

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

PTE-N Nr. 22

BMBF geförderte FuE zu
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Juli - 31. Dezember 2020

Projekträger Karlsruhe (PTKA)
Entsorgung

April 2021

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) 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.

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	Formalisierte Zwischenberichte	11
2.1	SICHERHEITSFORSCHUNG FÜR KERNREAKTOREN.....	11
2.2	SICHERHEITSFORSCHUNG ZUR NUKLEAREN ENTSORGUNG.....	19
2.3	STRAHLENFORSCHUNG.....	73
3	Verzeichnis der Forschungsstellen	165

1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

- | | | | |
|--------------------|--|---|------|
| 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 | 📖 12 |
| 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. | 📖 14 |
| 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 | 📖 16 |

1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

- | | | | |
|--------------------|---|---|------|
| 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 Heidelberg | 📖 20 |
| 02 NUK 044B | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt B | Johannes Gutenberg-Universität Mainz | 📖 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 | TU Dresden | 📖 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 | Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V. | 📖 26 |
| 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 | 📖 28 |
| 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 | 📖 30 |
| 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. | 📖 32 |

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	 34
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	 36
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.	 38
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A	Forschungszentrum Jülich GmbH	 40
02 NUK 053B	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	 42
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)	 44
02 NUK 053D	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D	Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ	 46
02 NUK 053E	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E	Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ	 48
02 NUK 056A	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	 50
02 NUK 056B	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B	Forschungszentrum Jülich GmbH	 52
02 NUK 056C	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	 54
02 NUK 056D	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D	TU Berlin	 56

02 NUK 056E	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E	Universität Bremen	📖 58
02 NUK 059A	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 60
02 NUK 059B	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 62
02 NUK 059C	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C	Universität Heidel- berg	📖 64
02 NUK 059D	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 66
02 NUK 059E	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E	Friedrich-Alexander- Universität Erlan- gen-Nürnberg	📖 68
02 NUK 059F	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F	Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 70

1.3 Strahlenforschung

02 NUK 032	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 74
02 NUK 035A	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Universität des Saarlandes	📖 76
02 NUK 035B	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 78
02 NUK 035C	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	TU Dresden	📖 80
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter	📖 82
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	📖 84
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	Elbe Kliniken Stade-Buxtehude	📖 86
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	📖 88
02 NUK 036D	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	TU Darmstadt	📖 90
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	📖 92
02 NUK 042A	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 94

02 NUK 042B	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 96
02 NUK 042C	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen	📖 98
02 NUK 042D	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	TU Darmstadt	📖 100
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 102
02 NUK 043B	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	📖 104
02 NUK 047A	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 106
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	📖 108
02 NUK 047C	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	Klinikum der Universität München	📖 110
02 NUK 047D	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Universitätsklinikum Essen	📖 112
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Charité - Universitätsmedizin Berlin	📖 114
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	📖 116
02 NUK 048A	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 118
02 NUK 048B	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	Universität Ulm	📖 120
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	📖 122

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	 124
02 NUK 050A	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH	 126
02 NUK 050B	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B	TU Darmstadt	 128
02 NUK 050C	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C	TU Darmstadt	 130
02 NUK 050D	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D	Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main	 132
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg	 134
02 NUK 054A	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH	 136
02 NUK 054B	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	 138
02 NUK 054C	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C	TU Darmstadt	 140
02 NUK 055A	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A	Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Jena	 142
02 NUK 055B	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	 144
02 NUK 055C	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C	TU Dresden	 146

02 NUK 057A	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 148
02 NUK 057B	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B	TU Dresden	📖 150
02 NUK 057C	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C	Universität Hannover	📖 152
02 NUK 057D	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D	VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V.	📖 154
02 NUK 057E	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 156
02 NUK 058A	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A	Universität Heidelberg	📖 158
02 NUK 058B	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B	Universität des Saarlandes	📖 160
02 NUK 058C	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 162

2 Formalisierte Zwischenberichte

2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 Integraleexperimente zur Untersuchung der Zweiphasenstabilität vorgesehen. Unter Anwendung dieser erhaltenen Daten erfolgt die umfassende Bewertung der Stabilität des zweiphasigen Naturumlaufs mit der RAM/ROM-Methodik der nichtlinearen Stabilitätsanalyse.

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

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

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*: abgeschlossen
 AP2*: Die Versuchsanlage wurde einer Revision unterzogen. Das Massenspektrometer weist beim Einsatz in Wasserdampf infolge Eindringen von Kondensat Schwierigkeiten auf, was zu längeren Trocknungszeiten des Systems nach der Messung führt. Die experimentellen Untersuchungen zur Anwesenheit nichtkondensierbarer Gasen wurden fortgeführt. Erste Ergebnisse zeigen eine Schichtung der Gase (Stickstoff, Helium, Wasserdampf) im Versuchsraum.
 AP3*: Das an das ATHLET-GENEVA-Modell angepasste Naturumlauf-ROM wurde mit dem Bifurkationscode MatCont gekoppelt. Die Komplexität der Modellierung verursacht allerdings trotz der Modellordnungsreduktion einen hohen Rechenaufwand. Die Verfolgung dieser Bifurkation innerhalb des Parameterraumes der Eintrittsenthalpie und der Wärmestromdichte ergibt allerdings nur Datenpunkte in der Nähe des Referenz-Betriebspunktes. Bei der numerischen Integration verschiedenster Betriebspunkte im Zeitbereich erhält man plausible Stabilitätscharakteristiken, ob im stabilen oder instabilen Bereich des Hopf-Bifurkationspunktes. Dieses Stabilitätsverhalten deckt sich annähernd mit dem des ATHLET-Datensatzes und grob mit dem der GENEVA-Versuchsanlage. Der ATHLET-Datensatz zur Berücksichtigung nichtkondensierbarer Gase beim Kondensationswärmeübergang wurde überarbeitet. Aussagen hierzu können erst nach Abschluss der experimentellen Untersuchungen gemacht werden.
 AP4*: Ein an die Versuchsanlage INKA angelehntes vereinfachtes ATHLET-Modell, welches auch die Annahmen des Naturumlauf-ROM erfüllt, wurde erstellt. Im Vergleich zu den experimentellen liegen erhebliche Abweichungen vor. Eine Stabilitätsuntersuchung ist nicht möglich, da zu wenig geeignete Datenpunkte vorliegen.
 AP5*: Die Erarbeitung des Abschlussberichtes wurde begonnen.

Die bisher durchgeführten Arbeiten sind in einem separaten Tätigkeitsbericht dargestellt, der diesem Zwischenbericht als Anlage beigefügt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2*: bis 03/2021: Abschluss der Kondensationsexperimente
 AP3*: bis 09/2021: Überprüfung der ATHLET-Modelle zu nichtkondensierbaren Gasen anhand der Ergebnisse der Kondensationsexperimente
 AP5*: ab 09/2021: Finalisierung des Abschlussberichtes

Die Arbeiten der GRS werden entsprechend dem im Angebot fixierten Schwerpunkten in der folgenden Aufstockungsphase weitergeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

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 31.12.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
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, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Modellbildung, Arbeiten zur Vorbereitung der Experimente und Simulationen

AP2: Vorbereitung und Durchführung der Experimente

AP3: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Durchführung von Simulationen

AP4: Validierung der Modelle und Methoden

AP5: Abschlussbericht

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: Es wurde die Neukonstruktion der COSMEA-Versuchsstrecke mit drallfreier Sekundärkühlung und erweiterter Thermo-Instrumentierung im Außenrohr und Strömungsgleichrichter im Innenrohr fertiggestellt. Die Versuche wurden durchgeführt. Die Nachbearbeitung ist fast abgeschlossen und der erste Ergebnisentwurf wurde bereits an andere Projektpartner verteilt.
- AP3: CFD: Es wurde der neue cfd-Setup für die Modellierung der neuen Konstruktion des Versuchsstandes COSMEA vorbereitet. Die ersten Simulationen zur Modellierung der Kondensation in der Primärseite wurden bereits durchgeführt.
ATHLET: Es wurden die COSMEA-Experimente aus dem Jahr 2018 modelliert. Zur Berücksichtigung der Wirkung der Drallelemente wird ein Korrekturfaktor angewendet. Mit dieser Anpassung wurden die Rechnungen wiederholt und es wurde eine deutlich bessere Übereinstimmung mit den Messergebnissen erzielt.
- AP4: Das entwickelte CFD-Modell für die Kondensation im Rohrinnen wurde verwendet, um einen Test von GENEVA zu simulieren, bei der Kondensation an der Außenseite des geneigten Rohrs auftritt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Vorbereitung und Durchführung der Experimente.
- AP2: CFD-Simulationen für die Experimente mit geringem Gasanteil (2020-er Experimentalserie).
Durchführung und Abschluss der ATHLET Nachrechnungen zu den aktuellen COSMEA Experimenten.

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, Nuclear Engineering and Design 2020, 361, ISSN 0029-5493
- Moonesi, A. et al.: Flow morphology and heat transfer analysis during high-pressure steam condensation in an inclined tube part II: Numerical investigations, Nuclear Engineering and Design 2020, 362, ISSN 0029-5493
- Moonesi, A. et al.: Modelling of passive heat removal systems: A review with reference to the Framatome BWR reactor KERENA: Part I, Energies 2020, 13, 35
- 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, Energies 2020, 13, 109

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 31.12.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
Gesamtkosten des Vorhabens: 494.528,40 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Leyer

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Passive Wärmeabfuhrsysteme sind Teil des Sicherheitssystems vieler Anlagen der Generation III, finden sich aber auch schon in Generation II Reaktoren. Ihr Vorteil ist die Unabhängigkeit von externen Energiequellen bzw. von I&C-Systemen. Demnach können diese Systeme auch bei Station-Black-Out Szenarien den Reaktor kühlen und damit die Barrieren zum sicheren Einschluss von radioaktivem Material gewährleisten. Allerdings zeigen Störfälle wie in der Anlage Fukushima Daiichi wie wichtig eine sorgfältige Auslegung passiv tätiger Systeme ist. Ziel des PANAS Vorhabens ist die Beschaffung der physikalischen Grundlagen für passive Nachzerfalls-Wärmeabfuhrsysteme, um diese in numerisch berechenbare Korrelationen zu übersetzen, die dann in thermohydraulische Codes eingearbeitet werden können. Ein zentraler Punkt ist die Beschreibung des Wärmeeintrags, da passive Wärmeabfuhrsysteme durch den Dichteunterschied, der durch die Erwärmung bzw. Abkühlung des Kühlmediums hervorgerufen wird, angetrieben werden. Die Modellierung des Wärmeeintrags ins passive System bzw. der Wärmeaustausch zwischen den Phasen des Kühlmediums im stationären bzw. transienten Betrieb ist die zentrale Fragestellung des Teilprojektes PANAS D. Damit ist das Teilprojekt direkt mit den experimentellen Vorhaben im Rahmen des Verbundprojektes verknüpft.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das PANAS Teilprojekt D behandelt die Modellierung der statischen und transienten Wärmeübertragungsvorgänge einer Zweiphasen-Wasser-Dampf-Strömung sowie die Wärmeübertrager-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 Fluiddynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

- Arbeitspaket: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen
- Arbeitspaket: Evaluieren 1D dynamisch thermischen Modellen sowohl im stabilen als auch im transienten Zustand mit ATHLET aufgrund der Daten der GENEVA und COSMEA Teststände
- Arbeitspaket: Vergleich des Simulationsresultats mit dem Messergebnis und Analysieren des physikalischen Hintergrund für Kondensationsmodelle

- Arbeitspaket: Verbesserung der ATHLET Kondensationsmodelle im Hinblick auf vorhandene Zweiphasenströmungs- Instabilitäten und transienten Modellen. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch statischer und thermisch dynamischer Kopplungen.
- Arbeitspaket: Beurteilung der Implementierbarkeit von zeitabhängigen Wärmeübergangs-Mechanismen in bestehende Programm-Strukturen

Der Terminplan wurde an die Änderungen im PANAS Projekt angepasst. Die Arbeiten des aufgestockten PANAS Projekts sind in 6 Arbeitspakete unterteilt:

- Arbeitspaket: Literaturstudium zu sekundärseitigen Wärmeübergangsmodellen und Mehrrohr-Effekten.
- Arbeitspaket: Auswahl anwendbarer Wärmeübertragungsmodelle aus der Literatur für unterschiedliche Arbeitsbedingungen und deren Verwendung in ATHLET-Simulationen der Sekundärseite.
- Arbeitspaket: CFD-Simulation der Sekundärseite des Wärmetauschers in ANSYS CFX.
- Arbeitspaket: Entwicklung der Simulation unter Berücksichtigung der Möglichkeit der Verdunstung um die Kondensationsrohre
- Arbeitspaket: CFD-Simulation des adiabatischen Siedens in Steigrohren
- Arbeitspaket: Validierung von Simulationen anhand der Experimente

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

PANAS Projekts bis 2019: Die Arbeitspakete sind erfolgreich abgeschlossen. Ein neues Modell wurde auf basierende COSMEA Datei mit der Regressionsmethode entwickelt. Die Nachrechnungen der COSMEA Experimente zeigte deutliche verbesserte Übereinstimmung zwischen experimentalen und verrechneten Daten.

Erweiterung des PANAS Projektes seit 2020: Das Arbeitspaket 1 und 2 wurde abgeschlossen. Eine umfassende Literaturstudie unter Berücksichtigung aller möglichen Wärmeübertragungsphänomene auf der Sekundärseite des Notkondensators wurde durchgeführt und die anwendbaren Modelle im Betriebsbereich der Sekundärseite der COSMEA-Testanlage ausgewählt. ATHLET-Simulationen der COSMEA-Anlage unter Berücksichtigung der Primär- und Sekundärseite sowie der Auswirkungen der Primärseite auf den Wärmewiderstand der Sekundärseite wurde durchgeführt. Die Simulationsergebnisse bestätigen die Notwendigkeit der Entwicklung verbesserter Wärmeübertragungsmodelle. Arbeitspaket 3 wurde begonnen. Eine 3D-CFD-Simulation der Sekundärseite der COSMEA-Testanlage in ANSYS CFX wurde durchgeführt, und die ersten Ergebnisse der Temperaturverteilung und des Wärmeübergangskoeffizienten auf der Sekundärseite wurden erzielt. Die Ergebnisse zeigen eine bessere Übereinstimmung zwischen experimentellen und numerisch vorhergesagten Wärmeübertragungsraten.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den nächsten Schritten werden die CFD Simulation und die damit verbundenen thermischen Analysen auf den gesamten Betriebsbereich des Notkondensators erweitert. Dies schließt auch die Untersuchung der Strömungsdynamik unter Berücksichtigung der Möglichkeit von Siedevorgängen auf der Sekundärseite mit ein. Neben der Untersuchung des Wärmeübergangs am Notkondensator werden auch weiterführende Untersuchungen zum instabilen Betrieb des Gebäudekondensators durchgeführt. Für die Weiterentwicklung des Adiabaten Siedemodells für ATHLET ist die Erweiterung der verfügbaren Experimentellen und numerischen Daten notwendig. Hierfür werden am INTRAVIT Teststand Experimente durchgeführt. Anhand der Daten zur Phasenverteilung, die mit Hilfe von Gitternetz-Sensoren bestimmt werden, werden CFD Rechnungen validiert, die im Rahmen des Arbeitspaketes 5 durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

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 30.09.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 30.09.2020	
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 Speziationmethoden wie z. B. der zeitaufgelösten Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS), Röntgenabsorptions- und UV/Vis-Spektroskopie bei erhöhten Temperaturen sowie die Bestimmung von thermodynamischen Daten für Komplexbildungsreaktionen 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: Komplexbildung von dreiwertigen Actiniden mit Chlorid
- WP2: Hydrolyse von Cm(III) und Eu(III) bei erhöhten Temperaturen
- WP3: Komplexbildung von Np(V) mit anorganischen Liganden bei erhöhten Temperaturen
- WP4: Charakterisierung von Festphasen
- WP5: Bewertung von Schätzmethode; Qualitätsmanagement/Dokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen des Arbeitsschwerpunkts 1 der Aufstockungsphase wurde eine neue Hochtemperaturzelle zur spektroskopischen Charakterisierung dreiwertiger Lanthaniden und Actiniden bei erhöhten pH-Werten und Temperaturen bis 200 °C entwickelt. In der letzten Projektphase wurden weitere Tests in dieser Zelle durchgeführt um die Qualität der Daten zu verbessern und eine breite Anwendbarkeit zu demonstrieren.

In dieser neu entwickelten Hochtemperaturzelle befindet sich die Probe innerhalb eines Edelstahlgehäuses in einem offenen Probengefäß. Dies ist nötig, da mit steigender Temperatur der Druck in der Zelle zunimmt und somit aufgrund des steigenden Dampfdrucks flüssiger Proben im Fall einer geschlossenen Küvette als Probengefäß mit ihrem Bersten zu rechnen ist, da der Druck innerhalb der Küvette stärker steigt als im übrigen Innenvolumen der Hochtemperaturzelle. Im Fall der offenen Probe steht diese jedoch im Kontakt mit einem signifikant größeren Gasvolumen. Um ein Sieden der wässrigen Phase bei hohen Temperaturen und ein übermäßiges Verdunsten zu vermeiden, wird die Zelle nach Einsetzen der Probe und Verschließen des Behälters mit einem Überdruck von $p_{\text{ini}} = 20$ bar beladen. Der Zusammenhang zwischen Druck und der Evaporation von H₂O mit ansteigender Temperatur wurde mit PHREEQC bei definierter Lösungs- und Gasphasenzusammensetzung in einem beschränkten Gasvolumen modelliert. Diese Modellierung zeigt, dass der Wassergehalt der Lösung in Abhängigkeit der Elektrolytkonzentration auf minimal 82 % der anfänglichen Masse abnimmt, wenn die Temperatur auf 200 °C erhöht wird. Damit sind die Konzentrationen der Elektrolyte sowie die der Metall- und Ligandionen gut zu berechnen und stellen im Rahmen der Ungenauigkeit thermodynamischer Untersuchungen mittels TRLFS keine signifikante Fehlerquelle dar. In einer früheren Ausführung der Hochtemperaturzelle ohne separat beheizten Deckel fand eine vollständige Evaporation des Wassers in der Probe statt, wobei die Rekondensation am Deckel erfolgte. Dieser wies bei 200 °C Regeltemperatur laut Messung mit einem externen Thermoelement nur 140 °C auf. Durch den Einsatz eines weiteren Heizelements zum aktiven Beheizen des Deckels konnte eine uniforme Temperatur des Autoklaven erhalten und das Problem vollständig behoben werden.

Die hier durchgeführten Tests in der neuen Hochtemperaturzelle zeigen eindrücklich, dass der entwickelte Prototyp für spektroskopische und thermodynamische Untersuchungen erfolgreich eingesetzt werden kann. Hierbei wurden viele Nachteile in der Handhabung und der spektroskopischen Anwendung der bisherigen Ti/Pd-Zelle überwunden und ein Zugang zur Untersuchung von Actinidlösungen bei höheren pH-Werten geschaffen. Darüber hinaus wurde die Handhabung der Zelle stark vereinfacht. Als erste quantitative Studie wurde die Komplexierung von Cm(III) mit Fluorid bei Temperaturen bis 200 °C untersucht, was in der Ti/Pd-Zelle bisher nicht möglich war.

4. Geplante Weiterarbeiten

Publikation der thermodynamischen Daten der Cm(III)-Fluoridkomplexierung im Temperaturbereich von 20 – 200 °C.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Maiwald, M. M., Skerencak-Frech, A., Panak, P. J.: Spectroscopic characterization and thermodynamics of the complexation of Np(V) with sulfate up to 200 °C, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 240, 118579-118587 (2020)

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: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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

Auf Grundlage der Ergebnisse einer Messzeit im ersten Halbjahr 2020 im Rahmen der auch nach SIRIUS fortgesetzten Kooperation mit der Arbeitsgruppe LARISSA des Instituts für Physik wurden erstmals Messungen von Np-239 mittels Resonanzionisations-Massenspektrometrie (RIMS) durchgeführt. Hierfür wurde am Forschungsreaktor TRIGA Mainz Np-239 durch Neutronenaktivierung hergestellt, chromatographisch aufgereinigt und durch Elektrolyse oder Auftropfen hergestellte Proben mit Np-237 und Np-239 mittels RIMS analysiert. Hierbei konnte ein erstes Signal für Np-239 erhalten werden. Jedoch muss die Messeffizienz in Zukunft verbessert werden, um eine Quantifizierung von Np-237 mittels des kurzlebigeren Radiotracers Np-239 zu ermöglichen.

Des Weiteren wurden die Experimente zum Einfluss des Zementporenwassers (*ACW-Z*, engl. *artificial cement pore water*, mit Zementsteinpulver äquilibriert) auf die Oberfläche von Zement fortgesetzt. Hierbei ging es auch um die Untersuchung einer möglichen Nachbehandlung der polierten Probenoberflächen durch Abspülen mit Wasser oder Ethanol und deren Effekt auf die Mikrostruktur der Zementsteinoberfläche. Die fortgeführten Messungen sowie die Auswertung der Daten haben sich aufgrund eines Defekts am Probenhalter der TOF-SIMS Apparatur und der Einschränkungen im Rahmen der Corona-Pandemie weiter verzögert und sind noch nicht abgeschlossen. Auch das geplante Experiment zur Kontaktierung von Zementsteinoberflächen mit Pu-239 und dessen orts aufgelöste Detektion mittels Laser-SNMS muss in das erste Halbjahr 2021 verschoben werden, ist aber zum Berichtszeitpunkt in Vorbereitung.

Begleitend und ergänzend zu den Sorptionsstudien an Pyritpartikeln mittels Laser-SNMS wurde zum Jahresende eine Strahlzeit an der microXAS-Beamline der Synchrotron Lichtquelle Schweiz (SLS) am Paul Scherrer Institut (PSI, Villigen, Schweiz) vorbereitet und durchgeführt. Die Datenauswertung ist noch ausstehend.

3.2. Institut für Physik:

Das Teilprojekt war bereits zum Ende des Jahres 2019 abgeschlossen worden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Abschluss der TOF-SIMS-Messungen zum Einfluss des Elektrolyten (*ACW* und *ACW-Z*) auf die Zementsteinoberflächen und Auswertung der Messdaten.
- Abschluss der orts aufgelösten Detektion von Plutonium mittels Laser-SNMS nach Kontaktierung von Zementscheiben mit Pu-239.
- Erstellung des Abschlussberichts.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Holz, B.: Laserspektroskopische Untersuchungen an ^{237}Np und ^{239}Np . Abschlussarbeit Master of Science

Schönenbach, D., Berg, F., Breckheimer, M., Hagenlocher, D., Schönberg, P., Haas, R., Amayri, S., Reich, T.: Development, characterization and first application of a resonant Laser-Secondary Neutral Mass Spectrometry setup for the research of plutonium in the context of long-term nuclear waste storage. Manuscript in Revision

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 31.07.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.427.253,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Weigand

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Untersuchungen der Komplexbildungseigenschaften von Phosphorylpyrazolonen gegenüber Actinoidionen in der Oxidationsstufe +IV sowie ausgewählten Lanthanoidionen in den Oxidationsstufen +III und +IV wurden in Zusammenarbeit von der Weigand- und Stumpf-Gruppe vervollständigt. Die Ergebnisse wurden einem Manuskript zusammengefasst und bei einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht.

Die Arbeiten zu Koordination von UO_2^{2+} durch substituiertes Glucosamin wurden vervollständigt und werden aktuell in einem Manuskript zusammengefasst. Darüber hinaus konnten die Ergebnisse zum Adsorptionsverhalten von f-Elementen

an wärmebehandelten Treber, die in Zusammenarbeit der Weigand-, Brunner- und Henle-Gruppe erzielt wurden, in einem Artikel in der Zeitschrift RSC Advances veröffentlicht werden. Aufbauen darauf wurde das Adsorption von UO_2^{2+} an Treber nach gezielter Oxidation untersucht. Dazu wurde der Treber mit 85 %iger H_3PO_4 und NaNO_2 behandelt und eine Steigerung der vorhandenen Carboxylgruppe von 0,15 mmol/g Trockenmasse Treber auf 1,3 mmol/g detektiert. Adsorptionsstudien weisen eine Adsorptionskapazität von 236.6 mg/g UO_2^{2+} auf. Ferner wurden die thermodynamischen Daten für die Adsorption bestimmt und die Wiederverwendbarkeit erprobt. Die Ergebnisse wurden einem Manuskript zusammengefasst und zur Begutachtung bei einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht.

In Zusammenarbeit von der Brunner- und Stumpf-Gruppe wurden die Arbeiten zur Sorption von Europium an Diatomeenbiosilikat abgeschlossen. Das Manuskript wurde in der internationalen Fachzeitschrift Applied Geochemistry veröffentlicht. Darüber hinaus wurden die Arbeiten zur Kathodolumineszenz in Kooperation mit Frau Prof. Hieckmann von der Fakultät für Physik der TU Dresden abgeschlossen und das Manuskript bei einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht. Außerdem wurden die Arbeiten zur Sorption von Eu^{3+} an unbehandeltem Chitin in Kooperation mit dem HZDR weitergeführt. Zur Identifikation der Bindungsfunktionen am Chitin, welche mit den Ln- und An-Ionen wechselwirken, wurden die Untersuchungen mit dem Monomer von Chitin, dem Monosaccharid N-Acetylglucosamin, vertieft. Das Manuskript ist in Vorbereitung und soll im März 2021 eingereicht werden. Weiterhin wurde die Herstellung von chitinösen Folien für die Sorption von Europiumionen aus wässrigen Lösungen fortgeführt. Die Synthese wurde durch Zusatz von Additiven optimiert. In den kommenden Monaten werden insbesondere die Arbeiten sowie die Bestimmung der gebildeten Eu-Komplexe und Sorptionskapazitäten abgeschlossen.

Im Rahmen der Arbeiten der Henle-Gruppe wurden nieder- und hochmolekulare Fraktionen von Kaffeemelanoidinen unterschiedlicher Röstintensitäten präpariert, strukturell charakterisiert sowie anhand von potentiometrischen Versuchen und Gleichgewichtsdialyseexperimenten die Änderungen der Bindungseigenschaften im Verlauf der Hitzebehandlung betrachtet. Mit Hilfe von TLFRS Untersuchungen sollen weitere Informationen über Struktur-Wirkbeziehungen gewonnen werden. Zur Ermittlung konkreter Struktur-Wirkungsbeziehungen aus molekularer Ebene wurden Modellverbindungen von fünf bedeutenden Maillard-Reaktionsprodukten synthetisiert. Deren Bindungsverhalten gegenüber Eu^{3+} und UO_2^{2+} wird gegenwärtig potentiometrisch und spektroskopisch untersucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Weiterführung der Untersuchungen zur Adsorption von *f*-Elementen an immobilisierten Treber
- Weiterführung der Untersuchungen an chitinösen Folien zur Bestimmung der gebildeten Eu-Komplexe und der Sorptionskapazitäten
- Untersuchungen zur Synthese und Charakterisierung von tripodaler Alkylphosphinoxide, deren Podandarme über Aminfunktionen verknüpft sind
- Durchführung von Kristallisationsexperimenten zur Gewinnung von Einkristallen der Liganden und relevanter Metallkomplexe; Aufklärung der Ligand- bzw. Komplexstruktur
- Untersuchung ausgewählter Maillardprodukte als alternative Modellspezies für Naturstoff-basierten Liganden
- Fortsetzung der Studien zur Oberflächencharakterisierung von Heißtrub und dessen Bindungsspezifität
- Untersuchung der Bindungseigenschaften und Bindungskonstanten der Maillard-Reaktions-Modellliganden sowie Kaffeemelanoidinfraktionen gegenüber dreiwertigen *f*-Elementen und UO_2^{2+} -Ionen in repräsentativen Lebensmittelmodellsystemen sowie unter den physiologischen Bedingungen des Verdauungstraktes
- Erweiterung der Bindungsstudien von Maillard-Reaktions-Modellliganden sowie Kaffeemelanoidinfraktionen auf dreiwertige Actinide

5. Berichte, Veröffentlichungen

Y. Su, W. Böhm, M. Wenzel, S. Paasch, M. Acker, T. Doert, E. Brunner, T. Henle, J. J. Weigand; Mild hydrothermal treated brewer's spent grain for efficient removal of uranyl ions and rare earths, RSC Adv., 2020, 10, 45116-45129

K. Kammerlander, L. Köhler, N. Huittinen, F. Bok, R. Steudtner, C. Oschatz, M. Vogel, T. Stumpf, E. Brunner; Sorption of Europium on Diatom Biosilica as Model of a "Green" Sorbent for *f*-Elements, Applied Geochemistry, 2021, *in press* (<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104823>)

J. Zhang, M. Wenzel, K. Schnaars, F. Hennersdorf, K. Schwedtmann, J. März, A. Rossberg, P. Kaden, F. Kraus, T. Stumpf, J. J. Weigand; Coordination of Trivalent Lanthanum and Cerium, and Tetravalent Cerium and Actinides (An = Th(IV), U(IV), Np(IV)) by a 4-Phosphoryl 1H-Pyrazol-5-olate Ligand in Solution and the Solid State, *submitted*

Y. Su, M. Wenzel, S. Paasch, M. Seifert, T. Doert, Jan J. Weigand; Recycling of brewer's spent grain as biosorbent by nitro-oxidation for uranyl ions removal from wastewater, *submitted*

E. Hieckmann, K. Kammerlander, L. Köhler, L. Neumann, N. Albanis, T. Hutsch, E. Brunner; Detection and Localization of Eu on Biosilica, Analytical Scanning Electron Microscopy, *submitted*

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 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 893.268,00 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

Auf Grund der Schutzmaßnahmen der Covid-19-Pandemie war der Laborbetrieb am HZDR gegen Ende des Berichtszeitraums wieder nur eingeschränkt möglich. Die beteiligten Mitarbeiter haben die Zeit genutzt, um Publikationen zu finalisieren und ihre Abschlussarbeiten zu schreiben bzw. zu verteidigen.

AP1: Es wurden neuartige symmetrische N-Donoren basierend auf Schiff'schen Basen synthetisiert. Die Verknüpfung der jeweiligen Donorfunktionalitäten optimiert den Biss der Liganden und erlaubt eine Selektivität für verschiedene Ionenradien der zu komplexierenden Metallionen.

AP2: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP3: Die Komplexierungsversuche mit den neuen N-Donor-Liganden aus AP1 wurden erfolgreich fortgesetzt. Die entstandenen Komplexe werden im Festkörper und in Lösung charakterisiert. Die Arbeiten

zur Darstellung, quantenchemischen Berechnung und Analyse der Bindungseigenschaften Salen-artiger Systeme wurden publiziert. Die Berechnungen größerer Komplexsysteme mit natürlich vorkommenden und biologisch-inspirierten Ligandsystemen mit QM/MM Methoden wurden fortgesetzt und die Optimierung der Schnittstelle zwischen den verwendeten Programmpaketen erfolgreich abgeschlossen. Eine Publikation zu ersten Ergebnissen an Haupt- und Nebengruppenmetallkomplexen ist zur Publikation eingereicht.

AP4: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP5: Publikationen zu den Salen-artigen Ligandsystemen als Mono- und Bis-Salenkomplexe wurden publiziert. Die Publikationen zu den Amidinatsystemen sind inzwischen erschienen. Herr Fichter hat seine Doktorarbeit mit „summa cum laude“ verteidigt und bewirbt sich derzeit auf Stipendien für einen Postdoc-Aufenthalt im Ausland. Herr Radoske finalisiert derzeit seine Doktorarbeit. Arbeiten zur Komplexierung von An(III) und Ln(III) an Biosilikaten (mit AK Brunner (TUD)) mittels TRLFs wurden publiziert. Die Arbeiten zur Komplexierung von Phosphonaten mit Actiniden (mit AK Weigand (TUD)) sind zur Publikation eingereicht.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Die Synthese neuer Ligandsysteme ist abgeschlossen.

AP2: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP3: Die Arbeiten zur Komplexierung von neuartigen Schiff'schen Basen mit N-Donorfunktionalitäten, insbesondere die Synthese von Np(IV)- und Pu(IV)-Komplexen, werden abgeschlossen. Bei den Berechnungen an komplexen biologisch-inspirierten Systemen mit QM/MM Methoden wird besonderes Augenmerk auf die Koordination von Actiniden gelegt.

AP4: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP5: Eine Reihe von Publikationen befinden sich derzeit im Review Prozess und weitere Manuskripte werden geschrieben. Alle Ergebnisse sollen im kommenden Halbjahr in Dissertationen der beteiligten Doktoranden fließen und zeitnah verteidigt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Kloditz, R.; Fichter, S.; Kaufmann, S.; Brunner, T.; Kaden, P.; Patzschke, M.; Stumpf, T.; Roesky, P.; Schmidt, M.; März, J.: Series of Tetravalent Actinide Amidinates: Structure Determination and Bonding Analysis, *Inorg. Chem.* 2020, 59 (21), 15670-15680. DOI 10.1021/acs.inorgchem.0c01969

Radoske, T.; Kloditz, R.; Fichter, S.; März, J.; Kaden, P.; Patzschke, M.; Schmidt, M.; Stumpf, T.; Walter, O.; Ikeda-Ohno, A.: Systematic comparison of the structure of homoleptic salen-type Schiff base complexes of tetravalent metals (M(IV) = Zr, Hf, Ce, Th, U, Np, and Pu) in solid state and in solution, *Dalton Trans.* 2020, 49, 17559-17570. DOI: 10.1039/D0DT03405C

Radoske, T.; März, J.; Patzschke, M.; Kaden, P.; Schmidt, M.; Stumpf, T.: Bonding Trends in Tetravalent Th-Pu Monosalen Complexes, *Chem. Eur. J.* 2020, 26(70), 16853-16859. DOI: 10.1002/chem.202003241

Kammerlander, K. K. K.; Köhler, L.; Huittinen, N. M.; Bok, F.; Steudtner, R.; Oschatz, C.; Vogel, M.; Stumpf, T.; Brunner, E.: Sorption of Europium on Diatom Biosilica as Model of a "Green" Sorbent for f-Elements, *Appl. Geochem.*, 2020, published online. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2020.104823

Zhang, J.; Wenzel, M.; Schnaars, K.; Hennersdorf, F.; Schwedtmann, K.; März, J.; Rossberg, A.; Kaden, P.; Kraus, F.; Stumpf, T.; Weigand, J. J.: Coordination of Tetravalent Cerium and Actinides (An = Th(IV), U(IV), Np(IV)) by a 4-Phosphoryl 1H-Pyrazol-5-olate Ligand in Solution and the Solid State, *Chem. Sci.* 2020, submitted

Taylor, C. J.; Schönberger, N.; Laníková, A.; Patzschke, M.; Drobot, B.; Židek, L.; Lederer, F.: Investigation of the structure and dynamics of Gallium binding to high-affinity peptides elucidated by multi-scale simulation, quantum chemistry, NMR and ITC, *Chem. Sci.*, to be submitted

Reese S.; Bok, F.; Kaden, P.; Taylor, C. J.; Kloditz, R.; Schmidt, M.: Structure and Thermodynamics of Eu(III) and Cm(III) Complexes with Glucuronic Acid, *Dalton Trans.*, in preparation

Dissertation:

Fichter, S.: Synthesis and Characterization of Tri- and Tetravalent Actinide Amidinates, Dissertation (TU Dresden) 2020, mit "summa cum laude"

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 31.07.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 637.671,00 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 Bindungsselektivität, 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-Potenzimetrie, 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

Es gibt mehrere Arbeitspakete, die genauer im Aufstockungsantrag beschrieben sind. Die Arbeitsgruppe Kersting bearbeitet die Arbeitspakete 1, 3, und 5. Seit Beginn des FENABIUM-Projektes zum 1.11.2016 arbeiten M. Sc. Peter Hahn sowie ab dem 01.01.2017 auch M. Sc. Anne Mehnert und M. Sc. Tony Zielke an den skizzierten Experimenten. Die drei Promotionsarbeiten werden bis Ende der Projektlaufzeit erfolgreich abgeschlossen werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die analytischen Charakterisierungen der erhaltenen *f*-Elementkomplexe wurden abgeschlossen. Herr M. Sc. Tony Zielke hat am 18.12.2020 seine Doktorarbeit erfolgreich verteidigt. Außerdem haben Herr M. Sc. Peter Hahn und Frau M. Sc. Anne Mehnert im Berichtszeitraum ihre Dissertationen verfasst (jeweils als Monographie). Die Dissertation von Herrn Hahn wurde am 14.12.2020 eingereicht, und befindet sich zurzeit in Begutachtung. Die Verteidigung wird voraussichtlich Ende März 2021 stattfinden. Frau M. Sc. Anne Mehnert hat ihre Dissertation Ende Januar 2021 eingereicht. Einige der geplanten Arbeiten wurden von Herr Lennart Günzel im Rahmen seiner Masterarbeit „*Untersuchung der photophysikalischen Eigenschaften neuartiger Lanthanoidkomplexe auf Calix[4]arenbasis*“ durchgeführt (Abschluss am 18.12.2020). Herr Hahn betreut seit Dezember noch eine andere Masterarbeit, die sich mit der Synthese und Charakterisierung von Eu^{3+} und Tb^{3+} -Komplexen mit β -Ketoimin-Calix[4]arenliganden beschäftigt. Frau M. Sc. Anne Mehnert führte Synthesen von Eu- und Tb-Komplexen trisubstituierter Calix[4]aren/Schiff-Base-Liganden durch, um den Einfluss der Symmetrie und Koordinationszahl auf die Lumineszenzeigenschaften zu untersuchen. Es gelang uns auch erstmals, einige der synthetisierten Lanthanoid-Komplexe mittel paramagnetischer NMR-Spektroskopie strukturell zu charakterisieren. Wie geplant war, konnten einige Gd-Komplexe der Schiff-Base/Calix[4]aren-Liganden mittels EPR-Spektroskopie untersucht werden. Womöglich eignen sich diese auch als *spin labels* zur EPR-spektroskopischen Untersuchung des Mobilisierungsvermögens der Chitosane für *f*-Elemente.

Herrn Hahn konnte ein vielfältiges Komplexierungsverhalten für Acylhydrazon-funktionalisierte Calix[4]arene aufzeigen. Es konnten neutrale Zweikernkomplexe des Typs $[\text{Ln}_2\text{L}_2]$ und $[\text{Ln}_2\text{L}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ sowie gemischtligandierte Dreikern-, Vierkern-, und sogar Siebenkern-Komplexe (z. B. $[\text{Dy}_4(\text{L})(\text{HL})(\eta^2\text{-NO}_3)_2(\mu_3\text{-OMe})(\mu_4\text{-OH})]$, $(\text{HNEt}_3)[\text{Tb}_3(\text{L})\text{-}(\text{HL})\text{-}(\mu_3\text{-SO}_4)(\mu_3\text{-OH})]$) erhalten werden, wie durch Kristallstrukturanalysen zweifelsfrei belegt wird (vgl. Peter Hahn, Dissertation, Universität Leipzig 2020, S. 132). Ein überraschendes Ergebnis ist die Bildung des Biscalix[4]arens BC[4]A-DAH (ebenda, S. 134), welches in dem Komplex $(\text{HNEt}_3)_2[\text{Dy}_2(\text{BC}[4]\text{-DAH})(\text{MeO})_2]$ vorliegt und bei der Komplexierung eines Acylhydrazons als Nebenprodukt (wenige Kristalle) erhalten wurde.

Aufgrund der zweiten Welle der Corona-Pandemie kam es wieder zu Einschränkungen im Laborbetrieb, die einige Verzögerungen bei der Projektbearbeitung nach sich zogen. Wir haben daher diese Zeit genutzt, um im Home-Office-Betrieb weitere erhaltene Ergebnisse zusammenzutragen, um diese zu publizieren. Die eingereichten Publikationen wurden im Berichtszeitraum angenommen.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den folgenden Monaten soll die analytische Charakterisierung der erhaltenen *f*-Elementkomplexe wie geplant abgeschlossen werden. Durch die Covid-19-Pandemie stehen noch einige experimentelle Untersuchungen aus. Ebenso sollen in den nächsten Monaten weitere Ergebnisse publiziert werden. Die Untersuchg. der Lumineszenz der Tb- und Eu-Komplexe sollen vervollständigt und in einer Veröffentlichg. zusammengefasst werden. Weitere EPR- und NMR-Messungen an paramagnetischen Gd- und Eu-Komplexen sollen durchgeführt werden, um die Komplexe in Lösung strukturell zu untersuchen. In unseren Vertiefungspraktika sollen weitere Studenten für eine Beschäftigung mit radiochemischen Verbindungen der *f*-Elemente sensibilisiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

P. Hahn, S. Ullmann, J. Klose, Y. Peng, A. K. Powell, B. Kersting, “Dinuclear Tb and Dy Complexes supported by hybrid Schiff-Base/Calixarene Ligands: Synthesis, Structures and Magnetic Properties”, Dalton Trans, 2020, 49, 10901-1098

P. Hahn, S. Ullmann, A. Kahnt, B. Abel, B. Kersting, “Synthesis, Structures and Luminescence Properties of Dinuclear Nd, Eu, Tb, and Yb Complexes supported by a Pendant Picolyl-Imine Calix[4]arene Ligand; Inorganica Chim. Acta 2021, 514, 119983

A. Jäschke, T. Stumpf, A. Aliabadi, B. Büchner, V. Kataev, T. Hahn, J. Kortus, B. Kersting, “Tetranuclear Lanthanide Complexes Supported by Hydroxyquinoline-Calix [4]arene-Ligands: Synthesis, Structure, and Magnetic Properties of $[\text{Ln}_4(\text{H}_3\text{L})_2(\mu\text{-OH})_2(\text{NO}_3)_4]$ (Ln = Tb, Dy, Yb) and $[\text{Dy}_2(\text{H}_4\text{L})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ” Eur. J. Inorg. Chem. 2020, 2020, 4203–4214

S. Ullmann, P. Hahn, P. Mini, K. Tuck, A. Kahnt, B. Abel, B. Kersting Mixed-Ligand Lanthanide Complexes Supported by Ditopic Bis(Imino-methyl) Phenol/Calix[4]arene Macrocycles: Synthesis, Structures, and Luminescence Properties of $[\text{Ln}_2(\text{L}_2)(\text{MeOH})_2]$ (Ln = La, Eu, Tb, Yb), Dalton Trans. 2020, 49, 1179-11191

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 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
Gesamtkosten des Vorhabens: 886.891,00 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 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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Vierstufige sequentielle Extraktionsversuche zu Bioverfügbarkeit und Speziation von Pu-238 in den vier Referenzböden befinden sich momentan in der Auswertung.
- AP2: In zwei Bachelorarbeiten wurde die Migration von Tc-99 und I-125 in RefeSol 01-A untersucht. Weiterhin wurden H-3-Durchbruchskurven O₂-Ausschluss erstellt. In einer Masterarbeit wurden Boden- und Porenwasserproben der bereits durchgeführten Pu-242-Säulenexperimente von RefeSol 02-A und 03-G bearbeitet und ausgewertet. Es zeigte sich für beide Böden eine sehr niedrige Pu-Mobilität und eine Abhängigkeit des Pu-Gehalts im Porenwasser vom Gehalt an Corg. So befand sich bei RefeSol 04-A ein Anteil von $3,6 \pm 0,17$ % der Gesamtaktivität im Porenwasser, während der Großteil in den untersten Bodenschichten nachgewiesen wurde. Für die mit Am-243 markierten Säulen wurde für RefeSol 03-G eine Migration von etwa $2,68 \pm 0,05$ % der Gesamtaktivität in die zweite Bodenschicht festgestellt, für die übrigen Böden befand sich die gesamte zugegebene Aktivität, in der untersten Schicht. In Batchversuchen zu Pu-242-Sorption an RefeSol 02-A und 04-A zeigte die Konzentrationsabhängigkeit für bei-

de Böden keinen eindeutigen Trend. In Experimenten zur Sorptionskinetik von Pu-242 an allen 4 Böden mit einer Laufzeit von 5 Wochen war eine Gleichgewichtseinstellung nach etwa 3 Wochen zu beobachten. Die Zugabe der I-125-, Tc-99-, Am-243- und Pu-238-Tracer zu den Lysimetern erfolgte im August mit anschließender regelmäßiger Beprobung des Porenwassers. Für Ende Januar wird die Entnahme eines vertikalen Bohrkerns vorbereitet.

- AP3: In einer Masterarbeit wurde die Verteilung von I-127, Re-185/187 und Tc-99 in Pflanzenquerschnitten von Karotte und Erbse untersucht. Hierfür wurde zunächst eine Methode zur Kryopreservierung der Querschnitte etabliert, welche anschließend mit SIMS bzw. SNMS gemessen wurden. Es wurde festgestellt, dass sich Iod in anderen Pflanzenstrukturen (bes. Wurzel), anlagert, als dies Re und Tc der Fall ist. Für die Methode der Tc Messung an der SNMS konnte eine Nachweisgrenze von $5,2 \times 10^9$ Atomen erreicht werden. In weiteren Versuchen wurde die zeitabhängige Aufnahme von Tc in Karotten untersucht. Dabei zeigte sich, dass bereits 2 h nach der Tracerzugabe Tc in der Pflanze messbar war und sich nach 3-4 Tagen ein Plateau einstellte und die Konzentration in den Blättern und Stängel anschließend nur noch minimal stieg. Ein Rücktransport aus den Blättern in untere Pflanzenstrukturen konnte nicht beobachtet werden. Speziationsversuche zu Tc in Karottenwurzel und -blatt 14 d nach Tracerzugabe zeigten, dass in der Wurzel die an Pigment gebundene Fraktion mit 50,9 % dominiert, während im Blatt die alkalilösliche Fraktion den größten Anteil mit 58,4 % aufweist. Die wasserlösliche Fraktion, in der das als Tracer zugegebene TcO_4^- vorliegt, stellt in beiden Pflanzenteilen nur einen geringen Anteil dar (Wurzel: 10,1 %, Blatt: 14,7 %), was zeigt, dass die Pflanze das aufgenommene TcO_4^- zu einem Teil in andere Spezies umwandelt bzw. komplexiert.
- AP4: Die Aufnahme von Phosphat in *AtPHT1.4*-exprimierende Oozyten wurde weiter quantitativ bestimmt. Bei pH6 scheint mehr Phosphat durch diese Oozyten aufgenommen zu werden, als bei den Kontroll-Oozyten. Bei pH4 trat dieser Effekt nicht auf. In Zusammenarbeit mit dem IRS wurde die Aufnahme von I-127 oder Tc-99 untersucht. Bei I-127 ist eine erhöhte Aufnahme in *AtPHT1.4*-exprimierenden Oozyten nach 30 Minuten Inkubation zu sehen. Bei Tc-99 war kein Unterschied zwischen den Kontroll- und den *AtPHT1.4*-exprimierenden Oozyten zu beobachten. Der *AtGLR3.7* wurde erneut bezüglich seiner Aufnahmefähigkeit von Cm(III) und Am-243 untersucht. Die Versuche mit Cm(III) fanden zusammen mit dem HZDR (s. Bericht HZDR), die Am-Experimente in Zusammenarbeit mit dem IRS statt. Im Gegensatz zu Cm(III) scheint Am-243 nicht vermehrt von *AtGLR3.7*-exprimierenden Oozyten aufgenommen zu werden. Der Fe-Transporter *AtIRT1* wurde elektrophysiologisch untersucht und zeigte einen Transport von Kationen. Der N-Transporter *AtNRT1.1* zeigte ebenfalls einen veränderten Ionentransport in N-haltigem Medium als die Kontroll-Oozyten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Bestimmung der TOC-Gehalte aus den inaktiven Säulenversuchen in RefeSol 01-A; Analyse der Lysimeterproben.

Curium-Aufnahmeexperimente des *AtGLR3.7* in Zusammenarbeit mit dem HZDR (Dresden). Weiterführung der Phosphat-Aufnahme-Experimente des *AtPHT1.4*.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Nils Sassenberg: Untersuchung des Fließverhaltens von Tritium-haltigem Wasser in einem Referenzboden anhand von Säulenversuchen (Forschungspraktikum)

Nils Sassenberg: Gammaskopmetrische Bestimmung der Sorption von I-125 an einem Referenzboden im wassergesättigten Zustand (B. Sc.)

Tim Schmalz: Massenspektrometrische Bestimmung der Sorption von Tc-99 an einem Referenzboden im wassergesättigten Zustand (B. Sc.)

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 28.02.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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: Das Bioassoziationsverhalten junger Rapspflanzen (*Brassica napus*) gegenüber U(VI) und Eu(III) sowie deren Speziation wurde zeit- und konzentrationsabhängig untersucht. Durch Kombination mikroskopischer und spektroskopischer Techniken wurden drei Eu(III)-Spezies an/in einer Rapswurzel detektiert. Mittels zeitaufgelöster Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) mit Direktanregung um den 7F_0 -Peak konnten Eu(III)-Spektren an Wurzel und Spross gemessen werden. Hydrokulturlösungen U(VI)-exponierter Rapspflanzen wurden mittels NMR-Spektroskopie zur Identifizierung von Metaboliten untersucht.

AP2/AP3: Proteinextrakte U(VI)-exponierter/nichtexponierter BY-2-Zellen, die auf native-PAGE-Gelen getrennt wurden, zeigten NADH-abhängige Eisenreduktase-Aktivitäten nach Durchführung eines Ferrozin-Assays. In entsprechenden Proteinbanden U(VI)-exponierter Zellen, wurde Uran mittels ICP-MS detektiert.

AP2/AP4: Studien zu Aufnahmepfaden von U(VI) in Pflanzenzellen wurden fortgeführt. Der Einfluss von Ca-Ionenkanälen auf die U(VI)-Aufnahme in *Daucus carota* Zellen wurde untersucht. Wie zuvor für *Nicotiana tabacum* (BY-2), wurde eine verringerte U(VI)-Aufnahme in die Zellen nach Blockade der Ionenkanäle mit GdCl₃ beobachtet, was die Vermutung einer Beteiligung dieser an der U(VI)-Aufnahme in Pflanzenzellen bestärkt. Studien mit Endozytose blockierten BY-2-Zellen (Wortmannin als Inhibitor) unter variierten Kulturbedingungen zeigten erneut eine Abnahme der U(VI)-Bioassoziation. Lebendfärbungen von BY-2-Zellen mit FM4-64 zeigen keine Inhibierung der Endozytose in Gegenwart von U(VI). Das zeigt, dass die Endozytose einen weiteren Transportweg für U(VI) in Pflanzenzellen darstellt.

AP4: Die Präparation von *B. napus*- und *D. carota* Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) mittels Hochdruckgefrieren war erfolgreich. Vorläufige TEM-Untersuchungen offenbarten die zelluläre Lokalisation von Uran-Kristallen in *B. napus* Zellen.

In Zusammenarbeit mit dem IfB (Uni Hannover) erfolgten neue Untersuchungen zur Wechselwirkung von Cm(III) mit Oozyten in Ca-freiem Medium. Modifizierte Oozyten, die heterolog pflanzliche Metalltransporter exprimieren (Modellsystem für pflanzlichen Metalltransport), weisen nach 5 Stunden eine höhere Cm(III)-Konzentration auf als nicht modifizierte Oozyten. Sowohl im Nährmedium als auch an den Oozyten konnten jeweils zwei Cm(III)-Spezies anhand des bi-exponentiellen Lumineszenzzerfalls mittels TRLFS gemessen werden.

Im Zuge der Lysimeter-Beprobungen der Universitäten Jena und Hannover, wurden Boden-/Flüssigproben entnommen, die durch das HZDR zur Isolation der DNA und deren anschließender Sequenzierung verwendet wurden. Die 4 Bodenproben der Uni Jena (Refesol 03G, 01A, 02A und 04A) wurden erfolgreich sequenziert (RTL Genomics, Texas, USA). Die 4 Böden unterscheiden sich nur wenig hinsichtlich der nachgewiesenen Phylae und werden von „typischen“ Boden-Organismen dominiert, die metabolisch als sehr divers beschrieben werden können. In den Proben befinden sich sehr viele unbekannte Mikroorganismen, deren metabolisches Potential noch nicht ableitbar ist. Die DNA aus den Boden-/Flüssigproben der Uni Hannover wurde erfolgreich isoliert. Derzeit wird versucht ein bestimmtes DNA-Fragment zu vervielfältigen und in reiner Form darzustellen, so dass auch hier eine Sequenzierung der Proben und ein anschließender Vergleich mit den Daten der Proben aus Jena erfolgen kann.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Die Identifizierung von Pflanzenmetaboliten in Hydrokulturlösungen (HPLC, NMR, Massenspektrometrie) wird fortgeführt. Röntgenabsorptionsspektroskopische Untersuchungen (ROBL, ESRF) zur Bestimmung des Oxidationszustandes sowie der chemischen Umgebung von bioassoziiertem Uran an/in *B. napus* Zellen finden im Februar statt.

AP2/AP3: Analyse der Ergebnisse einer zweiten vertieften Proteom-Studie U(VI)-exponierter/nichtexponierter BY-2 Zellen.

AP4: TEM-Messungen zur Visualisierung der U(VI)-Aufnahme in *B. napus* und *D. carota* Zellen werden abgeschlossen. Eine Methode zur Präparation von Ultradünnschnitten von BY-2 Zellen für TEM Studien wird entwickelt.

Amplifikation, Aufreinigung, Sequenzierung der DNA-Proben aus Lysimeter-Versuchen
Zusammenfassung der Projektergebnisse in Journalpublikationen und im Abschlussbericht

5. Berichte, Veröffentlichungen

John, W., Matschiavelli, N., Thieme, D., Hoehenwarter, W., Sachs, S.: Elucidating the mechanism of uranium uptake and processing in tobacco BY-2 cells. 12th International BioMetals2020 Web-Symposium, 06.-10.07.2020

Lückel, Benita: Untersuchung der Endozytose als Aufnahmeprozess von Uran(VI) in Tabak BY-2 Zellen. Technische Universität Dresden, 2020 (Bachelorarbeit)

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 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
Gesamtkosten des Vorhabens: 508.416,00 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
- AP1.1.2a: 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 für die Quantifizierung der mineralogischen Zusammensetzung auf dem Stand des letzten Berichtszeitraumes. Die Proben zur Analytik der spezifischen Oberfläche wurden versendet. Die Ergebnisse sind ausstehend.

- AP2: Status: In der modelltechnischen Umsetzung wurden Daten des Experimentes (RefeSol 01A), wie Saugspannung und Konzentration der Spezies, inkludiert. Die experimentellen Werte der Saugspannung wurden in die numerischen Simulationen im Zeitraum des Injektionsexperimentes berücksichtigt, jedoch konnten Konzentrationen der eingesetzten Tracer-Elemente noch nicht hinreichend exakt modelliert werden. Numerische Modellierungsansätze (z. B. doppelte Porosität), welche die experimentellen Ergebnisse der Tracer unter Verwendung von Hydrus einbinden, wurden evaluiert. Die Einbeziehung von Hystereseeffekten wurde evaluiert, da im Telexperiment Fluktuationen der Saugspannung beobachtet wurden.
- AP3: Status: Das Experiment zur Injektion von Selenat, Iodid und Radionuklid-Homologen (Eu, Hf) sowie Bromid als konservativen Tracer wurde beendet. Die Zugabe der Tracerlösungen wurde, so gut es im technischen Rahmen möglich war, der Evaporationsrate unter den Bedingungen der Klimakammer angepasst, überwacht und im Zeitraum von 95 (RefeSol 01A) bis 115 Tagen (RefeSol 04A) durchgeführt. Die Injektionslösung wurde im entsprechenden Zeitraum dreimal beprobt, wobei sich zeigte, dass Radionuklid-Homologe in der Lösung nicht stabil waren, wohingegen Se, I und Br über den langen Zeitraum vergleichbare Werte zeigten. Die Tensionen verzeichneten deutliche Schwankungen im Zeitraum des Telexperimentes, wobei sie sich nach Beendigung wieder dem vorherigen Niveau anpassten. In der ersten Hälfte des Berichtszeitraums ergaben sich technische Probleme mit der Klimakammer, wodurch die Temperatur zeitweise um 5K im Vergleich zur Zieltemperatur erhöht wurde. Das Monitoring der Durchbruchskurven der Zielelemente (sowie standardmäßig durchgeführte nasschemische und Kolloid-Analytik mit ICP-MS/OES, IC, NTA, DOC) zeigt ein vergleichbares Verhalten des als konservativ angenommenen Tracers Br und Chlorid sowie eine geringe Retention von Iodid. Selenat wurde nur zu drei aufeinanderfolgenden Zeitpunkten in der untersten Überwachungstiefe von RefeSol 01A nachgewiesen. Ein ausführliches Protokoll zur Porenwasseranalytik (analog zum vergangenen Berichtszeitraum) wurde zum Zweck der vollständigen Erfassung der Durchbruchskurven noch nicht durchgeführt. Die ausführlichere Auswertung der hydrogeochemischen und hydrologischen Eigenschaften folgt im Abschlussbericht. Ein Prototyp zur schonenden Feststoffprobenahme aus den Laborlysimetern für „post-mortem“-Analysen wurde erstellt. Dieser besteht aus einem Doppelrohrsystem, wodurch das äußere Rohr im Lysimeter verbleibt, das Bohrloch stabilisiert und der Substratkern mit dem inneren Rohr entnommen werden kann. Die Besonderheit hier ist, dass nach der Probenahme und zerstörungsfreier Porenraumanalyse mittels μ CT, über Bohrungen in der Wandung und Minisaugkerzen mobiles Porenwasser entnommen und dadurch eine spezifischere Festphasenanalytik der Kerne durchgeführt werden kann. Die Arbeiten zu Referenzsystemen und Methodenentwicklung der NTA wurden aufgrund der Corona-Pandemie und der Priorisierung zugunsten der Laborlysimeter zurückgestellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Vorhaben zur mineralogischen Analytik der RefeSol-Festphasen werden im kommenden Berichtszeitraum im Zuge der „post-mortem“-Analytik durchgeführt und vollendet.
- AP2: Fertigstellung eines numerischen Modells, um die experimentellen Ergebnisse der Tracer (Bromid und Chlorid) in RefeSol 01-A zu erklären unter darauffolgender Anwendung des Modells auf RefeSols 02A, 03G und 04A. Anschließend werden reaktive Transportsimulationen mit den übrigen Zielelementen und von reaktiven Tracern erhaltenen Parametern durchgeführt.
- AP3: Zur weiteren Überwachung der Durchbruchskurven werden eine oder zwei weitere Probenahmen durchgeführt, wobei ein vergleichbares Protokoll zur Charakterisierung der Porenwässer wie im vorletzten Berichtszeitraum umgesetzt wird. Weiterhin wird die Feststoffprobenahme in allen 4 RefeSols durchgeführt, μ CT-Messungen im Grenzflächenbereich des Kapillarsaums und im ungesättigten Bereich durchgeführt und Probenmaterial für die Analytik von KAK, Totalaufschluss, sequenzielle Extraktion, XRD und für mikrobielle Sequenzierung vorbereitet. Zudem werden Proben für μ XRF und LA-ICP-MS und AMS-Messungen vorbereitet um orts aufgelöste Elementanalytik durchzuführen und um ggf. Akkumulationsbereiche der Zielelemente zu identifizieren. Die Arbeiten zur Porenwassercharakterisierung werden durch eine Qualifikationsarbeit (Bachelorarbeit) unterstützt. Weiterhin erfolgt die Auswertung der Daten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

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 28.02.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 278.664,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Günther	

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

Es wurde mit Hilfe der am IRS Hannover im Rahmen dieses Projekts durchgeführten Sorptions- und Desorptionsversuche ein vorläufiges Gleichgewichtsmodell für die Sorption von Iod an ortsfeste organische Substanz erstellt. Das Modell enthält eine reversibel und eine irreversibel (festgelegt) gebundene Komponente, wobei letztere dominiert. Es beschreibt die in den Experimenten vorliegende Situation, kann aber nicht ohne Weiteres auf die Situation in den Lysimetern übertragen werden, da das Modell nur von einem festen, irreversibel gebundenen Anteil von ca. 95 % des gesamten gebundenen Iods ausgeht und auch nicht direkt von anderen Bodenparametern wie z. B. pH abhängt. Zur Weiterentwicklung des Modells wären ausgedehnte Versuchsreihen notwendig, die im Laufe dieses Projekts nicht mehr durchgeführt werden können.

Es wurden für alle vier in den Lysimeterversuchen verwendeten Refesols Bereiche für die signifikanten Parameter ermittelt und K_d -Matrizen für die Elemente Am, Pu, Tc und Se erstellt. Die Matrizen enthalten bis zu 84000 K_d -Werte für verschiedene Parameterkonfigurationen.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den letzten zwei Monaten werden für die Projektpartner am IRS Hannover Speziationsrechnungen zu den Lysimeterversuchen mit Pu, Am und Tc durchgeführt. Es werden die entwickelten Modelle noch einmal überprüft und der Projektbericht angefertigt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Es wurde ein Artikel über die Validierung und Sensitivitätsanalyse der Modelle für Am, Pu und Se verfasst und in einer Fachzeitschrift zur Veröffentlichung eingereicht. Zurzeit wird der Projektbericht abgeschlossen.

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 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
Gesamtkosten des Vorhabens: 387.384,00 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 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

- 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 Klima-Zustände (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: Die Arbeiten zu AP1.1.2b, AP1.2.1, AP1.3.1, AP1.3.2, AP1.4.1 sind abgeschlossen.
- AP1.5.1: dient dem Austausch der Projektpartner. Es finden weiterhin regelmäßig Online-Projektmeetings zum Austausch über den Aufbau der Modelkonzepte und der Ergebnisse der Modellierung (ECOLEGO, IcP, Phreeqc) sowie über die Ergebnisse der Experimente im Zusammenhang mit dem experimentellen Aufbau und Durchführung.
- AP2.1.2: Der Aufbau der Datenbank und deren Struktur zu bodenhydrologischen und transportrelevanten Parameter kann fortgesetzt werden, die Ergebnisse der Experimente und der Recherchen werden schrittweise eingebaut (AnGeo/LUH-IRS), ebenso werden die Daten Transfers Boden-Wurzelzone Pflanze in die Datenbank implementiert (AP4.4 - LUH-IRS/HZDR/LUH-IfB). Parallel läuft die Prüfung des ECOLEGO-Ansatzes, um die Variabilität des Sorptionskoeffizienten K_d in der Datenbank optimal zu berücksichtigen (siehe auch AP2.5.2b).
- AP2.4.1b: ist abgeschlossen. Die Kooperation FS-AnGeo/ÖI wird im AP2.5.2b fortgesetzt.
- AP2.5.2b: Die Programmierarbeiten zur Wasserbewegung im kapillaren Saum und die Transportberechnungen im Mehrschichtmodell (ECOLEGO) konnten fortgesetzt werden, mittlerweile erfolgt ein Benchmark mit Transportmodell in IcP (FSU-AnGeo), das betrifft insbesondere die großskalige Darstellung (Aufskalierung) mit der 1-D Konvektions-Dispersions-Gleichung (Richards-Gleichung, Raumdiskretisierung mit Finite Volumen Methode) sowie die Rand- und Anfangsbedingungen. Die Unterstellung der Klimabedingungen der Bodengese (AP1.3.1, 1.3.2) in Form von Niederschlagsmengen und Evapotranspiration wurde implementiert. Die erste Bewertung des Ansatzes zur Wechselwirkung Gravitations-/Kapillarwasser und die Auswirkung auf das Transportmodell zeigt zunächst plausible Ergebnisse. Der Aufbau des Phreeqc-Modells des UB-IUP und die damit neulich ermittelten K_d -Werte und Abhängigkeiten (smart- K_d) werden für den ECOLEGO-Ansatz in Form von look-up-tables aufbereitet, um die Milieu-Abhängigkeiten des K_d -Wertes im ECOLEGO-Modell effizienter darzustellen (vgl. AP1.5.1, AP2.1.2). Die Bewertung des Einflusses der unterschiedlichen Parametrisierung sowie der Vereinfachung der Darstellung der Retentionskurve (FS-AnGeo/Öko-Institut) wurde größtenteils abgeschlossen. Die grundsätzliche Machbarkeit der „Monte-Carlo“ Analyse im ECOLEGO-Transportmodell konnte gezeigt werden. Gegenwärtig werden für die Parameter des ECOLEGO-Ansatzes die geeigneten Verteilungsfunktionen identifiziert. Das Tool zur Berechnung der Langzeitreihen von Biosphere Dose Conversion factors (BDCF) mit der Implementierung des Bodenmodells in das Expositionsmodell wird wegen hoher Komplexität und somit Fehlermeldungen bei bestimmten Rechenfällen mit dem Softwareentwickler (AFRY, ehem. Facilia (ÅF)) in einem Workshop geprüft.
- AP4.4: Der konzeptuelle Ansatz zum Kompartimentmodell der pflanzlichen Systeme in ECOLEGO wird nach Austausch erster Erkenntnisse aus den Experimenten (LUH-IfB und HZDR) erweitert. Die Implementierung des Transfers im Wurzel-Boden Bereich wird schrittweise in ECOLEGO umgesetzt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.5.1: Weitere Online-Meeting zur Absprachen mit Projektpartnern.
- AP2.1.2: Fortsetzung des Aufbaus der Datenbank mit Parametern zur Bodenhydrologie je nach Fortsetzung der Experimente.
- AP2.5.2b: Die Arbeiten zum Benchmark des ECOLEGO-Transportmodells mit IcP-Transportmodell und die Betrachtung der K_d -Wert-Abhängigkeiten werden im Austausch mit FS-AnGeo und UB-IUP fortgesetzt.
- AP4.4: Fortsetzung Modelkonzept Tool Wurzel-Boden Bereich in ECOLEGO, Austausch mit LUH-IfB und HZDR-IRE zu deren Experimentaufbau und –Ergebnissen. Weitere Konsultationen mit Softwareentwickler Fa AFRY/Facilia (ÅF).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Die meisten Veranstaltungen wurden wegen der Covid-19-Pandemie abgesagt.

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 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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: Weiterführung der mineralogisch/geochemischen und mikrostrukturellen Charakterisierung von Proben aus der sandigen Fazies des Opalinustons (OPA) aus dem Untertage-Labor Mont Terri (u. a. mittels XRD, SEM/EDX und μ XCT). Durchführung von Untersuchungen zur Sorption von ^{226}Ra als Funktion des Mineralbestands (insb. Carbonatgehalt). Durchführung erster HTO-Durchdiffusionsexperimente zur Ermittlung effektiver Diffusionskoeffizienten und der diffusionswirksamen Porosität der sandigen OPA-Fazies.
- AP2: Weiterführung der Planungsarbeiten zu den Diffusionsexperimenten DR-C ("Diffusion in a thermal gradient") und DR:D ("Heterogeneity of sandy facies by geophysical characterization and diffusion studies"). Teilnahme am NAGRA-Workshop zum Modellierungstask im Rahmen des CI-D Experiments ("Diffusion across 10-year old concrete/claystone interface") sowie Zusammenstellung und Analyse von Basisdaten für die Modellierungsarbeiten.
- AP3: Evaluierung des Einflusses von hydraulischen Heterogenitäten auf Lösungs-/Fällungsprozesse in porösen und geklüfteten Medien; Weiterführung der Arbeiten zur Adaption eines "Bottom-up" Ansatzes zur Modellierung der ^{226}Ra -Sorption in der sandigen OPA-Fazies; Entwicklung von Modellansätzen zum Einfluss der Wassersättigung auf den reaktiven Stofftransport in partiell wassergesättigten nanoskaligen porösen Medien auf dem Porenmaßstab.
- AP4: Mitarbeit bei der Vorbereitung und Durchführung des (virtuellen) jährlichen iCross Projekttreffens. Weitere Abstimmung mit den iCross-Partnern 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 across scales".

4. Geplante Weiterarbeiten

Im 1. Halbjahr 2021 sollen im Rahmen des AP1 die Arbeiten zur Charakterisierung von Proben aus der sandigen OPA Fazies fortgesetzt werden und weitere HTO Durchdiffusionsexperimente durchgeführt werden. Zudem soll die Methodenentwicklung für die "in-diffusion" Experimente mit ^{226}Ra abgeschlossen und die entsprechenden Versuche gestartet werden. In AP2 sind weitere Planungsarbeiten bzgl. der Experimente DR-C und DR-D sowie die Fortführung der Arbeiten zum Modellierungstask im Rahmen des CI-D Experiments vorgesehen. Im Rahmen von AP3 ist die Weiterführung der Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Prozesskopplungen und zur Berücksichtigung des Einflusses der Wassersättigung in reaktive Stofftransportmodelle auf dem Kontinuums- und Porenmaßstab geplant. Des Weiteren sollen die Arbeiten zu den Benchmarkstudien und den "Proof-of-concept" Studien fortgeführt werden (AP4).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Prasianakis, N.I., Haller, R., Mahrous, M., Poonosamy, J., Pflingsten, W., Churakov, S.V. (2020): Neural network based process coupling and parameter upscaling in reactive transport simulations. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 291, 126-143. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2020.07.019>

4 Tagungsbeiträge (AGU Fall Meeting 2020)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 053B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 Verbundprojektspartner 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 verschiedenen Kristallin-gesteinen: Durchführung von örtlich aufgelösten Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und μ TRLFS-Messungen an kristallinen Dünnschliffen (Granit (Eibenstock, Sachsen) und migmatisierten Gneis (Bukov, Tschechische Republik)) beladen mit Eu(III) und Cm(III).

FIB-SEM Analyse von OPA-SF-Proben für hochauflösende (nm-Bereich) tomografische Analyse der Porennetzwerke in diagenetisch gebildeten Mineralaggregaten von OPA-SF-Proben. Porosimetrie petrografisch unterschiedlicher OPA-SF-Abschnitte (Sulfid-/ Karbonatkonzentrationen) mit Quecksilberintrusionsanalytik.

- AP3: Simulation des diffusiven Transports auf der nm- und μm -Skala zur Analyse der effektiven Diffusivität, basierend auf Ansätzen zur „digital rock geometry“.
- Simulation des diffusiven Transport auf der Laborskala (Bohrkernabschnitt) zur Untersuchung des Einflusses von Lamination und diagenetischer Heterogenität.
- Berechnung von Aktivierungsenergien für $\text{Eu}(\text{OH})_3$ Adsorption für unterschiedliche Oberflächensites des Modellsystems Muskovit zur Verwendung bei kinetic Monte Carlo (kMC)-Simulation der Adsorption.
- Weiterentwicklung des konzeptuellen Modelles in OpenGeoSys (OGS6)#smartKa-Konzept zusammen mit Projektpartner UFZ sowie Update der thermodynamischen Datenbasis.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Vergleich der Cm(III)-Sorption auf Dünnschliffen von Kristallingesteinproben aus Onkalo, Finnland und Grimsel, Schweiz bei verschiedenen pH-Werten zur Analyse von Sorptionsmenge und -mechanismus mithilfe von Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und μTRLFS -Messungen.
- Segmentierung der FIB-SEM-Ergebnisse (vgl. 3. AP1), Kombinieren mit μCT -Ergebnissen und Porosimetriedaten zu einem generalisierten Porennetzwerkmodell zu Verwendung in AP3.
- Weitere Diffusionsexperimente mit PET-Analytik zur Untersuchung der Heterogenität der Fluidausbreitung unter niedrigerpermeablen Bedingungen in OPA-SF unter Berücksichtigung neu aufgesättigten Probenmaterials.
- AP3: Parametrisierung eines Transportmodelles auf Basis des in AP1 segmentierten Porennetzwerks von OPA-SF. Validierung mit experimentellen Daten.
- Regelmäßige Arbeitstreffen mit Projektpartner UFZ und neue OGS6-Transportsimulationen mit aktualisierter thermodynamischer Datenbasis.
- Diskussion und Zuarbeit zum Benchmark-Buch. Durchführung weiterer Arbeitstreffen mit Projektpartner GFZ zur Weiterentwicklung deren konzeptuellen Modelles sowie neuer Ansätze, z. B. Surrogate Funktionen, Machine learning.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Hennig, T., Stockmann, M., Kühn, M.: Simulation of diffusive uranium transport and sorption processes in the Opalinus Clay. *Appl. Geochem.* 123, 104777, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104777>

Vortrag: Interpore 2020 conference, Virtual conference, 31.08. – 04.09.2020

Poster: DMG Virtual Poster-Session 2020, 30.11. – 03.12.2020

Vortrag: Numerical simulation of subsurface flow workshop, Institute of Computational Mathematics and Scientific/Engineering Computing, Chinese Academy of Sciences, 25.09.2020

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 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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: Charakterisierung der Mineralogie von Opalinuston (BAD-1) und der sandigen Fazies des Opalinustons (BMB-A7) mittels SEM-EDX, Raman-Spektroskopie, XRD + Rietveld. Bestimmung der Porosität und Permeabilität in drei Raumrichtungen (BAD-1; Kooperation AGW). Durchführung von Durchdiffusionsversuchen mit HTO und $^{36}\text{Cl}^-$ zur Bestimmung von Transportparametern und Autoradiographie zur Bestimmung präferierter Transportpfade zeigte advektiven Transport und Randgängigkeiten;

Anpassung des Setups und Testversuch mit neuem Setup. Sorptionsversuche mit ^{137}Cs , ^{60}Co und ^{152}Eu an BMB-A7 Proben und Modellierung dieser Ergebnisse mit PhreeqC. Beendigung von zwei Diffusionsversuchen mit $^{243}\text{Am(III)}$ und $^{233}\text{U(VI)}$ in Opalinuston (tonige Fazies). Konzentrationsprofilermittlung mittels abrasiven Abtragens; Nuklidgehaltsbestimmung in einer Probe mittels AMS (Beschleunigermassenspektrometrie), in zweiter Probe mittels ICP-MS. Literaturrecherche und Zusammenstellung des Versuchsaufbaus für Versuche zur Radiotracerdiffusion (HTO und ^{36}Cl) über eine alterierte Magnetit-(Na-)Bentonit Grenzfläche.

- AP2: DR-C: Kapitelbeitrag zur Technical Note: DR-C Test Plan; DR-D: Abstimmung von DR-C und DR-D bezüglich Versuchsort; Planung der seismischen Charakterisierung mit BGE, GFZ und BGR. IC-A: Die ersten zwei Stahl-Korrosionsproben aus dem Mt-Terri experiment IC-A wurden mittels SEM-EDX, XPS und μ -XAS (XRF + XANES) untersucht.
- AP3: Reaktive-Transport-Prozesse bei der Kanister-Bentonit-Wechselwirkung wurden über 10.000 Jahre modelliert. Eine Veröffentlichung zum Modell ist in Arbeit. Aus MD-Simulationen abgeleitete Diffusionsparameter wurden erfolgreich in Reaktiven Transportrechnungen angewandt.
- AP4: AP4-Arbeitstreffen sowie Begleitung der AP-Arbeitstreffen der Arbeitspakete 1-3, Präsentation der Proof of Concept Cases (PoCs) und Zusammenfassung der Ergebnisse beim gemeinsamen iCross Workshop. Sammlung von Ideen für Anschlussprojekte.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Pulverton- und Diffusionsprobenpräparation von sandigen Opalinuston (BCL-1) unter Inertgas; Durchführung des REV-Diffusionsexperiments senkrecht zur Schichtung mit HTO und Cl-36 mit neuem Setup; Filterdiffusionsversuche. Sorptionsversuche an intakten Opalinustonoberflächen. Charakterisierung von, und Sorptionsversuche an Teilbereichen der sandigen Faziesprobe BMB-A7. Diffusionsprofilermittlung mittels AMS an zweiter Probe. Durchführung eines Diffusionsversuchs mit $^{243}\text{Am(III)}$ und $^{233}\text{U(VI)}$ in Opalinuston (tonige Fazies) bei um zwei Größenordnungen reduzierten initialen Tracerkonzentrationen. Durchführung des Radiotracerdiffusionsversuchs über eine alterierte Magnetite-Na-Bentonit Grenzfläche.
- AP2: DR-C: Einigung auf die Zusammensetzung des radioaktiven Tracercocktails durch die Kombination von analytischen Testmessungen und Modellierung (FANC); DR-D: Geophysikalische Charakterisierung des Experimentstandortes; zusätzliche Charakterisierung des Bohrkerns und Bohrlochs. IC-A: Analyse zweier weiterer Korrosionsproben. Sorptionsexperimente mit alteriertem und unverändertem Bentonit aus diesen Proben mit ^{60}Co und Autoradiographieanalyse.
- AP3: Reaktive-Transport-Modellierung von Experimenten im Untergrundlabor.
- AP4: Zusammenstellung von PoC Projekt-Teams und Organisation von entsprechenden Meetings, zur Verbesserung der AP-übergreifenden Abstimmung der Arbeiten in den PoCs.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Klose, T.; Chaparro, M.C.; Schilling, F.; Butscher, C.; Blum, P.; (2020): Fluid Flow Simulations of a Large-Scale Borehole Leakage Experiment, Transport in Porous Media, <https://doi.org/10.1007/s11242-020-01504-y>

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 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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

Aufgabe 1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse:

Die Ergebnisse aus dem vorherigen Projektjahr wurden weiter ausgewertet und zur Veröffentlichung in einem peer-reviewed Journal eingereicht. Zur verbesserten Charakterisierung der Deformationsprozesse wurden triaxiale Deformationsversuche an großen Vollzylindern des Opalinustons mittels einer servohydraulischen Prüfmaschine durchgeführt. Die Versuche erfolgten an getrockneten und gesättigten Probekörpern der sandigen Fazies in paralleler sowie senkrechter Ausrichtung zur Schichtung. Die Probekörper waren mit Ultraschallsensoren und Dehnmessstreifen bestückt, wodurch akustische Emissionen sowie laterale Verformungen gemessen werden konnten. Die Versuche erfolgten bei vergleichbaren Bedingungen zu den vorherigen Experimenten an kleinen Proben in einer Paterson-Gasdruckapparatur. Die Ergebnisse der mechanischen Experimente zeigen eine gute Übereinstimmung der Datensätze. Zudem erfolgten erste Durchströmungs- und Reibungsexperimente an Proben mit künstlich hergestellter Störung.

Aufgabe 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung:

Im September 2020 wurde eine weitere Tomographie-Messung im Mont Terri Felslabor durchgeführt. Dabei wurde mit einer stark verdichteten Messanordnung gearbeitet, die eine verbesserte Auflösung kleinskaliger Heterogenität in der tonigen Fazies des Opalinustons ermöglicht sowie eine wiederholte Charakterisierung der tonigen Fazies umfasst, so dass Auswertungen zur Reproduzierbarkeit bzw. zu Änderungen der mechanischen Eigenschaften des Opalinustons in Folge von zwischen den beiden Messkampagnen erfolgten Aktivitäten möglich werden. Eine weitere für November 2020 geplante Messkampagne zur großräumigeren Erkundung des Umfelds musste aufgrund der Beschränkungen zur Eindämmung der Covid-Pandemie verschoben werden und kann voraussichtlich im Frühsommer 2021 durchgeführt werden.

Aufgabe 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren:

Neben der kontinuierlichen Fortentwicklung der Experimente in Mont Terri, an denen das iCross-Projekt beteiligt ist, wurden weitere Partnerschaften mit anderen Experimenten geplant und umgesetzt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aufgabe 1.4:

Versuche in der Durchströmungszelle, um den Einfluss von Normalspannung, Temperatur und Wassersättigung auf die Risstransmissivität zu untersuchen. Reibungsexperimente an der sandigen sowie der tonigen Fazies des Opalinustons, um den Einfluss der mineralogischen Zusammensetzung auf die Scherparameter sowie die seismischen Eigenschaften zu untersuchen. Aufbereitung von Proben für mikrostrukturelle Untersuchungen, um Deformationsmechanismen auf der Rissoberfläche zu untersuchen.

Aufgabe 2.5:

Akquisition eines Reflexionsprofils entlang der Sicherheitsgalerie im Mont Terri Felslabor zur Charakterisierung der oberen und unteren Grenzflächen des Opalinustons, Abschluss der tomographischen Auswertung der Pilot- und Verdichtungsmessungen, Mitarbeit am Aufbau des DR-D Experiments in Mont Terri und tomographische Charakterisierung hierfür.

Aufgabe 4.3:

Die Planungen für die Experimente der kommenden Entwicklungsphase für die Jahre 2021/2022 des Untergrundlabors Mont Terri werden abgeschlossen. Insbesondere werden ein neues Diffusionsexperiment, eine Bohrkampagne im Rahmen der hydrogeologischen Untersuchungen und weitere seismische Messkampagnen unter Leitung des iCross-Projektes umgesetzt.

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 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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) (siehe auch wissenschaftlicher Jahresbericht 2020). 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: Mikrobiologie

- Experimente zur mikrobiellen Korrosion von Stahl durch das methanogene Archäon IM1-8 und Erweiterung auf Endlager relevante Materialien wie Gusseisen mit Kugelgraphit (Sphäroguss)
- Untersuchung von Struktur und Zusammensetzung gebildeter Korrosionskruste mittels Heliumionenmikroskopie, energie-dispersiver Röntgenspektroskopie sowie Mikro-Raman-Spektroskopie
- Untersuchung der bei mikrobieller Korrosion gebildeten Gase CO₂ und CH₄ auf isotopische (Wasserstoff und Kohlenstoff) Zusammensetzung (bisher unbekannte charakteristische Fraktionierung, die zum Monitoring von mikrobieller Korrosion in einem Endlager genutzt werden kann)
- Durchführung von Genomics und Proteomics Analysen am korrosiven Stamm IM1-8

WP3-AP1: Mehrphasen-Mechanik (TH2M)

- Erweiterung des im letzten Berichtszeitraum fertiggestellten TH2M-Moduls um Phasenübergangsverhalten (Verdunstung/Kondensation sowie Einlösung/Ausgasung), (Grunwald et al. 2021)
- Implementierung notwendiger Funktionen zur Beschreibung des Materialverhaltens von Fluiden und Festkörpern in OGS-6 sowie Modul für Materialeigenschaften (MPL) (Grunwald et al. 2020)
- Entwicklung einer komplexen Benchmark-Testreihe zur stückweisen Verifizierung des Gesamtprozesses (TH2M) durch Einzeltests sinnvoller Prozesskopplungen mit reduzierter Komplexität

WP3-AP2: Reaktive Transportprozesse (RTP)

- Implementierung von Porositätsänderungen mit Reaktionen (gemeinsam mit FZJ) mit entsprechenden Benchmarks in OGS-6
- Look-up Table-Ansatz für Radionuklid-Migration
- "Experimentelle Planung" für das DR-C Experiment in Mt. Terri (Diffusionsprozesse in thermischen Gradienten), Degradation von Beton im Kontakt mit Tongestein (Vehmas et al. 2020)

WP3-AP3: Unsicherheitsanalyse

- Publikation zum Vergleich der komplexitätsreduzierten TH(M)- mit voll gekoppeltem THM-Modell (Buchwald et al. 2021)
- Weiterentwicklung und Implementierung der TH(M)-Modelle für ungesättigte Bedingungen (basierend auf Richards-Gleichung) in OpenGeoSys-6
- 2D- und 3D-Validierungstests basierend auf dem FE-Experiment im URL Mt. Terri

WP4: Networking und Synthese

- Weiterbildung und Training: OGS Webinare zur Modellentwicklung und -anwendung.
- Präsentationen: Virtuelle und hybride iCROSS Konferenzen auf WP- und Projektebene; Weiterentwicklung des VR Tasks Mt. Terri in Zusammenarbeit mit swisstopo; Präsentationen auf INTERPORE 2020 (31.08.-04.09.) und CouFrac 2020 (11.-13.11.), EuroCorr2020; Präsentation von iCROSS Ergebnisse bei EURAD Veranstaltungen
- Vorbereitung einer Postersession zu OpenGeoSys-Entwicklungen und -Anwendungen in der nuklearen Endlagerung bei den Tagen der Standortauswahl (11.-12.02.2021)

4. Geplante Weiterarbeiten

- WP1: Weiterführende Analysen der Struktur und chemischen Zusammensetzung der durch das methanogene Archäon IM1-8 gebildeten Korrosionskrusten, Korrosionsexperimente mit den sulfatreduzierenden Bakterien *Desulfovibrio corrodens* and *Desulfovibrio ferrophilus* an verschiedenen, für Container im Endlager relevanten Metallen, Fraktionierung von Wasserstoff-, Kohlenstoff- und Schwefelisotopen im bei der mikrobiellen Korrosion verschiedener relevanter, Entwicklung eines Protokolls zur Extraktion von Proteinen aus mikrobiellen Zellen auf mikrobiell korrodierten Coupons.
- WP3-AP1/2: Erstellung einer systematischen Benchmark-Reihe zur Validierung des OGS-TH2M-Gesamtmodells (alle Prozesskopplungen) und für reaktive Transportprozesse mit zunehmender Komplexität; Erweiterung des TH2M-Moduls zur Berücksichtigung von Phasenübergängen (z. B. Evaporation, Gaslösung), Auswertung von EURAD-GAS Experimenten.
- WP3-AP3: Unsicherheitsanalyse (Uncertainty Quantification): Abschluss der Arbeiten zur komplexitätsreduzierten THM Modellierung, Anwendung auf das FE-Experiment im URL Mt. Terri, Erweiterung des UQ Konzepts für Phasenfeld-Modelle, Vorbereitung entsprechender Publikationen.
- WP4: Networking mit EURAD und DECOVALEX: Zusammenarbeit im Benchmarking und Nutzung der experimentellen Ergebnisse des EU Projekts. Beteiligung an der 27. Phase des Mt. Terri Projekts (mehrere Tasks).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Buchwald et al. (2021): Improved predictions of thermal fluid pressurization in hydro-thermal models based on consistent incorporation of thermo-mechanical effects in anisotropic porous media *Int J Heat Mass Transf* (in revision)

Chaudhry, A.A., Buchwald, J., Nagel, T., (2021): Local and global spatio-temporal sensitivity analysis of thermal consolidation around a point heat source. *Int. J. Rock Mech. Min. Sci.* 139, art. 104662
 Grunwald, N., Maßmann, J., Kolditz, O., Nagel, T., (2020): Non-iterative phase-equilibrium model of the H₂O-CO₂-NaCl-system for large-scale numerical simulations. *Math. Comput. Simul.* 178, 46 – 61

Grunwald et al. (2021): Non-isothermal two-phase flow in deformable porous media: Systematic open-source implementation and verification procedure. *Geomech. Geophys. Geo-energ. Geo-resour.* (in review)

Vehmas, T., Montoya, et al. (2020): Characterization of Cebama low-pH reference concrete and assessment of its alteration with representative waters in radioactive waste repositories *Appl. Geochem.* 121, art. 104703

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 056A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.09.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 328.412,00 EUR	Projektleiter: Dr. Heberling	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Beim Einbau von Radionukliden in Mischkristalle steht das gesamte Mineralvolumen zur Radionuklidrückhaltung zur Verfügung. Dieser Prozess hat somit gegenüber der reinen Adsorption an Mineraloberflächen ein erhebliches höheres Potential, Radionuklide im einschlusswirksamen Gebirgsbereich zu immobilisieren. Die Mischkristallbildung wird in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt. Dies liegt daran, das entsprechende Modellparameter, welche die Mischungsthermodynamik und insbesondere auch die Bildungskinetik von Mischkristallen beschreiben, bisher nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind. In KRIMI werden am KIT grundlegende Untersuchungen zur Bildungskinetik und Thermodynamik des Radionuklideinbaus in die Mineralphasen Baryt und Calcit durchgeführt, mit dem Ziel die Quantifizierung der Radionuklidrückhaltung durch Einbau in diese Mineralphasen für ausgewählte Radionuklide zuverlässig mit mechanistischen Modellen zu ermöglichen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau in- und zur Rekristallisationskinetik von Baryt und Calcit
- AP2: Modellierung und Simulation. Mit Molekular-Dynamik und Density Functional Theory Simulationen werden die Grundlagen für Mischungsthermodynamik und Rekristallisationskinetik erarbeitet
- AP3: (Natürliche Analoga, keine eigenständigen Beiträge von KIT-INE geplant)
- AP4: Projektkoordination

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

- AP1: Die experimentellen Arbeiten wurden begonnen. Als erster Schritt wurden aus früheren Arbeiten am INE vorhandene Experimente zum Radionuklideinbau in Baryt und Calcit aufgearbeitet. Darunter Rekristallisationsexperimente (Aragonit zu Calcit) anhand derer der Einbau von Np(V) sowie von Selenit in Calcit, in Abhängigkeit von Konzentration und Ionenstärke, untersucht wird. Versuche zum Sulfateinbau in Bariumcarbonat, und zur Barytrekristallisation in Carbonatlösungen laufen.
- AP2: Density Functional Theory Simulationen zum Radiumeinbau im Baryt-Witherit System wurden angegangen. Startstrukturen für Rechnungen zur Rekristallisationskinetik wurden erarbeitet.
- AP4: Projektkoordination: Am 15.11.2020 konnte Herr Lukas Zunftmeister als Doktorand für KRIMI am KIT eingestellt werden. Am 17.11.2020 wurde das Kick-off-Meeting zum Projekt abgehalten. Es folgten kleinere Arbeitsbesprechungen zur Koordination der Arbeiten zur Barytauflösungs- und Wachstumskinetik (alle Meetings online).

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum sollen von KIT-INE folgende Arbeiten durchgeführt werden:

- AP1: (i) Charakterisierung der Lösungen und Festphasen aus den aufgearbeiteten Experimenten mit verschiedenen am INE vorhandenen analytischen Methoden. Zunächst steht die Analyse der Festphasen mittels Röntgendiffraktometrie im Vordergrund. Diese soll im weiteren Verlauf ergänzt werden durch Elektronenmikroskopie und UV/VIS-Spektroskopie.
(ii) Barytsynthesen und Beginn von Isotopenaustauschexperimenten.
(iii) Beginn von Experimenten zum Ra-Einbau in Witherit.
- AP2: (i) Fortführung der Density Functional Theory Simulationen im Bulk und Beginn von Simulationen an Oberflächen.
(ii) PhreeqC Modellierungen zum intrakristallinen Transport bei der Rekristallisation von Baryt zu Witherit.
- AP4: Organisation weiterer Arbeitstreffen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 056B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.09.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 259.072,00 EUR	Projektleiter: Dr. Brandt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Die Forschungsthematik des KRIMI Projektes basiert auf standortunabhängigen Szenarien für die tiefengeologische Endlagerung hochradioaktiver Abfälle, in denen die Möglichkeit des Kontakts von eingelagerten Abfallbehältern mit Grundwasser betrachtet wird. Wichtige Rückhalteprozesse für Radionuklide sind dabei Sorption und Ausfällung. Ein Grenzfall zwischen Sorptions- und Ausfällungsprozessen ist die Bildung von Mischkristallen, die ein großes Rückhaltepotenzial bieten. Die Mischkristallbildung wird dennoch in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt, weil entsprechende Modellparameter zur Mischungsthermodynamik und insbesondere auch zur Beschreibung der Bildungskinetik von Mischkristallen nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind. Der Schwerpunkt des KRIMI Teilprojekts in Jülich wird die Kinetik des Einbaus von Radium im Mischkristallsystem (Ba,Sr,Ra)SO₄ sein. Dabei werden hochauflösende Methoden der Elektronenmikroskopie und atomistische Simulationen angewendet, um die Kinetik und langfristige Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts in diesem System detailliert nachzuvollziehen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten von FZJ-IEK-6 im Rahmen von KRIMI gliedern sich in folgende Arbeitspakete:

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau zum Einbau von ²²⁶Ra in (Ba,Ra)SO₄ und (Ba,Sr,Ra)SO₄
- AP2: Modellierung und Simulation. Mit Molekular-Dynamik und Density Functional Theory Simulationen werden die Grundlagen für Mischungsthermodynamik und Rekristallisationskinetik erarbeitet.
- AP3: (Natürliche Analoga, keine eigenständigen Beiträge von FZJ-IEK-6 geplant).
- AP4: Projektkoordination.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden folgenden Arbeiten durchgeführt:

AP1+AP3: Aufgrund der erschwerten Stellenbesetzung durch die Covid-19 Epidemie musste der Beginn der konkreten Arbeiten auf 2021 verschoben werden (Änderungsbescheid vom 10.11.2021).

AP4: Gemeinsam mit KIT-INE wurde ein virtuelles Kick-off Meeting durch FZJ-IEK-6 organisiert. Zusätzlich wurden mehrere virtuelle Besprechungen mit der Gruppe der Modellierer in KRIMI organisiert, um den Arbeitsplan zu harmonisieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum sollen von FZJ-IEK-6 folgende Arbeiten durchgeführt werden:

AP1 und AP3: Zum 15.1.2021 konnte ein Doktorand eingestellt werden. Aufgrund der zurzeit sehr begrenzten Möglichkeiten im Labor zu arbeiten (Covid-19 Einschränkungen), wird der Schwerpunkt auf den theoretischen Arbeiten liegen. Hier werden DFT und NEB Berechnungen auf dem Jülicher Supercomputer EUREKA aufgesetzt und gestartet.

Nach Möglichkeit sollen auch erste Arbeiten an den Elektronenmikroskopen gestartet werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 056C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.09.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 411.828,00 EUR	Projektleiter: Dr. Scheinost	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse systemrelevanter Mischkristalle.

Die Forschungsthematik des KRIMI Projektes basiert auf standortunabhängigen Szenarien für die tiefengeologische Endlagerung hochradioaktiver Abfälle, in denen die Möglichkeit des Kontakts von eingelagerten Abfallbehältern mit Grundwasser betrachtet wird. Wichtige Rückhalteprozesse für Radionuklide sind dabei Sorption und Ausfällung. Ein Grenzfall zwischen Sorptions- und Ausfällungsprozessen ist die Bildung von Mischkristallen, die ein großes Rückhaltepotenzial bieten. Die Mischkristallbildung wird dennoch in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt, weil entsprechende Modellparameter zur Mischungsthermodynamik und insbesondere auch zur Beschreibung der Bildungskinetik von Mischkristallen nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1.3: Untersuchung von Kinetik und Mechanismus des Einbaus von Pu(III) und Tc(IV) in Magnetit und deren Freisetzung mittels Experiment und Spektroskopie
- AP2.3: Kinetik und Mechanismus des Einbaus von Pu(III) und Tc(IV) in Magnetit mittels atomistischer Simulationen (Unterauftrag Uni Bern)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.3: Einstellung eines Doktoranden ab 1.11.2020 (Thomas Zimmermann). Literaturstudie und erste experimentelle Arbeiten zur Magnetitsynthese mit unterschiedlichen Partikelgrößen.

AP2.3: Aufgrund der erschwerten Stellenbesetzung durch die CoVid-19 Pandemie kann die Stellenbesetzung an der Uni Bern erst in 2021 erfolgen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1.3: Weitere Magnetitsynthesen und erste experimentelle und spektroskopische Arbeiten im System Tc/Magnetit.

AP2.3: Erste DFT-Berechnungen zu Magnetit-Nanopartikeln.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 056D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.09.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 254.962,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Neumann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Forschungsprojekt KRIMI leistet einen wichtigen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls. Dabei verfolgt das Verbundprojekt zwei grundlegende Ziele: (i) Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie und (ii) Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse systemrelevanter Mischkristalle.

Im Fokus des Projektes steht die Bildung von Mischkristallen aus wässriger Lösung zwischen ausgewählten dreiwertigen Actiniden (Pu(III), Am(III), Cm(III)), zweiwertigen Spalt-, Aktivierungs-, und Zerfallsprodukten (Ra(II), Zn(II), Ni(II)) sowie Se(IV) und Tc(IV) und den endlagerrelevanten Mineralphasen Baryt, Calcit und Magnetit.

Wichtige Teilziele sind:

- Die kinetische Beschreibung der Mischkristallbildung: Neben der Beschreibung der Geschwindigkeit des Reaktionsverlaufs soll hier geklärt werden, inwiefern Inhibitionseffekte vorliegen (können). Möglich sind sowohl Reaktionen, die keinen Gleichgewichtszustand erreichen, als auch „entrapment“-Effekte durch die bei einer Präzipitationsreaktion signifikant mehr eines Radionuklids in das Wirtmineral eingebaut wird als thermodynamisch stabil aufgenommen werden kann. In diesem metastabilen Fall müsste dann mit einer späteren (unkontrollierten) Freisetzung gerechnet werden
- Thermodynamische Modelle der entstehenden Mischkristalle: Sie bilden die Basis für die Quantifizierung der Abweichung metastabiler (kinetisch kontrollierter) Zustände vom thermodynamischen Gleichgewichtszustand
- Die Untersuchung natürlicher Analoga: Sie bieten die Möglichkeit, die Mischkristallstabilität bzw. bei Inhibitions- oder „entrapment“-Effekten, die Metastabilität über geologische Zeiträume zu überprüfen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Teilprojekt D an der TU Berlin widmet sich der Untersuchung von natürlichen Analoga der Sekundärphasenbildung. Die Auswahl der Mischkristalle ist mit den Laborexperimenten und Modellen der übrigen Teilprojekte konsistent. Folgende Mischkristallsysteme stehen im Fokus:

- (Me²⁺) Calcit
- (REE³⁺) Calcit
- (Ba/Ra/Sr) Sulfate

Es werden sowohl geothermale Systeme mit calcit- und sulfathaltigen Kluftmineralisationen, die unter Niedrigtemperatur-Bedingungen alteriert wurden, als auch sedimentäre Systeme untersucht.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Projektarbeiten begannen mit einem Kick-Off-Workshop am 17. November 2020. Während des virtuellen Treffens wurden die geplanten Arbeiten des Teilprojektes vorgestellt und mit den Verbundpartnern diskutiert.

Zurzeit erfolgt die Besetzung der Projektmitarbeiterstelle.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die weiteren Arbeiten, wie Probenahme im Gelände und analytische Untersuchung der natürlichen Analoga, werden mit der Besetzung der Projektstelle gestartet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 056E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.09.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 237.435,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lüttge	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI hat die folgenden grundlegenden Ziele:

1. Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
2. Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Für den Einbau von Radionukliden in (Misch-)Kristalle steht neben ihren Oberflächen auch das gesamte Kristallvolumen zur Verfügung. Damit müssen neben der Kinetik der reinen Adsorptionsprozesse an den Mineraloberflächen auch die Prozesse der Mischkristallbildung besser verstanden werden, die in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt wurden. Primäre Ursache für diese Situation ist, dass dringend benötigte Modellparameter für die Beschreibung der Mischungsthermodynamik und mehr noch die Kristallisationskinetik solcher Systeme bisher nur unzureichend vorhanden sind. In KRIMI wird an der Universität Bremen ein grundlegendes kinetic Monte Carlo Modell zur Kinetik des Radionuklideinbaus in die Mineralphasen Baryt und Calcit erarbeitet. Diese Arbeit hat das Ziel, die Fähigkeit zur Prognose zu gewinnen und so die Quantifizierung der Radionuklidrückhaltung durch den Einbau in die o. g. Mineralphasen für ausgewählte Radionuklide zuverlässiger zu gestalten und die Entwicklung detaillierter mechanistischer Modelle zu unterstützen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten der Uni Bremen im Rahmen von KRIMI gliedern sich in die Arbeitspakete:

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau in- und zur Rekristallisationskinetik von Baryt und Calcit (AG Bremen: Unterstützung mit einem (fastscan) AFM-Gerät und einem RAMAN-gekoppelten Vertikal Scannenden Interferometer für die experimentellen Arbeiten/Messungen).
- AP2: Modellierung und Simulation. AG Bremen leistet mit der Entwicklung von KMC-Modellen für Baryt und Calcit einen Beitrag zur Modellierung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden von der AG Lüttge Universität Bremen in KRIMI die folgenden Arbeiten durchgeführt:

- AP1: aufgrund Corona-bedingter Beschränkungen (lock down etc.) standen die Labore im Berichtszeitraum nicht zur Verfügung. Die Labore und Geräte wurden mit verschiedenen Videokameras ausgestattet, die es künftig erlauben werden, die vom technischen Personal durchgeführten Arbeiten und Messungen in real time zu verfolgen und (auch von anderen Standorten aus) zu steuern.
- AP2: Es wurden verschiedene Arbeitstreffen (via Zoom) zur Konzeption und Planung der Parametrisierung des KMC-Modells für Baryt durchgeführt. Diese Treffen haben eine Schlüsselfunktion und trugen wesentlich zum gegenseitigen Verständnis der für das KMC-Modell notwendigen Parametrisierung mit DFT-Rechnungen bei. Die beteiligten Wissenschaftler der unterschiedlichen Standorte entwickeln eine gemeinsame Arbeitsbasis.
- AP4: Beteiligung bei der Organisation und Durchführung o. g. Zoom-Treffen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum sollen von AG Lüttge Universität Bremen folgende Arbeiten durchgeführt werden:

- AP1: AG Bremen: wie verabredet - Unterstützung mit einem (fastscan) AFM-Gerät und einem RAMAN-gekoppelten Vertikal Scannenden Interferometer für die experimentellen Arbeiten/Messungen; NEU: Videokamera gestütztes Arbeiten auch von anderen Standorten
- AP2: Entwicklung bzw. Weiterentwicklung des KMC-Modells für Calcit;
Entwicklung eines ersten parametrisierten KMC-Modells für Baryt;
Wesentlich für den Erfolg der begonnenen und geplanten Arbeiten zur Modellierung wird eine erfolgreiche Besetzung der bewilligten Doktoranden*Innen-Stelle sein. Diese Besetzung ist bislang (auch Corona-bedingt) noch nicht gelungen. Es wird derzeit versucht, auch ausländische Kandidaten*Innen z. B. von der Lomonosov Moscow State University für diese Position zu interessieren.
- AP4: Beteiligung bei der Organisation und Durchführung von (Zoom-)Arbeitstreffen, workshops etc.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 059A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 438.556,00 EUR	Projektleiter: Dr. Geist	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien in Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Bislang konnten keine Arbeiten durchgeführt werden

AP2: *N,N,N',N'*-Tetraethyl-2,6-dicarboxamidpyridin **L1** (2.75 g), *N,N,N',N'*-Tetrapropyl-2,6-dicarboxamidpyridin **L2** (2.90 g) und *N,N,N',N'*-Tetraoctyl-2,6-dicarboxamidpyridin **L3** (6.15 g) wurden für spektroskopische Untersuchungen mittels NMR und TRLFS sowie für die Extraktion hergestellt

AP3: Bisherige NMR-Untersuchungen befassten sich mit der vollständigen Charakterisierung der Liganden **L1**, **L2** und **L3** sowie der Komplexe $[\text{Ln}(\mathbf{L1})_3]^{3+}$ (mit Ln = Lu, La, Y, Sm) und $[\text{Am}(\mathbf{L1})_3]^{3+}$

AP4: Im Berichtszeitraum wurden keine Arbeiten durchgeführt

4. Geplante Weiterarbeiten

- Vergleich der An(III)- und An(IV)-Dipicolinamidkomplexe hinsichtlich der chemischen Verschiebung der Donoratome
- Temperaturabhängige NMR-Messungen an An(III)- und Ln(III)-Dipicolinamidkomplexen
- Synthese von strukturähnlichen *N,O*-Donorliganden sowie NMR-Untersuchungen zur Komplexierung von An(III) und Ln(III)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 059B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 370.233,00 EUR	Projektleiter: Dr. Schmidt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Arbeitspaket 1:

Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

Arbeitspaket 2:

Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

Arbeitspaket 3:

Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

Arbeitspaket 4:

Studien in Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Zur Besetzung der beiden Doktorandenstellen am HZDR wurden am 22., 23. und 26. Oktober 2020 Bewerbungsgespräche durchgeführt, bei denen zwei geeignete Kandidat*innen identifiziert wurden. Frau Tamara Duckworth und Herr Boseok Hong haben am 4. Januar bzw. 10. Februar 2021 ihre jeweiligen Stellen angetreten. Zusätzlich werden zwei Masteranden an zum Projekt gehörigen Themen arbeiten.
- AP2: Erste Berechnungen zeigen Unterschiede in der Stabilität der für die Komplexsynthese vorgesehenen Phosphan-substituierten Amidinate auf.
- AP3: Quantenchemische Berechnungen sagen ähnliche Strukturen aber unterschiedliche Bindungseigenschaften für die substituierten und unsubstituierten Amidinatliganden voraus.
- AP4: Keine Beiträge von HZDR.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Beide Doktoranden haben am 5. Februar am virtuellen Kick-off Meeting des Projekts teilgenommen und dort die anderen Projektpartner kennengelernt. Seit 15. Februar besteht am HZDR wieder Zugang zu den Laboren, und die Doktoranden werden in das Arbeiten mit Actiniden und insbesondere die metallorganische Synthesechemie dieser Elemente eingewiesen.
- AP2: Synthesen von Liganden des Pyren-Typs sind geplant, die anschließend für Komplexbildungsreaktionen mit Actiniden Th – Pu eingesetzt werden sollen.
- AP3: Mit den synthetisierten Liganden vom Pyren-Typ werden Actinidkomplexe dargestellt. Die gebildeten Komplexe werden in der Folge eingehend mittels SC-XRD, NMR, UV/vis und IR charakterisiert sowie quantenchemisch beschrieben. Die Reaktivität von Actinidkomplexen mit Amidinat-Liganden soll genauer untersucht werden. Gebildete Verbindungen mit An-N-Dreifachbindung werden strukturell und quantenchemisch untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Heidelberg, Grabengasse1, 69117 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 059C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 318.465,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Panak	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von *f*-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (*f*-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3:

Die Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit dem N,O-Donorliganden N,N,N,N-Tetraethyl-2,6-dicarboxamidpyridin (Et-Pic) wurde in Acetonitril mit 10 Vol. % H₂O mittels zeitaufgelöster Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) als Funktion der Temperatur (20 – 70 °C) und der Ligandkonzentration (0 – 0.2 mol L⁻¹) untersucht.

Sowohl für Cm(III) als auch für Eu(III) konnten mit zunehmender Ligandkonzentration neben der Lösungsmittelspezies drei weitere Komplexspezies identifiziert werden. Diese konnten mittels Steigungsanalysen den [M(Et-Pic)_n]³⁺-Komplexen (n = 1-3, M = Cm, Eu) zugeordnet werden. Die konditionalen Stabilitätskonstanten sind: log β'₁ = 4.1 ± 0.3; log β'₂ = 6.4 ± 0.3 und log β'₃ = 6.2 ± 0.4 für Eu(III) sowie log β'₁ = 4.3 ± 0.2; log β'₂ = 7.2 ± 0.3 und log β'₃ = 7.6 ± 0.3 für Cm(III).

Die Komplexierung von Cm(III) wurde außerdem bei konstanter Ligandkonzentration (1.27·10⁻⁴ mol L⁻¹) als Funktion der Temperatur mittels TRLFS untersucht. Unter diesen Bedingungen liegen der Solvenskomplex sowie der 1:1- und der 1:2-Komplex in Lösung vor. Eine Temperaturerhöhung behindert die Bildung des 1:1-Komplex und begünstigt die Bildung des 1:2-Komplexes. Die Van't Hoff Gleichung wurde zur Bestimmung der konditionalen Reaktionsenthalpie und -entropie der einzelnen Komplexierungsschritte verwendet. Diese sind: ΔR_H'₁ = -16.5 ± 5.5 kJ mol⁻¹ und ΔR_S'₁ = 24.5 ± 11.6 J mol⁻¹ K⁻¹ sowie ΔR_H'₂ = 13.6 ± 4.3 kJ mol⁻¹ und ΔR_S'₂ = 98.6 ± 14.0 J mol⁻¹ K⁻¹.

4. Geplante Weiterarbeiten

- In der nächsten Forschungsperiode sollen ΔR_H'₃ und ΔR_S'₃ für die Komplexierung von Cm(III) mit Et-Pic sowie die konditionalen Reaktionsenthalpien und -entropien für die Komplexierung von Eu(III) bestimmt werden.
- Zusätzlich sollen weitere N,O Donorliganden mittels TRLFS untersucht werden.
- Darüber hinaus sollen in Kooperation mit dem KIT-INE ergänzende Untersuchungen mit Hilfe der NMR durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 059D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 437.777,00 EUR	Projektleiter: Dr. Modolo	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Ein aussichtsreicher Kandidat für eine mögliche Doktorarbeit wurde in die Labortätigkeiten eingewiesen und der theoretische Hintergrund vermittelt.
- AP2: Im Berichtszeitraum wurden keine Arbeiten durchgeführt.
- AP3: Im Berichtszeitraum wurden keine Arbeiten durchgeführt.
- AP4: Die Stabilität von CyMe₄BTBP und CyMe₄BTPPhen gegenüber ionisierender Strahlung wurde anhand von Literaturdaten und durch Neuauswertung eigener älterer experimenteller Daten untersucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Einstellung eines Kandidaten für die Masterarbeit und daran anschließende Promotion.
- AP2: Testen von neu entwickelten Liganden.
- AP3: Tiefergehende Untersuchungen von in AP2 entwickelten Liganden.
- AP4: Fortsetzung der Studien zur Stabilität von CyMe₄BTBP und CyMe₄BTPPhen gegenüber ionisierender Strahlung und Einreichung eines Manuskripts zur Veröffentlichung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 059E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 318.221,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Meyer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von *f*-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (*f*-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspakete 1–4:

Arbeiten zu den Arbeitspaketen 1–4 konnten noch nicht beginnen, da noch keine Mitarbeiter bis zum 31.12.20 auf dem Projekt eingestellt waren.

Eine detaillierte, retrosynthetische Analyse der im Projekt vorgeschlagenen, neuartigen N-basierten O/S-, N,O/S-, N,N/S- bzw. $N_x,O/S_y$ - sowie sterisch abgeschirmten pyridin- bzw. aryloxidsubstituierten Liganden zur Komplexbildung von Uran(III–VI)-Kationen wurde ausgearbeitet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Fortführung beinhaltet die Synthese/Charakterisierung/Weiterentwicklung (neuartiger) Ligandensysteme sowie deren Weiterleitung an die Kooperationspartner zur näheren Charakterisierung/Evaluierung. Des Weiteren konzentrieren sich Forschungsarbeiten auf die Synthese und Charakterisierung von U^{III-VI} -Komplexen ausgehend von tacn-, mes- und N-basierter O/S-, N,O/S-, N,N/S- bzw. $N_x,O/S_y$ - sowie sterisch abgeschirmter pyridin- bzw. aryloxidsubstituierten Liganden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		Förderkennzeichen: 02 NUK 059F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 694.408,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Roesky	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f -Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f -Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die ersten Meilensteine der Arbeitskreise Roesky und Breher (KIT-CS) wurden wie folgt definiert:

- Synthese von N-Donor-Liganden
- Beschaffung und Installation der Schutzgashandschuhbox und der Elektrochemie

Die Untersuchungen erfolgten in den Bereichen:

- Arbeitspaket 1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses
- Arbeitspaket 2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden
- Arbeitspaket 3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

Bedingt durch die kurzfristige Bewilligung und eingeschränkt durch die COVID-19-Pandemie konnten von vier beantragten bisher lediglich zwei Mitarbeiter/innen eingestellt werden, die seit dem 1. November 2020 bzw. 1. Dezember 2020 im Rahmen des Projekts tätig sind. Die Beschaffungen der Schutzgashandschuhbox und der Elektrochemie ist für das erste oder zweite Quartal 2021 geplant.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In dem vorliegenden Projekt möchten die Arbeitsgruppen Roesky und Breher die bisher erfolgreich dargestellten Extraktionsliganden weiterentwickeln. In unseren bisherigen Arbeiten konnten wir durch die Entwicklung neuartiger Liganden zeigen, dass schon geringe Veränderungen im Ligandengerüst zu einer starken Veränderung im Extraktionsverhalten führen. Zudem spielt die Löslichkeit der Liganden und entsprechenden Komplexe eine signifikante Rolle. Aus diesem Grund möchten wir zum einen

neue Ligandengeometrien, basierend auf bisher erfolgreichen Konzepten, aufbauen. Zum anderen wollen wir den Versuch wagen wasserlösliche Liganden darzustellen.

Ein Ziel des Vorhabens ist es, die bereits in Vorgängerprojekten untersuchten Tris(hydrazonyl)methan-Liganden systematisch zu variieren. Die Stabilität der f-Element-Komplexe hängt von der Basizität der Liganden ab – diese steigt mit steigender Basizität. So wurde festgestellt, dass bei den Tris(hydrazonyl)methan-Liganden die Lanthanoide eine größere Affinität zu Pyridin ($pK_{AH}=5.2$) und Imidazol-Resten ($pK_{AH}=7.0$) zeigen. Zusätzlich besitzen die Lanthanoidkationen große Ionenradien, was bei der Koordination zur Verzerrung der Liganden führt. Bei der Funktionalisierung von den Tris(hydrazonyl)methan-Liganden mit 1,10-Phenantrolin- ($pK_{AH}=4.8$) oder 2,2'-Bipyridinsubstituenten ($pK_{AH}=4.3$) könnte eine gute Stabilität erreicht werden. Zudem wäre die sogenannte „Ligandentasche“ vergrößert. Zum gezielten Aufbau der neuartigen N-Donor-Liganden wurde in einem ersten Schritt 1,10-Phenantrolin an der 3-Position und 2,2'-Bipyridin an der 4-Position formyliert. Pyridine werden beliebig an der C2 oder C4 Position substituiert, was die direkte Funktionalisierung von 1,10-Phenantrolin und 2,2'-Bipyridin nicht ermöglicht. Die Synthese der Ligandenvorstufe 1,10-Phenantrolin-3-carbaldehyd erfolgte über folgende Sequenz: nach der Reduktion von 8-Nitroquinolin zu 8-Aminoquinolin kann 3-Methyl-1,10-phenantrolin durch die Skraup-Synthese mit Methacrolein synthetisiert werden. Die Reduktion findet in guten Ausbeuten statt. Die Skraup-Synthese erwies sich bisher als problematischer und muss noch optimiert werden, um die bisherigen Ausbeuten von ca. 7 % noch weiter zu steigern. Nach Bromierung und Formylierung sollte das gewünschte Produkt gewonnen werden.

Als zweiten Liganden möchten (1,2,4,5-Tetrazin-3-yl)-2,2'-bipyridin aufbauen. Dieser Ligand stellt eine Art Hybrid aus den bekannten Komplexliganden 2,2'-Bipyridin und BTP da. Angesichts der Kürze der Zeit haben bisher nur erste Versuche zur Synthese des Ligandens stattgefunden.

Ein weiterer Schwerpunkt des Projekts ist die Etablierung von wasserlöslichen Liganden. In den ersten Wochen der Bearbeitungszeit des Projekts wurde der Fokus auf die Modifizierung der mehrzahnigen Liganden Tris(pyrazol-1-yl)methan und (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)-methan gelegt. Während die Rückgratmodifizierung von Tris(pyrazolyl)methan noch optimiert werden muss, konnten wir bereits erste Erfolge beim stufenweisen Aufbau von (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)methan verzeichnen. Zu diesem Zweck wurde Triethylenglykol-Monomethylether chloriert und dann zum Azid umgesetzt. Nach einer Click-Reaktion mit Propargylalkohol konnte das gewünschte Produkt erhalten werden, welches nun weiter umgesetzt werden kann.

Zudem soll der etablierte Ligand 2,6-Bis(1-phenyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)pyridin in eine wasserlösliche Form überführt werden. Dazu soll an den äußeren Rändern, d. h. in *para*-Position der Phenylgruppen jeweils eine Borsäurefunktion angebracht werden. Der Ligand wird z. Z. in einem ersten Schritt durch eine Click-Reaktion aus 1-Azido-4-bromobenzol und 2,6-Diethynylpyridin aufgebaut.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Synthese der sich bisher in Arbeit befindlichen Liganden wird fortgesetzt bzw. optimiert. Je nach Syntheseaufwand könnten erste Komplexierungsreaktion durchgeführt an f-Metallen werden. Weiterhin sollen tripodale Liganden durch die Iminkondensation von 2,2',2''-Triaminotriethylamine mit N-heterozyklischen Aldehyden (Imidazol und Pyridin) hergestellt werden, um die Kompetitivität mit den bekannten Tris(hydrazonyl)methane-Liganden zu untersuchen. Die Funktionalisierung von Tris(pyrazolyl)methan mit wasserlöslichen Einheiten sowie der gezielte Aufbau von (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)methan stehen auch weiterhin im Fokus des Projekts.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

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: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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

Experimentelle Arbeiten waren wg. COVID19 nur stark eingeschränkt möglich.

- AP1: Manuskripte zur Wirkung von Androgen-Antagonisten und JNK1/2 Kinase-Aktivatoren (Elsesy et al. 2020; Dyshlovoy et al. 2020) sowie eines über einen in vitro End joining Assay (Degenhardt et al. 2020) und die finale Version eines Übersichtsartikels (Burdak-Rothkamm et al. 2020) wurden veröffentlicht.
- AP2: Originalartikel zu PTEN als therapeutisches Target in tripel-negativem Brustkrebs (Rieckhoff et al. 2020), zu Telomerase und genomischer Instabilität (Nuta et al. 2020) und ein Übersichtsartikel zu Replikation, Chromatindynamik und DNA-Schadensantwort (Mognato et al. 2020) wurden veröffentlicht.
- AP3: Ein Manuskript zur Rolle der Src-Kinasefamilie bei Kopf-Halstumoren ist in Revision.
- AP4: Ein Übersichtsartikel zur kombinierten zielgerichteten Therapie wurde veröffentlicht (Hintelmann et al. 2020).
- AP5: Strahlenbiologische Lehrinhalte wurden angesichts der COVID-bedingten Beschränkungen weiter für die Online-Lehre optimiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Zusammenstellung, finale Auswertung, Interpretation und Veröffentlichung der verbleibenden Daten.
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zu Biomarkern für individualisierte Therapieansätze (insbesondere Kinomics) 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 im Online-Format. Insbesondere Integration strahlenbiologischer Inhalte in das Lehrkonzept der Graduiertenschule des Hamburger Krebszentrums, der „Hamburg School of Oncology“.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Dyshlovoy SA, Kaune M, Kriegs M, Hauschild J, Busenbender T, Shubina LK, Makarieva TN, Hoffer K, Bokemeyer C, Graefen M, Stonik VA, von Amsberg G (2020): Marine alkaloid monanchoxymycin C: a new specific activator of JNK1/2 kinase with anticancer properties. *Sci Rep* 10, 1317
- Elsesy ME, Oh-Hohenhorst SJ, Löser A, Oing C, Mutiara S, Köcher S, Meien S, Zielinski A, Burdak-Rothkamm S, Tilki D, Huland H, Schwarz R, Petersen C, Bokemeyer C, Rothkamm K, Mansour WY (2020): Second-generation antiandrogen therapy radiosensitizes prostate cancer regardless of castration state through inhibition of DNA double strand break repair. *Cancers* 12, E2467
- Degenhardt S, Dreffke K, Schötz U, Petersen C, Engenhardt-Cabillic R, Rothkamm K, Dahm-Daphi J, Dikomey E, Mansour WY (2020): Establishment of a transformation coupled in vitro end joining assay to estimate radiosensitivity in tumor cells. *Front Oncol*, 10, 1480
- Burdak-Rothkamm S, Mansour WY, Rothkamm K.: DNA Damage Repair Deficiency in Prostate Cancer. *Trends Cancer*. 2020 6, 974-984
- Rieckhoff J, Meyer F, Classen S, Zielinski A, Riepen B, Wikman H, Petersen C, Borgmann K, Parplys AC (2020): Exploiting chromosomal instability of PTEN deficient triple negative breast cancer cell lines for the sensitization against PARP1 inhibition in a replication dependent manner: *Cancers*, 12, 2809
- Nuta O, Rothkamm K, Darroudi F (2020): The role of telomerase in radiation-induced genomic instability. *Radiat Res*, 193, 451-459
- Hintelmann K, Kriegs M, Rothkamm K, Rieckmann T (2020): Improving the efficacy of tumor radiosensitization through combined molecular targeting. *Front Oncol* 10, 1260
- Mognato M, Burdak-Rothkamm S, Rothkamm K.: Interplay between DNA replication stress, chromatin dynamics and DNA-damage response for the maintenance of genome stability. *Mutat Res Reviews*, in press. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108346

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 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020
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: Um den Einfluss fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung (20 x 100 mGy) hinsichtlich einer potentiellen Neuroinflammation zu untersuchen, wurde bei C57BL6 Mäusen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung (1 m, 3 m, 6 m post-IR) die Neuroglia in der Hippocampus-Region im Vergleich zu altersentsprechenden, unbestrahlten Kontroll-Tieren quantifiziert. Die Zellzahlen für die Mikroglia, Astrozyten und Oligodendrozyten ergaben signifikante Veränderungen, die insgesamt für eine chronische Entzündungsreaktion sprechen. Auch die Perfusion- und Diffusions-Messungen mittels MRT-Untersuchungen ergaben regionale Blutflussänderungen, die auf eine Neuroinflammation hinweisen. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.

AP4: Irreparable DNA Schäden induzieren eine prolongierte DNA Schadensantwort und führen zu einer prämaternen, zellulären Seneszenz. Um die Bedeutung der Histonvariante H2A.J für die strahleninduzierte Seneszenz zu untersuchen, wurden humane Fibroblasten (primäre WI-38 Fibroblasten sowie gentechnisch-modifizierte H2A.J knock-down (KO) Zellen) mit 20 Gy (Photonen) bestrahlt, um die persistierenden DNA-Schäden im Kontext des Chromatins zu analysieren. Mittels hochauflösender Elektronenmikroskopie konnten wir zeigen, dass H2A.J im Bereich persistierender 53BP1-Foci in das Chromatin inkorporiert wird und zur Ausbildung der DNA-SCARS beiträgt. Bei der Bestrahlung der H2A.J-KO Fibroblasten, führte die shRNA-vermittelte H2A.J Depletion zu einer modifizierten Chromatin-Umstrukturierung und verhinderte den Seneszenz-assoziierten Phänotyp (SASP), so dass die Sekretion inflammatorischer Mediatoren weitgehend supprimiert wurde. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Chromatin-Umstrukturierungen infolge der H2A.J-Inkorporation im Bereich irreparabler DNA-Schäden für die Entstehung des SASP verantwortlich sind. Die Daten wurden im November 2020 in der Zeitschrift *International Journal of Molecular Sciences* publiziert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Bei Patienten unterschiedlichen Alters wurden im Rahmen operativer Eingriffe Hautproben asserviert. Diese humanen Hautproben wurden ex-vivo mit unterschiedlichen Strahlendosen bestrahlt, um die DNA Schadensantwort in Abhängigkeit vom Alter zu untersuchen. Neben den strahleninduzierten Foci wird in der Epidermis insbesondere die strahleninduzierte Seneszenz mit verschiedenen Markern analysiert. Durch ELISA-Messungen soll die strahleninduzierte Sekretion inflammatorischer Zytokine gemessen werden.
- Bei der Charakterisierung persistierender DNA-Schäden in Rahmen der strahleninduzierten, prämaternen Seneszenz wurden mit der seriellen Block-Raster-Elektronenmikroskopie seneszente Fibroblasten mittels eines integrierten Ultramikrotoms seriell geschnitten, und die Anschnittsflächen wurden automatisiert durch einen feingebündelten Elektronenstrahl abgerastert, um hunderte von Schnittbild-Ebenen zu generieren. Um eine hochaufgelöste 3D-Architektur dieser seneszenten Zellen zu erhalten, wurden diese umfangreichen 2D-Bildstapel mit Hilfe des Visualisierungs- und Segmentierungs-Programms AMIRA™ zu einer hochaufgelösten 3D-Bildgebung zusammengesetzt. Die präzise 3D-Rekonstruktion dieser seneszenten Zellen ermöglicht es, nicht nur die veränderte Chromatinstruktur sondern auch die Ausschleusung von Chromatin-Fragmenten aus dem Zellkern in das Zytoplasma durch entsprechende Segmentierung hochaufgelöst zu visualisieren.
- In Kooperation mit AP3 (RF als Marker für unterschiedliche Reparaturmechanismen, AG Mansour/Rothkamm, UKE1) wurden in A549 Tumorzellen nach Bestrahlung die RPA-Foci in den S/G2-Zellen im Chromatinkontext mittels TEM charakterisiert. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.
- In Kooperation mit AP5 (RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit, AG Krause, UKD) wurden bei FaDu-Tumorzellen nach in-vitro und in-vivo Bestrahlung die γ H2AX- und 53BP1-Foci im Chromatinkontext mittels TEM charakterisiert. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Histone Variant H2A.J Marks Persistent DNA Damage and Triggers the Secretory Phenotype in Radiation-Induced Senescence. Isermann A, Mann C, Rube CE. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 30;21(23):9130. doi: 10.3390/ijms21239130. PMID: 33266246

Human skin aging is associated with increased expression of the histone variant H2A.J in the epidermis. Rube CE, Bäumert C, Isermann A, Schmal Z, Glanemann M, Mann C, Scherthan H; *npj Aging and Disease Mechanisms*, 2020 accepted

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 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.369.516,00 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

Auf Grund der COVID-bedingten Einschränkungen fanden experimentelle Arbeiten nur in einem stark reduzierten Umfang statt.

- AP3: Ein Manuskript zum Beitrag von Antriandrogentherapien zur Strahlensensitivierung in Prostatatumoren wurde in *Cancers* veröffentlicht (Elsesy et al. 2020). Experimente zur Interaktion von Chromatinstruktur und DSB-Reparatur unter Einsatz verschiedener Marker für posttranslationale Histonmodifikationen wurden soweit möglich unter Covid-Bedingungen fortgeführt. Ein entsprechendes Manuskript wurde weiter vorbereitet. Die finale Fassung eines Übersichtsartikels zur DSB-Reparatur bei Prostatatumoren wurde in *Trends in Cancer* veröffentlicht (Burdak-Rothkamm et al. 2020).
- AP6: Eine Originalarbeit zur effektiven Behandlung von PTEN-defizienten triple-negativen Mammakarzinom-Zelllinien mit PARP-Inhibitor wurde in *Cancers* veröffentlicht (Rieckhoff et al. 2020). Ein Übersichtsartikel zur Wechselbeziehung zwischen Replikation, Chromatindynamik und DNA-Schadensantwort wurde zur Veröffentlichung in *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* akzeptiert (Mognato et al. 2020).

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: (1) Manuskripte zur Rolle von ERG in der Regulation der DSB-Reparaturwege und zur Interaktion zwischen DSB-Reparatur und Chromatinstruktur fertigstellen und publizieren.
 (2) Fortführung der Analyse von RF und Charakterisierung der DSB-Reparatur unter verstärkter Berücksichtigung von Einflüssen der Chromatinstruktur und epigenetischer Prozesse.
- AP6: Charakterisierung des für die Strahlenresistenz wichtigsten an der DNA Replikationsgabel befindlichen DNA Reparaturprozesses in Tumorstammzellen unter Berücksichtigung des Einflusses der Chromatinstruktur.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Elsesy ME, Oh-Hohenhorst SJ, Löser A, Oing C, Mutiara S, Köcher S, Meien S, Zielinski A, Burdak-Rothkamm S, Tilki D, Huland H, Schwarz R, Petersen C, Bokemeyer C, Rothkamm K, Mansour WY (2020) Second-generation antiandrogen therapy radiosensitizes prostate cancer regardless of castration state through inhibition of DNA double strand break repair. *Cancers* 12, E2467

Burdak-Rothkamm S, Mansour WY, Rothkamm K. DNA Damage Repair Deficiency in Prostate Cancer. *Trends Cancer*. 2020 Jun 6, 974-984. doi: 10.1016/j.trecan.2020.05.011

Rieckhoff J, Meyer F, Classen S, Zielinski A, Riepen B, Wikman H, Petersen C, Borgmann K, Parplys AC (2020) Exploiting chromosomal instability of PTEN deficient triple negative breast cancer cell lines for the sensitization against PARP1 inhibition in a replication dependent manner: *Cancers*, 12, 2809. doi: 10.3390/cancers12102809

Mognato M, Burdak-Rothkamm S, Rothkamm K. Interplay between DNA replication stress, chromatin dynamics and DNA-damage response for the maintenance of genome stability. *Mutat Res Reviews*, in press. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108346

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 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 412.218,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krause	

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 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.

Das Ziel dieses Arbeitspakets 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 (UKE2)

AP5.2 -> AP4 bzgl. ex vivo Bestrahlung von Gewebebiopsien (UKS2)

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 einzusparen zu können.

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren und Biopsien

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. 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. Die DNA aus den vorhandenen Xenograft-Proben und aus Tumorbiopsien von Patienten sollen isoliert und die Methylom-Analysen durchgeführt werden

AP5.2: Bioinformatische Modellentwicklung

In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandenen 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.

- AP5.3: Automatisierung der RF-Detektion in Biopsien
Ein Verfahren basierend auf einer Open Source Software (Fiji ImageJ) zur automatischen Detektion von RF in toxischen Arealen von in vivo Tumoren und ex vivo bestrahlten Tumorbiopsien soll entwickelt werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP5.1: In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Universitätsklinikum Saarland (AP4) wurden die Histone-Modifikationen und die molekulare Strahlenantwort der in vivo Tumore und ex vivo Tumorbiopsien untersucht. Es zeigt sich dabei eine signifikante Veränderung der H3K9-Methylierung und die Verteilung des gamma-H2AX Clusters in den ex vivo bestrahlten Tumorbiopsien verglichen zu den in vivo bestrahlten Tumoren. Zusätzlich wurde eine tumormodell-abhängige Veränderung bei der Protein- und RNA-Expression der Cyclin und H3K9 Methyltransferase nach der Bestrahlung festgestellt. Ein Manuskript dieser Ergebnisse ist in Vorbereitung. Der Einfluss der Bestrahlung auf die DNA Methylierung wurde in zwei Tumormodellen unter drei Kulturbedingungen (in vivo, in vitro und ex vivo) untersucht. Die Ergebnisse aus der Methylom-Analyse zeigten einen signifikanten Unterschied im Methylierungsprofil zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben bzw. zwischen den Modellen. Einige potenzielle Methylierungssignaturen wurden nachgewiesen.
- AP5.2: In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandene Ergebnisse bzgl. RF in ex-vivo bestrahlten Biopsien und in-vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren mit den neu erhobenen Methylom-Daten und den phänotypischen Tumoreigenschaften, wie Hypoxie und Vaskularisierung integriert werden.
- AP5.3: Das automatische RF Detektionsverfahren basiert auf der Open Source Software (Fiji ImageJ) und wurde etabliert und weiterentwickelt. Die Durchführung der Validierung und Re-Evaluierung den RF war erfolgreich. Eine angemessene Korrelation zwischen manueller und automatischer RF-Auszählung wurde festgestellt. Weiterhin erfolgte eine Erweiterung der Anwendung des Verfahrens für Foci-Auszählung auf die in vitro Kulturbedingung. Das Ergebnis deutet an, dass das Verfahren für alle drei Bedingungen kompatibel ist und ein hohes Potenzial bei der Umsetzung in die Klinik hat. Ein Manuskript zu den Ergebnissen ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP5.1: Die RF-Kinetik der Tumormodelle werden nach der Bestrahlung untersucht und die Analyse der gewonnenen Daten fortgeführt. Dabei soll die erhöhte Heterogenität in ex vivo kultivierten, bestrahlten Tumorbiopsien weiter untersucht werden. Durch die Unterstützung einer Laser-Mikrodissektion wird die lokal-spezifische RNA aus den vorhandenen FFPE Materialien von bestrahlten und unbestrahlten Proben isoliert. Anschließend wird die Genexpression untersucht.
- AP5.2: Die potenzielle Methylierungssignatur wird bioinformatisch validiert und mit molekularen biologischen Techniken verifiziert. Die vorhandenen Daten werden bzgl. RF in ex-vivo bestrahlten Biopsien und in-vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren, mit den phänotypischen Charakteristik der Tumoren wie Vaskularisation und Hypoxie, und den neu erhobenen Methylom-Daten integriert, um ein prädiktives Modell für die Tumorstrahlenempfindlichkeit zu etablieren.
- AP5.3: Das automatische RF Detektionsverfahren wird für die Foci-Auszählung von den verbleibenden Proben verwendet. Die Automatisierung der histologischen Bildaufnahme wird konzipiert und umgesetzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

The Radiation Research Society's 66th Annual Meeting, Virtual, 18-21 October 2020, Poster: Rassamegevanon, T. et al., Molecular characteristics in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) models: a comparison between ex vivo and in vivo

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 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 486.966,00 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 Schadenslokalisierung 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 berufsbedingten chronischen Strahlenexposition und RF als Marker einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit

Die Arbeiten RF als Marker einer berufsbedingten chronischen Strahlenexposition sind abzuschließen. Im weiteren Verlauf ist der Fokus auf einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit. Hier 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 (Kooperation 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 (VI.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 (VI.2): Veränderung von vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der γ H2AX Signalkaskade und Foci-Induktion in Abhängigkeit zur Zellzyklusphase in den Zelllinien

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

V1.1: Zur Untersuchung der Rolle von Struktur- und Chromatin-assoziierten-Proteinen in der Foci-Antwort (AP1 Strahlenempfindlichkeit) wurden die H3K9me3- und HP 1 alpha als Marker für Heterochromatin und H3K9ac als Marker für Euchromatin in 3 Zelllinien (1 $ATM^{+/+}$; 2 $ATM^{-/-}$) nach Strahlenexposition in 3-7 Replikaten untersucht. Für beide $ATM^{-/-}$ Zelllinien zeigte sich 1 h nach Bestrahlung mit 10 Gy eine Hochregulierung der Methylierung. In der Kontrollzelllinie hingegen, war die Methylierungsintensität gleichbleibend bzw. leicht verringert. Diese Ergebnisse wurden mittels ATM Inhibitor (KU-60019) Experimente in der Kontrollzelllinie bestätigt. HP 1 alpha zeigte eine Veränderung der Intensität über die Zeit. Die H3K9ac-Intensität war 1 h nach Bestrahlung in einer $ATM^{-/-}$ reduziert. Insgesamt sind die beobachteten gesamtgenomischen Histonveränderungen in den einzelnen biologischen Replikaten sehr variabel und der Strahleneffekt nur gering ausgeprägt.

V1.2: Zur Untersuchung von Veränderungen in vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der γ H2AX Signalkaskade wurde die strahleninduzierte pKAP-1 Regulierung mittels Westernblot und Immunfluoreszenz in mehreren biologischen Replikaten in 7 $ATM^{-/-}$ und 3 $ATM^{+/+}$ -Zelllinien untersucht. ATM defiziente Zelllinien lassen sich aufgrund der nicht oder nur geringen KAP-1 Phosphorylierung 1 h nach Bestrahlung mit 1 Gy oder 4 Gy mittels Immunfluoreszenzanalyse schnell und eindeutig von Zelllinien ohne ATM Defekt unterscheiden. Diese zeigen 1 h nach 1 Gy Bestrahlung eine 2-4-fach höhere pKAP-1 Gesamtfluoreszenzintensität.

V1.3: Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke in Zelllinien von AT-Patienten (AP1 Strahlenempfindlichkeit): Die Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke mittels Gesamt-Proteom-Analyse in den $ATM^{-/-}$ Zelllinien wurde in Kooperation mit der *Research Unit Protein Science* (HMGU) durchgeführt. Die $ATM^{-/-}$ Zelllinien sowie LCLs gesunder junger Spender wurden mittels eines speziellen Lyse-Verfahrens so aufgeschlossen, dass chromatin-assoziierte Proteine in der Massenspektrometrie zugänglich sind. Dies wurde qualitativ mit Westernblot überprüft (HP1 alpha, H3K9me3). Die Messung aller experimentell relevanten Proben wurde in je drei biologischen Replikaten durchgeführt. Hierbei wurden in einem ersten Versuchsansatz die auffälligsten Patienten-Zelllinien im Vergleich zu Kontroll-Linien 24 h und 72 h nach Exposition mit 10 Gy gemessen. Die Funktion des ATM Proteins in der Aktivierung weiterer Signalwege nach Strahlenexposition wurde mit ATM Inhibitorexperimenten (KU-60019) in einer $ATM^{+/+}$ -Zelllinie untersucht. Der Vergleich der Zelllinie mit und ohne Inhibitor soll Aufschluss über den Effekt von ATM geben, unabhängig vom individuellen genetischen Hintergrund. Eine vorläufige Auswertung aller Daten ist bereits abgeschlossen. Es wurde gezeigt, dass die Strahlenantwort 24 h und 72 h nach Bestrahlung mit 10 Gy, unabhängig von der Mutation, in jeder Linie sehr individuell ist. Die Beobachtung der großen intraindividuellen Unterschiede bestätigt die Ergebnisse aus früheren Versuchen. Die Auswertung der MassSpec Analyse der $ATM^{+/+}$ LCL im Vergleich mit $ATM^{-/-}$ ist abgeschlossen. Die Auswertung mit DAVID Bioinformatics Resources 6.8 zeigte, dass sowohl nach 24 h, als auch nach 72 h der Großteil der deregulierten Proteine eine Rolle bei der DNA Acetylierung spielen. Nach erfolgreicher Auswertung der übrigen Daten können neue Proteinkandidaten, die an Chromatinveränderungen beteiligt sind, überprüft und validiert werden (Westernblot, ELISA, Luminex). Darüber hinaus werden mit Hilfe unterschiedlicher Programme (STRING, Reactome) Netzwerkanalysen durchgeführt, um Gemeinsamkeiten und Unterschiede in strahleninduzierten Signalwegen zu identifizieren. Das statistische Verfahren hierfür ist bereits etabliert. Zusätzlich wurde eine massenspektrometrische Proteinanalyse für Teilprojekt AP2/4 (Prof. Rube) mit bestrahlten Fibroblasten durchgeführt. Bei den Linien (jeweils 3 biologische Replikate) handelt es sich um normale WI-38 Fibroblasten, WI-38 mit einer Überexpression von *H2AJ*, oder knock-down der Histonvariante H2AJ. Sowohl die Messung, als auch die anschließende Netzwerkanalyse mit STRING und Reactome sind abgeschlossen. Die normale und überexprimierende Zelllinie zeigen mehr gemeinsame Signalwege, als die knock-down Zelllinie. Bei der überexprimierenden Linie haben die Proteine Funktionen in der inflammatorischen Strahlenantwort. Dieses Ergebnis stimmt mit publizierten Daten überein.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Subedi P, Gomolka M, Moertl S, Dietz A.: J Pers Med. 2020, submitted
 Dietz A, Gomolka M, Moertl S, Subedi P.: J Pers Med. 2020 Dec 22;11(1):3
 Bucher M, Duchrow L, Endesfelder D, Roessler U and Gomolka M.: Int J Radiat Biol. 2020 Oct;96(10):1263
 Bucher M, Endesfelder D, Roessler U, Borkhardt A, Dücker G, Kirilum HJ, Lankisch P, Oommen PT, Niehues T, Rube CE, Moertl S, Hornhardt S and Gomolka M.: Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2021, in press

Zuwendungsempfänger: IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036AX
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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. Generelles Untersuchungsprogramm:

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/Telomerlängenregulation in Epidermis und Dermis.
- 2.3) Welche Rolle spielen Alters-abhängige Veränderungen in der dermalen Matrix auf das epidermale Schadensprofil nach Kombinationsbestrahlung? •AGE-OTKs: Keratinozyten mit gealterten Fibroblasten/HaCaT Zellen mit gealterten Fibroblasten (Invasion).
- 2.4) Welche Rolle spielen off Target Effekte der Immunsuppressiva für die Entstehung von UV-induzierten Hautcarcinomen? • Langzeitbehandlung (10 Wochen) von HaCaT Zellen mit Cyclosporin A/Einfluss von auf die Epithel-Mesenchym Interaktion (RNA Expressionsanalyse) /Einfluss von Cyclosporin A plus Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zu 2. Vorbereitung zur Konsortiumspublikation: Boukamp, Chen, Greinert, Krutmann, Pavez Lorie, Plittamichalak, Pollet, Rapp, Stricker, Volkmer. The KAUVIR lamp and its biological application.

Zu 2.2) *Akute Bestrahlung mit UVB, UVA+B und KAUVIR:*

- Damage response Analysen: CPD (DNA damage), p53BP1(double strand breaks), NOX2 (ROS-induction), p53 und Hsp27, Hsp72 and Hsp90 Regulation.
- KAUVIR induziert eine schnelle CPD Response (0 h) mit einem ebenso schnellen Rückgang (24 h), während der UVB (Kontrolle) und UVA+B Peak bei 24 h lag und erst nach 48 h wieder zurückging.
- Zum Nachweis von Doppelstrangbrüchen wurden Antikörper sowohl gegen γ H2AX als auch p53BP1 verwendet. Trotz extremer Backgroundproblematik im Gewebe konnte ein Protokoll für p53BP1 erarbeitet werden, das 24 h nach UVB Bestrahlung in den basalen Zellen distinkte Foci erkennen lässt. Da auch NOX2, als Prototyp für einen endogener ROS Bildner, 72 h nach Bestrahlung eine leichte Induktion zeigt, werden nun beide Marker unter den verschiedenen Bedingungen analysiert.
- Während für die Hsp-Induktion in den NHEK Hautäquivalenten noch keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden konnten, zeigen die HaCaT Hautäquivalente (bis 48 h) eine klare Hsp Response. Hsp27 Expression wird durch UVB, UVA+B und KAUVIR (am stärksten) reduziert. Für Hsp72 kommt es durch UVB und KAUVIR zu einer verzögerten Reduktion (nach 24 h), während Hsp90 durch beide direkt induziert wird, nach 24 h aber bereits wieder auf Kontroll Niveau ist.

Zu 2.3) *Age-OTKs: Zur Rolle von UVA+B versus KAUVIR mit OTKs von jungen und alten Fibroblasten*

Auf jungen Fibroblasten wird chronische Bestrahlung (1 MED, 3x/Woche) bis zu 6 Wochen ohne Weiteres toleriert. Nach 10-wöchiger Bestrahlung verschlechtert sich die Epithelmorphologie (Verlust der Basalschichtstruktur, verminderte Stratifizierung). D. h. im 3D-Modell entstehen keine sog. Lichtschienen (Hyperplasie/-keratose). Hierfür sind eventuell andere Zelltypen/Faktoren in der Haut verantwortlich.

Wir sehen keine Schäden an der Basalmembran (BM), alle untersuchten Komponenten (Col IV, Col VII, Laminin) bleiben unverändert. Anders als für UVB beschrieben, kommt es auch nicht zur MMP1 Induktion. Stattdessen sehen wir eine klare Regulation des endogenen MMP Inhibitors TIMP2, speziell durch UVA+B Bestrahlung. Interessanterweise sprechen erste Zählungen für eine Zunahme der Fibroblasten durch chronische Bestrahlung mit UVA+B sowie KAUVIR. D. h. die Bestrahlung scheint eine Aktivierung und einem Proliferationsschub (keine kontinuierliche Proliferation) der Fibroblasten zu bewirken.

Auf alten Fibroblasten bildet sich ein Epithel, das in den meisten Fällen durch Bestrahlung und speziell durch KAUVIR in seiner Struktur (Stratifizierung/Differenzierung) verbessert wird. Obwohl die Fibroblasten dichter gepackt sind und die Gesamtfibroblastenzahl steigt (ca. 25 %), kommt es durch die Bestrahlung zu einer geringen Fibroblastendichte direkt unterhalb des Epithels. Dies korreliert mit dem Verlust der vorzugsweise hier lokalisierten Myofibroblasten. Ob diese Bestrahlungs-sensitiver sind und absterben (Apoptose), ist noch zu klären. Die Regulation von TGF β in alt *versus* jung unterscheidet sich deutlich und korreliert in den „alten“ OTKs gut mit der Induktionsstärke der „aberranten“ Matrix Signaturgene. TGF β 1 wird dabei kaum reguliert. Vielmehr kommt es durch UVA+B und KAUVIR zur signifikanten Induktion von TGF β 3 und damit einhergehend zur signifikanten Expression von HAPLN1, ACAN, Col X und Col XI. D. h., speziell TGF β 3 scheint in diesem Szenario eine wichtige Rolle zu spielen.

4. Geplante Weiterarbeiten

2.2) • Weiterführende Experimente und molekulare Auswertung (speziell zu: damage Profile, Hsp, p53, miR Regulation) bei akuter Bestrahlung von Hautäquivalenten mit KAUVIR *versus* UVA+B.

Zu 2.3) • Kooperationsversuch zu TEWL (sofern es Corona zulässt), Kooperationsversuch zur miR Expression (mit Buxtehude) sowie weitere molekulare Analysen zum Unterschied „Alt“ *versus* „Jung“ und Bestrahlung - UVA+B *versus* KAUVIR Gesamtspektrum in den NHEK- und HaCaT Hautäquivalenten, speziell auch bezüglich Sunburn cells, Fibroblasten Proliferation (Zellzahl) und epidermaler Schädigung (CPD, p53BP1, p53). Durchführung der RNAseq Analyse (Firma GenXPro) und Auswertung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

September 2020: Pavez Lorie E, Stricker N, Plitta-Michalak B, Chen IP, Volkmer B, Greinert R, Jauch A, Boukamp P, Rapp A.: Characterisation of the novel spontaneously immortalized and invasively growing human skin keratinocyte line HaSKpw. *Sci Rep.* 10:15196, 2020

Einreichung der KAUVIR Lampe zur Erlangung eines Musterschutzes

November 2020: Bachelor Thesis von Armin Ardeschirdavani, Functional consequences of Young vs Old fibroblasts upon chronic UVA+B vs Experimental Sunlight radiation (KAUVIR), (Note 1.4)

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: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.295.176,00 EUR	Projektleiter: Dr. Greinert	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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 Schadensinduktion 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: Epigenetische Veränderungen in chronisch UV/VIS/IR-bestrahlten HaCaT und Messung der Reparaturkapazität in chronisch bestrahlten Zellen.
- AP2: Mediatoren der UV/VIS/IR-induzierten epigenetischen Veränderungen.
- AP3: Korrelation von miRNA-Expression mit Genexpressionsdaten in HaCaT Zellen nach UV/VIS/IR-Bestrahlung.
- AP4: Epigenetische Veränderung in tumorigenen HaCaT Zellen durch UV/VIS/IR-Bestrahlung.
- AP5: Epigenetische Veränderung in 3D-Hautkulturen nach UV/VIS/IR-Bestrahlung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspaket 4: Änderung der microRNA-Transkription in tumorigenen HaCaT-Zellen durch UV/VIS/IR-Bestrahlung.

Ergebnisse: Die Rolle von Onkogenen bei der Entstehung und Progression von Hautkrebs wird seit Jahren diskutiert. Insbesondere die Rolle des RAS-Gens, welches bei 10-20 % der SCCs und BCCs die UV-Mutationen aufweist, wird häufig untersucht. Im vorliegenden Bericht wurde die microRNA-Transkription in zwei humanen RAS-transfizierten Keratinozyten-Zelllinien, HaCaT-ras A5 (benigne) und HaCaT-ras II-4 (maligne), mit der Ausgangszelllinie (HaCaT) nach einer akuten Bestrahlung ver-

glichen. Dazu wurden die Zellen mit dem gesamten Spektrum (UVB 400 J/m² + UVA 20,2 kJ/m² + Vis 46 kJ/m² + IRA 100 kJ/m²) bestrahlt, die RNA 6 Stunden nach der Bestrahlung isoliert und die microRNA Transkription mit dem FirePlex Assay analysiert. Von den 54 untersuchten miR-Kandidaten, welche Funktionen bei der UV-Hautkarzinogenese haben könnten, zeigten 7 miRs eine veränderte Transkription (mindestens 1.5-fach) im Vergleich zu den nicht bestrahlten Zellen. Sowohl miR-29b-3p (1,5–1,9-fach) als auch miR-32-5p (2,2–3,2-fach) sind in allen 3 Zelllinien durch Bestrahlung runterreguliert, wobei die stärkste Reduzierung bei der Linie HaCaT-ras II-4 (maligne) festgestellt wurde. Die Runterregulierung beider miRs in allen 3 Zelllinien könnte auf eine generelle Antwort auf eine Bestrahlung mit einem solaren Spektrum hindeuten. Die Reduzierung von miR-29b-3p und miR-32-5p wurde auch in einem Maus-Modell mit den SKH1 Nacktmäusen nach chronischer Bestrahlung mit UVA plus UVB beobachtet. Integrin beta 1 (Itgb1) und Mitogen-activated protein kinase 8 (Mapk8) sind unter den Targetgenen von miR-29b-3p. Wiskott-Aldrich syndrome-like (Wasl) und auch Mapk8 zählen zu den Targetgenen von miR-32-5p. Diese 3 Targetgene sind involviert im PI3K-Akt Pathway, welcher auch schon mit UV-induzierten Hautkrebsarten in Verbindung gebracht wurde. Im Gegensatz zu miR-29b-3p und miR-32-5p zeigten die anderen 5 veränderte exprimierte miRNAs eine zelllinien-spezifische Strahlenantwort. Eine verringerte Transkription von let-7c-5p, let-7f-5p (beide 1.5-fach) und miR-29c-3p (1.8-fach) konnte nur in HaCaT-ras A5 (benigne) festgestellt werden. Eine Reduzierung von let-7c-5p und let-7f-5p nach UVB (gemessen mit der NanoString Technologie) haben wir kürzlich auch in Met-4 Zellen (aus SCC-Metastase) gezeigt (Veröffentlichung, siehe unten). Eine Funktion bei der Regulation des MAPK-Signaling Pathways wurde für let-7f-5p berichtet. Zudem sind let-7c-5p und let-7f-5p in der Dedifferenzierung von Keratinozyten involviert. Effekte von UV- oder Sonnenstrahlung auf miR-29c-3p wurden bisher nicht beobachtet. Jedoch konnte eine Induktion von miR-29c-3p in humanen Endothelzellen nach ionisierender Strahlung festgestellt werden. Eine abweichende Regulation von miR-29c-3p konnte in Verbindung mit dem Krankheitsverlauf des Melanoms gebracht werden. Transkriptionsänderungen für miR-181a-3p und miR-503-5p (beide reduziert) nach Bestrahlung konnten nur bei HaCaT-ras II-4 (maligne) beobachtet werden. Einen ähnlichen Strahlungseffekt konnten wir für beide miRNAs auch bei Met-1 Zellen (aus primärem SCC-Tumor) feststellen. Mögliche Funktionen von miR-181a-3p oder miR-503-5p in Bezug auf das SCC oder das Melanom sind noch nicht bekannt. Die Hemmung der osteogenen Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen wurde miR-181a-3p zugeschrieben. Eine Rolle der miR-503-5p bei der Metastasierung des SCCs wird vermutet, da die Met-4 Zellen (aus SCC -Metastase) eine deutlich reduzierte Transkription dieser microRNA als im Vergleich zu Met-1 Zellen (aus primärem Tumor) zeigten. Es wurde auch gezeigt, dass miR-503-5p die Proliferation von Melanomzellen hemmen kann. Zusätzlich zu den 7 oben genannten, runterregulierten miRNAs konnte eine leicht erhöhte Transkription (lediglich <1.5-fach) nach der Bestrahlung für miR-183-5p bei HaCaT-ras A5 sowie für miR-9-5p, miR-155-5p, miR-181a-5p und 200b-3p bei HaCaT-ras II-4 detektiert werden. Zurzeit wird die Bedeutung der differenziell transkribierten miRs in Bezug auf das RAS-Oncogen und die UV-induzierte Karzinogenese untersucht.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Mediatoren der UV/VIS/IR-induzierten epigenetischen Veränderungen

AP5: Epigenetische Veränderung in 3D-Hautkulturen nach UV/VIS/IR-Bestrahlung

5. Berichte, Veröffentlichungen

UV-type specific alteration of miRNA expression and its association with tumor progression and metastasis in SCC cell lines, *J Cancer Res Clin Oncol* (2020)

Zuwendungsempfänger: IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 und 2:

Keratinozyten wurden mit unterschiedlichen Quellen bestrahlt und CPD Reduktion über die Zeit ermittelt. Genlisten der RNA-Sequenzierung wurden nach Signifikanz gefiltert und werden jetzt mit der OpenSource Lösung „R“ genontologisch analysiert.

Arbeitspakete 3, 4, 5:

Versuchsaufbau und Durchführung des Tierversuchs wurden mit der zuständigen Veterinärmedizinerin besprochen und Probleme analysiert. Ergebnisse des Experiment B aus Tierversuch

such 81-02.04.2018-A024 zeigen deutlichen Trend, jedoch keine Signifikanz. Versuch wird wiederholt. Aufgrund der pandemischen Lage, die zum Versuchsabbruch hätte führen können, wurde der Zuchtauftrag erst im dritten Quartal 2020 in Auftrag gegeben. Voraussichtlicher Versuchsstart Februar 2021.

Ergebnisse:

Bisherige Befunde zeigen, i) dass die Apoptoserate nach simultaner Bestrahlung (UVB+UVA, UVB+UVA+IRA, UVB+UVA+VIS+IRA) im Vergleich zur UVB-Einzelbestrahlung signifikant geringer ist, (ii) dieser Effekt nicht durch VIS und IRA modifizierbar ist. (iii) Dieser Effekt lässt sich auch in primären humanen Keratinozyten beobachten. (iv) Die ersten Daten der RNA-Sequenzierung zeigen, dass die UVB-Strahlung den größten Einfluss auf das Expressionsprofil der Zellen hat. Veränderungen des Expressionsprofils zwischen UVB-Strahlung und einer Kombination aus UVB+UVA Strahlung zum frühen Zeitpunkt (4 h) ist nicht zu sehen (v) Im Tierversuch zeigte die Langzeitbestrahlung mit UVB den stärksten Einfluss auf die Tumorentstehung. Unterschiede zwischen den Tumorarten in Abhängigkeit zur Kombination verschiedener Wellenlängen konnten nicht identifiziert werden. (vi) Trotz einer verminderten Apoptose entstehen bei der Kombinationsbestrahlung im Tierversuch weniger Tumore. (vii) Kombinationsbestrahlung in-vivo führt bei identischer Dosis zu reduzierter CPD-Menge 24 h nach Bestrahlung im Vergleich zur UVB Einzelbestrahlung.

4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1 und 2: Qualitative Auswertung der genontologischen Statistik.

Arbeitspakete 3, 4, 5: Erneute Durchführung des Tierversuchs mit größeren Gruppen.

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: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 wurden die Arbeiten für die Revision der Publikation zum Vergleich der beiden Keratinozytenzelllinien HaCaT und HaSKpw, die innerhalb des KAUVIR Projekts verwendet werden, abgeschlossen. Dadurch wurde die Publikation (siehe unten) ermöglicht. Zu diesen Experimenten zählten Migrations- sowie Invasionsassays (Boyden chamber und Softagar-Assays). Es bestätigte sich die bereits aus anderen Experimenten beschriebene invasivere Wachstumsform der HaSKpw Zelllinie. In Hinblick auf die additive Strahlenwirkung, vor allem von UVA und UVB, wurden weitere Versuche mit unterschiedlichen Dosen und dem Endpunkt Apoptose durchgeführt. Diese Untersuchungen wurden einheitlich in HaCaT Zellen durchgeführt. Die Ergebnisse werden momentan innerhalb des Konsortiums verglichen, um zu einer abschließenden Aussage zu kommen. Weiterführend sind Experimente mit der p53 profizienten Zelllinie HaSKpw geplant.

Die bereits existierenden Untersuchungen zur Beeinflussung des Zellzyklus wurden mit niederen Dosen erweitert und das bereits berichtete Ergebnis wurde ebenfalls für niedrigere Dosen bestätigt, wenngleich in einem geringeren Ausmaß. Die Ergebnisse aus diesen Studien werden z. Z. zusammen mit den Befunden des MTT Assays und der Koloniebildung in einer Veröffentlichung unter Teilnahme weiterer Projektpartner zusammengefasst.

Bezüglich der UV induzierten CPDs und deren Reparatur in Gegenwart der anderen spektralen Komponenten wurden weiterführende Untersuchungen in Hinblick auf Chromatin-Modifikation durchgeführt. Dazu zählen die quantitative Bestimmung der Phosphorylierung des Histons H2AX (γ H2AX) und die Histon-Ubiquitinierung. Während sich für die Phosphorylierung des Histons H2AX nach Exposition gegenüber den einzelnen spektralen Bändern nur eine geringe Anreicherung (Doppelstrangbruchinduktion durch Interaktion mit Replikation und durch Reparatur), vor allem UVA Exposition zeigte, sind bislang wenig additive Effekte festzustellen. Die Histon-Ubiquitinierung zeigt sich vor allem nach UVB Exposition. Diese Analysen werden momentan fortgeführt und vervollständigt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Untersuchungen zu den Veränderungen der Histon-Modifikationen werden weitergehend mit unterschiedlichen spektralen Kombinationen und unterschiedlichen Dosen fortgeführt. Dabei werden die Veränderungen bis zu 96 h nach der Exposition betrachtet. Weitergehend sollen Proteine, die die Chromatinmodifikation beeinflussen, mit in die Analyse aufgenommen werden und mittels Western Blott auf ihre Expression hin, zu verschiedenen Zeitpunkten, untersucht werden.

Weiterhin werden die begonnenen Studien zur Induktion von oxidativen Schäden durch die individuellen und kombinierten Spektralen Bereiche weitergeführt. Hierfür werden auch Antioxidantien eingesetzt, um die oxidative Wirkung selektiv zu blockieren.

Die Apoptose Untersuchung sollen erweitert werden, um die apoptotischen Effekte in der p53 profiziente Zelllinie HaSKpw zu bestimmen. Dies ist ein wichtiger Aspekt, da p53 bei der Apoptoseinduktion entscheidend beteiligt ist. Diese Experimente werden mit den gleichen Dosen und spektralen Kombination wie die bereits existierenden Untersuchungen in den HaCaT Zellen durchgeführt, um einen direkten Vergleich zu ermöglichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Pavez Lorie, E., Stricker, N., Plitta-Michalak, B., Chen, I.-P., Volkmer, B., Greinert, R., Jauch, A., Boukamp, P., Rapp, A. (2020): Characterisation of the novel spontaneously immortalized and invasively growing human skin keratinocyte line HaSKpw. *Sci. Rep.* 10, 15196

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 30.09.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 30.09.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 762.720,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Multhoff	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- Integrierung der Daten zu einem Modell über den biologischen Mechanismus der strahlen-induzierten Pathogenese.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In vorausgegangenen Experimenten konnten wir zeigen, dass nach einer lokalen Herz-Bestrahlung bestimmte Entzündungsmarker wie ICAM-1 und VCAM-1 auf Herz-Endothelzellen bis zu 50 Wochen nach Bestrahlung mit 8 und 16 Gy signifikant erhöht blieben, und somit eine chronische Entzündung mit anschließenden kardiovaskulären Schäden verursachen können. Ein Vergleich der Bestrahlungsdosen 8 Gy und 16 Gy zeigte eine Korrelation der Dosis mit der Expressionsstärke der Entzündungsmarker. Die Quantifizierung der Inflammationsmarker auf den Herz-Endothelzellen wurde bislang mit isolierten Endothelzellen aus dem Herzgewebe mit Hilfe durchflusszytometrischer Verfahren durchgeführt. Die Ausbeute isolierter Endothelzellen aus bestrahlten Herzen war immer signifikant niedriger (250.000 Zellen/100mg Herzgewebe) als die Ausbeute nicht-bestrahlter Herzen (400.000 Zellen/100mg Herzgewebe). Dieser Befund weist darauf hin, dass es nach einer Herzbestrahlung zu einem signifikanten Zelltod der Endothelzellen kommt. Diese Daten konnten im letzten Teil des Projekts an der Mikrovaskulatur intakter Herzgewebe von Mäusen bestätigt werden. Nach Bestrahlung konnte eine erhöhte Expressionsdichte der Inflammationsmarker ICAM-1 und VCAM-1 auf der intakten Mikrovaskulatur beobachtet werden. Zudem konnte erstmals mit Hilfe einer modifizierten konfokalen Fluoreszenzmikroskopie eine Erniedrigung der Gefäßdichte im bestrahlten Herzgewebe nachgewiesen und quantifiziert werden. Eine Integration der Daten zu einem Modell, das die biologischen Mechanismen der strahlen-induzierten Pathogenese exakter beschreibt ist aktuell in Arbeit. Die neu etablierte modifizierte konfokale Fluoreszenzmikroskopie dient als Plattformtechnologie, die zukünftig auch für andere Gewebetypen der Maus nach Bestrahlung eingesetzt werden kann.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aktuell wird der Schlussbericht zum Verbundprojekt erstellt. In der letzten Antragsphase (3 Monate) wurden 2 Manuskripte zur Publikation angenommen, und es sind noch mindestens 3 weitere Publikationen in Vorbereitung, welche die Ergebnisse des Verbundprojektes zusammenfassen. Die Daten aller Projektteilnehmer sollen zudem auf nationalen und internationalen (Zoom-) Konferenzen und Tagungen einem breiten wissenschaftlichen Publikum präsentiert werden. Zudem wird eine Kommerzialisierung und Einführung der Forschungs- und Entwicklungsergebnisse in den Markt angestrebt. Patentanmeldungen, die neue Technologien betreffen, die im Rahmen des Projektes etabliert wurden, werden geprüft und weitere strahlenbiologische Studien an Mäusen sind in Planung. Basierend auf den vielversprechenden Ergebnissen des Gesamtprojekts, die zeigten, dass v.a. eine Strahlen-induzierte Inflammation für chronische kardiovaskuläre Erkrankungen verantwortlich gemacht werden kann, die von PPAR-alpha und Lipidstoffwechsel getriggerten Signalwegen gesteuert sind, wurde von den bisherigen Projektteilnehmern und neuen Partnern ein Verbund-Folgeantrag beim BMBF gestellt. Ziel dieses Antrags ist es, zukünftig Inflammations-induzierte Strahlenschäden am Normalgewebe mit Hilfe von PPAR-alpha stimulierenden und Inflammations-inhibierenden Substanzklassen zu verhindern, und deren Wirkmechanismen in vitro und in vivo aufzuklären. Ein positiver Bewilligungsbescheid liegt den Projektteilnehmern bereits vor, der Start des Verbund-Projektes ist für den 01.02.2021 geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript: Sievert W, Philipp J, Azimzadeh O, Tapio S, Multhoff G.: Increased expression of ICAM-1 and VCAM-1 on heart endothelial cells 50 weeks after local heart irradiation (in Vorbereitung).

Manuskript: Azimzadeh O, von Toerne C, Subramanian V, Sievert W, et al.: Data-independent acquisition proteomics reveals long-term biomarkers in the serum of C₅₇BL/6J mice following high-dose heart irradiation. (in Vorbereitung).

Manuskript: Fan H, Sievert W, Hofmann J, Keppler SJ, et al.: Partial-brain radiation induced cognitive impairment in juvenile murine hippocampal synaptic plasticity (in Vorbereitung)

Multhoff G, Seier S, Stangl S, Sievert W, et al.: Targeted Natural Killer Cell-Based Adoptive Immunotherapy for the Treatment of Patients with NSCLC after Radiochemotherapy: A Randomized Phase II Clinical Trial. Clin Cancer Res, DOI 10.1158/1078-0432.CCR-20-1141, 2020.

Pockley AG, Vaupel P, Multhoff G.: NK cell-based therapeutics for lung cancer. EOBT, 20:1, 23-33, DOI: 10.1080/14712598.2020.1688298, 2020.

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.03.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 Krebsuszeptibilität
- 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: Arbeit an der Zusammenführung der unterschiedlichen Datenquellen nach Lieferung einer korrigierten Version der VIVE Daten. Die Dosimetrie wurde fortgeführt mit einer Auswertung der Organdosen nach ZNS-Bestrahlung (Ergebnisteil der zugehörigen Doktorarbeit erstellt). Die Methodik der retrospektiven Dosimetrie mit Ergebnissen wurde auf einem Meeting des europäischen HARMONIC Projekts vorgestellt. Ein weiterer Algorithmus zur retrospektiven Dosimetrie wurde durch Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Uwe Schneider (Zürich) beschafft. Weitere Patientenakten der Universitätsmedizin Mainz wurden identifiziert, um die Bestrahlungspläne zu analysieren.
- AP2: In der zweiten Jahreshälfte des Jahres 2020 wurden weitere Bioproben der KiKme Studie für Analysen an AP8 weitergeleitet. Zudem wurden in Zusammenarbeit mit AP4 Kandidatengene mittels qPCR untersucht. Außerdem wurden Methylierungsexperimente mittels Pyrosequenzierung und entsprechende Sequenzen dafür vorbereitet.
- AP3: Es wurden Sensitivitätsanalysen mit den RNA-Seq Daten durchgeführt. Long non-coding RNA Sequenzierungsdaten (lncRNA-Seq) wurde auf differentielle Expression hin analysiert. Die ersten Whole Genome Sequenzdaten (WGS) wurden teilweise erneut prozessiert, da einzelne Proben Auffälligkeiten zeigten. Die

Whole Exom Sequenzierungsdaten (WES) wurden prozessiert und auf die Population-Stratifizierung hin untersucht. Daten von AP5&6 wurden auf Unterschiede in der Anzahl von Doppelstrangbrüchen nach Bestrahlung statistisch ausgewertet. Die Methodenforschung zur integrativen Analyse von RNA-Seq und WGS Daten mit Hilfe von Likelihood-wise Boosting zeigte keine Verbesserung im Vergleich zu etablierten Methoden. Die Suche nach geeigneten Methoden für die Analyse der mRNA-Seq Daten auf Fusions-Gene und differentielles Spleißen hin, fiel wegen zu kurzer single-end Reads negativ aus.

- AP4: Das Paper "Pattern of nucleotide variants of TP53 and RAD9A and their correlation with the folding of pre-RNA and expression of total TP53 and delta 133 transcripts in childhood cancer survivors" wurde überarbeitet und mit neuen in silico und in vivo Daten zur Expression der beiden Isoformen (FLTP53 und delta 133) ergänzt und soll zeitnah zur Publikation eingereicht werden.
- AP7a: Die Analyse zytogenetischer Schäden nach induziertem Replikationsstress in GenKiK/KIKME-Fibroblasten der Pilotstudie mit dem Mikrokern-Assay stehen kurz vor dem Abschluss.
- AP7b: Es wurden Referenzdaten für das Mikrokern-Assay nach der Exposition von Vollblutproben nach Bestrahlung mit γ -Strahlung etabliert. Die behördliche Genehmigung zur Durchführung der geplanten Bestrahlungsexperimente am TRIGA-Forschungsreaktor in Mainz liegt nun vor.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Integration der VIVE Daten mit den anderen Quellen. Erweiterung der Methodik zur retrospektiven Dosimetrie an Patienten mit ALL im Kindesalter und homogeneren, tatsächlichen Bestrahlungen.
- AP2: Im kommenden Halbjahr sollen die Ergebnisse der umfangreichen Versuche in mehreren wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht werden. Darüber hinaus soll in Zusammenarbeit mit AP4 und AP8 die Sequenzierung von 9 Proben der long-non-coding-RNA aus Gründen der Qualitätssicherung wiederholt werden.
- AP3: WGS und WES Daten werden auf Mutationen hin untersucht. DNA-Chip Daten von Speichelproben werden imputiert. Ein Teil dieser Daten stammt von denselben Patienten, wie die WGS-Daten. Diese werden dazu verwendet, um zu überprüfen, ob es sich bei den in den WGS Daten gefundenen Mutationen um Keimbahnmutationen handelt. Die restlichen DNA-Chip Daten werden verwendet, um zu überprüfen, ob die Mutationen in unabhängigen Tumorkontingenzen wiedergefunden werden können.
- AP4: Für das TP53 Paper steht eine finale statistische Analyse über die Expression der delta133 Isoform aus. Diese Daten müssen noch in das Paper eingearbeitet werden. Weiterhin sind die Arbeiten an dem Paper „Analysis of intrinsic and radiation induced methylation signature in primary fibroblasts of patients with primary and secondary primary childhood cancer" geplant.
- AP7a: Die Ergebnisse des Mikrokern-Assays sollen mit der zellzyklusspezifischen Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbruchmarkern bestätigt werden.
- AP7b: Es sollen Pilotexperimente am TRIGA-Forschungsreaktor der Uni-Mainz für Expositionen verschiedener Zelltypen mit thermalen Neutronen durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Brackmann LK, Poplawski A, Grandt CL, Schwarz H, Hankeln T, Rapp S, Zahnreich S, Galetzka D, Schmitt I, Grad C, Eckhard L, Mirsch J, Blettner M, Scholz-Kreisel P, Hess M, Binder H, Schmidberger H & Marron M, Comparison of time and dose dependent gene expression and affected pathways in primary human fibroblasts after exposure to ionizing radiation. *Mol Med* (2020). <https://doi.org/10.1186/s10020-020-00203-0>

Marron M, Brackmann LK, Schwarz H, Grandt CL, Zahnreich S, Galetzka D, Schmitt I, Grad C, Drees P, Hopf J, Mirsch J, Scholz-Kreisel P, Kaatsch P, Poplawski A, Hess M, Binder H, Hankeln T, Blettner M & Schmidberger H, KiKme - A nested case-control study to identify genetic predispositions related to ionizing radiation in childhood and second primary cancers: Design and implementation. *Unter externer Begutachtung in BMJ open*

Galetzka D, Müller T, Dittrich M, Endres M, Kartal N, Sinizyn O, Rapp S, Zeller T, Müller C, Hankeln T, Scholz-Kreisel P, Chorzempa H, Mirsch J, Poplawski A, Rossmann H, Spix C, Haaf T, Prawitt D, Marron M & Schmidberger H., Molecular karyotyping and gene expression analysis in childhood cancer patients. *J Mol Med* (2020). <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01937-4>

Zahnreich S, Rösler H P, Schwanbeck C, Karle H & Schmidberger H., Radiation-induced DNA double-strand breaks in peripheral leukocytes and therapeutic response of heel spur patients treated by orthovoltage X-rays or a linear accelerator. *Strahlenther Onkol* (2020). <https://doi.org/10.1007/s00066-020-01662-4>

Zahnreich S, Poplawski A, Hartel C, Eckhard L, Galetzka D, Hankeln T, Löbrich M, Marron M, Mirsch J, Ritter S, Scholz-Kreisel P, Spix C & Schmidberger H, Spontaneous and Radiation-Induced Chromosome Aberrations in Primary Fibroblasts of Patients with Pediatric First and Second Neoplasms, *Front. Oncol.* (2020). <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01338>

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: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.066.254,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hankeln	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen von Vor- und Hauptversuchen wurden in der zweiten Jahreshälfte 2020 aus den verbliebenen 189 RNA-Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2) für die Analyse der lncRNA-Komponente geeignete NGS-Sequenzier-Bibliotheken erstellt. 126 der aus der ersten Jahreshälfte zurückgestellten Bibliotheken sowie die 189 neuen Bibliotheken aus der 2. Jahreshälfte 2020 wurden mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren auf dem HiSeq 2500 sequenziert und die Daten an die Bioinformatik-Gruppe am IMBEI (AP3) weitergeleitet. Somit konnte die im Bericht 2/2019 geplante Sequenzierung von insgesamt 513 lncRNAs aus humaner Fibroblasten-Zellkulturen erfolgreich abgeschlossen werden.

Die 500 DNA-Proben des Bestätigungskollektivs wurden zwischenzeitlich durch Dienstleister Life & Brain, Bonn, einer SNP-Analytik unterzogen. Die Daten wurden erhalten und an die Bioinformatik (AP2, AP3) weitergeleitet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Bioinformatik-Auswertegruppen werden im Hinblick auf die Auswertung und Publikation der Daten unterstützt und Teile für Manuskripte vorbereitet. Bei Bedarf werden einzelne Proben, die die Qualitätshürde nicht genommen haben, erneut per NGS sequenziert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Diverse Manuskripte sind in verschiedenen Stadien der Publikation begriffen. Siehe Auflistungen der anderen Projektpartner.

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 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 711.627,00 EUR	Projektleiter: Dr. Marron	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Das Teilprojekt-C am Standort Bremen ist 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 bereits im ersten Halbjahr 2020 angenommene Publikation zum Vergleich der Genexpression zu verschiedenen Zeitpunkten nach Strahlenexposition wurde im September vom Journal *Molecular Medicine* publiziert. Die Publikation mit der Beschreibung des KiKme Studiendesign und des Rekrutierungs-

verhaltens (101 SPN Patienten, 340 FPN Patienten und 150 krebsfreie Unfallpatienten) wurde nach Ablehnung durch das zweite Journal überarbeitet und bei einem dritten Journal zur Veröffentlichung eingereicht.

Die dritte Publikation zu einer weiteren Reihe von Bestrahlungsexperimenten zur Identifikation von Unterschieden in der Genexpression je Probandengruppen auf Pathway-Ebene wurde im vergangenen Halbjahr fortgeführt und nach der Zirkulation im Verbund um weitere Proben und Analysen ergänzt.

Die Auswertung der inter-individuellen Variation in der Genexpression vor und nach Bestrahlung stratifiziert nach Gruppen wurde abgeschlossen und eine erste Fassung des Manuskripts erstellt. Hier zeichnen sich gruppenspezifische Unterschiede im Bereich der zellulären Strahlungsantwort, insbesondere im Umgang mit Sauerstoff- und Stickstoffradikalen ab. In Reaktion auf eine niedrige Strahlendosis fanden sich bei Spender*innen mit Sekundärneoplasie hierbei Gene mit einzigartiger überdurchschnittlicher Expressionsvariabilität. Dieses Set an Genen wies auf potentiell deregulierte Funktionen in der inflammatorischen Reaktion auf besagte Radikale hin. Bei krebsfreien Kontrollproband*innen fanden sich hingegen nach allen Strahlendosen einzigartige Gensets, die unterdurchschnittlich variabel exprimiert wurden. Diese waren zudem mit Zelltod sowie der DNA-Schadenserkenung und –antwort assoziiert. Die zugehörige Publikation wird im kommenden Halbjahr im ISIBELA-Verbund zirkuliert. Für die Auswertung der differenziell exprimierten long-non-coding-RNA wurde ein umfassender Analyseplan und zugehörige Programmierungen erstellt und an den messenger-RNA-Daten getestet. Zudem wurde mit dem Verfassen des zugehörigen Programmierskripts begonnen.

Im vergangenen Halbjahr konnte darüber hinaus die Fragebogendatenbank abschließend gesäubert und auf Vollständigkeit überprüft werden. Anhand des finalen Datensatzes wurde mit der Analyse des Auftretens von Krebserkrankungen in der Familie und der klinischen Beschreibung der KiKMe Probanden begonnen.

Die für die Evaluierung der Verlässlichkeit des entwickelten Fragebogens als Instrument zur lebenslangen, medizinischen Strahlenexpositionseinschätzung benötigten Therapiedaten aus den kideronkologischen Kliniken in Deutschland konnten für Statusvariablen (Therapie ja/nein) analysiert werden. Die Dosisdaten zur Chemo- und Strahlentherapie konnten leider von AP1 noch nicht zur Verfügung gestellt werden.

Die Informationen zu vorhandenen Bioproben wurden fortlaufend qualitätsgesichert in der Bioprobandatenbank aktualisiert. Weiterhin befinden sich 6.566 Bioproben in der Datenbank, von denen 33,3 % für Analysen genutzt wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Halbjahr sollen die umfangreichen Analysen aller erhobenen Studiendaten fortgesetzt werden. Dies betrifft sowohl die Fragebogendaten (Familiengeschichte, klinische Beschreibung der Studienteilnehmer, Fragebogenvalidierung) als auch die genetischen Daten. Neben den bereits laufenden Analysen zu Gruppenunterschieden nach Bestrahlung und inter-individueller Variation soll in Zusammenarbeit mit AP3 die mit den messenger-RNA-Daten gewichtete Analyse nach krebsrelevanten Punktmutationen im kommenden Halbjahr durchgeführt und validiert werden.

Nach erfolgter Datenlieferung durch AP3 soll zudem die Analyse der long non-coding RNA finalisiert und das zugehörige Manuskript im Verbund zirkuliert werden.

Die so aus der Analyse der messenger- und long non-coding-RNA gewonnenen Informationen werden darauffolgend verwendet, um genomische Copy Number Variations zu ermitteln und mittels der genomweiten DNA-Sequenzierung zu validieren. Diese Variationen werden dann zwischen den verschiedenen Probandengruppen verglichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Brackmann, L. K. et al.: Comparison of time and dose dependent gene expression and affected pathways in primary human fibroblasts after exposure to ionizing radiation. *Journal of Molecular Medicine*, July 2020, accepted and in press

Brackmann, L. K. et al.: Comparison of time and dose dependent gene expression and affected pathways in primary human fibroblasts after exposure to ionizing radiation. DGEpi-Jahrestagung, 29 September – 2 Oktober 2020, Greifswald (online)

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 042D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 sowie ab 09/2021 Analyse von spontanen Doppelstrangbrüchen:

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 Folge-neoplasie 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 sowie im Rahmen der Projektaufstockung ab 09/21 im Hinblick auf spontane Doppelstrangbrüche (DSBs) analysiert. Hier werden in verschiedenen Experimenten die Ursachen von spontan auftretenden Doppelstrangbrüchen analysiert, dabei soll die Rolle von Replikationsstress und anderen physiologischen Stressoren untersucht werden. Diese Studien werden durch ChIP-seq-Analysen zur Positionsanalyse spontaner Brüche komplementiert.

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 verlangsamten 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: Aufgrund der in AP5 und AP6 beobachteten hohen Inter-Individualität beim Auftreten von spontanen DSBs stehen diese nun im Fokus der Arbeiten von AP5. Dabei komplementieren ChIP-Seq-Analysen zur genauen Lokalisation von spontan auftretenden DSBs im Genom die molekularbiologischen Analysen.

Im aktuellen Berichtszeitraum wurden identifizierte Probleme bei den ChIP-Seq-Experimenten adressiert. Mit einer Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP) in Kombination mit einer Sequenzierung (ChIP-Seq) können Sequenzen, an denen DSB-abhängige Proteinmodifikationen auftreten, ermittelt und kartiert werden. In diesen Optimierungsexperimenten wurden unterschiedliche Antikörper für die ChIP getestet, um aufgetretene unspezifische Signale zu reduzieren sowie das Protokoll zur Sonifizierung verändert, um kleinere DNA-Fragmente zu generieren. Die mit dem optimierten Protokoll vorbereiteten Proben von zwei Modellzelllinien (DIVA und der Fibroblasten-Zelllinie 82-6 hTert) sahen in der qPCR vielversprechend aus und erfüllten auch die notwendigen Qualitätskontrollen für die Durchführung der Sequenzierung. Daher wurde die Sequenzierung dieser Proben kürzlich in Auftrag gegeben. Parallel zur Optimierung der ChIP-Seq wurde ein weiteres Sequenzierungsverfahren, mit dem die aus DNA-Schäden resultierenden Mutationen im ganzen Genom kartiert werden können, auf dessen Eignung zur Beantwortung unserer Fragestellung hin überprüft. Die Daten werden derzeit bioinformatisch analysiert.

Neben der weiteren Optimierung der ChIP-Seq wurde die Analyse der spontan auftretenden DSBs mit molekularbiologischen Methoden fortgesetzt. Mit diesen Analysen wird untersucht, ob Zelllinien, die als konfluente Zellkulturen einen hohen Level spontaner DSBs haben, möglicherweise ein Problem mit physiologischen Prozessen haben. Fünf Zelllinien gesunder Spender wurden dazu während ihres Wachstums untersucht und die DSBs in der G1-, S- und G2-Phase des Zellzykluses erfasst. Dabei zeigte sich ein konsistentes Bild, bei dem Zelllinien mit einer hohen Anzahl an DSBs in konfluenten Zellkulturen ebenfalls eine hohe Anzahl an DSB in G1 und G2 aufwiesen. In der S-Phase wurde kein Unterschied zwischen den Zelllinien festgestellt.

AP6: Die Experimente zur Analyse der Reparaturkapazität wurden abgeschlossen und die aufgenommenen Bilder mit Hilfe der halbautomatischen Analysesoftware "AutoFoci" ausgewertet. Nach einer ersten Sichtung und Analyse der Daten wurden diese für die statistische Analyse durch AP3 vorbereitet. Derzeit werden die Daten im Bezug auf das Reparaturverhalten von Patienten und gesunden Probanden bei niedrigen Strahlendosen analysiert. Diese Analyse wird zeigen, ob die Ergebnisse auch statistisch aussagekräftig sind.

Die Bildaufnahme zur Analyse des Checkpoints nach hohen Bestrahlungsdosen wurde abgeschlossen. Eine erste Sichtung der Bilddateien zeigte, dass bei einigen Aufnahmen der Auto-Fokus nicht optimal funktioniert hat, so dass diese Bilder leider zu unscharf sind und erneut aufgenommen werden müssen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Die Daten beider Sequenzierungsansätze werden bioinformatisch analysiert. Sollte sich eine der Vorgehensweisen als vielversprechend herausstellen, werden nach zusätzlichen Experimenten zur Verifizierung der Ergebnisse ggfs. die Fibroblasten der Krebspatienten mit Hilfe dieser Methode untersucht, um die Stellen der spontan auftretenden DSBs oder der daraus resultierenden Mutationen im Genom zu charakterisieren. Ob diese Analyse noch vorgenommen werden kann, wird auch von der verbleibenden Projektlaufzeit abhängig sein.

In den molekularbiologischen Analysen wird mit 3 Zelllinien gesunder Spender untersucht, ob DSBs in ruhenden Zellen (konfluente Zellkulturen) immer wieder neu entstehen und repariert werden oder ob die spontanen DSBs ein Relikt aus dem letzten Zellzyklus sind. Dazu werden ruhende Zellen mit einem Inhibitor für den zentralen Reparaturfaktor DNA-PK behandelt.

AP6: Nach Abschluss der statistischen Analyse sollen die Daten für eine Veröffentlichung vorbereitet sowie notwendige Kontrollexperimente durchgeführt werden. Parallel dazu erfolgt die erneute Bildaufnahme sowie die Auswertung der Bildaufnahmen für die Checkpoint-Analyse zu 8 h nach Bestrahlung mit 3 Gy.

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 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 883.050,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kriehuber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

- AP1: Wie unterscheidet sich die Reparatur von komplexen 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

Nach Zellzyklussynchronisation wurden Jurkat-Zellen in der frühen S-Zellzyklusphase bzw. späten S-Zellzyklusphase mit Tritium-Thymidin oder mit Iod-125-UdR für 1 h „puls-markiert“. Die eingesetzten Aktivitäten für die Puls-Markierung wurden dabei so gewählt, dass während der Zeit nach Puls-Markierung bis hin zum Einfrierzeitpunkt der Zellen kaum Zerfälle pro Zelle auftraten ($\ll 0,1$ Millibecquerel/Zelle). Die Zellen wurden nach dem „Puls-Markieren“ i) unmittelbar in der S-Zellzyklusphase bzw. nach Weiterkultivierung der Zellen ii) in der folgenden G₂/M-Zellzyklusphase oder iii) in der folgenden G₁-Zellzyklusphase für die Akkumulation von radioaktiven Zerfällen eingefroren. Die Einfrierzeiten wurden dabei so gewählt, dass in den vergleichenden Untersuchungen nahezu identische Zerfälle pro Zelle erreicht wurden. Nach dem Erzielen der adäquaten radioaktiven Zerfälle pro Zelle, wurden die Zellen aufgetaut und nachfolgend auf Chromosomenaberrationen hin untersucht. Bezüglich Chromosomenaberrationen nach Iod-125-UdR Exposition zeigte sich dabei, bezogen auf die exklusive DNA-Schädigung in Hetero- versus Euchromatin-Bereichen für alle drei Einfrierzeitpunkte (S-Phase, G₂/M-Phase und G₁-Phase-Zellen), keine signifikanten Unterschiede. Beim Vergleich der verschiedenen Zellzyklusphasen untereinander wurde jedoch, bei gleicher Anzahl radioaktiver Zerfälle pro Zelle, eine signifikant erhöhte Chromosomenaberrationsrate in G₂/M- gegenüber G₁-Phase Zellen nach Iod-125-UdR-Exposition in Heterochromatinbereichen festgestellt, wohingegen dies nach Iod-125-UdR-Exposition in Euchromatinbereichen nicht feststellbar war.

4. Geplante Weiterarbeiten

Letzter Bericht aufgrund Projektende. Erstellung des Abschlussberichtes.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Unverricht-Yeboah M, Holtmann K, Kriehuber R.: Comet Assay analysis of DNA strand breaks after exposure to the DNA-incorporated Auger Electron Emitter Iodine-125. *Int J Radiat Biol.* 2020 Dec 3:1-9. doi: 10.1080/09553002.2020.1851059. Epub ahead of print. PMID: 33211630

Schmitz, N.: DNA damage complexity and DNA repair pathway choice in S and G₂/M Jurkat cells. Bachelor thesis, BSc Life Science, Ziyud Hogeschool, 2020

Kina, S.: Reproductive Cell Death and Induction of DNA Double Strand Breaks in SCL-II Cells after Exposure to Tritium Water and Methyl-³H-Thymidine. Master thesis, MSc Nuclear Applications, FH Aachen, (submitted)

Schmitz, N.: DNA damage complexity and DNA repair pathway choice in S and G₂/M Jurkat cells. Vortrag am 22.10.2020 im Arbeitskreis “Strahlenbiologie” des deutsch-schweizerischen Fachverband für Strahlenschutz, 2020

Unverricht-Yeboah M.: Comet Assay analysis of DNA strand breaks after exposure to the DNA-incorporated Auger Electron Emitter Iodine-125. Vortrag am 22.10.2020 im Arbeitskreis “Strahlenbiologie” des deutsch-schweizerischen Fachverband für Strahlenschutz, 2020

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 31.12.2020	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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) bewerte-

ten. Die Beziehung zwischen diesen funktionellen Endpunkten und möglichen Prädiktoren (Aktivierung unterschiedlicher Reparaturwege, Zellzyklusphasenabhängigkeit, Akkumulation residueller Schäden während fraktionierter Bestrahlung, die Chromatinstruktur, d. h. Histonmodifizierungen und EGFR Status der Zellen) werden analysiert.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

UDE-1: In vorangegangenen Experimenten wurde quantitative, bildbasierte Zytometrie (QIBC) für Langzeitanalysen (96 h) von Gamma-H2AX-Foki spezifisch in der G1- und G2-Phase des Zellzyklus angewendet. Mit dem gleichen Ansatz untersuchten wir nun den Beitrag von c-NHEJ und HRR zur Verarbeitung einzelner und geclusterter DSBs. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Hemmung von DNA-PKcs die Reparatur einzelner DSBs beeinträchtigt aber fast keinen Einfluss auf die Reparatur von DSB-Clustern hat. Diese Beobachtungen stimmen mit einigen unserer früheren Ergebnisse überein, die darauf hindeuten, dass die erhöhte DSB-Clusterbildung das effiziente Einsatz von c-NHEJ beeinträchtigt. Leider konnte der Anteil der HRR nicht über einen längeren Zeitraum untersucht werden, da selbst eine 24-stündige Behandlung mit dem Rad51 und HRR-Inhibitor B02 die Replikation störte und die normale Progression durch den Zellzyklus signifikant hemmte.

Weiterhin wurden Untersuchungen zum Zusammenspiel von DNA-Endresektion und alt-EJ bei der Erzeugung von chromosomalen Aberrationen (CAs) durchgeführt. Hierzu wurden einerseits der für die Resektion essentielle Faktor CtIP herunterreguliert, als auch der am alt-EJ beteiligte Faktor PARP1 gehemmt. Die Depletion von CtIP hatte sehr unterschiedlichen Einfluss auf die Frequenz von CAs in den verwendeten Zelllinien. Bei Kombination von CtIP-Depletion und PARP1-Hemmung beobachteten wir einen dramatischen Anstieg von CAs, unabhängig vom Grad der DSB-Clusterbildung. Tatsächlich war der Anstieg in Zellen mit einzelnen DSBs am ausgeprägtesten, in denen weder PARP1-Inhibition noch die CtIP-Depletion allein einen Effekt hatten. Gegenwärtig versuchen wir herauszufinden, welche Mechanismen für diesen eklatanten Anstieg verantwortlich sind. Interessanterweise zeigen ersten Daten, dass c-NHEJ in diesem Zusammenhang teilweise zur Erzeugung von CAs beiträgt.

UDE-2: Die für dieses Projekt angestellten Doktoranden Fr. Shipra Chaudhary und Hr. Mortoga Sharif haben in den beiden letzten Berichtszeiträumen ihre Dissertationen fertig gestellt und verteidigt. Nach Fr. Dr. Shipra Chaudhary konnte nun auch Hr. Dr. Sharif ebenfalls seine Dissertation erfolgreich verteidigen und somit zum Dr. rer. nat. promovieren.

UDE-3: Die Laufzeit dieses Projektteils endete bereits im ersten Halbjahr 2020.

4. Geplante Weiterarbeiten

UDE-1: Mit Erreichen der verlängerten Laufzeit zum Ende des Jahres 2020 werden die Arbeiten in diesem Projekt nun zum Abschluss gebracht. Letzte Untersuchungen werden durchgeführt um diese Ergebnisse zu bestätigen und Publikationen zu vervollständigen. Einzelne Experimente werden auch durchgeführt um Fragen der Gutachter zu bearbeiten. Weitere Untersuchungen werden gezielt durchgeführt um die Ergebnisse zur Rolle von CtIP und NHEJ und altEJ bei der Bildung von CAs zu bestätigen und die mechanistischen Hintergründe zu erkunden. Alle noch nicht bereits publizierten Ergebnisse des Projekts werden nun zusammengestellt und für die Veröffentlichung in anerkannten Fachzeitschriften vorbereitet.

UDE-2: Die experimentellen Arbeiten wurden zum Ende der Laufzeit abgeschlossen.

UDE-3: Die experimentellen Arbeiten wurden am 31.3. 2020 abgeschlossen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Shipra Chaudhary: DSB clusters impair the efficiency of both homologous recombination and c-NHEJ and initiate Rad52 dependent error prone processing, Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr.rer.nat., 2020

Sharif Mortoga: Regulated systems of I-SceI expression for in-depth studies of the biological effects of DBSs and DSB clusters, Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr.rer.nat., 2020

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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

Der zeitaufgelöste Transkriptomdatensatz wurde um Daten von Keratinozytenzellen aus der Mundschleimhaut von zwei gesunden Spendern mit hoher und niedriger Strahlensensitivität, die zu acht verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung mit 0 Gy (sham)/8 Gy geerntet wurden, ergänzt. Die Daten wurden hinsichtlich der unterschiedlichen Strahlenantwort in Zellen mit normaler und veränderter Sensitivität untersucht. Dabei wurden Signalwege und Gene identifiziert, welche als Kandidaten für eine Modulation der Strahlenantwort infrage kommen. Im nächsten Schritt werden geeignete Wirkstoffe für die Modulation der Strahlenantwort identifiziert und deren Wirkung in Koloniebildungsassays untersucht.

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*

In enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern (BfS, IFZ, LMU, CUB) wurden die Analysen der generierten Daten zur molekularen und funktionellen Charakterisierung des HNSCC-Zelllinien Panels (n=11) und den *in vivo* Tumorproben des Panels weitergeführt und am HMGU in den Manuskript-Entwurf integriert.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Im Berichtszeitraum wurde die RNAseq weiterer (n=10; 0/6 Gy) vom UKF erhaltenen Mundschleimhautproben, die mittels *Spread Assay* hinsichtlich der *in vitro* Strahlenempfindlichkeit charakterisiert wurden, durchgeführt. Die *Spread Assay* Isolate wiesen einen hohen Degradierungsgrad und eine zu niedrige Mapping-Rate in den Seq-Daten auf. Alle weiteren RNAseq Analysen werden daher an den Mundschleimhaut-Zellisolaten durchgeführt.

Von der Pathologie des UKF wurden insgesamt Tumor(T)- und Normalgewebeproben (N) von n=29 HNSCC Patienten erhalten, wobei für n=19 Patienten sowohl T als auch N vorlagen. Mithilfe eines optimierten RNA-Isolations-Protokolls für die mikroskopische Dissektion benachbarter Normal- und Tumorgewebsareale nach HE-Färbung, wurde aus allen Gewebeproben (T/N) erfolgreich RNA isoliert. Anschließend wurden Sequenzierbibliotheken erstellt und die RNAseq durchgeführt. Die RNAseq Primärdaten für die Analysen liegen vor und die erste Qualitätsanalyse verlief für alle Proben erfolgreich. Für die n=28 Tumorgewebeproben wurden auch MALDI MSI Messungen auf Metaboliten-Ebene (100-1060 Da) durchgeführt. Eine erste Analyse zeigte die heterogene Verteilung der Metaboliten.

Bedingt durch die Corona-Pandemie fand das Projekttreffen vom 17. bis 19.11.2020 virtuell in Form einer Videokonferenz statt, an der H. Zitzelsberger, P. Weber, K. Unger, S. Mwiberi und J. Hess für das HMGU teilnahmen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 047B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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 mit Partner HMGU durchgeführt. Es wurden übereinstimmende Ergebnisse mit metabolischen Analysen festgestellt und die Daten mit dem Kooperationspartner IFZ, Essen, ausgetauscht. Weiterhin wurden erste massenspektrometrische Untersuchungen von Blutplasma durchgeführt, um diese Methode zur Analyse von Blutproteinen zu etablieren.
- AP2: Zur Charakterisierung der in die Untersuchungen einbezogenen HNSCC-Zelllinien wurden Wachstumskurven dieser Zelllinien angefertigt und die Daten für eine gemeinsame Veröffentlichung an den Kooperationspartner HMGU übergeben.
Zur Charakterisierung der zellulären Strahlenempfindlichkeit wurde ein Panel aus 30 lymphoblastoiden Zelllinien (LCLs) generiert aus Blutzellen von Brustkrebs- und HNSCC-Patienten mit beschriebener Strahlenreaktion nach Radiotherapie (15 reagierten sensitiv, 15 normal (gemacht)) untersucht. Als Parameter wurden metabolische Aktivität (WST Assay, indirekter Nachweis für Zelltod) 24 und 48 Stunden nach Bestrahlung, DNA-Reparatur mit dem γ H2AX-Assay und Zellzyklusanalysen (FACS) 24 h nach Bestrahlung untersucht, um besonders empfindliche Zelllinien für weitere Analysen zu identifizieren. Die Daten werden zurzeit abschließend ausgewertet. Die Experimente waren in sich reproduzierbar und konsistent und einige Parameter korrelieren (subG1-Phase und WST-Assay). Eine Assoziation mit der klinischen Strahlenempfindlichkeit der Patienten scheint sich nicht abzuzeichnen. Zusätzlich wurde ein „Limiting dilution assay“, etabliert, um das klonogene Zellüberleben lymphoblastoider Zellen nach Bestrahlung zu erfassen. Aus der Literatur gibt es Hinweise, dass dieser Test mit der klinischen Strahlensensitivität korreliert. Der Test erwies sich als sehr aufwändig mit wenig reproduzierbaren Daten.
- 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. Die Verteilung und Aufarbeitung der Mundschleimhautkulturen wurde mit den Verbundpartnern abgestimmt.
Die in Freiburg gesammelten Mundschleimhautproben sollen mittels Reparaturfoci-Assay (RF-Assay, γ H2AX/53BP1) und massenspektrometrischer Proteinanalytik untersucht werden. Der RF-Assay wurde erfolgreich etabliert. Aufgrund der geringen zur Verfügung stehenden Zellzahl der Keratinozyten müssen dazu diese adhären Zellen in definierten Bereichen auf Objektträgern kultiviert werden. Für die Massenspektrometrie wurde mit dem Kooperationspartner Research Unit Protein Science des HMGU erfolgreich ein Protokoll zur Analyse von Keratinozyten isoliert aus Mundschleimhautbiopsien etabliert. Dazu wurden Mundschleimhautzellen von fünf Probanden nach in vitro-Bestrahlung zu zwei Zeitpunkten (24 h und 96 h) untersucht, über 5000 Proteine wurden detektiert. Erste Analysen zeigen unterschiedlich deregulierte Proteine bzw Signalwege zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Bestrahlung im Vergleich zu unbestrahlten Kontrollzellen. Die Pathway-Analysen der strahlenregulierten Proteine zeigen typische Reaktionen der Keratinozyten nach Stress und Verwundung und bilden somit die Charakteristika der Zellen gut ab. Zur Validierung der Daten wurde der Scratch-Assay und Immunfärbungen mit den Keratinozyten Zelllinien OKF6 (aus Mundschleimhaut wie die Biopsien) und HaCat (aus Haut) etabliert. Eine weitere Validierung erfolgt durch die massenspektrometrische Analyse der Biopsie-Keratinozyten von weiteren Probanden.
- AP4: Das zweite Projekttreffen 2020 wurde aufgrund der Corona-Situation als Videokonferenz am 17./18./19. November 2020 durchgeführt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Dietz A, Gomolka M, Moertl S, Subedi P.: Ionizing radiation protein biomarkers in normal tissue and their correlation to radiosensitivity: protocol for a systematic review. *J Pers Med.*2020;11(1):3.doi: 10.3390/jpm11010003

Subedi P, Gomolka M, Moertl S, Dietz A.: Ionizing radiation protein biomarkers in normal tissue and their correlation to radiosensitivity - systematic review. *J Personalized Med (Review)* eingereicht (im Review-Prozess)

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 047C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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.

Im Rahmen der übergeordneten Lockdown-Maßnahmen der Covid-19-Pandemie wurde der experimentelle Forschungsbetrieb in der Klinik für Strahlentherapie großflächig umstrukturiert. Um Patient*innen und klinisch tätiges Personal zu schützen, wurden für das forschende Personal ausgedehnte Home-Office-Regelungen getroffen. Experimentelles Arbeiten war nur in einer stark reduzierten Form des Normalbetriebs möglich. Dies betraf insbesondere die im Projekt geplanten tierexperimentellen Arbeiten, da auch von behördlicher Seite mit Nachdruck empfohlen wurde, tierexperimentelle Arbeiten auf ein absolutes Mi-

nimum zu beschränken (um bei einem eventuellen Covid-19-Ausbruchsgeschehen vorzeitige Versuchsabbrüche zu vermeiden). In Konsequenz wurden schwerpunktmäßig Auswertearbeiten durchgeführt, Experimente geplant, Literaturrecherchen betrieben, Publikationen und Übersichtsartikel vorbereitet und geschrieben. Im Gegenzug ist die experimentelle Bearbeitung des vorliegenden Projektvorhabens verzögert und der Mittelverbrauch im Vergleich zur Kostenplanung unterschritten.

Folgende Publikationen mit Bezug zu und Nennung von 02NUK047C wurden fertiggestellt (Manuskripte akzeptiert bzw. bereits veröffentlicht):

Ein Review-Artikel über die Lungen-Normalgewebstoxizität der Strahlentherapie. Dieser Artikel wurde in Kollaboration mit international ausgewiesenen Experten dieses Felds erstellt (Käsmann et al. *Radiat Oncol* 2020, 15(1):214).

Ein Primär-Artikel zu den methodischen Limitationen der aktuellen Standard-Auswertemethode von Koloniebildungstests, die wir u. a. im Rahmen der Bearbeitung von 02NUK047C beobachtet haben (Brix et al. *Radiat Oncol* 2020, 15(1):248).

Ein Primär-Artikel zur molekular zielgerichteten Radiosensibilisierung von Glioblastomen durch HSP90-Inhibition (Orth et al. *Front Oncol* 2021, in press).

Die geplante Publikation zur Bedeutung der zellulären Seneszenz und des damit verbundenen sekretorischen Phänotyps wurde gemeinsam mit den anderen Projektpartnern mit Verzögerungen weiter bearbeitet, und die letzten erhaltenen Ergebnisse wurden in die Publikation eingearbeitet. Abbildungen und Publikationstext befinden sich in der Überarbeitungsphase. Eine Submission ist für Q1-2021 geplant.

Die experimentellen Arbeiten zur Beteiligung eines Stammzell-Oberflächenrezeptors an den Mechanismen der Radioresistenz von HNSCC-Zellen sind abgeschlossen. Abbildungen und Publikationstext befinden sich mit Verzögerungen in der Fertigstellung. Eine Submission ist für Q2-2021 geplant.

Für die geplante HNSCC-Zelllinien-Publikation wurden gemeinsam mit dem Projektpartner CUB CyTOF-Analysen durchgeführt, die sich aktuell in der Auswertung befinden.

Im Teilprojekt mit den generierten radioresistenten Cal33-Zellklonen führt der Partner HMGU aktuell die Auswertung von RNASeq-Analysen aus Gewebeproben explantierter Tumore durch. Danach soll zeitnah ein Publikationskonzept erstellt werden.

Die zellbiologische Charakterisierung der aus der heterogenen Ausgangszelllinie Cal33 isolierten 20 neuen Subklone befindet sich in der Fertigstellung. Darüber hinaus wurden beim Projektpartner HMGU RNASeq-Analysen durchgeführt, die aktuell ausgewertet werden. Für den Projektpartner CUB wurden Proben für CyTOF-Analysen vorbereitet und versendet.

Sonstiges:

Statt des geplanten Jahresend-Treffens des Verbundes in Berlin fand eine abstimmende Videokonferenz am 17.-19.11.2020 (jeweils 9-13 Uhr) statt. Für den Partner LMU nahmen Dr. Radostin Galabov (PostDoc), Pablo Branz (Medizindoktorand) und Prof. Dr. Kirsten Lauber (Projektleiterin) teil.

Für März 2021 konnte eine neue Medizindoktorandin für die Mitarbeit an diesem Projekt rekrutiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Covid-19-bedingt liegt die Gesamtverzögerung des Projektvorhabens beim Projektpartner LMU jetzt bei 15 Monaten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Käsmann L, Dietrich A, Staab-Weijnitz CA, Manapov F, Behr J, Rimner A, Jeremic B, Senan S, De Ruyscher D, Lauber K, Belka C. (2020): Radiation-induced lung toxicity - cellular and molecular mechanisms of pathogenesis, management, and literature review. *Radiat Oncol*. 15(1):214. doi: 10.1186/s13014-020-01654-9

Brix N, Samaga D, Hennel R, Gehr K, Zitzelsberger H, Lauber K. (2020): The clonogenic assay: robustness of plating efficiency-based analysis is strongly compromised by cellular cooperation. *Radiat Oncol*. 15(1):248. doi: 10.1186/s13014-020-01697-y

Orth M, Albrecht V, Seidl K, Kinzel L, Unger K, Hess J, Kreutzer L, Sun N, Stegen B, Nieto A, Maas J, Winssinger N, Friedl AA, Walch AK, Belka C, Zitzelsberger H, Niyazi M, Lauber K. (2021): Inhibition of HSP90 as a strategy to radiosensitize glioblastoma: Targeting the DNA damage response and beyond. *Front Oncol*. in press

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 047D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 739.080,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Jendrossek	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (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 Projekt ist Teilprojekt eines Verbundes dessen 4 Arbeitspakete von 6 Projektpartnern in München (BfS, LMU, HMGU), Berlin (CUB), Essen (IFZ) und Freiburg (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 API-4:

Die Versuchsserien zur *in vivo* Analyse des Einflusses der Inhibition eines SASP Faktors und eines Immunmodulators auf frühe (0-3 Wochen) und späte (ca. 25 Wochen) Normalgewebsveränderungen nach Thoraxbestrahlung (Ausschluss einer gesteigerten Toxizität) werden gemäß Arbeitsplan weiter fortgeführt (Verzögerungen vgl. Zwischenberichte 2/19 und 1/20 sowie Punkt 9). Die bioinformatische Auswertung der Datensätze zu zeitabhängigen Veränderungen im Transkriptom muriner Lungengewebsproben nach Thorax-bestrahlung des Partners HMGU liegt vor (vgl. Zwischenbericht 1/20). Die tiefergehende Analyse zur Identifizierung regulatorischer Signalwege und potentieller Netzwerkknoten ist Gegenstand weiterer aktueller Untersuchungen. Die experimentellen Set-ups zum Mucositis-Modell und zur *in vivo* Bestrahlung orthotoper Kopf-Hals Tumoren in immunkompetenten Mäusen (Kooperation mit Partner LMU und Klinik für Strahlentherapie Essen) wurden erfolgreich etabliert und entsprechende Tierversuchsanträge eingereicht; die geplanten Experimente zu strahleninduzierten Immunveränderungen bei Normalgewebstoxizität/ Antitumorwirkung werden nach deren Bewilligung begonnen. Die Experimente zur molekularen, zellbiologischen und radiobiol. Charakterisierung der beiden durch wiederholte *in vitro* Bestrahlung generierten Klone einer HNSCC-Zelllinie mit unterschiedlicher Radiosensitivität (vgl. Zwischenbericht-2-19) wurden ebenso wie die Charakterisierung der Strahlenantwort von Normalgewebszellen fortgesetzt. Die ersten retrospektiven Speichelproben (erhalten vom UKF; vgl. Zwischenbericht 1-20) wurden erfolgreich aufgearbeitet (RNA/Protein-Isolation) und bzgl. einer veränderten Expression bereits identifizierter Faktoren mit Bedeutung für pathologische Normalgewebsreaktionen hin untersucht (ca. 50 Patienten). Das sich hieraus abzeichnende Muster an Normalgewebsveränderungen soll nun in weiteren retrospektiv gesammelte Speichelproben verifiziert werden. Dazu wurden vom Partner UKF weitere variable Mengen Speichelüberstand (ca. 120) von Patienten mit bekannter Mukositis-Reaktion erhalten. Derzeit werden diese Proben aufgearbeitet und systematisch analysiert.

Bedingt durch die Corona-Pandemie konnte auch im Herbst das geplante Projekttreffen in Berlin nicht stattfinden und auf Mai 2021 verschoben. Stattdessen wurde am 17.-19.11.2020 ein virtuelles Meeting durchgeführt, an der V. Jendrossek, D. Klein, C. Hansel und F. Wirsdörfer für das IFZ teilnahmen. PD Dr. Diana Klein wurde zur außerplanmäßigen Professorin ernannt. Frau Dr. de Leve hat das Konsortium zum 31.12.2020 verlassen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm, mit einer weiteren zeitlichen Verzögerung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Meyer A, Klein D, Leve S, Szymonowicz K, Stuschke M, Robson S.C., Jendrossek V, Wirsdörfer F.: Host CD39 deficiency aggravates radiation-induced normal tissue toxicity and affects radiation-induced tumor growth delay. *Frontiers Oncol.* 2020 doi.org/10.3389/fonc.2020.554883

Steens J, Klar L, Hansel C, Slama A, Hager T, Jendrossek V, Aigner C, Klein D.: The vascular nature of lung-resident mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med.* 2020 Aug 24. doi: 10.1002/sctm.20-0191

Poster/Vorträge/Preise

Hansel C (Vortrag Virtueller Forschungstag 2020 Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen; Gockeln L (Vortrag, Vortragspreis): Virtueller Forschungstag 2020 Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen; Jendrossek V (Vortrag) Virtuelles 2nd Annual Meeting ICBS Students Chapter, Dortmund (Vortrag); V. Jendrossek (Vortrag) Virtuelle Jahrestagung der Europ. Society of Therapeutic Radiation Oncology (ESTRO); Weitere Vorträge/Poster auf Tagungen (DEGRO, DeGBS, EACR) fielen Corona-bedingt aus.

Zuwendungsempfänger: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 047E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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

Die wesentlichsten Arbeiten im Berichtszeitraum war die Analyse der Daten aus der ersten CyTOF-Einzelzellmessungen des ZiSS-Trans-Panels, um die Signalwegaktivitäten nach vor und nach Bestrahlung in Einzelzellauflösung zu beschreiben. Hierbei wurde festgestellt, dass es einige Quellen von „unwanted variation“ gibt, die insbesondere Zellgröße und Stainingqualität betreffen. Dazu wurde die Methode der „Regression of unwanted variation entwickelt“, die die Korrelationen zwischen unspezifischen Signalen herausrechnet und die Daten dadurch besser auswertbar macht. Als ein Ergebnis der Auswertungen ist, dass bestimmte Signalwegsaktivitäten deutlich mit der Strahlenantwort der Zellen korrelieren. Um diese detaillierter zu untersuchen, wurden in Kooperation mit der LMU neue Experimente geplant und durchgeführt, die im 1 HJ 2021 gemessen und analysiert werden sollen. In diesen Experimenten wird die Strahlenantwort zeitaufgelöst in Klonen einer Zelllinie, die stark unterschiedliche Strahlenantwort zeigen, auf Einzelzellniveau gemessen.

Außerdem wurden Marker für die Apoptose sowie ein Set von Markern, die die verschiedenen Zellzyklusphasen abbilden, etabliert. Diese sollen die phenotypische Antwort auf die Bestrahlung auf Einzelzellniveau abbilden können.

Weiterhin wurde an einem Konzept und der Implementierung für ein zentrales Datenmanagement gearbeitet. Hier wurde in Kooperation mit dem HGU München ein erstes System entwickelt, das es erlaubt, einen Überblick über die im ZiSS-Trans generierten Daten und die Verantwortlichen/Ablageorte zu gewinnen. Dieses wird die Zusammenarbeit im Konsortium weiter verbessern und auch die Grundlage für eine nachhaltig bessere Datenhaltung auch nach dem Projekt legen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es sind weiterhin Experimente zur Validierung des Signalwegs ZISS1 geplant (in enger Kooperation mit den Partnern), die leider aufgrund der Pandemiebedingungen nicht im 2. HJ 2020 fertiggestellt werden konnten. Weiterhin werden Messungen zu den durchgeführten Zeitreihenexperimenten durchgeführt, analysiert und modelliert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Rydenfelt M, Klinger B, Klünemann M, Blüthgen N.: SPEED2: inferring upstream pathway activity from differential gene Expression, *Nucleic Acids Res.* 2020 Jul 2;48(W1):W307-W312. doi: 10.1093/nar/gkaa236

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2017 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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. Darüber hinaus sollen aus zusätzlichen Daten durch entsprechende Analysen weitere, neue Knotenpunkte und Repräsentanten in den Netzwerken der Strahlenantwort identifiziert werden. Sowohl Zellkulturmodelle als auch Patientenproben, die durch klinische Parameter hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind, werden untersucht.

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: „Netzwerkanalyse und Modellierung“ (CUB/HMGU/BfS)

AP2: Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in HNSCC Tumormodellen“ (LMU/HMGU/IFZ)

AP3: „Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in Normalgewebs-Modellen“ (IFZ/HMGU/ BfS/UKF)

AP4: „Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe“ (BfS/HMGU/ LMU/UKF/IFZ)

AP5: „Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch“ (BfS/CUB/HMGU/LMU/ UKF/IFZ)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Arbeiten des UKF in AP3:

Prätherapeutisch asservierte Speichelproben und klinische Daten von 117 von Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurden identifiziert, aufbereitet und dem IFZ zur Zytokin-Analyse überstellt (Fragestellung: prädiktive Marker für Mukositis-Entwicklung?).

Nach logistisch und technischer Validierung wurden primär kryokonservierte oralen Keratinozyten prospektiv erfasster Patienten im Kopf-Hals-Tumoren zur Untersuchung für Analysen (1) von zeitabhängiger bestrahlungsinduzierte Genexpression, (2) Transkriptom, (3) Protein-profiling, (4) Zytokinshedding sowie (5) von Doppelstrangbrüchen aufbereitet und den Projektpartnern übermittelt.

Pandemie-bedingt musste Patientenkontakte und die Patientenrekrutierung erheblich eingeschränkt werden. So konnten ab 2020 auch nur vier neue Patienten in die Studie eingeschlossen werden; entsprechende Biomaterialien gewonnen, untersucht oder für gebündelte Analysen asserviert.

Bestrahlungspläne behandelter ZiSStrans-Patienten wurden aufgearbeitet und klinische Daten zur Analyse der Korrelation Normalgewebsreaktion zu Tumorkontrolle vorbereitet.

Arbeiten des UKF in AP4:

Daten zur Demographie, Therapie und Therapieeffekt bisher behandelter Patienten wurden erfasst, gegebenenfalls aktualisiert und entsprechende Biomaterialien für die Analyse asserviert oder vorbereitet.

Arbeiten des UKF in AP5:

Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch erfolgten im Berichtszeitraum (s. auch Bericht des Sprechers, Prof. Dr. Zitzelberger) angesichts der Pandemie ausschließlich telefonisch und im Rahmen von Videokonferenzen. Die Frequenz dieser virtuellen Treffen wurde auf erhöhtem Niveau belassen, um einen ausreichenden Austausch aufrecht zu erhalten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

FF-Biopsien/Resektate, Speichelproben, Serumproben und Mundschleimhautbiopsien werden entsprechend geltendem Hygienekonzepts protokollgemäß gesammelt, tiefgefroren gelagert und die klinischen Daten (Demographie, Tu-Charakteristika, Interventionsparameter und Mukositis-Assessments sowie Überlebens- und Tumorkontrolldaten) 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.

In-vitro-Radiosensitivitätsteste (spread-assay) der Mundschleimhaut-Keratinozyten der neu-rekrutierten Patienten werden durchgeführt. Überstände entsprechender spread-assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert.

In Zusammenarbeit mit dem BfS werden bisherige Daten-Korrelationen von spread-assay und γ H2AX/53BP1-foci validiert. Die Methodik zellulärer, in vitro-exkretorischer und Serum-exkretorischer Proteomveränderungen nach Strahlenexposition wird in enger Zusammenarbeit mit dem BfS verfeinert.

In Kollaboration mit dem HMGU werden Veränderungen des Transkriptoms nach Bestrahlung in vitro expandierter Keratinozyten nun vorwiegend mit Patientenproben durchgeführt.

Vorbereitend auf die angestrebte Korrelation von klinischen Befunden mit Daten der Proteom- und Transkriptom-Analysen werden erste Daten-Standardisierungen, -Bereinigungen und Test-Evaluationen durchgeführt.

Eine Datenbank zur Erfassung und Analyse sämtlicher Patientenproben, -befunde mit entsprechenden Ergebnissen wird gemeinsam mit Kollegen der CUB und des HGMU entwickelt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein methodisches Manuskript über den Spread Assay (Testung der bestrahlungsveränderten Proliferations- und die Migrationsfähigkeit von Mundschleimhaut-Keratinozyten) wird aktuell seitens der Ko-Autoren revidiert und soll im 1. Quartal 2021 zur Publikation eingereicht werden.

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 048A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
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: Recherche zum Vitalstatus, zu Todesursachen abgeschlossen; multikausale Codierung der Todesursachen abgeschlossen. Erste tabellarische Übersichten zum Vitalstatus/Lost to Follow up der Teilkohorten (Mainz/Ulm) wurden erstellt.
- AP2a: Fragebogensurvey abgeschlossen. SOPs zur Plausibilitätskontrolle und zu deskriptiven Analyse wurden erstellt. Validierungsstudie (Prüfung der selbstberichteten Angaben zum Gesundheitsstatus durch behandelnde Ärzte) wurde abgeschlossen und Daten eingegeben.
- AP2b: Übermittlung der ESKaRa-Kohortendaten an das Krebsregister Rheinland-Pfalz im Dezember 2020. Verzögerung des Record-Linkage durch die Corona-Pandemie.
Krebsregister Baden-Baden-Württemberg: eine detaillierte Güter- und Interessensabwägung unter besonderer Berücksichtigung datenschutzrechtlicher Aspekte wurde erstellt. Ein Votum des Vorsitzenden der „Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister“ (A. Katalinic) wurde eingeholt. Aktuell wird die „Güter- und Interessensabwägung“ vom zuständigen Beauftragten für den Datenschutz (des Landes Baden-Württemberg) geprüft. Krebsregister Bayern: Kooperationsbereitschaft liegt vor. Umsetzung jedoch nur, wenn sich das Krebsregister Baden-Württemberg zum Kohortenabgleich bereit erklärt.
- AP3: Datenaustausch mit Ulm ist abgeschlossen, es liegen etwas mehr als 400 Datensätze zur statistischen Auswertung vor.
Die Datenerhebung in Mainz ist abgeschlossen, es liegen 143 Datensätze für die Fall-Kontroll-Studie vor.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Süd ist abgeschlossen mit ca. 100 fertigen Datensätzen.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Heidenheim ist abgeschlossen mit ca. 20 fertigen Datensätzen.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Villingen-Schwenningen ist abgeschlossen mit ca. 20 fertigen Datensätzen.
- AP4: Zusammenführung der verschiedenen Datenquellen aus PASSOS und ESKaRa erfolgreich etabliert. Berücksichtigt werden bisher: Daten Mortalitätsstudie PASSOS, Daten Inzidenzstudie PASSOS (Fragebogenstudie), Daten Dosimetriestichprobe PASSOS, Dosis-Daten Dosimetriestichprobe ESKaRa Mainz/Ulm/ NWK, Status als Fall oder Kontrolle. Beginn der Dokumentation aller Variablen in einem Codebuch.
Die kombinierte PASSOS/ESKaRa-Dosimetriestichprobe umfasst ca. 1400 Patientinnen mit individueller Herzdosimetrie. Von den ca. 1500 auf Basis der PASSOS-Daten identifizierten Fälle und Kontrollen haben ca. 600 eine individuelle Herzdosimetrie.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2a: Plausibilitätsprüfung der Fragebogendaten und weiterführende deskriptive Analysen: Quartal I/II 2021.
- AP2b: Record Linkage mit Krebsregistern Rheinland-Pfalz, Baden-Württemberg, Bayern. Integration der Daten zu Zweittumoren in den ESKaRa-Datensatz.
- AP3: Korrektur einzelner Exporte aus Datensätzen mit individueller Herzdosimetrie.
- AP4: Abschluss der Konsolidierung und Zusammenführung aller Datensätze aus den epidemiologischen und dosimetrischen Teilstudien. Abschluss der Daten-Dokumentation. Erstellung des Statistical Analysis Plan.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Erarbeitung einer Liste relevanter Publikationsthemen. Beginn mit Manuskriptentwürfen in der zweiten Jahreshälfte 2021, also nach Abschluss der Datenanalyse
Initiierung des Dissertationsvorhabens „Impact of self-reported alterations in lifestyle factors and cardiac late effects in breast cancer patients“ mit geplanter Veröffentlichung der Ergebnisse

Zuwendungsempfänger: Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		Förderkennzeichen: 02 NUK 048B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 270.727,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wiegel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1+2: Der Vitalstatusabgleich/Adressabgleich über die Einwohnermeldeämter in Ulm und den 16 externen Zentren ist abgeschlossen (insgesamt ca. 8400 Patientinnen); bei „neu“ verstorbenen Patientinnen ist die individuelle Todesursachen-Recherche über die zuständigen Gesundheitsämter erfolgt. Anfragedatum am 27.05.2019 (1208 Patientinnen bei 70 Gesundheitsämtern). Nachdem die Unbedenklichkeitserklärungen von Bayern und Baden-Württemberg über Ministerien eingeholt wurden, haben 68 Gesundheitsämter unsere Anfrage beantwortet (1206 Patientinnen). Insgesamt sind

inzwischen 3885 Patientinnen verstorben, von 3775 Patientinnen liegt die Todesbescheinigung vor.

Der Versand der Patientenbefragungen zu Zweitmalignomen und kardialen Ereignissen, welche im Rahmen der Passos-Herzstudie einer erneuten Befragung zugestimmt hatten (Versand der Fragebögen am 05.06.2019 an 1868 Patienten) ist erfolgt. Im Oktober 2019 wurde nochmals an 546 Patientinnen ein Erinnerungsschreiben versendet. Insgesamt haben 1557 Patientinnen eine erneute Einwilligung erteilt und den Fragebogen ausgefüllt zurückgeschickt.

Zur Validierung der Patientinnen-Angaben zu Gesundheitsereignissen ist eine Validierung über den behandelnden Arzt erfolgt. Hierfür wurde eine 15 %-Stichprobenanalyse von Ulmer Patientinnen mit vorliegender Einwilligung zum Arztkontakt durchgeführt. Für die Analyse wurde eine Deskription der 10-Jahres-Altersklassen der in Frage kommenden Stichproben erstellt. Es wurden 54 Ärzte angeschrieben, um die Angaben für 68 Patientinnen zu validieren. Für 48 Patientinnen wurde das Formular von den Ärzten ausgefüllt zurückgeschickt, womit die geplante 10 %-Stichprobe für die Validierung erreicht werden konnte.

Die Patientenfragebögen, die Todesbescheinigungen und die Formulare der Arztanschriften wurden pseudonymisiert zur Dokumentation und Codierung an das IMBEI Mainz versendet.

Somit konnten bis Juni 2020 alle Arbeitspakete 1 und 2 abgeschlossen werden.

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-Herzatlant. Für insgesamt 416 Patienten Herz mit Teilstrukturen Myokard, linke/rechte Herzvorderwand, Aortenklappe, Pulmonalklappe, Reizleitungssystem, Lunge konturiert und Dosisvolumenhistogramme erstellt. Für insgesamt 416 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. Die anonymisierten Bilddatensätze, Bestrahlungsplandaten und Dokumentation wurden Datenschutz-konform von Ulm nach Mainz transferiert. Konturierungsanleitung für die Segmentierung der Lunge erstellt. Lunge Rechts/Links/Gesamt für 416 Patienten konturiert und dosimetriert.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1+2: Abgeschlossen.

AP3: 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 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 984.192,00 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

Durch die Covid-19 Pandemie konnten keine weiteren Bestrahlungsversuche mit Protonen oder Kohlenstoffionen am HIT durchgeführt werden. Es wurden jedoch noch einmal je drei Bestrahlungsversuche mit Röntgenstrahlung zum Zeitpunkt 20 d und 80 d nach Differenzierungsinduktion fertig gestellt, um weitere RNA und Proteinanalysen durchführen zu können. Darüber hinaus wurde an der Verbesserung des Protokolls zur Generierung von zerebralen Organoiden mit einem erhöhten Anteil an Gliazellen gearbeitet. Hier konnte aufbauend auf einer Veröffentlichung von R. M. Marton et al., *Nature Neuroscience*, 2019 mit geeigneten Modifikationen ein effizientes 3D-Modell mit einem hohen Anteil an GFAP-positiven Astrozyten und reiferen Neuronen als mit dem von M. A. Lancaster et al., *Nature Biotechnology*, 2017 verwendeten Protokoll erzielt werden. Auch wenn die Bildung von Myelinscheiden durch Oligodendrozyten noch nicht nachgewiesen werden konnte, erweist sich das nun verfügbare Protokoll als deutlich realistischer und für die in der Anschlussphase des Projekts geplante Generierung von Tumororganoiden besser geeignetes System, da gerade die Interaktion von Astrozyten des Normalgewebes mit Tumorzellen eine wichtige Komponente in der Tumorprogression und der Resistenz gegenüber Tumortherapien darstellt.

In Zusammenarbeit mit der TU Ilmenau konnten weitere Scaffolds mit Mikrofilamentstrukturen getestet werden, die eine verbesserte Reproduzierbarkeit der Herstellung von zerebralen Organoiden ermöglichen und darüber hinaus die Homogenität der 3D Aggregate verbessern.

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

4. Geplante Weiterarbeiten

Das inzwischen etablierte Modell der Generierung von zerebralen Organoiden mit erhöhtem Anteil an Gliazellen wird in Langzeitstudien (> 150 Tage) weiter auf die Bildung von Oligodendrozyten und Astrozyten untersucht. In diesen Organoiden werden darüber hinaus durch die Überexpression von Onkogenen und die Deletion von Tumorsuppressorgenen Tumore generiert und anschließend charakterisiert. Fortgeführt wird auch die Analyse von mit Röntgen- und Partikelstrahlung exponierten zerebralen Organoiden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Celine Schielke, Carola Hartel, Marco Durante, Sylvia Ritter, Insa S Schroeder: Solving the issue of ionizing radiation induced neurotoxicity - new state of the art cell models meet state of the art accelerator facilities, *Frontiers in Physics, Section Medical Physics and Imaging Front. Phys.*, 8: (2020), DOI: doi.org/10.3389/fphy.2020.568027

Kim Katrin Knorr, Praktikumsbericht "Molekulare Charakterisierung von neuronalen Stammzellen (NSCs) und Neurosphären (NS)", Hochschule Darmstadt, Biotechnologie (2020)

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 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 678.020,00 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 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

Trotz des sehr stark eingeschränkten Laborbetriebs während der Covid-19 Pandemie, konnten im zweiten Halbjahr 2020 die Arbeiten mit den Neurosphären fortgesetzt werden. Der Schwerpunkt lag hierbei auf der Analyse des Größenwachstums der Neurosphären, die einer Langzeitexposition mit unterschiedlichen Konzentrationen von Cisplatin (1-10 $\mu\text{g/ml}$) ausgesetzt wurden. Die Experimente wurden im Rahmen einer Bachelorarbeit zum Thema „Auswirkungen einer Radiochemotherapie auf die Bildung neuronaler Zellmodelle“ durchgeführt. Bei diesen Versuchen kam das im ersten Zwischenbericht 2020 erwähnte Protokoll zur Herstellung von Neurosphären mit einer homogenen Größe zum Einsatz. Die Ergebnisse zeigen, dass eine kontinuierliche Exposition der Neurosphären mit Cisplatin eine dosisabhängige Reduktion der Sphärengröße bewirkt. Da es sich bei Cisplatin um ein Zytostatikum handelt, das in der Chemotherapie zur Reduktion des Tumorstwachstums eingesetzt wird, entsprechen diese Ergebnisse den Erwartungen.

Ferner wurden die Algorithmen zur Datenanalyse neuronaler Signale weiterentwickelt und ihre Leistung in Hinblick auf eine optimale Signalanalyse mit neu publizierten Algorithmen aus der Literatur verglichen. 2019 wurde ein Algorithmus publiziert, der die Messung der Synchronität in Spike-trains ermöglicht (Sihn and Kim, *Front. Comput. Neurosci.* 13, 2019). Der Algorithmus basiert auf der „Earth Mover’s Distance“ (EMD) und besitzt – ebenso wie der in unserem Labor entwickelte Algorithmus Spike-contrast – den Vorteil, zeitskalen-unabhängig zu sein. Mit der kürzlich von uns publizierten Vergleichsmethode (Ciba et al., *Neural Computation*, 2020) konnten beide Algorithmen miteinander verglichen werden. Dabei zeigte sich, dass EMD eine schlechtere Robustheit gegenüber fehlerhaften Spike-train Signalen aufweist. Spike-contrast wird daher weiterhin als geeignetste Methode zur Analyse der Synchronität für Zellkulturexperimente angesehen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Der Schwerpunkt der Experimente im nächsten Halbjahr soll auf der funktionalen Analyse von Neurosphären liegen, die einer Langzeitexposition mit Cisplatin ausgesetzt und zusätzlich mit dem Antiepileptikum Levetiracetam behandelt wurden. Bei erfolgreicher Durchführung des Experimentes, sollen ferner Bestrahlungsexperimente in Kombination mit der Cisplatin/Levetiracetam Behandlung erfolgen.

Des Weiteren soll die Methode des Calcium-Imagings im BioMems Lab etabliert werden. Hierfür soll in ersten Versuchen der Farbstoff Fluo-4 eingesetzt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Julia Schuba: Auswirkungen einer Radiochemotherapie auf die Bildung neuronaler dreidimensionaler Zellmodelle, Bachelorarbeit, Hochschule Coburg/Technische Hochschule Aschaffenburg, 2020

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 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 3.335.237,00 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: Der zweite Detektor wurde erfolgreich getestet und in Betrieb genommen. Die Auswertungen zu den Probandenmessungen nach Radontherapie wurden finalisiert und für eine Publikation vorbereitet. Ein Maus-experiment zur akkuraten Bestimmung der Dosis durch aktive und passive Transportprozesse bei Radon-exposition konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die Untersuchungen des Einflusses der Aerosolgrößenverteilung auf die Lungendosis wurden im Zuge einer Doktorarbeit begonnen. Eine Publikation über die Wirkung und Risiko bei der Radontherapie wurde eingereicht und akzeptiert (mit AP4, 5 und 6). Für andere APs wurden Bestrahlungen an der Alphaquelle durchgeführt.
- AP3: Die Auswertung dizentrischer Chromosomen vor und nach der 1. Bäderserie (Proben 01 und 02 der RAD-ON02 Studie) wurden abgeschlossen. Es gab weder einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen noch zwischen den Proben vor und nach der 1. Bäderserie. Einzelne Patienten wiesen individuelle Besonderheiten wie eine hohe Aberrationsrate oder eine Häufung von multiaberranten Zellen („rogue cells“) auf. Weiterhin wurde die Differenzierungsfähigkeit von Bronchialepithelzellen von 2 jungen gesunden Spendern nach α -Strahlung untersucht. Die Zellen bildeten ein Bronchialepithel, jedoch war dessen Funktionalität (die mukoziliäre Reinigung) auf Grund der Bestrahlung beeinträchtigt; 0,5 Gy α -Strahlung waren so effektiv wie 2,0 Gy Röntgenstrahlung.
- AP4: Die antioxidativen Mechanismen und die intrazelluläre ROS-Bildung von Endothelzellen (EC) wurden unter laminaren (Flow Chamber, Schüttel-Assay) Bedingungen nach Röntgenstrahlung untersucht (mit AP6). Die ex vivo-Bestrahlung und Untersuchung des Endothels aus humanen Knie-Gewebeproben (mit Prof. Rehart, Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) wurde fortgesetzt. Außerdem wurden Genexpressionsanalysen von bestrahlten Adipozyten zur Validierung der Microarray Daten durchgeführt. In Blutproben von Patienten der RAD-ON02-Studie wurde vor und am Ende der ersten Therapieserie die ex vivo-Differenzierungsfähigkeit und resorptive Aktivität von Osteoklasten (OC) untersucht. Außerdem wurden die Blutproben von elf weiteren Patienten der IMMO-LDRT-Studie aufgearbeitet. Ein weiteres Experiment zum Immunstatus von radonexponierten KBxN-Mäusen wurde durchgeführt (mit AP1, 5, 6 und 7); die Proben werden zurzeit analysiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Das für die Probandenmessungen entwickelte dosimetrische Modell muss an die Messungen zur Dosisbestimmung durch aktive und passive Transportprozesse angepasst werden. Weiterhin sollen die Messungen zur Radonlöslichkeit und Diffusionsverhalten fortgeführt werden. Zur Untersuchung des Einflusses der Aerosolgrößenverteilung soll geeignete Messtechnik beschafft werden. Publikationen zur Löslichkeit, Bindung an Aktivkohle, Lungenmodell und Probandenmessungen werden vorbereitet, Bestrahlungsservice für andere APs ist eingeplant.
- AP3: Die Analyse dizentrischer Chromosomen in den Patienten der RAD-ON02 Studie wird fortgesetzt, insbesondere werden Proben vor und nach der 2. Bäderserie (Proben 05 und 06) ausgewertet. Für ausgewählte Patienten soll zusätzlich die Spontanrate von Chromosomenaberrationen (d. h. vor Beginn der Bäderserie) mittels mFISH bestimmt werden. Weiterhin soll untersucht werden, ob die Strahlenreaktion von Bronchialepithelzellen durch das Alter und das Rauchverhalten des Spenders beeinflusst wird. Den Schwerpunkt soll die Differenzierungsfähigkeit der Zellen bzw. die Funktionalität des Epithels bilden.
- AP4: Die Ergebnisse zu antioxidativen Mechanismen in Endothelzellen werden zusammengeführt (mit AP6). Der Aktivierungszustand des Endothels aus Knie-Gewebeproben wird ergänzend anhand der Cytokin-Freisetzung ermittelt. Nach pandemie-bedingten Verzögerungen wird die Etablierung des Live-Imaging von OC auf Knochen und der automatisierten Auswertung fortgesetzt. Ein Protokoll zur Isolierung von mRNA für eine Transkriptom-Analyse (mit R. Kriehuber, FJZ Jülich) von reifen, sehr lipidreichen Adipozyten wird etabliert. Die Korrelationsanalysen von Differenzierung und resorptiver Aktivität in OC aus Patientenblut werden mit weiteren Markern (TRAP, CTX) im Rahmen der beiden Studien fortgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Maier, A.; Wiedemann, J.; Rapp, F.; Papenfuß, F.; Rödel, F.; Hehlgans, S.; Gaipf, U.S.; Kraft, G.; Fournier, C.; Frey, B.: Radon Exposure-Therapeutic Effect and Cancer Risk. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 316. <https://doi.org/10.3390/ijms22010316>

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 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.046.137,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWIS α 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 mechanistische Studien zur beobachteten ineffizienten Reparatur nach niedrigen Strahlendosen fortgeführt. Vorangegangene Studien in kultivierten Fibroblasten zeigten, dass die ineffiziente Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach einer Bestrahlung mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlung durch Radikale stimuliert werden kann (Grudzinski et al., DOI: 10.1073/pnas.1002213107, Dissertation J. Mirsch). Unsere Experimente zeigten, dass die Reparatur-effizienz und die Aktivität von DNA-PK, der hauptverantwortlichen Kinase für die Reparatur, gleichermaßen durch Radikale (induziert durch eine H₂O₂-Behandlung) verbessert werden kann. Wir vermuten daher, dass die ineffiziente Reparatur mit einer verminderten Aktivität der DNA-PK zusammenhängt. Dabei könnte die Aktivität der DNA-PK durch andere Proteine gesteuert werden, die auf das Radikallevel in der Zelle reagieren können. Ein solcher Regulationsmechanismus ist z. B. bei den Peroxiredoxinen (PRDX) bekannt und wurde von Somayajit et al. (2017, DOI: 10.1126/science. aao3172) für den Replikationsapparat beschrieben. Um zu untersuchen, ob hier ein ähnlicher Mechanismus vorliegt, haben wir die Experimente in Gegenwart von Adenantin, einem Inhibitor für PRDX1/2, wiederholt. Diese Experimente zeigen, dass die Inhibition von PRDX analog zu einer H₂O₂-Behandlung zu einer verbesserten Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit 10 mGy führt und auch die DNA-PK aktiviert. Zur Verifizierung dieser Ergebnisse wurde die Transfektion der Zellen mit einer siRNA gegen PRDX2 etabliert. Dazu wurden zunächst verschiedene Methoden und Reagenzien zur Transfektion ausprobiert, jedoch ließen sich konfluente Zellen (wie sie bisher für die Experimente verwendet wurden) nicht transfizieren. Daher wurden wachsende Zellen auf ihre Eignung für die Niedrigdosis-Studien überprüft, die sich erfahrungsgemäß einfacher transfizieren lassen. Obwohl die Anzahl der spontan auftretenden DSBs in wachsenden Zellen etwas höher ist als in Zellen konfluenter Kulturen, konnte eine für unbehandelte Zellen ineffiziente Reparatur nach Bestrahlung mit 10 mGy nachgewiesen werden. Die Wiederholung weiterer Schlüsselexperimente bestätigte die bisher erhaltenen Ergebnisse. Darauf aufbauend wurde die Transfektion der siRNA gegen PRDX2 in wachsenden Zellen durchgeführt und analog zum PRDX-Inhibitor eine verbesserte Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit 10 mGy beobachtet. Weitere Experimente sollen dieses Ergebnis konsolidieren und die Art der Wechselwirkung zwischen der DNA-PK und PRDX2 näher charakterisieren.

Neben den mechanistischen Studien wurden zwei weitere umfangreiche Lebendzellmikroskopie-basierte Experimente durchgeführt. Die Experimente wurden so designt, dass innerhalb eines Experimentes die Analyse von klassisch fixierten Zellen zu 2 Zeitpunkten (1 h und 24 h nach Bestrahlung) und lebenden Zellen über einen Zeitraum von 24 h möglich ist. Die generierten Proben (fixierte Zellen) und Bilddaten aus der Lebendzellmikroskopie werden nun sukzessive ausgewertet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die mechanistischen Studien zum Zusammenhang zwischen der Aktivierung von DNA-PK und der Reparatureffizienz bzw. der Interaktion von DNA-PK und PRDX2 werden fortgesetzt. Um den Mechanismus zu charakterisieren, werden wir neben den molekular-biologischen auch biochemische Techniken etablieren und einsetzen. Darüber hinaus werden wir durchgeführte Experimente zur Lebendzellmikroskopie auswerten, ggfs. die Aufnahmebedingungen optimieren und wichtige Experimente aus den mechanistischen Studien wiederholen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Mai 2020 wurde die Biodosimetrie in Mäusen nach Radonexposition vom Red Journal zur Veröffentlichung angenommen: Mirsch J. et al.: *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020 Nov 1;108(3):770-778

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 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 657.792,00 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

Die Daten über den kausalen Zusammenhang zwischen Bestrahlung und Immunaktivierung in T-Zellen wurde in einer Publikation zusammengefasst (siehe unten). Die Arbeit ist in Begutachtung. Die Arbeit belegt recht lückenlos wie schon niedrig dosierte Röntgenstrahlung in T-Zellen eine Ca^{2+} -Signalkaskade aktiviert, die dazu führt, dass der *Nuclear Factor of Activated T-cells* (NF-AT) vom Cytosol in den Zellkern transferiert wird. Dort stimuliert dieser Transkriptionsfaktor die Aktivierung von typischen Genen der Immunaktivierung. Über die in dem Manuskript erwähnten Studien wurden weitere Untersuchungen mit genetisch kodierten Sensorproteinen durchgeführt, die zeigen, dass ionisierende Bestrahlung in einer Subpopulation von ca. 50 % der T-Zellen einen Anstieg an Sauerstoffradikalen (ROS) hervorruft. Diese strahleninduzierte Zunahme an ROS ist zuerst in den Mitochondrien messbar bevor sie im Cytosol sichtbar wird. Die Daten weisen damit auf eine strahleninduzierte Signalkette hin, bei der die Produktion von Radikalen die Synthese von weiteren Radikalen induziert. Im zweiten Arbeitsprogramm wurden nochmals mittels Western Blot die Gehirne von Radon behandelten arthritischen Mäusen untersucht und es konnte bestätigt werden, dass die Menge an phosphorylierten NMDA2B-Rezeptoren und des Transkriptionsfaktors cfos nach Radon Behandlung vermindert ist.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den laufenden Arbeiten werden Experimente durchgeführt, in denen die Hypothese der ROS-induzierten ROS Bildung weiter untersucht wird und aus denen der Zusammenhang zwischen ROS Signalen und Ca^{2+} -Signalen besser verstanden werden soll. Komplementär zu den Arbeiten zum Ca^{2+} -Signaling werden elektrophysiologische Messungen durchgeführt, aus denen die Strahleninduzierte Aktivierung der CRAC-Kanäle ersichtlich wird. Die Stelle für das zweite Arbeitspaket (Ersatz für Juliane Joswig) soll ab dem 01.02.2021 mit Herrn Bastian Roth besetzt werden. In den geplanten Arbeiten sollen die Effekte von äquivalenten Dosen Röntgenstrahlung in einem neuronalen Netzwerk (in vitro) mithilfe des Multi Electrode Arrays und post-synaptische Hirn-Fraktionen auch aus dem Rückenmark von Radon behandelten Tieren untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Tandl, D., Sponagel, T., Fuck, S., Smit, T., Hehlgans, S., Jakob, B., Fournier, C., Rödel, F., Roth, B., Moroni, A., Thiel, G.: X-ray irradiation activates immune response in human T-lymphocytes via store-operated Ca^{2+} entry and NFAT activation (J. Gen. Physiol. in Begutachtung.)

Tandl, D.: (2020) X-ray irradiation triggers via ROS production a canonical Ca^{2+} -dependent immune response in T-lymphocytes. Dissertation TU Darmstadt

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 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 710.793,00 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

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen dem antioxidativen System von Immunzellen und einer verringerten Immunantwort in Patienten mit benignen Erkrankung nach Niedrigdosisbestrahlung wurden im Berichtszeitraum erneut *in vivo* Untersuchungen nach Radonexposition und außerdem nach lokaler X-ray Bestrahlung in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern in Erlangen (AP5) und Darmstadt (AP1, AP4) durchgeführt. Bei den mit Radon in Darmstadt bestrahlten Tieren handelte es sich um ein Serumtransfer-Mausmodell, bei denen 5 Tiere mit Radon exponiert wurden (440 kBq/m^3), während 5 unbehandelte Tiere als Kontrolle dienten. Von allen Tieren wurden 7 d nach Bestrahlung Blutproben entnommen und für die RNA/miRNA-Isolation in RNAlater stabilisiert und bei -80 °C in Frankfurt gelagert. Zudem wurden in Erlangen Blutproben von sechs mit X-ray lokal bestrahlten TNF α -transgenen Tieren und sechs Kontrolltieren 7 d bzw. 14 d nach Bestrahlung durch Frau Dr. DeLoch entnommen und für die RNA/miRNA-Präparation in Frankfurt in RNAlater asserviert. Zunächst wurde die miRNA-Isolation anhand von Test-Blutproben, die analog zu den Maus-Blutproben in RNAlater gelagert waren, mit Hilfe eines alternativen Firmenprotokolls des Kit-Herstellers etabliert. Nach Validierung der Test-Isolation wird die RNA/miRNA der gesammelten Mausproben im nächsten Berichtszeitraum präpariert und die Expression verschiedener antioxidativer Faktoren mittels Real-Time PCR getestet und mit den zuvor untersuchten Proben verglichen werden.

Weitere Untersuchungen zur zeitabhängigen Regulation reaktiver Oxygenspezies (ROS) in primären humanen mikrovaskulären Endothelzellen (HMVEC) unter statischen und physiologischeren dynamischen Bedingungen wurden in Kooperation mit AP4 in Darmstadt durchgeführt. Dabei wurden sowohl intrazelluläre ROS-Mengen als auch die mRNA-Expression antioxidativer Faktoren zu verschiedenen Zeitpunkten nach X-ray Bestrahlung mit niedrigen Dosen zwischen 0 und 1 Gy untersucht. Hierbei zeigte sich eine Zeit-, Dosis- und Kultivierungs-abhängige Regulation der untersuchten Faktoren, die bei den Zeitpunkten 3, 6 und 24 h eine nichtlineare Dosisabhängigkeit aufwies.

Im Berichtszeitraum erfolgte zudem die RNA/miRNA Isolation aus Blutproben der Zeitpunkte 3, 4 und 5 (311 Proben) von Patienten, die im Rahmen der RAD-ON02 Studien vom Projektpartner in Erlangen (AP5) gesammelt wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Berichtszeitraum werden weitere Daten zur *in vivo* Regulation der Expression antioxidativer Faktoren gesammelt und die RNA/miRNA Datenbank der RAD-ON02 Studie durch Aufarbeitung der Blutproben der Entnahmezeitpunkte 6, 7 und 8 vervollständigt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Maier A., Wiedemann J., Rapp F., Papenfuß F., Rödel F., Hehlhans S., Gaipl U.S., Kraft G., Fournier C., Frey B.: Radon Exposure-Therapeutic Effect and Cancer Risk. *Int J Mol Sci.* 2020;22:316

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 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.292.552,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Gaipl	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Verbundes knüpft an die Notwendigkeit der Aufklärung biologischer Mechanismen im Niedrigdosis-Bereich an. Der Schwerpunkt wird auf die Wirkung von Radon gelegt, dessen radioaktiver Zerfall und Inkorporation durch den Menschen etwa 30 % der mittleren Strahlenbelastung pro Jahr ausmacht. Andererseits wird eine hohe Zahl an Patienten, die unter chronischen, degenerativen, entzündlichen und schmerzhaften Erkrankungen leiden, in dafür ausgewiesenen Heilbädern mit Radon therapiert. Die Arbeiten des Verbundprojektes sollen dazu beitragen, Risiken und Nutzen einer Radon-Exposition auf wissenschaftlicher Basis besser abwägen zu können. Dazu wurden im vorangegangenen Projekt GREWIS die notwendigen Instrumente und Methoden etabliert bzw. eine entsprechende Infrastruktur (Radonkammer, Patientenstudien, Tier-Modelle) geschaffen und validiert, die nun in GREWISalpha fokussiert eingesetzt werden kann.

Im Hinblick auf die klinische Nutzung von Radon-Exposition sollen im Teilprojekt E basierend auf den aussagekräftigen Vordaten, Immunmatrices identifiziert werden. Diese könnten als Immunbiomarker von Strahlungsexpositionen dienen. Es wird die RAD-ON02-Folgestudie, welche eine temporäre Placebo-Gruppe beinhaltet (*cross-over-design*), durchgeführt werden, um die durch Radonexposition hervorgerufenen osteoimmunologischen Veränderungen klar definieren zu können. Ergänzend zur Immunphänotypisierung sollen zusätzlich auch Zytokine, Chemokine und erweiterte Gefahrensignale im Blut erfasst werden. Schließlich sollen die Immunbiomarker der Niedrigdosis-Exposition von Radon denen für Photonen (IMMO-LDRT-01-Studie) gegenübergestellt werden.

In den Maus-Modellen soll der Fokus verstärkt auf die lokalen und systemischen osteoimmunologischen Veränderungen durch Strahlungsexposition sowie auf das Zell-Mikromilieu im Knochen und am entzündeten Knorpel gelegt werden. Ein weiteres Entzündungsmodell wird hierfür etabliert und genutzt, welches auch schnellere Analysen in höherer Anzahl zulässt. Mit diesen K/BxN (respektive KRN) Mäusen kann der Einfluss von Strahlung auf die mannigfaltigen Interaktionen von Immunzellen mit Osteoblasten, Osteoklasten sowie Fibroblasten-ähnlichen Synoviozyten sehr gut auf molekularer und zellulärer Ebene untersucht und Mechanismen der Strahlungswirkung aufgeklärt werden. Ausgewählte Experimente sollen ebenfalls weiter im hTNF- α -tg Mausmodell durchgeführt werden. Ein Augenmerk soll hierbei insbesondere auf den Einfluss des basalen Entzündungsstatus auf die strahlungsinduzierten osteoimmunologischen Veränderungen gelegt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeitshypothese ist, dass Radonexposition die Populationen und Funktionen von Immunzellen und Zellen des Knochenstoffwechsels moduliert und somit zur Abmilderung von Entzündung beiträgt.

Im Speziellen wird der spezifische Immunstatus von Patienten vor, während und nach Strahlungsexposition im Rahmen der RAD-ON02- und der IMMO-LDRT-01-Studie bestimmt sowie das weitere Mikromilieu im Serum analysiert. Es sollen Immunbiomarker und Immunmatrices der Strahlungsexposition auch im Vergleich zur lokalen Hochdosisbestrahlung definiert werden. Mechanistisch werden osteoimmunologische Untersuchungen zur Wirkung von Radon auf Entzündung und Knochenmetabolismus in den K/BxN und hTNF- α -tg Mausmodellen sowie in *ex vivo* Zellkultursystemen durchgeführt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der IMMO-LDRT01 Studie ist die geplante Patientenzahl von 150 mit 145 eingeschlossenen Patienten fast erreicht. Die Daten zur Immunphänotypisierung, den Multiplex ELISA Analysen und die gesammelten klinischen Parameter (Patientenfragebögen) der Patienten werden derzeit statistisch ausgewertet, um Korrelationen zwischen dem Ansprechen und den biologischen Daten aufzudecken. Für die künftig geplante Placebo-kontrollierte LDRT Studie wurde ein Studiendesign erarbeitet. Derzeit wird der zugehörige Ethikantrag finalisiert. Die Daten zur Immunphänotypisierung der RAD-ON02 Studie sind komplett analysiert. Zusammen mit den erhobenen Multiplex ELISA Daten und den klinischen Daten (Patientenfragebögen) können nun statistische Analysen durchgeführt werden. Die erhobenen Daten dürfen im Q1/2021 entblindet werden. Die optimierte Immunphänotypisierung konnte erfolgreich zur Definition einer „liquid immune profile-based signature (LIPS)“ verwendet werden, um mit immunologischen Parametern das Ansprechen von metastasierten Patienten auf Immuntherapien voraussagen zu können (zur Publikation akzeptiert im *J Immunother Cancer*). Ein analoges Vorgehen ist nun für die Niedrig-Dosis-Studien geplant. Im Rahmen einer medizinischen Doktorarbeit wird die Immunphänotypisierung um die Analyse zweier weiterer Immunzellsubpopulationen (MDSCs, TEMRAs) aktuell ergänzt. Die Charakterisierung humaner Osteoklasten zeigt bislang eine reduzierte Differenzierung der Zellen nach LDRT. Die medizinische Doktorarbeit zur Genexpressionsanalyse wird fortgeführt, verzögerte sich allerdings wegen Corona-bedingter Lieferschwierigkeiten von PCR-Materialien. Es konnte zudem ein Assay zur Analyse des Metabolismus der Osteoklasten erfolgreich etabliert werden. In einem Review Paper wurde der aktuelle Stand der Forschung zum Einfluss von Strahlung auf Knochen/Osteoklasten und Osteoblasten zusammengefasst. Ein weiterer Versuch in der Radonkammer mit Serumtransfermäusen wurde zusammen mit AP1, AP4, AP6 und AP7.2 durchgeführt, um die Daten zu immunologischen Effekten von Radon im Blut und Knochenmark der Tiere zu vervollständigen. In diesem Rahmen wurden auch Etablierungsversuche mit eingefrorenem Knochenmark, aus dem Monozyten und Makrophagen isoliert und differenziert wurden, durchgeführt. Diese dienen als Grundlage für anschließende (Q1/2021) *in vitro* Versuche in der Radonkammer. Die medizinischen Doktorarbeiten zur Analyse der longitudinalen Untersuchungen in hTNF- α tg Tieren sowie die Arbeit zum Einfluss von LDRT auf den Phänotyp von Synovialfibroblasten wurden abgeschlossen und werden im Q1/2021 als Dissertation eingereicht. Eine Publikation zum Einfluss von LDRT auf den Phänotyp von Synovialfibroblasten wird vorbereitet. Im Makrophagenprojekt wurden die praktischen Arbeiten, welche die geschlechts- sowie entzündungsstatusspezifischen Effekte niedriger Strahlendosen auf den Phänotyp sowie die Aktivität von Makrophagen untersuchen, abgeschlossen. Im Teilprojekt, welches sich spezifisch mit den Genexpressionsanalysen der Makrophagen beschäftigt, wurde bereits mit dem Schreiben der Dissertationsschrift begonnen. Im Teil welcher sich mit den funktionellen Aspekten beschäftigt, wurden die Experimente abgeschlossen und mit der finalen Auswertung der Daten sowie dem Schreiben der Dissertationsschrift begonnen. Aufstockungsversuche, die eine Publikation des Projekts ermöglichen sollen, werden zurzeit durchgeführt. Die medizinische Doktorarbeit, welche sich mit dem Einfluss von niedrig dosierter Strahlung auf Chondrozyten beschäftigt, wurde nach Corona-bedingten Erschwernissen wiederaufgenommen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Bei der IMMO-LDRT01 sowie der RAD-ON02 Studie werden die statistischen Auswertungen des Datenpools vorangetrieben. Die zahnmedizinischen Doktorarbeiten im Rahmen dieser Studien sollen finalisiert werden. Der Antrag für die zünftige Placebo-kontrollierte LDRT Studie soll finalisiert und bei der zuständigen Ethikkommission eingereicht werden. Die medizinische Doktorarbeit zur Weiterentwicklung der Immunphänotypisierung wird fortgeführt. In den nächsten Schritten sollen die entwickelten Assays im Labor mit Patientenblut validiert werden. Die Analysen zu den humanen Osteoklasten werden fortgeführt. Sobald die Covid-bedingten Lieferengpässe bei den PCR-Materialien behoben sind, können die Genexpressionsanalysen fortgeführt werden. In der Zwischenzeit können jedoch die Analysen zur Knochenresorption und zum Metabolismus vorangetrieben werden. Da die *in vivo* Versuche zum Serumtransfermodell in der Radonkammer abgeschlossen wurden, soll nun in einem *in vitro* Experiment erste Untersuchungen zu den Mechanismen durchgeführt werden. Ein dreiwöchiger Aufenthalt an der GSI, in dessen Rahmen die Versuche zusammen mit AP1 und AP4 durchgeführt werden sollen, wird im Q1/2021 stattfinden. Auch AP6 soll Proben aus den Versuchen erhalten. Zusätzlich werden Etablierungsversuche mit Makrophagen an der Alpha-Quelle der GSI durchgeführt. Die Publikation zu den Daten der medizinischen Doktorarbeiten sollen vorbereitet werden und der praktische Teil der medizinischen Doktorarbeit zum Einfluss von niedrig dosierter Strahlung auf Chondrozyten soll fertig gestellt werden. Anfang 2021 wird mit dem Schreiben des neuen Tierversuchsantrages begonnen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

(1) Donaubaue A et al., *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 14;21(16):5854; (2) Donaubaue A et al., *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 2;21(17):6377; (3) Zhou JG, Donaubaue A et al., *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 2021;0:e001845. doi:10.1136/jitc-2020-001845; (4) Maier A et al., *Int J Mol Sci* . 2020 Dec 30;22(1):316

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 054A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 935.813,00 EUR	Projektleiter: Dr. Jakob	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gegenstand dieses Verbundprojektes ist ein besseres Verständnis des Zusammenspiels von Strahlenqualität (unter besonderer Berücksichtigung dichtungisierender Teilchenstrahlung) und DNA-Reparatur im Chromatinkontext in Abhängigkeit spezifischer Tumorzelleigenschaften um diese Tumorzellen durch gezielte Inhibition für die in der Radiotherapie eingesetzte ionisierende Strahlung zu sensibilisieren, Normalgewebszellen aber nach Möglichkeit unbeeinflusst zu lassen. Um dieses Ziel zu erreichen werden in Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Prof. Dr. M. Löbrich (TU Darmstadt) und Prof. Dr. G. Iliakis (Universität Duisburg-Essen) verschiedene Schwerpunkte bearbeitet und die übergeordnete Fragestellung dieser potentiell sensibilisierenden Tumorzelleigenschaften aus unterschiedlichen Blickwinkeln (Chromatinstruktur, Reparaturwege, Energiemetabolismus) angegangen. Ein fundiertes mechanistisches und molekulares Verständnis ist eine unverzichtbare Grundlage für einen auf wissenschaftlicher Erkenntnis basierenden kombinatorischen Therapieansatz. Neben den wissenschaftlichen Forschungszielen ist auch der Kompetenzerhalt in der Strahlenforschung ein wichtiger Aspekt des Verbundprojektes, dem durch die Ausbildung von wissenschaftlichem Nachwuchs Rechnung getragen wird. Dazu zählen die Einbindung und Ausbildung von Doktoranden ebenso wie die Rekrutierung oder Weiterbeschäftigung talentierter Nachwuchswissenschaftler (Postdoktoranden). Neben der Forschungsarbeit erlaubt das Verbundprojekt dem Nachwuchs durch den regelmäßigen Austausch eine erleichterte Heranführung an die Strahlenforschung beziehungsweise eine Vertiefung vorhandener Kenntnisse sowie eine Vernetzung auf nationaler Ebene.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (GSI): Eine der seit langem identifizierten Änderung vieler Tumore ist ihre ausgeprägte Fähigkeit auch unter aeroben Bedingungen Glykolyse zu betreiben und so ihre Energie und Stoffwechselprodukte für eine schnelle Proliferation zu gewinnen und eine dem Tumorwachstum förderliche Umgebung zu schaffen. Ziel in diesem Arbeitspaket ist es den tumor-spezifischen Energiestoffwechsel zu hemmen der normalerweise auch die notwendige Energie bereitstellt um die Reparatur von DNA-Schäden zu gewährleisten, zudem die Reparatur durch eine offene Chromatinstruktur begünstigt und ein reduktives Milieu schafft und so zur Strahlenresistenz beiträgt. Untersucht werden soll, wie sich die Hemmung der Glykolyse auf den Energiehaushalt, die Chromatinstruktur sowie die Wahl der Reparaturwege nach einer Bestrahlung auswirkt und wie dadurch das Überleben der Zellen beeinflusst wird. Zusätzlich soll auch der Einfluss einer Bestrahlung auf das Redoxpotential und die Generierung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) analysiert werden, da Tumorzellen oft schon ein erhöhtes oxidatives Stresslevel aufweisen, welches durch die Inhibition der aeroben Glykolyse weiter gesteigert und somit zum Zelltod beitragen könnte. Ein besonderes Augenmerk wird im Rahmen des AP1 auf den Einfluss der Strahlenqualität und der, damit einhergehenden, größeren Schadenskomplexität durch die vergleichende Verwendung dicht ionisierender Teilchenstrahlung gelegt werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde die Analyse der in unserem Institut vorhandenen Tumor- und Normalgewebszelllinien abgeschlossen und Kandidaten für unser Modellsystem identifiziert. Der zelluläre Metabolismus wurde mit Hilfe des Seahorse-Analysers bestimmt während der p53-Proteinstatus der Zellen mittels Proteinextrakten getestet wurde, die auf die An-/Abwesenheit des Zielproteins durch Western Blots untersucht wurden. Bei den ausgewählten Kandidaten-Zelllinien handelt es sich um eine Normalgewebszelllinie sowie mehrere Tumorzelllinien, von denen sich letztere in ihrem Metabolismus bzw. tumor-spezifischen p53 Proteinstatus unterscheiden.

Des Weiteren wurde der Metabolismus der oxidativen und glykolytischen Zelllinien auf seine Stabilität unter verschiedenen Kulturbedingungen getestet. Dazu wurden die Zelllinien in zuckerhaltigen- oder zuckerarmen Medien kultiviert und die Stabilität des Stoffwechsels mit Hilfe des Seahorse-Analysers gemessen. Der Stoffwechsel der meisten Zelllinien bleibt unter verschiedenen Kulturbedingungen stabil, nur bei einer Tumorzelllinie scheint sich der Metabolismus dem Zuckerangebot anzupassen.

In Vorbereitung auf die Strahlenexperimente mit Schwerionen wurden die Zelllinien mit dem Glykolyse-Inhibitor 2-Deoxy-D-Glucose inhibiert und getestet, ob diese Behandlung die Zelllinien gegenüber Röntgenstrahlung sensibilisiert. Dies ist bei zwei Tumorzelllinien der Fall, die Auswertung einer dritten Tumorzelllinie wird aufgrund deren variablen Stoffwechsels (siehe oben) noch unter verschiedenen Kulturbedingungen getestet.

Weitere Methoden zur Messung der Chromatindichte und des Redoxzustandes bzw. der ROS Produktion sind als Bachelor-Projekte angelaufen.

Das geplante Verchromt II Kick-off Meeting fand aufgrund der Einschränkungen durch Covid-19 im September virtuell statt. Alle Teilnehmer des Projekts konnten sich und ihre Forschungsschwerpunkte kennenlernen und die laufenden Projekte diskutieren. Auch der gemeinschaftliche Strahlzeitenantrag (Teilchenstrahlung an den Beschleunigern der GSI) beim GSI-BIO-PAC (Program Advisory Committee) und die Planung der Strahlenexperimente wurde besprochen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Für die geplanten Weiterarbeiten wird für die Kandidaten-Zelllinien eine Kulturbedingung festgelegt, unter der alle genutzten Zelllinien einen stabilen Metabolismus aufzeigen.

Weitere Inhibitoren, die zusätzlich das Redoxpotential der Zellen verringern sollen, werden getestet um diese mit der Inhibition der Glykolyse kombinieren zu können.

Die Kombination von zwei Inhibitoren und Röntgenstrahlen sollen zeigen, ob die Zellen dadurch weiter für die Strahlenbehandlung sensibilisiert werden können.

In der im Mai stattfindenden Strahlzeit sollen in Abstimmung mit den Kollaborationspartnern Überlebensexperimente mit dem Glykolyse-Inhibitor 2-Deoxy-D-Glucose und Kohlenstoff-Ionen durchgeführt werden um zu untersuchen, ob eine größere Sensibilisierung durch die Schwerionenbestrahlung – im Vergleich zur Röntgenstrahlung – erreicht werden kann.

Die Analyse soll auch die Messung von DNA-Reparaturkinetiken umfassen, die anhand des Schadensproteins γ -H2AX Assay und der Rekrutierung weiterer Reparaturfaktoren Rückschlüsse erlauben sollen, ob die Inhibition der Glykolyse zu einer verlangsamten oder komplett fehlenden DNA-Reparatur führt und ob bestimmte Reparaturwege im Besonderen betroffen sind.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 054B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 913.833,01 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorarbeiten in unserem Labor konnten zeigen, dass globale Manipulationen der Chromatinstruktur, z. B. hervorgerufen durch Tonizitätsveränderungen, erheblich die Doppelstrangbruch (DSB)-Reparatur durch Homologe Rekombinationsreparatur (HRR) verschlechtern und gleichzeitig Single Strand Annealing (SSA) deutlich verbessern. Da dieser Eingriff in die Chromatinstruktur jedoch von begrenzter physiologischer Relevanz ist, werden in diesem Projekt die Rollen zweier Schlüsselkomponenten der Chromatinorganisation untersucht: CTCF und Cohesin, die für die globale Organisation des Chromatins essentiell sind und zudem eine noch nicht aufgeklärte Rolle in der HRR spielen. Da die topologische Organisation des Chromatins u. a. die Reaktion auf DSBs sowie die Wahrscheinlichkeit und Beschaffenheit von Verarbeitungsfehlern (z. B. Translokationen), die zur Karzinogenese führen können, bestimmt, werden wir die Rollen von CTCF und Cohesin auf die Gesamtantwort auf DSBs untersuchen. Hierbei liegt ein besonderer Fokus auf der Analyse der Verarbeitung von DSBs unterschiedlicher Komplexität, die durch Teilchenbestrahlung bei der GSI, aber auch enzymatisch lokal induziert werden kann.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Etablierung des Knockdowns von CTCF und Cohesin mithilfe der RNA Interferenz in normalen humanen Fibroblasten und Epithelzellen sowie in humanen Tumorzellen. Außerdem Einarbeitung in CRISPR/Cas9 Technologie für Knockout Experimente von CTCF in A549 Zellen.
- Untersuchung der Rolle von CTCF und Cohesin auf verschiedene DSB Reparaturwege mithilfe von U2OS Reporter Assay Zelllinien sowie tiefergehende Analyse hinsichtlich der HRR mittels Rad51 Foci Analyse in der S/G2-Phase des Zellzyklus mithilfe konfokaler Mikroskopie.
- Untersuchung der Rolle von PAR in der Rekrutierung von CTCF und Cohesin an DNA Schäden. Hier sollen verschiedene PARP1 Inhibitoren sowie PARP1^{-/-} A549 Zellen genutzt werden (in Zusammenarbeit mit AP2).
- Analyse des Einflusses von CTCF und Cohesin auf DSB Reparatur durch klassische Nicht-Homologe Endverknüpfung (cNHEJ) nach hoher Strahlendosis (5 – 40 Gy) mittels PFGE sowie im Niedrigdosisbereich durch die Auswertung von γ H2AX Foci mittels konfokaler Mikroskopie. Fokus liegt hier auch auf der γ H2AX Fokusgröße (in Zusammenarbeit mit AP1). Zusätzlich sollen DNA-PK Inhibitoren eingesetzt werden, um die Funktion der alternativen Endverknüpfung (altEJ) ebenfalls zu untersuchen.
- Untersuchung der Rolle von CTCF und Cohesin auf die ATM und ATR Signalwege und die G2-Kontrollpunktaktivierung. Hier soll zwischen Zellen, die in der S- bzw. G2-Phase bestrahlt wurden, unterschieden werden. Zusätzlich soll der S-Phase Kontrollpunkt mithilfe der Inkorporation von radioaktiv markiertem Thymidin analysiert werden.

- Mittels klassischer Zytogenetik soll die Bildung von Chromosomenaberrationen in normalen humanen Fibroblasten und RPE-1 hTert Zellen untersucht werden, in denen CTCF bzw. Cohesin herunterreguliert wurde. Fokus liegt hier auf der G1- bzw. G2-Phase.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im weiteren Verlauf des Projekts konnte eine siRNA vermittelte Herunterregulierung (Knockdown) von CTCF neben den U2OS Zellen auch in humanen Epithelzellen (RPE-1 hTert) erfolgreich etabliert werden. Da zuvor in U2OS Reporter Assay Zelllinien ein Effekt des CTCF-Knockdowns auf die resektionsabhängigen DSB Reparaturwege gefunden wurde, wurde die Resektionsaktivität in G2-Phase RPE-1 hTert Zellen nach CTCF Knockdown und Bestrahlung untersucht. Dafür wurde eine kombinierte EdU-RPA70-Färbung angewendet und mithilfe der Durchflusszytometrie konnten Veränderungen in der Resektionsaktivität festgestellt werden. So zeigen RPE-1 hTert Zellen ohne CTCF bereits ohne Bestrahlung ein höheres Level an RPA70 Signalintensität. Wird aber die Resektionsaktivität, die durch die Bestrahlung hervorgerufen wird, in Epithelzellen mit und ohne CTCF verglichen, wird deutlich, dass weniger Resektion nach einem CTCF Knockdown und zusätzlicher DSB-Induktion stattfindet. Wie sich dieser Effekt auf die resektionsabhängigen DSB Reparaturwege im Einzelnen auswirkt, soll in weiteren Experimenten eruiert werden.

Im Zuge der Revision der angestrebten Veröffentlichung (s. 5.) wurden einige, von den Gutachtern geforderten Experimente durchgeführt. Unter anderem werden zurzeit zwei Methoden zur Feststellung von Änderungen im Chromatin-Kondensationsstatus etabliert. Hierfür werden Assays entwickelt, die zum einen die Micrococcus-Nuklease (MNase) nutzen, die weniger stark kondensiertes Chromatin effektiver zerschneidet, was mit anschließender Agarose-Gelelektrophorese analysiert werden kann und zum anderen wird die Tn5 Transposase (Illumina) verwendet, die kurze Transposons bevorzugt in offene Chromatinbereiche einbaut, was mit anschließender qPCR quantifiziert wird. Eine erfolgreiche Etablierung dieser Methoden soll ebenfalls für Untersuchungen von Veränderungen im Chromatinstatus nach CTCF und Cohesin Knockdown eingesetzt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Um eventuelle Unterschiede zwischen Zelltypen ausfindig zu machen, soll die siRNA vermittelte Herunterregulierung von CTCF sowie von Cohesin auch in humanen Fibroblasten (82-6 hTert) und humanen Tumorzellen (A549) etabliert werden.
- Der Einfluss des CTCF Knockdowns auf die Resektionsaktivität soll weiter erforscht werden. Um ebenso den Einfluss vor allem auf die HRR zu untersuchen, sollen Rad51 Foci sowie RPA70 Foci in Zellen nach CTCF Knockdown und Bestrahlung durch konfokale Mikroskopie untersucht werden. Zusätzlich wird hier ebenso die Bildung von γ H2AX und 53BP1 Foci untersucht.
- Außerdem soll der Einfluss der Herunterregulierung von CTCF und Cohesin auf die Bildung von Chromosomenaberrationen (z. B. Translokation) mithilfe der klassischen Zytogenetik in humanen Epithelzellen, Fibroblasten und Tumorzellen bestimmt werden. Hier soll zunächst der Fokus auf Zellen in der G2-Phase des Zellzyklus gelegt werden, da in dieser Phase alle Reparaturwege aktiv sein können.
- Die oben beschriebenen Experimente sollen ebenfalls nach Bestrahlung mit Schwerionen, die an der GSI Darmstadt erfolgen soll, durchgeführt werden. So sollen eventuelle Unterschiede in der DSB Reparatur sowie im DNA Damage Response Signaling in Abhängigkeit der Strahlenmodalitäten aufgedeckt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Krieger L.M., Mladenov E., Soni A., Demond M., Iliakis G.: Global chromatin decondensation disrupts DDR signaling and shifts DSB repair to single strand annealing. DNA Repair (Amst). 2020 – under revision

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 054C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 804.799,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Schwerpunkt des geförderten Projekts liegt auf der Charakterisierung der beiden Faktoren Rad52 und ATRX, welche Ansatzpunkte für eine individualisierte Strahlentherapie darstellen können. Ziel ist es dabei, die Funktion von Rad52 und ATRX während der Homologen Rekombination (HR) in Normalgewebs- und Tumorzellen aufzuklären, somit einen wichtigen grundlagenwissenschaftlichen Beitrag zum Verständnis der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) im Kontext von Chromatin zu leisten und letztendlich zu einer klinischen Anwendung dieser Erkenntnis beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Bisherige Studien konnten zeigen, dass BRCA2-defiziente Tumorzellen durch einen Verlust von Rad52 effektiv abgetötet werden. Eigene Vorarbeiten gaben Hinweise darauf, dass dies auf die Nutzung eines fehlerbehafteten Reparaturwegs (Alt-NHEJ) zurückzuführen ist, der zur Ausbildung toxischer chromosomaler Veränderungen führt. Dieser Prozess, welcher durch die Polymerase Pol θ vermittelt wird, scheint von Rad52 unterdrückt zu werden.

Im ersten Teil des Teilprojekts soll diese Hypothese überprüft und das Wechselspiel von Rad52 und Pol θ an resektierten DSBs genauer charakterisiert werden. Dadurch sollen die Mechanismen, die zur Empfindlichkeit von BRCA2-defizienten Tumoren gegenüber einer Rad52-Inhibierung beitragen, genauer verstanden und ein wichtiger Beitrag für den Einsatz von Rad52-Inhibitoren in der Krebstherapie geleistet werden.

Der zweite Teil des Teilprojekts beschäftigt sich mit dem Chromatin-Remodellierer ATRX und baut auf den im Vorgänger-Projekt (02NUK037C) gewonnenen Erkenntnissen auf. Hier konnten wir zeigen, dass ATRX während der HR für die Chromatin-Wiederherstellung beim Schritt der DNA-Synthese entscheidend ist. Darauf aufbauend soll nun die Bedeutung des ATRX-abhängigen Reparaturwegs für verschiedene Entitäten von DSBs untersucht werden. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen einen Beitrag zur Etablierung von Therapieansätzen leisten, bei denen Tumore mit ATRX-Defekten (etwa 10-15 % aller Tumore) gezielt und unter Schonung von Normalgewebszellen mit DNA-schädigenden Agenzien inaktiviert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Aufgrund der Covid19-Pandemie und der damit verbundenen eingeschränkten Laborarbeit (Vorgaben der Universität zur Limitierung der Personenzahl in den Laboren, vermehrte Arbeit im Home Office) konnte das geförderte Projekt nicht in vollem Umfang bearbeitet und vorangetrieben werden. Da Ergebnisse vom 2. Teil des Teilprojekts zur Publikation gebracht werden sollten, wurde dieser Teil im Vergleich zum 1. Teil vorrangig bearbeitet.

1. Teil: Ein Verlust von Rad52 führt zu einem starken Absterben von BRCA2-defizienten Zellen. In unseren bisherigen Arbeiten konnten wir zeigen, dass resektierte DSBs in BRCA2-defizienten Zellen über den fehlerbehafteten Weg des Pol θ -vermittelten Alt-NHEJ repariert werden. Dieser Weg ist auf den Zeitraum der Mitose begrenzt und eine vorzeitige Nutzung in der G2-Phase führt zur Ausbildung chromosomaler Fusionen, was für die Zelle häufig ein letales Ereignis darstellt. Dieses vorzeitige Alt-NHEJ wird sowohl durch BRCA2 als auch durch Rad52 unterdrückt, was eine Erklärung für das starke Zellsterben darstellt, wenn beiden Faktoren fehlen. In Pilotstudien mit unterschiedlichen Rad52-Deletionsmutanten konnten wir Hinweise darauf gewinnen, dass die DNA-Bindedomäne und die RPA-Interaktionsdomäne, nicht aber die Rad51-Interaktionsdomäne von Rad52 für diese Funktion essentiell sind. In diesem Berichtszeitraum wurden nun für alle Deletionsmutanten stabil transfizierte Zelllinien generiert und die zuvor gewonnenen Ergebnisse nach transients Transfektion bestätigt.

2. Teil: Etwa 10-15 % aller Tumore zeigen eine Defizienz für den Chromatin-Remodellierer ATRX. Dieser ist für einen Unterweg der HR essentiell, welcher sich durch eine ausgedehnte DNA-Reparatursynthese und durch *Crossover*-Ereignisse zwischen den Schwesterchromatiden – sogenannten *sister chromatid exchanges* (SCE) – auszeichnet. In ATRX-defizienten Zellen erfolgt der HR-Prozess über den Unterweg des *synthesis-dependent strand-annealing* (SDSA), bei dem keine SCEs ausgebildet werden und der von der Aktivität der Helikase RecQ5 abhängt. Eine Depletion von RecQ5 resultiert folglich in ATRX-defizienten Zellen in einem starken Reparaturdefekt, während dies in Zellen mit ATRX kaum Effekte hat. Durch Untersuchung verschiedener ATRX- und RecQ5-Deletionsmutanten konnten wir nachweisen, dass für beide HR-Unterwege eine Interaktion von ATRX bzw. RecQ5 mit dem Faktor PCNA wichtig ist, wobei ATRX die Interaktion von PCNA mit RecQ5 in Wildtyp-Zellen zu unterdrücken scheint. Daraus konnten wir folgern, dass der ATRX-abhängige Weg über den SDSA-Weg dominiert, was auch durch weitere Ansätze wie der Quantifizierung von SCEs bestätigt werden konnte. Weiterhin wurde das Reparaturverhalten verschiedener Tumorzelllinien mit dem von nicht-transformierten Zellen verglichen, wobei eine größere Bedeutung des SDSA-Wegs in Tumorzellen als in Normalgewebszellen festgestellt wurde.

4. Geplante Weiterarbeiten

1. Teil: Im weiteren Verlauf des Projekts soll das Zusammenspiel von Rad52 und Pol θ bei der Reparatur resektierter DSBs weiter charakterisiert werden. Dazu sollen die neu generierten Rad52-Deletionsmutanten sowie uns neu zur Verfügung stehende Knock-out-Zelllinien für Rad52 und Pol θ mit den etablierten experimentellen Ansätzen untersucht werden.

2. Teil: In den bisher durchgeführten Studien konnten wir zeigen, dass die HR in Wildtyp-Zellen über den ATRX-abhängigen Unterweg erfolgt und dass die HR-vermittelte Reparatur in ATRX-defizienten Tumorzellen von der Helikase RecQ5 abhängt. Dies verdeutlicht, dass eine Inhibierung von RecQ5 einen vielversprechenden Ansatz zur Therapie von ATRX-defizienten Tumoren darstellen könnte. In weiterführenden Studien möchten wir nun untersuchen, ob ATRX-defiziente Tumor- und ATRX-profiziente Normalgewebszellen nach Depletion von RecQ5 unterschiedlich stark auf Behandlungen mit therapeutisch relevanten Agenzien (z. B. Strahlung, Topoisomerase-Inhibitoren) reagieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Elbakry A., Juhász S., Chan K.C., Löbrich M. (2021): ATRX and RECQ5 define distinct homologous recombination subpathways; <https://doi.org/10.1073/pnas.2010370118>

Zuwendungsempfänger: Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena		Förderkennzeichen: 02 NUK 055A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 336.499,00 EUR	Projektleiter: Dr. Pospiech	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 2 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im hier abgefragten Berichtszeitraum (01.07.2020 – 31.06.2021) wurde primär die weitere Optimierung des Synchronisationsprotokolls angetrieben. Die Generation von Zellkulturen mit einem hohen Anteil an Zellen in der frühen, mittleren und späten S-Phase ist von großer Bedeutung für das Verbundprojekt. Da die abschließende Optimierung und Etablierung des Protokolles aufgrund der Corona-Restriktionen nicht wie vorgesehen gemeinsam am Standort Dresden durchgeführt werden konnte, haben sich unsere Arbeiten in Jena auf die Synchronisation konzentriert. Durch die Kombination eines Zellzyklusarrests mittels Mimosin in der späten G1-Phase, gefolgt von einem weiteren Arrest in der G2-Phase durch den Cdk1-Inhibitor RO3306, konnte eine Synchronisation von 60-70 % der Zellen erreicht werden. Andere, übliche Synchronisationsverfahren hatten nicht zu der angestrebten Qualität/Anteil an S-Phase-Zellen geführt.

Des Weiteren wurde die Herstellung von MDA-MB-231 Zelllinien mit (partiell) knock-out der *BRCA1* und *BRCA2*-Gene durchgeführt.

Verzögerungen der experimentellen Arbeiten sind durch das Ausscheiden des ursprünglich im Projekt beschäftigten Mitarbeiters und den Corona-bedingten Einschränkungen im Arbeitsbetrieb unseres Institutes verursacht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zu Beginn 2021 werden Synchronisationsexperimente fortgesetzt mit dem Ziel, die Qualität der S-Phase-Zellpopulationen noch weiter zu verbessern. Die experimentellen Arbeiten werden danach wie vorgesehen und gemäß dem beschriebenen Untersuchungsprogramm durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 055B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 256.960,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Borgmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 4 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im hier abgefragten Berichtszeitraum wurden Experimente zur Herstellung von in der S-Phase synchronisierten Zellen durchgeführt. Dazu wurden MDA-MB-231 Zellen durch die Inhibitoren, CDK1 (RO3306) und Mimosine, synchronisiert und hinsichtlich ihrer erfolgreichen Anreicherung von Zellen in der S-Phase überprüft. Es konnte bisher kein robustes Protokoll etabliert werden. Dies ist aufgrund der Corona-Situation auf einen eingeschränkten Laborbetrieb und lange Lieferzeiten der benötigten Agenzien zurückzuführen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Sobald das Synchronisierungsprotokoll etabliert ist, werden die experimentellen Arbeiten wie vorgesehen und gemäß dem beschriebenen Untersuchungsprogramm durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 055C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 337.786,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Cordes	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 4 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im hier abgefragten Berichtszeitraum (01.07.2020 – 31.12.2020) wurde ein Bewerber (Hug Manh Le Van, M. Sc., aus Vietnam) auf das Projekt eingestellt. Durch Mitarbeiter der Forschungsgruppe wurde Hr. Le Van eingearbeitet. Hr. Le Van begann zusammen mit den Mitarbeitern der Jenaer und Hamburger Forschungsgruppen die Etablierung des Zellsynchronisierungsprotokolls, welches die essentielle Grundlage für das gesamte Projekt darstellt. Die Etablierung ist bis heute nicht beendet.

Aufgrund dessen, dass Hr. Le Van beim Ko-Antragsteller eine Dissertation erlangen möchte, wurden Arbeiten an einem Subprojekt zur Datengenerierung gestartet bis das Synchronisierungsprotokoll robust und nachvollziehbar in allen drei Forschungsgruppen entwickelt ist.

4. Geplante Weiterarbeiten

Sobald das Synchronisierungsprotokoll etabliert ist, werden die experimentellen Arbeiten wie vorgesehen und gemäß dem beschriebenen Untersuchungsprogramm durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 673.430,00 EUR	Projektleiter: Dr. Barkleit	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Speziationsuntersuchungen von U(VI) in den Biofluiden des Verdauungstraktes
- AP2: Einfluss von Dekorporationsmitteln auf die U(VI)-Speziation
- AP3: Thermodynamische Modellierung der U(VI)-Speziation
- AP4: Einfluss von Dekorporationsmitteln auf die An/Ln(III)-Speziation
- AP5: Thermodynamische Modellierung der An/Ln(III)-Speziation
- AP6: Bestimmung von fehlenden Stabilitätskonstanten für U(VI) und An/Ln(III)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die beiden Doktorandenstellen ausgeschrieben, Bewerbungsgespräche durchgeführt und geeignete Kandidaten ausgewählt. Zum 01.12.2020 konnten beide Doktorandenstellen besetzt werden.

Es wurde eine umfangreiche Literaturstudie durchgeführt, insbesondere im Hinblick auf die im Projekt zu verwendenden Dekorporationsmittel. Die Auswahl der Dekorporationsmittel erfolgt neben ihrer Wirksamkeit für die verschiedenen Radionuklide insbesondere auch nach deren Verfügbarkeit bzw. der Realisierbarkeit einer Synthese.

Es wurden noch keine experimentellen Arbeiten durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Erste experimentelle Untersuchungen zur Speziation von U(VI) in Biofluiden des Verdauungstraktes mittels Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) sollen durchgeführt werden.

Die Synthese von nicht käuflich verfügbaren Dekorporationsmitteln wird begonnen.

Die Komplexierung von U(VI) und Eu(III) bzw. Cm(III) mit ersten (käuflich erworbenen oder synthetisierten) Dekorporationsmitteln wird spektroskopisch (TRLFS, NMR, FT-IR) charakterisiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.03.2024	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 933.486,00 EUR	Projektleiter: Dr. Heller	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Vorarbeiten Zellkultur
- AP2: Untersuchungen mit Nierenzellen
- AP3: Untersuchungen mit Magenzellen
- AP4: Untersuchungen mit Darmzellen
- AP5: zellfreie Experimente
- AP6: Projektmanagement und -leitung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde die Doktorandenstelle ausgeschrieben, Bewerbungsgespräche durchgeführt und ein geeigneter Kandidat ausgewählt. Zum 01.01.2021 konnte die Doktorandenstelle besetzt werden.

Es wurde das Investitionsgerät öffentlich ausgeschrieben, Angebote bewertet und ein geeignetes Gerät gewählt. Im Dezember 2020 konnte das Investitionsgerät beschafft und installiert werden.

Es wurde eine umfangreiche Literaturstudie zu geeigneten Zelllinien des Verdauungstraktes von Mensch und Ratte sowie geeigneter Zellkulturmedien und -zusätze durchgeführt. Die Auswahl der Zelllinien erfolgte neben der kommerziellen Verfügbarkeit der Zellen insbesondere danach, dass sie aus gesundem, d. h. nicht kanzerogenen und nicht gentechnisch veränderten Gewebe stammen.

Es wurden die fürs Projekt benötigten Verbrauchsmaterialien, Chemikalien, Zellen, Medien und Medienzusätze angeschafft.

Es wurden noch keine experimentellen Arbeiten durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Kultivierung aller ausgewählten Zelllinien soll optimiert werden, insbesondere hinsichtlich eines geeigneten gemeinsamen Zellkulturmediums für alle Zelllinien. Die Wachstumskurven und -parameter sowie die Morphologie unbehandelter Kontrollzellen soll bestimmt werden.

Die Einarbeitung in das angeschaffte Investitionsgerät (Multimodaler Plattenreader mit integriertem Zellimaging) soll mittels erster Vitalitätstests und mikroskopischer Versuche an Kontrollzellen erfolgen.

Erste experimentelle Untersuchungen zur Speziation von Eu(III) ohne und mit Dekorporationsmitteln in Wasser und verschiedenen Zellkulturmedien sollen mittels Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 057C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 391.375,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Umfassende Literaturrecherche
- AP2: Synthese der Ra(II)-haltigen Komplexe
- AP3: Charakterisierung von Referenzverbindungen mit massenspektrometrischen Methoden
- AP4: Speziation/Charakterisierung von An/Ln(III) und U(VI) Verbindungen in den Biofluiden in An- und Abwesenheit der Dekorporationsmittel
- AP5: Zusammenfassung/Vergleich der experimentell und rechnerisch ermittelten Ergebnisse

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Da bisher keine Bearbeiter für das hier dargestellte Projekt eingestellt werden konnten, sind die Arbeiten noch nicht begonnen worden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Siehe 3.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 406.245,00 EUR	Projektleiter: Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Teilprojekt D des Verbundprojektes umfasst folgende Teilaufgaben:

- AP1: Zur Bestimmung sehr kleiner Aktivitätskonzentrationen von ^{228}Ra im Urin werden methodische Arbeiten zur Optimierung einer vorhandenen Methode durchgeführt, um ein für den Routinebetrieb geeignetes radiochemisches Trennverfahren zu entwickeln.
- AP2: Den unter Punkt 4 geplanten Probandenstudien geht die Beschaffung von Paranüssen und geeigneten Heilwässern voran. Zur Charakterisierung der Nahrungsmittel und gleichzeitiger Validierung werden ^{226}Ra und ^{228}Ra mit den entsprechend optimierten Methoden bestimmt und die Analysenwerte mittels Gammaskopmetrie überprüft.
- AP3: Die sorgfältige Vorbereitung der Probandenstudien (Punkt 4) umfasst die Werbung von potentiellen Teilnehmern und deren ausführliche Information über Ablauf und notwendige Aufgaben sowie die Bereitstellung der notwendigen Sachmittel (Behälter für 24-h-Ausscheidungsproben, Protokolle) in ausreichender Menge.
- AP4: In zeitlich genügendem Abstand werden zwei Probandenstudien mit denselben Teilnehmern durchgeführt, in deren Verlauf eine definierte Menge an Paranüssen bzw. Heilwasser zu einem definierten Zeitpunkt verzehrt wird. Nach einem vorgegebenen Zeitplan werden über einen Zeitraum von ca. 35 Tagen 24-h-Ausscheidungsproben (Urin, Stuhl) gesammelt und in sogenannten Verzehrprotokollen die aufgenommenen Nahrungsmittel dokumentiert.
- AP5: Den Probandenstudien schließt sich die sorgfältige Analyse von ^{226}Ra und ^{228}Ra mittels Gammaskopmetrie, Alphaspektrometrie und β -Messung nach radiochemischer Trennung an.
- AP6: Aus den Aktivitätswerten werden die täglichen Ausscheidungsdaten, die auf die verzehrte Aktivität normierten Ausscheidungsdaten sowie der zeitliche Verlauf der Ausscheidungsdaten von ^{226}Ra und ^{228}Ra bestimmt.
- AP7: In enger Zusammenarbeit mit den anderen Teilprojekten werden radiochemische Analysen von Radiumisotopen und ICP-MS-Messungen dreiwertiger Lanthanide durchgeführt sowie Paranüsse und Heilwässer für weiterführende Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Erste Paranusproben sind mittels Gammaskpektrometrie analysiert worden. Das Probenmaterial wird für die methodischen Arbeiten zur Bestimmung von ^{226}Ra und ^{228}Ra in verschiedenen Matrices (Paranüsse, Heilwässer, Urin, Stuhl) verwendet (Punkt 1 und 2).
- Erste methodische Arbeiten zur Übertragung einer vorhandenen Methode, die bisher zur Bestimmung von ^{226}Ra nur in Urin genutzt wurde, auf die neue Probenmatrix (Punkt 1) führten zu Minderbefunden, was unter anderem auf den unvollständigen Aufschluss des Probenmaterials zurückzuführen ist.
- Aus einer Literaturrecherche sind mehrere Möglichkeiten zur Bestimmung von ^{228}Ra in verschiedenen Matrices wie die direkte Bestimmung von ^{228}Ra mittels LSC oder die indirekte Bestimmung über ^{228}Ac mittels LSC, Proportionalzählrohr oder Gammaskpektrometrie gefunden worden (Punkt 1).

4. Geplante Weiterarbeiten

- Die methodischen Arbeiten zur Entwicklung/Optimierung eines Verfahrens zur ^{228}Ra -Bestimmung in Urin und anderen Matrices werden weitergeführt (Punkt 1):
 - Verbesserung des nasschemischen Aufschlussverfahrens, um die Wiederfindung von ^{226}Ra (und damit auch ^{228}Ra) zu verbessern
 - Erprobung eines radiochemischen Teilschrittes zur Trennung von ^{228}Ra und ^{228}Ac
 - Verwendung von Cer als chemisch zu Actinium ähnliches Element als Träger und Ausbeutetracer zur Bestimmung der Wiederfindung von ^{228}Ac
 - Messreihen von ^{228}Ra bzw. ^{228}Ac im LSC zur Bestimmung der Messeffizienz und des Quenchverhaltens
 - Beschaffung einer Vakuumbox zur möglichen Automatisierung eines Teilschrittes innerhalb des radiochemischen Trennverfahrens (Säulenchromatographie)
- Beschaffung und Charakterisierung von Paranüssen und Heilwässern (Punkt 2)
- Vorbereitung der Probandenstudie (Punkt 3):
 - Erstellung von ausführlichem Informationsmaterial zur Werbung der Probanden
 - Erstellung aller für die Durchführung der Studien notwendigen Dokumente (Fragebogen, Verzehr- und Probenahmeprotokolle)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 057E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.07.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 317.343,00 EUR	Projektleiter: Raskop	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel der Forschungsaktivität ist es, das Prozessverständnis der Radionuklid Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene deutlich zu verbessern und damit zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter Radionuklide neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der Radionuklide im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht.

Das Teilprojekt E ist ein Teilvorhaben des Verbundes RADECOR. Der Schwerpunkt des Teilprojekts E (respektive Teilprojekte 5 und 6) am KIT liegt auf der Modellierung des biokinetischen Verhaltens von Americium im menschlichen Körper in An- und Abwesenheit von Dekorporationsmitteln. Hierzu wird ein neues Modell für die Biokinetik von Am(III) entwickelt und getestet. Daraus gewonnene Erkenntnisse werden verwendet um aus experimentell gemessenen Ra(II) und Ln(II) Konzentrationswerten den biokinetischen Prozess der Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung zu modellieren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Teilprojekt 5: Modellierung des biokinetischen Verhaltens von Americium im menschlichen Körper in An- und Abwesenheit von Dekorporationsmitteln

Teilprojekt 6: Bioverfügbarkeit von Radium aus Lebensmitteln und Wechselwirkungen im Verdauungssystem (Biofluide, Zellen)

Der Arbeitsplan des Verbundprojekts umfasst insgesamt sechs Arbeitspakete. Die Teilprojekte 1 bis 4 werden ausschließlich durch die Verbundpartner VKTA, TUD, HZDR, und LUH bearbeitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Da zu Projektbeginn ein Wechsel des verantwortlichen Wissenschaftlers am KIT stattgefunden hat, konnte der Prozess zur Einstellung eines*r Doktoranden*in nicht vor Projektbeginn abgeschlossen werden. Die Ausschreibung einer Stelle sowie Sichtung aller eingereichten Bewerbungsunterlagen und die entsprechenden Vorstellungsgespräche fanden im Berichtszeitraum statt. Der Prozess wurde mit erfolgreicher Einstellung eines Doktoranden abgeschlossen.

TP5: Es wurden noch keine Arbeiten durchgeführt.

TP6: Dieses Teilprojekt wurde noch nicht gestartet.

4. Geplante Weiterarbeiten

TP5: Es wird eine Literaturstudie zur Biokinetik und Dosimetrie der Aktinide sowie der Dekorporationstherapie mit DTPA durchgeführt. Weiterhin sollen erste Modellansätze für das zu entwickelnde Simulationsmodell untersucht werden.

TP6: Keine Aktivitäten in den nächsten 6 Monaten geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69120 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 058A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 361.100,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hausmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

DNA-Schäden werden in Zellkernen lokal induziert (Koop. Teilprojekt Jülich). Die Auswahl der Schadensorte erfolgt (sequenz)spezifisch an definierten Orten (z. B. Gene, strukturierende Elemente etc.), so dass einzelne und multiple Schäden induziert werden. Mittels hochauflösender Mikroskopie, d. h. Mehrfarben-Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (sowie Elektronenmikroskopie in Teilprojekt Homburg) werden topologische Chromatinveränderungen nach der Schädigung und während der folgenden Reparatur am Schadensort und in der näheren und fernerer Umgebung untersucht. Hierzu werden Hetero- und Euchromatin mittels Antikörper sowie Sequenzen (SINEs, LINEs) mit fluoreszenten Oligonukleotiden spezifisch markiert und analysiert. Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), Targetregionen (γ H2AX-Foci) und Reparaturfoci (Rekrutierungsorte von Reparaturproteinen) werden mittels mathematischer Verfahren quantifiziert. Durch systematischen Vergleich werden charakteristische Parameter der Chromatin- und Reparaturfoci-Architektur ermittelt und ihre Bedeutung für den Reparaturverlauf und die Strahlenresistenz/-empfindlichkeit von Zellen und Gewebe erforscht.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- G1: Etablierung derselben geeigneten Zelllinien in allen Partnerlaboratorien.
- H1: Bestimmung algebraischer Topologien von γ H2AX Clustern in Bezug zu benachbarten Chromatinregionen (Hetero-, Euchromatin, SINEs, LINEs).
- H2: Bestimmung und Topologien initialer Reparaturproteine in Korrelation zu γ H2AX Topologien/Korrelation von γ H2AX und lokaler Reparaturweg-Entscheidung.
- H3.1: Bestimmung von Topologien und Netzwerkcharakteristika von Chromatinkonformationen in potentiellen Schadensbereichen (Kontrollen ohne Strahlenexposition).
- H3.2: Bestimmung von Topologien und Netzwerkcharakteristika von Chromatinkonformationen in geschädigten Bereichen nach Strahlenexposition.
- H4: Bestimmung von Topologien von Chromatinkonformationen in den zu Schadensregionen komplementären Bereichen.
- H5: Optimierung der SMLM Beleuchtung.
- G2: Gemeinsame Erstellung von Zusammenfassungen (Berichten) und Publikationen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

G1: Es wurde in Absprache mit den Partnerprojekten zunächst eine Fibroblastenzelllinie ausgetauscht und im Labor etabliert, hochgezogen und ein Stock gefrorener Aliquots angelegt.

H1 und H3.1: Es wurde mit beiden Arbeitspaketen begonnen. Hierzu wurden 3 Zellsysteme ausgewählt: a) normal proliferierende Fibroblasten; b) kontaktinhibierte Fibroblasten aus Langzeitkulturen (6 Monate); c) teilungsreaktivierte Fibroblasten aus Langzeitkulturen. Während Typ a ein normales in vitro System darstellt, sind b und c gewebeähnliche Systeme. Die Zellen wurden low-LET Photonenstrahlung (2 Gy) exponiert, und Aliquots wurden 1,5 und 6 Stunden nach Bestrahlung fixiert. Als Kontrolle wurden unbestrahlte Zellen gleicher Kulturen verwendet. γ H2AX und Heterochromatin (H3K9me3) wurden simultan mit Antikörper markiert und lokalisationsmikroskopischen Messungen unterzogen. Die Messdaten befinden sich noch in der Auswertung. Vorläufige Ergebnisse zeigen, dass γ H2AX Cluster in Zellen Typ b im Vergleich zu Zellen Typ c länger persistieren und ein verlängerter relaxierter Zustand erhalten bleibt. Netzwerkanalysen der Heterochromatinverteilung deuten ebenfalls darauf hin, dass Zellen von Typ b in relaxierten Chromatinzuständen verharren, während stimulierte Zellen des Typ c im Laufe der Reparatur das Heterochromatin wieder in den ursprünglichen Verpackungszustand zurückversetzen.

G2: Zusammen mit einem ehemaligen Mitarbeiter, der an das FZ Jülich wechselte, wurde ein Buchartikel verfasst, der den Stand der Forschung zu DNA-Reparatur und bisherige Arbeiten der Arbeitsgruppe zu Chromatinarchitektur zusammenfasst.

4. Geplante Weiterarbeiten

H1 und H3.1: Die Auswertungen (siehe 3.) werden fortgesetzt.

H3.2: Mittlerweile liegen erste Präparate des Teilprojektes Jülich vor, bei denen multiple Schäden durch Inkorporation von Radionuklide gesetzt wurden, so dass in den nächsten Wochen plangemäß mit diesem AP begonnen werden kann.

H5: Das AP wird erst im folgenden Zeitraum begonnen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Referierter Buchartikel:

Lee J-H, Hausmann M. Super-resolution radiation biology: From bio-dosimetry towards nano-studies of DNA repair mechanisms. In: "DNA-Repair" (BehzadiP, ed.). Intech-Open, Rijeka, ISBN 978-1-83881-094-8: DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95597>

Zuwendungsempfänger: Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken		Förderkennzeichen: 02 NUK 058B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 244.868,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rube	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die strahleninduzierte Schädigung der genomischen DNA verändert lokal und meistens auch weitreichend die Chromatin-Architektur im Zellkern. Im Rahmen des Verbundprojektes werden einzelne und multiple DNA-Schadensereignisse an definierten Stellen mittels spezifischen Oligonukleotiden erzeugt, die entsprechende Strahlenemitter tragen (Teilprojekt Jülich). Mittels hochauflösender Mikroskopie-Techniken, d. h. Mehrfarben-Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (Teilprojekt Heidelberg) sowie Elektronenmikroskopie (Teilprojekt Homburg) werden topologische Chromatin-Veränderungen nach der DNA-Schädigung und während der folgenden Reparatur am Schadensort und in der Chromatin-Umgebung untersucht. Hierzu werden die Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), der Targetregionen (γ H2AX-Foci) und der Reparaturfoci (Rekrutierungsorte von Reparaturproteinen) im Euchromatin und Heterochromatin charakterisiert. Durch den systematischen Vergleich der hochauflösenden Mikroskopie-Verfahren werden charakteristische Parameter der DNA-Reparatur im Kontext des Chromatins ermittelt und ihre Bedeutung für den Reparaturverlauf und die Strahlenantwort von Zellen erforscht.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- WPR1: Durch Immunogold-Markierung erfolgt die Visualisierung verschiedener Reparaturfaktoren mittels TEM; hierdurch kann die Bedeutung unterschiedlicher Reparaturwege für die Schadensregulierung euchromatischer und heterochromatischer Brüche untersucht werden.
- WPR2: Durch vergleichende Zuordnung der verschiedenen Graustufen zu Eu- und Heterochromatin kann die Chromatindichte im TEM eingeschätzt werden.
- WPR3: Die Chromatin-Konformation an den unterschiedlichen Schadensorten kann durch den Nachweis verschiedener Histon-Modifikationen zusätzlich charakterisiert werden.
- WPR4: Durch die Markierung der freien Bruchenden mittels modifizierter TUNEL Analyse kann die Verteilung der strahleninduzierten DSBs im Zellkern direkt nachgewiesen werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In den ersten Monaten erfolgte zunächst die methodische und fachliche Einarbeitung des neuen Mitarbeiters in dieses technisch anspruchsvolle und komplexe Forschungsthema.

Im Rahmen dieses Einarbeitungsprozesses werden verschiedene Fibroblasten-Zelllinien nach einer low-LET bzw. nach einer high-LET Strahlexposition untersucht, um die Strahlenschäden im Kontext des Chromatins mittels TEM zu analysieren.

In Absprache mit den Verbundpartnern wurden die für die geplanten Untersuchungen geeigneten Zelllinien ausgetauscht und im Labor etabliert. Mit dem Verbundpartner Jülich wurden die verschiedenen Versuchsbedingungen für die Synchronisierung und die ¹²⁵IUdR Markierung der Zellen erarbeitet. Inzwischen konnten die ersten Zellpräparate, bei denen multiple Schäden durch die Inkorporation von Radionukliden gesetzt wurden, mittels TEM analysiert werden. Bei diesen Präparaten zeigten sich in der Transmissions-Elektronenmikroskopie jedoch durch die Zellpräparation einige Artefakte, die eine systematische Auswertung erschweren. Daher sollen zunächst die Präparationstechniken für die TEM-Analysen optimiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zunächst sollen Jurkat Zellen synchronisiert und in frühe S-Phase versus späte S-Phase mit ¹²⁵IUdR „puls-gelabelt“ werden. Anschließend werden die Zellen in die nächste G1-Zellzyklusphase geschickt und zur Akkumulation von Zerfällen eingefroren. In den Zellen sollen im gefrorenen Zustand ca. 1000 – 2500 Zerfälle (¹²⁵I) akkumulieren. Nach dem Auftauen werden die Zellen nach 5 min, 1 h, 5 h und 24 h für die TEM-Analysen fixiert. Zudem sollen als Kontrollen Zellen mit kaltem IUdR inkubiert sowie mit 10 Gy low-LET bestrahlt werden. Diese Zellpräparate sollen mittels TEM hinsichtlich strahleninduzierter DNA-Schädigung und entsprechender Chromatin-Veränderungen untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Die ersten Ergebnisse zur Charakterisierung des Strahlenschadens nach einer low-LET bzw. high-LET Bestrahlung sollen zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst werden.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhem-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 058C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.10.2020 bis 31.12.2020	
Gesamtkosten des Vorhabens: 334.522,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kriehuber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Mittels Auger-Elektronen-Emitter-markierten Oligonukleotiden und Basenanaloga werden in ausgewählten Zelllinien gezielt DNA-Schäden induziert. Über spezifische Markierungstechniken sowie die Auswahl von Oligonukleotiden können dabei an definierten Orten im Genom neben einzelnen auch multiple DNA-Schäden induziert werden. Mittels hochauflösenden Mikroskopieverfahren (Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (Teilprojekt Heidelberg) und Transmissions-Elektronenmikroskopie (Teilprojekt Homburg)) werden die topologischen Veränderungen der Chromatinumgebung nach erfolgter Schädigung und während der darauffolgenden Reparaturprozesse systematisch in der näheren und fernerer Umgebung des Schadensortes untersucht. Hierzu werden Hetero- und Euchromatin mittels Antikörper sowie repetitive Sequenzen mittels fluoreszenten Oligonukleotiden spezifisch markiert und analysiert. Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), Targetregionen (γ H2AX-Foci) und Reparaturfoci (Rekrutierung von relevanten DNA-Reparaturproteinen) werden mittels hochauflösender Mikroskopieverfahren detektiert und mittels mathematischer Verfahren analysiert. Durch systematischen Vergleich sollen charakteristische Parameter der Chromatin- und Reparaturfoci-Architektur ermittelt und die Bedeutung für den Reparaturverlauf und der intrinsischen Strahlenresistenz der ausgewählten Zellen korreliert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- G1: Etablierung geeigneter Zelllinien.
- K1.1: Induktion von DNA Doppelstrangbrüchen im Eu- und Heterochromatin.
- K1.2: Setzen spezifischer DNA-Schäden in alpha-Satelliten.
- K1.3: Spezifische DNA-Schädigung in ALU-/L1-Elementen.
- K2: Quantifizierung der DNA Schäden mittels 53BP1 Antikörperfärbung.
- G2: Erstellung von Zusammenfassungen (Berichte) und Publikationen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

G1: Es wurden Zelllinien, gemeinsam mit allen Projektbeteiligten, für die anstehenden Arbeiten identifiziert, ausgetauscht, kultiviert und entsprechende Aliquots als Stock eingefroren. Zellen wurden bestrahlt (137Cs gamma-Strahlung sowie 125I-UdR Markierung und Exposition) und Antikörperfärbungen für Reparaturproteine durchgeführt und erste Präparate dem Projektpartner Heidelberg für die hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie zur Verfügung gestellt.

K1.1: Zellen, die mit 125I-UdR markiert wurden, wurden nach adäquater Akkumulierung von Zerfällen für die Elektronenmikroskopie fixiert und zu ersten Analysen dem Projektpartner Homburg zur Verfügung gestellt. Aufgrund von aufgetretenen Artefakten in den Präparaten werden die Präparationstechniken weiter optimiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

G1: Die Expositionsbedingungen für 125Iod-markierte Trägermoleküle werden optimiert bzw. Techniken etabliert, die es erlauben, ausreichende Zerfälle zu akkumulieren, ohne dass die Zellen dafür eingefroren werden müssen, diese jedoch während der Radionuklid-Exposition weitgehend, speziell bezüglich DNA-Reparaturprozesse, physiologisch inaktiv bleiben.

K1.1: Optimierung der Präparationstechniken für die Elektronenmikroskopie. Herstellung von Zell-Präparaten nach Zellzyklussynchronisation und folgender „Puls-Markierung“ mit 125I-UdR in der frühen S-Zellzyklusphase (Replikation von euchromatischen Bereichen) sowie der späten S-Zellzyklusphase (Replikation von heterochromatischen Bereichen) und adäquater Akkumulation von Iod-125 Zerfällen pro Zelle in der nachfolgenden G1-Zellzyklusphase. Zum Vergleich werden Zellen in der G1-Zellzyklusphase gamma-bestrahlt.

K2: Nach Exposition der Zellen (siehe K1.1) werden das Schadensmaß hinsichtlich DNA Doppelstrangbrüchen quantitativ erfasst.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

3 Verzeichnis der Forschungsstellen

	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	116
	Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter	
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	82
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	108
	Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin	
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	114
	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	86
	Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich	
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	102
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A	40
02 NUK 056B	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B	52
02 NUK 058C	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C	162
02 NUK 059D	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D	66
	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen	
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E	134
02 NUK 059E	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E	68

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  34

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

- 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  122
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A  126
- 02 NUK 054A Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A  136

Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden

- 02 NUK 041B Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  14
- 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  26
- 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  32
- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  42
- 02 NUK 056C Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C  54
- 02 NUK 057A Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A  148
- 02 NUK 059B Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, 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  48 |
| | Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg |
| 02 NUK 047A | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  106 |
| | 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  46 |
| | 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  124 |
| | IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf |
| 02 NUK 036AX | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  84 |
| 02 NUK 036C | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  88 |
| | 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  132 |
| | Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz |
| 02 NUK 042B | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B  96 |
| 02 NUK 044B | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B  22 |
| | Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe |
| 02 NUK 059F | Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F  70 |
| | Klinikum der Universität München, Marchioninistr. 15, 81377 München |
| 02 NUK 047C | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  110 |

- | | |
|---|---|
| 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 📖 92 |
| Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena | |
| 02 NUK 055A | Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A 📖 142 |
| 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 📖 98 |
| Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover | |
| 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 📖 30 |
| 02 NUK 057C | Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C 📖 152 |
| 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 📖 38 |
| 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 📖 20 |
| Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen | |
| 02 NUK 053C | Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C 📖 44 |
| 02 NUK 056A | Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A 📖 50 |

02 NUK 057E Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionuklid-
 en im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporations-
 mitteln, Teilprojekt E  156

02 NUK 059A Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-
 Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A  60

**THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1,
 94469 Deggendorf**

02 NUK 041D Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfalls-
 wärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische
 Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wär-
 meüberträgerstrukturen  16

Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin

02 NUK 056D Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung  56
 durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D

Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt

02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR  90
 Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D

02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Iden-
 tifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilpro-
 jekt D  100

02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzün-
 dungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teil-
 projekt B  128

02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzün-
 dungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teil-
 projekt C  130

02 NUK 054C Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und bio-
 logische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrah-
 lung II, Teilprojekt C  140

Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden

02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker  80
 der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C

02 NUK 041A Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfalls-
 wärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integral experi-
 mente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation
 und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetrans-
 portsystem  12

02 NUK 046A Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwi-
 schen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffba-
 sierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisie-
 rung in der Umwelt, Teilprojekt A  24

02 NUK 055C Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C  146

02 NUK 057B Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B  150

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  36

02 NUK 056E Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E  58

Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken

02 NUK 035A Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  76

02 NUK 058B Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B  160

Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg

02 NUK 058A Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A  158

02 NUK 059C Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C  64

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  28

Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm

02 NUK 048B Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  120

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  104

02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  112

02 NUK 054B Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B  138

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg

02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  74

02 NUK 035B Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  78

02 NUK 055B Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B  144

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

02 NUK 042A Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  94

02 NUK 048A Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  118

VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden

02 NUK 057D Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionuklidern im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D  154