thermoelemente, Drucktransmitter und Komponenten für die Erweiterung der speicherprogrammierbaren Steuerung zu beschaffen und der Strömungsgleichrichter aufzubauen. Neben diesen Arbeiten sind die 24 Thermolanzen fertigzustellen. Nachdem alle Komponenten verfügbar sind, ist die COSMEA-Anlage wieder vollständig zu montieren und in Betrieb zu nehmen.
- AP3: Es erfolgen weitere Arbeiten am GENTOP-Konzept zur Modellierung des gesamten Kondensationsprozesses vom Reindampf am Eintritt bis zur reinen Flüssigkeit am Austritt des Rohres. Weiterhin muss das Gitternetz für die neue Geometrie der COSMEA-Anlage (ohne Drallelemente) generiert werden.
Es wird ein ATHLET-Modell für die COSMEA-Versuchsanlage erstellt. Für die Validierung des Modells werden geeignete Experimente ausgewählt und die Daten werden für die Validierung aufbereitet. Danach wird mit den Validierungsrechnungen begonnen. Parallel dazu werden die Testrechnungen für die generische Wärmeabfuhrkette fortgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Bieberle, A. et al.: Flow morphology and heat transfer analysis during high-pressure steam condensation in an inclined tube part I: Experimental investigations (2019, Nuclear Engineering and Design)
- Moonesi, A. et al.: Flow morphology and heat transfer analysis during high-pressure steam condensation in an inclined tube part II: Numerical investigations (2019, Nuclear Engineering and Design)
- Moonesi, A. et al.: Modelling of passive heat removal systems: A review with reference to the Framatome BWR reactor KERENA: Part I (2019, Annals of Nuclear Energy)
- Manthey, R., Viereckel, F. Moonesi, A. et al.: Modelling of passive heat removal systems: A review with reference to the Framatome BWR reactor KERENA: Part II, Nuclear Engineering and Design (2019, Annals of Nuclear Energy)
- Bieberle, A. et al.: Experimental and Numerical studies on high-pressure steam condensation in a horizontal condenser tube, SWINTH workshop, 2019, Livorno
- Y. Zhang, A. Moonesi et al.: Evaluation of stratified condensation models for a slightly inclined tube using ATHLET code (NURETH 2019- Portland USA, proceeding)

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 Teilprojektes 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 analysiert und optimierte Wärmeübergangsmodelle erarbeitet. Die Messergebnisse stammen von den Testständen GENEVA der Technischen Universität Dresden und vom Teststand zur Wärmedurchgangsmessung in geneigten Rohren des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf.

Daran anschließend wird die Implementierbarkeit dieser Modelle in gängige Fluidodynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

AP1: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen

AP2: Evaluieren von 1D dynamisch-thermischen Modellen sowohl im stabilen als auch im transienten Zustand mit ATHLET aufgrund der Daten der GENEVA- und COSMEA-Teststände

AP3: Vergleich des Simulationsresultats mit dem Messergebnis und Analysieren des physikalischen Hintergrunds für Kondensationsmodelle

AP4: Verbesserung der ATHLET-Kondensationsmodelle im Hinblick auf vorhandene Zweiphasenströmungs-Instabilitäten und transienten Modellen. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch statischer und thermisch dynamischer Kopplungen.

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

Der Verlauf des ursprünglichen PANAS Projekts: Das AP1, 2 und 3 sind erfolgreich abgeschlossen. Eine Literaturrecherche der verschiedenen Kondensationsmodelle wurde durchgeführt und die Modelle wurden mithilfe eines Python-Programms in die ATHLET-Rechnung implementiert. Die Resultate der Kondensationsmodelle-Analyse zeigt, dass allgemeine Modelle zu zwei Gruppen kategorisiert werden können. Eine Gruppe berücksichtigt nur den Film-Kondensation-Effekt im oberen Teil des Querschnitts und die andere Gruppe berücksichtigt darüber hinaus den unteren Teil, damit die untere, dünne Kondensatschicht nicht vernachlässigt wird. Die Auswertungen für die Modelle wurden sowohl in ATHLET als auch in MATLAB durchgeführt. Aber die Ergebnisse sind ganz unterschiedlich bzw. MATLAB zeigt, dass die beste Korrelation die nach Dobson ist. Allerdings passt die Cavallini-Korrelation am besten zur Auswertung der Experimente in ATHLET. Die Ursache dabei war ein Fehler der genutzten Python-Schnittstelle von GRS. Deshalb werden die ATHLET-Berechnungen wiederholt durchgeführt aufgrund dieses Fehlers in der Schnittstelle. Die Berechnungen wurden teilweise erledigt.

Der Verlauf des aufgestockten PANAS Projekts: Für das AP1 wurde die Literaturrecherche begonnen, aber noch nicht beendet. Auch ein CFD Model der GENEVA-Steigleitung wurde erstellt und erste Rechnungen wurden durchgeführt. Allerdings haben die Arbeiten nicht ganz den Stand erreicht, der vorgesehen war, da die Rekrutierung einer weiteren Arbeitskraft verspätet durchgeführt wurde.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die weitere Arbeit des ursprünglichen PANAS Projekts: Im nächsten Schritt werden die Modelle in ATHLET wieder implementiert und mit neuen COSMEA-Daten validiert. Die beste Korrelation für weitere Modellverbesserung wird ausgewählt. Es ist geplant, an einer Konferenz (NURETH-18) teilzunehmen. Außerdem wird die Methodik der Modellverbesserung aufgrund des Datensatzes von COSMEA untersucht.

Die weiteren Arbeiten des aufgestockten PANAS Projekts: Für das AP1 ist die Literaturrecherche abzuschließen und die identifizierten Modelle mit den ATHLET Bibliotheken abzugleichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Veröffentlichung (An investigation of condensation process in COSMEA with ATHLET code), Kerntechnik

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

Konferenzpaper (Evaluation of stratified condensation models for a slightly inclined tube using ATHLET code), bei NURETH-18 akzeptiert.

Eine Veröffentlichung wird geplant, nachdem die Modellverbesserung gelungen ist.

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 31.04.2020 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 des Abschlussworkshops von ThermAc innerhalb von HiTAC III in Karlsruhe (27.6.2019), Organisation von internen Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Start der Th-Festphasenpräparation bei erhöhten Temperaturen für Löslichkeitsexperimente. (ii) Test moderner spektroskopischer Methoden (HR-XANES) zur Charakterisierung der Th-Festphasen. (iii) Publikation des Manuskripts von Lee et al.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS: (i) Modell für Aktivitätskoeffizienten von Natriumhexacyanoferraten in NaCl-Lösungen (ii) Auswertung von Redoxmessungen in NaCl-Lösungen durch mehrstufiges empirisches Verfahren wurde entwickelt. Verfahren in NaCl-Lösungen bei $T = 25-60^\circ \text{C}$ anwendbar, für MgCl_2 -Lösungen soll perspektivisch der gleiche Ansatz verwendet werden können.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos21: (i) Anwendung des entwickelten Schätzansatzes auf das Phosphatsystem und Vergleich mit experimentellen Daten von HZDR. (ii) Vergleich von Schätzmethode für unterschiedliche Radionuklide zwischen den Partnern Amphos 21, PSI und TUM. (iii) Datenauswertung zur Identifizierung von Trends bei der Änderung von SIT-Parameters (ϵ) mit T.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES: (i) Fertigstellung und Einreichung des Manuskriptes über isocoulombische Reaktionen zur Temperaturextrapolation von Gleichgewichtskonstanten. (ii) ThermoHub: Erstellung und Verbesserung von Scripten zum Import/Export von thermodynamischen Daten in Formaten anderer Datenbanken.

4. Geplante Weiterarbeiten

- KIT-INE, Projektmanagement: Kommunikation im Verbund ThermAc, Dissemination.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Beginn der Th-Löslichkeitsexperimente bei höheren T. (ii) Ansetzen von Experimenten bei Anwesenheit von Carbonat bei höheren T. (iii) Fertigstellung bzw. Einreichung der ausstehenden Manuskripte von Lee et al. bzw. Endrizzi et al. in ThermAc.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS: (i) Spektrophotometrische Messungen zur Bestimmung der Speziation von Fe(II) in chloridischen und sulfatischen Lösungen. (ii) Kalorimetrische Messungen an Mg-Hexacyanoferraten.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos21: (i) Abschluss des Übersichtsreports inkl. der entwickelten technischen Datenblätter. Vergleich mit experimentellen Daten und Analyse der Anwendbarkeit der entwickelten Methode für den Abbau von Unsicherheiten im Safety Case.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES: (i) Fertigstellung und Einreichung des Manuskriptes über die ThermoFun-Programm-bibliothek. (ii) Implementierung zusätzlicher Temperaturextrapolationsmethoden mit dem Hauptgewicht auf dem Ryzhenko-Bryzgalin-Modell. (iii) Fertigstellung der im Rahmen von ThermAc entwickelten Softwaretools (ThermoMatch, ThermoHub, ThermoFun) für die öffentliche Freigabe (mit Dokumentation).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Lee et al. (2019): Effect of T on the Ca-U(VI)-CO₃ system (Applied Geochemistry, in press)

G. D. Miron et al.: Generating isocoulombic reactions as a tool for systematic evaluation of temperature trends of thermodynamic properties: Application to aquocomplexes of lanthanides and actinides (submitted to GCA)

Altmaier et al.: Vortrag, HiTAC-III Workshop, Karlsruhe, Deutschland (06.2019)

Gaona et al.: Vortrag bei HiTAC-III Workshop, Karlsruhe, Deutschland (06.2019)

Colàs et al.: Vortrag, HiTAC-III Karlsruhe (6.2019)

Campos et al.: Poster, ABC-Salt-VI Workshop, Karlsruhe (6.2019)

S. Hagemann, Vortrag, HiTAC-III Workshop, Karlsruhe, Deutschland (06.2019)

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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)/Eu(III)-Phosphat: Im Rahmen einer Masterarbeit wurde das Eu(III)-Phosphat-System bei einem pH-Wert von $-\log[\text{H}^+] = 2.52$ mittels Laser-induzierter Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Zudem wurde die Temperaturabhängigkeit dieses Systems bis 90 °C untersucht. Für das Eu(III)-System wurden außerdem erste ergänzende Experimente mittels Isothermer Titrationskalorimetrie bei einem pH-Wert von $-\log[\text{H}^+] = 1$ durchgeführt. Bei der Auswertung der spektroskopischen Daten für das Cm(III)-System bei einem pH-Wert von $-\log[\text{H}^+] = 3.44$ konnten Hinweise auf zwei weitere Cm(III)-Spezies gefunden werden, wobei für eine dieser beiden Spezies eine vorläufige Komplexbildungskonstante ermittelt werden konnte. Für die Bestimmung der verbleibenden Cm(III)-Spezies wurden weitergehende Experimente durchgeführt.
- U(VI)-Silikat: Mit Hilfe der ESI-MS Spektren konnte eine Polymerisation der wässrigen Kieselsäure bereits bei geringen Silikat Konzentration festgestellt werden. Die Daten sind Bestandteil der ersten Publikation, welche kurz vor der Fertigstellung ist. Die Aufnahme und Auswertung der spektroskopischen Daten ist teilweise erfolgt, aber noch nicht vollständig abgeschlossen.
- U(VI)-Chlorid/Fluorid: Mit Hilfe der Spektrenentfaltung von Lumineszenzspektren konnten speziescharakteristische Spektren der UO_2F^+ , UO_2F_2 , UO_2F_3^- , $\text{UO}_2\text{F}_4^{2-}$ Spezies bei Raumtemperatur und von UO_2Cl^+ und UO_2Cl_2 bei Raum- und Tieftemperatur gewonnen werden. Anhand der Spektren konnten konditionelle Komplexbildungskonstanten berechnet werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Cm(III)/Eu(III)-Phosphat: Die Masterarbeit wird im Oktober abgeschlossen. Die spektroskopischen Daten für das Eu(III)-System bei $-\log[\text{H}^+] = 2.52$ bzw. Cm(III)-System bei $-\log[\text{H}^+] = 3.44$ werden ausgewertet und Komplexbildungskonstanten ermittelt. Die Ergebnisse sollen in entsprechenden Publikationen veröffentlicht werden.
- U(VI)-Silikat: Entsprechende spektroskopischen Untersuchungen werden abgeschlossen und die Daten in zwei Publikationen sowie einer Dissertation veröffentlicht.
- U(VI)-Chlorid/Fluorid: Die Ergebnisse zu Quenching- und Komplexbildungsverhalten von Uranyl(VI) mit Chlorid und Fluorid sollen in einer Publikation zusammengefasst werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

H. Lösch, M. Raiwa, N. Jordan, R. Steudtner, T. Stumpf, N. Huittinen: U(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic pH-range: A combined laser spectroscopic and mass spectrometric study, Vortrag auf dem HiTAC – III Workshop, 27.06.2019, Karlsruhe

M. Demnitz, S. Hilpmann, H. Lösch, F. Bok, R. Steudtner, M. Patzschke, T. Stumpf, N. Huittinen: Temperature-dependent luminescence spectroscopic investigations of U(VI) complexation with the halides F^- and Cl^- , in Bearbeitung für Dalton Transactions

H. Lösch, M. Raiwa, N. Jordan, R. Steudtner, T. Stumpf, N. Huittinen: Temperature-dependent luminescence spectroscopic (TRLFS) and mass spectrometric (ESI-MS) investigations of U(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic pH-range, in Bearbeitung für *Geochimica&Cosmochimica Acta*

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Komplexierung von NpO_2^+ mit NO_3^- wurde im Temperaturbereich von 20 bis 85 °C untersucht. Die anfänglichen Untersuchungen wurden bei kleinen bis mittleren Ionenstärken ($I_m < 4.0 \text{ mol kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) durchgeführt. Unter diesen Bedingungen war jedoch keine Veränderung der Absorptionsspektren mit steigender Ligandkonzentration und Temperatur zu erkennen, was auf eine sehr schwache Komplexierungsreaktion hindeutet. Daher wurden Experimente bei hohen Ionenstärken ($I_m = 8.0 - 10.0 \text{ mol kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) durchgeführt, wodurch die Aktivitäten der reaktiven Spezies stark erhöht wurden. Bei 20 °C zeigten die Spektren lediglich eine geringe Verschiebung der Absorptionsmaxima mit einer nahezu konstanten Halbwertsbreite. Bei 85 °C erfolgte jedoch eine deutlich stärkere bathochrome Verschiebung der Spektren, und auch eine geringfügige Zunahme der Halbwertsbreite wurde beobachtet. Mittels Peakentfaltung der Absorptionsspektren und anschließender Steigungsanalyse wurde die Bildung des $\text{NpO}_2(\text{NO}_3)$ -Komplexes identifiziert. Die Speziesverteilung zeigte, dass bei 20 °C der Anteil des $\text{NpO}_2(\text{NO}_3)$ -Komplexes mit steigender Nitratkonzentration leicht zunimmt. Jedoch blieb die Molfraktion dieser Spezies stets unter 10 %. Eine Erhöhung der Temperatur resultierte in einer Verschiebung des chemischen Gleichgewichtes zugunsten des 1:1-Komplexes, wodurch dieser bereits bei niedrigeren Nitratkonzentrationen gebildet wurde und einen maximalen Anteil von 23 % bei der höchsten untersuchten Nitratkonzentration aufwies.

Aufgrund der verwendeten hohen Ionenstärken konnten keine thermodynamischen Stabilitätskonstanten, Standardreaktionsenthalpien und –entropien mittels der SIT bestimmt werden. Lediglich die konditionalen Größen sind zugänglich. Die ermittelten konditionalen Stabilitätskonstanten zeigen bei 20 °C sehr kleine Werte von $\log \beta'_{1,20^\circ\text{C}} = -1.33 \pm 0.25$, welche im untersuchten Temperaturbereich um ca. 0.46 logarithmische Einheiten zunehmen. Dies verdeutlicht zum einen, dass NO_3^- einen sehr schwachen Liganden für NpO_2^+ darstellt. Zum anderen spiegelt die Temperaturabhängigkeit der Konstanten die zuvor beschriebene Verschiebung der chemischen Speziation zugunsten des $\text{NpO}_2(\text{NO}_3)$ -Komplexes bei erhöhter Temperatur wider.

Die $\log \beta'_1(T)$ korrelieren linear mit T^{-1} , wodurch ihre Temperaturabhängigkeit mittels der integrierten Van't Hoff-Gleichung beschrieben werden konnte. Die so erhaltenen konditionalen Reaktionsenthalpien und –entropien zeigen eine leicht endotherme Komplexierungsreaktion ($\Delta_r H'_{m,1} = 15 \pm 4 \text{ kJ mol}^{-1}$) mit einer positiven $\Delta_r S'_{m,1} = 24 \pm 15 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, welche die Triebkraft der Komplexierungsreaktion darstellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

WP1:

Evaluierung und Publikation der thermodynamischen Daten der Cm-Fluoridkomplexierung bis 200 °C.

5. Berichte, Veröffentlichungen

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.*, 104, 10-18, (2019)

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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. Nasschemische Daten liegen vor und werden vorläufig ausgewertet.
- AP3: Mikroskopische und nanoanalytische Arbeiten an Proben aus AP2 wurden entsprechend der Probenahmen der Rekristallisationsexperimente fortgesetzt.
- AP4: Thermodynamische Modellrechnungen liegen bereits vor und werden mit den bereits verfügbaren Ergebnissen abgeglichen. Nach derzeitigem Stand bestätigen diejenigen Experimente, bei denen die Rekristallisation am weitesten fortgeschritten ist, das thermodynamische Modell.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die experimentellen Arbeiten werden fortgeführt und gemäß der kostenneutralen Verlängerung zum 30.11.19 mit einem Manuskript zur Veröffentlichung abgeschlossen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Methodevaluierung
- 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, AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexbildung

Rechnungen zu Komplexen $\text{AnO}_2(\text{SO}_4)_n^q$ (AP2 und 3) wurden für Np(VI) und Np(V) weitgehend abgeschlossen. Für Np(V)-Monosulfat ergab sich bevorzugt eine monodentate Koordination des Liganden im Gegensatz zu An(VI) und eine Koordinationszahl (CN) von 5. Auch im Np(V)-Disulfat ist die monodentate Koordination bevorzugt, die Koordinationszahlen 4 und 5 sind dabei nahezu entartet. Strukturen und Energien des Np(V)-Trisulfatkomplexes konnten noch nicht zuverlässig bestimmt werden. Bei den relativen Energien der stabilsten Isomere der Sulfatkomplexe spielen Wasserstoffbrücken zwischen Sulfat und Aqualiganden eine Rolle, so dass die Ergebnisse als Modellresultate interpretiert werden müssen und ein komplexes Gleichgewicht zwischen Isomeren und verschiedenen Koordinationszahlen vorlie-

gen dürfte. In Übereinstimmung mit dem Experiment ist Sulfat ein deutlich schwächerer Ligand als Hydroxid. Das Verhältnis der Komplexierungsenergien wird etwas niedriger als im Experiment berechnet. Da im sauren pH-Bereich Schwefelsäure auch als Hydrogensulfat in wässriger Lösung vorliegt, wurde dieses als Ligand für das Beispiel U(VI) untersucht. Eine monodentate Bindung des Liganden und $CN = 5$ sind eindeutig bevorzugt. Die Komplexierungsenergie ist sehr schwach exotherm und zusammen mit der gegenüber dem freien Liganden stark erniedrigten Deprotonierungsenergie zeigt dies, dass auch im moderat sauren pH-Bereich Sulfatkomplexe gegenüber Hydrogensulfatkomplexen bevorzugt sind. Weiterhin wurden ternäre Hydroxosulfatspezies mit zwei und drei anionischen Liganden untersucht, die neben den Sulfatkomplexen mit wachsendem pH bei höheren Sulfatkonzentrationen eine Rolle spielen könnten. Wie die Hydroxocarbonatkomplexe, so zeigen auch die Hydroxosulfatkomplexe Eigenschaften, die zwischen denen der binären Komplexe liegen. Der Abfall der Komplexierungskonstante beim Austausch von OH^- durch SO_4^{2-} ist aufgrund der schwachen Sulfatkomplexierung deutlich stärker als in Hydroxocarbonatkomplexen. Bis auf die Spezies $NpO_2(OH)SO_4^{2-}$ sind diese Arbeiten weitgehend abgeschlossen. Ergebnisse zu ternären Hydroxocarbonatkomplexen wurden zusammengefasst und zur Veröffentlichung eingereicht.

Modellierungen zur Temperaturabhängigkeit von Aktinylkomplexen (AP5) wurden um statische Rechnungen zu $UO_2(OH)_4^{2-}$ und einige dynamische Modellierungen erweitert. Die Temperaturabhängigkeit von U(VI)-Tetrahydroxid wurde gegenüber der Messung eines Projektpartners unterschätzt. Dynamische Simulationen periodischer Modelle von Aktinylkomplexen in Wasser bei Raum- und höherer Temperatur bestätigen einige Ergebnisse zu Koordinationszahlen aus statischen Modellierungen. Es wurden Simulationen bei formalen Temperaturen von 350 bis 460 K durchgeführt, wobei 400 K bei der verwendeten Dichtefunktionalmethode etwa Raumtemperatur entspricht. Für Np(V)- und U(VI)-Aquakomplexe wird $CN = 5$ bestätigt, während Spezies mit $CN = 4$ einen Aqualiganden anlagern. Np(V)- und U(VI)-Monohydroxokomplexe zeigen $CN = 5$, auch bei höherer Temperatur. Für Np(V)Cl sind $CN = 4$ und 5 über 21 ps unabhängig von der Temperatur stabil, was in diesem Fall der Entartung beider Komplexe in statischen Modellen entspricht. Ein temperaturbedingter Wechsel der Koordinationszahl wurde bisher nicht gefunden. Mittlere Bindungslängen aus dynamischen Modellierungen werden bis einige pm länger als in statischen Modellen berechnet, was aber im Bereich ihrer Standardabweichung liegt.

turen von 350 bis 460 K durchgeführt, wobei 400 K bei der verwendeten Dichtefunktionalmethode etwa Raumtemperatur entspricht. Für Np(V)- und U(VI)-Aquakomplexe wird $CN = 5$ bestätigt, während Spezies mit $CN = 4$ einen Aqualiganden anlagern. Np(V)- und U(VI)-Monohydroxokomplexe zeigen $CN = 5$, auch bei höherer Temperatur. Für Np(V)Cl sind $CN = 4$ und 5 über 21 ps unabhängig von der Temperatur stabil, was in diesem Fall der Entartung beider Komplexe in statischen Modellen entspricht. Ein temperaturbedingter Wechsel der Koordinationszahl wurde bisher nicht gefunden. Mittlere Bindungslängen aus dynamischen Modellierungen werden bis einige pm länger als in statischen Modellen berechnet, was aber im Bereich ihrer Standardabweichung liegt.

4. Geplante Weiterarbeiten

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover | | Förderkennzeichen: 02 NUK 044A |
| Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A | | |
| Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung | | |
| Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Alle für die Erweiterung des Lasersystems notwendigen Bestellungen wurden aufgegeben, mit dem Aufbau des Gitterlasers wurde begonnen.

AP2: Im Anschluss an die Plutoniumspektroskopie am IPh der JGU Mainz sind Experimente zur Polarisationsabhängigkeit des Isotopensignals von Plutonium durchgeführt worden. Hierzu wurden verschiedene zweistufige Anregungsschemata eingestellt und das Signal verglichen, wobei geringe Laserleistungen zu starken Einflüssen auf das Isotopensignal in Abhängigkeit von den verwendeten Zuständen führen können. Weiter wurden zwei- und dreistufige Anregungsschemata auf ihr Ionisationsverhalten hin untersucht, sowie die maximal erzielbare Unterdrückung von ^{238}U gegenüber ^{238}Pu zu fünf Größenordnungen bestimmt.

AP3: Es wurden insgesamt mehr als 50 uranhaltige Partikel mit REM/EDX identifiziert und lokalisiert. Davon konnten 17 durch Mikromanipulation an Wolframnadeln fixiert und

extrahiert werden. Von 15 der isolierten Partikel konnten γ -Spektren gemessen und auf ^{137}Cs , ^{154}Eu und ^{241}Am hin ausgewertet werden.

Weiterhin wurden alle extrahierten Partikel mit SIMS analysiert, sowie 10 der Partikel zusätzlich erfolgreich mit resonanter Laser-SNMS auf ihre Pu-Isotopenverhältnisse hin analysiert. Außerdem konnten aus dem nicht-resonanten Signal der Laser-SNMS-Messungen die U-Isotopenverhältnisse der Partikel bestimmt werden.

Die Ergebnisse der Beamline-Messungen vom November 2018 wurden aufbereitet und an den Kooperationspartner zur Auswertung übergeben.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: - Aufbau und Inbetriebnahme des Gitter-Ti:Sa
- AP2: - Test von Am-SNMS mit zweistufigem Schema im Rahmen einer laufenden Bachelorarbeit
- Charakterisierung der Gitter-Ti:Sa-Erweiterung sowie entsprechende Testmessungen
- AP3: - Messung von Am-Isotopenverhältnissen durch Am-SNMS auf Partikeln im Rahmen einer laufenden Bachelorarbeit
- Fertigstellung der Auswertung von Beamline-Experimenten
 - Methodenentwicklung und erste Versuchsmessungen zur sequenziellen Extraktion an einzelnen Partikeln

5. Berichte, Veröffentlichungen

Hanemann, P.: „Extraktion und Analyse uranhaltiger Partikel aus Bodenproben“, 31.01.2019, Bachelorarbeit

Weiß, M.; Bosco, H.; Raiwa, M.; Walther, C.: „Spatially resolved analysis of nuclear fuel particles in environmental samples“, Helsinki, 26.02.2019, Seminarvortrag

Bosco, H.; Weiss, M.; Raiwa, M.; Wendt, K.; Walther, C.: „TOF-SIMS and resonant laser-SNMS analysis for isotope ratio measurements on insulators“, DPG Frühjahrstagung, Rostock, 14.03.2019, Vortrag

Hanemann, P.; Bosco, H.; Weiss, M.; Raiwa, M.; Leifermann, L.; Walther, C.: „In-situ extraction and TOF-SIMS-characterization of uranium-containing particles“, DPG Frühjahrstagung, Rostock, 14.03.2019, Vortrag

Bosco, H.; Kneip, N.; Raiwa, M.; Weiss, M.; Wendt, K.; Walther, C.: “Resonance ionization for spatially resolved actinide secondary neutral mass spectrometry”, PLATAN, Mainz, 24.05.2019, Vortrag

Raiwa, M.; Bosco, H.; Weiss, M.; Kneip, N.; Wendt, K.; Walther, C.: “Non-destructive isotope analysis of micrometer sized hot particles from the Chernobyl environment by rL-SNMS”, PLATAN, Mainz, 21.05.2019, Posterpräsentation

Walther, C.; Kneip, N.: „Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktive Isotope zur ortsaufgelösten Ultraspurenanalyse“, 4. Projektstatusgespräch zur BMBF-geförderten nuklearen Sicherheitsforschung, Karlsruhe, 14.-15.05.2019

| | | |
|---|---|---|
| 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 31.12.2020 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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:

Eine Opalinustonprobe, in die über einen Zeitraum von 26 Tagen $^{242}\text{Pu(V)}$ eindiffundiert war, wurde mit SIMS und Laser-SNMS analysiert. Mit beiden Methoden konnte ein ca. 350 μm langer Diffusionsweg des Pu im Tongestein abgebildet werden. Dies stimmt gut mit den Ergebnissen von $\mu\text{-XRF}$ -Messungen überein, die zuvor an der Swiss Light Source durchgeführt worden waren. Außerdem wurden teilweise Korrelationen der SIMS-Signale von Fe und Cl mit lokalen Pu-Anreicherungen beobachtet.

Zur Untersuchung des Matrixeffektes bei Laser-SNMS-Messungen an natürlichem Tongestein wurden in Batchversuchen Suspensionen von Kaolinit, Montmorillonit, Illit, Opalinuston bzw. Pyrit mit ^{239}Pu kontaktiert und anschließend für die SIMS- und Laser-SNMS-Messungen als getrocknete Pulverproben in Indiumfolie gepresst.

Institut für Physik:

Die Entwicklung selektiver und effizienter zweistufiger Anregungsschemas für die Actiniden wurde auf das Element Cm ausgedehnt, wobei zu deren Charakterisierung auch die Sättigungsleistungen und Linienbreiten für die Resonanzen möglicher erster und zweiter Anregungsübergänge bestimmt wurden. Am RISIKO Massenseparator wurden nachfolgend Effizienzmessungen mit Proben von $2 \cdot 10^9$ Atomen ^{248}Cm (entsprechend 0,1 mBq) durchgeführt, wobei in einer heißen Kavität-Anordnung (Hot-cavity laser ion source) eine hohe Nachweiseffizienz im Bereich von 7(3) % gezeigt werden konnte. Das Probenmaterial beinhaltet neben dem Gehalt an ^{248}Cm -Atomen auch $1,1 \cdot 10^8$ Atome (entsprechend 1 mBq) des Isotops ^{246}Cm , deren spektroskopischer Nachweis im Massenspektrum gelang. Die optische Isotopieverschiebung von ^{248}Cm zu ^{246}Cm wurde auf 9 GHz bestimmt, wobei eine genauere Auswertung noch aussteht. Am RISIKO Massenseparator wurden mit nur $2 \cdot 10^9$ Atomen ^{248}Cm Rydberg-Konvergenzen unterhalb des Ionisationspotentials gemessen. Daraus kann die wichtige Größe des Ionisationspotentials präzise extrahiert und der Literaturwert um etwa einen Faktor 100 in der Genauigkeit verbessert werden. Die aufwändige atomphysikalische Auswertung ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

Institut für Kernchemie:

- Abschluss der Messungen an den vorbereiteten Pu-Proben zur Untersuchung des Matrixeffektes verschiedener Mineralien auf die Sputterrate bei SIMS und Laser-SNMS
- Herstellung und Abtrennung von ^{239}Np für die Spektroskopie und Erstellung eines Anregungsschemas in Zusammenarbeit mit dem Institut für Physik, Mainz

Institut für Physik:

- Weitere spektroskopische Untersuchungen am Cm unter Verwendung anderer erster Anregungsschritte zur Verifikation des neu bestimmten Ionisationspotentials
- Spektroskopie an ^{237}Np zur Entwicklung eines neuen zweistufigen Anregungsschemas sowie Bestimmung der Isotopieverschiebung von ^{237}Np zu ^{239}Np

5. Berichte, Veröffentlichungen

N. Kneip, H. Bosco, R. Heinke, C. Mokry, J. Runke, T. Reich, D. Studer, N. Trautmann, C. Walther, K. Wendt, Highly selective two-step laser ionization schemes for analysis of actinide mixtures, Vortrag auf der PLATAN 2019, 19.-24.05.2019, Mainz, Deutschland

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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

Zur Untersuchungen von tripodalen Ligandensystemen wurden weitere P-zentrierter Liganden synthetisiert und charakterisieren. Dabei wurden insbesondere Alkylphosphinoxide aufgebaut, die durch eine Verknüpfung über Iminfunktionen eine kombinatorische Variation der Rezeptorstruktur ermöglichen und einen modularen Aufbau aus verschiedenen Strukturelementen erlauben. Nachteilig ist jedoch die begrenzte Robustheit der dabei gebildeten C=N-Doppelbindung. Insbesondere bei der Charakterisierung gebildeter Metallkomplex wird die Zersetzung des Liganden beobachtet. Durch den Aufbau strukturanaloger Liganden mit Amidfunktionen in den Podandarmen soll eine erhöhte Stabilität der Liganden erreicht und die synthetisierten Liganden zur Untersuchung von Metallkomplexen verwendet werden.

Weiterhin wurde die Koordination von UO_2^{2+} durch verschiedene Hydroxybisphosphonate (HBP) untersucht. In Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen konnten unterschiedliche Komplexzusammensetzungen beobachtet werden. Während in methanolischer Lösung bevorzugt die Bildung von 1:1 sowie 1: 2 (L: UO_2^{2+}) nachgewiesen wurde, zeigen die aus wässrigen Lösungen isolierten amorphen Feststoffe ein HBP zu UO_2^{2+} Verhältnis von 1:0,8. Diese Ergebnisse wurden zur internationalen Konferenz „49èmes Journées des Actinides“ 2019 im Rahmen eines Posters vorgestellt.

Die experimentellen Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten von f-Elementen an Biomaterialien wurden mit Uranylionen und La(III) sowie mit Yb(III) unter Einsatz der Radiotracermethode fortgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl durch chemische Modifikation sowie eine Wärmebehandlung die Adsorptionskapazität der eingesetzten Materialien gesteigert werden kann. Insbesondere für die Wärmebehandlung wird in Zusammenarbeit mit Prof. Th. Henle der Gehalt von Carboxymethyllysine, einem etablierten Marker für die Maillard-Reaktion, bestimmt und eine direkte Abhängigkeit beobachtet.

Weiterhin wurde im 1. Halbjahr 2019 in enger Zusammenarbeit mit der Stumpf-Gruppe am HZDR die Arbeiten zur Adsorption von Europium und Curium an Chitin bzw. Chitosan im Hinblick auf die geplante Veröffentlichung weitgehend abgeschlossen. Die Untersuchungen sind auf NMR-Messungen an den entsprechenden Monomeren (n-Acetylglucosamin, Glucosamin) ausgedehnt worden. Neben spektroskopischen Untersuchungen an den Adsorptionskomplexen sind auch ICP-MS-Untersuchungen zur Quantifizierung ausgeführt worden.

Darüber hinaus wurden auch die Untersuchungen zur Adsorption von Europium und Uran an Biosilikat von Diatomeen weitgehend abgeschlossen. Als bildgebendes Verfahren zur Untersuchung der räumlichen Verteilung der adsorbierten Spezies auf dem Silikat wurde die Kathodenlumineszenz etabliert. Wegen der vielversprechenden Ergebnisse sowie der biologischen Relevanz wurde nun begonnen, auch die Wechselwirkung von f-Elementen mit lebenden Diatomeenzellen detailliert zu untersuchen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Synthese und Charakterisierung von tripodaler Alkylphosphinoxide, deren Podandarme über Amidfunktionen verknüpft sind
- 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
- 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. Götze, 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. 2019,386, 267-309

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Herstellung von Yttrium-86 am Zyklotron
- AP3: Komplexbildungsstudien
- AP4: Adsorptions- und Desorptionsuntersuchungen
- AP5: Zusammenfassung und Bewertung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Frau Luisa Köhler hat ihre Doktorarbeit zur Koordinationschemie von Phosphoramidaten begonnen. Die geplanten Dienstreisen von Herrn Schöne zu einem Forschungsaufenthalt am CEA Marcoule (Training 20.01-26.01. und Forschungsaufenthalt 06.03.-14.04.) wurden erfolgreich durchgeführt. Auf der Journée des Actinides in Erice/Italien wurden die Arbeiten des Projekts in vier Vorträgen vorgestellt.

AP1: Die bereits verwendeten Amidinatsysteme (Arbeit von Herrn Schöne) wurden am zentralen Kohlenstoff durch eine Phosphor-haltige Gruppe modifiziert, um einen höheren Freiheitsgrad im Bisswinkel und optimierte elektronische Eigenschaften zu generieren.

AP2: Das PET-Nuklid ^{86}Y konnte in hoher Reinheit durch Protonenbestrahlung von isotonenangereichertem $^{86}\text{SrCO}_3$ am Leipziger Zyklotron hergestellt werden. Eine nahezu vollständige Isolation nach Auflösung des Targets gelang durch ein optimiertes Trennschema über selektive Adsorption/Elution an einem geeigneten Ionenaustauscher mit salpetersauren Lösungen abgestimmter Acidität, wobei auch das Targetmaterial rückgewonnen werden konnte.

- AP3: Komplexe der Schiffsche Basen (1:1) mit frühen Actiniden wurden unter Austausch der koordinierenden Lösungsmittel kristallisiert und charakterisiert. Die Serien der Amidinate mit vierwertigen Actiniden wurden in situ oxidiert und reduziert sowie ein systematischer Ligandenaustausch an der Halogenidposition durchgeführt. Diese Arbeiten zeigen final, dass mit dieser Art von Komplexen auch Chemie betrieben werden kann. Als Resultat des Forschungsaufenthalts von Herrn Schöne am CEA wurde eine Syntheseroute für wasserfreie Precursor-Verbindungen für Pu(IV) entwickelt und steht der Gruppe nun für Koordinationsuntersuchungen zur Verfügung.
- AP4: Radioanalytische Säulenversuche an Quarzsand mit $[^{152}\text{Eu}]\text{Eu(III)}/\text{DTPA}$ -Systemen und $[^3\text{H}]\text{H}_2\text{O}$ als konservativem Tracer haben gezeigt, dass Eu(III) aufgrund der starken Komplexbildung in schwach saurem bis alkalischem Milieu fast ungehindert transportiert wird. Aminopolycarbonsäuren als Dekontaminationsmittel im Endlagerinventar haben demnach ein besonders hohes Mobilisierungspotential für höherwertige Radiometalle. Durchbruchs- und Elutionskurven konnten anhand der mittels $[^3\text{H}]\text{H}_2\text{O}$ bestimmten hydrodynamischen Parameter und der für das Batchsystem kalibrierten Wechselwirkungskonstanten auf der Grundlage eines DDL-Oberflächenkomplexierungsmodells vollständig und ohne Parameteranpassungen beschrieben werden. Berechnungen auf dieser Grundlage haben ergeben, dass die mobilisierende Wirkung von DTPA kaum vom pH-Wert abhängig ist.
- AP5: Es entstehen derzeit Publikationen zu den Komplexen der tetravalenten Actinide und den Amidinat-Systemen, Silylamid-/imid-Komplexen mit U(IV) und U(V) und den Schiffschen Basen mit verschiedenen Oxidationsstufen der frühen Actiniden. Zudem ist der Review-Artikel zur Koordinationschemie der f-Block-Elemente mit Liganden mit bio-relevanten Funktionsgruppen erschienen. Auf der Journée des Actinides in Erice/Italien wurden die Arbeiten in insgesamt vier Vorträgen präsentiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Erkenntnisse aus den Komplexierungsversuchen (AP3) fließen laufend in die Synthese neuer Ligandsysteme ein. Das Design der Liganden wird zudem maßgeblich durch begleitende quantenchemische Arbeiten im Haus unterstützt.
- AP2: bereits erfolgreich abgeschlossen.
- AP3: Die Arbeiten zur Komplexierung von Amidinaten und Schiffschen Basen mit Th(IV), U(IV), Np(IV) und Pu(IV) werden weitergeführt. Die Arbeiten sollen zukünftig noch intensiver durch quantenchemische Arbeiten unterstützt werden. Ein geeigneter Postdoc für diese Arbeiten ist bereits identifiziert worden und soll künftig das Projekt mit CAS-SCF Rechnungen unterstützen. Arbeiten zur Komplexierung 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: In PET-Experimenten zur Fließbildanalyse soll die tomographische Eignung von ^{86}Y als reaktiver Analogtracer für Lanthanide/Actinide untersucht werden. Zur Veröffentlichung der Gesamtergebnisse dieses Arbeitspakets sind 2 Artikel in referierten Zeitschriften vorgesehen.
- AP5: Die Publikationen zu den Ergebnissen von Serien tetravalenter Actinid-Komplexe mit Amidinaten und Schiffschen 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

Publikationen:

Götzke, L. et al.: Coordination chemistry of f-block metal ions with ligands bearing bio-relevant functional groups, *Coordination Chemistry Reviews* 386(2019), 267-309. DOI: 10.1016/j.ccr.2019.01.006

Schöne, S.; März, J.; Stumpf, T.; Ikeda-Ohno, A.: Mixed-valent neptunium oligomer complexes based on cation-cation interactions, *Dalton Transactions* 48(2019), 6700-6703. DOI: 10.1039/c9dt01056d

Vorträge:

Schöne, S.; Kloditz, R.; März, J.; Kaden, P.; Patzschke, M.; Roesky, P. W.; Stumpf, T.: Enantiopure Tetravalent Actinide Amidinates – Synthesis and Reactivity, *Journées des Actinides 2019*, 14.-18.04.2019, Erice, Italien

Kloditz, R.; Radoske, T.; Patzschke, M.; Stumpf, T.: Comprehensive real space bonding analysis of tetravalent f-element complexes with Schiff-base ligands, *Journées des Actinides 2019*, 14.-18.04.2019, Erice, Italien

Radoske, T.; Kaden, P.; Walter, O.; Kloditz, R.; Patzschke, M.; Stumpf, T.; März, J.: A series of tetravalent Pu, Np, U and Th complexes of a salen type ligand, *Journées des Actinides 2019*, 14.-18.04.2019, Erice, Italien

Köhler, L.; Patzschke, M.; März, J.; Stumpf, T.: The Inverse Trans Influence in U (IV/V) complexes, *Journées des Actinides 2019*, 14.-18.04.2019, Erice, Italien

| | | |
|---|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Thiacalix[4]arenbasis wurden erfolgreich synthetisiert und Komplexierungsstudien gegenüber trivalenten Lanthanoiden durchgeführt. Die spektrophotometrischen Titrationsstudien wurden fortgeführt. Ebenso wurden weitere ITC-Messungen sowie Lumineszenzmessungen vorgenommen, um ein möglichst genaues Bild der Komplexierungseigenschaften der Liganden zu erhalten.

Mehrere neue zweikernige Lanthanoidkomplexe von Schiff-Base/Calix[4]aren-Liganden wurden synthetisiert und vollständig einschließlich Kristallstrukturanalyse synthetisiert. Ein Entwurf für eine Publikation über diese Arbeiten wurde im Berichtszeitraum erstellt (P. Hahn). Hinzukommend wurde ausstehende Analytik bereits erhaltener Liganden und den damit verbundenen f-Elementkomplexen fortgeführt. Zum Nachziehen der Substanzen wird eine WHK beschäftigt, welche über das Projekt finanziert wird.

Tony Zielke beschäftigte sich weiterhin mit der Synthese von phosphatähnlichen Liganden auf Thiacalix[4]arenbasis, wobei sich besonders auf die Kristallzucht konzentriert wurde. Somit konnten vierkernige Sandwichkomplexe erhalten und deren Struktur im Festkörper analysiert werden.

Es wurden weitere dinukleare Lanthanoid/Alkalimetall-Komplexe von Calix[4]aren-Schiff-Base-Liganden synthetisiert und charakterisiert. Die Lumineszenzeigenschaften der Komplexe wurden mithilfe der Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Teile der erhaltenen Forschungsergebnisse wurden auf dem Koordinationschemietreffen 2019 in München präsentiert (A. Mehnert).

4. Geplante Weiterarbeiten

Ziel der nachfolgenden Monate ist die abschließende, vollständige analytische Charakterisierung bereits erhaltener Verbindungen, speziell die Komplexbildungseigenschaften in Lösung und im Festkörper. Des Weiteren sollen bereits erhaltene Ergebnisse der Lumineszenzmessungen ausgewählter Komplexe veröffentlicht werden. Weiterhin sollen die interessanten Lumineszenzeigenschaften im Hinblick auf eine mögliche sensorische Anwendung untersucht werden. Hierzu werden weitere Messungen mit optischer Spektroskopie vorgesehen. Noch nicht ermittelte Komplexbildungskonstanten und andere thermodynamische Reaktionsparameter sollen mittels isothermer Titrationskalorimetrie ermittelt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

M.Sc. Anne Mehnert hielt einen Vortrag mit dem Titel: Photolumineszente heterodinukleare Calix[4]aren-Komplexe auf dem Koordinationschemie Treffen 2019 in München.

M.Sc. Tony Zielke stellte ein Poster mit dem Titel: Thiacalix[4]arene mit Phosphatestergruppen am lower rim zur Komplexierung von Lanthaniden auf dem Koordinationschemie Treffen 2019 in München aus.

Publikationen

Coordination chemistry and photoswitching of dinuclear macrocyclic cadmium-, nickel-, and zinc complexes containing azobenzene carboxylato co-ligands; Jennifer Klose, Tobias Severin, Peter Hahn, Alexander Jeremies, Jens Bergmann, Daniel Fuhrmann, Jan Griebel, Bernd Abel and Berthold Kersting; Beilstein J. Org. Chem. 2019, 15, 840–851.

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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

- AP2: Die Vorversuche in Testsäulen zur Vorbereitung der Lysimeterversuche wurden und werden im Rahmen einer Bachelorarbeit weitergeführt. Erste Ergebnisse von mit I-125 bzw. Tc-99 getracerten Säulen (RefeSol 01-A und 04-A) zeigten, dass, in Übereinstimmung mit den bereits durchgeführten Batch-Experimenten zur Bestimmung der K_D -Werte, I-125 stark am Boden adsorbiert wird. Die Wiederfindungsraten betragen in der untersten Bodenschicht bereits 87 % in RefeSol 01-A und 50 % in RefeSol 04-A. Tc-99 verhielt sich erwartungsgemäß anders, hier wurden 91 % (RefeSol 01-A) bzw. 83 % (RefeSol 04-A) der eingesetzten Gesamtaktivität im durchgelaufenen Porenwasser nachgewiesen. Ergänzend zur Bestimmung der Radionuklidkonzentration im Boden und im Porenwasser wurden Messungen zur Bestimmung der gelösten organischen Substanz im Porenwasser

durchgeführt. Die Ergebnisse stehen noch aus. Alle vier Lysimeter wurden mit RefeSol 01-A befüllt und von der Basis her mit synthetischem Bodenwasser befeuchtet. Ein detaillierter Abgleich der Lysimeter-Experimente fand in einer dem Projekttreffen im Mai vorgeschalteten Sitzung mit der Arbeitsgruppe der FSU Jena statt.

- AP3: Die Gefäßversuche zur Bestimmung von Transferfaktoren (TF) wurden mit Weizen in RefeSol 01-A und 04-A und Kartoffeln in RefeSol 02-A weitergeführt. Aufgrund der langen Kultivierungszeit des Weizens liegen derzeit noch nicht alle Ergebnisse vor. Auffällig ist jedoch, dass im Gegensatz zu den vorangegangenen Experimenten mit anderen Pflanzenarten kein Transfer von I-125 in den essbaren Anteil des Weizens, also ins Korn, stattfand. Im Rahmen einer Masterarbeit wird derzeit in Kooperation mit dem SIRIUS Projekt eine Methode zur Probenvorbereitung von Pflanzenteilen für SIMS-Messungen entwickelt. Erste Tests zeigten, dass das Einbetten von Pflanzenteilen in einem speziellen Harz und das Schneiden mit einem Skalpell zu einer starken Erhöhung des Untergrundsignals und einer zu ausgeprägten Topographie der Probe führten. Im weiteren Verlauf soll mit der Cryo-Stage der SIMS gearbeitet und zur Optimierung der Dünnschnitte ein Kryo-Microtom verwendet werden.
- AP4: Elektrophysiologische Charakterisierung des AtPHT1.4 deutet auf einen pH-abhängigen Transport bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen hin. In einem ersten Versuch zur Aufnahme von Tc in AtPHT1.4-exprimierenden Oozyten wurde (bei pH 7) ein verringerter Transport von Tc bei Expression des Phosphat-Transporters im Vergleich zu Kontroll-Oozyten beobachtet. Die Charakterisierung der Aufnahme und Wechselwirkung von AtGLR3.7 mit Cm(III) in Zusammenarbeit mit dem IRE (HZDR) zeigte eine starke Wechselwirkung von Oozyten mit Cm(III). Massenspektroskopische Messungen zur Aufnahme von Am durch Oozyten, welche den AtGLR3.7 exprimierten, ergab eine stärkere Aufnahme durch die Expression des Kanals.
- Mit Hilfe einer reversen Transkriptase (RT)-PCR wurde die Expression der mRNA der untersuchten Metabolitransporter in Karotte, Erbse, Weizen und Kartoffel untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass in Karottenblättern GLR3, PHT1, sowie IRT1 exprimiert werden. In Kartoffelblättern wurde ebenfalls die Expression von GLR3 und PHT1 nachgewiesen, Kartoffelwurzeln zeigten eine PHT1 Expression.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Bestimmung Aktivitätskonzentrationen der Böden / Berechnung der Transferfaktoren aus weiteren Gefäßversuchen
- Fortführung der Säulen- und Lysimeterversuche
- Fortführung der Methodenentwicklung für SIMS-Messungen an verschiedenen Pflanzenteilen
- Weitere Untersuchung zur Aufnahme / Wechselwirkung von Cm und Am mit AtGLR3.7 in Oozyten, von Tc durch AtPHT1.4 und Am durch AtIRT1.1 exprimierende Oozyten; elektrophysiologische Charakterisierung des Ionentransportes in Abhängigkeit von pH und Ionenkonzentration durch AtPHT1.4, AtIRT1.1, AtGLR3.7 in Oozyten
- Aufnahme von ³²P durch AtPHT1.4-exprimierende Oozyten; Analyse der Expression von Metabolitransportern in Blättern/Wurzeln von Erbse/Weizen
- Entwicklung einer Expressionskontrolle der pflanzlichen Metabolitransportern in Oozyten mit Hilfe eines Western Blots/Magnetic Beads-labeling

5. Berichte, Veröffentlichungen

Claire Seidel: Heterologe Expression und funktionelle Analyse des pflanzlichen Metabolitransporters AtIRT1 (Bachelorarbeit)

Jessica Schindler: Untersuchung des pH-abhängigen Ionentransports des Calcium-Transporters GLR3.7 aus Arabidopsis thaliana (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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Die Studien zur zeitabhängigen Bioassoziation von U(VI) und Eu(III) (Analogon für dreiwertige Actinide) wurden auf *Daucus carota* (Karotte)-Suspensionszellkulturen ausgedehnt. Dabei zeigte sich, abweichend zu *Brassica napus* (Raps), keine Freisetzung des bioassoziierten U(VI) in das Nährmedium mit voranschreitender Expositionszeit. Zur Identifizierung der U(VI)-Spezies an/in den Zellen sowie im Zellkulturmedium wurden zeitaufgelöste laserinduzierte Fluoreszenzmessungen (TRLFS) mit *D. carota*- und *Nicotiana tabacum* (BY-2)-Zellen durchgeführt. In allen Zellkulturüberständen trat dieselbe Spezies 2 auf, die im Falle von *B. napus* nur intermediär beobachtet wurde und mit zunehmender Expositionsdauer durch eine dritte Spezies verdrängt wurde. Zur Identifizierung der in Lösung vorkommenden U(VI)-Spezies (U(VI)-Zellmetabolit-Komplexe) wurde die Wechselwirkung von U(VI) mit in Frage kommenden Referenzsubstanzen mittels TRLFS untersucht. Bislang konnten die Spezies nicht identifiziert

werden. In Zusammenarbeit mit dem IRS (Uni Hannover) erfolgten massenspektrometrische Untersuchungen zur Identifizierung von Zellmetaboliten. Die Auswertung steht noch aus.

Zur Untersuchung einer möglichen U(VI)-Reduktion durch *B. napus*-Zellen wurden erste Versuche mittels TTA-Extraktion durchgeführt. Bisher wurde kein U(IV) nachgewiesen.

Zur Identifizierung von Wurzelexsudaten nach Exposition junger Pflanzen mit U(VI) wurden erste Pflanzen aus Samen in Hydrokultur kultiviert und nach 2 Monaten Wachstumszeit mit 20 μ M U(VI) kontaminiert.

Erste Studien zur Bioassoziation von Cm(III) an *B. napus*-Zellen sowie zur Freisetzung von Metaboliten in Gegenwart des dreiwertigen Actinids wurden durchgeführt. Die Cm(III)-Speziation in Gegenwart der Zellen wurde spektroskopisch untersucht.

AP2: Ergänzend zu den Untersuchungen zur U(VI)-Bioassoziation und deren Einfluss auf die Homöostase ausgewählter Mikro- und Makroelemente in Pflanzenzellen, die zur Identifizierung potentieller Pflanzenzelltransporter dienen, wurde die Rolle von Endozytoseprozessen bei der Aufnahme von U(VI) in Pflanzenzellen untersucht. Dazu wurden BY-2-Zellen mit Wortmannin (Endozytoseinhibitor) behandelt. Anschließend wurden diese Zellen mit 20 μ M U(VI) im Vergleich zu Kontrollzellen, die nicht mit Wortmannin behandelt wurden, exponiert. Eine Abnahme der U(VI)-Bioassoziation der Wortmannin behandelten Zellen wurde beobachtet, was darauf hinweist, dass zumindest ein Teil des Urans mittels Endozytose von den Zellen aufgenommen wird.

Zusammen mit dem IfB (Uni Hannover) wurde die Wechselwirkung von Cm(III) mit modifizierten Oozyten, welche heterolog die pflanzlichen Metalltransporter exprimieren und als Modellsystem für den pflanzlichen Metalltransport dienen, im Vergleich zu unbehandelten Oozyten untersucht (zeitabhängige Bioassoziation und Speziation). Mittels TRLFS konnte eine starke Wechselwirkung von Cm(III) mit modifizierten/unmodifizierten Oozyten sowie mit frei gesetzten Metaboliten detektiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Zur Identifizierung von bioassoziiertem Eu(III) an/in *D. carota*-Zellen werden site-selective TRLFS-Messungen durchgeführt. Die Untersuchung der U(VI)-Reduktion durch Pflanzenzellen wird auf weitere Methoden ausgedehnt. Unter Einsatz von kultivierten Pflanzen (Raps, Karotte) in Hydrokultur werden nach U(VI)-Exposition Wurzelexsudate mittels HPLC nach Festphasenextraktion untersucht und die Translokation von Uran in den Pflanzenteilen sowie die U(VI)-Speziation im Nährmedium zeitabhängig charakterisiert.

AP2+3: Fortführung der Arbeiten zu Endozytoseprozessen bei der U(VI)-Aufnahme in Pflanzenzellen (Experimente mit Wortmannin, mikroskopische Methoden). Im Hinblick auf die Identifizierung und den Nachweis einer möglichen U(VI)-Reduktase sollen Proteom-Analysen durchgeführt werden. Die Zellen werden zunächst bei unterschiedlichen Bedingungen im Vergleich zu Kontrollzellen mit U(VI) exponiert. Nach Trennung der entsprechenden zytoplasmatischen von den membranhaltigen Fraktionen ist eine Proteinanalyse/-identifizierung geplant. Proteine, die eine Rolle für die U(VI)-Aufnahme in die Zellen bzw. für die mögliche U(VI)-Reduktion spielen, können so näher eingegrenzt werden.

Die Arbeiten mit Cm(III) und modifizierten Oozyten werden fortgesetzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Masterarbeit: Jawaharlal Nehru Garimella: Uranium(VI) interaction with plant cells: a physiological perspective, Hochschule Offenburg, Februar 2019

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 Risikoabschätzung 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 befindet sich auf dem Stand des letzten Berichtszeitraumes. Ausstehend sind die Analytik der spezifischen Oberfläche und die Quantifizierung der mineralogischen Zusammensetzung.

- AP2: Status: Ein gekoppeltes Modell für ungesättigten Fluss und Transport mit vier verschiedenen Wasserretentionskurven ist bereits verfügbar (in COMSOL erstellt). Das Modell beinhaltet auch die Möglichkeit, einen Smart-KD-Ansatz für die Sorption zu implementieren. Die Interpolation des Smart KD ist aufgrund der großen Datenmenge nicht trivial. Bisher wurde aufgrund der Einfachheit und Geschwindigkeit ein neuronaler Ansatz für die Berechnung des KDs anstelle von Interpolationsmethoden verwendet.
- AP3: Status: Die Laborlysimeter- Befüllung fand in Kooperation mit LUH-IRS im Februar statt und zuvor bestimmte Zieldichten der vier RefeSols wurden mit geringen Abweichungen erreicht. Die Logger-Technik sowie ein System zur Messung von pH, pO₂ und pCO₂ in 2D Auflösung mittels chemisch-optischer Sensoren (VisiSens) wurden erfolgreich nach initialer Aufsättigung mit Grimsel-Grundwasser installiert bzw. in Betrieb genommen. Nach Inbetriebnahme wurden regelmäßige, wöchentliche und später zweiwöchentliche Beprobungen durchgeführt. Porenwässer wurden routinemäßig mittels ICP-MS/OES, IC, Nanopartikel Tracking Analyse (NTA) sowie auf gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) untersucht. Um initial mobilisierte Bestandteile des Bodenkörpers zu entfernen, welche die Interpretation der Transport- und Transformationsprozesse verfälschen würde, wurde zum Ende des Berichtszeitraumes ein Regenereignis induziert. Es wurden keine Tracer-Experimente während des Regenereignisses durchgeführt. Die Ergebnisse werden im nächsten Berichtszeitraum dokumentiert. Die Methodenentwicklung zur quantitativen Charakterisierung von natürlichen kolloidalen Phasen mittels (fluo-)NTA wurde durch Experimente mit Standardsuspensionen und natürlichen Porenwässern weitergeführt. Bisherige Erkenntnisse und benötigte methodische Adaptionen wurden in ein Protokoll überführt, was sich derzeit in der Entwicklung befindet. Besonderes Augenmerk wird auf Streuungseigenschaften der Partikel gelegt, welche zur qualitativen Unterscheidung herangezogen werden soll. Ein Vergleich zur Charakterisierung zwischen NTA und dynamischer Lichtstreuung (DLS) wird in einer Bachelorarbeit bearbeitet (Schlechtweg, 2019) und mit LIBD-Messungen verglichen. Eine Regenwasserprobe sowie Drainagewasserproben des Regenereignisses wurden zur Messung mittels AMS vorbereitet. Ein System zur Injektion der Salz- bzw. Tracerlösung wurde entwickelt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weitere Proben zur Untersuchung der spezifischen Oberfläche und der mineralogischen Zusammensetzung werden vorbereitet und sollen analysiert werden. Methodenentwicklung der NTA zur Messung kolloidaler Phasen wird weiterentwickelt.
- AP2: Die inverse Modellierung und Vergleich zwischen den vier Wasserretentionskurven zur Berechnung der Richards-Gleichung wird durchgeführt sobald die Rand- und Anfangsbedingungen der Lysimeterexperimente definiert. Dieselben Simulationen mit Sorption könnten durchgeführt werden, wenn Smart K_D-Werte bereitgestellt werden. Die Einführung der Hysterese in das Modell sollte untersucht werden, auch wenn keine Daten vorliegen. Die Implementierung der Hysterese muss ebenfalls untersucht werden, obwohl das Erhalten der Bewässerungskurve möglicherweise nicht so einfach ist.
- AP3: Bromid-Tracerexperimente sowie reaktive Transportexperimente mit Se-Spezies und Radionuklid-Homologen werden in Laborlysimetern nach erneutem Erreichen eines dynamischen Gleichgewichts der physikochemischen Parameter durchgeführt. Hierbei soll möglichst ein Gleichgewichtsporenwasser gewonnen werden, was den ungesättigten Bedingungen entspricht. Über die in der Zeit hochaufgelöst aufgenommenen Tensionsdaten während des Regenereignisses sollen hydraulische Eigenschaften der Bodenkörper und im Speziellen deren Veränderung durch Translokationsprozesse während des Regenereignisses untersucht werden. Die experimentelle Arbeit zur methodischen Weiterentwicklung der (fluo-) NTA soll fertiggestellt werden und ein Manuskript zur Veröffentlichung vorbereitet werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Stoltenberg, C. (2019): Auswertung grafischer Daten eines Optoden-Messsystems mit ImageJ und Microsoft Excel. Projektmodulbericht, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- Schlechtweg, P. (2019): Charakterisierung mono- und polydisperser kolloider Systeme anhand vergleichender Messungen mittels DLS und NTA unter Berücksichtigung interpartikulärer Prozesse. Projektmodulbericht, 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

Für Plutonium und Americium wurden die implementierten Sorptionsmodelle anhand von Literaturdaten und den vom LUH-IRS durchgeführten Batchversuchen validiert. Nach einer Korrektur bei der Berechnung der Bindungsplätze an den Oberflächen von sowohl gelöster als auch ortsfester organischer Substanz konnten die Daten zufriedenstellend modelliert werden. Für Technetium, das im oxischen Bereich nur sehr wenig sorbiert wird, konnte keine Validierung vorgenommen werden, da das Modell stark redox-abhängig ist und der pe-Wert bei den vorliegenden Experimenten nicht ermittelt werden konnte. Der zur Erklärung der experimentellen Ergebnisse anzunehmende pe-Bereich ist zumindest plausibel. Bei der Modellierung der Iodkinetik stellte sich heraus, dass das zweiparametrische, analytische Modell (Modell B) ähnlich gut die experimentellen Daten nachvollzieht wie das in PHREEQC implementierte zehnparametrische (Modell A). Darüber hinaus kann bei Benutzung von Modell B durch Annahme eines dritten Parameters (initiale Dynamik der Oberflächenkonzentration) der sigmoide Verlauf einiger vom LUH-IRS gewonnenen Zeitreihen nachvollzogen werden.

Es wurde ein alternatives Modell für die Sorption von Selen an Ferrihydrit implementiert, aber im Berichtszeitraum noch nicht validiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Folgende Arbeiten sind für den nächsten Berichtszeitraum geplant:

- Bestimmung der Bodenparameter, die den Kd-Wert der einzelnen Nuklide am entscheidendsten beeinflussen.
- Fertigstellung und Test des Batchprogramms zur Erzeugung von Kd-Matrizen (nach dem Vorbild des „smart-Kd“-Konzepts) für verschiedene Nuklide und Refesol-Böden.
- Erzeugung von Kd-Matrizen, die für die Ausbreitungssimulationen vom FSU-AnGeo als „Look-up table“ verwendet werden können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Für die ENVIRA-Konferenz in Prag (08.09.-13.09.2019) wurde ein Beitrag mit dem Titel „Modelling the partitioning of Am and Pu in agricultural soils using the geochemical code PHREEQC“ angemeldet. Eine Veröffentlichung als Artikel in einer Fachzeitschrift ist geplant.

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 wurde abgeschlossen, nach Bedarf Durchführung ergänzender GIS-Analyse.
- AP1.2.1: Die Parameter der Modellierung und des Gesamtdesigns der Experimente (insb. Lysimeteraufbau) wurden endgültig abgestimmt. Im weiteren Lauf der Experimente ist jedoch aus versuchstechnischen Gründen mit Anpassungen im Verlauf der zyklischen Wasserspiegel- und Temperaturschwankung (Randbedingung) sowie der Saugspannungsmessung zur Bestimmung der sättigungsabhängigen Wasserleitfähigkeit (Transportparameter) zu rechnen.
- AP1.3.1: Abgeschlossen: im Ergebnis Fokussierung auf die norddeutsche Region / Niedersachsen repräsentiert durch jew. 2 Soll- / Ist-Böden (vgl. AP1.4.1).
- AP1.3.2: Abgeschlossen: die klimabedingte Bodenhorizontentwicklung der ausgewählten Ist- / 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: Abgeschlossen: Auswahl von 2 Soll-Böden (vgl. AP1.3.1).
- AP1.5.1: Zum weiteren Vorgehen beim Modellaufbau und der Verzahnung mit den Experimenten fand eine vorgeschaltete Sitzung vor dem Projektmeeting im Mai in Jena (FSU-AnGeo / LUH-IRS / ÖI) statt. Weitere Abstimmungen erfolgen im Rahmen der Telefonkonferenzen.
- AP2.1.2: Fortsetzung des systematisierten Aufbaus der Datenbank der Parameter: laufende Zuverlässigkeitsbewertung der recherchierten Parameterwerte, Übernahme der Parameterwerte nach Empfehlung von BIOPROTA, weitere experimentell ermittelten Werte müssen gem. Fortschritt der Lysimeterexperimente (FS-AnGeo / LUH-IRS) abgewartet werden.
- AP2.4.1b: Die Entwicklung der Modellansätze und deren Implementierung in ECOLEGO durch das Öko-Institut wird koordinierend mit den Modellierungsarbeiten des FS-AnGeo (1D-Transport) / UB-IUP fortgesetzt. Diese sind im Wesentlichen Bestandteil des AP2.5.2b (AP2.4.1b gem. Vorhabenbeschreibung abgeschlossen). Das Ziel ist eine Vergleichbarkeit der Parameter und der Ergebnisse der Radionuklidtransportmodelle (FS-AnGeo / Öko-Institut) herzustellen.
- AP2.5.2b: Fortsetzung der Programmierarbeiten zu Transportberechnungen in ECOLEGO, Fokus Wassertransport: gegenwärtig wird Hydrus 1D als Hilfssoftware zur Ergänzung der Datenbank (Parameterbasis) und zum Vergleich / Verifikation der Zwischenergebnisse der Modellierung von FS-AnGeo / Öko-Institut eingesetzt. Die Arbeiten der Modellierung in ECOLEGO fokussieren gegenwärtig auf die Fortentwicklung der Wassertransporttools, die Optionen der Verknüpfung (Datentransfer) mit FS-AnGeo werden kontinuierlich mit der Fortentwicklung der Modelle geprüft. Das Modul zur Monte-Carlo Simulation wird nach dem Aufbau der Datenbasis und Festlegung der Verteilungsfunktionen erweitert (AP2.1.2). Darauf aufbauend erfolgt die Vervollständigung des Tools zur Berechnung der Langzeitreihen mit Biosphere Dose Conversion factors (BDCF).
- AP4.4: Im Vorlauf wurden Arbeiten zum Aufbau des konzeptuellen Ansatzes zum Kompartimentmodell der pflanzlichen Systeme in ECOLEGO gestartet und Rechercharbeiten zum aktuellen Stand des Wissens vorgenommen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.1.2b: Abgeschlossen, nach Bedarf ergänzende GIS-Analyse.
- AP1.3.2: Ermittlung abgeschlossen, Erläuternde Dokumentation in Bearbeitung.
- AP1.5.1: Kontinuierliche Absprache mit Projektpartnern zum Fortschritt: Treffen und TK Konferenzen; Fortsetzung Abschätzungen zu realistischen und experimentellen Quelltermen.
- AP2.1.2: Fortsetzung Aufbau Datenbank mit Parametern zur Bodenhydrologie
- AP2.5.2b: Fortsetzung der Arbeiten zum Aufbau der Modelltools in ECOLEGO, weiterer Austausch mit FS-AnGeo und UB-IUP.
- AP4.4: Start des Austausches mit LUH-IfB und HZDR-IRE zu deren Experimentaufbau und –ergebnissen als Basis für die Modellentwicklung zu Transfer Boden-Pflanze. Laufend Konsultation mit Fa Facilia (ÅF) zur möglichen erforderlichen Erweiterungen in der Software ECOLEGO (Optionen der Downskalierung).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Präsentation BIOPROTA annual meeting 2019 in München, fließt in den BIOPROTA-Bericht ein.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Opalinuston 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 Opalinustons (OPA) aus dem Untertagelabor Mont Terri und Transport von Bohrkernen (mit unterschiedlicher Orientierung bzgl. der Schichtung) zum FZJ in Vorbereitung der Arbeiten zur Materialcharakterisierung. Recherche zu Literaturdaten bzgl. der Stofftransporteigenschaften der sandigen Fazies des OPA und Durchführung von orientierenden Modellrechnungen zum Stofftransport (HTO und ^{226}Ra) zur Planung der Randbedingungen der Diffusionsexperimente.
- AP2: Teilnahme am Technical Meeting TM-37 des Mont Terri Projects sowie Abstimmung mit den Verbundpartnern bzgl. der Beteiligung an bereits existierenden/geplanten Untertagelaborexperimenten. Vorbereitung von und Teilnahme am Kick-off Meeting des von FANC geplanten DR-C Projekts ("Diffusion in a thermal gradient").
- AP3: Auswertung von 1D Säulenversuchen zur Ableitung von Porositäts-/Permeabilitätsbeziehungen im Hinblick auf Anwendbarkeit und potentielle Modifikationen der in reaktiven Stofftransportmodellen typischerweise verwendeten (vereinfachten) Kozeny-Carman-Gleichung.
- AP4: Vorbereitung von und Teilnahme an einem internen Projektmeeting (UFZ Leipzig); Abstimmung mit den Projektpartnern bzgl. der Durchführung von koordinierten und kohärenten "Proof-of-concept" Studien zu den Themen "Radionuclide and gas transport across an evolving near field" und "Heterogeneity accross scales". Vorabstimmung bzgl. der gemeinsamen Durchführung von Benchmarksimulationen auf unterschiedlichen räumlichen Skalen auf Basis bereits existierender experimenteller Daten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im 2. Halbjahr 2019 soll 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. Des Weiteren erfolgen Detailabstimmung mit PSI bzgl. der Präparation von Bohrkernproben für die Diffusionsexperimente. Im Rahmen von AP2 sind weitere Planungsarbeiten bzgl. der finalen Ausgestaltung des DR-C Projects in Mont Terri sowie orientierende Rechnungen zum Versuchsablauf (z. B. bzgl. Temperaturfeld und -gradienten) vorgesehen. Im Rahmen von AP3 sind weitere Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Porositäts-Permeabilitätsbeziehungen (z. B. Berücksichtigung einer so genannten "kritischen Porosität") in reaktive Stofftransportmodelle auf dem Kontinuumsmaßstab geplant. Des Weiteren sind Organisation und Durchführung des iCross Kick-off Meetings sowie erste Arbeiten zu den Benchmarkstudien und eine detaillierte Abstimmung mit den Projektpartnern zu den "Proof-of concept" Studien vorgesehen (AP4).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Poonoosamy, J., Pohlmeier, A., Haber-Pohlmeier, S., Klinkenberg, M., Bosbach, D., Deissmann, G. (2019): Magnetic resonance imaging to assess changes in transport properties of porous media due to dissolution and precipitation processes. Interpore 2019, 6. – 10. May 2019, Valencia, Spain. – Präsentation.

| | | |
|--|---|---|
| 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 - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B | | |
| Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung | | |
| Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 30.06.2021 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Untersuchungen zur Sorption von Eu(III) und Cm(III) an Graniten: Durchführung von örtlich aufgelösten Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und μ TRLFS-Messungen an Granitdünnschliffen (Eibenstock, Sachsen und Aspö, Schweden) beladen mit Eu(III) und Cm(III).
- AP3: Erstellung eines 2D Transportmodelles mit den geochemischen Randbedingungen des ausgewählten Testfalles. Simulation des Testfalls mit OpenGeoSys (OGS) und Verifizierung / Validierung der Ergebnisse.
Einarbeitung in Sorptionsreaktionen von Eu an Kalzitsubstraten (Kalzit als Bestandteil der sandigen Facies des Opalinustons): Literaturrecherche zu MD-Simulationsergebnissen für die Parametrisierung eines eigenen Codes, Erste Testsimulationen unter Verwendung von Parametern zur variablen site density auf der Porenskala.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Untersuchungen der Sorption von Eu(III) und Cm(III) an weiteren Granitproben aus Tschechien sowie an Opalinus-Tonproben mit den oben genannten Messmethoden, welche durch EDX-Messungen ergänzt werden. Vergleich der Ergebnisse der Sorption an verschiedenen Graniten und dem Tonmineral.
- AP3: Regelmäßige Arbeitstreffen mit Projektpartner UFZ zur Weiterentwicklung der Strategie für die Implementierung des smart Kd-Konzeptes in OGS. Zuarbeiten zu geplanten UFZ Benchmark-Buch. Durchführung weiterer Arbeitstreffen mit GFZ zur Weiterentwicklung deren konzeptuellen Modelles.
Validierung der quantitativen Ergebnisse zur Eu-Sorptionsmodellierung auf der Porenskala an Kalzit mit geplanten experimentellen Ergebnissen.

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

- AP1: Bentonit (MX-80) wurde Natrium getauscht und auf die Korngröße $< 2 \mu\text{m}$ eingestellt. Magnetit wurde synthetisiert und anoxisch getrocknet. Es folgte eine umfassende Charakterisierung von Bentonit und Magnetit, und das Ansetzen einer Gleichgewichtslösung. Vorversuche zu den Diffusionsexperimenten wurden gestartet. Zwei Bohrkern der sandigen Opalinustonfazies wurden an FZJ übergeben. Ein Bohrkern (BMB-A7) wurde unter Argon-Atmosphäre teilweise aufgemahlen. Mit der Charakterisierung des Pulvers ($< 200 \mu\text{m}$) wurde begonnen (N₂-BET, XRD). Zur Entwicklung eines Setups für Actinidendiffusion in Opalinuston wurde mit Materialabsorptionsexperimenten begonnen.
- AP2: Eine KIT-INE-Delegation nahm am Technischen Meeting 37 des Mont Terri Projekts teil. In Phase 25 (Juli 2019–Juni 2020) ist KIT-INE Partner in den Experimenten IC-A (Corrosion of iron in bentonite) und DR-C (Diffusion in a thermal gradient). Es fand ein Kick-off-Meeting zu DR-C bei FANC in Brüssel zur Diskussion des experimentellen Setups statt.
- AP3: Literatur Recherche. Entwicklung eines Modellkonzepts zur Beschreibung der geplanten Experimente. Vorläufige konservative- und reaktive-Transport-Modellrechnungen (ohne Kationen Austausch). Ab initio Berechnung von Diffusionskoeffizienten in Montmorillonit unter Berücksichtigung verschiedener Kationen in der Zwischenschicht und Modellierung zur Komplexierung von trivalenten Radionukliden an Illitkanten unter Carbonateinfluss.
- AP4: Kick-off Meeting in Leipzig. Festlegung der Proof-of-Concept Fälle und Sammlung der Beiträge der Projektpartner zu den definierten Themengebieten. Vorbereitung eines WP4-Meetings.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Optimierung der Diffusionszellen und weitere Vorversuche. Präparation von weiteren Pulvertrenn- und Dünn- / Anschliffproben der Opalinustonbohrkerne zur weiteren Charakterisierung und für Sorptionsversuche sowie Bereitstellung von Aliquoten des Pulvertrens an die Projektpartner. Test der elektrochemischen Stabilisierung reduzierender Bedingungen während Actiniden-Diffusionsversuchen.
- AP2: Weitere Planung des DR-C-Experiments: Festlegung eines experimentellen Designs und Voruntersuchungen. KIT-INE wird weitere iCross-Partner (GFZ+UFZ) zum DR-C-Experiment einladen, insbesondere für Modellierungsaufgaben.
- AP3: Literatur Recherche. Weiterführende reaktive-Transportmodellrechnungen inklusive Diffusion, Mineral Ausfällung und -Auflösung sowie Kationenaustausch. Erweiterung des Montmorillonit-Modells um explizite Kanten, um den Einfluss der Kationen auf das Porenvolumen zu untersuchen. Publikation der Illit Daten.
- AP4: AP4 Meeting in Karlsruhe: Abschließende Definition der Proof-of-Concept Fälle und Festlegung der Zuarbeiten der Projektpartner.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag: Glückman, D., Quinto, F., Hain, K., Joseph, C., Montoya, V., Steier, P., Geckeis, H.: Development of an analytical method for the determination of actinides in clay systems at ultra-trace levels with accelerator mass spectrometry. Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, Rostock, Deutschland, 10.-15.03.2019.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 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 Simulationsmethoden zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Schwerpunkt der Arbeiten in URLs liegt auf Mont 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.

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 Simulationen 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

- 1.4: Mit der Einstellung eines Mitarbeiters wurden die Arbeiten am 01.02.2019 begonnen. Diese umfassten eine umfassende Literaturrecherche. Daneben wurde Probenmaterial aus Mont Terri aufbereitet und erste Untersuchungen zum Sättigungsverhalten und der Porosität durchgeführt. Im Fokus der geomechanischen Laboruntersuchungen stand Opalinuston der sandigen Fazies. Erste verschiebungskontrollierte Deformationstests in einer Paterson-Gasdruckapparatur bei erhöhtem Manteldruck und Temperatur zeigten in undrainierten Versuchen eine deutliche Abhängigkeit der Festigkeit und des Bruchverhaltens von der Probenorientierung relativ zur Schichtung sowie vom Wassergehalt.
- 2.5: Vom 15. bis 23. Januar 2019 wurden erste Pilotmessungen zur seismischen Charakterisierung im Felslabor Mont Terri durchgeführt. Die Analysen der Kompressions- und Scherwellen-Laufzeiten zeigten deutliche Unterschiede in den Ausbreitungsgeschwindigkeiten der verschiedenen Faziestypen des Opalinustons. Zudem konnte eine deutliche azimutale Abhängigkeit der mittleren Ausbreitungsgeschwindigkeiten bestimmt werden, die die schon in früheren kleinräumigen Experimenten bestimmte Anisotropie bestätigte. Weiterhin wurde das erste petrophysikalische Modell des Felslabors fertig gestellt und mit ersten tomographischen Auswertungen zur Untersuchung der Heterogenität des Opalinustons im Umfeld der vermessenen Galerien begonnen.
- 4.3: Das Projekt iCross hat sich mit seinen Arbeiten beim Technical Meeting des UntertageLABors von Mont Terri in Porrentruy Anfang Februar 2019 vorgestellt. Im folgenden Zeitraum bis Mitte Mai erfolgte dann die enge Absprache innerhalb des Projekts und mit dem Konsortium zur Festlegung der Beteiligung an den Experimenten der anstehenden Phase Juli 2019 bis Juni 2020.

4. Geplante Weiterarbeiten

- 1.4: Der experimentelle Fokus wird auf die Ratenabhängigkeit der Gesteinsfestigkeit bei verschiebungskontrollierten Versuchen gelegt. Diese Versuche werden nominell drainiert durchgeführt, um den Einfluss der geringen Gesteinspermeabilität auf das Verformungsverhalten unter Laborbedingungen zu berücksichtigen. Alle Versuche werden zunächst bei konstanter Mantelspannung und Temperatur erfolgen; deren Einfluss auf das mechanische Verhalten wird nachfolgend untersucht. Mögliche Deformationsmechanismen sollen mittels mikrostruktureller Analysen untersucht werden.
- 2.5: Die Auswertung der Versuchsdaten wird mit folgenden Schwerpunkten fortgesetzt: quantitativer Vergleich der verwendeten seismischen Quellen (Impact vs. Vibro-Quelle); Auswertung der Daten im Hinblick auf die Abbildung des reflektierten Wellenfeldes; Laufzeitomographie; Vorbereitungen für die Wiederholungsmessung (geplant Anfang 2020).
- 4.3: Die Partner im Projekt iCross - FZJ, KIT, HZDR, UFZ und GFZ - werden sich aktiv an zehn verschiedenen Experimenten des Konsortiums in Mont Terri beteiligen. Das Experiment "Seismic imaging ahead of and around underground infrastructure" wird nach dem Aufbau und ersten Arbeiten unter der Leitung des GFZ wie geplant fortgeführt.

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 experimentellen und numerischen Plattform für die Endlagerforschung, die ein verbessertes, skalenübergreifendes Prozessverständnis der thermo-hydro-mechanischen (THM) und chemisch-mikrobiologischen (CB) Vorgänge im Nah- und Fernfeld potenzieller Endlagerstandorte in verschiedenen Wirtsgesteinen gewährleistet. Die Projektarbeiten dienen wesentlich der Entwicklung und Validierung von Methoden zur Beschreibung des Systemverhaltens in verschiedenen, wechselwirkenden Kompartimenten eines Endlagersystems. Das BMBF-Vorhaben ist eng verknüpft mit einer Sondermaßnahme des Impuls- und Vernetzungsfonds der Helmholtz-Gemeinschaft (FKZ SO-093). Durch das multidisziplinäre Vorhaben werden die Forschungsaktivitäten des FZJ, KIT und HZDR im Bereich Radio-, Geo- und Biochemie (Helmholtz-Programm NUSAFE im Forschungsbereich Energie) mit der Expertise von UFZ und GFZ (Forschungsbereich Erde und Umwelt) in den Geowissenschaften und der Systemanalyse verknüpft.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben ist in vier interagierende Arbeitspakete strukturiert: Laborversuche (WP1), Experimente in Untertagelaboren (WP2), Modellierung und Simulation für Prozess- und Systemanalyse (WP3) sowie Integration / Synthese der Arbeiten und Ergebnisse (WP4).

Durch den Zuwendungsempfänger werden im Bereich der Simulation numerische Methoden zur Analyse von THM- und THC-Prozessen in untertägigen Gesteinen unter Berücksichtigung struktureller Diskontinuitäten und geochemischer Heterogenitäten entwickelt und in die wissenschaftliche Open-Source-Software OpenGeoSys (OGS) implementiert. Als Gesteine werden Ton und Kristallin mit dafür typischen Diskontinuitäten sowie Heterogenitäten unter Verwendung spezieller numerischer Ansätze betrachtet. Die biogeochemischen Randbedingungen der Metallkorrosion unter typischen Bedingungen eines möglichen Endlagers werden darüber hinaus in Laborexperimenten untersucht. Damit erarbeitet das UFZ spezifische Beiträge zu den Arbeitspaketen WP1, WP3-AP1 (Mehrphasenprozesse), WP3-AP2 (reaktive Transportprozesse), WP3-AP3 (stochastische FEM und Unsicherheitsanalyse) sowie WP4.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

WP1: Kultivierung einer methanogenen eisenoxidierenden Modellkultur für künftige Laboranalysen der Physiologie, Biochemie und Phylogenie entsprechender Mikroorganismen. Charakterisierung von Proben des halophilen Archaeons *Halobacterium* sp. GP5 1-1 mittels Rastertransmissionselektronenmikroskopie und Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (mit HZDR)

- WP3-AP1: Entwicklung einer ersten Version des OGS-TH2M Modells für die Simulation nichtisothermer Mehrphasenströmungen in Tongesteinen.
Weiterentwicklung der Simulationsplattform OpenGeoSys hinsichtlich mechanischer Prozesse in kristallinen und Tongesteinen. Beteiligung an Benchmarking-Initiativen (z. B. DECOVALEX)
- WP3-AP2: Definition eines Benchmark-Konzepts für reaktive Transportprozesse auf verschiedenen Skalen in Übereinstimmung mit den beiden in WP4 definierten Proofs-of-Concept.
Implementierung des Smart-Kd-Konzepts zur Modellierung der Radionuklidmigration im Rahmen der Programmkopplung von OGS-6 und iPhreeqc (mit HZDR)
- WP3-AP3: Übertragung eines assisted history matching (DoE-AHM) Workflows auf ein gekoppeltes THM-Benchmark Problem zur statistischen Daten-/Unsicherheitsanalyse.
Entwicklung einer OGS6-Python-Schnittstelle sowie Python3-Implementierung des DoE-AHM Workflows.
Korrektur der analytischen Lösung eines THM-Benchmark-Problems
- WP4: Entwicklung eines ersten Prototyps für das Virtuelle URL Mt. Terri und Präsentation im Visualisierungszentrum der UFZ.
Definition von Proofs-of-Concept (PoC): PoC1 - Migration of radionuclides and gases across the evolving nuclear waste repository near field; PoC2 - Heterogeneity across scales.
Organisation gemeinsamer Treffen und Workshops mit den Verbundpartnern: Reaktive Transportmodellierung (monatlich); Gesamtverbundtreffen (16./17.04.2019 in Leipzig)

4. Geplante Weiterarbeiten

- Laborexperimente zur Physiologie, Biochemie und Phylogenie o. g. Modellkulturen zur Charakterisierung der Eisenkorrosion unter methanogenen Bedingungen.
- Mikroskopische Untersuchungen an halophilen Mikroben (mit HZDR) sowie zu Interaktionen von Mikroben mit Tonen in Zusammenarbeit mit dem GFZ (↑alles WP1).
- Entwicklung einer ersten Version des OGS-TH2M Modells für die Simulation nichtisothermer Mehrphasenströmungen in Tongesteinen (WP3-AP1).
- Definition und Bearbeitung weiterer Benchmarks (WP3-AP2).
- Weiterentwicklung und Implementierung des DoE-AHM Workflows.
- Benchmarking des Workflows mit synthetischen experimentellen Daten für das Wirtsgestein Ton (↑alles WP3-AP3).
- Weiterentwicklung des Virtuellen URL anhand aktueller und geplanter Experimente in Mt. Terri u. a. zur Unterstützung der Planung des CD-A Experiments sowie Integration von Daten des regionalen Strukturmodells in das VR-System.
- Beschreibung (alle Partner) für beide Proofs-of-Concept
- Vorbereitung eines Workshops für Doktoranden zum reaktiven Transport (↑alles WP4).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Kolditz O, Goerke U-J, Shao H et al (2019) Workflows in environmental geotechnics: status-quo and perspectives. In: Zhan L, Chen Y, Bouazza A (eds.) Proceedings of the 8th International Congress on Environmental Geotechnics, vol 1 Towards a sustainable geoenvironment, Hangzhou, October 2018. Environmental Science and Engineering. Springer, Singapore pp 119-127

Bilke, L., Flemisch, B., Kalbacher, T., Kolditz, O., Helmig, R., Nagel, T., (2019): Development of open-source porous media simulators: principles and experiences. Transp. Porous Media. <https://doi.org/10.1007/s11242-019-01310-1>

2.3 Strahlenforschung

| | | |
|---|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Tumorpatienten 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 Prostatatumoren 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 Tumordinaktivierung 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 im International Journal of Cancer publiziert (siehe 5.). Arbeiten zur Bedeutung von ERG für Reparaturdefekte in Prostatatumoren wurden an Hand von frischem Gewebeprobe weitergeführt.
- AP2: Arbeiten zur Etablierung neuer Targets zur gezielten Strahlensensibilisierung von Brusttumoren mit Replikationsstörungen sowie funktioneller Assays / Biomarker für HR- und Replikationsdefekte wurden abgeschlossen. Der „molecular combing“-Ansatz wurde mit dem herkömmlichen DNA-Fiber-Assay verglichen. Arbeiten zur Automatisierung der „molecular combing“ und DNA-Fiber-Assays wurden abgeschlossen. Ein Übersichtsartikel zur Bedeutung der DNA-Reparatur für die Radioresistenz von Tumorstammzellen wurde veröffentlicht.
- AP3: Ein Manuskript zur Identifikation, Charakterisierung und mechanistischen Analyse eines für das Therapieansprechen bei GBM relevanten Signalwegs (M3.2/3.3) wurde nach umfangreicher Revision erneut eingereicht. 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 publiziert (siehe 5.). Untersuchungen zu Targets und Biomarkern wurden fortgeführt, u.a. mittels Kinom-Analysen.
- AP4: Bioinformatische Analysen der TMA-Daten (M4.4) wurden durchgeführt. Arbeiten zur Etablierung neuer Targets und neuer molekularer Therapieansätze für HPV-positive HNSCC wurden intensiviert und erste in vivo Pilot-Versuche unternommen (M4.5).
- AP5: Ein erster Durchgang der strahlenbiologischen Fortbildung für Assistenzärzte der Strahlentherapie wurde erfolgreich abgeschlossen (bis auf ein letztes noch anstehendes Seminar). Arbeiten zur kontinuierlichen Aktualisierung, curricularen Abstimmung und Forschungsvernetzung der strahlenbiologischen Lehrinhalte in Vorlesungen, Seminaren und Praktika wurden fortgesetzt. Allein für die strahlenbiologische Hauptvorlesung (insgesamt 28 x 2 h) haben sich im vergangenen Jahr ca. 100 Studierende der Physik, Biologie, Molecular Life Sciences, Nanowissenschaften sowie einzelner anderer Fachrichtungen eingeschrieben!

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Zusammenstellung, finale Auswertung, Interpretation und Veröffentlichung der bisher gewonnenen Daten.
- 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 Integration strahlenbiologischer Inhalte in das Lehrkonzept der Graduiertenschule des Hamburger Krebszentrums, der „Hamburg School of Oncology“.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Beizaei K, Gleißner L, Hoffer K, Bußmann L, Steinmeister L, Laban S, Möckelmann N, Münscher A, Petersen C, Rothkamm K, Kriegs M (2019): 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*, 41:208-215.
- Köcher S, Beyer B, Lange T, Nordquist L, Volquardsen J, Burdak-Rothkamm S, Schlomm T, Petersen C, Rothkamm K, Mansour WY (2019): A functional ex vivo assay to detect PARP1-EJ repair and radiosensitization by PARP-inhibitor in prostate cancer. *Int J Cancer*, 144:1685-1696.
- Schulz A, Meyer F, Dubrovskaja A, Borgmann K (2019): Cancer Stem Cells and Radioresistance: DNA Repair and Beyond. *Cancers* 11:E862.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 konnten die in Arbeitspaket 1 begonnenen Experimente zur Untersuchung der DNA DSB Reparatur mittels Homologer Rekombination in embryonalen Mausfibroblasten (MEFs) aus allen drei zu untersuchenden Mauslinien (WT, Nek1-KO, Rad54-KO) abgeschlossen werden. Die Ergebnisse bestätigen, dass Rad54-defiziente MEFs wie auch Rad54-defiziente Fibroblasten aus postnatalen

Mäusen einen Reparaturdefekt besitzen. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich Nek1-defiziente MEFs und postnatale Fibroblasten deutlich in der DNA Reparaturkapazität. Nek1-defiziente MEFs weisen nach Bestrahlung keinen Reparaturdefekt auf, während sich in postnatalen Fibroblasten ein Reparaturdefekt manifestiert, der mit dem in Rad54-defizienten Fibroblasten vergleichbar ist. Damit bestätigen unsere in vitro Untersuchungen den Befund in vivo, dass Nek1-defiziente Mäuse erst mit zunehmender Entwicklung einen Defekt in der Homologen Rekombination ausbilden. Um die Rolle von Rad54 bei der entwicklungsabhängigen Regulation von Nek1 zu charakterisieren, wurden außerdem im letzten Halbjahr DNA Reparaturstudien in Fibroblasten aus den von uns gezüchteten Rad54-Knockin (KI) Mäusen durchgeführt. Diese Fibroblasten wurden aus Embryos isoliert, die homozygot für die dauerhaft aktive Rad54 S/E Mutante oder nicht aktivierbare Rad54 S/A Mutante waren. Verglichen mit Wildtyp-Fibroblasten zeigen Fibroblasten aus der S/E Mutante unter Kontrollbedingungen ein erhöhtes Level an spontanen DNA Doppelstrangbrüchen. Nach Bestrahlung werden die induzierten Brüche inklusive der spontan bestehenden Schäden auf das Level von Wildtyp-Fibroblasten repariert. Fibroblasten der S/A Mutante zeigen dagegen keine Erhöhung von Doppelstrangbrüchen unter Kontrollbedingungen. Dafür manifestiert sich in ihnen nach Bestrahlung ein mit Rad54-KO Fibroblasten vergleichbarer Reparaturdefekt. Die Ergebnisse der nicht aktivierbaren S/A Mutante bestätigen damit nicht nur die essentielle Rolle von Rad54 bei der DNA DSB Reparatur mittels Homologer Rekombination sondern zeigen auch, dass die Aktivierung von Rad54 durch dessen Phosphorylierung am Serin 572 erfolgen muss.

AP2: Im Rahmen des Arbeitspakets 2 wurden planmäßig die Untersuchung aus den in vivo Bestrahlungen von Nek1-KO Mäusen vorangetrieben. Diese bestätigen den bereits im letzten Halbjahr erkennbaren Trend, dass der Verlust von Nek1 zwar in drei Wochen alten Mäusen zu einem Defekt in der Reparatur von DNA Doppelstrangbrüchen führt, aber nicht in jüngeren Mäusen. Damit bestätigen die in vivo Daten die im Arbeitspaket 1 generierten in vitro Ergebnisse. Zusammen mit den Daten aus den Rad54-KI Fibroblasten ergibt sich somit das Bild einer Regulation der HR, die erst in späten Entwicklungsstadien auf der Regulation der Aktivität von Rad54 durch Nek1 beruht. In früheren Entwicklungsstadien scheint diese Regulation von Rad54 auch durch andere Proteine möglich, die bislang noch unbekannt sind. Durch Genexpressionsanalysen anderer Mitglieder der Nek-Proteinfamilie sollen in weiteren Studien mögliche Kandidaten identifiziert werden, die die Rolle von Nek1 in diesen frühen Entwicklungsstadien übernehmen könnten. Die Zucht der Rad54-KI Mäuse ist im letzten Halbjahr so weit vorangeschritten, dass ein erstes, für die Rad54 S/E Mutation homozygotes Tier geboren wurde. Dieses weist bislang keine Auffälligkeiten gegenüber seinen Wurfgeschwistern auf. Für die Rad54 S/A Mutante werden zurzeit die ersten Würfe mit potentiell homozygoten Tieren genotypisiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Mit dem Abschluss dieses Projekts sollen die gewonnenen Daten im Rahmen einer Publikation zusammengefasst und möglichst zeitnah veröffentlicht werden. Die Charakterisierung der im Rahmen dieses Projekts gezüchteten Rad54-KI Linien und den daraus gewonnenen Zelllinien wird durch eine Doktorandin und eine Master-Studentin weitergeführt werden. Durch Genexpressionsanalysen anderer Mitglieder der Nek-Proteinfamilie sollen in weiteren Studien mögliche Kandidaten identifiziert werden, die die Rolle von Nek1 in diesen frühen Entwicklungsstadien übernehmen könnten.

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 (2. Halbjahr 2018) untersucht werden, ob die gefundene regulatorische Beeinflussung von Glutamat auf Neurone und DSBs (im Gegensatz zu Astrozyten) auch funktionell nachgewiesen werden kann. Dafür sollten die Stammzellen der Zelllinie J1 in Gegenwart von Glutamat-Liganden zu einem vollständigen neuronalen Netzwerk ausdifferenziert werden und die Spontanaktivität

über das sogenannte MEA (=Microelectrode Array)-System gemessen werden. Vorläufige Ergebnisse zeigen, dass die aus der Zelllinie J1 entwickelten neuronalen Stammzellen nach Differenzierung und Zugabe von Glutamat verstärkt zur Ausbildung von funktionalen neuronalen Netzwerken in der Lage sind und sich das glutamaterge Modellsystem zur Untersuchung des Einflusses von DSBs auf die Reifung von Stammzellen eignet.

- AP4: In den vorherigen Berichten wurde gezeigt, dass niedrig-Dosis Bestrahlung in murinen neuronalen Stammzellen zu einem verzögerten Anstieg spezifischer Kaliumkanäle führt. In verschiedenen Publikationen wurde die in neuronalen Stamm- und Vorläuferzellen vorhandene neuronale Stickoxidsynthase (nNOS) mit einem Einfluss auf Proliferation und Neurogenese in Zusammenhang gebracht. Daher war interessant, dass wir eine gesteigerte nNOS Expression 24 h nach Bestrahlung mit Dosen < 500 mGy nachweisen konnten. Im vergangenen Projektabschnitt konnte nun auch die daraus resultierende Erhöhung von Stickoxid (NO) 24 h nach Bestrahlung nachgewiesen werden. Eine Verschiebung von proliferierenden zu differenzierenden Zellen und das Voranschreiten in der Neurogenese war gleichzeitig mit Veränderungen im Zellzyklus verbunden. Mittels Durchflusszytometrie konnte dabei eine durch 500 mGy Bestrahlung induzierte Erhöhung der in G1-Phase befindlichen Zellen erreicht werden. Gleichzeitig erniedrigte sich durch die Bestrahlung der Anteil an S-Phase Zellen. Dieselbe Zellzyklus-Verschiebung konnte durch eine induzierte Differenzierung nachgewiesen werden. Zusammen mit den im vorangegangenen Abschnitt gezeigten erhöhten Expression spezifischer Differenzierungsmarker sowie funktionellen Veränderungen wie Ionenkanalleitfähigkeit und Membranpotential kann eindeutig ein Einfluss von Niedrigdosis-Bestrahlung auf die Neurogenese gezeigt werden.
- AP8: Seit dem letzten Zwischenbericht (2. Halbjahr 2018) wurden die verhaltensbiologischen Untersuchungen nach Bestrahlung während verschiedener Lernphasen (Sham, 500 mGy) abgeschlossen. Es wurden insgesamt 3 Kohorten untersucht, die jeweils mit einer eigenen Kontrollgruppe verglichen wurden. Kohorte 1 wurde 7 Tage vor Beginn des Morris Water Maze (MWM) bestrahlt, Kohorte 2 direkt nach dem ersten Trainingstag und Kohorte 3 direkt nach dem Probetest der initialen Lernphase. Die 500 mGy Tiere der Kohorte 1 lernten während der initialen Trainingsphase etwas langsamer als die Kontrollgruppe und zeigten tendenzielle Unterschiede in Bezug auf Latenzzeiten bis zum Erreichen der Plattform und räumlicher Suchstrategien. Die Analyse von Kohorte 2 ergab keine Unterschiede in der initialen Lernphase des MWM. Die 500 mGy Tiere der Kohorte 3 zeigten lediglich am initialen Trainingstag 4 erhöhte Latenzzeiten bis zum Erreichen der Plattform. Die weiteren Parameter waren unauffällig. Bei den RAD54^{-/-} Mäuse zeigten sowohl die sham als auch die 500 mGy bestrahlten Tiere keinerlei motorische Auffälligkeiten oder Dysfunktionen beim RotaRod Test. Auch beim Elevated Zero Maze zeigten die RAD54^{-/-} Mäuse kein auffälliges Angstverhalten. Die darauffolgenden zweiwöchigen Gedächtnistests im MWM hingegen zeigten signifikante Unterschiede im Lernverhalten zwischen wt und RAD54^{-/-} Mäusen. Sowohl die bestrahlten als auch die sham bestrahlten RAD54^{-/-} Mäuse brauchten signifikant mehr Zeit um die Plattform im MWM zu finden. Erstaunlicherweise zeigten bestrahlte und sham behandelte RAD54^{-/-} Mäuse keine signifikanten Unterschiede im Lernverhalten, was mit dem Verlust der Fähigkeit räumliche Suchstrategien zu entwickeln in den RAD54^{-/-} Mäusen zu korrelieren scheint.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Ergebnisse im AP8 zeigen, dass der knock-out des Reparaturproteins RAD54 in Mäusen bei P10 zu Lerndefiziten im adulten Stadium führt. Im letzten Versuchsteil werden momentan RAD54^{-/-} Mäuse im Embryonalstadium (E 14.5) mit 500 mGy Röntgenstrahlung bestrahlt und ihr Lernverhalten im adulten Stadium ausgewertet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Müller-Längle, Adriana; Lutz, Henrik; Hehlhans, Stephanie; Rödel, Franz; Rau, Kerstin; Laube, Bodo (2019): NMDA Receptor-Mediated Signaling Pathways Enhance Radiation Resistance, Survival and Migration in Glioblastoma Cells — A Potential Target for Adjuvant Radiotherapy. In: *Cancers*, MDPI, S. 503, 11, (4).

Lutz, Henrik; Nguyen, Thy; Joswig, Juliane; Rau, Kerstin; Laube, Bodo (2019): NMDA Receptor Signaling Mediates cFos Expression via Top2 β -Induced DSBs in Glioblastoma Cells. In: *Cancers*, MDPI, S. 306, 11, (3).

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

Im Berichtszeitraum wurden an der GSI 2 Bestrahlungsexperimente mit Kohlenstoffionen unter Therapiebedingungen (im ausgedehnten Bragg Peak, LET: 75 keV/μm) durchgeführt, um die bestehenden Datensätze für NSZ zu komplettieren. Es wurden die Apoptoserate sowie die Anzahl und Art von Chromosomenschäden im Zeitraum von 1 bis 14 Tage nach der Strahlenexposition bestimmt (Dosisbereich 0.25 bis 2 Gy). Die Daten zeigen, wie auch schon in anderen Zellsystemen beobachtet, dass im Hinblick auf frühe Strahleneffekte Kohlenstoffionen effektiver als Röntgenstrahlen sind; die RBW der Ionenstrahlen ist hier in der Regel ≥ 2 . Die Apoptoserate erreicht ≤ 4 Tage nach der Bestrahlung mit Röntgen- oder Kohlenstoffionen wieder das Kontrollniveau; im Gegensatz hierzu ist die Aberrationsrate noch 14 Tage nach der Bestrahlung leicht erhöht. Dieser Effekt ist nach Ionenbestrahlung deutlicher ausgeprägt. Es treten stabile (vererbare) Aberrationen auf, die auf ein erhöhtes Krebsrisiko hinweisen.

Darüber hinaus wurden die Untersuchungen zur Proliferationsfähigkeit (bzw. zum Zellüberleben) von NSZ im 3D-Modell (d.h. Kultivierung als Neurosphären) fortgeführt. NSZ wurden mit Kohlenstoffionen (0.25 bis 1 Gy, N=2) oder Röntgenstrahlen (0.25 bis 3 Gy; N=1) bestrahlt und die Neurosphärenbildung direkt nach der Exposition sowie nach einer Erholungszeit von 24 Stunden initiiert. Übereinstimmend mit den vorangegangenen Experimenten wurde eine dosisabhängige Verminderung der Neurosphärenbildung detektiert. Dieser Effekt war nach Ionenbestrahlung deutlicher ausgeprägt.

Ebenso wurden die Untersuchung zur Differenzierungskapazität der NSZ fortgesetzt. Die Zellen wurden mit Röntgenstrahlen (Dosisbereich 0.25 bis 3 Gy, N=2) oder Kohlenstoffionen (Dosisbereich 0.25 bis 1 Gy, N=1) bestrahlt, 24 Stunden später wurde die Neurosphärenbildung initiiert. Mittels qRT-PCR wurde die Genexpression von Markern für NSZ sowie Neurone in 7 bzw. 28 Tagen alten Neurosphären untersucht. Übereinstimmend mit den vorangegangenen Studien wurde sowohl nach Röntgen- als auch nach Ionenbestrahlung an beiden Untersuchungszeitpunkten eine dosisabhängige Verminderung der Genexpression spezifischer Marker detektiert: in 7 Tage alten Neurosphären betraf dies neurale Stammzellmarker wie PAX6 und Nr2f2; in 28 Tage alten Neurosphären neuronale Marker wie SYP und SNAP25, die eine wichtige Funktion bei der synaptischen neuronalen Reizweiterleitung haben.

Weiterhin wurde eine Veröffentlichung, die aus der Zusammenarbeit mit den Projektpartnern des vom BMBF geförderten Projektes „Brain Radiation Assay (02NUK049)“ entstanden ist, fertiggestellt und bei einer internationalen Fachzeitschrift zur Publikation eingereicht (siehe hierzu Punkt 5).

4. Geplante Weiterarbeiten

Mit dem Ende der Projektlaufzeit am 30.6.2019 wurden die Forschungsarbeiten eingestellt. In den nächsten 6 bis 12 Monaten werden die Daten zur Strahlenempfindlichkeit von humanen neuronalen Stammzellen nach Röntgen- und Kohlenstoffionenstrahlen publiziert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Mayer M., Arrizabalaga O., Lieb F., Ciba M., Ritter S. and Thielemann C.: 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.

Mayer M., Arrizabalaga O., Schröder I., Ritter S., Thielemann C.: Human embryonic stem cell derived neurospheres – 2D and 3D cell culture in one sample. Conference Abstract: MEA Meeting 2018, 11th International Meeting on Substrate Integrated Microelectrode Arrays. doi: 10.3389/conf.fncel.2018.38.00078, published Online: 17 Jan 2019.

Mayer M., 1, Arrizabalaga O., Ciba M., Schroeder I.S., Ritter S. and Thielemann C.: Novel functional assay to investigate radiation-induced changes in neuronal network communications (submitted).

| | | |
|---|---|---|
| Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Daten der 8 Wildtyp-Gruppen (vergl. Bericht von 2018 I und II) ausgewertet. Zur Datenanalyse der fMRI Daten wurden neben der klassischen Auswertung (Ermittlung aktivierter Regionen im Gehirn) auch moderne graph-theoretische Methoden herangezogen, die Einblicke in die Modulation funktioneller Konnektivitäten im Gehirn gewähren. Die VBM-Analyse der hochaufgelösten anatomischen Messungen ist in Arbeit. Die wichtigsten Ergebnisse der bisherigen Datenanalyse sind folgende:

- Bei der schmerzspezifischen Aktivierung von Gehirnregionen stellt der Zeitpunkt der Bestrahlung den Haupteffekt dar. Embryonal bestrahlte Tiere aktivieren bei schmerzhafter Hitzestimulation weniger Hirnregionen als postnatal bestrahlte. Am deutlichsten ist dieser Effekt bei der hohen Dosis von 500 mGy zu beobachten. Dies wird durch die Verhaltensexperimente bestätigt, die ebenfalls einen Haupteffekt für den Zeitpunkt der Bestrahlung zeigen.
- Die Konnektivität zwischen den schmerzspezifisch aktivierten Gehirnregionen wird dagegen nur bei der niedrigsten Dosis (125 mGy) signifikant moduliert, bei postnataler Bestrahlung stärker als bei embryonaler. Die embryonale Bestrahlung führt hier zu einer generellen Abnahme der Konnektivität vor allem im Kortex und Hippocampus. Bei der postnatalen Bestrahlung ist eher ein „Umbau“, also sowohl Konnektivitätszunahmen als auch -abnahmen, zu beobachten.
- Die Resting State-Netzwerke der Tiere werden ebenfalls durch die Bestrahlung moduliert. Ein Dosis-Effekt ist nur bei den postnatal bestrahlten Tieren zu beobachten, wobei hier wiederum die niedrigste Dosis (125 mGy) den stärksten Effekt hat. Der deutlichste Unterschied zwischen embryonaler und postnataler Bestrahlung ist vor allem in den subkortikalen Hirnstrukturen des sensorischen Eingangs zu finden. Durch die embryonale Bestrahlung werden vor allem Regionen des Hirnstamms in ihrer Konnektivität verstärkt, bei postnataler Bestrahlung die des Thalamus.

Zusammenfassend scheint die funktionelle Konnektivität zwischen Gehirnregionen sowohl im Resting State als auch im Schmerz Netzwerk vor allem durch die niedrige Bestrahlungsdosis (125 mGy) verändert zu werden. Dieser Effekt ist bei postnataler Bestrahlung größer und differenzierter.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im Herbst dieses Jahres sollen die abschließenden MRT und Verhaltens Messungen mit embryonal bestrahlten (500 mGy) Rad54 Knockout Mäusen durchgeführt werden. Diese Messungen müssen anschließend umfassend ausgewertet und in die bereits bestehende Auswertung integriert werden. Zudem soll die VBM-Analyse mit allen Gruppen abgeschlossen werden. Die in diesem Projekt gewonnenen wissenschaftlichen Erkenntnisse sollen in einer einschlägigen Publikation veröffentlicht 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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. Tumoransprechen 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 Gewebespezifischen 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 Tumoransprechen korrelieren.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Die fraktionierte Niedrig-Dosis-Bestrahlung führt zu einer deutlichen Störung der hippocampalen Neurogenese. Diese Ergebnisse konnten zwischenzeitlich erfolgreich publiziert werden (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 verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung (1m, 3m, 6m post-IR) die Zellzahl der Mikroglia, Astrozyten und Oligodendrozyten in der Hippocampus-Region bestimmt.

AP4: Das Publikationsmanuskript zur klinischen Studie (RF-Quantifizierung und Charakterisierung in Blutlymphozyten bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und Rektum-Karzinomen vor und während der Radio-/Chemotherapie) wurde zwischenzeitlich bei dem Journal *PlosOne* eingereicht (Lorat Y et al. 2019).

In humanen Fibroblasten (nicht-proliferierende HSF1-Fibroblasten) wurde nach low-LET (Photonen) und high-LET (Kohlenstoff- und Calcium-Ionen) Bestrahlung die Induktion und Reparatur von DNA Schäden durch die vergleichenden Foci-Analysen mit verschiedenen hochauflösenden Mikroskopie-Techniken untersucht. Hierbei wurde die konventionelle und konfokale Immunfluoreszenz-Mikroskopie (IFM), sowie die Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) durch die Quantifizierung der RF bzw. Immunogold-Beads direkt miteinander verglichen. Um einzelne, strahleninduzierten RF ultrastrukturell zu charakterisieren, nutzten wir die korrelative Licht-Elektronen-Mikroskopie (*correlative light-electron microscopy; CLEM*). Durch Immunogold-Markierungen verschiedener Reparaturfaktoren (53BP1, γ H2AX, DNA-PKcs, pKu70, pKu80) kann im TEM das DNA Schadensmuster nach unterschiedlichen Strahlenqualitäten im Nanometerbereich im Zusammenhang in der Ultrastruktur des Chromatins charakterisiert werden. Die Dichte des Chromatins kann im TEM durch entsprechende Graustufen bestimmt werden, so dass insbesondere dekondensierte Chromatin-Regionen (DCRs entsprechend abgegrenzt und ausgemessen werden können. Nur nach high-LET (nicht aber nach low-LET) Bestrahlung zeigten sich umschriebene DCRs. Anschließend wurden die Immunogold-Markierungen für die verschiedenen Reparaturfaktoren detektiert, ggf. hinsichtlich DCR lokalisiert und quantifiziert. Auffallend war, dass pKu70 Markierungen und somit unreparierte DSBs bevorzugt im Randbereich der RFs zu finden waren. Während nach low-LET Bestrahlung die einzelnen 53BP1-Foci (IFM) nur wenige pKu70 Dimere im TEM zeigten, waren nach high-LET Bestrahlung viele pKu70 Dimere überwiegend im Randbereich von DCRs zu detektieren. Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass high-LET (im Gegensatz zu low-LET) Bestrahlung multiple DSBs in direkter räumlicher Nähe induziert, und dies mit einer massiven Dekondensierung des Chromatins einhergeht. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.

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 sollen die komplexen MRT-Bilddaten mit Hilfe dem Bildverarbeitungs-Programm AMIRA™ für die morphologische Befundbeurteilung ausgewertet werden. Durch die hochaufgelöste Darstellung der unterschiedlichen Hirnregionen im zeitlichen Verlauf nach Bestrahlung sowie im Vergleich zu altersentsprechenden Kontrolltieren sollen die morphologischen 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 werden auch 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.

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 Aug;137:45-54

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*

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| Gesamtkosten des Vorhabens: 1.300.920,00 EUR | Projektleiter: Prof. Dr. Rothkamm | |

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das grundsätzliche Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis von DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren. Die Detektion und Reparatur strahleninduzierter DSBs erfolgt in der komplexen Chromatin-Architektur des Zellkerns. In Abhängigkeit von einer Schadenslokalisierung im Eu- bzw. Heterochromatin sind unterschiedlich komplexe Prozesse der Umstrukturierung des Chromatins erforderlich, die wahrscheinlich nicht nur die Reparaturdynamiken beeinflussen, sondern auch die erforderlichen Reparaturmechanismen bestimmen. In diesem Aufstockungsantrag sollen für die verschiedenen Fragestellungen die RF mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken im Chromatinkontext ultrastrukturell charakterisiert werden, um den Einfluss der lokalen Chromatinstruktur auf die DNA Reparatur zu untersuchen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In diesem Verbundprojekt sollen die RF in Normal- und Tumor-Zelllinien, Experimental-Tumoren, Tumorbiopsien mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken ultrastrukturell charakterisiert werden, um die wechselseitigen Beziehungen zwischen der lokalen Chromatinstruktur auf den verschiedenen Reparaturwegen (NHEJ, HR, PARP1-EJ) zu untersuchen.

In AP3 sollen RF zur Untersuchung der Wechselwirkung unterschiedlicher DNA-Reparaturmechanismen mit der Chromatinstruktur eingesetzt werden. Ziel ist es, für jeden Reparaturmechanismus eine spezifische Chromatinsignatur zu identifizieren, die Strahlenempfindlichkeit durch Targeting der Chromatinstruktur zu modulieren sowie einen automatisierten Chromatin-Score zu etablieren.

In AP6 soll mit Hilfe von RF der Einfluss der Chromatinstruktur auf die durch DNA-Replikations- und -Reparaturprozesse vermittelte genomische Stabilität untersucht werden. Resistenzmechanismen und der Einfluss von Histondeacetylaseinhibitoren auf Tumorstammzellen stehen hierbei besonders im Fokus.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP3: Erste Experimente zur Interaktion von Chromatinstruktur und DSB-Reparatur wurden begonnen. Ein Artikel zur Analyse von Reparaturfoci und Charakterisierung der DSB-Reparatur an frischem Prostata Tumorgewebe wurde im Januar im *Int J Cancer* veröffentlicht. Ein weiteres Manuskript zum Einfluss von ERG auf die Regulation der DSB-Reparaturwege ist in Vorbereitung.
- AP6: Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit von Tumorzelllinien unter Berücksichtigung des Einflusses der Chromatinstruktur. Identifizierung von DNA-Reparatur- und Replikationsprozessen als Ausgangspunkt einer genomischen Instabilität. Herstellung radioresistenter Tumorzelllinien zur weiteren Charakterisierung des Einflusses der Chromatinstruktur auf die genomische Instabilität. Orale Präsentationen der Daten erfolgte auf dem Symposium Exp. Strahlentherapie 2018 und der ESTRO 2018 und 2019. Ein Übersichtsartikel wurde 2019 in *Cancers* publiziert; eine Veröffentlichung der primären Daten ist in der Einreichungsphase.

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: Zelluläre Strahlenempfindlichkeit in Tumorstammzellen unter Berücksichtigung 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 (2019): A functional ex vivo assay to detect PARP1-EJ repair and radiosensitization by PARP-inhibitor in prostate cancer. *Int J Cancer* 144:1685-1696.
- Schulz A, Meyer F, Dubrovskaja A, Borgmann K (2019): Cancer Stem Cells and Radioresistance: DNA Repair and Beyond. *Cancers* 11: E862.

| | | |
|---|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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, Rübe, 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 Tumorstrahlenempfindlichkeit“. 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.

Arbeitspakete im Rahmen der Aufstockung

AP 5.4: Automatisierung der RF-Detektion in Biopsien

In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner MEDIPAN soll ein Verfahren zur automatischen Detektion von RF in oxischen Arealen von ex-vivo bestrahlten Tumorbiopsien entwickelt werden.

AP 5.5: Methylom-Analysen

Die Methylom-Analysen werden in Kooperation mit der Core Facility des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) durchgeführt. Hierzu wird die DNA aus den vorhandenen Xenograft-Proben und aus Tumorbiopsien von Patienten isoliert, auf Qualität und Quantität geprüft und in die Core Facility gegeben. Die biostatistische Analyse der Daten erfolgt am UKD. Hierzu erfolgt eine Korrelation mit den Daten zur lokalen Tumorkontrolle als Parameter der Strahlensensitivität sowohl für die Xenograft-Daten als auch für das Ergebnis der Strahlentherapie bei den Patienten.

AP 5.6: Bioinformatische Modellentwicklung

In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandene Ergebnisse bzgl. RF in ex-vivo bestrahlten Biopsien und in vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren mit den Proteom- und Transkriptom- und den neu erhobenen Methylom-Daten integriert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Immunhistochemisch und Immunfluoreszenz Färbungen wurden auf sieben Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinom (HNSCC) Xenograftmodelle durchgeführt. Die Reparaturfoci (Gamma-H2AX) wurden ausgewertet und die Kurvensteigungen der dosisabhängigen Reparaturfoci (SDRC) wurden analysiert. Dabei zeigt die SDRC eine signifikante negative Korrelation mit den Tumorkontrolldosen (TCD50); sowohl nach Einzeldosis-Bestrahlung unter hypoxischer Bedingung als auch nach fraktionierter Bestrahlung (Meneceur et al 2019).

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

Mit der Hilfe von dem entwickelten gemischten Modell (Rassamegevanon et al 2017, *Radiother. Oncol.*) wurde die erhöhte Heterogenität von Reparaturfoci in den ex vivo bestrahlten Tumorbiopsien relativ zu den in vivo bestrahlten Tumoren nachgewiesen (Rassamegevanon et al. 2018, *Int J Mol Sci.*). Die Dosisantwortkurven von den beiden Szenarien zeigten in vier von fünf Tumormodellen keinen statistischen signifikanten Unterschied. Die Steigungen der Reparaturfoci-Kurven konnten Tumoren in zwei Resistenzkategorien klassifizieren (Rassamegevanon et al. 2019, *Radiother. Oncol.*). In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Universitätsklinikum Saarland (AP4), wurde die Histonmodifikationen zwischen den beiden Bedingungen untersucht. Dabei zeigt sich die signifikante Veränderung in Histon-Methylierung in den ex vivo bestrahlten Tumorbiopsien relativ zu den in vivo bestrahlten Tumoren. Ein Manuskript ist in Vorbereitung. Die ex vivo Kultivierung und Bestrahlung auf lebende Tumorschnitte in zwei HNSCC Xenograftmodellen wurde durchgeführt. Die primären Daten stellen eine vielversprechende Funktionalität der Methodik dar.

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. Die Weiterentwicklung des RF-Detektionsverfahrens wurde bereits vorgenommen.

Arbeitspakete im Rahmen der Aufstockung

AP5.4: Automatisierung der RF-Detektion in Biopsien ->Noch nicht begonnen

AP5.5: Methylom-Analysen

DNA Isolation aus den FFPE Materialien wurde bereits etabliert. Die ausreichende Qualität und Quantität der DNA für die Methylom-Analyse wurden nachgewiesen.

AP5.6: Bioinformatische Modellentwicklung -> Noch nicht begonnen

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren und Biopsien

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

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

Reparaturfoci-Daten aus den lebenden Tumorschnitten im HNSCC Xenograftmodellen und den verbleibenden fünf Tumormodellen werden erhoben und die Analyse der gewonnenen Daten wird fortgeführt. Dabei soll die erhöhte Heterogenität in *ex vivo* kultivierten, bestrahlten Tumorbiopsien weiter untersucht werden.

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Der Algorithmus für die RF-Detektion wird weiterentwickelt.

Arbeitspakete im Rahmen der Aufstockung

AP5.4: Automatisierung der RF-Detektion in Biopsien

Die automatische Detektion von hypoxischen und proliferierten Arealen werden etabliert.

AP5.5: Methylom-Analysen

Die lokal-spezifische DNA-Isolation aus den FFPE Materialien wird etabliert und das gewonnene Material wird für die Omics-Untersuchung verwendet.

AP5.6: Bioinformatische Modellentwicklung

Basierend auf den vorliegenden Daten wird ein Modell für die Prädiktion der Tumorstrahlenempfindlichkeit erstellt. Die gewonnenen Omics-Daten werden anschließend integriert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

ESTRO38, Mailand, Italien, 26 – 30 April 2019, Rassamegevanon et al., Poster: Improvement and optimization of γ H2AX foci assay as a predictive tool for radiation sensitivity.

Meneceur et al., 2019: Residual gammaH2AX foci in head and neck squamous cell carcinomas as predictors for tumour radiosensitivity: Evaluation in pre-clinical xenograft models and clinical specimens. *Radiother. Oncol.* 137: 24-31. DOI: 10.1016/j.radonc.2019.04.009

Rassamegevanon et al., 2019: Comparable radiation response of ex vivo and in vivo irradiated tumor samples determined by residual γ H2AX. *Radiother. Oncol. Article in Press.*

| | | |
|---|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| Gesamtkosten des Vorhabens: 461.008,00 EUR | Projektleiter: Dr. Gomolka | |

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das grundsätzliche Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis von DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren. Die Detektion und Reparatur strahleninduzierter DSBs erfolgt in der komplexen Chromatin-Architektur des Zellkerns. In Abhängigkeit von einer Schadenslokalisation im Eu- bzw. Heterochromatin sind unterschiedlich komplexe Prozesse der Chromatin-Umstrukturierung erforderlich, die wahrscheinlich nicht nur die Reparaturdynamiken beeinflussen, sondern auch die erforderlichen Reparaturmechanismen bestimmen. In diesem Aufstockungsantrag sollen für die verschiedenen Fragestellungen die RF mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken im Chromatin-kontext ultrastrukturell charakterisiert werden, um den Einfluss der lokalen Chromatinstruktur auf die DNA Reparatur zu untersuchen:

- AP1: RF als Marker einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit
- AP2: RF als Marker der Schadensakkumulation nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung
- AP3: RF als Marker für unterschiedliche Reparaturmechanismen
- AP4: RF als Marker zur klinischen Prädiktion in der Strahlentherapie
- AP5: RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit
- AP6: RF als Marker einer genomischen Instabilität
- AP7: Automatisierung der RF-Detektion
- AP8: Ultrastruktur Charakterisierung der RF

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit

Es ist zu klären, welche Signalwege / -moleküle bei Kindern mit Ataxia Telangiectasia (AT) und somit genetisch bedingter Strahlenempfindlichkeit individuell verändert sind. Im Fokus stehen hier, mit γ H2AX assoziierte Signalwege und Netzwerke (Up- and Downstream) und Proteine, die in der Chromatin-Organisation eine Rolle spielen. Als Untersuchungskollektiv stehen fünf lymphoblastoide Zelllinien und eine Fibroblasten-Zelllinie (Koooperation UKS) von AT-Kindern zur Verfügung. Somit stehen Zelllinien zur Verfügung, an denen eine bekannte genetisch bedingte Strahlenempfindlichkeit unterschiedlicher Ausprägung systematisch charakterisiert werden kann.

Versuch 1 (V1.1): Rolle von Strukturproteinen in der Foci-Antwort, Untersuchung der Proteinexpression von verschiedenen Strukturproteinen in Zusammenhang mit einer auffälligen γ H2AX Foci-Antwort in einem Kollektiv von 5 AT-Zelllinien

Versuch 2 (V1.2): Veränderung von vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der γ H2AX Signalkaskade und Foci-Induktion in Abhängigkeit zur Zellzyklusphase in den Zelllinien

Versuch 3 (V1.3): Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerken mittels Gesamt-Proteom-Analyse in den Zelllinien der AT-Patienten

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

V1.1: Der Nachweis von verschiedenen RF mittels Immunfluoreszenz in hoch und niedrig exponierten Uran-Bergarbeitern erforderte eine Methodenetablierung. Es wurden Dosis-Effektkurven und Reparaturkinetiken für die Strahlenqualität von Cäsium-137 und Röntgenstrahlung (0,5mm Cu Filter) erstellt. Für die Untersuchung zur Akkumulation von Reparaturfoci in Uranbergarbeitern wurden γ H2AX mit pKAP1 und 53BP1 mit MDC1 jeweils in einer Doppelfärbung verwendet. Es wurden kryokonservierte Lymphozyten von 108 niedrig- und hoch-exponierten Uranbergarbeitern verwendet. Die Proben wurden in vitro mit 1 und 4Gy Röntgenstrahlung (0,5mm Cu Filter) bestrahlt und 1h, 4h und 8h nach der Bestrahlung fixiert. Die experimentellen Untersuchungen wurden komplett abgeschlossen. Dazu wurden im Berichtszeitraum ca. 4×10^6 Einzel-Zellmessungen auf 2700 Objektträgern durchgeführt. Aktuell erfolgt die qualitative Evaluation der erhobenen Daten und die statistische Auswertung.

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. Hier zeigte sich, dass alle strahlenempfindlichen Individuen sowohl als Gruppe als auch auf individueller Ebene statistisch signifikant von den Kontrollen unterschieden werden konnten. Die Analyse der Reparaturfoci von γ H2AX wurde ebenfalls abgeschlossen. Insgesamt konnte kein Unterschied zwischen AT-Patienten und Kontrollen im Initialschaden 1h nach Bestrahlung mit 1 und 4Gy (Cäsium-137) beobachtet werden. In der Reparatur (6h nach Bestrahlung) zeigten die AT-Patienten einen höheren Restschaden im Vergleich zu den Kontrollen. Allerdings wurden große individuelle Unterschiede insbesondere bei den AT Patienten bei allen Bestrahlungsdosen und Zeitpunkten festgestellt.

V1.3: Die mFISH Untersuchung von kryokonservierten Lymphozyten von Wismut-Bergarbeitern wurde abgeschlossen. Es wurden von 3 niedrig exponierten und 26 hoch exponierten (kumulative Lebenszeitdosis) Wismutbergarbeitern die Chromosomenschäden mittels mFISH-Analyse untersucht. In vorangegangenen Versuchen wurden die Chromosomenschäden aus Vollblut von 69 Wismutbergarbeitern untersucht. Hierbei zeigte sich tendenziell eine Zunahme der geschädigten Zellen bei ansteigender Exposition. Da dieses Ergebnis statistisch nicht robust ist, wurden Untersuchungen mit kryokonservierten Lymphozyten durchgeführt. In der gemeinsamen Auswertung beider Datensätze zeigte sich ein Batch-Effekt. Aus diesem Grund wird die Untersuchung der kryokonservierten Lymphozyten um 22 weitere Probanden erweitert.

Zur Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerken mittels Gesamt-Proteom-Analyse in den Zelllinien der AT-Patienten wird in Kooperation mit der Research Unit Protein Science (HMGU) das experimentelle Vorgehen für massenspektrometrische Untersuchungen abgestimmt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Tumorklinien (AP6)
- Anwendung bei individueller Strahlenempfindlichkeit und genomischer Instabilität
- AP7.3:- Automatisierung des RF Nachweises für Tumorgewebeschnitte (AP5) und für Tumorkarray (AP6)
- Implementierung und Testung verschiedener Ausgabeparameter

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die durchgeführten Arbeiten betreffen die Entwicklung eines Algorithmus zur schnellstmöglichen Überlappung der einzelnen Aufnahmen (Hellfeld und Fluoreszenz). Dazu wurden zwei Lösungswege besprochen und miteinander verglichen.

Einbringung von Referenzmaterialien zur Orientierung für den Abgleich der Bilder. Hierzu wurden unterschiedliche Materialien getestet um zum einen keine Kontamination der Probe zu erhalten, nicht zu viele Informationen aus dem Bildausschnitt zu verlieren und eine gute Detektierbarkeit in beiden Aufnahmen zu erhalten. Als bestes Material wurde hierbei Fluorophor gelabelte Polymerpartikel identifiziert. Diese werden in einer sehr niedrigen Konzentration der Probe zugegeben und dienen als Orientierungsmuster für die Überlagerung der Aufnahmen.

Triangulierung des gesamten Bildes wurde ebenso untersucht und ergab auch sehr gute Wiederfindungsraten, aber ist für eine schnelle Überlappung der Bilder, obwohl hierbei sehr viel Arbeit investiert wurde, da ein zusätzlicher Arbeitsschritt im Vergleich zu Methode 1 entfallen würde, ungeeignet.

Die erstellten Algorithmen wurden in das bestehende Programm implementiert und mit ein paar ersten Proben validiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es stehen noch weiter Validierungsarbeiten und Marktvorbereitungsarbeiten an und das Userinterface wird noch weiterentwickelt. Diese Arbeiten werden nach Beendigung des Projekts durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

20.09.2017 Europäische Patentanmeldung: EP17192123.2

| | | |
|---|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

2.2) • Kalibrierung der KUVIR Lampen:

Neben den Spektren ist auch die Induktion von CpDs (vorwiegend durch UVB induziert) ein Maß für die Einheitlichkeit der Lampen. Für diesen biologischen Kalibrierungstest wurden in allen Gruppen HaCaT

Zellen mit unterschiedlichen Dosen UVB (0,100,300, 500 J/m²) bestrahlt und die FACS-basierte CpD Analyse in Buxtehude durchgeführt. Die Auswertung zeigte eine extreme Varianz für die 5 Lampen. Im Folgeversuch mit definierten Bestrahlungszeiten (UVB: 4,8,12 min und UVA 12 min) waren dagegen die CpD Werte für das UVB und UVA Spektrum vergleichbar mit Ausnahme unserer Lampe, sie zeigte unter UVA eine starke CpD Induktion. „UVB leakage“, Filter Probleme oder ein inkorrektes UVA Spektrum wurden als Fehlerquelle bereits ausgeschlossen. Da dies für das KAUVIR Gesamtspektrum jedoch unerheblich ist, waren KAUVIR Bestrahlungsexperimente möglich.

• Akute Bestrahlung von OTKs mit der KAUVIR Lampe:

Im Wiederholungsexperiment zur akuten Bestrahlung mit KAUVIR (1MED, 0,78 kJ/m² UVB), UVB und UVA+B mit NHEK wurden Duplikate von jedem Ansatz nach 0, 24, 48 und 72 h untersucht. Erst morphologische Veränderungen (Epithelablösung) traten nach 72 h auf. Dieser ungewöhnliche Phänotyp muss nun bestätigt werden. Analysen (ELISA) zur MMP-Induktion zeigten für UVB und KAUVIR eine maximale Induktion von MMP1 nach 48 h. MMP9 wurde nicht induziert. Weitere MMPs werden derzeit analysiert. Zum Nachweis von CpD Induktion wurde eine Slot Blot Analyse etabliert. Hiermit können wir zeigen, dass durch UVB und KAUVIR CpDs induziert werden, die Induktion aber zeitlich variiert. Für KAUVIR ist die maximale CpD Induktion direkt nach Bestrahlung, für UVB wird diese erst nach 24h erreicht. D.h. die CpD Induktion scheint unterschiedlich schnell reguliert zu werden.

2.3) • Age-OTKs:

Auch im Wiederholungsexperiment von „jungen“ (Kontrolle) und „alten“ Age-OTKs unter Bestrahlung von KAUVIR (0.65 MED 3x / Woche für 2 Wochen) kam es in den alten AGE-OTKs zu einer Verbesserung der Epithelregeneration (bessere Stratifizierung und normaler Verteilung des Differenzierungsmarkers K10). Die Struktur der Basalmembran (col VII und Laminin), die in den alten AGE-OTKs gestört ist, konnte durch KAUVIR nicht komplett revertiert werden. Dagegen kam es durch KAUVIR aber zu einer signifikanten Verminderung der α SMA-positiven Fibroblasten. Wir postulieren, dass KAUVIR Bestrahlung eine „Rejuvenierung“ und damit funktionellen Aktivierung der alten Fibroblasten induziert, die mit einer positiven Rückkopplung auf das Epithel verbunden ist.

2.4) • Rolle von CsA:

Experimenteller Ansatz: Erstellen der dermalen Äquivalente, 7 Tage Kokultur mit HaCaT Zellen, dann Behandlung der Kulturen mit CsA (10 μ g/ml) +- Bestrahlung (KAUVIR (UVB: 0.1kJ/m²; UVA: 5,4kJ/m², VIS: 11kJ/m², IRA:26.5kJ/m² entspricht 0.65 MED), +- Akt Inhibitor (TCN (0,1 μ M) nach 10 Tagen Kokultur für 10 Tage).

Ergebnisse: 1. TCN alleine hat einen positiven Effekt auf die Epithelorganisation. Die Basalschicht ist besser strukturiert und auch die Hornschichten zeigen eine verbesserte Stratifizierung. 2. Die durch CsA-induzierte Invasion der HaCaT Zellen wird durch TCN verhindert. 3. Bestrahlung mit KAUVIR induziert keinen Phänotyp, auch nicht bei zusätzlicher TCN Gabe. 4. Die CsA-bedingte Invasion wird durch zusätzliche Bestrahlung mit KAUVIR eher verstärkt und kann durch TCN nicht mehr inhibiert werden. D. h. der mTOR-Akt Pathway ist in die Regulation der CsA-bedingten Invasion involviert, kann aber durch zusätzliche Bestrahlung kompensiert werden, sodass die Blockade von Akt1 überkommen werden kann. Die durch CsA-induzierte col VII Reduktion/Fragmentation wurde durch TCN nicht verhindert, bei der Doppelbehandlung CsA+KAUVIR und zusätzlicher TCN Gabe kam es trotz Erhalt der Invasion zum Erhalt der col VII Expression. D. h. „solare“ (KAUVIR) Bestrahlung verändert die CsA-induzierte Regulation im HaCaT Epithel in einer mTOR-unabhängigen Weise.

4. Geplante Weiterarbeiten

2.2) • Weitere Analysen zur Eliminierung des „UVA Defekts“ der KAUVIR Lampe. Wiederholungsexperimente zur akuten Bestrahlung und weitere molekulare Analysen zur Schädigung durch akute und chronische Bestrahlung.

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

2.4) • Fertigstellung der Doktorarbeit von Philipp Worst: “Role of CsA and solar radiation (KAUVIR spectrum) on human skin keratinocytes in organotypic cultures” und Vorbereitung zur Publikation.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Februar 2019: 20th International AEK Congress, Heidelberg, Boukamp, Pavez Lorie, Worst: Poster

Mai 2019: Mildred Scheel Cancer Conference (MSCC), Bonn: Coorganizer, Session Chair

| | | |
|---|---|---|
| Zuwendungsempfänger: Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade | | Förderkennzeichen: 02 NUK 036B |
| Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAU VIR: 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Schadensinduktion 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 und der Expressionsänderungen von microRNAs nach der Bestrahlung.

AP2: Epigenetischen Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial.

AP3: Epigenetische Faktoren und Mediatoren nach UV-VIS-IRA.

AP4: Messung von Reparaturkinetiken nach Kombinationsbestrahlung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Untersuchung der Expressionsänderungen von microRNAs nach chronischer UV-VIS-IRA-Kombinationsbestrahlung.

Ergebnisse: Kumulative UV-Exposition ist das Hauptrisiko von cSCC. Um einen Zusammenhang wiederholter UV-Bestrahlung auf die Entstehung und Progression von cSCC auf microRNA-

assoziiertes molekulares Ebene zu prüfen wurde zunächst die microRNA-Transkription chronisch bestrahlter HaCaT-Zellen mittels FirePlex bestimmt. Dafür wurden die HaCaT-Zellen über einen Zeitraum von sechs Wochen zweimal wöchentlich mit den Strahlenkombinationen UVB 300 J/m² + UVA 15,2 kJ/m² + Vis 34,5 kJ/m² + IRA 75,3 kJ/m² (gesamtes Spektrum) oder mit UVB + UVA mit der KAUVIR-Lampe bestrahlt. Die microRNA-Transkription wurde 72 h nach der letzten Bestrahlung bestimmt. Die ersten Ergebnisse deuten auf ein robustes und unverändertes Transkriptionsmuster ausgesuchter microRNAs nach der chronischen Bestrahlung hin. Dennoch konnte eine abweichende Transkription (2-fache Induktion) von miR-7-5p nach der Bestrahlung festgestellt werden. miR-7 wurden tumorsuppressive Funktionen bei Melanom zugeschrieben. Diese Induktion konnte sowohl bei der Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum als auch mit UVB + UVA detektiert werden und ist somit unabhängig von den Bestrahlungsspektren. Die Messung der Transkription von weiteren krebsrelevanten miRs z. B. miR-21, miR-155 wird aktuell durchgeführt.

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

Ergebnisse: Infrarot A (IRA) macht etwa ein Drittel der Solarenergie auf der Erde aus und ist verantwortlich für die Initiierung der „Retrograde“ Signalantwort in Mitochondrien. IRA hat zwar eine niedrigere Energie als UV, kann aber tiefer als UV in die Haut eindringen. Im Berichtszeitraum 2018-2 haben wir die ersten Hinweise über eine Wechselwirkung von IRA auf die Reparatur UVB-induzierter DNA-Schäden erhalten. Hier beschreiben wir im Detail den Einfluss von IRA auf die Reparaturkinetik UVB-induzierter DNA-Schäden. Dafür wurden die HaCaT-Zellen mit dem gesamten Spektrum einschließlich IRA (UVB 400 J/m²; UVA 20,2 kJ/m²; Vis 46 kJ/m²; IRA 100 kJ/m²) oder lediglich mit UVB allein (UVB 400 J/m²) bestrahlt. Die induzierten CPD-Schäden (unmittelbar nach der Bestrahlung) und die Restschäden (von 6 h bis 168 h) wurden flußzytometrisch bestimmt. Die Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum induzierte die gleiche Menge CPD Schäden wie mit UVB allein. Unterschiede bei der Reparatur zwischen den beiden Bestrahlungsprotokollen konnten allerdings festgestellt werden. Eine beschleunigte Reparatur mit einer niedrigeren Reparaturzeitkonstante von 24,57 h konnte bei der Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum erhalten werden. Bei der Bestrahlung mit UVB allein betrug die Zeitkonstante 27,24 h. Eine Woche nach der Bestrahlung unabhängig vom Bestrahlungsspektrum sind die Schäden weitgehend repariert und nur noch ein minimaler Restschaden von ≤ 2,0 % der anfangs induzierten Schäden detektierbar. Der Versuch mit dem IRA-Effekt auf die Reparatur wurde erweitert, indem die IRA Dosis von 100 kJ/m² auf 22 kJ/m² reduziert wurde. Hier wurde ebenfalls eine schnellere Reparatur als bei UVB allein beobachtet und eine ähnliche Zeitkonstante von 24,39 h wie bei 100 kJ/m² IRA erhalten. Um die Mechanismen der beschleunigten DNA-Reparatur durch IRA zu untersuchen, wurde zunächst die Transkription von 4 Schlüsselfaktoren (XPA, XPB, XPC und XPD) der Nukleotidexzisionsreparatur (NER), welcher als Hauptreparaturweg für CPD Schäden dient, nach der Bestrahlung gemessen. Eine leichte Erhöhung der Transkription für XPA, XPB und XPC konnte 24 h nach der Bestrahlung sowohl mit dem gesamten Spektrum als auch mit UVB allein beobachtet werden. Folglich kann die schnellere Reparatur bei der Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum nicht durch die IRA-assoziierten Transkriptionsänderungen dieser Gene zu erklären. Weitere Untersuchungen zu Mechanismen werden in enger Kooperation mit der AG Rapp durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterpräsentation: “Epigenetic regulation in cutaneous squamous cell carcinoma” bei AEK, 2019 in Heidelberg

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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:

Humane Fibroblasten sind in Kultur genommen und mit unterschiedlichen Spektren und Kombinationen bestrahlt worden. Die RNA der Zellen wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten isoliert. Die Proben wurden zur RNA Sequenzierung an das Biologisch-Medizinische Forschungszentrum (BMFZ) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gesendet.

Arbeitspakete 3, 4 + 5:

Nach der Zucht ausreichender SKH-1 Mäuse sind diese am 03. Juli 2019 unter dem Aktenzeichen *81-02.04.2018.A024* in den Versuch genommen worden. Nach den ersten Bestrahlungen zeigen die Tiere keine Auffälligkeiten. Die Dosis wird nun konstant alle 7 Tage um 10 % erhöht bis eine Maximaldosis von 1500 J/m² UVB erreicht ist. Das Versuchsende wird zum Ende des Jahres erwartet.

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.

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 werden. Die Daten zur RNA-Sequenzierung werden zeitnah, nach der Fertigstellung durch das BMFZ, aufgearbeitet und analysiert.

Arbeitspakete 3, 4 + 5:

Die Tiere werden 3x die Woche, mit ansteigender Dosis, bestrahlt. Nach Beendigung des Tierversuchs werden die Organe der Tiere für weitere Arbeiten isoliert. Die Tumoralast der Tiere wird bestimmt und die Art der Karzinome analysiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 biologische Ring-Kalibrierung aller Lampen des Konsortiums durchgeführt. Hierfür wurden definierte UVB Dosen und spektrale Kombinationen verwendet und Zellen mit einem vom Verbundpartner in Buxtehude zur Verfügung gestellten „Standard Protokoll“ bestrahlt. Die daraus gewonnenen Zellproben wurden zum Verbundpartner übersandt und dort parallel mittels Durchflusszytometrie nach anti-CPD Färbung quantitativ ausgewertet. Die ersten Ergebnisse dieser biologischen Ringvalidierung wurden beim regelmäßigen Verbundtreffen im April 2019 präsentiert und diskutiert. Da die biologischen Proben noch größere Schwankungen aufwiesen wurden die Lampen/Filter erneut kontrolliert und nachjustiert. Darauf folgend wurde eine zweite biologische Ring-Kalibrierung durchgeführt, die eine große Übereinstimmung der Bestrahlungsanlagen auch auf der biologischen Ebene nachgewiesen hat.

Für die im Verbundprojekt vorgesehene Zelllinie HaSKpw wurden im Berichtszeitraum die vollständige Charakterisierung abgeschlossen. Dazu zählen Proliferations, Zellzyklus, Karyotyp und STR Charakterisierung. Ebenso wurde der p53 Locus sequenziert, die Mobilität und das Expressionsprofil der Zellen erstellt. Abschließend wurden die Zellen hinsichtlich ihres microRNA Profils (AG Buxtehude) sowie hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Bildung organotypischen Kulturen untersucht (AG Boukamp). Die Daten wurden in einem Manuskript zusammengefasst, welches in den nächsten Wochen eingereicht wird.

Hinsichtlich der Schadenscharakterisierung wurde die CPD Induktion durch UVA und dessen Modulation durch IR-Ko-Exposition untersucht. Ebenfalls wurde die Induktion von CPDs und 6-4- Photoprodukten nach Ko-Exposition im Vergleich zum Gesamtspektrum untersucht. Dafür wurden Schadensspezifische Slot-Blots und enzymmodifizierte Comet-Assays benutzt. Um den modulierenden Effekt von Infrarot Strahlung auf die Reparatur von CPDs mechanistisch zu untersuchen wurden Studien in Gegenwart von Radikalfängern (Trolox) durchgeführt und zu physiologischen Endpunkten (Kollagenbildung, MTT und Apoptose) korreliert. Dabei zeigte sich, dass der IR modulierende Effekt nicht von den radikalischen Sauerstoff Spezies (ROS) abhängt und die CPDs entscheidend für das Zellüberleben sind. Ein weiterer Ansatz, der momentan weiter untersucht wird, verfolgt die Idee, dass die Schadensinduktion bzw. die Reparatur durch eine Änderung der Chromatinstruktur verursacht wird. Dies wird durch den Einsatz von HDAC Inhibitoren und chemische Modulation der Chromatinstruktur untersucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Ursachen der Infrarot-modulierenden Effekte auf die Schadensreparatur werden weiterhin mechanistisch untersucht. Zu den bereits oben beschriebenen Ansätzen zur Untersuchung des Einflusses der Chromatinstruktur, werden auch unterschiedliche Zelllinien mit Defekten im Nukleotid Exzision Reparatur System verwendet, um mögliche Targets des IR Effektes zu identifizieren. Ein weiterer Schwerpunkt für die kommende Projektphase ist die Untersuchung der Diskrepanz zwischen Reparatur von CPDs und dem resultierenden zellulären Überleben. Dies ist besonders in Hinsicht auf präventive Empfehlungen relevant. Mikrobestrahlungen mit Lochmembranen werden mittels Immunfärbung in fixierten Proben zu unterschiedlichen Zeiten nach der Bestrahlung durchgeführt, um die Probleme mit der Lebendzelluntersuchung zu umgehen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Bachelor Arbeit von Andreas Zhadan: Cellular response to solar irradiation.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 TP (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 besonders 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

Zuvor konnte bereits gezeigt werden, dass RNF138 an Laser-induzierte Schäden innerhalb kürzester Zeit rekrutiert wird. Daher wurde nun untersucht, ob die Rekrutierung von RNF138 auch nach Ionen-induzierten Schäden

nachweisbar ist. Es konnte jedoch keine Rekrutierung von RNF138-GFP nach Bestrahlung mit Eisenionen (11,4 MeV/u; LET: 2875 keV/μm) beobachtet werden. Im Gegensatz dazu konnte unter diesen Bedingungen jedoch eine RNF138-abhängige Rekrutierung von CtIP bestätigt werden. Mit Hilfe des zuvor etablierten Ubiquitin-Pulldowns konnte die RNF138-anhängige Ubiquitinierung des Resektionsfaktors CtIP in G1-Phase-Zellen verifiziert werden. Der Anteil ubiquitiniertes Proteine nimmt dabei durch Bestrahlung zu. Diese Zunahme scheint LET-abhängig zu sein. Auch in der G1-Phase war die Ubiquitinierung von CtIP (Hela.S-Fucci-WT-Zellen) nach Bestrahlung mit Eisenionen (30 Gy; 1 GeV/u; LET: 155 keV/μm) verstärkt. Im Fall von Ku80 konnte leider auch nach zusätzlichem RNF8-Knockout in Wildtyp- bzw. RNF138-Knockout-Zellen (Hela.S-Fucci) keine eindeutige Aussage über die Ubiquitinerungsregulation des Resektionsantagonisten Ku80 in G1-Zellen nach Hoch-LET-Strahlung getroffen werden. Eine Ubiquitinierung von Ku80 ist jedoch notwendig, um sein Ablösen von der DNA zu ermöglichen. Immunfluoreszenzanalysen von Ku80 in U2OS-Wildtyp- und RNF138-Knockout-Zellen zeigten allerdings, dass Ku80 15 min nach Bestrahlung mit Kohlenstoff- (11,4 keV/u; LET: 168 keV/μm;) oder Eisenionen (1 GeV/u; LET: 155 keV/μm;) an die Schäden rekrutiert wurde, wohingegen 1 h nach Bestrahlung kein Signal mehr detektierbar war. Da dies sowohl in U2OS-Wildtyp- als auch in RNF138-Knockout-Zellen beobachtet wurde, kann daraus geschlossen werden, dass RNF138 für das Entfernen von Ku80 vom Schaden durch Ubiquitinierung keine entscheidende Rolle spielt.

Für die zuvor generierte Hela.S-Fucci-RNF138-Knockout-Zelllinie wurde das Überleben von G1-Zellen nach Bestrahlung mit Kohlenstoff- bzw. Eisenionen im Vergleich zum Wildtyp gemessen. Während nach Bestrahlung mit Eisenionen (1 GeV/u; LET: 155 keV/μm; Dosis: 0,5 – 5 Gy) kein Unterschied im Überleben zu messen war, scheinen nach Bestrahlung mit Kohlenstoffionen (11,4 MeV/u; LET: 168 keV/μm; Dosis: 0,5 – 3 Gy) RNF138-Knockout-Zellen in der G1-Phase strahlenempfindlicher als Wildtyp-Zellen in dieser Zellzyklusphase zu sein. DSB-Reparaturanalysen mittels des γH2AX-Foci-Assays deuteten nach Kohlenstoffbestrahlung (11,4 MeV/u; LET: 168 keV/μm) einen leichten DSB-Reparaturdefekt in RNF138-defizienten Zellen an.

Zusammenfassend konnte somit bestätigt werden, dass RNF138 nach Induktion komplexer Schäden auch in G1 die Ubiquitinierung des Resektionsfaktors CtIP stimuliert, dies allerdings nur geringe Auswirkungen auf die DSB-Reparatur und das Überleben hat. Nach Ionenbestrahlung scheint die Ubiquitin-Ligase RNF138 nicht entscheidend für das notwendige Entfernen des Resektionsantagonisten Ku80 vom Schaden zu sein.

In den Strahlzeiten wurden auch Proben für die elektronenmikroskopische Untersuchung von strahlungsabhängigen Chromatinveränderungen mit Ionen mit unterschiedlichem LET bestrahlt. Zur Kontrastierung des Chromatins wurden verschiedene Verfahren (Osmiumamin, Uranylacetat, DRAQ5 abhängige DAB-Polymerisierung) angewendet, um durch die unterschiedliche Spezifität Rückschlüsse auf die strahleninduzierten Veränderungen ziehen zu können. Erste Proben konnten bereits nach Fixierung, Einbettung, Kontrastierung und Schneiden mikroskopiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

In der verbleibenden Zeit sollen restliche Strahlzeitexperimente analysiert werden. Hierzu zählen unter anderem die Auswertung der DSB-Reparatur in U2OS-Wildtyp-Zellen im Vergleich zu U2OS-RNF138-Knockout-Zellen nach Bestrahlung mit Eisenionen. Die Analyse der DSB-Reparatur nach Inhibition des Ku80-Bindungspartners DNA-PKcs soll zudem indirekt Aufschluss über den Verbleib oder das Ablösen von Ku80 nach Induktion komplexer Schäden durch Bestrahlung mit Kohlenstoffionen geben. Zuvor konnte bereits gezeigt werden, dass der Artemis-DSB-Reparaturdefekt nach Röntgenbestrahlung in G1-Phase Zellen durch einen zusätzlichen RNF138-Knockdown den Reparaturdefekt aufheben kann. Nun soll geklärt werden, ob dies auch nach Induktion komplexerer Schäden durch Bestrahlung mit alpha-Partikeln der Fall ist oder ob dieser sogenannte *Rescue* nach Induktion komplexerer Schäden nicht möglich ist, da die Zellen nicht mehr in der Lage sind den Reparaturweg zu ändern und den Schaden über beispielsweise das klassische NHEJ zu reparieren.

Die gewonnenen Daten zur unterschiedlichen Rekrutierung von Reparaturfaktoren an komplexe und isolierte Doppelstrangbrüche (DSB) sowie zur individuellen Schadensantwort einzelner DSB sollen umgehend publiziert werden. In entsprechendes Manuskript ist in Arbeit:

Die Strahlzeitproben die für die Elektronenmikroskopie (Chromatin) fixiert und eingebettet wurden, sollen weiter mikroskopiert (3D-Tomogramme) und (semi-)quantitativ ausgewertet werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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 31.07.2020 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 C57BI/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

Primäre Herz-Endothelzellen wurden unter statischen- und Fluss-Bedingungen kultiviert. Um den primären Endothelzellen eine Anheftung in der flow-chamber zu ermöglichen, wurde der Fluss 2 Tage nach Aussaat der Zellen gestartet und 4 Tage konstant bei 3,9 ml/min (20 dyn/cm²) gehalten. Gen-Expressionsanalysen zeigten 4.428 unterschiedlich exprimierte Gene von in Flussrichtung ausgerichteten Herz-Endothelzellen im Vergleich zu nicht ausgerichteten Herz-Endothelzellen unter statischen Bedingungen. Eine nähere Betrachtung der Inflammationsmarker zeigte eine signifikante erhöhte Expression von PECAM-1, ICAM-1 und ICAM-2 bei Herz-Endothelzellen unter statischen Bedingungen. Dieses Ergebnis korreliert mit der erhöhten Expression von PECAM-1, ICAM-1 und ICAM-2 auf Tumor-Endothelzellen (Sievert et al., 2014), bei denen der Fluss ebenfalls verändert oder zum Erliegen gekommen ist, und bestätigt die Hypothese, dass bestimmte Inflammationsmarker an der Funktionsstörung von Endothelzellen nach Bestrahlung beteiligt sind.

Mit Hilfe spezifischer Antikörper (CD45-CD31-CD13+) konnten wir mittels Durchflusszytometrie Herz-Perizyten identifizieren, die eine wichtige Rolle bei der Stabilisierung und Neubildung von Endothelzellen nach Bestrahlung spielen. Dies ermöglicht erstmalig die Analyse der Interaktion von Endothelzellen und Perizyten aus nicht bestrahlten und bestrahlten Herzen. Lokale Herz-Bestrahlungen an Mäusen mit 8 und 16 Gy wurden bereits durchgeführt, um strahleninduzierte Schäden an Herz-Perizyten und deren Einfluss auf primäre Herz-Endothelzellen zu messen.

Um Unterschiede der Strahlensensitivität von nicht-proliferierenden Herz-Endothelzellen und proliferierenden Tumor-Endothelzellen zu analysieren, wurden primäre Endothelzellen aus subkutanen Melanom-Tumoren (B16F0) nach lokaler 16 Gy *in vivo* Bestrahlung des Tumors isoliert und durchflusszytometrisch analysiert. Es konnte eine signifikante Heraufregulierung von etlichen Inflammationsmarkern darunter auch ICAM-1 gezeigt werden. Chronische Inflammation, insbesondere die Anwesenheit von Tumor assoziierten Makrophagen, Neutrophilen und Mastzellen korrelieren zumeist mit einer schlechteren Prognose.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Transkriptom-Daten von primären Herz-Endothelzellen unter statischen- und Fluss-Bedingungen sollen mit Proteom-Analysen der HMGU verglichen werden. Die Experimente an Herz-Endothelzellen und Herz-Perizyten sollen 10 Wochen nach Bestrahlung angeschlossen und analysiert werden. Der Vergleich soll Aufschluss über die Strahlenempfindlichkeit von Endothelzellen und Perizyten und deren Interaktion geben. Die Ergebnisse von primären Endothelzellen aus subkutanen Melanom-Tumoren nach 16 Gy *in vivo* Bestrahlung sollen auch mit Proteom-Analysen der HMGU verglichen werden. Die Ergebnisse könnten zu einer verbesserten Bestrahlungsplanung und Tumorkontrolle führen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript: Wolfgang Sievert, Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Soile Tapio, Gabriele Multhoff: ICAM-1 and VCAM-1 induced inflammation 50 weeks after *in vivo* heart irradiation (in Vorbereitung)

Manuskript: Wolfgang Sievert, Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Kristian Unger, Soile Tapio, Gabriele Multhoff: Effects of permanent shear stress on primary heart endothelial cells (in Vorbereitung)

Shevtsov M, et al.: Granzyme B functionalized nanoparticles targeting membrane Hsp70-positive tumors for multimodal cancer theranostics. *Small* 15(13): e1900205, doi: 10.1002/sml.201900205, 2019

Reindl J, et al.: Membrane Hsp70-supported cell-to-cell connections via tunneling nanotubes revealed by live-cell STED nanoscopy. *Cell Stress Chaperones* 24(1): 213-221, doi: 10.1007/s12192-018-00958-w, 2019

Shevtsov M, et al.: Ex vivo Hsp70-Activated NK cells in combination with PD-1 inhibition significantly increase overall survival in preclinical models of glioblastoma and lung cancer. *Front Immunol* 10: 454, doi: 10.3389/fimmu.2019.00454, 2019

Rothhammer A, et al.: Increased heat shock protein 70 (Hsp70) serum levels and low NK cell counts after radiotherapy – after potential markers for predicting breast cancer recurrence? *Radiat Oncol* 14(1): 78, doi: 10.1186/s13014-019-1286-0, 2019

Kokowski K, et al.: Radiochemotherapy combined with NK cell transfer followed by second-line PD-1 inhibition in a patient with NSCLC stage IIIb inducing long-term tumor control: a case study. *Strahlenther Onkol* 195(4): 352-361, 2019.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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.

Die Auswertung und Analyse unbestrahlter und bestrahlter primärer Lungenendothelzellen nach Isolierung und Kultivierung *in vitro* für eine Woche, zeigte eine starke Immunreaktion der Zellen. Die Zahl der deregulierten Proteine deutet auf eine funktionelle Veränderung der Proteinexpression hin. Zur statistischen Analyse wurde ein eigenes Programm mittels der statistischen Programmiersprache R konzipiert. Danach konnten insgesamt 4208 Proteine quantifiziert werden. Hierbei konnten 589 Proteine nach Anova signifikant nach statistischer q-Wert Korrektur festgestellt werden, wovon 60 Proteine mit einem Veränderungsfaktor von mehr als zwei oder weniger als minus zwei dereguliert vorgefunden wurden. Eine bioinformatische Analyse der Proteine ergab eine Hochregulierung von Proteinen involviert in Entzündungsprozesse. Eine nähere Betrachtung dieser Proteine zeigte, dass es sich um dieselben Proteine handelt, welche schon in der ersten Publikation dieses Förderungszeitraumes in Endothelzellen 14 Tage nach Bestrahlung hochreguliert vorgefunden werden konnten. Mittels einer Signalweg-Analysesoftware wurde nach induzierten Signalwegen, beeinträchtigten Funktionen und vorgelagerten Proteinen gesucht. Hierbei konnten weitere vorgelagerte Proteine diagnostiziert werden, welche in die Immunreaktion der Zelle involviert sind. Eine Validierung der vorgelagerten, wie auch einzelner detektierter Proteine, mittels der Immunblotting-Methode konnten die *in-silico* Erkenntnisse bestätigen. Diese Studie wird zur Publikation eingereicht.

Weiterhin wurde die statistische Analyse verschiedener Hoch- und Niedrigdosen zu verschiedenen Zeitpunkten in Endothelzellen abgeschlossen und kann nun validiert werden. Hier ist eine zügige Publikation der Daten geplant. Schwerpunkt der Analyse liegt hier auf der Immunreaktion der Zellen nach Bestrahlung.

4. Geplante Weiterarbeiten

Geplant sind weiterhin die Validierung der primären Herzendothelzellen unter dem Aspekt der Scherspannung. Zusätzlich ist hier ein *in-silico* Vergleich mit Transkriptomdaten geplant. 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.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript: Jos Philipp, Wolfgang Sievert, Omid Azimzadeh, Fabian Metzger, Christine von Törne, Anton Posch, Daniela Hladik, Prabal Subedi, Gabriele Multhoff, Michael J. Atkinson, Soile Tapio: Data independent acquisition mass spectrometry of irradiated mouse lung endothelial cells reveals STAT-associated inflammatory response.

Fertig für die Einreichung an Proteomics.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Zweittumor-Ereignisse untersucht werden (AP1). Mit einer molekularepidemiologischen Fall-Kontroll-Studie werden Zellproben von Personen ohne Tumoreignis 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 susceptibilität
- 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 Rekonstruktion der Therapiedaten der Patienten mit einem primären Hodgkin-Lymphom oder einem ZNS-Tumor wurden vorangetrieben. Für die bereits vorgenommenen Dosis-schätzungen bei ALL-Bestrahlungen wurden Realakten von Patienten zur Validierung erhoben. Es wurde Kontakt mit anderen Dosimetrieprojekten aufgenommen um ein gemeinsames Validierungsprojekt zu initiieren.
- AP2: Im vergangenen Halbjahr konnten von der Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie und dem Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie in Kooperation mit der Studienleitung in

Bremen und Kooperierenden niedergelassenen Hautarztpraxen zwei weitere Patienten mit einer primären Neoplasie rekrutiert werden. Die neu gewonnenen Hautbiopsien wurden im Labor der Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie unmittelbar nach Entnahme erstkultiviert und DNA extrahiert. Des Weiteren wurden Fibroblasten aus 6 gematchten Triplets (2x im Verhältnis 1 SPN : 1 FPN : 1 CO, 4x im Verhältnis 1 SPN : 2 FPN : 1 CO) zeitgleich bestrahlt und die RNA aus den Experimentalproben im Labor extrahiert.

- AP3: Die RNA-Seq Daten wurden auf differentielle Expression hin analysiert. Die ersten Whole Genome Sequenzdaten (WGS) wurden unter Verwendung von MOGON II prozessiert und liegen als Variant Call Format (VCF) vor.
- AP4: Die generierten Einzelzellklone der Patienten 1N20 wurden kultiviert. Klone mit hoher RAD9A-Methylierung wachsen sehr gut, sind ausdifferenziert, werden jedoch nicht Seneszent. Klone mit niedriger Methylierung von RAD9A wachsen sehr schlecht und werden sehr schnell Seneszent. Die CGH Array-Analyse ist für die 1N20 und FADu Subklone durchgeführt worden. Es ist gelungen 157 Leukämie-Tumorproben für das Projekt als Positivkontrollen zu bekommen.
- AP7a: Erste Arbeiten zur Etablierung funktionaler Assays zur Testung der Sensitivität primärer Fibroblasten von Kinderkrebspatienten mit oder ohne Sekundärmalignom im Vergleich zu tumorfreien Spendern wurden durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde das sog. Mikrokernassay erfolgreich etabliert und verschiedene genotoxische Agentien (Mitomycin C und Aphidicolin) an normalen humanen Fibroblasten getestet.
- AP7b: Aufgrund des geringen Patientendurchsatzes sowie mangelnder Partizipationsbereitschaft konnten keine Spender rekrutiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Aus den rekonstruierten Therapiedaten werden Strahlentherapiepläne entwickelt mit welchen die Bestrahlung der Phantome simuliert wird. Es werden weitere Realdaten zur Validierung erhoben und diese durchgeführt. Zwei Kooperationsverträge zu Therapiedaten und zur Dosimetrie stehen vor dem Abschluss.
- AP2: Im folgenden Halbjahr sollen innerhalb des AP2 am Standort in Mainz in Kooperation mit der Studienleitung in Bremen fehlende Rekrutierungsunterlagen der Teilnehmer nacherhoben werden. RNA- und DNA-Extrakte aus Experimenten und weiteren Bioproben sollen auf einzelne geplante Analysestränge von AP2 aufgeteilt und in Kooperation mit Laboren gemessen werden. Zudem sollen einige bereits vorhandene Zelllinien vermehrt werden.
- AP3: Die RNA-Seq und der WGS Daten werden integrativ ausgewertet. Hierfür wird Methodenforschung betrieben. Analyse der Whole Exome Daten von AP5. Die RNA-Seq Daten werden auf Fusionsgene hin untersucht. Es ist weiterhin geplant in Zusammenarbeit mit AP2 und AP8 die RNA-Seq Daten auf differentielles Spleißen hin zu untersuchen
- AP4: Die Arraydaten der Klone werden analysiert. Die Analyse der RAD9A-Methylierung in den Tumorproben wird durchgeführt. Um den Effekt des Verlustes der Seneszenz zu bestätigen werden weitere Klone mit niedriger und hoher Methylierung Wachstumsversuchen unterzogen.
- AP7a: Für das Mikrokernassay werden Dosiswirkungsbeziehungen für die verschiedenen genotoxische Agentien unter Einschluss von Positivkontrollen (Fanconi Anämie, Seckel Syndrom) erstellt, um den besten Dosisbereich für die Testung der Fibroblasten der GenKiK-Studie zu ermitteln.
- AP7b: Die Rekrutierung wird fortgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Drei Manuskripte wurden fertiggestellt und werden in den kommenden Tagen eingereicht.
Erstautoren: Marron - AP2; Galetzka - AP4 und Zahnreich - AP7

| | | |
|---|---|---|
| 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 30.04.2021 | Berichtszeitraum: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 ersten Jahreshälfte 2019 insgesamt 51 RNA Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2) zu RNA aufgearbeitet, qualitätsüberprüft und entsprechende Sequenzier-Bibliotheken erstellt. 87 Bibliotheken (tw. aus 2/2018) wurden mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren sequenziert. Somit konnte die im Bericht 2/2018 geplante Verarbeitung der noch verbleibenden Proben des Projektes 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 die Qualitätsanforderungen und wurden daher zur Konstruktion von Sequenzierbibliotheken verwendet. Die Sequenzierung wurde jeweils mit einer angestrebten Sequenziertiefe von ca. 20 Mio. Reads pro Bibliothek gemäß den Standardprotokollen der Firma Illumina für „single read/high output“-Läufe auf einem 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 DNA-Sequenzierung gesamter Genome auf der NovaSeq-Plattform konnte im ersten Halbjahr für insgesamt 150 Proben erfolgreich abgeschlossen werden. Die Daten liegen der Bioinformatik-Gruppe vor.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im 2. Halbjahr 2019 müssen aus technischen Gründen noch jeweils 12 neue Proben aus den Triplets 16 und 17 aufgearbeitet werden. Die Erstellung der 24 RNA-Bibliotheken sowie deren Sequenzierung können innerhalb dieses Halbjahres abgeschlossen werden.

Auf DNA-Seite steht die Sequenzierung von drei weiteren Triplets (n=9 Proben) sowie die nochmalige Sequenzierung von zwei Proben, die technische Probleme machten, aus.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 TP-C am Standort Bremen ist dabei für die wissenschaftliche Leitung des Arbeitspaketes 2 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 welcher 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 Teilnehmern wurde im vergangenen Halbjahr fortgeführt. Insgesamt konnten bisher 77 (39 %) von 195 angeschriebenen SPN Patienten und 313 (20 %) von 1597 angeschriebenen FPN Probanden für die Teilnahme an der KiKme-Studie gewonnen werden. Darüber hinaus stimmten insge-

samt 127 (59 %) der 216 in der Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Mainz direkt angesprochenen Kontrollen der Studienteilnahme zu. Sechs der Kontrollen mussten jedoch aufgrund einer zurückliegenden Krebsdiagnose von der Teilnahme ausgeschlossen werden. Über 60 % der teilnehmenden Fälle haben eine Rekrutierung bei einem unserer 182 kooperierenden Hautärzte in ihrer Wohnortnähe in Anspruch genommen. Unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht, sowie bei den ehemaligen Kinderkrebspatienten von Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung wurden alle neu rekrutierten Probanden Matchinggruppen zugeordnet. Informationen zu allen vorhandenen und prozessierten Bioproben wurden fortlaufend in die Bioprobendatenbank eingepflegt und auf Vollständigkeit sowie Richtigkeit überprüft. Zu denen in der Bioprobendatenbank vorliegenden Informationen gehören neben dem aktuellen Probenstatus auch Informationen zur Qualität (Probenentnahme, Kultivierungsphasen, Zellentwicklung, Verbleib und Qualität von Extraktionen) und Quantität der mittlerweile rund 5000 Bioproben. Ebenfalls standardisiert und über eine parallele Doppelteingabe von zwei Personen an getrennten Bildschirmen qualitätsgesichert wurde die Eingabe von Fragebogeninformationen in die Studiendatenbank weitergeführt. Darüber hinaus konnte ein erster Datenstand erstellt und mit der Bereinigung und Plausibilitätsprüfung der Daten begonnen werden. In Zusammenarbeit mit dem Labor der Radioonkologie und Strahlentherapie in Mainz wurden Bestrahlungen an Fibroblasten von weiteren 6 gematchten Triplets (2 x im Verhältnis 1 SPN : 1 FPN : 1 CO, 4 x im Verhältnis 1 SPN : 2 FPN : 1 CO) durchgeführt. Für diese 22 Versuche wurden insgesamt 3 gezählte und G0 synchronisierte Zelllinien pro Proband mit den festgelegten Strahlungsdosen 0Gy, 0.05Gy und 2Gy 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 156 Probanden Genexpressionsdaten nach Hoch- und Niedrigdosis sowie unbestrahlt vor. Für 146 Probanden existieren genomweite DNA-Sequenzierungen. Zudem wurde die erste Publikation mit Beschreibung des Studiendesigns und des Rekrutierungsverhaltens nach der Kommentierung durch die Co-Autoren überarbeitet und zirkuliert nun erneut im Verbund. Eine weitere Publikation den Bestrahlungsexperimenten zu verschiedenen Zeitpunkten wurde im vergangenen Halbjahr ebenfalls im Verbund zur Kommentierung zirkuliert und wird derzeit überarbeitet. Die Veröffentlichung der beiden Manuskripte wird für das kommende Halbjahr angestrebt. Eine dritte Publikation zu einer weiteren Reihe von Bestrahlungsexperimenten zur Identifikation von Unterschieden in der Genexpression je Probandengruppe ist derzeit in Erstellung. Um die in AP2 geplanten weiteren Publikationen voranzutreiben wurde die in Bremen ausgeschriebene Doktorandenstelle zum 01.05.2019 neu besetzt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zur Komplettierung des Studienkollektivs wird eine Nacherhebung von Speichelproben bei 70 Probanden aus dem Pilotprojekt durch ein erneutes Anschreiben angestrebt. Ebenso soll über die erneute Kontaktaufnahme versucht werden Fragebogeninformationen bei den 48 Fällen der Pilotierung zu erheben. Die für die Studienimplementierung notwendigen individuellen Rekrutierungspakete für die Nacherhebung wurden bereits in Bremen erstellt. Um die gesammelten Bioproben bestmöglich auswerten zu können, soll im kommenden Halbjahr mit der DNA-Sequenzierung von weiteren 140 Probanden begonnen werden. Um die Aussagekraft auch für DNA-Veränderungen mit möglicherweise kleinem phänotypischen Einfluss auf die Strahlensensibilität weiter zu erhöhen, sollen beobachtete single nucleotide variants in Kandidaten-Genbereichen von den insgesamt 286 Probanden mit DNA-Sequenzierung in einem ersten Schritt zunächst in der Speichel-DNA derselben Probanden mit Hilfe SNP-Array-basierter Genotypisierungen überprüft werden. In einem zweiten Schritt erfolgt eine externe Validierung mit der Speichel DNA der zweiten Hälfte des Studienkollektivs. Zur optimalen Auswertung aller Daten sollen weitere Analysestränge und Publikationen entwickelt 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Zweitumor nach Ersttumor im Kindesalter sowie 20 Zelllinien von Patienten mit einem Tumor im Kindesalter (ohne Zweitumor), 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 die Auswertung der Bilddateien im ersten Halbjahr des Jahres 2018 abgeschlossen. Die Ergebnisse zeigen eine hohe Inter-Individualität bei dem Auftreten von spontanen Brüchen sowie bei der Reparatureffizienz nach niedrigen Strahlendosen (2.5 mGy - 100 mGy). Im Mittel über alle Zellen lässt sich eine Abnahme der Reparatureffizienz bei abnehmender Strahlendosis feststellen, sodass der von Rothkamm et al. (<https://doi.org/10.1073/pnas.0830918100>) und Grudzinski et al. (<https://doi.org/10.1073/pnas.1002213107>) beschriebene LowDose-Effect auch bei einem großen Patientenkollektiv nachgewiesen werden konnte. Mögliche Unterschiede zwischen den Patientengruppen sowie Unterschiede der Patienten zu den gesunden Probanden werden unter Berücksichtigung des Matchings von AP3 statistisch überprüft.

Die Daten aus den Reparaturstudien sowie die Daten aus Studien der Projektpartner sollen im Rahmen von AP5 durch genomische Untersuchungen komplementiert werden. Dazu wurde das gesamte Exom der GenKIK-Zelllinien sequenziert. Die Rohdaten der Exomsequenzierung wurden an AP3 übergeben und werden derzeit prozessiert.

AP6: Im aktuellen Berichtszeitraum wurden uns von AP2 weitere Zelllinien bereitgestellt, die im Rahmen der KiKmeStudie (Phase 2) von Patienten sowie von gesunden, gematchten Probanden etabliert wurden. Derzeit befinden sich 53 pseudonymisierte Triplets (159 Zelllinien) in Darmstadt, von denen bereits 146 Zelllinien für die Experimente expandiert und im Kryotank eingelagert wurden. Die Experimente zur Induktion des G2/M-Checkpoints sowie zur Analyse der Reparaturkapazität (analog zu AP5) werden nun sukzessive mit jeweils 7 Triplets durchgeführt und Bildaufnahmen zur automatisierten Auswertung angefertigt. Diese Bilder werden ebenfalls für die Auswertung mit der Software AutoFoci vorbereitet und sollen dann gemeinsam ausgewertet werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Die Ergebnisse werden für die statistische Analyse durch AP3 zusammengestellt. Nach dem Abschluss der Auswertung wird in Kooperation mit AP4 und AP7 eine umfassende Interpretation der bisherigen Daten und die Identifikation auffälliger Zelllinien erfolgen. Anschließend werden mit auffälligen Zelllinien detaillierte Analysen zur DNA-Reparatur durchgeführt. Die Etablierung der geplanten ChIP-Analyse für die weitere Untersuchung von spontan auftretenden Brüchen wurde mit einer Testzelllinie begonnen.

AP6: Zelllinien, die beim ersten Expansionsversuch schlecht anwachsen und daher erneut von AP2 bereitgestellt wurden, werden zusammen mit den verbleibenden Zelllinien sukzessive für die Experimente expandiert und bis zu deren Durchführung eingelagert. Die Experimente zur Analyse der Reparaturkapazität und der Checkpoint-Sensitivität werden fortgesetzt. Die Ergebnisse werden mit den bisherigen Daten aus der GenKIK-Studie verglichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 gentoxischen 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 DSBs die in heterochromatischen Bereichen lokalisiert sind im Vergleich zu euchromatisch lokalisierten DSBs? 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 und 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 euchromatischen 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 Niveau 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, Mutationstyp und Mutationslokation untersucht werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Nach Puls-Markierung (1 h) mit Methyl- ^3H -Thymidin zeigte sich in Jurkat Zellen, dass 1000 respektive 2100 akkumulierte Tritium-Zerfälle ca. 10 respektive 20 γH2AX Foci induzieren, was einer zellulären Dosis von ca. 0,5 respektive 1,1 Gy entspricht. Die zelluläre Häufigkeitsverteilung der Foci zeigte, dass Methyl- ^3H -Thymidin in allen Zellen gleichmäßig aufgenommen und in die DNA inkorporiert wurde. Das Maximum an γH2AX Foci trat im Vergleich zu 53BP1 Foci zeitlich verzögert auf, wie dies bereits bei ^{125}I -UdR zu beobachten war. Die Mikrokern- und Apoptoseauswertungen nach Puls-Markierung mit Methyl- ^3H -Thymidin in früher respektive später S-Phase und Schadensakkumulation in G2/M- und folgender G1-Zellzyklusphase wurden begonnen. ^{125}I UdR-exponierte Zellen wurden bzgl. DSB-Induktion ausgewertet. Erste Ergebnisse zeigen eine erhöhte gentoxische Wirksamkeit von ^{125}I UdR gegenüber Methyl- ^3H -Thymidin pro Zerfall und zellulärer Dosis.

AP2: Über ^{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 Koloniebildungsassay (CFA) bereits auf ca. 30 % im Vergleich zur Kontrolle. Der Effekt ist, per Iod-125 Zerfall, signifikant geringer ausgeprägt, als bei Einsatz von I-125-TFO für die gleiche Zielsequenz.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Analysen bzgl. Chromosomenaberrationen sowie $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ -, Mikrokern- und Apoptose-Induktion nach Puls-Labeling synchronisierter Jurkat Zellen mit ^{125}I UdR und Methyl- ^3H -Thymidin in früher, respektive später S-Phase.

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

Keine.

| | |
|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 residueller Schäden während fraktionierter Bestrahlung, die Chromatinstruktur, d. h. Histonmodifikationen und EGFR Status der Zellen) werden analysiert.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

UDE-1: Die mFISH Analysen in CHO Klonen mit I-SceI-Schnittstellen unterschiedlicher Komplexität wurden reproduziert und mit den Effekten von niedrig-LET Strahlung verglichen. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Dosis Röntgenstrahlung, die eine zum I-SceI-Modell vergleichbare Anzahl von DSB induziert, zu einer substantiell geringeren Zahl von Chromosomenaberrationen (CA) im Ganzen und deutlich reduzierter Menge komplexer Rearrangements im Besonderen führt, im Vergleich zu den im Modellsystem erzeugten geclusterten DSB. Um eine mögliche Rolle der Endresektion bei der Entstehung von CAs nach der Induktion von DSB-Clustern durch I-SceI zu untersuchen wurde der essentielle Resektionsfaktor CtIP durch RNAi herunterreguliert. Dies resultierte in einer erheblichen Reduktion der CA-Bildung in Klonen mit komplexen DSBs aber nicht in Klonen mit einfach ligierbaren Brüchen. Dies weist auf eine erhöhte Resektionsabhängigkeit komplexer DSB und einen möglichen Ansatzpunkt zur Modulation der Effekte von hoch-LET Strahlung hin. Um den Einfluss resektionsabhängiger Reparaturwege auf die Bildung von CAs nach Induktion komplexer DSB durch I-SceI zu untersuchen wurden die für die HR bzw. das SSA zentralen Proteine Rad51 und Rad52 ausgeschaltet. RNAi vermittelte Reduktion von Rad51 führte zu einem Anstieg von CAs in CHO-Klonen mit einfachen oder doppelten ISceI-Schnittstellen, aber nicht in den komplexesten Konstrukten mit 4 ISceI-Erkennungssequenzen. Vorläufige Ergebnisse mit RNAi von Rad52 zeigen hingegen, dass SSA vor allem bei komplexeren (2xR und 4xR), aber weniger bei einfachen (1xI-SceI) Brüchen eine Rolle spielt. Experimente zur DSB-Signalgebung wurden wiederholt und die differentielle Regulierung der 53BP1-Foci Bildung bei DSB unterschiedlicher Komplexität konnte bestätigt werden. RNAi der Proteine RNF8 und RNF168 führte zur vollständigen Unterbindung der Bildung von 53BP1 foci.

UDE-2: Mehrere Versuche wurden unternommen, Klone mit induzierbarer Expression von I-SceI in CHO- und menschlichen Zelllinien zu erzeugen. Bei all diesen Versuchen wurden zunächst vielversprechende Ergebnisse erzielt. Letztendlich mussten wir jedoch in allen Fällen feststellen, dass die erzeugten Zelllinien instabil waren. Wir kamen zu dem Schluss, dass die getesteten induzierbaren Systeme keine nützlichen Zelllinien generieren konnten. Daher konzentrierten wir zunächst unsere weiteren Bemühungen auf die Aufklärung der Mechanismen, die Chromosomenaberrationen von DSB-Clustern verursachen, die in UDE-1 ausführlich beschrieben sind und sehr erfolgreich voranschreiten.

UDE-3: Der Einfluss des MRN Komplexes auf die Strahlenempfindlichkeit nach kombinierter Radiochemotherapie mit Cisplatin (CpT) in NSCLC Linien wurde weiter untersucht. Inhibierung des MRN Komplexes mittels siRNA zeigte ähnliche Resultate wie die Inhibierung mit Mirin. Inhibierung von MRN verstärkte den strahlensensitivierenden Effekt von CpT in A549. Obwohl Mirin die strahlensensitivität von H460 ebenfalls verstärkte hat es einen geringeren Einfluss auf den Effekt von Cisplatin auf die Strahlensensitivität. Mit Ausnahme der Linie H1975 führte Mirin zu einem erhöhten Anteil von CpT-Addukten speziell in den CpT resistenten Linien A549, H1299 und H838. Mirin reduziert zudem gleichermaßen die Bildung von strahleninduzierten RPA Foci in A549 und H460. Erhöhte basale ERCC1 Expression in den CpT resistenteren Linien deuten auf einen kausalen Zusammenhang zwischen ERCC1 Expression und CpT Sensitivität hin. Obwohl CpT die Expression von ERCC1 teilweise steigert, hat Mirin keinen zusätzlichen Effekt darauf. Bezüglich des Effektes von Metformin auf die Steigerung der Strahlenempfindlichkeit durch Cisplatin wurden mögliche Signalwege untersucht. Die Daten zeigen, dass der Effekt in H460 von dem AMPK Signalweg abhängig ist, nicht aber in A549.

4. Geplante Weiterarbeiten

UDE-1: In humanen RPE1-Klonen mit ISceI induzierbaren komplexen DSB wird mit mFISH-Analysen an PCC Präparaten begonnen. Die Rolle von Rad51 bei der Reparatur von komplexen DSB soll mit Hilfe chemischer Inhibitoren untersucht werden. Lebend-Zell-Mikroskopie unter Zuhilfenahme der Expression eines transient exprimierten, exogenen 53BP1-GFP Fusionsproteins in 53BP1-positiven sowie 53BP1-defizienten Zellen soll durchgeführt werden.

UDE-2: Wir haben vorübergehend weitere praktische Versuche zur Generierung induzierbarer Zelllinien mit den zur Verfügung stehenden Systemen ausgesetzt, bis wir vielversprechende alternativen Herangehensweisen entwickelt haben um ein dauerhaft stabiles induzierbares System zu erzeugen.

UDE-3: Wir wollen den Effekt der Inhibierung des MRN Komplexes auf die Aktivierung von NER weiter untersuchen und 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? Welche Bedeutung hat der ATM bzw. ATR Status der Zellen auf die Strahlensensitivierung durch CpT und MRN Inhibierung? Wie ist der Einfluss von Mirin auf die Wirkung von unterschiedlichen Platinderivaten u.a. von Cisplatin und Oxaliplatin?

5. Berichte, Veröffentlichungen

Riaz A. M., Sak A., Erol B. Y., Groneberg M., Thomale J., Stuschke M.: Metformin enhances the radiosensitizing effect of cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines with different cisplatin sensitivities. *Sci Rep.* 2019 Feb 4;9(1):1282.

Iliakis G, Mladenova V., Sharif M., Chaudhary S., Mavragani I.V., Soni A., Saha J., Schipler A., Mladenov E.: Defined biological models of high-let radiation lesions. *Radiat Prot Dosimetry.* 2019 May 1;183(1-2):60-68.

Erol B. Y., Sak A., Riaz A. M., Groneberg M., Melnikova M., Thomale J., Stuschke M.: Inhibition of Mre11 enhances radiosensitizing effect of cisplatin in NSCLC cell lines. *Strahlenther Onkol,* 2019 (Suppl 1) 195:S176.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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

Vorhaben endet zum 30.06.2019.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|--|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Transkriptome 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 1. Halbjahres 2019 wurden im Rahmen einer INSTRA-Vollversammlung am 27.06.2019 vorgetragen und diskutiert; hier erfolgt nur eine kurze Darstellung:

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Die histologischen Analysen aller Linsen 12-24 Monate nach Bestrahlung haben ergeben, dass bei einer Dosis von 0,5 Gy statistisch signifikant gehäuft posteriore Katarakte auftreten (*odds ratio* 9,32; 95 %-Konfidenzintervall: 2,06 – 42,18). Andere Veränderungen sind in Bezug auf die Dosis statistisch nicht signifikant.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die immunhistochemischen Untersuchungen an Gehirnschnitten ergaben für den Hippocampus, dass die Bestrahlung mit 0,063 Gy die Mikroglia im Überwachungsstatus belässt, wohingegen die Bestrahlung mit 0,5 Gy die Mikroglia aktiviert; ihre Zahl nimmt 24 Monate nach Bestrahlung mit 0,5 Gy deutlich zu. Im Gegensatz dazu nimmt die Zahl der Astrozyten nach Bestrahlung ab.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die Ergebnisse der Transkriptom-Analyse im Blut zeigen nur sehr kleine Effekte der Bestrahlungen auf die Genexpression und benötigen eine verfeinerte Analyse. – Die histologische Untersuchung der Schilddrüsengewebe zeigte Neoplasien in ausschließlich bestrahlten Mäusen. Die Transkriptomanalyse der Neoplasien, korrespondierender Normalgewebe und Schilddrüsennormalgewebe nicht-exponierter Mäuse ist abgeschlossen.

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)

Das neue Datenbankmodell für INSTRA wurde weiterentwickelt, um Schlüsselereignisse auch bei kleinen Datenmengen schnell und zuverlässig identifizieren zu können.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Claudia Dalke)

Um die Ausgangswerte genauer zu bestimmen, werden die histologischen Schnitte von Augen untersucht, die 4 Stunden nach der Bestrahlung entnommen wurden.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die bisherigen immunhistologischen Untersuchungen an Gehirnschnitten zeigten einen interessanten dosis-abhängigen Effekt auf Mikroglia-Zellen mit zunehmendem Alter. Während die höchste Dosis Neuroinflammation fördert, scheint die niedrigste Dosis in dieser Hinsicht einen eher protektiven Effekt zu haben. Wir führen weitere Untersuchungen durch, um diesen Aspekt genauer zu beleuchten.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die Daten der Analyse des Blutes und der Schilddrüsenneoplasien und eine „Technical Note“ zur Machbarkeit von 3'-RNAseq aus Gefriergewebe nach Lasermikrodissektion werden in Manuskripten zusammengefasst und für eine Veröffentlichung vorbereitet.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es werden keine Bestrahlungen durchgeführt.

Z2: Pathologie (PATHO; Frauke Neff): ausgeschieden

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Die neu erstellten Daten werden weiterhin in die INSTRA Datenbank eingepflegt, um abschließend die Daten in Bezug auf den Gesamtorganismus analysieren zu können.

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: 01.01.2019 bis 30.04.2019 | |
| 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. Mittels Multiplex Immunassays wurden Konzentrationsveränderungen von 32 Zytokinen und C-reaktivem Protein (CRP) in Plasmaproben von 121 männlichen Versuchstieren bestimmt. Acht Zytokine erfüllten die Kriterien für eine weitere Auswertung. 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 inter-individuelle Variabilität. Die Daten wurden an den Projektpartner Systembiologie übergeben.

Zu 2: Untersuchungen an der Milz: In Proteinextrakten aus Milzgewebe 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. Bei der komplexen Fragestellung konnten in einem Blot nie alle Proben direkt verglichen werden. Eine Normalisierung der Daten, um verschiedene Experimente bzw. Blots abschließend vergleichen zu können, war nicht möglich.

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 ProteomeWeaverTM wurden 110 differenziell regulierte Proteine massenspektrometrisch mittels MALDI-TOF beim Kooperationspartner in Düsseldorf untersucht. 32 der deregulierten Proteinspots konnten identifiziert werden. 25 identifizierte Proteine betreffen dabei zelluläre und metabolische Prozesse und Signalwege wie Aminosäure-, Fett- Selen- und Energiemetabolismus, sowie Detoxifizierung und Stressreaktionen. Abschließend wurde das Programm DeCyderTM für die weitergehende Auswertung der Proteomics-Daten herangezogen. Dabei zeigte sich, dass statistisch bereits ab einer einmaligen Bestrahlungsdosis von 63 mGy deutlich zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren sowohl nach 24 h, aber auch nach 18 Monaten unterschieden werden kann. Ebenso konnte der Geschlechtsunterschied jeweils deutlich aufgezeigt werden. Die Daten einiger deregulierter Proteine wurden an den Projektpartner Systembiologie weitergegeben.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wurde wie geplant weitgehend abgeschlossen. Die ermittelten Daten sollen veröffentlicht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|--|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 sind. Die größte Veränderung im Proteom wurde bei den Wildtyp-Männchen nach 4 Monaten und bei den Wildtyp-Weibchen nach 24 Monaten festgestellt.

Für das Manuskript wurden die MS-Daten der wildtyp Weibchen unter der Verwendung des Software-Tools „INGENUITY Pathway Analysis“ bioinformatisch ausgewertet. Der zentrale deregulierte Signalweg nach Bestrahlung ist der CREB Signalweg. Dieser spielt eine wichtige Rolle in der normalen neuronalen Funktion, der Gehirnentwicklung und dem Schutz von Neuronen gegen interne und externe Stressoren. Durch Westernblot-Analyse zentraler Proteine, konnte die Relevanz des Signalweges in der Strahlenantwort verifiziert werden. Es wurde gezeigt, dass einmalige Bestrahlung mit 0.5 Gy die Aktivität von CREB vermindert, was zu einer reduzierten Expression des anti-apoptotischen Proteins Bcl-xL führt. Zudem konnte eine erhöhte Menge carbonylierter Proteine als Marker von oxidativen Stress gemessen werden. Ein Anstieg aktivierter Gliazellen, was auf eine Entzündung hin deutet, sowie eine Erhöhung apoptotischer Markerproteine wurden ebenso gemessen. Dies könnte an der verminderten protektiven Wirkung des CREB Signalweges liegen. Die Strahlendosen von 0.063 Gy und 0.125 Gy führen zu einer Erhöhung der Phosphorylierung von CREB und deren Zielproteine, die in der synaptische Plastizität involviert sind, wohingegen keine Erhöhung von aktivierten Immunzellen und apoptotischen Proteinen gemessen wurde.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Ergebnisse werden momentan zu einem Manuskript mit dem Titel „Low-dose radiation impairment of the CREB signalling and targets in murine hippocampus two years post exposure“ zusammen gefasst. Das Manuskript wird demnächst bei „Journal of Proteome Research“ eingereicht.

Zudem werden weitere Validierungen des Transkriptionsfaktors CREB in allen anderen Proben durchgeführt um die Regulierung über die Zeit zu verfolgen.

Die mesenchymale Stammzellen (MSCs), 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

Schmal Z, Isermann A, Hladik D, von Toerne C, Tapio S, Rube CE: DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises hippocampal neurogenesis. *Radiother Oncol.* 2019 May 4;137:45-54.

| | | |
|--|---|--|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 von zeitaufgelösten Transkriptomdaten der Cal33 Zellkulturmodelle (strahlensensitive und strahlenresistente Cal33 Klone) wurden hinsichtlich der Identifizierung differenzieller Signalwege abgeschlossen. Dabei wurden Gencluster mit ähnlichem zeitlichen Expressionsverlauf erstellt und Gene mit einem aberranten Expressionsprofil oder unterschiedlicher Clusterzugehörigkeit in sensitiven und resistenten Zellen nachgewiesen. Eine ‚Reactome Pathway Enrichment‘ Analyse führte zur Identifizierung veränderter

Signalwege zwischen resistenten und sensitiven Zellen. Eine „Progeny“ und „SPEED“ Analyse der Transkriptom Daten hinsichtlich aktivierter Signalwege in sensitiven und resistenten Zellen wird derzeit durchgeführt. Die Arbeiten wurden in enger Zusammenarbeit mit CUB durchgeführt. Die Daten aus RNAseq, DNA Methylierungsarrays und Whole Exome Sequenzierung des HNSCC Zelllinien Panels (n=11) wurden ausgewertet und mit Hilfe von Assoziationsanalysen mit der Strahlenantwort der einzelnen Zelllinien korreliert.

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*

Die molekulare und funktionelle Charakterisierung des HNSCC-Zelllinien Panels (n=11) wurde abgeschlossen, die erhobenen Daten wurden mit der ermittelten Strahlenempfindlichkeit der einzelnen Zelllinien korreliert. Dies geschah in enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern (BfS, IFZ, LMU, CUB). In Zusammenarbeit mit IFZ wurden *in vivo* Tumorproben des HNSCC-Zelllinien Panels immunhistochemisch im Hinblick auf eine p16 Expression analysiert. Das HMGU hat die Aufgabe übernommen, die Einzeldaten zum HNSCC Zelllinien Panel zusammenzustellen und die Erstellung einer Veröffentlichung aus allen Daten zu koordinieren.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Das retrospektive Tumorkollektiv adjuvant strahlentherapierter HNSCC Patienten (LMU-KKG Kollektiv) wurde im Berichtszeitraum auf RNA Ebene sequenziert. Dieser Transkriptom Datensatz aus Patientengeweben stellt die Grundlage dar, um veränderte Signalwege, die in Zelllinien Modellen identifiziert wurden, zu überprüfen.

Die RNA Sequenzierungen sollen für alle Fälle der LMU-KKG Kollektive (prospektives Kollektiv) vervollständigt werden und sind auch für die Fälle des Freiburger Kollektivs geplant.

AP4: Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch

AP4.3: Interdisziplinärer Austausch

Sarah Mwiberi besuchte CUB in Berlin (Labor Prof. N. Blüthgen) vom 16.-20.6.19 zum Laboraustausch und führte dort an den Transkriptom Datensätzen der Cal33 Klone (strahlensensitiv/strahlenresistent) verschiedene bioinformatische Analysen durch (Transkriptionsfaktor Netzwerk Analyse, PROGENy und SPEED Analyse zur Identifizierung aktivierter Signalwege). Diese Verfahren benötigt sie für ihre Promotion und konnte sie zudem am HMGU etablieren.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes ZiSStrans fand am 25./26. Juni am UKF in Freiburg statt. Für das HMGU nahmen H. Zitzelsberger, T. Heider, P. Weber und S. Mwiberi teil.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Schötz U, Zitzelsberger H, Klein D, Jendrossek V, Klinger B, Sieber A, Blüthgen N, Belka C, Unkel S, Lauber K.: Inhärente Resistenz von Kopf-Hals-Tumoren: zelluläre Seneszenz und assoziierte Zytokinproduktion als entscheidende Mechanismen *in vitro* und *in vivo*. P06-4: Strahlenther Onkol (2019); 195 (Suppl 1): 1

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Primärgewebeproben. 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

- AP1: Aus den mit 2D-DIGE Screen identifizierten Proteinen der HNSCC-Linie Cal33 und deren abgeleiteten strahlensensitiven Klon #303 und strahlenresistenten Klon #327 wurden Netzwerkanalysen in Zusammenarbeit Partner HMGU durchgeführt. Aus Netzwerkanalysen und Signaltransduktionswegen wurden Netzwerkknoten/Repräsentanten ermittelt. Dabei wurden Überschneidungen mit metabolischen Analysen und Transkriptomanalysen festgestellt.
- AP2: Zur Charakterisierung der in die Untersuchungen einbezogenen HNSCC-Zelllinien wurden Wachstumskurven dieser Zelllinien angefertigt. Des Weiteren wurden an diesen Zelllinien in Zusammenarbeit mit dem Helmholtz Zentrum und der Charite Berlin Phosphoproteinnachweise mittels Bioplex durchgeführt. Die Ergebnisse werden in eine gemeinsame Publikation aller Projektpartner einfließen.
- 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. Weiterhin wurden massenspektrometrische Analysemethoden für den Nachweis von Kandidatenproteinen und zur Analyse des wertvollen primären Zellmaterials der Hals-Kopf-Tumor Patienten evaluiert und mit möglichen Kooperationspartnern besprochen. Die Untersuchungen des beim BfS vorhandenen Paneel von lymphoblastoiden Zelllinien aus strahlenempfindlichen Patienten und gematchten Kontrollpatienten wurden begonnen.
- AP4: Zum Erlernen des sogenannten Spread-Assay von Mundschleimhautproben der HNSCC-Patienten war Frau Dr. Katharina Huber vom BfS zum Austausch beim Partner UK Freiburg. Zum Erlernen der Bioplexmethode hat Frau Huber Messungen an der Charite Berlin unterstützt. Weiterhin nahm Frau Huber am „Rainbow Kurs“ des Diabetiszentrums Düsseldorf zur Messung von Zytokinen teil.

Das erste Projekttreffen 2019 aller Kooperationspartner fand vom 24.-25. Juni am Universitätsklinikum Freiburg statt. Es wurde über ein gemeinsames einheitliches Protokoll zur Bestrahlung von Zellen diskutiert und entschieden, einheitlich mit einer Dosis von 6 Gy zu bestrahlen und sich auf Effekte zum Zeitpunkt 96 Stunden nach Bestrahlung zu fokussieren. Dadurch soll die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den Kooperationspartnern ermöglicht werden.

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 (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

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. Im Zuge dessen wurde entschieden, weitere RNASeq-Analysen aus explantierten Tumoren durchzuführen. Die Proben für diese Analysen wurden vorbereitet, RNA extrahiert und an den Projektpartner HMGU für die Sequenzierungsanalysen übergeben. Die übrigen Textteile wurden weiterbearbeitet. Eine Submission ist für Q3/4-2019 geplant.

Das Teilprojekt mit den generierten radioresistenten Cal33-Zellklonen befindet sich ebenfalls in Finalisierung. RNA aus Gewebeproben explantierter Tumore, die vom Partner IFZ generiert wurden, wurde für RNASeq-Untersuchungen an den Partner HMGU weitergegeben. Ziel ist die zeitnahe Erstellung eines Publikationskonzepts.

Die Untersuchungen zur Beteiligung eines Stammzell-Oberflächenrezeptors an den Mechanismen der Radioresistenz von HNSCC-Zellen sind nahezu abgeschlossen. In vitro-Daten zur Korrelation der mRNA-Expression und Oberflächenexpression des Rezeptors mit dem Ausmaß der Radioresistenz liegen vor. Ebenso sind die Datenerhebung zur Radiosensibilisierung von HNSCC-Linien durch Rezeptor-spezifische RNA-Interferenz in vitro, die Charakterisierung des freigesetzten Zytokin-Repertoires (in Kollaboration mit Projektpartner CUB), und die Validierung in einem orthotopen HNSCC-Xenograft-Modell abgeschlossen. Retrospektive klinische Analysen zum prognostischen Wert der Rezeptor-Isoform-mRNA-Expression im TCGA-HNSCC-Kollektiv liegen vor, und RNA-Seq-Analysen im retrospektiven HNSCC-Kollektiv der klinischen Kooperationsgruppe 'Personalisierter Radiotherapie von Kopf-Hals-Tumoren' (Leitung Prof. Belka) befinden sich in der bioinformatischen Auswertung.

In Kollaboration mit dem Projektpartner CUB wird aktuell die Bedeutung des JAK/STAT-Signalwegs für die Radioresistenz von HNSCC-Linien in Koloniebildungstests untersucht.

Die aus der heterogenen Ausgangszelllinie Cal33 isolierten 20 neuen Subklone werden aktuell radiobiologisch und zellbiologisch charakterisiert. Klonogenitätsanalysen nach Bestrahlung sind nahezu abgeschlossen, und Material für aCGH- und SKY-FISH-Analysen wurde an den Projektpartner HMGU übergeben.

Sonstiges:

Eine abstimrende Telefonkonferenz des Verbunds fand am 25.03.2019 statt. Für den Partner LMU nahmen Dr. Radostin Galabov und Prof. Dr. Kirsten Lauber teil.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 24./25.06.2019 beim Projektpartner UKF in Freiburg statt. Für den Partner LMU nahm Dr. Radostin Galabov 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

Kongressbeiträge

Inherent Resistance of Head and Neck Tumors: Cellular Senescence and associated Cytokine Production as key Mechanisms in vitro and in vivo. Schoetz, U., Shnayien, S., Spoerl, S., Kinzel, L., Maihofer, C., Hess, J., Zitzelsberger, H., Klein, D., Jendrossek, V., Klinger, B., Sieber, A., Bluethgen, N., Belka, C., Unkel, S., Lauber, K.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE 195, S76-S76; DEGRO Jahrestagung 2019, Münster

Patient-derived HNSCC cell lines and subclones reflect inter- and intra-tumoral heterogeneity regarding genomic copy number alterations and radiation response. Klymenko, O., Drexler, G. A., Baumeister, P., Weber, P., Zitzelsberger, H., Unger, K., Hess, J., Schoetz, U., Belka, C., Lauber, K.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE 195, S75-S76; DEGRO Jahrestagung 2019, Münster

Tumor Stem Cell Factor CD44v6 influences G2 Arrest and Radiation Sensitivity in S Phase after Irradiation. Al Bazaz, M., Selmsberger, M., Engenhardt-Cabillic, R., Lauber, K., Schoetz, U.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE 195, S127-S127; DEGRO Jahrestagung 2019, Münster

Evaluation of CD44v6 targeting strategies in HNSCC. Osterode, E., Schoetz, U., Orth, Selmsberger, M., Schuster, J., Hess, J., Unger, K., Zitzelsberger, H., Belka, C., Lauber, K.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE 195, S176-S176; DEGRO Jahrestagung 2019, Münster

Abgeschlossene Doktorarbeiten

Dr. med. Seyd Shnayien: Inhärente zelluläre Strahlenresistenz von Kopf-Hals-Platten-epithelkarzinomen: Strahleninduzierte zelluläre Seneszenz als entscheidender Faktor. Tag der mündlichen Prüfung: 10.01.2019; Note: Magna cum laude

| | |
|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 Netzwerkpräsidenten 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 *in vivo* Untersuchungen zur Radiosensitivitäts-Modulation von HNSCC-Xenograft-tumoren durch den identifizierten SASP-Inhibitor wurden mit einer weiteren Zelllinie fortgeführt. Aktuell werden die Effekte der Kombinationstherapien aus der wiederholten Gabe des Inhibitors mit einer Einzeit-

Bestrahlung (10 Gy) mit den Effekten der Einzel-therapien und einer Lösungsmittelkontrolle (LM) im Xenograftmodell verglichen.

Außerdem wurden *in vivo* Tumorproben des im Verbund etablierten HNSCC-Tumor-zelllinienpanels (10 Linien) generiert und für die weitere immunhistologische Validierung nach München (HMGU) geschickt. Für eine weitere Zelllinie, die für diese Analysen mit eingeplant war, konnten bisher *in vivo* noch keine Tumore erhalten werden.

Die Analysen zur metabolischen Charakterisierung der beiden durch wiederholte *in vitro* Bestrahlung generierten Klone einer HNSCC-Zelllinie mit unterschiedlicher Radiosensitivität (*in vitro* und *in vivo*) wurden wiederholt. Zur statistischen Absicherung der Ergebnisse werden die Analysen ein drittes Mal durchgeführt. Des Weiteren wurden Zellkulturen aus *in vivo* bestrahlten Tumoren (0 und 10Gy) zweier HNSCC-Zelllinien erneut in Kultur gebracht und *in vitro* auf eine mögliche veränderte Radioresistenz hin untersucht. Diese Analysen sind noch nicht abgeschlossen.

Die Versuchsserien zur Analyse des Einflusses der Inhibition eines SASP Faktors und eines Faktors mit immunmodulierenden Eigenschaften auf frühe (0-3 Wochen) und späte (ca. 25 Wochen) Normalgewebstoxizität nach Thoraxbestrahlung *in vivo* werden wie geplant fortgesetzt. Die derzeitigen Versuchsserien dienen der statistischen Absicherung der *in vivo* Ergebnisse. Parallel werden wie geplant komplementäre *in vitro* Untersuchungen zur Wirkung des SASP-Inhibitors auf bestrahlte humane und murine Normalgewebszellen durchgeführt und zur Absicherung der Bedeutung von Seneszenz und SASP zusätzlich zwei weitere SASP-Inhibitoren zunächst in die *in vitro* Analysen mit eingebunden.

Derzeit wird die Auswertung der erhaltenen Transkriptom-Datensätze (zeitliche Analyse muriner Lungengewebsproben nach Thoraxbestrahlung mit 0 und 15Gy) in Kooperation mit dem HMGU vorbereitet.

Ch. Hansel und S. de Leve besuchten am 7.-8.01.19 den Partner UKF zur Erlernung der primären Keratinozyten-Kultur (Laboraustausch). Derzeit wird in Essen eine analoge Primärkultur ausgehend von murinen Mundschleimhautproben etabliert; ebenso wird ein murines *in vivo*-Modell der Mucositis in Kooperation mit der Klinik für Radioonkologie etabliert.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 24./25.06.2019 am UKF in Freiburg 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. Durch die zweite Schwangerschaft von S. de Leve werden sich voraussichtlich weitere Verzögerungen ergeben.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

de Leve S, Wirsdörfer F, Jendrossek V: Targeting the Immunomodulatory CD73/Adenosine System to Improve the Therapeutic Gain of Radiotherapy. *Front Immunol.* 2019 Apr 5;10:698 (Review)

Publizierte Abstracts:

Schötz U*, Zitzelsberger H, Klein D, Jendrossek V, Klinger B, Sieber A, Blüthgen N, Belka C, Unkel S, Lauber K: Inhärente Resistenz von Kopf-Hals-Tumoren: zelluläre Seneszenz und assoziierte Zytokin-produktion als entscheidende Mechanismen *in vitro* und *in vivo*. P06-4: Strahlenther Onkol (2019); 195 (Suppl 1): 1

Hlouschek J, Ritter V., Hansel C, Wirsdörfer F, Klein D, Jendrossek V, Matschke J: Die pharmakologische Hemmung der mitochondrialen Carboxylat-Transporter SLC25A1 und SLC25A10 wirkt der durch chronisch-zyklische Hypoxie induzierten erhöhten Strahlenresistenz effektiv entgegen: P23-5-jD Strahlenther Onkol (2019);195 (Suppl 1): 1

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Durchführung eines großen Perturbationscreens, bei dem das Signalnetzwerk von isogenen Klonen mit unterschiedlicher Strahlensensitivität gezielt gestört und dann die Phosphorylierung ausgewählter Signalmoleküle gemessen wurden. Diese Daten bildeten die Grundlage für die Modellierung mit der Methodologie des Comparative Modelling. Diese Methode wurde in dem Projekt entwickelt, um gezielt die genauen quantitativen Unterschiede in isogenen Modellen zu detektieren.

Nach ausgiebigen Vorversuchen haben wir entschieden, 3 Zelllinien (eine parentale, und 2 abgeleitete Zelllinien mit unterschiedlicher Strahlenresistenz/-sensitivität) zu untersuchen, und diese mit 30 kombinatorischen Perturbationen aus Liganden und Inhibitoren zu stören. Außerdem wurde als weitere Variable eine Bestrahlung oder eine Mock-Kontrolle eingesetzt, so dass sich 60 verschiedene Kontexte ergeben, in denen die Phosphoprotein-Messungen durchgeführt wurden. Alle Experimente wurden in Triplikaten durchgeführt. Eine erste statistische Auswertung der Daten zeigten eine sehr gute Reproduzierbarkeit, und deutliche Unterschiede in der Stimulierbarkeit insbesondere zwischen den 2 Klonen und der Parentalzelllinie. Daher wurden für die Komparative Modellierung hauptsächlich die Klone verwendet. Erste Modellierungsergebnisse zeigen, dass die Klone sich zum einen stark in der P53-Antwort unterscheiden und zum anderen in der JAK/STAT-Signaltransduktion. Da die JAK/STAT-Signaltransduktion direkt mit der Sekretion von Cytokinen und damit dem SASP-Phänotyp gekoppelt ist, ist dieses ein vielversprechender Ansatzpunkt, um die Strahlensensitivität/-resistenz zu verstehen und evtl. sogar modulieren zu können, da der Signalweg mit kleinenmolekularen Inhibitoren zielgerichtet abgeschaltet werden kann. Entsprechende Experimente sind mit LMU vereinbart und werden dort in enger Kooperation durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die wichtigsten Schritte im 2. HJ 2019 werden sein, das Modell noch weiter zu verfeinern (insbesondere die Modellierung des Strahlenkontexts) und in Kooperation mit der AG Lauber/LMU die durch das Modell gewonnen Hypothesen zu validieren. Weitere wesentlich Arbeiten betreffen die Auswertung der Transkriptomdaten und Datenintegration in Zusammenarbeit mit HMGU.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum wurde eine Masterarbeit mit dem Titel „Untersuchung der Strahlenantwort in Kopf und Hals Krebs durch die Analyse der zugrundeliegenden Signaltransduktion.“ angefertigt.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 HN5CC 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:

Bezüglich des retrospektiven Protokolls ergaben sich seit letzter Berichterstattung keine Veränderungen.

Prospektive Untersuchungen wurden protokollgemäß fortgesetzt (vergleiche auch Zwischenbericht vom 31.01.2019). Im jetzigen Berichtszeitraum wurden etwa 72 Patienten / Monat identifiziert („pre-screening“). 13 Patienten wurden in Untersuchung eingeschlossen; davon waren zwei Patienten „drop-outs“. Bei den eingeschlossenen Patienten wurden protokollgemäß Mukosa-Keratinocyten entnommen und Normalgewebs-in-vitro Radiosensitivitätsteste durchgeführt, Speichelproben gewonnen und - während der sechswöchigen Strahlenbehandlung - regelmäßig die Radio-Mukositis-Scores evaluiert. 16 Patienten wurden (nach abgeschlossener Radiotherapie) nachgesorgt; dabei wurden bei drei Patienten Metastasen / Rezidive (Studienendpunkte) diagnostiziert. 19 Blutproben (10 vor Behandlung und neun 18 Tage nach Beginn der Behandlung) wurden an die kooperierenden Zentren nach München (HMGU, BfS) versendet.

Der im Vorbericht geschilderte spread-assay (Testung der bestrahlungsveränderten Proliferations- und die Migrationsfähigkeit von Mundschleimhaut-Keratinocyten) wurde in Methodik und Auswertung optimiert. Seine methodische Validität und Ergebnisverwertung wird derzeit mit den Kooperationspartnern (CUB und LMU) überprüft. Zellüberstände bestrahlter und unbestrahlter Mundschleimhautkeratinocyten wurden asserviert und zur Bestimmung der Zeitkinetik eventueller Zytokinveränderungen den Kooperationspartnern (LMU) überlassen.

Arbeiten des UKF in AP4:

Zu Patientengewebe und Normalgewebsreaktionen vergleiche auch oben, AP3. 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:

Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch erfolgten im Berichtszeitraumes insbesondere auch während des vom UKF organisierten Konsortial-Treffens am 24. und 25.6. in Freiburg (s. auch Bericht des Sprechers, Prof. Dr. Zitzelberger).

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

Speichelproben, Serumproben und Tumorproben werden weiterhin entsprechend Studienprotokoll 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 weiterhin regelhaft durchgeführt. Überstände entsprechender spread-assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert. Schließlich sollen - als weitere Validierung der Radiosensitivität - bestrahlte Keratinocytenkulturen auf γ H2AX (BfS) analysiert werden.

In Zusammenarbeit mit Kollegen des HMGU sollen aus asservierten (verbliebene Zellkulturplatten) Keratinocyten - zunächst von Spendern, des Weiteren auch von Patienten - Veränderungen des Transkriptoms nach Bestrahlung erfasst werden; gegebenenfalls sind diese Ergebnisse dann zu klinischen Befunden zu korrelieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

In Bearbeitung.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 Brustkrebsdiagnose. 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: Von ca. 1.100 Mainzer Patientinnen (als lebend dokumentiert im Rahmen der PASSOS-Vorläuferstudie) waren 124 Frauen zum 31.06.2018 als verstorben gemeldet. Die Recherche zu den Todesursachen dieser verstorbenen Personen (Anfragen an Gesundheitsämter) wurde, einschließlich der standardisierten ICD-Codierung der Todesursachen, im Mai 2019 abgeschlossen.
- AP2a: Einrichten einer Projekt-Webseite zur Außendarstellung gegenüber Studienteilnehmerinnen (<https://www.unimedizin-mainz.de/imbei/eskara/>). Die Aussendung von Fragebögen zu kardialen Spätschäden (incl. Einwilligungserklärung, Patienteninformation) erfolgte am 15.06.2019. Adressatinnen waren diejenigen Frauen, die in der PASSOS-Vorläuferstudie ihr Einverständnis zu einer erneuten Kontakttierung erteilt haben und in AP1 als noch lebend identifiziert werden konnten. Von diesen (n=398) haben bis zum 15.7. ca. 61 % den Fragebogen ausgefüllt und an das Studienzentrum Mainz zurückgesendet.
- AP2b: Absprachen mit dem Krebsregister Baden-Württemberg.
- 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.
 - Dosimetrie der Fälle und Kontrollen aus Mainz abgeschlossen. Dosimetrie Fälle und Kontrollen aus Ulm weitgehend abgeschlossen.
 - 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.
 - Beginn des Transfers von DICOM-Daten über Online-Plattform, 33 abgeschlossen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: AP1 (Mainz) ist abgeschlossen. AP1 (Ulm) läuft derzeit. In Mainz: zentrale Organisation der Codierung von Todesursachen der verstorbenen Patientinnen aus Baden-Württemberg.
- AP2a: Aussendung von Erinnerungsschreiben an Non-Responder im September 2019. Zentrale Planung und Organisation dieses Arbeitsschrittes für Mainz und Ulm sowie zentrale Organisation der Dateneingabe von Fragebögen.
- AP2b: Sondierungsgespräche: Krebsregister Bayern. Das Record Linkage mit den drei in Frage kommenden Krebsregistern (Rheinland-Pfalz, Baden-Württemberg, Bayern) ist für 2020 geplant.
- AP3: Kontaktaufnahme mit den Strahlentherapien in Ostfildern-Ruit, Heidenheim und Villingen-Schwenningen zwecks Record Linkage zwischen Netzwerkklinik-Gynäkologien und Strahlentherapie-Kliniken mit anschließender Rekrutierung der Strahlentherapiepatienten für Fälle und Kontrollen mit Primärtherapie.
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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 kardialem 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: Der Vitalstatusabgleich/Adressabgleich über die Einwohnermeldeämter in Ulm und den 16 externen Zentren ist abgeschlossen (insgesamt ca. 8400 Patientinnen); bei „neu“ verstorbenen Patientinnen erfolgt aktuell die individuelle Todesursachen-Recherche über die zuständigen Gesundheitsämter. Anfragedatum am 27.05.2019 (1209 Patientinnen bei 70 Gesundheitsämtern) – bisheriger Rückantworten von 44 Gesundheitsämtern; es zeigt sich das Problem, dass einige Gesundheitsämter Unbedenklichkeitserklärungen der Ministerien fordern (von Bayern wurde diese erteilt, von Baden-Württemberg aktuell noch ausstehend); Versand der Patientenbefragungen zu Zweitmalignomen und kardialen Ereignissen an Patienten erfolgt, welche im Rahmen der Passos-Herzstudie einer erneuten Befragung zugestimmt hatten (Versand der Fragebögen am 05.06.2019 an 1868 Patienten)
- 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-HerzAtlas. Für insgesamt 400 Patienten Herz mit Teilstrukturen Myokard, linke/rechte Herzvorderwand, Aortenklappe, Pulmonal-klappe, Reizleitungssystem, Lunge konturiert und Dosisvolumenhistogramme erstellt (Stand Juli 2019). Für insgesamt 400 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. Vierhundert anonymisierte Bilddatensätze sowie Bestrahlungsplandaten von Ulm nach Mainz transferiert. Konturierungsanleitung für die Segmentierung der Lunge erstellt. Lunge Rechts/Links/Gesamt für 400 Patienten konturiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1+2: Nachfrage bei Gesundheitsämtern, bei denen Rückantworten noch ausstehen; Dokumentation Rücklauf der Todesbescheinigungen und Versand zur Todesursachencodierung; Dokumentation: Eingang Patientenfragebogen und Einwilligungserklärung; Nachfrage bei Patientinnen, wenn Einwilligung fehlt oder unvollständig ausgefüllt; zweite Anfrage geplant Q4/2019 an Patientinnen, von denen keine Rückmeldung erfolgt ist und Dokumentation; Datenbankbereinigung
Stelle der med. Dokumentarin seit 01.07.2019 nicht besetzt (durch studentische Hilfskraft derzeit kompensiert), Nachbesetzungsausschreiben läuft
- AP3: Abschluss 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. Abschluss des Exportes der Daten an Projektpartner Mainz. Vorauswertung der Daten für Publikation.

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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 ersten Halbjahr 2019 wurden umfassende Untersuchungen zur Bestrahlung der sich entwickelnden zerebralen Organoiden (enCORs) durchgeführt. In der FAIR-Phase 0 konnten jeweils 10 Organoiden pro Dosis am Synchrotron SIS18 bestrahlt werden. Die Bestrahlung erfolgte mit Kohlenstoffionen unter Therapiebedingungen (Spread-Out Bragg Peak; SOPB, LET von 60-100 keV/μm) in einem Dosisbereich von 0.5 bis 4

Gy. Ein weiterer Bestrahlungszyklus wurde am SIS18 mit 1 GeV/u Eisen-Ionen (1550 MeV/(g/cm²)) in einem Dosisbereich von 0,5 bis 1 Gy durchgeführt. Als Referenz zur Partikelstrahlung wurden n=9 unabhängige Versuchsexperimente an der GSI im Zeitraum von März 2019 bis Juni 2019 durchgeführt und Organoide mit 1 bis 8 Gy Röntgenstrahlen exponiert. Erste morphologische Vergleiche zeigen eine dosisabhängige Wachstumsverzögerung der bestrahlten Organoide für alle Strahlenarten. Dies konnte durch eine unterschiedlich hohe Stoffwechselrate bestätigt werden. Organoide, die mit höheren Dosen bestrahlt wurden, wiesen darüber hinaus statt des radialen Neuroepithels Flüssigkeits-gefüllte Kavitäten auf, die möglicherweise auf die Entstehung einer strahleninduzierten Gewebnekrose hindeuten, wie sie insbesondere bei pädiatrischen Krebspatienten noch Monate nach Abschluss der Strahlentherapie auftreten können (Kralik et al., 2015, AJNR Am J Neuroradiol 36, 1572-1578). Umfassende immunzytochemische und molekularbiologische Untersuchungen werden zurzeit durchgeführt, um die durch die Strahlung hervorgerufenen Schäden/Effekte detailliert charakterisieren zu können.

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Nanobiosystemtechnik der TU Ilmenau wurden erste Prototypen von PLGA- und Polycarbonat-Kopolymerstrukturen hergestellt, um die Generierung der Organoide reproduzierbarer zu gestalten. Ein sechswöchiger Gastaufenthalt eines Doktoranden der TU Ilmenau im Februar/März hat die Möglichkeiten der nutzbaren Polymerstrukturen eingegrenzt. Diese Erkenntnisse haben Einfluss genommen auf die Anfertigung einer Masterarbeit einer Studentin der TU Ilmenau, die schon Vorversuche im Rahmen der GSI Summer School 2018 durchgeführt hat. Sie hat Anfang Juni ihre Arbeiten zur Generierung von enCORs mit den neuen Polymerstrukturen an der GSI begonnen.

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

4. Geplante Weiterarbeiten

Nach Rücksprache mit Prof. J. Debus, welcher als ärztlichen Direktor der Klinik für Radioonkologie und Strahlentherapie des Universitätsklinikums Heidelberg, dem Projektvorhaben beratend zur Seite steht, sollen im zweiten Halbjahr die in den Strahlungsversuchen beobachteten Gewebnekrose-artigen Phänomene genauer untersucht werden, da es sich hier um eine schwere Nebenwirkung der Strahlentherapie von Kindern mit CNS Tumoren handelt. Weitere Bestrahlungsversuche mit konventioneller Röntgenstrahlung in Verbindung mit den Chemotherapeutika Cisplatin und Temozolomid werden an der GSI durchgeführt. Am Heidelberger Ionen-Therapiezentrum (HIT) sind Versuche unter Partikeltherapiebedingungen genehmigt worden und sollen ab September 2019 stattfinden.

Außerdem werden die Experimente zur besseren Reproduzierbarkeit/Automatisierung der Organoidherstellung in Kooperation mit der TU Ilmenau fertiggestellt werden.

Da Generierung von Mikroglia aus hESZ nach einem Protokoll von Douvaras et al. (Stem Cell Reports, 2017) nicht erfolgreich war, sollen andere Differenzierungsprotokolle getestet werden, um auch den Einfluss von Immuntherapeutika in Kombination mit Strahlentherapien in den Organoiden testen zu können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Rebecca Lotz, Praktikumsbericht „Deriving cerebral organoids from human embryonic stem cells“, Research Lab Class Module, M.Sc. Biophysics, Goethe Universität Frankfurt (2019)

| | | |
|---|--|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 |
| 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 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 Chemotherapie, 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 ersten Halbjahr 2019 wurden die Arbeiten mit den von AP1 zur Verfügung gestellten Organoiden fortgesetzt. Hierbei stand die Etablierung einer Slice Kultur der Organoiden nach dem Protokoll von Giandomenico et al. (2019, Nature Neuroscience 22, 669-679) im Fokus der Arbeiten. Die Slices sollen anschließend die elektrophysiologische Ableitung ermöglichen und die Überlebensfähigkeit der Organoiden erhöhen. Die erste Anfertigung der Slices wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. mult. Andreas Bahmer vom Universitätsklinikum Würzburg durchgeführt. Die Überprüfung der Zellviabilität erfolgte durch Lebend / Tod Färbungen und zeigte, dass die Organoiden den Slice Prozess überleben und über einen Zeitraum von mehreren Wochen kultiviert werden können. Aufgrund dieser positiven Ergebnisse wurde ein eigenes Mikrotom mit vibrierender Klinge (Leica VT1200S) für das BioMEMS Labor erworben. In ersten Vorversuchen wurde das neue Gerät in Betrieb genommen und zur Anfertigung von Slices eingesetzt. Die Ergebnisse bestätigen die Beobachtungen aus dem ersten Versuch.

Des Weiteren wurden die Versuche mit den Neurosphären fortgeführt. Hierbei wurde die Wirkung des Chemotherapeutikums Cisplatin und des Antiepileptikums Levetiracetam auf die Funktionalität der Neurosphären untersucht. Die Auswahl der Medikamente erfolgte in Absprache mit Priv.-Doz. Dr. med. Mario Löhr (Leitender Oberarzt der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik; Sprecher des Neuroonkologischen Tumorzentrums Universitätsklinikum Würzburg). Es handelt sich hierbei um Medikamente, die im Rahmen einer Chemotherapie bei pädiatrischen Hirntumoren eingesetzt werden. Die Applikation beider Substanzen führte zu einer Dosis-abhängigen Reduktion der Netzwerkaktivität. Umfassendere Analysen, der bei diesem Experiment generierten Daten, werden derzeit durchgeführt.

Im vorangegangenen Projekt Pränatal (02NUK025C) wurde gezeigt, dass Neurosphären, die auf mit Röntgenstrahlung (1 Gy) exponierten embryonalen Stammzellen basieren, ein geringeres Aktivitätsniveau besitzen als entsprechende Kontrollkulturen. Um zu untersuchen ob dieser Effekt auch auftritt, wenn die Bestrahlung zu einem späteren Differenzierungsstadium erfolgt, wurden neurale Stammzellen mit vergleichbaren Strahlendosen exponiert und die überlebenden Zellen zur Herstellung der Neurosphären verwendet. Dabei zeigte sich, dass eine Exposition mit Röntgenstrahlung ebenfalls eine geringere Aktivitätsentwicklung bei den Neurosphären bedingt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im zweiten Halbjahr 2019 sollen funktionale Analysen der Organoid Slices durchgeführt werden. Zusätzlich zu den Standard MEAs und den CMOS-basierten HDMEAs, werden hierbei auch neue MEAs mit pyramidalen, drei-dimensionalen Elektroden zum Einsatz kommen. Zusätzlich dazu wurden neue Platingewichte bestellt, die eine homogene Druckverteilung auf die Slices ermöglichen. Die drei-dimensionale Struktur der Elektroden in Kombination mit den neuen Platingewichten soll die Ableitung der neuronalen Signale ermöglichen.

Des Weiteren werden die Experimente zur Auswirkung von Cisplatin und Levetiracetam auf die Funktionalität von Neurosphären fortgeführt. Hierbei sollen Dosis-Wirkungs-Kurven erstellt werden. Ferner soll untersucht werden, ob bestrahlte Neurosphären eine andere Reaktion auf diese Substanzen besitzen als Kontrollkulturen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Steffen Künzinger: Experimentelle und wirtschaftliche Untersuchung von neuen In-Vitro-Assays für die Medikamentensuche. Masterarbeit, Technische Hochschule Aschaffenburg, 2019

M. Mayer, O. Arrizabalaga, I. Schröder, S. Ritter, C. Thielemann: Human embryonic stem cell derived neurospheres – 2D and 3D cell culture in one sample. Front. Cell. Neurosci. Conference Abstract: MEA Meeting 2018, published online: 17 Jan 2019

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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: Mehrere Messungen an einem freiwilligen Probanden wurden mit einem verbesserten Messprotokoll im Heilstollen Bad Kreuznach durchgeführt. Weiterhin verbessert und in weiteren Messungen eingesetzt wurde das Setup zur Messung der Radon-Löslichkeit und –Diffusion verbessert. Eine Reihe von Maus-Expositionen in der Radonkammer wurden durch AP1 durchgeführt, ebenso Alpha-Bestrahlungen mit der Americium-Quelle. Ein Manuskript zur Radon-Löslichkeit wurde zur Publikation angenommen. Eine weitere Publikation zur Alpha-Bestrahlungsvorrichtung und ein Review über Radon wurden eingereicht.
- AP3: Humane Bronchialepithelzellen (NHBE) wurden mit Röntgen- oder Alphabestrahlungen bestrahlt und das Zellüberleben sowie die Induktion von Chromosomenschäden (mFISH-Analyse) bestimmt. Alphastrahlen waren deutlich effektiver als Röntgenstrahlen ($RBW \geq 2$). Weiterhin wurde eine Technik zur Differenzierung der NHBE etabliert und die Funktionalität des gebildeten Epithels anhand von Mukusproduktion und Zilienbewegung sowie der Expression von Markergenen verifiziert. Im Rahmen der RAD-ON02 Studie wurden 91 Blutproben für die semi-automatische Analyse von dizentrischen Chromosomen vorbereitet.
- AP4: Die Analyse von Gewebeproben aus Knie-OPs (Kooperation mit Prof. Rehart, Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) als Gewebe- und Zellkulturen nach Bestrahlung läuft weiter. Mit der Etablierung neuer Protokolle für die Untersuchung der Interaktion zwischen Adipozyten und Synovialen Fibroblasten (SF) wurde begonnen. Insbesondere der Einfluss der Adipokine auf die SF von „gesunden“ Trauma-Patienten und an muskuloskelettalen Erkrankungen leidenden Spendern soll dabei beleuchtet werden. Die Transkriptom-Analyse von bestrahlten Adipozyten (Zusammenarbeit R. Kriehuber, HZJ) ergab bei der Standardauswertung keine signifikanten Änderungen. Derzeit wird eine verbesserte Methode entwickelt, die die Größe des Datensatzes in die Auswertung miteinbezieht. Endothelzellen wurden in einer Helium-Ionen-Strahlzeit eingesetzt und die Arbeiten zu strahleninduzierter Seneszenz und Adhäsion mit AP6 weitergeführt. Frühe Änderungen in der OC-Differenzierung werden über qPCR-Analysen ermittelt. Für die automatisierte 3D-Auswertung von OC auf Knochen wird ein Programm entwickelt (Zusammenarbeit mit D. Eilenstein, AG Michael Scholz, GSI). In der RAD-ON02 Studie wurden die Proben des zweiten Zeitpunkts nach Therapie gesammelt, die IMMO-LDRT Studie läuft weiter.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die am Probanden ermittelten Messdaten in Bad Kreuznach müssen detaillierter ausgewertet und in Kontext zueinander gesetzt werden. Falls notwendig, sollen weitere Messungen durchgeführt werden. Nach Inbetriebnahme und Test des verbesserten Setups zur Radon-Löslichkeit und –Diffusion sollen weitere Messungen durchgeführt werden. Bestrahlungsservice für andere APs ist eingeplant.
- AP3: Die Untersuchungen zur Wirkung von Röntgen- und Alphastrahlen auf NHBE sollen auf einen weiteren Spender ausgedehnt werden. Weiterhin wird die RAD-ON02 Studie fortgesetzt.
- AP4: Neue Experimente mit hTNF- α - Mäusen in der Radonkammer werden, je nach Zuchterfolg, vorbereitet. Die Untersuchungen zur Strahlenantwort von Fettgewebe werden weitergeführt. Dabei wird der Fokus auf Freisetzung von pro-inflammatorischen Faktoren gelegt und die Interaktion mit SF untersucht. Die Transkriptomanalyse zur Funktionalität von Präadipozyten nach Bestrahlung läuft unter Entwicklung eines verbesserten Algorithmus. Potentielle Kandidatengene sollen vorab identifiziert und mittels PCR-Analyse verifiziert werden. In Endothelzellen wird der Einfluss von längerer Kultivierung, Zell-Alter und Strahlenqualität (Xray, alpha) auf Seneszenz weiter untersucht. Strahleninduzierte Änderungen in OC werden mit automatisiert in 3D Aufnahmen überprüft, sobald das Programm fertiggestellt ist. Eine Publikation der Daten wird vorbereitet. Das Sammeln und Auswerten der Proben der IMMO-LDRT Studie läuft weiter bis zur geplanten Fallzahl; die RAD-ON02 Studie läuft nach Zeitplan weiter mit AP3 und 5.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Elvira P. Sanjon, Andreas Maier, Annika Hinrichs, Gerhard Kraft, Barbara Drossel & Claudia Fournier: A combined experimental and theoretical study of radon solubility in fat and water. *Sci Rep* 9, Article number: 10768 (2019) <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47236-y>

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 letzten Halbjahr wurden schwerpunktmäßig mechanistische Studien zur beobachteten ineffizienten Reparatur nach niedrigen Strahlendosen durchgeführt. Vorangegangene Studien in kultivierten Zellen zeigten, dass die ineffiziente Reparatur von DNA Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach Niedrigdosis-Strahlung durch Radikale stimuliert werden kann (Grudzinski *et al.*, DOI: 10.1073/pnas.1002213107, Dissertation J. Mirsch). Wir vermuten, dass bei niedrigen Strahlendosen möglicherweise nicht genügend Radikale erzeugt werden, um die Reparaturprozesse vollständig zu aktivieren und so 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 mit der DNA-PK verwandt ist, ist auch bei dieser Kinase eine Aktivierung durch Radikale durchaus denkbar. Um die Aktivität der Kinasen zu beurteilen, wurde ihre Fähigkeit ausgenutzt, H2AX zu phosphorylieren (γ H2AX) und mittels der Immunfluoreszenzmikroskopie sichtbare γ H2AX-Foci zu bilden. 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). Experimentell konnten wir dies für hohe Strahlendosen bestätigen. Bei niedrigen Dosen hingegen nahm die Fähigkeit von DNA-PK (bei Inhibition von ATM) γ H2AX Foci zu bilden stark ab, während ATM (bei Inhibition von DNA-PK) noch zur Focusbildung in der Lage war. Die mangelnde Fähigkeit von DNA-PK, bei niedrigen Dosen H2AX zu phosphorylieren, könnte erklären, warum bei ebendiesen niedrigen Dosen keine Reparatur stattfindet.

Im Gegensatz zur Ausbildung der Foci, die redundant von beiden Kinasen erfolgen kann, hängt die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen maßgeblich von der DNA-PK ab. ATM spielt dabei eine untergeordnete Rolle und ist nur für spezielle Brüche notwendig. Dies konnte experimentell für hohe und niedrige Strahlendosen gleichermaßen bestätigt werden. Um eine direktere Korrelation zwischen der DNA-PK-Aktivität und dem Reparaturverhalten zu bekommen, überprüften wir im nächsten Schritt, ob man die Reparatur zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Bestrahlung aktivieren kann. Dazu behandelten wir die Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung mit H₂O₂, um das Radikallevel zu erhöhen, und analysierten die Anzahl der persistierenden γ H2AX Foci. Parallel dazu wurden die gleichen Experimente unter Inhibition von ATM durchgeführt und die Aktivität von DNA-PK über die Bildung von γ H2AX Foci analysiert. Tatsächlich konnten wir für alle analysierten Zeitpunkte feststellen, dass die Reparatur und die Aktivität von DNA-PK gleichermaßen durch eine H₂O₂-Behandlung verbessert werden konnte. Wir vermuten daher, dass die verminderte Aktivität der DNA-PK mit der ineffizienten Reparatur zusammenhängt. Allerdings sind weitere Experimente notwendig, um diesen Zusammenhang näher zu analysieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Niedrigdosis-Studien wurden bisher ausschließlich in fixierten Zellen durchgeführt, an denen man die Dynamik der Schadensentstehung und -reparatur nicht ablesen kann. Um dies näher zu charakterisieren, sollen zukünftig Niedrigdosis-Studien mittels der Lebendzellmikroskopie durchgeführt werden. Erste Etablierungsarbeiten zur Auswahl einer geeigneten Zelllinie wurden bereits durchgeführt. Diese werden mit der Etablierung geeigneter Mess- und Aufnahmeeinstellungen am Mikroskop sowie mit der Wiederholung von wichtigen Experimenten fortgesetzt.

Parallel zu der Durchführung der mechanistischen Studien werden die Vorbereitungen der Veröffentlichung zur Biodosimetrie nach Radonexposition fortgesetzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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 des Arbeitsprogramms stehen weiterhin Untersuchungen, die Einblicke in die Wirkung von ionisierender Strahlung auf Zellen des Immunsystems liefern sollen. In dem vorherigen Berichtszeitraum wurde gefunden, 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 zentraler Faktor für die Induktion aller Immunreaktionen in T-Zellen ist. In den folgenden (und noch laufenden) Arbeiten hat sich gezeigt, dass dieses Strahlungsinduzierte Ca^{2+} Signaling mit der Aktivierung einer Reaktionskaskade einhergeht, die den Einstrom von Ca^{2+} in Zellen reguliert. Wir konnten beobachten, dass nach Bestrahlung die molekularen Komponenten des CRAC/Orai Systems aktiviert werden. Dabei ist das Stromale Interaction Molekül (STIM) 1, das im ER lokalisiert ist, in der Lage den Ca^{2+} Ladungszustand im ER zu messen. Bei Ca^{2+} Bedarf induziert STIM1 den CRAC-Kanal in der Plasmamembran durch direkte Bindung an das Orai1 Protein in der Plasmamembran. Diese Sequenz an Ereignissen konnten wir in T-Zellen als Folge von Bestrahlung beobachten. Der zeitliche Ablauf der Ereignisse folgt in etwa der Strahleninduzierten Ca^{2+} Signalkaskade in den gleichen Zellen, sodass wir von einem kausalen Zusammenhang ausgehen können. Im zweiten Arbeitsprogramm soll die Wirkung von Radon auf die Schmerzweiterleitung untersucht werden. In vorhergehenden 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 einen Einfluss auf die Schmerzweiterleitung nimmt. Mithilfe von gezieltem einbringen von NMDA-Rezeptoren in CHO Zellen konnte eine erhöhte Radondosisdeposition in Zellsystemen mit NMDA Rezeptoren festgestellt werden. Zudem konnte durch Immunfärbungen von DNA Schäden im Gehirn von Radon behandelten Mäusen gezeigt werden, dass die Radondosisdeposition im Hippocampus der Dosisdeposition in der Lunge ähnelt. Somit konnte festgestellt werden, dass das Gehirn eines der am stärksten betroffenen Organe einer Radonbehandlung darstellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die laufenden Arbeiten zum Ca^{2+} Signaling in T-Zellen werden im folgenden Berichtszeitraum weitergeführt. In den kommenden Monaten werden wir die Experimente, die bisher in Jurkat Zellen durchgeführt wurden, an naiven T-Lymphozyten wiederholen. Wir werden ferner untersuchen, ob die gleiche Reaktionskaskade durch α -Strahlen induziert wird. In den nächsten Monaten werden im zweiten Teilprojekt die Effekte von äquivalenten Dosen Röntgenstrahlung in einem neuronalen Netzwerk (in vitro) mithilfe des Multi-Electrode-Arrays untersucht um herauszufinden, ob geringe Strahlendosen zu einer langfristigen verminderten Schmerzweiterleitung führen könnten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikation:

Tandl, D., Thiel, G. (2019): Ionizing radiation induces a cytosolic Ros/ Ca^{2+} -dependent signaling cascade in Jurkat t-lymphocytes. Annual Meeting of Biophys. Soc. USA. Baltimore

| | | |
|---|---|---|
| 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| 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-inflammatorischer, 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

In unseren bisherigen Untersuchungen ließ sich eine verminderte Expression bzw. Aktivität von antioxidativen Faktoren in Endothelzellen oder Leukozyten mit einer erhöhten Menge an metabolischen ROS und einer verminderten Leukozytenadhäsion 24 h nach Bestrahlung mit Dosen zwischen 0,1 und 0,7 Gy korrelieren. Dieser Zusammenhang ergab sich sowohl nach Photonen- als auch nach Schwerionenbestrahlung (Kohlenstoff-/Heliumionen). Die bisherige Messung der Leukozytenadhäsion an einen Endothelzell-Monolayer (Ea.hy926 Zellen) erfolgte dabei unter Schütteln bei 4 °C für 25 min. Zur Untersuchung des Einflusses des anti-oxidativen Systems auf die Leukozytenadhäsion an mit Schwerionen bestrahlte Endothelzellen unter physiologischeren Bedingungen wurde in Kooperation mit dem Projektpartner an der GSI in Darmstadt (AP1) die Expression der antioxidativen Enzyme Catalase, Glutathionperoxidase 1 (GPx1), Superoxiddismutase 1 (SOD1) und deren Transkriptionsfaktor Nrf2 sowie die intrazelluläre ROS-Menge in adulten humanen mikrovaskulären Endothelzellen (HMVEC) (Task 25) unter Scherstress untersucht. Dazu wurde die im Rahmen von GREWIS vom Projektpartner GSI in Darmstadt entwickelte Flow Chamber angewendet und die Expression der Faktoren und der ROS-Gehalt in HMVEC unter Laminarbedingungen mit denen unter statischen Bedingungen nach Bestrahlung mit Heliumionen im Bereich zwischen 0 und 1 Gy mittels quantitativer Real-Time PCR (qPCR) bzw. Durchflusszytometrie untersucht. Zudem wurden in einer weiteren Strahlzeit mit Kohlenstoffionen in Kooperation mit der GSI die mRNA-Expression von Catalase, GPx1, SOD1 und Nrf2 und der ROS-Gehalt von HMVEC unter statischen Bedingungen untersucht. Der Vergleich mit laminaren Bedingungen gelang hier aus methodischen Gründen nicht. Im nächsten Berichtszeitraum werden die Ergebnisse der qPCR mit den statischen und laminaren Adhäsionsdaten von AP1 verglichen und korreliert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im Verlauf des Verbundprojekts GREWISalpha werden weiterhin Patientenproben im Rahmen der IMMO-LDRT01 und der RADON-02 Studien durch die Projektpartner in Erlangen (AP5) gesammelt und nach Frankfurt transferiert, wo im Rahmen der Erstellung einer RNA und cDNA-Bank RNA isoliert und in cDNA umgeschrieben wird. Die Asservierung der RNA und cDNA erfolgt in Frankfurt. Weiterhin wird die Expression der für antioxidative Enzyme kodierenden Gene und ihres Expressionsfaktors Nrf2 in Patientenproben, Leukozyten von gesunden Spendern und in murinen Modellen nach Bestrahlung in Kooperation mit Erlangen und der GSI in Darmstadt untersucht werden (Task 23). Des Weiteren sollen funktionelle Studien in Form von Adhäsionsexperimenten *in vitro* und *in vivo* nach niedrig dosierter Strahlentherapie mit den Ergebnissen der Expressionsanalysen korreliert werden (Task 23, 25, 26).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum wurden folgende Arbeiten publiziert:

Müller-Längle A, Lutz H, Hehlhans S, Rödel F, Rau K, Laube B: NMDA Receptor-Mediated Signaling Pathways Enhance Radiation Resistance, Survival and Migration in Glioblastoma Cells - A Potential Target for Adjuvant Radiotherapy. *Cancers* (Basel) 2019;11(4). pii: E503

Hehlhans S, Dilovic E, Oppermann J, Fournier C, Rödel C, Rödel F: Niedrigdosisbestrahlung moduliert die Expression anti-oxidativer Enzyme in Leukozyten und ihre Adhäsion an Endothelzellen. Abstract bei der 25. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie, Münster, 2019; *Strahlenther Onkol* 2019;195, Supplement 1: S92

| | | |
|---|---|---|
| Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 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: 01.01.2019 bis 30.06.2019 | |
| Gesamtkosten des Vorhabens: 694.760,00 EUR | Projektleiter: Prof. Dr. Gaipf | |

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

Die bisher erhobenen immunologischen Daten der IMMO-LDRT01 Studie, sowie der RAD-ON01 und RAD-ON02 Studie wurden auf dem *39th European Workshop for Rheumatology Research (EWRR)* Kongress in Lyon und auf der DEGRO Jahrestagung in Münster präsentiert. Im Rahmen zweier zahnmedizinischer Doktorarbeiten wurden erste Zytokinanalysen mit den in die hauseigene Biobank eingelagerten Serum-Proben der IMMO-LDRT01 Patienten durchgeführt. Im selben Rahmen wurden auch die Patienten-Fragebögen der IMMO-LDRT01 und RAD-ON02 Studien hinsichtlich der Lebensqualität und Schmerzlevel ausgewertet. Um die im murinen Modell generierten Daten (siehe unten) im humanen System nachzuvollziehen, wurde ein Zellkultursystem für die Kultivierung humaner Osteoklasten etabliert. Die erste Hälfte der RAD-ON02 Studie wurde erfolgreich durchlaufen. Ein Fachartikel zur Studie wurde außerdem im Mai 2019 im *Naturheilkunde Journal* veröffentlicht. Des Weiteren konnte der Assay zur Immunphänotypisierung erfolgreich als Paper in *Methods in Enzymology* veröffentlicht werden. Zum Einfluss von Strahlung auf Makrophagen wurden im Berichtszeitraum zwei weitere Arbeiten begonnen: eine Bachelorarbeit (experiment. Teil abgeschlossen) sowie eine zahnmedizinische Doktorarbeit (03/2019). Hier wurden nun zusätzlich funktionelle Analysen zur Freisetzung von iNOS als ein entzündlicher sowie Arginase als ein anti-entzündlicher Makrophagenmarker durchgeführt und begonnen den Einfluss von Röntgenstrahlung auf Knorpelgewebe zu untersuchen. Die Arbeiten zur Makrophagenpolarisierung wurden überarbeitet und beim *Journal of Immunology Research* eingereicht. Die Röntgenstrahlungs-Versuche mit dem Serumtransfermodell wurden abgeschlossen. Es zeigte sich, dass im Mausmodell ähnliche immunologische Auswirkungen von Strahlung wie im Patienten beobachtet werden, wie etwa die Reduktion der B und T Zellen sowie ein Anstieg der Eosinophilen im peripheren Blut. Im Knochenmark der behandelten Tiere wurde beobachtet, dass eine Verschiebung von CD8+ zytotoxischen T Zellen hin zu CD4+ T Helferzellen nach LD-RT stattfindet. Die beiden zahnmed. Doktorarbeiten, welche sich mit der näheren Charakterisierung der verwendeten hTNF- α tg Mäuse sowie daraus isolierten Synovialfibroblasten beschäftigen, werden experimentell bis Ende des Jahres abgeschlossen sein. Um die im Konsortium gemeinsam durchgeführten Tierversuche weiter zu optimieren, wurden in Zusammenarbeit mit AP6 (Rödel/Hehlgans) Protokolle etabliert, mit deren Hilfe RNA aus peripherem Mäuseblut auch zu einem späteren Zeitpunkt in ausreichender Menge und Qualität isoliert werden kann. Die Arbeiten mit den Tiermodellen wurden auf dem *EWRR*, zu dessen Teilnahme erfolgreich Reisestipendien erhalten wurden sowie auf der DEGRO im Rahmen eines Abstractsvortrags und eines Übersichtsvortrags in der Session „Gutartige Erkrankungen“ in Zusammenarbeit mit Frau Hehlgans (AP6) präsentiert. Der zur ACR/ARP Annual Conference in Atlanta eingereichte Beitrag zu systemischen Immunveränderungen nach Strahlungsexposition von Serumtransfermäusen mit entzündlichem Phänotyp wird im November 2019 vorgestellt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die bereits analysierten Daten der IMMO-LDRT01 und der beiden RAD-ON Studien werden im September 2019 als Vortrag auf der DeGBS Jahrestagung in Mannheim präsentiert. Im Rahmen der oben genannten medizinischen Doktorarbeiten sollen weitere Untersuchungen mit den Serum-Proben der LDRT01 Patienten durchgeführt werden. Diese Analysen werden dann ebenfalls mit den Serum-Proben der RAD-ON02 Patienten durchgeführt, um die Wirkmechanismen beider Therapieformen zu vergleichen. Der Phänotyp humaner Osteoklasten nach Bestrahlung wird charakterisiert. Hierbei sollen Zellen gesunder Spender mit denen von Spendern mit chronisch-degenerativen Erkrankungen verglichen werden. Im November 2019 startet die zweite Hälfte der RAD-ON02 Studie, wo dann die ehemalige Placebo-Gruppe und die Radon-Gruppe miteinander getauscht werden. Des Weiteren soll der Assay der Immunphänotypisierung um weitere Oberflächenmarker ergänzt werden, um unter anderem T Zellen noch detaillierter zu charakterisieren. Die Daten der Immunphänotypisierungen, welche im Rahmen der ersten Hälfte der RAD-ON02 Studie gewonnen wurden, sollen ausgewertet werden. Aufbauend auf der IMMO-LDRT01 Studie, wird damit begonnen eine Placebo-kontrollierte LDRT Studie zu planen. Die osteoimmunologischen longitudinalen Analysen der hTNF- α tg Mäusen nach Strahlungsexposition werden fortgeführt. Um Vergleiche zwischen den mit Röntgenstrahlung behandelten Tieren des Serumtransfermodells und einer Radonbehandlung zu haben, ist ein Radonversuch für September 2019 geplant. Da sich in den osteoimmunologischen Analysen Unterschiede zwischen Einfach- und Doppelbestrahlung sowie weiblichen und männlichen Tieren gezeigt haben, sollen die Versuche zur Osteoklastendifferenzierung sowie Makrophagenpolarisation dahingehend erweitert und ergänzt werden. Der GREWIS-alpha Tierversuchsantrag soll nach einem Zusammentreffen der daran beteiligten Gruppen Ende Juli ebenfalls fertig gestellt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

(1) Donaubaue et al., *Naturheilkunde Journal*. 2019 May; (2) Donaubaue et al., *Methods in Enzymology* 2019 April

3 Verzeichnis der Forschungsstellen

| | | |
|-------------|---|-----|
| | Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg | |
| 02 NUK 047F | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F | 136 |
| | Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter | |
| 02 NUK 035D | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D | 88 |
| 02 NUK 045B | Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B | 122 |
| 02 NUK 047B | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B | 128 |
| | Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin | |
| 02 NUK 047E | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E | 134 |
| | Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade | |
| 02 NUK 036B | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B | 94 |
| | 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 | 36 |
| 02 NUK 043A | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A | 114 |
| 02 NUK 053A | Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A | 60 |
| | Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen | |
| 02 NUK 034D | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D | 80 |
| 02 NUK 050E | Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E | 154 |
| | 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 | 54 |

| |
|--|
| GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt |
|--|

- 02 NUK 034C Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C  78
- 02 NUK 037A Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A  100
- 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  142
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A  146

| |
|---|
| 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  46
- 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  52
- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  62

| |
|---|
| 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  68

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  104
- 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  32
- 02 NUK 045A Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A  120
- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  126

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  66

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  144

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: Dichtegeliebene 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  92
- 02 NUK 036C Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  96

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  152

- | | |
|---|---|
| Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz | |
| 02 NUK 042B | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B 📖 108 |
| 02 NUK 044B | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B 📖 42 |
| Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München | |
| 02 NUK 047C | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C 📖 130 |
| 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 📖 102 |
| 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 📖 110 |
| Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover | |
| 02 NUK 044A | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A 📖 40 |
| 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 📖 50 |
| Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz | |
| 02 NUK 035E | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E 📖 90 |
| 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 📖 58 |
| 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 📖 34 |

| |
|---|
| 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  30
- 02 NUK 053C Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C  64

| |
|---|
| 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  26

| |
|--|
| Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt |
|--|

- 02 NUK 034A Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A  74
- 02 NUK 034B Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B  76
- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  98
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  112
- 02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B  148
- 02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C  150

| |
|--|
| 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 Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  86
- 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  44

| |
|--|
| 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  38
- 02 NUK 045C Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C  124

| |
|---|
| 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  56

| |
|--|
| Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken |
|--|

- 02 NUK 035A Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  82

| |
|--|
| 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  48

| |
|--|
| 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  118

| |
|---|
| Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm |
|---|

- 02 NUK 048B Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  140

| |
|---|
| Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen |
|---|

- 02 NUK 043B Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  116
- 02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  132

| |
|--|
| Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg |
|--|

- 02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  72
- 02 NUK 035B Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  84

| |
|--|
| Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz |
|--|

- 02 NUK 042A Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  106
- 02 NUK 048A Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  138