

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

**PTE-N Nr. 25**

BMBF geförderte FuE zu  
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Januar - 30. Juni 2022

Projekträger Karlsruhe (PTKA)  
Entsorgung

**Oktober 2022**

## 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](http://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

<b>1</b>	<b>Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....</b>	<b>1</b>
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>5</i>
<b>2</b>	<b>Formalisierte Zwischenberichte .....</b>	<b>9</b>
2.1	SICHERHEITSFORSCHUNG FÜR KERNREAKTOREN .....	9
2.2	SICHERHEITSFORSCHUNG ZUR NUKLEAREN ENTSORGUNG .....	35
2.3	STRAHLENFORSCHUNG.....	87
<b>3</b>	<b>Verzeichnis der Forschungsstellen .....</b>	<b>169</b>



# 1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

## 1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

<b>02 NUK 041A</b>	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	<b>TU Dresden</b>	📖 10
<b>02 NUK 041B</b>	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 12
<b>02 NUK 041D</b>	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen	<b>TH Deggendorf</b>	📖 14
<b>02 NUK 062A</b>	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A	<b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 16
<b>02 NUK 062B</b>	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt B	<b>Universität Stuttgart</b>	📖 18
<b>02 NUK 062C</b>	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt C	<b>TU München</b>	📖 20
<b>02 NUK 062D</b>	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D	<b>Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, Köln</b>	📖 22
<b>02 NUK 063</b>	Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation	<b>TU Dresden</b>	📖 24
<b>02 NUK 067A</b>	Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package (HCP), Teilprojekt A	<b>TU München</b>	📖 26
<b>02 NUK 067B</b>	Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package (HCP), Teilprojekt B	<b>Becker Technologies GmbH, Eschborn</b>	📖 28

- 02 NUK 068A** Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektrischer Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt A **TU Dresden**  30
- 02 NUK 068B** Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektrischer Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt B **Universität Erlangen-Nürnberg**  32

## 1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

<b>02 NUK 053A</b>	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 36
<b>02 NUK 053B</b>	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 38
<b>02 NUK 053C</b>	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 40
<b>02 NUK 053D</b>	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D	<b>Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ</b>	📖 42
<b>02 NUK 053E</b>	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E	<b>Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ</b>	📖 44
<b>02 NUK 056A</b>	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 46
<b>02 NUK 056B</b>	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 48
<b>02 NUK 056C</b>	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 50
<b>02 NUK 056D</b>	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D	<b>TU Berlin</b>	📖 52
<b>02 NUK 056E</b>	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E	<b>Universität Bremen</b>	📖 54
<b>02 NUK 059A</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 56
<b>02 NUK 059B</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 58

<b>02 NUK 059C</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C	<b>Universität Heidelberg</b>	📖 60
<b>02 NUK 059D</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 62
<b>02 NUK 059E</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>	📖 64
<b>02 NUK 059F</b>	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F	<b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 66
<b>02 NUK 060A</b>	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 68
<b>02 NUK 060B</b>	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B	<b>RWTH Aachen</b>	📖 70
<b>02 NUK 060C</b>	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 72
<b>02 NUK 060D</b>	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D	<b>RWTH Aachen</b>	📖 74
<b>02 NUK 060E</b>	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E	<b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>	📖 76
<b>02 NUK 066A</b>	Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklididentifizierung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 78
<b>02 NUK 066B</b>	Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklididentifizierung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt B	<b>Friedrich-Schiller-Universität Jena</b>	📖 80
<b>02 NUK 066C</b>	Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklididentifizierung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt C	<b>Leibniz Universität Hannover</b>	📖 82
<b>02 NUK 066D</b>	Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklididentifizierung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt D	<b>VKTA – Strahlenschutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossendorf e. V.</b>	📖 84

### 1.3 Strahlenforschung

<b>02 NUK 032</b>	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	 88
<b>02 NUK 036AX</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A	<b>IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH</b>	 90
<b>02 NUK 047A</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim</b>	 92
<b>02 NUK 047B</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Bundesamt für Strahlenschutz</b>	 94
<b>02 NUK 047C</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>Klinikum der Universität München</b>	 96
<b>02 NUK 047D</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	 98
<b>02 NUK 047E</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin</b>	 100
<b>02 NUK 047F</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg</b>	 102
<b>02 NUK 049A</b>	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	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH</b>	 104
<b>02 NUK 049B</b>	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	<b>Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg</b>	 106
<b>02 NUK 050A</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH</b>	 108
<b>02 NUK 050B</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B	<b>TU Darmstadt</b>	 110

<b>02 NUK 050C</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C	<b>TU Darmstadt</b>	 112
<b>02 NUK 050D</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D	<b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>	 114
<b>02 NUK 050E</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>	 116
<b>02 NUK 054A</b>	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH</b>	 118
<b>02 NUK 054B</b>	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	 120
<b>02 NUK 054C</b>	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C	<b>TU Darmstadt</b>	 122
<b>02 NUK 055A</b>	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A	<b>Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Jena</b>	 124
<b>02 NUK 055B</b>	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	 126
<b>02 NUK 055C</b>	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C	<b>TU Dresden</b>	 128
<b>02 NUK 057A</b>	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	 130
<b>02 NUK 057B</b>	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B	<b>TU Dresden</b>	 132
<b>02 NUK 057C</b>	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C	<b>Universität Hannover</b>	 134

<b>02 NUK 057D</b>	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D	<b>VKTA – Strahlenschutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossendorf e. V.</b>	📖 136
<b>02 NUK 057E</b>	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 138
<b>02 NUK 058A</b>	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	<b>Universität Heidelberg</b>	📖 140
<b>02 NUK 058B</b>	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	<b>Universität des Saarlandes</b>	📖 142
<b>02 NUK 058C</b>	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	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 144
<b>02 NUK 061A</b>	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim</b>	📖 146
<b>02 NUK 061B</b>	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 148
<b>02 NUK 061C</b>	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C	<b>Klinikum der Universität München</b>	📖 150
<b>02 NUK 064A</b>	Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A	<b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München</b>	📖 152
<b>02 NUK 064B</b>	Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B	<b>Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim</b>	📖 154

- 02 NUK 064C** Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C **Albert-Ludwigs-Universität Freiburg**  156
- 02 NUK 065A** Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt A **Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim**  158
- 02 NUK 065B** Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt B **Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München**  160
- 02 NUK 065C** Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt C **Klinikum der Universität München**  162
- 02 NUK 065D** Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt D **VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V.**  164
- 02 NUK 065E** Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt E **SARAD GmbH, Dresden**  166

## **2      Formalisierte Zwischenberichte**

### **2.1    Sicherheitsforschung für Kernreaktoren**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.01.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.01.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.998.046,95 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hurtado	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Für den Zeitraum der aktuellen Aufstockung liegen folgende Arbeitspakete vor:

AP1: Vorbereitung und Durchführung der Experimente (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)

AP2: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Durchführung von Simulationen (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)

AP3: Abschlussbericht (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

AP1: Für ausgewählte stationäre Zustände der Versuchsanlage wurden abschließende Experimente unter schrittweiser Zugabe von Stickstoff bzw. Helium durchgeführt und die Entwicklung der Messsignale dokumentiert. Die insgesamt gewonnenen experimentellen Daten wurden gesichert.

AP2: Weitere Testsimulationen mit dem Quasi-3D-Modell der Dampfkammer wurden durchgeführt. Das Modell steht für vergleichende Analysen gegenüber den Versuchen im Arbeitspaket 1 zur Verfügung.

Es wurden Rechnungen mit dem Full-Order-Modell (FOM) und dem dazugehörigen ordnungsreduzierten Modell (ROM) des Niederdruck-Naturumlauf-Systems durchgeführt.

AP3: Die AP-bezogenen Teile des Abschlussberichtes wurden entworfen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Keine.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.01.2022		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.01.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.417.808,95 EUR		<b>Projektleiter:</b> 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: Vorbereitung und Durchführung der Experimente

- Umbau der Teststrecke
- Durchführung der abgestimmten Kondensationsversuche mit geändertem Innenrohr
- Nachbereitung und Datenanalyse der durchgeführten Experimente
- Support und Beratung zur Versuchsdurchführung und den experimentellen Ergebnissen

AP2: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes

- CFD-Simulationen für die neuen COSMEA-Experimente mit dem Titanlegierungsrohr
- Vergleich der Ergebnisse der Simulation der COSMEA-Experimente mit ATHLET mit den experimentellen Daten
- Durchführung einer Unsicherheitsanalyse mit dem Programmpaket SUSA für das ATHLET-Modell für ausgewählte COSMEA-Kondensationsexperimente

AP3: Abschlussbericht

- Erstellen des Abschlussberichts

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

AP3: Erstellung des Abschlussberichtes wurde begonnen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Fertigstellung des Abschlussberichts.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz- Platz 1, 94469 Deggendorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.01.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.01.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 590.316,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Leyer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das PANAS Teilprojektes D behandelt die Modellierung der statischen und transienten Wärmeübertragungsvorgänge einer Zweiphasen-Wasser-Dampf-Strömung sowie die Wärmeüberträger-Strukturen.

Im Rahmen des PANAS Projektes wurde ausgehend von den in der Literatur verfügbaren Modellen und mit Hilfe der Messergebnisse, die am COSMEA Teststand (Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf) gewonnen wurden, ein optimiertes Wärmeübergangsmodell für die Primärseite des Notkondensators erarbeitet. Diese Arbeiten sind abgeschlossen.

Im Rahmen der Aufstockung des PANAS Projektes wird nun der sekundärseitige Wärmeübergang modelliert und diese Modellierung optimiert. Die Arbeiten des aufgestockten PANAS Projekts sind in 6 Arbeitspakete unterteilt:

- AP1: Literaturstudium zu sekundärseitigen Wärmeübergangsmodellen und Mehrrohr-Effekten.
- AP2: Auswahl anwendbarer Wärmeübertragungsmodelle aus der Literatur für unterschiedliche Arbeitsbedingungen und deren Verwendung in ATHLET-Simulationen der Sekundärseite.
- AP3: CFD-Simulation der Sekundärseite des Wärmetauschers in ANSYS CFX.
- AP4: Entwicklung der Simulation unter Berücksichtigung der Möglichkeit der Verdunstung um die Kondensationsrohre.
- AP5: CFD-Simulation des adiabatischen Siedens in Steigrohren.
- AP6: Validierung von Simulationen anhand der Experimente

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

Erstellung des Abschlussberichtes wurde begonnen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Keine.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserst. 12, 76131 Karlsruhe		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 062A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2021 bis 31.05.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 855.228,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Cheng	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Ziel des Verbundvorhabens ist die Untersuchung des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich mit Freon, CO<sub>2</sub> und Wasser. Mit der Zusammenarbeit zwischen dem IATF vom KIT (02 NUK 062A) und dem IKE der Universität Stuttgart (02 NUK 062B) sowie dem LES der TU München (02 NUK 062C) werden die experimentellen Daten in eine umfangreiche Datenbank eingebunden. Diese wird dem gesamten Verbundprojekt zur Verfügung gestellt und der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und den Post-CHF Wärmeübergang wird analysiert. Mit Hilfe dieser Datenbank und einem verbesserten Verständnis der mechanistischen Vorgänge werden vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, und gegebenenfalls um neue Modelle erweitert. Numerische Simulationen mit CFD-Programmen sollen zum besseren Verständnis der zu untersuchenden Phänomene beitragen und die experimentellen Arbeiten unterstützen. Die Entwicklung von Fluid-zu-Fluid Skalierungsmodellen ermöglicht die direkte Übertragung der Versuchsdaten der drei unterschiedlichen Fluide. Die Implementierung der neu entwickelten Modelle und die Validierung gegen experimentelle Daten wird durch die GRS (02 NUK 062D) unterstützt und erhöht die Aussagekraft des STH-Programms ATHLET für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden. Die anspruchsvollen wissenschaftlichen Aufgaben leisten einen wichtigen Beitrag zum Kompetenzerhalt der Kerntechnik und zur Ausbildung des kerntechnischen Nachwuchses.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Experimentelle Untersuchungen. Experimente zum CHF und Post-CHF Wärmeübergang mit CO<sub>2</sub>, Freon und Wasser werden durchgeführt. Als Referenzstrecke dient ein 10 mm Kreisrohr. Ergänzend werden Experimente mit einem 15,8 mm Kreisrohr vom LES und einem 6 mm Kreisrohr vom IKE durchgeführt. Der Geometrieinfluss und das Tropfenverhalten wird mit einem Ein-Stab-Kanal mit optischem Zugang vom IATF untersucht.
- AP2: Modellentwicklung. Modelle für CHF und Post-CHF Wärmeübergang und entsprechende Fluid-zu-Fluid Skalierungen werden entwickelt. Für die Entwicklung von Modellen und für die Bewertung/Validierung der Modelle steht jeweils die experimentelle Datenbasis zur Verfügung.
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung. Dieses AP fokussiert sich auf die Weiterentwicklung des STH-Programms ATHLET.
- AP4: Management/Koordination. Koordination und Management des Verbundprojekts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die KIMOF Anlage wurde erfolgreich umgebaut. Nach durchgeführten Druck- und Dichtheitsprüfungen konnte die Anlage für die Experimente vorbereitet werden. Die Thermoelemente wurden angebracht und die Teststrecke wurde mit Hilfe von Steinwolle isoliert. Damit konnten die Wärmeverlustversuche und Wärmebilanzversuche durchgeführt werden, welche gute Ergebnisse geliefert haben. Anschließend konnten die CHF-Versuche und Referenzversuche starten. Die ersten Ergebnisse haben bereits ergeben, dass die Temperatur bei hohen Drücken, einen geringeren Gradienten aufweist, als bei niedrigeren Drücken.
- AP2: Es wurden weitere Untersuchungen des Tropfendurchmessers mit Hilfe von CFD Simulationen durchgeführt. Dabei wurde herausgefunden, dass die dominanten Einflussfaktoren auf den Wärmeübergang an den Grenzflächen, die Tropfengröße sowie die Massenverteilung sind. Bei gleichbleibender Massenstromdichte, aber kleineren Tropfen, ergibt sich ein besserer Kühlungseffekt im Kern der Strömung sowie in Wandnähe. Bei Verteilungen des Tropfendurchmessers nimmt der durchschnittliche Tropfendurchmesser aufgrund der kompletten Verdampfung der kleinen Tröpfchen zu.
- AP3: Der erste ATHLET Trainingskurs wurde von der GRS vom 21.03. – 31.03.22 durchgeführt und die Doktoranden haben erfolgreich daran teilgenommen. Dabei wurden grundlegende und auch spezifischere Probleme simuliert. Ebenfalls konnte die KIMOF Anlage in ATHLET weiter verfeinert werden und ergibt nun bessere Ergebnisse.
- AP4: Das Projektmeeting vom 04.04.2022 hat online stattgefunden. Dabei wurden die ersten Ergebnisse der jeweiligen Arbeitspakete besprochen und welche Arbeiten weiterhin geplant sind. Des Weiteren wurde der nächste Termin für das erste Projekttreffen in Präsenz geplant, welches vom 10. – 11.10.2022 in München stattfinden soll.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die CHF-Experimente werden weitergeführt, anschließend wird mit den Post-CHF Experimenten gestartet. Ebenfalls werden die Bilanzversuche noch einmal wiederholt sowie Wiederholungsversuche durchgeführt. Parallel dazu, wird die Bestellung des Ein-Stab-Kanals vorangebracht.
- AP2: Es werden weitere CFD Untersuchungen bezüglich der Tropfengeschwindigkeit, Tropfengröße und Tropfenverteilung durchgeführt. Des Weiteren werden diese Ergebnisse mit Korrelationen und Ergebnissen aus der Literatur verglichen und validiert. Ebenfalls wird sich mit der Identifizierung der wichtigen Einflussparameter und den dimensionslosen Kennzahlen auf den Post-CHF Wärmeübergang beschäftigt.
- AP3: Derzeit sind keine weiteren Arbeiten für und mit ATHLET geplant.
- AP4: Vorbereitung auf das Projekttreffen am 10. – 11.10.2022 in München. Erarbeitung der Flyer für die Projektpräsentationen. Ebenfalls werden Vorlagen für die Meilensteine erarbeitet sowie für die Erfassung von Projektinformationen, wie beispielsweise studentische Arbeiten.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 062B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2021 bis 31.05.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 846.526,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Starflinger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Ziel des Verbundvorhabens ist die Untersuchung des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich mit Freon, CO<sub>2</sub> und Wasser. Mit der Zusammenarbeit zwischen dem IATF vom KIT (02 NUK 062A) und dem IKE der Universität Stuttgart (02 NUK 062B) sowie dem LES der TU München (02 NUK 062C) werden die experimentellen Daten in eine umfangreiche Datenbank eingebunden. Diese wird dem gesamten Verbundprojekt zur Verfügung gestellt und der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und den Post-CHF Wärmeübergang wird analysiert. Mit Hilfe dieser Datenbank und einem verbesserten Verständnis der mechanistischen Vorgänge werden vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, und gegebenenfalls um neue Modelle erweitert. Numerische Simulationen mit CFD-Programmen sollen zum besseren Verständnis der zu untersuchenden Phänomene beitragen und die experimentellen Arbeiten unterstützen. Die Entwicklung von Fluid-zu-Fluid Skalierungsmodellen ermöglicht die direkte Übertragung der Versuchsdaten der drei unterschiedlichen Fluide. Die Implementierung der neu entwickelten Modelle und die Validierung gegen experimentelle Daten wird durch die GRS (02 NUK 062D) unterstützt und erhöht die Aussagekraft des STH-Programms ATHLET für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden. Die anspruchsvollen wissenschaftlichen Aufgaben leisten einen wichtigen Beitrag zum Kompetenzerhalt der Kerntechnik und zur Ausbildung des kerntechnischen Nachwuchses.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Experimentelle Untersuchungen. Experimente zum CHF und Post-CHF Wärmeübergang mit CO<sub>2</sub>, Freon und Wasser werden durchgeführt. Als Referenzstrecke dient ein 10 mm Kreisrohr. Ergänzend werden Experimente mit einem 15,8 mm Kreisrohr vom LES und einem 6 mm Kreisrohr vom IKE durchgeführt. Der Geometrieinfluss und das Tropfenverhalten wird mit einem Ein-Stab-Kanal mit optischem Zugang vom IATF untersucht.
- AP2: Modellentwicklung. Modelle für CHF und Post-CHF Wärmeübergang und entsprechende Fluid-zu-Fluid Skalierungen werden entwickelt. Für die Entwicklung von Modellen und für die Bewertung/Validierung der Modelle steht jeweils die experimentelle Datenbasis zur Verfügung.
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung. Dieses AP fokussiert sich auf die Weiterentwicklung des STH-Programms ATHLET.
- AP4: Management/Koordination. Koordination und Management des Verbundprojekts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Modifikation der SCARLETT-Anlage zur Durchführung von Experimenten auch bei unterkritischen Drücken wurde abgeschlossen. Die Druckreduzierung wurde anhand eines Diffusionsventils vor der eigentlichen Messstrecke realisiert. Hierdurch ist es möglich, die für die im Vorhaben durchzuführenden Versuche vorgesehenen reduzierten Drücke zuverlässig einzustellen. Dies wurde zunächst anhand von CHF- und Post-CHF-Versuchen mit einer bereits bestehenden Teststrecke (Konzeptstrecke) von 1 cm Rohrdurchmesser verifiziert. Es konnten bereits 29 CHF- Punkte und 20 Post-CHF-Experimente aus der mit den anderen Projektpartnern abgestimmten Versuchsmatrix ausgemessen werden. Hierbei konnte sich der für die experimentellen Arbeiten zuständige Mitarbeiter detailliert mit der Funktionsweise der SCARLETT-Anlage im Bereich unterkritischer Drücke vertraut machen und die stabilen Betriebsparameter identifizieren. Parallel zu den Versuchen in der Konzeptstrecke wurde mit den Arbeiten zum Aufbau der neuen Versuchsstrecken (Kreisrohr 10 mm + Kreisrohr 6 mm) begonnen.
- AP2: Im Zuge der Einarbeitung hat sich der für die Modellentwicklung zuständige Mitarbeiter mittels einer intensiven Literaturrecherche mit den theoretischen Grundlagen und dem aktuellen Stand der Technik hinsichtlich Siedekrise (Grundlagen zu DNB, Vertiefungen zu Dryout), kritischer Wärmestromdichte und deren Vorhersagemethoden vertraut gemacht. Zur Ableitung von Empfehlungen für in ATHLET zu implementierende Korrelationen zum Dryout bei erhöhten Drücken nahe des kritischen Drucks (M2.2.1) wurden aus der Literatur geeignete Korrelationen vorselektiert. Ebenfalls basierend auf Literaturquellen wurde mit dem Aufbau einer Datenbank zur kritischen Wärmestromdichte mit Fokus auf dem höheren Druckbereich jenseits des reduzierten Druckes von 50 % begonnen, die derzeit ca. 2000 Datenpunkte enthält. Aus den vorselektierten Korrelationen wurde eine erste Korrelation aus der Literatur (Shah 1987) in ein Matlab-Skript implementiert und anhand eines Teils der Datenbank evaluiert. Dabei wurde festgestellt, dass sich für den höheren Druckbereich signifikante Abweichungen der Vorhersage von den Experimenten ergeben.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Der Aufbau der neuen Teststrecke wird abgeschlossen. Die Software für die Versuchsteuerung und die Messwerverfassung wird angepasst und hinsichtlich der neuen Messmethoden erweitert. Nach Fertigstellung der neuen Teststrecke werden Dryout- und Postdryout- Experimente entsprechend der mit den anderen Projektpartnern abgestimmten Versuchsmatrix durchgeführt. Für die Experimente mit variablem Wärmestromdichten-Profil wird ein Konzept zur abschnittsweise unterschiedlichen Jouleschen Beheizung entwickelt.
- AP2: Die derzeit bestehende CHF-Datenbank wird mit weiteren Literaturdaten vergrößert. Diese Datenbank wird sukzessive um die im vorliegenden Projekt erzeugten experimentellen Daten erweitert. Darüber hinaus werden weitere Filterkriterien (Überprüfung der Erfüllung der Wärmebilanz, Duplikationsprüfung, Prüfung der Reproduzierbarkeit) angewendet um eine möglichst hohe Qualität der Datenbank zu erreichen. Weitere Korrelationen der Literatur (z. B. Katto und Ohno 1984, Liu und Winterton 1991, Song et al. 2021) werden in Matlab implementiert und mithilfe der Datenbank evaluiert, um einen Vergleich zwischen den verschiedenen Korrelationen im Hinblick auf ihre Performance im hohem Druckbereich anzustellen. Auf Grundlage dieses Vergleichs wird eine Empfehlung für eine Korrelation abgegeben, um den Meilenstein M2.2.1 abzuschließen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 062C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2021 bis 31.05.2025		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 859.872,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Spliethoff

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Ziel des Verbundvorhabens ist die Untersuchung des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich mit Freon, CO<sub>2</sub> und Wasser. Mit der Zusammenarbeit zwischen dem IATF vom KIT (02 NUK 062A) und dem IKE der Universität Stuttgart (02 NUK 062B) sowie dem LES der TU München (02 NUK 062C) werden die experimentellen Daten in eine umfangreiche Datenbank eingebunden. Diese wird dem gesamten Verbundprojekt zur Verfügung gestellt und der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und den Post-CHF Wärmeübergang wird analysiert. Mit Hilfe dieser Datenbank und einem verbesserten Verständnis der mechanistischen Vorgänge werden vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, und gegebenenfalls um neue Modelle erweitert. Numerische Simulationen mit CFD-Programmen sollen zum besseren Verständnis der zu untersuchenden Phänomene beitragen und die experimentellen Arbeiten unterstützen. Die Entwicklung von Fluid-zu-Fluid Skalierungsmodellen ermöglicht die direkte Übertragung der Versuchsdaten der drei unterschiedlichen Fluide. Die Implementierung der neu entwickelten Modelle und die Validierung gegen experimentelle Daten wird durch die GRS (02 NUK 062D) unterstützt und erhöht die Aussagekraft des STH-Programms ATHLET für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden. Die anspruchsvollen wissenschaftlichen Aufgaben leisten einen wichtigen Beitrag zum Kompetenzerhalt der Kerntechnik und zur Ausbildung des kerntechnischen Nachwuchses.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Experimentelle Untersuchungen. Experimente zum CHF und Post-CHF Wärmeübergang mit CO<sub>2</sub>, Freon und Wasser werden durchgeführt. Als Referenzstrecke dient ein 10 mm Kreisrohr. Ergänzend werden Experimente mit einem 15,8 mm Kreisrohr vom LES und einem 6 mm Kreisrohr vom IKE durchgeführt. Der Geometrieinfluss und das Tropfenverhalten wird mit einem Ein-Stab-Kanal mit optischem Zugang vom IATF untersucht.
- AP2: Modellentwicklung. Modelle für CHF und Post-CHF Wärmeübergang und entsprechende Fluid-zu-Fluid Skalierungen werden entwickelt. Für die Entwicklung von Modellen und für die Bewertung/Validierung der Modelle steht jeweils die experimentelle Datenbasis zur Verfügung.
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung. Dieses AP fokussiert sich auf die Weiterentwicklung des STH-Programms ATHLET.
- AP4: Management/Koordination. Koordination und Management des Verbundprojekts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Der für die elektrische Beheizung des Vorerhitzers erforderliche Gleichrichter wurde ersetzt. Um einen erneuten Ausfall zu verhindern, wurden mit den Herstellern von Gleichrichter und Leistungselektronik mögliche Fehlerquellen erörtert und geprüft. Hierbei stellte sich heraus, dass die elektrische Isolierung stromführender Komponenten nicht gegeben ist. Durch die hohe Zahl potentieller Kontaktstellen gestaltet sich die Problemanalyse komplex. Zusätzlich wurden für eine bessere Einstellgenauigkeit des Drucks Anpassungen durch den Hersteller der eingesetzten Regelarmatur durchgeführt. Erste Tests zeigten eine deutliche Verbesserung. Zudem wurden in Zusammenarbeit mit dem TÜV und der Kraftanlagen München GmbH die Planungen zur neuen Verdampferstrecke fortgeführt und weitere Voruntersuchungen zum Temperaturmesskonzept durchgeführt. Zudem wurden Wartungs- und Instandhaltungsarbeiten sowie die verpflichtende und jährlich wiederkehrende Prüfung der Sicherheitssysteme durch den TÜV durchgeführt.
- AP2: Entsprechend des Zeitplans wurde im Berichtszeitraum der Meilenstein M2.1.1 erreicht. Dafür wurde durch Anwendung ausgewählter Korrelationen aus der Literatur und deren Vergleich mit der aus Literaturdaten erstellten Datenbank eine geeignete Korrelation zur kritischen Wärmestromdichte unter DNB-Bedingungen ausgewählt. Insgesamt wurden sieben Korrelationen untersucht und mit 347 Datenpunkten verglichen. Auf dieser Basis wurde die Korrelation von Song et al. (Song, M.; Liu, X.; Cheng, X. (2021): Prediction of critical heat flux (CHF) for the high-pressure region in uniformly heated vertical round tubes. In: Annals of Nuclear Energy 158, p. 108303) vorgeschlagen. Für die CFD-Untersuchungen wurde in Absprache mit den Projektpartnern auf die Software OpenFOAM umgestellt und mit der Entwicklung eines Modells zur numerischen Untersuchung der Siedekrise beim Strömungssieden begonnen.
- AP3: Teilnahme an dem vom Projektpartner GRS organisierten ATHLET-Basiskurs

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Um zukünftigen Ausfällen des Gleichrichters vorzubeugen, soll die elektrische Isolierung des Vorerhitzers grundlegend überarbeitet und optimiert werden. Anschließend sind die Messkampagnen mit der bestehenden Teststrecke (ID 15,8 mm) geplant. Gleichzeitig soll der Teststreckenumbau final mit dem TÜV und Kraftanlagen München abgestimmt und folgend mit der Materialbeschaffung begonnen werden. Zusätzlich ist die Datenbankstruktur zum Austausch der experimentellen Daten zwischen den Projektpartnern durchzuführen.
- AP2: In kontinuierlicher Weise sollen die aus Literaturdaten erstellte Datenbank zur kritischen Wärmestromdichte erweitert und bereinigt sowie darauf aufbauend Korrelationen und Modellen validiert werden. Zudem soll ein ausgewähltes mechanistisches Modell basierend auf den physikalischen Vorgängen beim Sieden zunächst als 0D-Modell (in Python) implementiert und anhand der Datenbank getestet werden. Nach Aufbau eines funktionierenden CFD-Modells soll die Einbindung mechanistischer Modelle geprüft und getestet werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Gesellschaft für Anlagen-und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, Schwertnergasse 1, 50667 Köln		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 062D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2021 bis 31.05.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 334.133,33 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Weyermann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Ziel des Verbundvorhabens ist die Untersuchung des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich mit Freon, CO<sub>2</sub> und Wasser. Mit der Zusammenarbeit zwischen dem IATF vom KIT (02 NUK 062A) und dem IKE der Universität Stuttgart (02 NUK 062B) sowie dem LES der TU München (02 NUK 062C) werden die experimentellen Daten in eine umfangreiche Datenbank eingebunden. Diese wird dem gesamten Verbundprojekt zur Verfügung gestellt und der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und den Post-CHF Wärmeübergang wird analysiert. Mit Hilfe dieser Datenbank und einem verbesserten Verständnis der mechanistischen Vorgänge werden vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, und gegebenenfalls um neue Modelle erweitert. Numerische Simulationen mit CFD-Programmen sollen zum besseren Verständnis der zu untersuchenden Phänomene beitragen und die experimentellen Arbeiten unterstützen. Die Entwicklung von Fluid-zu-Fluid Skalierungsmodellen ermöglicht die direkte Übertragung der Versuchsdaten der drei unterschiedlichen Fluide. Die Implementierung der neu entwickelten Modelle und die Validierung gegen experimentelle Daten wird durch die GRS (02 NUK 062D) unterstützt und erhöht die Aussagekraft des STH-Programms ATHLET für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden. Die anspruchsvollen wissenschaftlichen Aufgaben leisten einen wichtigen Beitrag zum Kompetenzerhalt der Kerntechnik und zur Ausbildung des kerntechnischen Nachwuchses.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Experimentelle Untersuchungen. Experimente zum CHF und Post-CHF Wärmeübergang mit CO<sub>2</sub>, Freon und Wasser werden durchgeführt. Als Referenzstrecke dient ein 10 mm Kreisrohr. Ergänzend werden Experimente mit einem 15,8 mm Kreisrohr vom LES und einem 6 mm Kreisrohr vom IKE durchgeführt. Der Geometrieinfluss und das Tropfenverhalten wird mit einem Ein-Stab-Kanal mit optischem Zugang vom IATF untersucht.
- AP2: Modellentwicklung. Modelle für CHF und Post-CHF Wärmeübergang und entsprechende Fluid-zu-Fluid Skalierungen werden entwickelt. Für die Entwicklung von Modellen und für die Bewertung/Validierung der Modelle steht jeweils die experimentelle Datenbasis zur Verfügung.
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung. Das Arbeitspaket 3 fokussiert sich auf die Weiterentwicklung des Programms ATHLET. Es setzt sich aus drei Teilarbeitspaketen zusammen, nämlich (a) der Bereitstellung und Evaluierung der zum Anfang des Projekts neuesten ATHLET-Version, (b) Implementierung der in AP2 entwickelten Modelle in das ATHLET

Programm und (c) Bewertung oder Validierung der erweiterten ATHLET-Version anhand der Versuchsdaten aus AP1.

AP4: Management/Koordination. Koordination und Management des Verbundprojekts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum erfolgten Arbeiten im TP-AP3.1 (Aktualisierung von ATHLET) und TP-AP4.1 (Koordination Verbundprojekt):

TP-AP3.1:

Die erste erweiterte ATHLET-Version wurde an die Projektpartner übergeben. Diese besitzt eine Schnittstelle an die Stoffwertbibliothek Refprop mit deren Hilfe nun auch die Medien R134a und CO<sub>2</sub> als Arbeitsfluide in ATHLET-Simulationen verwendet werden können. Erste auftretende Probleme beim Einsatz der neuen Version wurden behoben.

Damit die Projektpartner auf einfache Weise eigene CHF-Korrelationen in ATHLET implementieren und testen können, wurde die Möglichkeit geschaffen eigene CHF- Korrelationen mittels eines sogenannten Plugins in ATHLET einbinden zu können. Um den Projektpartnern ein Referenzplugin zur Verfügung zu stellen, wurde eine Literaturrecherche zu Korrelationen für den kritischen Wärmestrom nahe dem kritischen Druck für Wasser/CO<sub>2</sub>/R134a durchgeführt. Besonders eine Korrelation von Song et al. von 2021 stach aufgrund des abgedeckten Parameterbereichs und der Kompatibilität mit in ATHLET verfügbaren Größen hervor. Die Korrelation wurde als Plugin implementiert. Testrechnungen mit einem einfachen Datensatz für a) ein umflossenes Heizstab-bündel und b) Fluss innerhalb eines beheizten Rohres zeigen unter verschiedenen Bedingungen realistische Ergebnisse, die zwischen denen der standardmäßig von ATHLET verwendeten Korrelationen und dem der Groeneveld Look Up Table liegen. Zur Verifizierung der Implementierung erfolgte auch ein Vergleich mit händisch bestimmten Lösungen.

TP-AP4.1:

Es fanden Koordinierungsgespräche mit den Projektpartnern statt.

TP-AP4.2:

Die GRS veranstaltete für die Projektpartner einen Einführungskurs in das Programm ATHLET. Von den Projektpartnern nahmen jeweils zwei Doktoranden an dem Kurs teil. Aufgrund von Corona wurde der Kurs nicht als einwöchige Präsenzveranstaltung durchgeführt, sondern als zweiwöchiger Onlinekurs.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

TP-AP3.1:

Es ist noch geplant, eine Referenzkorrelation für den Post dry-out Wärmeübergang in ATHLET zu implementieren. Die hierfür zu verwendende Korrelation wird von den Projektpartnern identifiziert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 063</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 555.091,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hurtado	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des vorliegenden Vorhabens wird eine nichtinvasive Methode auf Basis von Nullleistungsmessmethoden entwickelt, die einerseits eine Kernmaterialverifikation im unterkritischen Reaktorzustand erlauben und die andererseits quantitative Aussagen über die Kernmaterialzusammensetzung zulassen, wobei der Fokus auf Nullleistungsreaktoren und kleinere kritische Anordnungen gelegt wird. Nullleistungsmessmethoden erlauben eine zuverlässige Messung der reaktorkinetischen Parameter, wie beispielsweise das Rossi-Alpha, welches eine invariante Größe des zugrundeliegenden Systems für einen definierten Auslegungszustand der kritischen Anordnung darstellt. Würde sich das Rossi-Alpha von Inspektion zu Inspektion ändern, so wäre das nur durch eine Änderung in der Spaltzonenkonfiguration erklärbar.

Im geplanten Projekt werden verschiedene Nullleistungsmessverfahren hinsichtlich ihrer Eignung zur zuverlässigen Ermittlung von Änderungen im Kernmaterialinventar unter Berücksichtigung der IAEA- und EURATOM-Anforderungen umfassend getestet und bewertet. Im Ergebnis wird eine Methode bereitgestellt, die im Rahmen von Kernmaterialkontrollen als komplementäre Methode zum bestehenden CT zuverlässig angewendet werden kann und die keinen wesentlichen Eingriff in den Reaktorbetrieb erforderlich macht. Abhängig von den erzielbaren Messabweichungen lassen sich quantitative Aussagen über die Kernmaterial- bzw. Kernkonfiguration machen, wodurch ein wesentlicher Beitrag zur Erhöhung der Proliferationssicherheit geleistet werden kann.

Es gibt keinen Bezug zu anderen Vorhaben.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Aufbereitung von Nullleistungsmessverfahren an Kernreaktoren
- AP2: Strahlungstransportsimulationen
- AP3: Entwicklung robuster Auswertalgorithmen mit Fokus auf Methoden des Machine/Deep Learnings
- AP4: Erweiterung der Nullleistungsmessverfahren auf Proton-Rückstoß-Detektoren
- AP5: Nullleistungsmessungen am AKR-2 einschließlich umfassender Bewertung aller dabei eingesetzten Methoden
- AP6: Bewertung des entwickelten Verfahrens bezüglich seiner Anwendbarkeit für Inspektionen

## 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.4: In diesem Arbeitspunkt sollen, gemäß dem letzten Bericht, Tests mit den geänderten Detektorvorverstärkern (GBS He3-Duo) durchgeführt werden. Durch die Modifikationen sol-

len Probleme gelöst werden (u. a. das Auftreten von Fehlimpulsen), die mit dem ersten Prototyp entdeckt wurden. Während des Berichtszeitraums wurden diese Detektoren noch nicht geliefert. Die Tests sind weiterhin für diesen Arbeitspunkt geplant.

- AP2.1: Ein bestehendes MCNP Modell des AKR-2 wurde überarbeitet und mit experimentellen Daten verglichen. Die Ergebnisse sind vielversprechend. Es sind jedoch weitere Überarbeitungen notwendig. Der Meilenstein (M) 3 wird dennoch als erreicht betrachtet.
- AP2.2: Es wurden Simulationen mit einer geänderten Spaltzonenkonfiguration durchgeführt. Die durch die Simulationen berechneten Rossi-Alpha-Werte zeigen eine statistisch signifikante Abweichung, so dass schon eine kleine Änderung der Spaltzonenkonfiguration entdeckt werden kann. Weitere Variationen und eine Optimierung des Modells ist dennoch nötig.
- AP3.1: Die Validierung des gewählten Auswertalgorithmus mittels numerischer Methoden konnte noch nicht abschließend gezeigt werden. Die Simulationen durch das verbesserte MCNP Modell des AKR-2 bestätigt den Auswertalgorithmus, deswegen gilt M4 als erreicht.
- AP3.2: Die bisherigen Erkenntnisse zeigen keine Verbesserung gegenüber analytischen Verfahren. Die statistischen Methoden zeigen jedoch weitere Verbesserungsmöglichkeiten.
- AP4.2: Die benötigten Proton-Rückstoßdetektoren wurden geliefert und es konnte eine Messkette aufgebaut werden. Der M5 ist somit erreicht.
- AP4.3: Im Rahmen einer studentischen Arbeit wurde ein erster Prototyp einer Signalauswertelektronik erarbeitet. Es wird eine Live-Pulsformanalyse mithilfe eines FPGAs durchgeführt.
- AP5.1: Es wurden weitere Messungen (Rossi-  $\alpha$ , Feynman- $\alpha$ ) in verschiedenen Reaktorzuständen durchgeführt. Außerdem wurde die Spaltzonenkonfiguration geändert und die Ergebnisse zeigen mit dem Verfahren aus AP3.1 einen statistisch signifikanten Unterschied.
- AP5.2: Erste Tests mit den neuen Proton-Rückstoßdetektoren wurden durchgeführt und die Signalauswertelektronik wurde erfolgreich evaluiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Es sind weitere Strahlungstransportsimulationen mit MCNP (bzw. anderen Codes wie Serpent, ...) zur Validation der experimentellen Ergebnisse, mit Fokus auf Geometrie der Spaltzonenkonfiguration als auch der Detektorausmaße und -Lage, geplant. Im Rahmen einer SHK Tätigkeit soll das aktuelle MCNP Modell in ein Serpent Modell übertragen werden.
- AP3: Abschließende Validierung des Auswertalgorithmus durch analytische und numerische Rechnungen. Weitere Verbesserungen, wie beispielsweise eine Driftkorrektur, sollen implementiert und validiert werden. Außerdem sollen räumliche Effekte untersucht werden.
- AP4: Die entwickelte Signalauswertelektronik soll evaluiert und getestet werden. Des Weiteren soll die Zählratenfestigkeit überprüft werden.
- AP5: Die bisher nicht gelieferten neuen Detektoren sollen auf Zählratenfestigkeit und Zuverlässigkeit getestet werden. Es sollen weitere Messungen mit einer veränderten Spaltzonenkonfiguration durchgeführt werden. Erste Messungen (Rossi-  $\alpha$ , Feynman- $\alpha$ ) mit den Proton-Rückstoßdetektoren sollen erfolgen. Bei allen Messungen soll besonders auf die Reproduzierbarkeit geachtet werden. Durch Verbesserung des Auswertalgorithmus soll die erforderliche Messzeit weiter reduziert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 067A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package (HCP), Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 568.735,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Macian-Juan	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

HCP ist eines der fortschrittlichsten integrierten Pakete zur Durchführung umfassender, sicherheitstechnisch relevanter, statischer und dynamischer Analyse des HTR, insbesondere des Kugelbenttyps. Übergeordnetes Ziel des Vorhabens ist es, die Funktionalität des HCP zu einem in seinen Grundfunktionen verifizierten und validierten Werkzeug zur Simulation sicherheitsrelevanter Abläufe im Primärkreis eines HTR weiterzuentwickeln und zentrale Prozesse wie das Verfahren der Regelstäbe und des Spaltprodukttransports in einem sog. „full core“ abzubilden.

In der aktuellen HCP-Version können die Steuerstäbe jedoch nur rudimentär abgebildet werden. Zurzeit kommt der sogenannte „grey-curtain“ zum Einsatz. Im Teilprojekt A werden die HCP-Eingabe und das Neutronik-Modul in HCP erweitert, um das Kernverhalten mit dem Stabfahren bei stationären und transienten Rechnungen durch die Änderung der Nuklidichte abzubilden. Durch Benchmarkrechnungen, bevorzugt auf Basis einschlägiger IAEA CRPs, auch unter Nutzung des Monte-Carlo-Codes SERPENT für einen geeigneten Testfall und Validierungsrechnungen (z. B. HTR-10, KATHER) werden die neu implementierten Ansätze überprüft. Zusätzlich wird die Programmierung und die Benutzerfreundlichkeit verbessert, und gleichzeitig wird die Code-Dokumentation erweitert.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Neutronische Modellierung des Regelstabverhaltens

AP3: Verbesserung an Programmierung und Erweiterung der Code-Dokumentation

AP4: Dokumentation der erzielten Ergebnisse

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Struktur des Steuerungssystems des gasgekühlten Hochtemperaturreaktors mit Kugelhaufen wurde untersucht und durch Aufarbeitung von einschlägiger Literatur bestätigt. Unter Berücksichtigung der Sicherheit und der technischen Bereitschaft wurde das folgende Regelungsschema festgelegt: Im Reflektor werden mehrere spezielle Kanäle eingerichtet, in die der Regelstäbe und die Absorberkugeln eingesetzt werden. Auf der Grundlage dieses Schemas wurden mehrere Testläufe durchgeführt, um das Systemverhalten durch explizite Variation des Borgehalts in den Reflektorknoten vorläufig zu untersuchen, wobei sich die eingeführte Reaktivität sowohl für den Normalbetrieb als auch für die Abschaltung als ausreichend erwies. Der Algorithmus zur Änderung der Nuklidichten während der Simulation wurde vorläufig entwickelt, und seine Vor- und Nachteile wurden zusammengefasst.
- AP3: Der Code wurde kompiliert und auf der Workstation (Betriebssystem: Ubuntu 20.04.4 LTS) installiert. Der Gitblit-basierte Git-Server wurde eingerichtet und der Zugang zu diesem Server wurde den beiden Doktoranden für die gemeinsame Arbeit gewährt. Der engagierte IT-Mitarbeiter (MATSE) wird voraussichtlich im August oder September 2022 in das Projekt einsteigen.
- AP4: Laut Zeitplan hat das Arbeitspaket noch nicht begonnen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Fortführung der Untersuchung des Algorithmus zur Änderung der Nuklidichten während der Simulation und die Implementierung des dedizierten Kanals für die Steuerstäbe und die Absorberkugeln durch Änderung des Quellcodes.
- AP3: Verstehen der Codestruktur und Vervollständigung des Benutzerhandbuchs.
- AP4: Laut Zeitplan beginnt das Arbeitspaket im zweiten Quartal 2023.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Becker Technologies GmbH, Rahmannstr. 11, 65760 Eschborn		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 067B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package (HCP), Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 386.775,38 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Freitag	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

HCP ist eines der fortschrittlichsten integrierten Pakete zur Durchführung umfassender, sicherheitstechnisch relevanter, statischer und dynamischer Analyse des HTR, insbesondere des Kugelbenttyps. Übergeordnetes Ziel des Vorhabens ist es, die Funktionalität des HCP zu einem in seinen Grundfunktionen verifizierten und validierten Werkzeug zur Simulation sicherheitsrelevanter Abläufe im Primärkreis eines HTR weiterzuentwickeln und zentrale Prozesse wie das Verfahren der Regelstäbe und des Spaltprodukttransports in einem sog. „full core“ abzubilden.

Die Freisetzung von Nukliden wie Jod, Cäsium, Strontium und Silber aus einem Brennelement kann mit dem stand-alone Modul STACY bereits abgebildet werden. Im Teilprojekt B soll mit HCP eine räumlich und zeitlich aufgelöste Partikelbruchanteil- und Freisetzungsberechnung ermöglicht werden, welche in früheren Studien vereinfacht nur mittels Quelltermberechnung zur Anwendung kamen. Diese Funktionalität soll in den sogenannten „full-core“-Ansatz in HCP eingebaut werden, bei der die Spaltproduktfreisetzung aus einer hinreichend großen Anzahl von Brennelementen zonenweise berechnet wird.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP2: Weiterentwicklung und Überprüfung der Modellierung zur Abbildung des Nuklidtransports
- AP2.1: Weiterentwicklung der Modellierung zur Abbildung des Nuklidtransports für ein sog. „full core“
- AP2.2: Anwendungsrechnung inklusive Spaltproduktverhalten für einen HTR kleiner Leistung

## 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2.1: Das STACY (Source Term Analysis Code System) HCP-Modul beschreibt die Spaltprodukt-Freisetzung und den Transport im Primärkreis unter Normal- und Unfallbedingungen. Die 2003/95er Version basiert auf FORTRAN 90 Legacy-Codes (FRESCO, PANAMA, SPATRA) und wurde zur Integration in HCP in C++ übersetzt. Ziele dieses Arbeitspaketes sind die weitere Entwicklung und das Testen dieser Integration, d. h. eine Quellterm-Berechnung für einen kleinen HTR mit einem einzigen

Eingabemodell. Als Testfall wird/wurde jeweils eine vereinfachte Reaktor- und Pebble-Geometrie als Eingabe für STACY betrachtet.

Die durchgeführten Arbeiten im Berichtszeitraum bestanden in der partiellen Durchdringung des unzureichend dokumentierten STACY Codes, physikalisch und programmiertechnisch. Diese Durchdringung ist unabdingbar, um zu verstehen, wie das HCP-Package arbeitet und wie die Eingabe Datei aufgebaut ist. Zwar stehen Testfälle zur Verfügung, wie z. B. die „Simplified Reactor Test Case Serie“, die jedoch mangels Dokumentation nicht problemlos nachzuvollziehen bzw. nachzurechnen sind, sondern es erforderlich machen, neben Literaturstudium und Sichtung einschlägiger Promotionsarbeiten - wie im Berichtszeitraum schwerpunktmäßig praktiziert - die Spaltproduktfreisetzungsmechanismen und deren Umsetzung in der STACY Implementierung in HCP zu verstehen. Dabei wurden für spätere Nutzer jeweils erläuternde Kommentare im Programm festgehalten. Die STACY Spaltproduktrechnungen im Entwickler (Debug) Modus erlauben das schrittweise Verständnis der Spaltproduktfreisetzung in das Kühlmittel und die gegebenenfalls schrittweise Ergänzung und Implementierung bei fehlenden oder fehlerhaften Programmteilen. So fehlte u. a. das Programmteil zur Bestimmung der spontanen Freisetzung bzw. der Transfer von Iod-131 in die Graphitmatrix, was zu einem Programmabbruch führte. Die Implementierung der Funktion, welche die I-131 Nuklide in der Pufferschicht mit der spontanen Freisetzung verknüpft und das Testen dieser Verbesserungen/Ergänzung ist ein konkretes und typisches Beispiel für die systematische Durchdringung, Verbesserung und Dokumentation des vorliegenden Programms. Aktuell wird das Modul „getNuclideAmountofLayers“ implementiert, dessen Fehlen das Programm zum Abbruch brachte. Dieses wird aktuell schrittweise überprüft und getestet.

Folgende Prozesse können als implementiert und verstanden betrachtet werden: a) Die von defekten TRISO-Partikeln herrührenden Spaltprodukte (deren Anzahl über empirische Funktionen bestimmt und von Abbrand und Temperatur abhängen) die direkt in die Graphitmatrix übertragen werden; b) Die Beschreibung des Spaltprodukt-Transports in intakten, beschichteten Partikeln über Fick'sche Diffusion. Implementiert, aber bezüglich der jeweiligen Lauffähigkeit noch nicht bestätigt - beschrieben jeweils über das Fick'sche Diffusionsgesetz - sind die Beschreibung der Volumendiffusion, vom Graphitkorn zur Graphitoberfläche und die Porendiffusion.

#### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Fortführung der schrittweisen Verfolgung und Dokumentation noch nicht integrierter, überwiegend in C++geschriebener Teile zur Siliziumkorrosion, der Temperaturzersetzung unter Unfallbedingungen (bei  $T > 1600$  °C wird die Hauptbarriere (SiC) zur Freisetzung durch Korrosion abgebaut, bei  $T > 2000$  °C thermisch zersetzt), der Sorption von metallischen Spaltprodukten an Oberflächen sowie weiterhin zum sogenannten Recoil, der Spaltproduktfreisetzung aus der Beschichtung.

Die Priorität liegt für den nächsten Berichtszeitraum auf dem STACY stand-alone Modus, um Ergebnisse früherer Rechenläufe nachzuvollziehen.

#### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 068A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektrischer Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2022 bis 31.12.2024		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.677.885,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Vorhaben ROBIN werden neue robuste bildgebende Messverfahren entwickelt, mit denen es in Zukunft möglich sein wird, Großversuchsanlagen der Reaktorsicherheitsforschung so zu instrumentieren, dass thermohydraulische Daten in CFD-Qualität, das heißt mit sehr hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung, erfasst werden können. Solche Messtechniken existieren heute für Einzeleffektstudien vorrangig bei moderaten Betriebsbedingungen, etwa Luft-Wasser-Betrieb bei Umgebungsdruck und Umgebungstemperatur. Heiß- und druckfeste Instrumentierung ist dagegen immer noch sehr selten. Der Fokus des Vorhabens liegt auf neuen Ansätzen, die tatsächliche „Instrumentierungslücken“ betreffen, die im Rahmen einer kritischen Analyse des Standes der Technik identifiziert wurden. Mit dem Konzept eines „bildgebenden Rohres“ wird erstmalig die Analyse von Zweiphasenströmungen in Steigleitungen entlang der Rohrachse, etwa für instabile Zweiphasenströmungen, ermöglicht. Ein Thermoanemometriegittersensor wird für die Wassergeschwindigkeitsmessungen weiterentwickelt. Mit der elektrischen Impedanztomographie wird die eingriffsfreie Erfassung von Zweiphasenströmungen in großen Rohrleitungen ermöglicht. Alle entwickelten Messverfahren werden im Rahmen laufender oder separater experimenteller Programme kooperativ eingesetzt.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Der Gesamtarbeitsplan des Verbundes sieht die folgenden drei Arbeitspakete (AP) vor.

AP1: Sensorische Komponenten für hohe Temperaturen und Drücke

- Fügen keramischer und metallischer Werkstoffe für die Sensorintegration in Komponenten von Thermohydraulikversuchsständen (TUD-WKET)
- Miniaturisierte Wandler auf Keramiksubstraten (TUD-IAVT, TUD-PBM)
- Temperaturfeste Elektronik für Versuchsanlagen (TUD-IAVT)

AP2: Entwicklung und Qualifizierung elektrischer Mess- und Bildgebungstechnik für Thermohydraulikversuchsanlagen

- Elektrische Impedanztomographie (FAU)
- Axiale Bildgebung in Rohren (TUD-WKET)
- TAGS zur orts- und zeitaufgelösten Geschwindigkeitsmessung für Dampf/Wasser-Zweiphasenströmungen (TUD-PBM)

AP3: Einsatz der neuen Mess- und Bildgebungstechnik in thermohydraulischen Studien

- Experimentelle Studien mit EIT-Sensoren
- Experimentelle Studien zu Zweiphaseninstabilitäten an GENEVA
- Experimentelle Studien zur Hochdruck-Dampfkondensation an TOPFLOW
- Experimentelle Studien zur Pool-Hydrodynamik an THAI

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Am 25.03.2022 fand ein erstes ROBIN Auftakttreffen mit allen Projektpartnern statt, was zum gegenseitigen Kennenlernen diente und in welchem die projektspezifischen Aufgaben sowie die nächsten Arbeitsschritte besprochen wurden.

- AP1: Zwischen TUD-IAVT und TUD-PBM wurden Anforderungen und Designgrundkonzepte für miniaturisierte Wandler auf einem gemeinsamen Arbeitstreffen am 5. Mai 2022 besprochen und definiert. Dazu stellte TUD-IAVT sein Portfolio an Dünn- und Dickschichttechnologien vor. Außerdem wurden grundlegende Anforderungen an temperaturfeste Vorverstärker und Sendeverstärker für Temperaturen bis 200 °C festgelegt. In einem gemeinsamen Arbeitstreffen am 19.05.2022 wurden zwischen TUD-WKET und TUD-PBM die Anforderungen an metallisch-keramische Verbünde für Wand-Filmsensoren besprochen. Nach einer Kommunikation zwischen TUD-WKET und TUD-PBM wurden die Randbedingungen für Fügeversuche für Gittersensorabdichtungen skizziert. Für das aktuelle Projekt wurden hochdruck- und dampfbeständige Werkstoffkombinationen von TUD-WKET ausgewählt. Die angestrebten Fügearten wurden überprüft und festgelegt. Als primäre Strategie zur Verbesserung der Keramik-Metall-Verbindungen für Gittersensorabdichtungen wurde die mesoskalige Grenzflächenstrukturierung von Keramiken mittels Nanosekundenlaser (Interface Engineering) festgelegt. Experimente und Analysen wurden von TUD-WKET durchgeführt, um den Nanosekunden-Laserabtrag auf 99,6 %igem Aluminiumoxid als Vorbereitung für das Keramik-Metall-Aktivlöten zu verstehen. Zur Beschreibung des Nanosekunden-Laserabtrags wurde ein mathematisches Modell unter Verwendung zugänglicher Prozessparameter erstellt. In AP1.2 wurden anhand der Besprechungen zwischen TUD-PBM und TUD-IAVT (05.05.2022) und der durchgeführten Literaturrecherche verschiedene Materialien (Substrate und Funktionschichten) für den Sensoraufbau und den Einsatz bei hohen Temperaturen/Drücken/Wasserdampf identifiziert. Als besonders kritisch ist dabei der Wasserdampf zu sehen. Daher wurden erste Materialuntersuchungen zur Analyse der Standfestigkeit der notwendigen Isolationsschichten initiiert und bereits erste Testsubstrate mit glasbasierten und polymeren Schichten aufgebaut. Diese sollen unter prozessnahen Bedingungen im Autoklaven (am HZDR) erprobt werden. In AP1.3 wurde nach Rücksprache von TUD-IAVT mit den Kollegen vom TUD-PBM das Messprinzip sowie mögliche Realisierungsmöglichkeiten der Schaltung besprochen und ein erster Lösungsvorschlag durch TUD-PBM, basierend auf einem hochtemperaturfähigen Verstärker, erarbeitet. Weiterhin wurde mit der Recherche zu möglichen Realisierungsvarianten der Schaltung am TUD-IAVT begonnen (Substrat, Verbindungstechnik, Gehäuse).
- AP2: Es wurden seitens TUD-PBM grundlegende Designs für miniaturisierte Wandler auf Keramiksubstrat und Hochleistungspolymeren für den TAGS erarbeitet und mit TUD-IAVT diskutiert. Ebenfalls wurden auf dem Arbeitstreffen mit TUD-WKET am 19.05.2022 Randbedingungen für den Aufbau eines axialen Gittersensors (bildgebendes Rohr (AP2.2)) speziell druckfester keramisch-metallischer Durchführungen sowie der APs 1.1.1-1.1.3 diskutiert. Die verschiedenen Bauformen und Einsatzmöglichkeiten von TAGS wurden mit TUD-PBM besprochen. Wesentliche Unterlagen und Daten der GENEVA-Anlage wurden von Dr. F. Zedler (TUD-WKET) eingeholt.
- AP3: Es wurden gemäß Arbeitsplan noch keine Tätigkeiten durchgeführt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Es werden erste miniaturisierte TAGS-Wandler gefertigt und erprobt. Des Weiteren ist Aktivlöten zum Verbinden von Keramiken und Metallen vorgesehen. Die unkontrollierte Reaktionsschicht macht die Lötstellen jedoch spröde. Zur Lösung dieses Problems soll die Grenzfläche gezielt strukturiert werden, um das Benetzungsverhalten des Lots zu verbessern und die gegenseitige Verklammerung zu erhöhen. Eine große Anzahl von Einzelüberlappungsverbindungen (single-lap joints) mit modifizierten Grenzflächen wird mit verschiedenen in TUD-WKET verfügbaren Lasern bearbeitet. Bei TUD-WKET sind 4-Punkt-Biegeversuche geplant, um die Festigkeit von Proben zu ermitteln. Zur Bewertung der Auswirkungen des Grenzflächendesigns wird eine Versagensanalyse durchgeführt. Es soll ein analytisches Modell zur Charakterisierung der Zähigkeitsverbesserung erstellt werden. In AP1.2 soll im nächsten Schritt die Erprobung der ersten Testaufbauten, zur Evaluation der Isolationsschichten unter prozessnahen Bedingungen im Autoklaven durchgeführt und ausgewertet werden. Weiterhin, sollen Designvorschläge zur Sensoranordnung besprochen werden. In AP1.3 sollen für den Schaltungsaufbau Vorschläge zur Realisierung der notwendigen Komponenten (Widerstände, Kapazitäten, ICs) sowie deren Verbindungstechnik erarbeitet werden. Nach erfolgter Absprache mit TUD-PBM sollen erste Entwürfe zum Layout erstellt werden.
- AP2: Bei TUD-PBM nimmt der für das Projekt gewonnene Doktorand seine Tätigkeit voraussichtlich zum 09/2022 auf. Für das Konzept des bildgebenden Rohres wird zunächst ein Laboraufbau für Umgebungsbedingungen realisiert. Für den TAGS werden erste Elektronikschaltungsvarianten erarbeitet. Die Oberfläche der GENEVA-Anlage wird für den Fügeprozess bewertet und charakterisiert.
- AP3: Es sind noch keine Arbeiten geplant.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 068B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektrischer Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2022 bis 31.12.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 707.637,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Pöschel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Vorhaben ROBIN werden neue robuste bildgebende Messverfahren entwickelt, mit denen es in Zukunft möglich sein wird, Großversuchsanlagen der Reaktorsicherheitsforschung so zu instrumentieren, dass thermohydraulische Daten in CFD-Qualität, das heißt mit sehr hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung, erfasst werden können. Solche Messtechniken existieren heute für Einzeleffektstudien vorrangig bei moderaten Betriebsbedingungen, etwa Luft-Wasser-Betrieb bei Umgebungsdruck und Umgebungstemperatur. Heiß- und druckfeste Instrumentierung ist dagegen immer noch sehr selten. Der Fokus des Vorhabens liegt auf neuen Ansätzen, die tatsächliche „Instrumentierungslücken“ betreffen, die im Rahmen einer kritischen Analyse des Standes der Technik identifiziert wurden. Mit dem Konzept eines „bildgebenden Rohres“ wird erstmalig die Analyse von Zweiphasenströmungen in Steigleitungen entlang der Rohrachse, etwa für instabile Zweiphasenströmungen, ermöglicht. Ein Thermoanemometriegittersensor wird für die Wassergeschwindigkeitsmessungen weiterentwickelt. Mit der elektrischen Impedanztomographie wird die eingriffsfreie Erfassung von Zweiphasenströmungen in großen Rohrleitungen ermöglicht. Alle entwickelten Messverfahren werden im Rahmen laufender oder separater experimenteller Programme kooperativ eingesetzt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Der Gesamtarbeitsplan des Verbundes sieht die folgenden drei Arbeitspakete (AP) vor.

AP1: Sensorische Komponenten für hohe Temperaturen und Drücke

- Fügen keramischer und metallischer Werkstoffe für die Sensorintegration in Komponenten von Thermohydraulikversuchsständen (TUD-WKET)
- Miniaturisierte Wandler auf Keramiksubstraten (TUD-IAVT, TUD-PBM)
- Temperaturfeste Elektronik für Versuchsanlagen (TUD-IAVT)

AP2: Entwicklung und Qualifizierung elektrischer Mess- und Bildgebungstechnik für Thermohydraulikversuchsanlagen

- Elektrische Impedanztomographie (FAU)
- Axiale Bildgebung in Rohren (TUD-WKET)
- TAGS zur orts- und zeitaufgelösten Geschwindigkeitsmessung für Dampf/Wasser-Zweiphasenströmungen (TUD-PBM)

AP3: Einsatz der neuen Mess- und Bildgebungstechnik in thermohydraulischen Studien

- Experimentelle Studien mit EIT-Sensoren
- Experimentelle Studien zu Zweiphaseninstabilitäten an GENEVA
- Experimentelle Studien zur Hochdruck-Dampfkondensation an TOPFLOW
- Experimentelle Studien zur Pool-Hydrodynamik an THAI

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

Im Rahmen von AP2 wurde ein zweidimensionaler Demonstrator aufgebaut, der als Testanlage zur Festlegung der elektrischen Anforderungen an die Versuchsanlage dient. Der Impedanztomograph besitzt 32 Elektroden am Rand einer elektrolytgefüllten Schale, von denen, zur Anregung, jeweils zwei mit einer sinusförmigen Stromquelle verbunden werden. Verschiedene Leitfähigkeitsverteilungen lassen sich durch Objekte realisieren, die das Elektrolyt lokal verdrängen. Eine Kamera erfasst für spätere Simulationszwecke die genaue Position der Objekte. Während des Messprozesses wird die Spannung an 16 der verbleibenden Elektroden gleichzeitig abgetastet. Die Auswertung dieser Signale liefert das für die Simulation und Rekonstruktion wichtige Potential am Rand des Messvolumens.

Es wurde eine Finite-Elemente-Simulation (FEM) programmiert, die für die Geometrie des Demonstrators ausgehend von den Randbedingungen (Anregung durch Stromfluss, analog zu oben) und einer gegebenen Leitfähigkeitsverteilung die Potentialverteilung in dem gesamten Probevolumen berechnet. Der direkte Vergleich zwischen FEM Simulation und den experimentell gewonnenen Daten zeigt im Allgemeinen eine gute Übereinstimmung, allerdings auch die im Anfangsstadium des Projektes zu erwartenden Abweichungen: Als Zwischenergebnis kann festgestellt werden, dass hier ein besonderes Augenmerk auf die genaue Platzierung und die Korrosionsfestigkeit der Elektroden gelegt werden muss.

Mit den Daten aus den FEM-Simulationen wurde testhalber und im Vorgriff auf die Rekonstruktion durch maschinelles Lernen eine künstliche Intelligenz trainiert, die aus den am Rand eines Probevolumens gemessenen Potentialen (wie sie aus den experimentellen Daten gewonnen werden) eine Rekonstruktion der Leitfähigkeitsverteilung des Probevolumens erstellt. Die ersten Rekonstruktionen erscheinen vielversprechend, ein quantitativer Vergleich steht noch aus.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

AP2.1: Die nächsten Schritte sehen vor, den Messstand mit dem runden 2D-Sensor weiter hinsichtlich der Elektrodenanordnung (exakte Platzierung und Korrosionsfestigkeit) und der Messwerterfassung (angestrebte Abtastrate im MHz Bereich zur anschließenden Rausch- und Störsignalunterdrückung) weiter aufzubauen und zu verbessern. Nach diesen Verbesserungen ist geplant einen Abgleich mit der FEM Simulation vorzunehmen und die Entwicklung der Rekonstruktionsalgorithmen fortzusetzen. Der Messstand wird automatisiert, so dass eine sehr große Anzahl verschiedener Leitfähigkeitsverteilungen im Labor untersucht und neben den Daten der FEM Simulation zum Training der KI herangezogen werden können. Dies ist notwendig damit die KI unempfindlich gegenüber Störungen im Messprozess wird.

AP3: Es sind noch keine Arbeiten geplant.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.



## **2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.03.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 631.302,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Durchführung und Auswertung von HTO-Durchdiffusionsexperimenten zur Ermittlung effektiver Diffusionskoeffizienten und der diffusionswirksamen Porosität der sandigen Opalinustonfazies. Beginn der Durchführung von Diffusionsexperimenten zur Bestimmung des Transportverhaltens von  $^{226}\text{Ra}$  in ausgewählten Proben aus der sandigen Opalinustonfazies. Durchführung einer Proof-of-Concept Studie zur Weiterentwicklung und Optimierung des „abrasive peeling“-Verfahrens zur Bestimmung der Diffusionsprofile von Radionukliden (inkl. Alpha-Strahlern) in sandigem Opalinuston.
- AP2: Wissenschaftliche Begleitung und Diskussion mit den Experiment-Partnern im Rahmen der Diffusionsexperimente DR-C ("Diffusion in a thermal gradient") und DR-D ("Heterogeneity of sandy facies by geophysical characterization and diffusion studies"), u. a. bzgl. der Heterogenität der sandigen Opalinustonfazies in den niedergebrachten Bohrungen und Ersteinschätzungen zur Entwicklung der Monitoringdaten (Temperatur, Porenwasserdruck) in den Observationsbohrlöchern des DR-C Experiments hinsichtlich der Festlegung des Zeitpunkts für die Hauptbohrung. Fortführung der Arbeiten zur Simulation des Tracertransports durch die Grenzfläche Beton/Opalinuston im Rahmen des Modellierungstasks des CI-D Experiments ("Diffusion across a 10-year old concrete/claystone interface") inkl. Teilnahme an dem (virtuellen) Halbjahrestreffen.
- AP3: Durchführung von 2D-Simulationen mit dem reaktiven Stofftransportmodell iCP (Kopplung COMSOL Multiphysics – PhreeqC) zur Evaluierung des Einflusses der mineralogischen und strukturellen Heterogenität des sandigen Opalinustons auf das Transportverhalten von sorbierenden und nicht-sorbierenden Tracern für verschiedene räumliche Konfigurationen. Weiterentwicklung eines hybriden reaktiven Stofftransportmodells durch Kopplung von OpenGeoSys (Kontinuums-Maßstab) mit einem Transportmodell auf dem Porenmaßstab auf Basis der Lattice-Boltzmann-Methodik (in Kooperation mit UFZ).
- AP4: Abstimmung und Diskussion mit den iCross-Partnern bzgl. der 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

In der abschließenden Projektphase sollen im Rahmen des AP1 die "in-diffusion" Experimente mit  $^{226}\text{Ra}$  fortgeführt werden. In AP2 sind die Durchführung geochemisch-mineralogischer Untersuchungen an den im Rahmen der Experimente DR-C und DR-D gewonnenen Bohrkern sowie die Fortführung der Arbeiten zum Modellierungstask im Rahmen des CI-D Experiments vorgesehen. Im Rahmen von AP3 ist der Abschluss der Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Prozesskopplungen in reaktive Stofftransportmodelle und zur Simulation des  $^{226}\text{Ra}$  Transport in (makroskopisch und mikroskopisch) heterogenem sandigen Opalinuston geplant. Des Weiteren sollen die Arbeiten zu den Benchmarkstudien und den "Proof-of-concept" Studien abgeschlossen und dokumentiert werden (AP4).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

12 Tagungsbeiträge (Goldschmidt Conference, TransRet 2020, safeND, SITRAM 2021)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.03.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 502.109,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 folgende Arbeitspakete:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Abschluss der Experimente zur Sorption von Cm(III) an Orthoklaseinkristallen und kristallinen Dünnschliffen Granodiorit (Grimsel, CH) mittels korrelativer Spektroskopie. Publikation siehe Punkt 5.  
Abschluss der PET-Experimente, Auswertung der Fließfeldexperimente mit Schlussfolgerungen zur Transportheterogenität in OPA-SF, Validierung der numerischen Ergebnisse (AP3) zum diffusiven Transport. Publikation siehe Punkt 5.
- AP3: Fortführung und Abschluss der Arbeiten zu einem generalisierten Porennetzwerkmodell zur verallgemeinerungsfähigen Verwendung bei Transportsimulationen in OPA-SF bzw. generalisiert für laminierte, diagenetisch überprägte feinkörnige Sedimentgesteine auf der Bohrkernskala.  
Abschluss der numerischen Untersuchungen zum repräsentativen Elementarvolumen (REV) der Diffusivität in OPA-SF (gemeinsam mit FZJ). Publikation vor Fertigstellung.  
Weiterentwicklung eines Ansatzes zur Implementierung variabler Oberflächenreaktivität bei Auflösungsreaktionen in reaktive Transportmodelle für die Anwendung auf Porenwandgeometrien ( $\mu$ CT-Daten). Manuskript in revision.  
Abschluss der Berechnungen von Aktivierungsenergien für  $\text{Eu}(\text{OH})_3$ -Adsorption an ausgewählten Oberflächenkonfigurationen des Modellsystems Muskovit zur Verwendung bei kinetic Monte Carlo (kMC)-Simulation der Adsorption. Weiterer Vergleich und Auswertung der neuparametrisierten kMC-Modelle. Manuskript vor Fertigstellung.  
Vergleichende Benchmark-Rechnungen mit OGS-6 und anderen Transportcodes (d3f++, GRS Braunschweig, PHAST) zur abschließenden Validierung des Smart-Kd-Konzeptes.  
Arbeitstreffen mit GFZ Potsdam zur Diskussion neuer Ansätze (z. B. Surrogate Funktionen, Machine learning) und Erstellung einer gemeinsamen Projektidee.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: Abschluss der o. g. Arbeiten und Publikationen  
AP4: Zuarbeiten zur Integration der Ergebnisse, Abschlussbericht

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Demnitz et al.: Science of the Total Environment, Online First 2022, 156920  
Bollermann et al.: Chemical Geology, Online First 2022, 120997  
1 Vortrag: 19th Radiochemical Conference, 15.-20.05.2022, Mariánské Lázně (Marienbad), Czech Republic  
2 Vorträge: 28. Tagung der Fachsektion Hydrogeologie e. V. in der DGGV e.V., 23.-25.03.2022, Jena  
1 Vortrag: EGU General Assembly 23.-27.05.2022, Wien: Yuan et al., Earth and Space Science Open Archive: 20, 2022

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.03.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 540.067,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Simulationsmethoden 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: Ein Draft-Manuskript zu Sorptionsversuchen und Charakterisierung von ausgewählten Teilproben des Bohrkerns BMB-A7 wurde erstellt. Das Setup für Sorptionsversuche an polierten Tongesteinsoberflächen wurde überarbeitet. Erste erfolgreiche Diffusionsexperimente mit Opalinuston aus der sandigen Fazies wurden durchgeführt, die Ergebnisse wurden ausgewertet und eine Veröffentlichung ist in Vorbereitung. Die Konzentrationsprofilermittlung von  $^{233}\text{U(VI)}$  und  $^{243}\text{Am(III)}$  in Opalinustonproben (tonige Fazies) mittels AMS nach 20 d und 36 d Diffusion („Kurzzeitexperimente“) wurde abgeschlossen. Die aus den Kurzzeitexperimenten erhaltenen  $^{233}\text{U(VI)}$ -Profile sind in guter Übereinstimmung mit den Profilen nach 126 und 240 d Diffusion („Langzeitexperimente“). Erste Diffusionsexperimente an der Magnetit-Na(Bentonit)-Grenzfläche mit  $^{137}\text{Cs}$  und  $^{60}\text{Co}$  wurden gestartet. Sie werden über die Projektlaufzeit hinaus weiterlaufen.
- AP2: DR-C: Im Mt. Terri URL erfolgten weitere Bohrungen und die Installation des Diffusionssetups. KIT lieferte das synthetische Porenwasser. Die Bohrkerns wurden für geochemische Analysen ans KIT gebracht. DR-D: Hier wurde das aktive Logging der Seismikbohrlöcher für Dichte und Porositätsmessungen durchgeführt und die Planung des Diffusionssetups begonnen.

- AP3: Langzeitsimulationen des Verhaltens von Tongestein und Bentonit in einem Endlager während der thermischen Phase und der Wassersättigung sowie die Modellierung von Diffusionsversuchen wurde durchgeführt.
- AP4: In zahlreichen PoC1-Arbeitstreffen und AP4-Meetings wurde ein Draft Manuskript zum PoC1 Themenbereich erarbeitet (PoC: Proof of Concept). Ein ähnliches Dokument soll auch für PoC2 erstellt werden.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Wie im iCross-Antrag vorgesehen, werden einige der in iCross angestoßenen Arbeiten über die Projektlaufzeit hinaus fortgesetzt:

- AP1: Die mineralogische Charakterisierung der Bohrkernproben aus Mt.-Terri inkl. Sorption- und Diffusionsversuchen soll fortgeführt werden. Zur Bentonitalteration in Gegenwart von korrodierendem Eisen und dem Einfluss dieser Prozesse auf die Radionuklidmigration wurde eine neue Doktorarbeit gestartet. Die Arbeiten zur  $^{233}\text{U(VI)}$  und  $^{243}\text{Am(III)}$  Diffusion (AMS) werden noch abgeschlossen.
- AP2: Insbesondere die URL Diffusionsexperimente DR-C und DR-D werden noch lange über iCross hinaus weiterlaufen. Auch die Mitgliedschaft in IC-A soll bestehen bleiben, und bei Bedarf können weitere Proben analysiert werden.
- AP3: Die Reaktive-Transportmodellierung von Laborexperimenten zur Diffusion wird fertiggestellt.
- AP4: Ein Abschlussbericht wird angefertigt. Ein Abschlussworkshop findet im September in Köln statt. Das PoC1 Manuskript wird fertiggestellt und ein entsprechendes Manuskript für PoC2 ebenfalls.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Glückman, D.; Quinto, F.; Hain, K.; Joseph, C.; Montoya, V.; Steier, P.; Geckeis, H.: Concurrent determination of U, Np, Pu, Am, and Cm in clay systems at ultra-trace levels with accelerator mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2022, DOI: 10.1039/D2JA00107A.

Jungcharoen, P., Prédot, M., Heberling, F., Hanna, K., Choueikani, F., Catrouillet, C., Dia, A., Marsac, R.: Prediction of nanomagnetite stoichiometry (Fe(II)/Fe(III)) under contrasting pH and redox conditions, *Environmental Science: Nano*, 2022, Advance Article.

Vortrag Chaparro, M. C.; Finck, N.; Metz, V.; Geckeis, H.: Modelling of long-term interactions between iron and bentonite, *CODE\_BRIGHT Workshop*, 04.05.2022, Barcelona, Spain

Vortrag: Heberling, F., Albers, H., Beilecke T., et al.: The DR-D experiment in the Mont-Terri rock laboratory, heterogeneity of the sandy facies of Opalinus Clay across scales, from seismic surveys to radionuclide diffusion, EGU-general assembly, 23. – 27.05.2022 Wien, Austria

Vortrag: Heberling, F., Albers, H., Beilecke T., et al.: The impact of rock heterogeneity on radionuclide diffusion in the sandy facies of Opalinus Clay: an in-situ test in the Swiss underground rock laboratory Mont Terri, Tage der Standortauswahl, 08.-10.06.2022, Aachen, Germany

Vortrag: Heberling F.: The reactivity of calcite: surface complexation, recrystallization, and ion-incorporation, IMA General Assembly, 18. – 22.07.2022, Lyon, France.

Poster: Glückman, D.; Quinto, F.; Joseph, C.; Metz, V.; Hain, K.; Steier, P.; Geckeis, H.: Clay Conference 2022, 13. – 16.06.2022, Nancy, France; Diffusive transport of uranium(VI) and americium(III) through Opalinus Clay studied down to ultra-trace levels.

Poster: Schulz, M.; Klose, T.; Chaparro, M. C.; Müller, B.; Schilling, F.; Blum, P.: Large Scale Borehole Leakage Experiments under Cyclic Loading & Fluid Flow Modelling, *DGMK/ÖGEW Frühjahrstagung 2022 - Geo-Energy-Systems and Subsurface Technologies - Key Elements towards a Low Carbon World*, 15.-16.06.2022, Celle, Germany.

Poster: Skerencak-Frech A., Lützenkirchen J., Heberling, F. et al.: Retention of Radionuclides in the surrounding of a repository for nuclear waste: selected scenarios. DAEF Conference, 04. – 06.07.2022 Cologne

Poster: Bosbach, D., Geckeis, H., Kolditz, O. et al.: iCross - Integrity of nuclear waste repository systems – cross-scale system understanding and analysis – a new collaborative project in the Helmholtz Association. DAEF Conference, 04. – 06.07.2022 Cologne

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.03.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.329.364,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Simulationen 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:

Im ersten Quartal 2022 wurden die erzielten Ergebnisse zur Charakterisierung der hydraulischen Transmissivität sowie des Reibungsverhaltens von künstlichen Rissflächen an getrockneten Proben des Opalinustons der sandigen und tonigen Fazies (vgl. Berichte 2021) für die Veröffentlichung in peer-reviewed Journals aufbereitet und eingereicht. Im Nachgang des Förderzeitraums wurde im Juni 2022 ein Posterbeitrag im Rahmen von „Tage der Standortauswahl 2022“ präsentiert.

Aufgabe 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung:

Diese Arbeiten wurden bereits Ende Dezember 2021 abgeschlossen.

Aufgabe 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren:

Im Januar 2022 fanden einige technische Diskussionen zu laufenden Projekten statt sowie die jährliche wissenschaftliche Gesamtkonferenz. Alle Treffen wurden per Video durchgeführt. Im Februar fand mit Blick auf den Projektabschluss eine projektinterne Diskussion zwischen den verschiedenen Arbeitspaketen statt. Darüber hinaus hat das Experiment zur Entwicklung eines neuen Informationssystems für das Untertagelabor Mont Terri begonnen mit allen internationalen Partnern im Projekt. Ende März fand das reguläre Steering Meeting in der Schweiz statt, insbesondere mit Blick auf die Planung und Finanzierung der kommenden Experimentierphase im Untertagelabor.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das iCross-Projekt endete Ende März 2022.

Verschiedene Diffusionsexperimente und Experimente zum seismischen und geochemischen Monitoring werden in Zusammenarbeit der Helmholtz-Partner und swisstopo in den nächsten Jahren am Mont Terri fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Herrmann, J., Schuster, V., Cheng, C., Milsch, H., & Rybacki, E. (2022): Fracture Transmissivity in Prospective Host Rocks for Enhanced Geothermal Systems (EGS). *Geosciences*, 12(5), 195. <https://doi.org/10.3390/geosciences12050195>

Schuster, V., Rybacki, E., Bonnelye, A., Kwiatek, G., Schleicher, A. M., & Dresen, G. (2022): Strain Partitioning and Frictional Behavior of Opalinus Clay during Fault Reactivation. Submitted to *Rock Mechanics and Rock Engineering* and currently under review

Poster:

Schuster, V., Rybacki, E., Bonnelye, A., Kwiatek, G., Schleicher, A.M. & Dresen, G.: Fault Reactivation of Opalinus Clay: Strain Partitioning and Stability: Tage der Standortauswahl 2022, 08.-10. Juni 2022, Aachen

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.03.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 740.139,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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).

Dabei werden insbesondere neue numerische Methoden zur Analyse von TH2M/CB-Prozessen in verschiedenen potentiellen Wirtsgesteinen entwickelt und in die wissenschaftliche Open-Source-Software OpenGeoSys (OGS) implementiert. Die biogeochemischen Randbedingungen der Metallkorrosion unter typischen Bedingungen eines möglichen Endlagers werden darüber hinaus in Laborexperimenten untersucht.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

WP1: Mikrobiologie

- Die zeit-aufgelösten Experimente zur Korrosion von eisenbasierten Materialien durch Methanogene und sulphat-reduzierende Bakterien wurden weitergeführt und stehen kurz vor dem Abschluss. Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der mikrobiellen Korrosion von eisenbasierten Materialien durch Sulphatreduzierer wurden im Rahmen einer Masterarbeit durchgeführt, die Arbeit wird Ende Juli eingereicht werden

WP3-AP1: Mehrphasen-Mechanik (TH2M)

- Es wurde ein Modellvergleich mit anderen Codes durchgeführt, welcher sich mit der Lösung und dem diffusiven Transport von Wasserstoff in der flüssigen Phase befasst. Außerdem wird in diesem Beispiel nach dem Erreichen der Sättigungsgrenze eine separate Gasphase gebildet und Gas wird durch Advektion transportiert. Der Modellvergleich zeigt, dass die im Rahmen dieses Projekts implementierte TH2M-Methode im Wesentlichen mit den verglichenen Simulationsergebnissen übereinstimmt und damit das Phasenübergangsmodell, den diffusiven Stofftransport und das Mehrphasenverhalten des Modellprozesses validiert

- Die im Rahmen des Projekts EURAD - WP GAS geplanten Experimente wurden (teilweise) mit dem TH2M-Modell berechnet. Diese Experimente sind noch nicht vollständig abgeschlossen, was bedeutet, dass die numerische Modellierung noch nicht beendet ist

#### WP3-AP2: Reaktive Transportprozesse (RTP)

- Entwicklung einer neuen numerischen Methode für die reaktive Transportmodellierung mit Testbeispielen von iCROSS Experimenten (Lu et al. 2022)
- Veröffentlichung der Modellierungskette für Radionuklidtransport in Multi-Barrieren (Garibay-Rodriguez et al. 2022)
- Beteiligung an der Studie zur Skalierung von Porositäten infolge reaktiver Transportprozesse (Poonoosamy et al. 2022)

#### WP3-AP3: Unsicherheitsanalyse

- Finalisierung der Modellierungsarbeiten zur Anwendung des DoE-Workflows auf das FE-Experiment im URL Mt. Terri und auf Phasenfeldmodelle als Proof-of-Concept zur Demonstration der Bestimmung des Risikos zur Rissbildung aufgrund von Parameterunsicherheiten
- Publikation des Konferenzbeitrages „Clay-rock fracturing risk assessment under high gas pressures in repository systems“ (EUROCK 2022)

#### WP4: Networking und Synthese

- Präsentationen auf Konferenzen: EURAD in Fontenay-aux-Roses IRSN (28-30.03.2022), Standorttage in Aachen (08-10.06.2022)
- Demonstration einer Visualisierung des Untertagelabors Mt. Terri in Zusammenarbeit mit swisstopo auf dem GeoEvent in Potsdam (16-17.06.2022)

## 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Projektlaufzeit endete zum 31.03.2022. Der Abschlussbericht zum iCROSS-Vorhaben wird bis zum Berichtsschluss am 30.09.2022 eingereicht. Zu den verschiedenen WPs sind weitere Veröffentlichungen in Vorbereitung, die bis zum Ende des Berichtsschlusses eingereicht werden sollen (siehe unten). Auf der iCROSS-Abschlusskonferenz am 15.-16.09.2022 in Köln werden die wichtigsten Ergebnisse des Vorhabens präsentiert.

#### WP1: Publikationen in Vorbereitung

- Ein Manuskript zur mikrobiellen Korrosion von Stahl, Gusseisen, Kupfer, Titan und einer Nickellegierung durch sulphatreduzierenden Bakterien ist in Vorbereitung.

#### WP3-AP1: Publikationen in Vorbereitung:

- Eine Publikation (in Zusammenarbeit mit der BGR) ist in Arbeit und befasst sich mit dem Übergang zwischen verschiedenen Gastransportregimen (nach dem von Paul Marschall vorgestellten Konzept), die für Endlager für hochradioaktive Abfälle relevant sind. Bestandteile dieser Publikation werden der Modellvergleich und Auswertungen laufender EURAD-Laborexperimente sein.

#### WP3-AP3: Publikationen in Vorbereitung:

- Ausbau des Konferenzbeitrags „Clay-rock fracturing risk assessment under high gas pressures in repository systems“ als full research paper.
- Abschließen der Publikation Buchwald, J. et al. „DoE-based history matching for probabilistic integrity analysis -- a case study of the FE-experiment at Mt. Terri“ (Arbeitstitel)

WP4: Networking mit den EURAD und DECOVALEX Projekten: Dabei sollen die Ergebnisse des iCROSS-Vorhabens in die internationalen Projekte einfließen und verwertet werden.

## 5. Berichte, Veröffentlichungen

Garibay-Rodriguez, J., Chen, C., Shao, H., Bilke, L., Kolditz, O., Montoya, V., Lu, R., (2022): Computational framework for radionuclide migration assessment in clay rocks. *Frontiers in Nuclear Engineering* 1, art. 919541

Graebing, N., Şen, Ö.O., Bilke, L., Cajuhi, T., Naumov, D., Wang, W., Ziefle, G., Jaeggi, D., Maßmann, J., Scheuermann, G., Kolditz, O., Rink, K., (2022): Prototype of a Virtual Experiment Information System for the Mont Terri Underground Research Laboratory. *Front. Earth Sci.* 10, art. 946627

Grunwald, N., Lehmann, C., Maßmann, J., Naumov, D., Kolditz, O., Nagel, T., (2022): Non-isothermal two-phase flow in deformable porous media: systematic open-source implementation and verification procedure. *Geomech. Geophys. Geo-Energy Geo-Resour.* 8 (3), art. 107

Lu, R., Nagel, T., Poonoosamy, J., Naumov, D., Fischer, T., Montoya, V., Kolditz, O., Shao, H., (2022): A new operator-splitting finite element scheme for reactive transport modeling in saturated porous media. *Comput. Geosci.* 163, art. 105106

Poonoosamy, J., Lu, R., Lönartz, M.I., Deissmann, G., Bosbach, D., Yang, Y., (2022): A lab on a chip experiment for upscaling diffusivity of evolving porous media. *Energies* 15 (6), art. 2160

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 056A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2020 bis 31.08.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 328.412,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

- AP1: Der Einbau von Ra in Witherit wird in Batch-Experimenten unter Anwesenheit von  $^{133}\text{Ba}$  untersucht. Die Batches werden derzeit in unterschiedlichen Zeitabständen für die Gamma-, Alpha-, ICP-OES- und TIC-Analyse beprobt. Proben aus laufenden Baryt-Synthesen werden derzeit mittels ICP-OES untersucht, um Bildungsraten zu ermitteln. Diese Bildungsraten werden verglichen mit thermodynamischen Rechnungen (Software: PHREEQC). Durchgeführte AFM-Experimente umfassen die Untersuchung von Wachstumsgeschwindigkeit und Morphologie komplementär zu den Synthesen sowie die Untersuchung von Witherit-Wachstum auf der (001)-Fläche von Baryt. Wachstum und Auflösung der beiden Phasen wird im Zusammenhang mit Oberflächenpassivierung und der Ausbildung, bzw. dem Verschluss von Porennetzwerken an der Barytoberfläche untersucht. Auch das Calcit-Wachstum in Gegenwart von Selenit wird am AFM untersucht. Selenit beeinflusst Wachstumsraten sowie die Wachstumsmorphologie. Die Experimente tragen zum Prozessverständnis bei.
- AP2: Die Ionenanlagerung (insbesondere  $\text{Ba}^{2+}$ ) an [210]-Stufen auf der (001)-Oberfläche von Baryt sowie an existierenden ‚kink sites‘ entlang besagter Stufen wird mittels Density Functional Theory (DFT) simuliert, auch die Anlagerung von Gruppen von 2, 3 und 4 Ionen. Berechnungen zum Radiumeinbau in Witherit und Baryt wurden durchgeführt und die Idealitätsparameter (Guggenheim-Parameter) ermittelt. Daraus wurden Lippmann-Diagramme abgeleitet.
- AP4: Ein Workshop aller KRIMI-Partner die an Baryt arbeiten fand am 20./21.06. in Karlsruhe statt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Isotopenaustauschexperimente (tracer:  $^{133}\text{Ba}$ ) an den synthetisierten Baryten (s. oben) sollen gestartet werden. In Zusammenarbeit mit der TU Berlin sollen außerdem Calcit/Aragonit-Proben, aus Batch-Experimenten mit  $\text{Np}^{237}$  mittels LA-ICP-MS untersucht werden. Außerdem sind XAFS-Untersuchungen an der Np- $L_3$  Kante geplant. Experimente mit Carbonatlösung in Kontakt mit Ra-dotierten Barytproben sind geplant. Die AFM-Untersuchungen im Calcit-Selenit System und im Ba-Carbonat-Sulfat System sowie die komplementären thermodynamischen Simulationen werden fortgeführt.
- AP2: Im weiteren Verlauf sollen die DFT-Modelle von „Kink sites“ um Wasserstrukturen und Dehydratisierungs-Schritte erweitert werden um die Anlagerung von  $\text{Ba}^{2+}$ -Ionen zu simulieren. Die DFT-single-defect Simulationen zu den  $(\text{Ba,Ra})\text{SO}_4$ ,  $(\text{Ba,Ra})\text{CO}_3$  und  $\text{Ba}(\text{SO}_4, \text{CO}_3)$  solid-solutions sollen abgeschlossen werden.
- AP4: Ein Aufenthalt von Mohammed Alzaydan am FZJ ab dem 26.09.2022 für eine Woche zur FIB-SEM-Analyse und ein Aufenthalt von Lukas Zunftmeister in Berlin für LA-ICP-MS Untersuchungen sind geplant. Anfang September findet ein Kinetik-Monte-Carlo Modelling Workshop und ein Projekttreffen in Bremen statt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Vortrag: EGU general assembly 2022 in Wien: “The impact of Se and Np on Calcite growth”; Lukas Zunftmeister, Dieter Schild, Eva Soballa, Frank Heberling
- Vortrag: EGU general assembly 2022 in Wien: “Barite Recrystallization to Witherite in the Presence of Carbonate, and the Impact on Radium Retention “; Mohammed Alzaydan, Frank Heberling, Robert Polly, Thomas Roth, Dieter Schild, Volker Metz

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 056B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2020 bis 31.08.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 259.072,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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)SO<sub>4</sub> 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 <sup>226</sup>Ra in (Ba,Ra)SO<sub>4</sub> und (Ba,Sr,Ra)SO<sub>4</sub>
- 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 folgende Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden an Proben aus Ra-Rekristallisationsexperimenten in der Mischkristallreihe (Ba,Sr,Ra)SO<sub>4</sub> und aus inaktiven Referenzexperimenten fortgeführt (insgesamt 24 Experimentreihen mit zeitlichem Verlauf). Relevante Probenreihen für vertiefte Untersuchungen werden in der 2. Hälfte 2022 festgelegt und detailliert untersucht.
- AP2: Der Schwerpunkt der Arbeiten am FZJ in der ersten Hälfte von KRIMI wurde bedingt durch die Corona-Pandemie auf die theoretischen Arbeiten gelegt. Eine besondere Herausforderung hierbei ist die Modellierung von Kristallwachstum in Gegenwart von Wasser. Neuartige Methoden hierzu wurden erfolgreich implementiert und die Anlagerung von Ba an Barytoberflächen auf dem Jülicher Supercomputer JUREKA für die Bestimmung von Aktivierungsenergien verschiedener Prozesse (Desorption, Adsorption, Diffusion) simuliert. Diese gehen später in die Berechnungen der Bremer Projektpartner ein.
- AP4: Ein Projektmeeting mit allen Partnern, die an Baryt arbeiten (KIT, TU Berlin, Universität Bremen, FZJ) fand im Juni 2022 statt. Dabei wurden die gemeinsamen Arbeiten abgestimmt und der Austausch von Doktoranden. Zusätzlich wird ein Projekttreffen in Bremen im September inklusive eines Workshops unter Führung der Universität Bremen organisiert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

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

- AP2: Die DFT-Berechnungen zum Kristallwachstum von Baryt werden abgeschlossen und zu einer Peer-review Veröffentlichung gebracht. In einem weiteren Schritt wird die Situation des Kristallwachstums von Baryt in Gegenwart von 226-Ra simuliert. Die Modellierungsergebnisse werden auf internationalen Fachtagungen vorgestellt. Aufgrund der Coronabeschränkungen kann ein Besuch bei dem Projektpartner der Universität Bremen erst im kommenden Halbjahr stattfinden, um die DFT-Ergebnisse im Detail zu besprechen und einen möglichen Doktorandenaustausch zu organisieren.
- AP1+AP3: Die Einarbeitung an der FIB und REM-Untersuchungen an Proben aus Rekristallisationsexperimenten werden fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 056C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2020 bis 31.08.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 411.828,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Untersuchung der Tc-Magnetit Festphase mittels Raman, XPS, Zeta-Potential, TEM abgeschlossen. Kinetische Untersuchungen der Tc-Sorption an Magnetite über längere sowie sehr kurze Zeiträume abgeschlossen. Erste Re-Oxidationsversuche. Synthese verschiedener  $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  Phasen und deren Alterung durchgeführt und mit XAFS untersucht. Parallel dazu Untersuchung der Struktur möglicher  $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  Phasen mittels DFT-Rechnungen (siehe Publikation).
- AP2.3: Modellierung der Magnetitoberflächen unter Berücksichtigung von Oberflächenterminierungen und -ladungsverteilungen. Eine Stabilitätsanalyse unter Endlagerbedingungen hinsichtlich Sauerstoff- und Wasserfugazität wurde vorgenommen, die Untersuchungen der Oberflächenstruktur unter unterschiedlichen Redox- und pH-Bedingungen werden weitergeführt. Klassische molekulardynamische Modellierung mit empirischen Wechselwirkungsparametern wurde abgeschlossen, um die Struktur von Wassermolekülen und einfach-geladenen Ionen und ihre Diffusivität an der Magnetitoberfläche zu untersuchen. Erfolgreiche Modellierung verschiedener Plutoniumoxide ( $\text{PuO}_2$ ,  $\alpha\text{-Pu}_2\text{O}_3$ ) zur Validierung einer geeigneten Beschreibung der d- und f-Elektronen in Plutonium (DFT+U Methode). Erste Modellierungen von Plutonium(III)-Komplexen und ihrer Adsorptionsgeometrie auf einer Magnetitoberfläche.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.3: Untersuchung der Tc-Magnetit Festphase mittels Moessbauer und BET. Fortführung der Reoxidationsversuche. Systematische XAFS-Auswertung aller bislang gemessenen XAFS-Spektren der Sorption-, Kopräzipitations- und  $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  Proben (insgesamt 72) mit Shell-Fitting, Chemometrischen und AI-Methoden. Vorbereitung einer weiteren Publikation zur Struktur von alternden  $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  Proben mittels DFT und XAFS in Zusammenarbeit mit TU Berlin. Präsentationen der Ergebnisse auf der Konferenz Actinides Revisited (Poster) und beim ATAS-AnXAS Workshop (Poster). Die Untersuchungen mit Pu, die in Kollaboration mit dem KIT-INE geplant sind, müssen wegen der aus der schwierigen CoVid-Situation resultierenden Verzögerungen auf nächstes Jahr verschoben werden.
- AP2.3: Modellierung von Magnetitnanopartikeln mit erwarteter Oberflächenterminierung als Vergleich zu den Arbeiten von AP1.3. Weitere Plutonium-Sorptionsmodellierung auf Magnetitoberflächen, auch auf Nanopartikeln (Berücksichtigung von Kristallecken- und -kanteneinflüssen). Präsentationen der Ergebnisse auf der Konferenz Actinides Revisited (Poster) und beim ATAS-AnXAS Workshop (Vortrag). Vorbereitung einer Publikation im Fachjournal Environmental Science & Technology.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- AP1.3: Poster: „Investigating the complex interaction of technetium with magnetite nanoparticles” im Rahmen der Goldschmidt Conference 2022, 11.-15. Juli 2022. Publikation: “Shedding light on the enigmatic  $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  structure with density functional theory and EXAFS spectroscopy” publiziert in Chemistry-A European Journal DOI: 10.1002/chem.202202235
- AP2.3: Beitrag zum Progress Report 2021 des Laboratory of Waste Management, PSI, zu Kapitel 7: Fundamental aspects of mineral reactivity and structural transformations
- Poster: „Ab initio modelling of magnetite surfaces for radionuclide retention” im Rahmen der Goldschmidt Conference 2022, 11.-15. Juli 2022

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 056D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2020 bis 31.08.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 254.962,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Wirtsmineral 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: (Me<sup>2+</sup>) Calcit, (REE<sup>3+</sup>) 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.

Die Arbeiten sind vorläufig wie folgt in 4 Arbeitspakete unterteilt:

- AP1: Literaturrecherche
- AP2: Analytisch-präparative Arbeiten
- AP3: Beprobung natürlicher Systeme
- AP4: Integration der Ergebnisse im Projektverbund

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

- AP1: Literaturrecherche mit Fokus auf dem Einfluss von verschiedenen Umgebungsparametern auf das Aufnahmepotential von Elementen in Baryt und Calcit.
- AP2: Weitere Proben aus dem Aspö Hardrock Laboratory (Schweden) wurden für LA-ICP-MS Messungen vorbereitet. Erfolgreiche Entwicklung einer Messroutine für die Erstellung von Elementverteilungsmappings von Baryt und Bestimmung von Verteilungskoeffizienten für eine Vielzahl von Elementen, darunter auch relevante Radionuklid-analoga. Diese Ergebnisse werden derzeit in einem Manuskript zusammengestellt. Ein weiteres Manuskript über den Einbau von U ist eingereicht und befindet sich derzeit in der Begutachtung.
- AP3: Die Beprobung von Sinterablagerungen und Fluid wurde im März 2022 in Baden-Baden durchgeführt. Diese höhertemperierten Ablagerungen werden das Einbauverhalten von Elementen in Abhängigkeit von der Temperatur nachweisen.
- AP4: Die bisherigen Ergebnisse wurden auf einem Projektworkshop der KRIMI Partner, der vom 21.06. - 22.06. in Karlsruhe stattfand, vorgestellt und diskutiert. Dabei wurden weitere analytische Vorhaben innerhalb des Verbunds abgesprochen (s. geplante Weiterarbeiten).

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

- AP1: Ausarbeitung des aktuellen Stands der Forschung, mit Fokus auf LA-ICP-MS Analytik an Carbonaten und Sulfaten sowie Fluid-Mineral Wechselwirkungen bei unterschiedlichen (natürlichen) Bedingungen. Einfluss von natürlicher Mikrobiota auf den Einbau von Spurenelementen wird recherchiert.
- AP2: Nasschemische Analyse der Fluide aus Aspö (Schweden) zur Ermittlung von Baryt-Verteilungskoeffizienten für weitere Elemente. Präparation von natürlichen Calcitproben. LA-ICP-MS Analysen an Sinterablagerungen und Fluiden, um Verteilungskoeffizienten in Abhängigkeit von Temperaturen zu bestimmen.
- AP3: Weitere Beprobung natürlicher Analoga von Thermalquellen, um höhertemperierte Fluide und Sinterablagerungen untersuchen zu können.
- AP4: Austausch der aktuellen Ergebnisse der Forschung mit den Verbundpartnern. FIB-SEM Analysen ausgewählter natürlicher Baryte werden am KIT durchgeführt. Hochaufgelöste LA-ICP-MS mappings experimenteller Proben vom KIT werden an der TU Berlin durchgeführt und DFT Berechnung zum Einbau von Strontium und Radium in Baryt werden am FZ Jülich.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 056E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2020 bis 31.08.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 237.435,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Lüttge	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI hat die folgenden grundlegenden Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie und
- 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 im Projekt KRIMI die folgenden Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Die Masterstudentin Obeka Blessing aus dem internationalen Studiengang "Materials Chemistry and Mineralogy" (MCM) hat erfolgreich AFM-Daten über die Auflösung von Schwespat in reinem Wasser und unter Verwendung von EDTA-Chelatbildnern als Kata-

lysator aufgenommen. Die Daten wurden mit hoher Auflösung (subatomar) aufgenommen, so dass wir die Entstehung von atomaren Stufen in der Nähe von Versetzungshohlkernen untersuchen konnten. Die Daten wurden in verschiedenen Gesichtsfeldern von 50x50 µm bis 500x500 nm aufgenommen, so dass wir die Verteilung der Ätzgruben und ihre Wechselwirkung in verschiedenen Größenordnungen beobachten konnten. Der Doktorand Nikolai Trofimov analysierte die chemische Zusammensetzung von Barytproben mit Hilfe der Mikrosondenanalyse (EPMA) und der Raman-Spektroskopie.

- AP2: Nikolai Trofimov hat seine Studien zur Programmierung und zur KMC-Methode vertieft. Er schrieb einen professionellen Code in Fortran, um die Auflösung von Festkörperlösungen mit einem Kossel-Kristallmodell zu simulieren. Der Code simuliert Strukturen mit Gitterdefekten, die der  $A_xB_{(1-x)}C$ -Ionenstruktur eines Mischkristalls mit den Kationen A und B folgt. Es ist wichtig, die Auflösung von Mischkristallen im einfachsten Fall, wie z. B. bei kubischen Kosselkristallen, zu verstehen, um dann zu realistischen Gitterstrukturen wie Baryt-Celestin überzugehen. Ein Kurs in computergestützter Chemie gab ihm Kenntnisse über ab initio- und DFT-Berechnungen. Eine weitere Aufgabe bestand darin, experimentelle Studien zu planen und Frau Blessing bei ihren Studien zu betreuen. Zeitgleich wurde ein Grundmodell zur Barytauflösung von Dr. Inna Kurganskaya erarbeitet, das kritische Oberflächenstellen für DFT- und Molekuldynamikstudien identifiziert. Die Ergebnisse wurden in einem Manuskript publiziert. Sie organisierte spezielle Seminare über Programmierung und Modellierung für Doktoranden und Masterstudenten, an denen auch Herr Trofimov teilnahm.
- AP4: Die Ergebnisse der KMC-Simulationen von N. Trofimov und I. Kurganskaya wurden auf dem halbjährlichen KRIMI-Treffen in Karlsruhe vorgestellt. Die Ergebnisse der experimentellen Daten wurden dort ebenfalls vorgestellt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: AFM-Studien zur Auflösung von Baryt in EDTA- und DTPA-Chelatbildnern sowie zum Kristallwachstum in übersättigten  $BaSO_4$ -Lösungen. Solche Daten sind notwendig, um die Modelle zu verifizieren.
- AP2: Erstellung eines generischen KMC-Codes für Simulationen der Reaktionskinetik von Ra und an deren Ionen in  $(Ba,Sr)SO_4$ -Festkörperlösungen in Gegenwart von Versetzungen. Verfassen eines Manuskripts, das diesen Code publiziert und auf alle Sulfate oder ähnlichen ionischen Kristallen erweitert werden kann. Zusammenarbeit mit dem FZ Jülich zur Berechnung von Auflösungsdaten an strukturell unterschiedlichen Stellen. Reise nach Jülich zum Wissensaustausch über die Modellierung der Oberflächenreaktionskinetik und der Dynamik. DFT-Berechnungen sind für eine korrekte Modellparametrisierung erforderlich, die aufgrund der molekularen Komplexität nicht auf experimentellen Daten beruhen kann. Durchführung von DFT-Rechnungen.
- AP4: Beteiligung bei der Organisation und Durchführung von (online-)Arbeitstreffen, workshops etc.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

"A Kinetic Monte Carlo Approach to Model Barite Dissolution: The Role of Reactive Site Geometry" von I. Kurganskaya, N. Trofimov und A. Luttge, <https://www.mdpi.com/2075-163X/12/5/639>

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 059A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 438.556,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Ein NMR-Versuch sowie ein Einführungsvortrag zur NMR-Spektroskopie wurde im Rahmen des einwöchigen stattfindenden Radioisotopenkurses für Bachelorstudierende der Universität Heidelberg im Frühjahr angeboten.
- AP2: Im Berichtszeitraum wurden keine Arbeiten durchgeführt.
- AP3: Die NMR-Arbeiten konzentrierten sich auf die Fortführung der bereits begonnenen Arbeiten des letzten Halbjahres. Dazu wurden weitere Untersuchungen bezüglich des ternären  $[\text{Cs}(\mathbf{L4})(\mathbf{L5})]^+$ -Komplexes durchgeführt. Darüber hinaus wurde die Komplexbildung von Alkali-, Erdalkali- und Ln(III)-Ionen mit Kronenethern wie beispielsweise **L6** untersucht. Damit sollte der Einfluss der Kavität des Kronenethers genauer geklärt werden. Außerdem lässt sich so der strukturelle Einfluss des Calixarengerüsts in **L4** auf die Komplexbildungseigenschaften einschätzen. Die NMR-Speziationsuntersuchungen mit **L6** zeigten eine starke Abhängigkeit vom Ionenradius sowie der Oxidationsstufe des eingesetzten Metallions. Für die M(I)-Ionen (Na, K, Rb, Cs) wurden jeweils 1:1-Komplexe beobachtet, die – wie bereits für  $[\text{Cs}(\mathbf{L4})]^+$  beobachtet – bei erhöhten Ligandkonzentrationen dynamische Austauschprozesse zeigen. Für die M(II)-Ionen (Mg, Ca, Sr) zeigt sich ein differenziertes Bild: Mg(II) bildet aufgrund des zu kleinen Ionenradius keine Komplexe mit **L6**. Ca(II) verhält sich ähnlich zu den M(I)-Ionen, während Sr(II) einen sehr stabilen 1:1-Komplex mit **L6** bildet. Im Gegensatz zu **L4** wurde eine Koordination von Ln(III)-Ionen durch **L6** beobachtet. Während die Stöchiometrie in Methanol- $d_4$  nicht eindeutig ist, konnte gezeigt werden, dass La(III), Ce(III) und Nd(III) in Aceton- $d_6$  1:1-Komplexe bilden.
- AP4: Zur Dekontamination von Salzlauge oder Salz, wie sie im Rahmen der geplanten Rückholung der Abfälle aus den Einlagerungskammern der Schachanlage Asse II vorliegen können: Es wurde untersucht, inwieweit sich mit **L4** und ähnlichen Liganden Cs(I) aus konzentrierten NaCl-Lösungen durch Solventextraktion abtrennen lässt. Dabei konnten experimentelle Bedingungen gefunden werden, unter denen Cs(I) mit ausreichend hohem Verteilungsverhältnis extrahiert wird und anschließend in eine wässrige Lösung niedriger Ionenstärke wieder rückextrahiert werden kann.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Weiterführung kompetitiver Komplexbildungsstudien
- Untersuchungen zur Komplexbildung von n-Pr-BTP mit Pu(III) und Pu(IV)
- Weiterführung der Untersuchungen zur Abtrennung von Cs(I)

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Sittel, T.; Weßling, P.; Großmann, D.; Engels, E.; Geist, A.; Panak, P. J.: Spectroscopic investigation of the covalence of An(III) complexes with tetraethylcarboxamidopyridine. Dalton Trans. 2022, 51 (20), 8028–8035

Weßling, P.; Trumm, M.; Sittel, T.; Geist, A.; Panak, P. J.: Spectroscopic investigation of the different complexation and extraction properties of diastereomeric diglycolamide ligands. Radiochim. Acta 2022, 110 (5), 291–300

T. Sittel et al.: Spectroscopic investigation of the covalence in An(III) complexes with picolindiamides. Vortrag, RadChem 2022, Mariánské Lázně, Tschechische Republik

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 059B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 370.233,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

- 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: Beide Doktoranden haben Anfang des Jahres 2022 Forschungsaufenthalte bei den Projektpartnern in Karlsruhe durchgeführt (AK Roesky, KIT und AK Geist, KIT-INE), die zu sehr erfolgreichen Synthesen neuer Liganden sowie Lanthanidkomplexen geführt haben. Außerdem haben beide Doktoranden auf der RadChem in Marianske Lazne, CZ erste Ergebnisse präsentieren können. Zu Beginn des Jahres 2022 wurden zwei weitere Masterarbeiten fertiggestellt, von Hr. Adrian Näder mit dem Titel „Computergestützte Studien der Elektronenstruktur von An(IV)-Amidinat-Systemen und Berechnung spektroskopisch relevanter Parameter“ sowie Hr. Lukas Waurick mit dem Thema „Berechnung des Einflusses von Halogensubstituenten auf die Elektronenstruktur von An(IV)-Salen-Komplexen“. Zudem konnte Frau Duckworth erfolgreich an der „Zürich School of Crystallography“ teilnehmen und ihre Kenntnisse im Bereich der Einkristall-Röntgenbeugung erweitern.
- AP2: Es wurden insgesamt 15 *N*-Donor-Liganden vom Amidinat-Typ hergestellt, die sich in ihren zentralen wie seitlichen Substituenten unterscheiden (Methyl (Me), iso-Propyl (iPr), tert-Butyl (tBu), Cyclohexyl (Cy), 2,6-Diisopropylphenyl (Dipp), Trimethylsilyl (TMS)). Diese Vielfalt an Verbindungen erlaubt eine systematische Untersuchung der elektronischen wie sterischen Einflüsse des Liganden auf die Komplexierung sowie schließlich die Eigenschaften der Komplexe. Zudem wurde ein *N*-Donor-Ligand mit Tetrazin-Einheit (MTB) sowie zwei weitere *N*-Donorliganden vom Schiff-Base-Typ synthetisiert. Bei den Schiff-Base-Liganden handelt es sich um *N*-Donor-Salen-Analoga: einen Neutralliganden (Salpy) sowie eine tripodale Verbindung mit Pyrol-Resten (Trenpyren). Alle neuen Liganden wurden mittels NMR- und IR-Spektroskopie charakterisiert. Quantenchemische Rechnungen zeigen bereits Unterschiede in der An-N Bindungsstärke sowie der Zusammensetzung in Komplexreihen der Amidinate mit Th(IV) und U(IV), die sowohl auf sterische wie elektronische Änderungen im Liganden zurückgeführt werden konnten.

AP3: Es wurden Komplexe der dreiwertigen Lanthanide (La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Yb, Lu) mit den Amidinatliganden  ${}^i\text{Pr}_2\text{BA}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{AA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{AA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{TA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{BA}$  und (*S*)-PEBA unter Verwendung der  $\text{LnCl}_3$  Ausgangsverbindungen über Salzmetathesereaktionen durchgeführt. NMR-Untersuchungen zeigen die erwarteten paramagnetischen Verschiebungen für Komplexe mit den dreiwertigen Lanthanidionen Ce, Pr, Nd, Sm, Eu und Yb. Zudem gelang eine Charakterisierung über Einkristallstrukturanalyse von  $[\text{La}(\text{Cy}_2\text{TA})(\text{N}(\text{SiMe}_3)_2)_2]$ ,  $[\text{Nd}(\text{Cy}_2\text{TA})_3]$  und  $[\text{Eu}(\text{Cy}_2\text{AA})_3]$ , die im Fall von Nd und Eu die erwartete 3:1-Komplexzusammensetzung bestätigen. Diese Arbeiten sollen als Vergleich zu dreiwertigen Actinidkomplexen dienen, vor allem hinsichtlich paramagnetischer Eigenschaften, die via NMR-Spektroskopie untersucht werden sollen. Es wurden die vierwertigen Actinidkomplexe mit U und den Amidinaten  ${}^i\text{Pr}_2\text{BA}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{AA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{AA}$  und  $\text{Cy}_2\text{TA}$  als Vorstufenverbindungen für die dreiwertigen Actinidkomplexe hergestellt, wie auch mit  $\text{Np}(\text{IV})$  und  ${}^i\text{Pr}_2\text{BA}$ . Unter den  $\text{U}(\text{IV})$ -Komplexen zeigen SC-XRD-Untersuchungen von  $[\text{UCl}({}^i\text{Pr}_2\text{BA})_3]$ ,  $[\text{UCl}({}^i\text{Pr}_2\text{AA})_3]$ ,  $[\text{UCl}(\text{Cy}_2\text{AA})_3]$  und  $[\text{UCl}_2(\text{Cy}_2\text{TA})_2]$  bereits den Einfluss des peripheren und zentralen Substituenten auf die Komplexstöchiometrie (3:1 vs. 2:1 für den sterisch anspruchsvollsten Liganden  $\text{Cy}_2\text{TA}$ ). Eine Reduktion der vierwertigen Urankomplexe gelang bereits im Fall von  ${}^i\text{Pr}_2\text{BA}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{AA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{AA}$ . Quantenchemische Rechnungen wurden für die substituierten Acetamidinate und  $\text{Th}(\text{IV})$  durchgeführt.

Mit dem neutralen *N*-Donorliganden Br-DME-BPTP des BPTP-Typs wurden Komplexierungsversuche mit  $\text{ThCl}_4$ ,  $\text{ThI}_4$ ,  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ ,  $\text{UCl}_4$ ,  $\text{UI}_4$  und  $\text{U}(\text{OTf})_4$  durchgeführt. Die Ergebnisse NMR-spektroskopischer Untersuchungen zeigen, dass sich nur bei Verwendung von  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4$  ein entsprechender Komplex bildet. Dies deutet auf eine Abhängigkeit der Actinid-Komplexierung vom gewählten Gegenion. Mit dem ebenfalls neutralen MTB-Liganden konnte diese Abhängigkeit bestätigt werden. Es wurden zudem die dreiwertigen Lanthanidkomplexe ausschließlich bei Verwendung der  $\text{Ln}(\text{NO}_3)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  Salze gewonnen und mit Einkristallstrukturanalyse 1:1-Komplexe nachgewiesen, die eine direkte Koordination der Nitrationen an das Lanthanid bestätigen. Mit beiden Liganden vom Schiff-Base-Typ (Salpy und Trensalen) konnten jeweils  $\text{U}(\text{IV})$ -Komplexe unter Verwendung von  $\text{UCl}_4$  hergestellt und mittels NMR sowie SC-XRD charakterisiert werden.

AP4: Keine Beiträge von HZDR.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Es ist ein weiterer Forschungsaufenthalt im AK Geist am KIT-INE geplant, um grundlegende Versuche zur  $\text{U}(\text{IV})$ -Komplexierung auf  $\text{Pu}(\text{IV})$  übertragen zu können.

Außerdem werden beide Doktoranden ihre Ergebnisse auf internationalen Konferenzen präsentieren: zur Actinides Revisited in Dresden (beide), zur Plutonium Futures in Avignon (Tamara Duckworth) sowie zur ATAS in Grenoble (Boseok Hong).

AP2: Vom HZDR sind keine weiteren Arbeiten zur Ligandsynthese geplant.

AP3: Die erhaltenen Lanthanid- und Actinid-Komplexe mit Amidinatliganden sollen umfassend durch NMR-Spektroskopie, SC-XRD, IR, EA und EPR-Spektroskopie (Ce, Nd, Sm, Gd) charakterisiert werden. Zudem sind quantenchemische Rechnungen an den La, Nd und  $\text{U}(\text{III})$ -Komplexen von  ${}^i\text{Pr}_2\text{BA}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{AA}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{TA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{BA}$ ,  $\text{Cy}_2\text{AA}$  und  $\text{Cy}_2\text{TA}$  geplant, um die zu erwartenden Daten zu Struktur und Bindungsparametern mit experimentellen Daten vergleichen zu können. Außerdem sollen die Komplexierungsversuche auf die Transurane  $\text{Np}(\text{IV})$  und  $\text{Pu}(\text{IV})$  erweitert und diese Komplexe schließlich zu den  $\text{TRU}(\text{III})$ -Komplexe reduziert werden.

Um die Abhängigkeit der Komplexbildung neutraler *N*-Donorliganden vom gewählten Gegenion des Lanthanid-/Actinidsalzes näher untersuchen zu können, sind Experimente zur Synthese von  $\text{U}(\text{NO}_3)_4$  bzw.  $\text{Np}(\text{NO}_3)_4$  und  $\text{Pu}(\text{NO}_3)_4$  durch chemische sowie elektrochemische Methoden geplant. Daneben sollen die Synthesen zur Komplexierung mit MTB sowie den Schiff'schen Basen auf weitere Actinide (Th, Np und Pu) ausgedehnt werden. Zur direkten Vergleichbarkeit der reinen *N*-Donorliganden vom Schiff-Base-Typ mit den analogen Salen-Systemen sollen hier direkte Vergleichsreaktionen erfolgen und mithilfe quantenchemischer Daten analysiert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

A. Näder: Computergestützte Studien der Elektronenstruktur von  $\text{An}(\text{IV})$ -Amidinat-Systemen und Berechnung spektroskopisch relevanter Parameter. Masterarbeit 2022, Technische Universität Dresden

L. Waurick: Berechnung des Einflusses von Halogensubstituenten auf die Elektronenstruktur von  $\text{An}(\text{IV})$ -Salen-Komplexen. Masterarbeit 2022, Technische Universität Dresden

T. Duckworth: Synthesis and complexation of nitrogen donor ligands with tetravalent uranium. Vortrag, RadChem, Marianske Lazne, CZ, 2022

B. Hong: Synthesis and Characterization of Tetravalent Actinide Amidinate Halide Complexes. Vortrag, RadChem, Marianske Lazne, CZ, 2022

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Heidelberg, Grabengasse1, 69117 Heidelberg		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 059C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 318.465,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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) mit 2,5-bis(5,6-dipropyl-1,2,4-triazin-3-yl)furan (BTF) in 2-Propanol mit 10 Vol. % H<sub>2</sub>O wurde mittels TRLFS untersucht. In Abwesenheit von BTF wird das Cm(III)-Solvensspektrum mit Emissionsbanden bei 594.5 nm und 597.0 nm beobachtet. Anschließend wurde in der Küvette eine BTF-Konzentration von 0.4 mM eingestellt und Emissionsspektren als Funktion der Zeit aufgenommen. Direkt nach Zugabe kann eine neue Emissionsbande bei 597.8 nm beobachtet werden, welche innerhalb von 2 Tagen stark an Intensität gewinnt. Nach ca. 6 Tagen tritt eine weitere Bande bei 603.4 nm auf. Konstante Emissionsspektren werden jedoch erst nach 3-4 Wochen erhalten. Qualitativ kann die Bildung von mindestens zwei [Cm(BTF)<sub>n</sub>]<sup>3+</sup>-Komplexen bestätigt werden. Aufgrund der sehr langsamen

men Kinetik eignet sich BTF jedoch nicht für Speziationsuntersuchungen in Lösung. Aus diesem Grund konnten keine Stabilitätskonstanten für die Bildung der verschiedenen  $[\text{Cm}(\text{BTF})_n]^{3+}$ -Komplexe ermittelt werden.

Zudem wurde die Komplexierung von Cm(III) mit den Liganden Diglycolsäure (ODA), Thiodiglycolsäure (TDA) und Iminodiessigsäure (IDA) in  $10^{-3}$  M  $\text{HClO}_4$  untersucht. Die Liganden unterscheiden sich hierbei lediglich in ihrem zentralen Donoratom. Im Falle von ODA konnten in Abhängigkeit der ODA-Konzentration drei Emissionsbanden bei 597.9 nm, 602.4 nm und 606.8 nm beobachtet werden, welche sowohl durch eine Steigungsanalyse als auch durch einen Literaturvergleich mit strukturell ähnlichen Liganden, den  $[\text{Cm}(\text{ODA})_n]^{(3-2n)}$ -Komplexen ( $n = 1-3$ ) zugeordnet werden konnten. Die bestimmten Stabilitätskonstanten liegen zudem in derselben Größenordnung wie diejenigen in der Literatur. Im Falle von TDA hingegen konnte nur die Bildung eines 1:1- und 1:2-Komplexes und für IDA sogar nur ein 1:1-Komplex beobachtet werden. Es konnte zudem gezeigt werden, dass alle drei Liganden Cm(III) nur in ihrer zweifach deprotonierten Form komplexieren. Ein Vergleich der Stabilitätskonstanten der 1:1-Komplexe zeigt, dass TDA und IDA im Vergleich zu ODA unter den gewählten Bedingungen sehr schwache Liganden für Cm(III) darstellen. Dies liegt vermutlich daran, dass die Liganden in Lösung selbst sauer reagieren und somit unter den gewählten pH-Bedingungen die Konzentration der zweifach deprotonierten Spezies zu gering für eine effektive Komplexierung von Cm(III) ist.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- In der nächsten Förderperiode soll die Komplexierung von Cm(III) mit ODA, IDA und TDA als Funktion des pH-Wertes und der Konzentration bei erhöhtem pH-Wert untersucht werden.
- Zusätzlich sollen auch Komplexierungsuntersuchungen von Eu(III) mit ODA, IDA und TDA durchgeführt werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Weßling, P.; Trumm, M.; Geist, A.; Panak, P.J.: Spectroscopic investigation of the different complexation and extraction properties of diastereomeric diglycolamide ligands, *Radiochim. Acta.* 2022, 110, 291-300

Sittel, T.; Weßling, P.; Großmann, D; Engels, E.; Geist, A.; Panak, P.J.: Spectroscopic investigation of the covalence in An(III) complexes with Tetraethylcarboxamidopyridine, *Dalton Trans.* 2022 51, 8028-8035

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 059D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 437.777,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Auf dem Projekt ist derzeit ein Doktorand angestellt. Erste Arbeitsergebnisse wurden im Rahmen von Posterpräsentationen auf der 19th International Radiochemical Conference (RadChem 2022) in Mariánské Lázně, Tschechien, und dem Helmholtz Energy Young Scientists Workshop 2022 in Frankfurt-Maintal vorgestellt.
- AP2: Vom Projektpartner KIT-AOC wurden verschiedene hydrophile und lipophile tripodale N-Donor-Liganden zur Verfügung gestellt, mit denen erste Testextraktionen durchgeführt wurden.
- AP3: Anknüpfend an die bisherigen Ergebnisse der UV/Vis-Speziationsuntersuchungen von  $\text{SO}_3\text{-Ph-BTBP}$  (Tetranatrium-3,3',3'',3'''-(2,2'-bipyridin)-6,6'-diylbis(1,2,4-triazin-3,5,6-triyl))tetrabenzolsulfonat) mit verschiedenen Lanthaniden (Nd, Eu, Ho) wurden weitere spektrophotometrische Titrations von  $\text{SO}_3\text{-Ph-BTBP}$  mit Eu(III) bei konstanter  $\text{HClO}_4$ -Konzentration durchgeführt. Aus den gewonnenen Datensätzen wurden mithilfe verschiedener Software-Lösungen Stabilitätskonstanten der gebildeten Lanthanidkomplexe ermittelt und miteinander verglichen. Um das Komplexierungsverhalten von  $\text{SO}_3\text{-Ph-BTBP}$  mit den unterschiedlichen Lanthaniden bei verschiedenen  $\text{HNO}_3$ -Konzentrationen besser zu verstehen, sollen die Protonierungsstufen des Liganden bei verschiedenen pH-Werten bzw. Säurekonzentrationen bestimmt werden. Hierfür wurden potentiometrische Titrations von  $\text{SO}_3\text{-Ph-BTBP}$  durchgeführt.
- AP4: Keine.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weitere Teilnahmen an Konferenzen und Projekttreffen sind in Planung.
- AP2&4: Weitere Untersuchungen der tripodalen N-Donor-Liganden hinsichtlich ihrer Extraktionseigenschaften sind geplant. Darüber hinaus sollen weitere von den Projektpartnern neu entwickelte N-Donor-Liganden getestet werden.
- AP3: Weitere Optimierungen in der Durchführung und Auswertung der UV/Vis-Speziationsuntersuchungen mit  $\text{SO}_3\text{-Ph-BTBP}$  sowie deren Ausweitung auf andere Lanthanide und Actinide sind vorgesehen. Darüber hinaus sind weitere Untersuchungen mit anderen Methoden (ESI-MS, NMR) geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Sauerwein, F. S.; Wilden, A.; Modolo, G.: Characterization of f-element complexes with soft-donor ligands for selective Americium separation, 19th Radiochemical Conference (RadChem 2022), 15.-20.05.2022, Mariánské Lázně, Czech Republic, Poster

Sauerwein, F. S.; Wilden, A.; Modolo, G.: Characterization of f-element complexes with soft-donor ligands for selective Americium separation, Helmholtz Energy Young Scientists Workshop 2022 - Enabling cooperation and networks in energy, 30.-31.05.2022, Frankfurt-Maintal, Germany, Poster

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 059E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 318.221,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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:

Der Student BSc J. Hochholzer absolvierte ein Mitarbeiterpraktikum auf dem Gebiet der Uranchemie mit „soft“-Donorliganden und Doktoranden befinden sich in der Promotion (AP1).

Im Rahmen der Vorgängerprojekte des BMBF wurden bisher in der AG Meyer unterschiedliche O-, N,O- und N,N-Liganden synthetisiert, die verschiedene Ankersysteme (N, tacn, cyclen, mes, py etc.) tragen. Durch eine entsprechend angepasste Auswahl an *ortho*- und *para*-Substituenten konnten im Anschluss die elektronischen und magnetischen Eigenschaften sowie die Reaktivitäten und Löslichkeiten der daraus hervorgegangenen Urankomplexe maßgeschneidert werden. In der Fortführung dieser Arbeiten wurde eine rein kohlenstoffbasierte Ligandvorstufe Pentabenzylcyclopentadien ( $\text{Cp}^{\text{Bn}5}\text{H}$ ) synthetisiert (AP2). Nach der Deprotonierung mittels Kaliumbis(trimethylsilyl)amid wird der so erhaltene benzylsubstituierte Cyclopentadienylligand ( $\text{Cp}^{\text{Bn}5-}$ ) mit den Uranausgangsverbindungen  $[\text{UCl}_4]$  und  $[\text{UI}_3(1,4\text{-dioxan})_{1.5}]$  umgesetzt, was die entsprechenden Komplexe  $[(\text{Cp}^{\text{Bn}5})_2\text{U}^{\text{IV}}(\text{Cl})_2]$  und  $[(\text{Cp}^{\text{Bn}5})_2\text{U}^{\text{III}}(\text{I})]$  lieferte. Anschließend wird der tetra-

valente Komplex  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(Cl)_2]$  entweder methyliert, um  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(Me)_2]$  zu erhalten bzw. reduziert, um das trivalente  $[(Cp^{Bn5})_2U^{III}(\mu-Cl)_2K(OEt)_3]$  zu bilden. Die Oxidation von  $[(Cp^{Bn5})_2U^{III}(I)]$  mit AgI ergibt den Komplex  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(I)_2]$ , der durch Abstraktion der Iodidliganden mit Thalliumsalzen in Acetonitril das selten beobachtete, lineare Uranmetallocen  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(NCMe)_5][X]_2$  ( $X = PF_6^-$  und  $BPh_4^-$ ) liefert (AP3).

Alle Komplexe wurden durch  $^1H$ -NMR-Spektroskopie, CHN-Elementaranalyse, UV-vis-NIR-Spektroskopie und SQUID-Magnetisierungsmessungen eindeutig charakterisiert. Die Festkörpermolekularstrukturen der beschriebenen Komplexe wurden durch Einkristallröntgenstrukturanalyse zweifelsfrei bestimmt. Darüber hinaus konnten zum ersten Mal die elektronischen Strukturen der vierwertigen Komplexe  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(Cl)_2]$ ,  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(Me)_2]$  und  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(I)_2]$  sowie insbesondere der linearen Verbindung  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(NCMe)_5][BPh_4]_2$  untersucht und mit der raren, literaturbekannten Koordinationsverbindung  $[(Cp^*)_2U^{IV}(NCMe)_5][BPh_4]_2$  verglichen werden. Die Daten zeigten ein höchst ungewöhnliches magnetisches Verhalten mit magnetischen Momenten nahe dem „Spin-only“-Wert für zwei ungepaarte Elektronen zusammen mit einer ebenso bemerkenswerten subtilen Temperaturabhängigkeit für alle Komplexverbindungen. Des Weiteren weisen die elektronischen Absorptionsspektren von  $[(Cp^{Bn5})_2U^{IV}(NCMe)_5][BPh_4]_2$  und dessen verwandten Spezies  $[(Cp^*)_2U^{IV}(NCMe)_5][BPh_4]_2$  eine einzigartige und ziemlich isolierte Split-Absorptionsbande in NIR-Spektralbereich auf. Folglich wurden die elektronische Struktur und das magnetische Verhalten der Komplexe modernsten rechnerischen Analysen unterzogen (Kooperation), die den Ursprung der ungewöhnlichen magnetochemischen und optischen Eigenschaften aufdeckten (*Organometallics* 2022, 41, 2077–2087).

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Geplante Weiterarbeiten beinhalten die Synthese/Charakterisierung/Weiterentwicklung (neuartiger) Ligandensysteme sowie deren erneute Weiterleitung an die Kooperationspartner zur näheren Charakterisierung/Evaluierung. Des Weiteren konzentrieren sich Forschungsarbeiten auf die Synthese und Charakterisierung neuer  $U^{II-VI}$ -Komplexe ausgehend von tacn-, mes- und N-basierter O/S-, N,O/S-, N,N/S- bzw.  $N_xO/S_y$ - sowie sterisch abgeschirmter pyridin- bzw. aryloxid-/arylsulfidsubstituierter Liganden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

Aufgrund der SARS-CoV-2 (COVID-19)-Pandemie wurden keine Vorträge zu dem im *f*-Char-Projekt durchgeführten Forschungsarbeiten gehalten.

Veröffentlichungen:

Molecular and Electronic Structure of Linear Uranium Metallocenes Stabilized by Pentabenzyl-Cyclopentadienyl Ligands. S. T. Löffler, F. W. Heinemann, A. Carpentier, L. Maron, K. Meyer, *Organometallics* 2022, 41, 2077–2087

Unprecedented pairs of uranium(IV/V) hydroxido and (IV/V/VI) oxido complexes supported by a seven-coordinate cyclen-anchored tris-aryloxo ligand. S. T. Löffler, J. Hümmer, A. Scheurer, F. W. Heinemann, K. Meyer, 2022, in Vorbereitung

Mitarbeiterpraktikum im Masterstudiengang Chemie mit Forschungsschwerpunkt Uranchemie (4–6 Wochen): Jakob Hochholzer, März/April 2022

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 059F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 694.408,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Einführung einer Tris(2-aminoethyl)amin-Einheit (tren) als Linker zwischen Donoreinheiten basierend auf N-Heterozyklen wie Pyridin (py3tren), Imidazol (im3tren) und 1-Methylimidazol (Meim3tren) wurde fortgeführt. Die Komplexierung an Lanthan(III) wurde erfolgreich durchgeführt und die Komplexe  $[\text{La}(\text{py}_3\text{tren})(\text{OTf})_3]$ ,  $[\text{La}(\text{im}_3\text{tren})(\text{OTf})_3]$  und  $[\text{La}^{\text{Me}}(\text{im}_3\text{tren})(\text{OTf})_3]$  wurden in Form der Triflatsalze isoliert und per Einkristallröntgenstrukturanalyse charakterisiert. Weiterhin wurden  $^1\text{H}$ - und  $^{19}\text{F}$ -Diffusions-NMR-Messungen an diesen Komplexen durchgeführt. Die dabei erhaltenen Daten werden aktuell ausgewertet, um Erkenntnisse über die Dynamik und den Grad an Ionenpaarbildung in Lösung zu gewinnen. Die Darstellung der analogen Cer(III)-Komplexe wurde ebenfalls erfolgreich durchgeführt und die Komplexe stehen nun für cyclovoltammetrische Untersuchungen bereit (siehe unten). Weiterführende Studien an Pyridazin-funktionalisierten Liganden sind in Arbeit. Darüber hinaus wurden Bipyridin-Funktionalitäten eingefügt und erste orientierende Komplexierungsversuche unternommen. Jedoch ist der Ligand sehr schwerlöslich, was die Charakterisierung und Folgereaktionen erschwert. Eine Synthese zur Funktionalisierung des Bipyridin Bausteins mit einer *tert*-Butylgruppe wird angestrebt. Bis jetzt wurde keine weiteren Komplexierung von (Triethylenglykol)tris(pyrazolyl)methan (Tpm-OTEG) erreicht. Optimierungen und weitere Versuche werden durch-

geführt. Weiterführende Studien mit dem ebenfalls synthetisierten (3-TEG-Triazol) bis (pyrazolyl) methan-Liganden stehen noch aus.

Für die elektrochemische Untersuchung des Cer(III/IV)-Redoxpaars wurden in einer breit angelegten Studie verschiedene Cer-Komplexe synthetisiert. Unter anderem kamen auch die bereits im Vorgängerprojekt untersuchten Tris(hydrazonyl)thiophosphan-Liganden zum Einsatz, jeweils mit Imidazol  $[\text{Ce}(\text{SP}\{\text{im}_3\})\text{OTf}_3]$ , Pyridin  $[\text{Ce}(\text{SP}\{\text{py}_3\})\text{OTf}_3]$ , 1-Methylimidazol  $[\text{Ce}(\text{SP}\{\text{Meim}_3\})\text{OTf}_3]$  und 4-Methylimidazol  $[\text{Ce}(\text{SP}\{\text{4Meim}_3\})\text{OTf}_3]$  funktionalisiert. Darüber hinaus die drei oben erwähnten, tren-basierten Komplexe  $[\text{Ce}(\text{py}_3\text{tren})(\text{OTf})_3]$ ,  $[\text{Ce}(\text{im}_3\text{tren})\text{Cl}_3]$  und  $[\text{Ce}(\text{Meim}_3\text{tren})(\text{OTf})_3]$ . Quantenchemische Rechnungen wurden durchgeführt, um die elektrochemischen Befunde zu verifizieren. Allerdings muss das elektrochemische Setup wegen Löslichkeits- und Zersetzungsproblemen noch optimiert werden. Durch die Teilnahme an einer Summer School über experimentelle Elektrochemie wurde das Verständnis von elektrochemischen Prozessen geschult, was die Analyse der Ergebnisse vereinfachen sollte.

Die Synthese des Ligandensystems, welches auf einer Phenanthrolin-Pyridin-Struktur basiert wurde fortgeführt. Dafür wurde das 1,10-Phenanthrolin mit 2,6-dibrompyridin zu 2-(6-Bromopyridin-2-yl)-1,10-phenanthrolin umgesetzt. Die zuvor bestehenden Probleme bei der Durchführung konnten beseitigt werden, so dass das Produkt zuverlässig und mit einer guten Ausbeute dargestellt werden kann. In einer darauffolgenden Shonogashira-Kreuzkupplung konnte ausgehend vom Bromopyridin das 2-(6-((Trimethylsilyl)ethynyl)pyridin-2-yl)-1,10-phenanthrolin synthetisiert werden. Der Aufbau der Triazol-Einheit an der Stelle des Alkyls, wurde ebenfalls erfolgreich im nächsten Schritt durchgeführt. Somit konnte der neue Ligand (4-(6-(1-yl,10-Phenanthrolin-2-yl)pyridin-2-yl)-1,2,3-triazol-1-yl)methylpivalat synthetisiert werden.

Für das Komplexverhalten wurden mehrere Ansätze mit verschiedenen Lanthanoiden und Lösungsmitteln angesetzt. So wurden sowohl mit Samarium(III)nitrat-Hexahydrat und Erbium(III)trifluormethansulfonat bereits Kristalle erhalten.

Der in den vorherigen Berichtszeiträumen dargestellte Tetrazin-Bipyridin-Ligande (6-(6-Methyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)-2,2'-bipyridin (MTB)) wurde an die Projektpartner HZDR, Uni HD und KIT-INE weitergegeben und dort intensiv untersucht. Die Liganden py3tren, im3tren und Tpm-OTEG wurden zur Untersuchung der Extraktionseigenschaften an den Projektpartner in Jülich weitergereicht.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die bereits begonnene Synthese des *tert*-Butyl-funktionalisierten Bipyridin-Bausteins wird fortgeführt. Die Komplexierungsexperimente mit den (Triethylenglykol)tris(pyrazolyl)methan-Liganden sowie mit den (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)methan-Liganden müssen durchgeführt bzw. optimiert werden. Die elektrochemischen Studien an den Cer-Komplexen werden fortgeführt.

Die begonnene Charakterisierung des Liganden (4-(6-(1,10-Phenanthrolin-2-yl)pyridin-2-yl)-1,2,3-triazol-1-yl)methylpivalat soll vervollständigt werden. Ebenso erfolgt die Strukturaufklärung der erhaltenen Kristalle aus den Komplexansätzen mit den verschiedenen Lanthanoiden. Zusätzlich soll dieser Ligand bei erfolgreicher Komplexierung ebenfalls für weitere Tests ans INT geschickt werden und weitere Komplexe mit Actinoiden versucht werden.

Der aus diesem Projekt erhaltenen Ergebnissen zum synthetisierten Ligand 6-(6-Methyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)-2,2'-bipyridin (MTB) sollen zudem für eine Veröffentlichung zusammengetragen werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 060A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 996.222,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Huittinen	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt AcE setzt sich zum Ziel, den Einbau und die Immobilisierung von Actiniden ( $An$ ) in kristallinen, endlagerrelevanten Festphasen auf atomarer Ebene zu verstehen. Die wesentlichen Ziele des Vorhabens AcE sind, (i) die Entwicklung von Synthesestrategien für  $An(IV)$ -dotierten Festphasen (ii) die Beschreibung der strukturellen und physikalischen Eigenschaften der  $An$ -dotierten Materialien mit kombinierten atomistischen und experimentellen Ansätzen und (iii) die Beschreibung des Verhaltens von  $An$ -dotierten Festphasen nach Bestrahlung, z. B. die Langzeit-Beständigkeit, das Auflösungsverhalten, die mechanische Stabilität und das Gesamtpotential zur Aufnahme von  $An$  in der Matrix. Diese Ziele sollen einen Beitrag zur Bewertung innovativer Entsorgungsstrategien liefern, und das Wissen über das langfristige Verhalten von  $An$  bei der Entsorgung in tiefen geologischen Endlagern erweitern.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese und Charakterisierung fester Phasen mit  $An(IV)$  und Surrogaten
- AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben
- AP3: Verständnis von Struktur-Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala
- AP4: Kompetenzerhalt, -erweiterung und Nachwuchsförderung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: An der Rossendorf Beamline (ROBL) wurden XANES-Untersuchungen der Ce-dotierten  $ZrO_2$ - und Monazit-Festphasen durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Monazit-Phasen hauptsächlich von Ce(III) dominiert werden. Im Gegensatz dazu ist in den  $ZrO_2$ -Mischkristallen ( $Zr_{1-x}Ce_xO_2$ ,  $x = 0-1$ ) nur Ce(IV) eingebaut. Die hochaufgelösten PXRD-Daten von ROBL, haben komplexe Phasen mit verschiedenen tetragonalen Modifikationen in  $Zr_{1-x}Ce_xO_2$ -Mischkristallen aufgezeigt. Im Rahmen eines Forschungsaufenthalts am HZDR (Zusammenarbeit RWTH-IFK) wurden Synthesen von Ca(II)+Th(IV)- und Ca(II)+U(IV)-co-dotierten Monaziten begonnen. Vorläufige Strukturanalysen deuten auf eine erfolgreiche Synthese von Monaziten mit geringen Diphosphatresten hin. Bei ROBL wurde der im Projekt angeschaffte Eiger 500k CdTe-Detektor erfolgreich installiert und eine Diamantdruckzelle getestet. Der neue Detektor wurde in hochaufgelösten Beugungsexperimenten zur Untersuchung der  $ThSiO_4$  -  $ZrSiO_4$  Mischkristallreihe und zur Th-Dotierung von Pyrochlor eingesetzt. Weiterhin wurden mehrere Beugungsstudien zu Strukturveränderungen in  $UO_2/ThO_2$ - und  $LnPO_4$ -Monaziten in Zusammenarbeit mit dem

FZJ und der RWTH-IFK durchgeführt. Zur Simulation von Drücken im Endlager wurden ausgewählte Proben der  $\text{ThSiO}_4$  -  $\text{ZrSiO}_4$  Mischkristallreihe in der Diamantdruckzelle untersucht. Die Mischkristalle sind auch bei hohen Drücken stabil.

- AP2: Die am Ionenstrahlzentrum (IBC/HZDR) bestrahlten  $\text{LaPO}_4$ -Pellets und -Einkristalle wurden mittels Röntgenbeugung im streifenden Einfall, Raman- und Lumineszenzspektroskopie sowie Mikroskopie eingehend charakterisiert. Es konnten Schäden an der Kristallstruktur und Veränderungen der Topologie (Quellung, Veränderungen an Korngrenzen) festgestellt werden. Es wurden neue Proben für die kommenden Bestrahlungsexperimente am IBC/HZDR im Herbst 2022 synthetisiert, wie z. B.  $\text{Gd}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$  und  $\text{La}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ , und Präkursor-Oxide für Festkörpersynthesen von Nd/Ce-co-dotierten  $\text{ZrO}_2$ -Keramiken. Im Rahmen eines Forschungsaustausches an der RWTH-IFK wurden mehrere Ce-dotierte  $\text{ZrO}_2$ -Keramiken hergestellt.
- AP3: In Zusammenarbeit mit dem FZJ wurden HERFD-XANES und EXAFS Experimente von Cr-dotierten  $\text{UO}_2$  Pulverproben und Einkristallen durchgeführt. Die Ergebnisse deuten auf den Einbau von Cr(III) in die  $\text{UO}_2$ -Matrix hin.
- AP4: Der Forschungsaustausch zwischen den Partnerinstituten wurde intensiviert. Eine neue Bachelor-Studentin, Selina Richter, hat als studentische Hilfskraft im Teilprojekt A begonnen und wird später ihre Bachelorarbeit im Rahmen des AcE-Projekts anfertigen. Projektbezogene Ergebnisse wurden auf den folgenden Konferenzen/Workshops vorgestellt: RadChem, Marienbad, Tschechien, ESRF-EBS-User meeting, Grenoble, Frankreich.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Synthese von U-dotiertem  $\text{ZrO}_2$  wird begonnen. HR-PXRD (ROBL) Untersuchungen der U- und Th-dotierten Monazite- und  $\text{ZrO}_2$ -Festphasen werden durchgeführt. Geplant sind Hochdruckuntersuchungen der Phasenumwandlung von  $\text{UO}_2$  im Kontakt mit Wasser. Vorhandene Hochdruck-Beugungsdaten von Th-dotierten Pyrochloren werden analysiert. Das Goniometer für Diffraktions-Messungen in steifendem Einfall wird bei ROBL in Betrieb genommen.
- AP2: Ionenbestrahlungsstudien von Zr(IV)-basierten Proben werden am IBC/HZDR durchgeführt. In Zusammenarbeit mit dem Joint Research Center in Karlsruhe und FZJ werden in-situ-Studien zu Strahlenschäden vorgenommen. Es werden Synthesen von  $\text{ZrO}_2$ -Festphasen durchgeführt, die mit dem kurzlebigen Isotop  $^{241}\text{Am}$  ( $t_{1/2} = 432$  Jahre) dotiert sind. Die Festphasen werden anschließend charakterisiert und die durch Strahlung induzierten Veränderungen der Kristallstruktur werden im Laufe eines Jahres durch regelmäßige Strukturanalysen beobachtet.
- AP3: Die Auswertung der HERFD-XANES und EXAFS Daten von den Cr-dotierten  $\text{UO}_2$  Proben wird abgeschlossen. Ein Manuskript der Ergebnisse wird geschrieben.
- AP4: Dr. Sara Gilson wird das FZJ besuchen, um Pellets für die kommenden Bestrahlungsexperimente herzustellen. Dr. Volodymyr Svitlyk wird am HZDR sein, um Hochdruckbeugungsstudien an  $\text{UO}_2$ -basierten Materialien bei ROBL in Grenoble vorzubereiten. Frau Selina Richter wird ihre Bachelorarbeit im Rahmen des AcE-Projekts durchführen und sich dabei auf die Synthese von Ce,Nd-co-dotierten Zirkonaten konzentrieren. Die projektbezogenen Ergebnisse werden auf den folgenden Konferenzen vorgestellt: Goldschmidt, Actinides Revisited, Pu-Futures, GDCh, und ATAS-AnXAS.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

V. Svitlyk, S. Weiss, C. Hennig (2022): Immobilization of radiotoxic elements with Y-stabilized zirconia: The thorium case, *J. Am. Ceram. Soc.* 105(9), 2022, 5975-5983

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 060B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 294.068,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Peters	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt AcE setzt sich zum Ziel, den Einbau und die Immobilisierung von Actiniden ( $An$ ) in kristallinen, endlagerrelevanten Festphasen auf atomarer Ebene zu verstehen. Die wesentlichen Ziele des Vorhabens AcE sind, (i) die Entwicklung von Synthesestrategien für An(IV)-dotierten Festphasen (ii) die Beschreibung der strukturellen und physikalischen Eigenschaften der An-dotierten Materialien mit kombinierten atomistischen und experimentellen Ansätzen und (iii) die Beschreibung des Verhaltens von An-dotierten Festphasen nach Bestrahlung, z. B. die Langzeit-Beständigkeit, das Auflösungsverhalten, die mechanische Stabilität und das Gesamtpotential zur Aufnahme von An in der Matrix. Diese Ziele sollen einen Beitrag zur Bewertung innovativer Entsorgungsstrategien liefern, und das Wissen über das langfristige Verhalten von An bei der Entsorgung in tiefen geologischen Endlagern erweitern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Synthese und Charakterisierung fester Phasen mit An(IV) und Surrogaten

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Die Systeme  $\text{La}^{3+}_{1-x}\text{Ce}^{4+}_{x/2}\text{Ca}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$  und  $\text{Gd}^{3+}_{1-x}\text{Ce}^{4+}_{x/2}\text{Sr}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$  wurden als Pulver vollständig hergestellt ( $\Delta x = 0.1$ ) und umfassend charakterisiert (siehe AP3). Zusätzlich wurden jeweils vier Zusammensetzungen der Systeme  $\text{La}^{3+}_{1-x}\text{Th}^{4+}_{x/2}\text{Ca}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$ ,  $\text{Gd}^{3+}_{1-x}\text{Th}^{4+}_{x/2}\text{Sr}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$ ,  $\text{La}^{3+}_{1-x}\text{U}^{4+}_{x/2}\text{Ca}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$  und  $\text{Gd}^{3+}_{1-x}\text{U}^{4+}_{x/2}\text{Sr}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$  hergestellt. Erste XRD-Messungen der Th-enthaltenden Proben bestätigen die Monazitstruktur der Pulverproben.

Über die Synthese von  $\text{Zn}_{1-x}\text{Ce}_x\text{SiO}_4$ -Pulvern wurde eine Bachelorarbeit geschrieben. Weitere Versuche sind noch ausstehend.

AP2: Für Bestrahlungsversuche wurden aktive Pulverproben hergestellt.

AP3: Die chemische Zusammensetzung der inaktiven Mischkristallreihen wurde mittels Elektronenstrahlröntgenmikroanalyse verifiziert. Mithilfe von XANES-Messungen am Synchrotron konnte die Oxidationsstufe des substituierten Cers ermittelt werden und Hochtemperatur-XRD-Messungen sowie EXAFS-, DSC- und TGA-Messungen ermöglichten ein besseres Verständnis der Veränderungen der Kristallstruktur während des Kalzinierungsprozesses. In Kombination lässt sich aus den Messungen schließen, dass ein stabiler Einbau größerer Mengen vierwertigen Cers in die Monazitstruktur nicht erfolgt. Allerdings erfolgt der Einbau des dreiwertigen Cers dann ohne die Notwendigkeit einer gekoppelten Substitution, ein Umstand, der so auch für den Einbau von Plutonium beobachtet wurde. Daher kann Cer als adäquates Surrogat für Plutonium für den Einbau in die Monazitstruktur betrachtet werden.

AP4: Aufgrund der Durchführung von XANES- und EXAFS-Messungen am Synchrotron konnte die Doktorandin ihr Verständnis dieser Methoden erweitern. Auch durch die Teilnahme an einem Workshop zur Elektronendiffraktometrie konnte sie eine weitere analytische Technik inklusive der Datenauswertung erlernen.

Im Zuge eines im Projektantrag geplanten Aufenthalts am Forschungszentrum Rossendorf in Dresden zur Synthese aktiver Monazitproben hat die Doktorandin Einblicke in die Arbeit in einem Kontrollbereich erhalten und Erfahrungen in der Arbeit in Gloveboxen gesammelt.

Durch die Präsentation eines Posters auf der jährlichen Tagung der Deutschen Gesellschaft für Kristallographie (DGK) hat die Doktorandin die Zusammenfassung und Visualisierung von Forschungsergebnissen geübt sowie ihre Präsentationskompetenz gestärkt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- In-situ XANES-Messungen an inaktiven Monazitproben zur Bestimmung der temperaturabhängigen Änderung der Oxidationsstufe von Cer
- Herstellung von Monazitkeramiken
- TEM-/REM-Messungen
- IR-/Raman-Messungen, TRLFS-Messungen
- XRD-Messungen aktiver Proben am Synchrotron
- Bestrahlungsversuche an aktiven Monazitproben
- Synthese von  $\text{Zn}_{1-x}\text{Ce}_x\text{SiO}_4$ -Pulvern

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterpräsentation auf der Jahrestagung der DGK

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 060C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 596.685,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Murphy	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt AcE setzt sich zum Ziel, den Einbau und die Immobilisierung von Actiniden (An) in kristallinen, endlagerrelevanten Festphasen auf atomarer Ebene zu verstehen. Die wesentlichen Ziele des Vorhabens AcE sind, (i) die Entwicklung von Synthesestrategien für An(IV)-dotierten Festphasen (ii) die Beschreibung der strukturellen und physikalischen Eigenschaften der An-dotierten Materialien mit kombinierten atomistischen und experimentellen Ansätzen und (iii) die Beschreibung des Verhaltens von An-dotierten Festphasen nach Bestrahlung, z. B. die Langzeit-Beständigkeit, das Auflösungsverhalten, die mechanische Stabilität und das Gesamtpotential zur Aufnahme von An in der Matrix. Diese Ziele sollen einen Beitrag zur Bewertung innovativer Entsorgungsstrategien liefern, und das Wissen über das langfristige Verhalten von An bei der Entsorgung in tiefen geologischen Endlagern erweitern.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese und Charakterisierung fester Phasen mit An(IV) und Surrogaten
- AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben
- AP3: Verständnis von Struktur-Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala
- AP4: Kompetenzerhalt, -erweiterung und Nachwuchsförderung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Synthese von Ln-dotierten UO<sub>2</sub>-Proben (Ln = La, Ce, Nb, Pr) für die Ionenbestrahlung ist abgeschlossen. Die Proben werden für Ionenbestrahlungsexperimente an ANSTO in Australien geliefert. Außerdem wird LaPO<sub>4</sub>-Monazit-Material hergestellt, um den Erfolg früherer Ergebnisse aus Ionenbestrahlung und Analyse zu unterstützen. Herstellung von Einkristallen aus Cr-dotiertem UO<sub>2</sub>.
- AP2: Feste Lösungen von LaPO<sub>4</sub>-Monazit-Material ((La,Ln)PO<sub>4</sub>, Ln = La, Ce, Nb, Pr, Surrogate für kleinere Aktinide), die im vergangenen Jahr synthetisiert und bestrahlt wurden, wurden durch Beugung am ROBL und Raman-Spektroskopie am FZJ untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die festen Lösungen erhebliche Verzerrungen aufwiesen. UO<sub>2</sub>-Proben für die Ionenbestrahlung bei ANSTO, Australien, wurden hergestellt und sollen in den nächsten Monaten versandt werden. Genehmigter und geplanter Besuch bei der GFS Karlsruhe zur Durchführung von Selbstbestrahlungsstudien mit Am-241 für ZrO<sub>2</sub>-verwandte Materialien (Zusammenarbeit mit dem Projektpartner HZDR Dresden).

- AP3: Hochauflösende Röntgenbeugungsmessungen, die am ROBL an  $\text{UO}_2$ -Einkristallen und  $\text{ThO}_2$ -dotierten Oxiden bei niedriger Temperatur durchgeführt wurden. Die Ergebnisse geben einen entscheidenden Einblick in die strukturelle Ordnung dieser Materialien und ihre Chemie. Röntgenabsorptionsspektroskopische Messungen an Cr-dotiertem  $\text{UO}_2$  und  $\text{ThO}_2$ -dotierten Oxiden, die am ROBL erfolgreich durchgeführt wurden. Die Ergebnisse geben einen einzigartigen Einblick in die Redoxchemie dieser endlagerrelevanten Materialien. Beide Ergebnisse werden derzeit zur Veröffentlichung vorbereitet. Cr-dotierte  $\text{UO}_2$ -Materialien wurden am ROBL, FZJ und HZDR ausgiebig gemessen. Die Arbeiten an Cr-dotiertem  $\text{UO}_2$  werden voraussichtlich noch in diesem Jahr abgeschlossen, Veröffentlichungen werden folgen.
- AP4: Projektleiter Dr. Gabriel Murphy nahm an der Konferenz Journées Des Actinides in Santa Margherita Ligure, Italien, und an der Frühjahrstagung des MRS in Honolulu, USA, teil. Bei der Konferenz in den USA handelte es sich um einen eingeladenen Vortrag. Die Arbeit von AcE wurde auf beiden Tagungen vorgestellt. Projektmitglieder von HZDR und GuF arbeiteten zweimal gemeinsam mit FZJ am ROBL und tauschten ihr Wissen aus.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Einige weitere Monazitproben werden für das nächste Bestrahlungsexperiment mit HZDR im IBC synthetisiert. Sie werden frühere Ergebnisse unterstützen. Ln-dotierte  $\text{UO}_2$ -Proben werden für Strukturstudien am ROBL synthetisiert. Transuranische Proben von Uranoxiden mit Plutonium und Neptunium werden bei der GFS Karlsruhe als Teil eines dort genehmigten Projekts synthetisiert.
- AP2: Geplante Ionenbestrahlung weiterer Monazitproben bei IBC in Zusammenarbeit mit HZDR.  $\text{UO}_2$ -Proben für die Ionenbestrahlung bei ANSTO, Australien, werden in Kürze verschifft und in den nächsten Monaten bestrahlt. Experimente zur Selbstbestrahlung werden im September bei der GFS Karlsruhe in Zusammenarbeit mit dem HZDR beginnen.
- AP3: Weitere geplante Experimente an  $\text{UO}_2$ -Proben bei ROBL BM20 für Oktober geplant. Vorschläge für die Messung von bestrahlten Monazitproben am Röntgenkartierungsstrahlrohr des ESRF sollen unterbreitet werden. Weitere hausinterne Messungen mit Raman-Spektroskopie-Kartierung am FZJ geplant.
- AP4: Das nächste Projekttreffen findet ~ Oktober in Frankfurt (GuF) statt. Außerdem ist die Teilnahme an der internationalen Konferenz NuMat Nuclear Materials International, Belgien im Oktober dieses Jahres geplant.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Murphy, G. L.; Kegler, P.; Alekseev, E. V.: Advances and perspectives of actinide chemistry from ex situ high pressure and high temperature chemical studies. Dalton Trans. 2022, DOI: 10.1039/D2DT00697A

Lu, K. T.; Zhang, Y.; Wei, T.; Murphy, G. L.; Bhuiyan, A.; Scales, N.; Zheng, R.:  $\text{LnUO}_4$  based glass-ceramic composites as waste forms for the immobilization of lanthanide-bearing uranium wastes. J. Am. Ceram. Soc. 2022, DOI: <https://doi.org/10.1111/jace.18678>

Publikationen in Vorbereitung:

Murphy et al.: What is the oxidation state and local coordination environment of Cr in  $\text{UO}_2$  doped Nuclear Fuels, in preparation

Murphy et al.: Understanding the role of lanthanide mixing in the formation of the Bixbyite Structure in  $\text{UO}_2$  and  $\text{ThO}_2$ , in preparation

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 060D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 290.472,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Tonnesen	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt AcE setzt sich zum Ziel, den Einbau und die Immobilisierung von Actiniden (An) in kristallinen, endlagerrelevanten Festphasen auf atomarer Ebene zu verstehen. Die wesentlichen Ziele des Vorhabens AcE sind, (i) die Entwicklung von Synthesestrategien für An(IV)-dotierten Festphasen (ii) die Beschreibung der strukturellen und physikalischen Eigenschaften der An-dotierten Materialien mit kombinierten atomistischen und experimentellen Ansätzen und (iii) die Beschreibung des Verhaltens von An-dotierten Festphasen nach Bestrahlung, z. B. die Langzeit-Beständigkeit, das Auflösungsverhalten, die mechanische Stabilität und das Gesamtpotential zur Aufnahme von An in der Matrix. Diese Ziele sollen einen Beitrag zur Bewertung innovativer Entsorgungsstrategien liefern, und das Wissen über das langfristige Verhalten von An bei der Entsorgung in tiefen geologischen Endlagern erweitern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Synthese und Charakterisierung fester Phasen mit An(IV) und Surrogaten

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

## 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die isostatische Verdichtung und der Einfluss auf die Mikrostruktur wurden weiterführend untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Gründichte zwischen ca. 400 und 800 MPa mit dem Pressdruck ansteigt. Die Werte weisen jedoch eine deutlich höhere Streuung auf als uniaxial verdichtete Proben. Die verwendeten Pressdrücke hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Sinterdichte. Auf Grund der geringen Dichte des Pulvers gestaltete sich das Befüllen der Pressmatrize als ausgesprochen schwierig. Dabei kann es passieren, dass während des Verschließen Pulver aus der Matrize herausgedrückt wird und dadurch zu wenig Pulver für eine hohe Enddichte vorhanden ist. Weiterhin wurden die Proben mittels Rasterelektronenmikroskop untersucht. Im Vergleich zu den uniaxial verdichteten Proben weisen sie auch bei hohen

Pressdrücken und Dichten keine großen Defekte auf. Die Bilder zeigen jedoch, dass auch weiterhin Poren im Material vorliegen. Diese sind jedoch homogener verteilt als bei uniaxial verdichteten Proben. Dies wird auf die höheren Pressdrücke zurückgeführt, welche vermutlich zu einer Zerstörung oder Verformung größerer Agglomerate und somit zu einem homogeneren Gefüge führen. Es wurden ebenfalls Versuche mit verschiedenen Sintertemperaturen durchgeführt. Die höchste Enddichte von ca. 98,8 % theoretischer Dichte wurde bei einer Temperatur von 1500 °C erreicht.

Neben den Versuchen mit dem Referenzmaterial, wurden erste Versuche mit dotiertem Rhabdophan  $\text{La}_{0,5}(\text{Ce,Ca})_{0,5}\text{PO}_4$  (IFK) durchgeführt. Ähnlich wie bei dem Rhabdophan (FZJ) wurde auf eine Calcination vor dem Sintern verzichtet um den Triebkraftverlust zu minimieren. Das Pulver wurde nur bei 200 °C getrocknet. Im Vergleich zu den Pulvern aus Jülich bildeten sich jedoch Risse während des Sinterns. Es wird vermutet, dass die mit der Dehydratisierung verbundene starke Schwindung zu Beginn des Aufheizens zu Spannungen und zur Rissbildung führt. Eine Reduktion der Aufheizrate und damit verbundene geringere Schwindungsraten hatten keinen detektierbaren Effekt auf die Rissbildung. Neben den Sinterversuchen im Dilatometer wurden ebenfalls mehrere Differenzkalorimetrie- und Thermogravimetriemessungen der Pulver durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen einen hohen Massenverlust von ca. 9 Gew % bis 500 °C, welcher zu einer hohen Schwindung in dem Temperaturintervall führt. Ab ca. 500 °C deuten die Daten auf eine ausgeprägte Umwandlung von Rhabdophan zu Monazit hin. Eine Zersetzungsreaktion zwischen 800-1100 °C konnte nicht mittels Differenzkalorimetrie nachgewiesen werden.

Es wurden weitere Versuche mit Y- und Gd-dotiertem  $(\text{Ce,Zr})\text{O}_2$  (HZDR) durchgeführt. Ähnlich den Rhabdophan Proben (IFK) zerbrachen einige Proben während des Sintervorgangs. Die Probleme werden ebenfalls auf eine unzureichende Entwässerung vor dem Sintern zurückgeführt.

#### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die unzureichende Agglomeration des Pulvers stellt weiterhin ein Problem bei der Formfüllung dar. Daher werden weitere Versuche mit Zugabe von Bindern durchgeführt, welche zu einer besseren Agglomeration der Feinkornfraktion beitragen sollen.

Die Rissbildung während des Sinterns stellt ein signifikantes Problem dar. Daher wird basierend auf den Thermogravimetriemessungen eine Calcination durchgeführt. Anschließend werden weitere Sinterversuche mit dem dotiertem Rhabdophan (IFK) durchgeführt.

#### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 060E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 444.523,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Winkler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben AcE hat die folgenden grundlegenden Ziele:

- Einbau und Immobilisierung vierwertiger Actiniden ( $An^{4+}$ ) in kristalline Phasen
- Verständnis des Verhaltens von  $An^{4+}$ -dotierten Festphasen nach Bestrahlung.

Der Einbau von Radionukliden in kristalline Festphasen ist potentiell eine effiziente Möglichkeit zur Immobilisierung von Radionuklide in zukünftigen Endlagern für radioaktive Abfälle. Insbesondere bei der Immobilisierung bestimmter Abfallströme, die Transurane wie  $Np^{4+}$ ,  $Am^{3+}$ ,  $Cm^{3+}$  oder Plutonium ( $Pu^{3+,4+}$ ) enthalten, kann der Einbau der radioaktiven Atome in kristalline Festphasen im Vergleich zu Glasmatrizen, die weniger resistent gegen Auslaugung und Zerfall sind, von Vorteil sein.

Die Zielsetzung der Arbeiten im Teilprojekt der Goethe Universität Frankfurt ist das Verständnis von Struktur-Eigenschaft-Beziehungen der potentiellen Wirtsmaterialien und Modellsystemen. Schwerpunkt liegt dabei auf der Bestrahlung von Einkristallen und Keramiken mit Gold Ionen sowie der Untersuchung der hervorgerufenen Strahlenschäden. Anschließend sollen die gewonnenen Erkenntnisse in atomistische Modellrechnungen einfließen und zum besseren Verständnis der thermodynamischen Größen, insbesondere der Mischkristalle führen.

Das Projekt wird im Rahmen eines Verbundvorhabens mit dem HZDR-IRE, FZJ-IEK6, RHTW-IFK und RHTW-GHI durchgeführt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten der GUF-IFG im Rahmen von AcE gliedert sich in folgende Arbeitspakete:

- AP1: Synthese und Charakterisierung fester Phasen mit  $An(IV)$  und Surrogaten
- AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben
- AP3: Verständnis von Struktur-Eigenschaftbeziehungen auf atomarer Skala
- AP4: Kompetenzerhalt, -erweiterung und Nachwuchsförderung

Die Verbundprojektpartner HZDR, RWTH, FZJ liefern im Rahmen der Förderung Beiträge zu den Arbeitspaketen AP1 und AP2.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Durchführung von Nanoindentationsversuchen zur Bestimmung der Mikrohärtigkeit von Zirkonia Einkristallen.  
Wiederholung der Untersuchung zur Struktur von  $\text{UO}_2$  in Abhängigkeit der Temperatur durch Synchrotron-Experimente an P21@PETRA III (Meilenstein 18M).  
Phasenanalyse von Pulverproben mittels PXRD, als Voruntersuchung zur Herstellung phasenreiner Keramiken (Kooperation HZDR).  
Präparation von Monazit Keramiken hinsichtlich ihrer Oberflächenqualität für neue Bestrahlungsexperimente.
- AP2: Analyse der Beugungsdaten von der ROBL@ESRF hinsichtlich struktureller Veränderung verursacht durch die Bestrahlung.  
Messung der Mikrohärtigkeit von bestrahlten Zirkonia Einkristallen mittels Nanoindentation.  
Bestrahlung von  $\text{LaPO}_4$  Einkristallen, Keramiken und Pulverpellets mit 14MeV Gold Ionen und unterschiedlichen Fluenzen.  
Untersuchung der Oberfläche von teilweise bestrahlten Monazit-Keramiken und Pulverpellets mit bildgebenden Verfahren (SEM, Lichtmikroskopie). Die gewählten Fluenzen der Bestrahlung führen zu einer vollständigen Verglasung der Oberfläche, dennoch besteht ein Zusammenhang zwischen Fluenz und beobachteten Effekten. Das Anschwellen ist jedoch nicht homogen innerhalb einer Probe.  
Strukturelle Untersuchung der bestrahlten La-Monazit Proben mittels Raman-Spektroskopie.  
Präparation und Bestrahlung von  $\text{LaPO}_4$  Monazit Proben für neue Bestrahlungsexperimente mit 1.7GeV Gold Ionen und unterschiedlichen Fluenzen.
- AP3: Simulationen zum Stopp-Prozess und zur Eindringtiefe von Ionen in Materie (SRIM) weiter zu untersuchender Komponenten. Die berechneten Eindringtiefen entsprechen dabei den beobachteten Schichtdicken der amorphisierten Oberflächen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Durchführung von weiteren Einkristall-XRD Experimenten, Raman-Spektroskopie und Messung physikalischer Eigenschaften sowie weitere Ätzversuche an unbestrahlten Referenzproben.  
Untersuchen zur Struktur von  $\text{UO}_2$  auf Grundlage der bereits gewonnenen Daten.
- AP2: Untersuchungen zur strukturellen Veränderung verursacht durch die Bestrahlung an La-Monazit Einkristallen (ROBL@ESRF).  
Raman-Spektroskopie an  $\text{LaPO}_4$  Einkristallen, Keramiken und Pulverpellets.  
Messung physikalischer Eigenschaften wie Härte, spezifischer Widerstand, Wärmekapazität an weiteren Ionenbestrahlten Proben.  
Untersuchung der Oberfläche mit bildgebenden Verfahren (SEM, AFM, Lichtmikroskopie) zum möglichen Anschwellen durch die Bestrahlung.  
Aufenthalt an der RWTH zur Präparation von Einkristallen mittels FIB und anschließender Analyse mittels TEM.  
Aufenthalt am HZDR zur Oberflächenanalytik mittels Interferometrie.  
Bestrahlung weiterer potentieller Hostmaterialien (Zirkon, Pyrochlor) zur Immobilisierung von Radionukliden.
- AP3: Simulation von SRIM in weiteren vorgeschlagenen kristallinen Phasen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 066A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2021 bis 31.08.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 590.756,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Fischer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Verbundprojekt “Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse” [RENA] untersuchen wir die Möglichkeiten zur Remediation von mehrfach kontaminierten Ex-situ-Bodenmaterialien von Standorten stillgelegter Kernreaktoren. Der Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der Mobilisierbarkeit von Kontaminanten durch und den Einbau in Pflanzen und Pilze.

Ein Vergleich mit anderen kontaminierten Bodenmaterialien bspw. aus Tschernobyl wird durchgeführt. Ab dem zweiten Projektjahr soll Material aus einem laufenden Rückbauvorhaben (Entsorgungswerk für Nuklearanlagen (EWN), Betriebsteil Rheinsberg) begleitend untersucht werden. Die Vergleichsuntersuchungen ermöglichen die Entwicklung einer Aufskalierungsstrategie für ein reaktives Transportmodell oberhalb der Porenskala des kontaminierten Materials.

Übergeordnetes Ziel ist eine bessere Vorhersagbarkeit der Remediationseffizienz und die Entwicklung eines diesbezüglichen Anwendungstools auf Basis der reaktiven Transportmodellierung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Am Beginn der Untersuchungen steht eine Analyse der Wirtsmaterialien, der Kontaminantentypen, insbesondere unterschiedliche Radionuklidspesies, und ihre Extraktionsmöglichkeiten. Weiterhin müssen Pflanzen und Mikroorganismen wie beispielsweise Pilze als Remediationsfaktoren identifiziert werden und mit konventionellen Verfahren verglichen werden.

Diese Arbeiten sind im Arbeitspaket 1: Materialanalyse, Kontamination, Bodenbestandteile, Mikrobiologie zusammengefasst.

Das zweite Arbeitspaket umfasst die Analyse des reaktiven Transports (Mobilisierung) durch experimentelle Arbeit mit den Schwerpunkten Remediationsprozesse, Fließpfade und Hydrodynamik im Bodenmaterial.

Im dritten Arbeitspaket zum Remediationskonzept (Numerische Prognose und Verallgemeinerungsfähigkeit) werden die hydrodynamischen Ergebnisse gemeinsam mit der Remediationseffizienz in ein reaktives Transportmodell überführt. Parallel wird die Aufskalierung der Experimente zur Bioremediation realisiert und es erfolgt die Skizzierung eines verallgemeinerungsfähigen Entsorgungskonzepts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Der Zuwendungsempfänger koordiniert das Vorhaben und betreut die Kooperation mit dem EWN Entsorgungswerk für Nuklearanlagen GmbH, Betriebsteil Rheinsberg.

Im Berichtszeitraum wurde die Beprobung von kontaminierten und nichtkontaminierten Bodenmaterialien vom EWN-Standort Rheinsberg vorbereitet und im Mai 2022 durchgeführt. Die freigemessenen Bodenproben wurden an die Projektpartner verteilt. Die Materialien mit RN-Konzentrationen oberhalb der Freigrenze werden mit weiteren aktiven Proben zu einem späteren Zeitpunkt an die Projektpartner verteilt. Für die Besetzung der Promotionsstelle in der Abt. Reaktiver Transport wurden im Berichtszeitraum Bewerbergespräche geführt. Es konnte ein geeigneter Kandidat identifiziert und zum 1.7.2022 eingestellt werden. Eine studentische Hilfskraft führte im Berichtszeitraum erste Messungen an Bodenmaterial vom Standort Rossendorf (eingelagertes Material von VKTA) mit Computertomografie ( $\mu$ -CT) durch. Mehrere inhaltliche und organisatorische Abstimmungen zwischen den Projektpartnern sowie Präsentationen und Diskussionen der Informationen zum Probenmaterial erfolgten in Videobesprechungen.

In der Abteilung Biogeochemie erfolgte die Anzucht der in Videobesprechungen mit den anderen Verbundpartnern ausgewählten Pflanzen aus den jeweiligen Samen in hydroponischer Kultur sowie die Optimierung der Parameter von Phytokammer und Anzuchtverfahren, um ein optimales Wachstum zu gewährleisten. Pflanzen, die eine entsprechende Größe erreicht hatten, wurden in Bioassoziations-Experimenten in hydroponischer Kultur verschiedenen Europium-Konzentrationen ausgesetzt. Das Pflanzenmaterial als auch die Nährlösungen wurden und werden (fortlaufend) umfänglich charakterisiert (TRLFS, ICP-MS, chemische Mikroskopie, Veraschung), um Einblick in die räumliche Verteilung und Speziation des Europiums sowie die Quantität des bioassoziierten Metalls zu erhalten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die weiteren Arbeiten (Reaktiver Transport) umfassen röntgentomografische ( $\mu$ CT) und diffraktometrische Untersuchung der Bodenmaterialien aus Rheinsberg für die geplanten Transportexperimente. Dazu wird ein Protokoll für die reproduzierbare Präparation von Bodenmaterialien im Hinblick auf Untersuchungen mit Positronen-Emissions-Tomografie (PET) erstellt. Dies schließt die Herstellung und kontrollierte Befüllung von Transportzellen ein, die mit PET untersucht werden.

In der Abteilung Biogeochemie werden die Bioassoziationsexperimente mit Europium in hydroponischer Kultur komplettiert und fortführende Untersuchungen zur räumlich aufgelösten Speziation mittels chemischer Mikroskopie durchgeführt. Nach Abschluss der hydroponischen Bioassoziations-Experimente werden die Pflanzen in naturnaher, inaktiver Erde herangezogen und beispielsweise durch Europium-haltiges Gießwasser dem Schwermetall ausgesetzt. Darüber hinaus sind Versuche zum Wachstum der Pflanzen in den Transportzellen der Abt. Reaktiver Transport sowie tomographische Untersuchungen dieser geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben1, 07743 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 066B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2021 bis 31.08.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 720.635,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schäfer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Verbundprojekt “Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse” [RENA] untersuchen wir die Möglichkeiten zur Remediation von mehrfach kontaminierten Ex-situ-Bodenmaterialien von Standorten stillgelegter Kernreaktoren. Der Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der Mobilisierbarkeit von Kontaminanten durch und den Einbau in Pflanzen und Pilze.

Ein Vergleich mit anderen kontaminierten Bodenmaterialien bspw. aus Tschernobyl wird durchgeführt. Ab dem zweiten Projektjahr soll Material aus einem laufenden Rückbauvorhaben (Entsorgungswerk für Nuklearanlagen (EWN), Betriebsteil Rheinsberg) begleitend untersucht werden. Die Vergleichsuntersuchungen ermöglichen die Entwicklung einer Aufskalierungsstrategie für ein reaktives Transportmodell oberhalb der Porenskala des kontaminierten Materials.

Übergeordnetes Ziel ist eine bessere Vorhersagbarkeit der Remediationseffizienz und die Entwicklung eines diesbezüglichen Anwendungstools auf Basis der reaktiven Transportmodellierung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Am Beginn der Untersuchungen steht eine Analyse der Wirtsmaterialien, der Kontaminantentypen, insbesondere unterschiedliche Radionuklidspezies, und ihre Extraktionsmöglichkeiten. Weiterhin müssen Pflanzen und Mikroorganismen wie beispielsweise Pilze als Remediationsfaktoren identifiziert werden und mit konventionellen Verfahren verglichen werden.

Diese Arbeiten sind im Arbeitspaket 1: Materialanalyse, Kontamination, Bodenbestandteile, Mikrobiologie zusammengefasst.

Das zweite Arbeitspaket umfasst die Analyse des reaktiven Transports (Mobilisierung) durch experimentelle Arbeit mit den Schwerpunkten Remediationsprozesse, Fließpfade und Hydrodynamik im Bodenmaterial.

Im dritten Arbeitspaket zum Remediationskonzept (Numerische Prognose und Verallgemeinerungsfähigkeit) werden die hydrodynamischen Ergebnisse gemeinsam mit der Remediationseffizienz in ein reaktives Transportmodell überführt. Parallel wird die Aufskalierung der Experimente zur Bioremediation realisiert und es erfolgt die Skizzierung eines verallgemeinerungsfähigen Entsorgungskonzepts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: In Zusammenarbeit mit dem Entsorgungsbetrieb EWN wurde die Probenahme im Überwachungsbereich des KKW Rheinsberg geplant und durchgeführt, so dass dieses Material ab Juli 2022 für die Charakterisierung und hydrodynamische Experimente zur Verfügung steht. Im Arbeitspaket 1 (AP1) wurde für das Probenmaterial aus Rossendorf die Korngrößenverteilung und die qualitative Tonmineralzusammensetzung bestimmt. Dünnschliffe für sedimentpetrographische Charakterisierungen sind in Präparation. Orientierende Messungen mittels  $\mu$ CT zur Bestimmung der Porosität und des Porenraumgefüges wurden durchgeführt.
- AP2: Zur Untersuchung der Schadstoff-Mobilisierung wurden erste Machbarkeitsstudien am XRM/ $\mu$ CT zur Probengeometrie und dem Einfluss des Pilzwachstums auf das Porenraumgefüge durchgeführt. Hierzu wurde die räumliche Ausbreitung von *Schizophyllum commune* in einer mit Minimalmedium gesättigten Glaskugelmatrix mittels  $\mu$ CT überwacht und der Pilzanteil im Porenraum quantitativ und mit ausreichender Auflösung bestimmt. Parallel wurde das Pilzwachstum auf Glaskugeln mit und ohne Medium sowie auf Bodensubstrat mit und ohne Zugabe von Medium untersucht.
- AP3: Zur Einarbeitung in ex situ Sanierungskonzepte wurde eine Literaturrecherche zu reaktiven Transportmodellen unter Berücksichtigung von Durchwurzelung und geeigneten Pilzen für die Bearbeitung gleichzeitig mit RN/SM und organischen Kontaminanten belasteten Bodenproben durchgeführt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Geplant sind vergleichende sedimentpetrographische Analysen der Proben aus Rossendorf und Rheinsberg mittels Lichtmikroskopie, REM und  $\mu$ XRF hinsichtlich der Morphologie und des Chemismus des Grobkornbestandes, sekundärer Mineralphasen und der Kutane. Die Bioverfügbarkeit von RN/SM im Ausgangsmaterial wird mittels sequentieller Extraktion vergleichend bestimmt. Die für Reaktionen zur Verfügung stehenden Oberflächen und Volumina werden mittels  $\mu$ CT-Messungen erfasst. Von besonderem Interesse ist hierbei die Charakterisierung des Porenraumgefüges in ungestörten Stechzylinderproben und feinkörnigen Bodenaggregaten. Die Mikrobiom- und Transkriptomanalysen zur Bestimmung der natürlichen mikrobiellen Communities wird direkt als T0 bei der Inokulation erfolgen. Eine Inokulation des getrockneten bzw. längerfristig gelagerten Bodenmaterials erfolgt mittels Mikroben, die aus Bodensubstrat des ehemaligen Wismut-Reviere bei Ronneburg gewonnen werden. Nachfolgend soll zu vier verschiedenen Zeitpunkten ein Monitoring der Biodiversität (+/- zusätzlich inokuliertem Pilz) erfolgen.
- AP2: Aufbauend auf den Erkenntnissen werden weitere  $\mu$ CT-Messungen zur Hydrodynamik mit dem Probenmaterial aus Rossendorf und *S. commune* durchgeführt. Zusätzlich soll die Myzeldichte und der Durchmesser der Pilzhyphen bestimmt werden. Zur Untersuchung des Transports von Nanopartikeln im Boden und der Aufnahme in *S. commune* werden Säulenexperimente vorbereitet. Es folgen weitere Anzuchtexperimente von *Schizophyllum* zur Optimierung des Wachstums und der RN/SM-Aufnahme sowie Pilzkulturen mit Fokus auf physiologische Antworten und Anpassungen des Pilzes auf die Kontamination unter Berücksichtigung von Boden-Pilz-Transferfaktoren.
- AP3: Fokus liegt auf der Konzipierung von Transportexperimenten zur Schwermetall-/Radionuklid Aufnahme, so dass die für die reaktive Transportmodellierung benötigten Parameter bereitgestellt werden können.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Costa FS, Langenhorst F, Kothe E.: Biomineralization of nickel struvite linked to metal resistance in *Streptomyces mirabilis*. *Molecules* 27, 3061
- Traxler L, Shrestha J, Richter M, Krause K, Schäfer T, Kothe E. 2022: Metal adaptation and transport in hyphae of the wood-rot fungus *Schizophyllum commune*. *J Hazard Mater* 425, 127978

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 066C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2021 bis 31.08.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 406.742,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Walther	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Verbundprojekt “Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse” [RENA] untersuchen wir die Möglichkeiten zur Remediation von mehrfach kontaminierten Ex-situ-Bodenmaterialien von Standorten stillgelegter Kernreaktoren. Der Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der Mobilisierbarkeit von Kontaminanten durch und den Einbau in Pflanzen und Pilze.

Ein Vergleich mit anderen kontaminierten Bodenmaterialien bspw. aus Tschernobyl, wird durchgeführt. Ab dem zweiten Projektjahr soll Material aus einem laufenden Rückbauvorhaben (Entsorgungswerk für Nuklearanlagen (EWN), Betriebsteil Rheinsberg) begleitend untersucht werden. Die Vergleichsuntersuchungen ermöglichen die Entwicklung einer Aufskalierungsstrategie für ein reaktives Transportmodell oberhalb der Porenskala des kontaminierten Materials.

Übergeordnetes Ziel ist eine bessere Vorhersagbarkeit der Remediationseffizienz und die Entwicklung eines diesbezüglichen Anwendungstools auf Basis der reaktiven Transportmodellierung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Am Beginn der Untersuchungen steht eine Analyse der Wirtsmaterialien, der Kontaminantentypen, insbesondere unterschiedliche Radionuklidspesies, und ihre Extraktionsmöglichkeiten. Weiterhin müssen Pflanzen und Mikroorganismen wie beispielsweise Pilze als Remediationsfaktoren identifiziert werden und mit konventionellen Verfahren verglichen werden.

Diese Arbeiten sind im Arbeitspaket 1: Materialanalyse, Kontamination, Bodenbestandteile, Mikrobiologie zusammengefasst.

Das zweite Arbeitspaket umfasst die Analyse des reaktiven Transports (Mobilisierung) durch experimentelle Arbeit mit den Schwerpunkten Remediationsprozesse, Fließpfade und Hydrodynamik im Bodenmaterial.

Im dritten Arbeitspaket zum Remediationskonzept (Numerische Prognose und Verallgemeinerungsfähigkeit) werden die hydrodynamischen Ergebnisse gemeinsam mit der Remediationseffizienz in ein reaktives Transportmodell überführt. Parallel wird die Aufskalierung der Experimente zur Bioremediation realisiert und es erfolgt die Skizzierung eines verallgemeinerungsfähigen Entsorgungskonzepts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- TP1.1: Die Probennahme im Kernkraftwerk Rheinsberg wurde durchgeführt. Die kontaminierten Proben wurden noch nicht transportiert. Die inaktiven Proben wurden für die weitere Verwendung homogenisiert/vorbereitet.
- TP1.3: Mit den Kooperationspartnern wurde weiter die Probennahme geplant, wobei aufgrund des Angriffskrieg von Russland auf die Ukraine die Gespräche zum Liegen gekommen sind. Zur Methodenentwicklung für die Analyse von Sr-90 mittels Massenspektrometrie wurde in der Literatur recherchiert und mit Experimenten begonnen.
- TP1.5: Zur Evaluierung des Potentials von biologischen Aufnahmeprozessen wurden in standardisierten, inaktiven RefeSol Böden Pflanzen gezogen und auf ihre Elementkonzentration hin untersucht.
- TP2.3: Die ersten Experimente zur Pflanzenaufzucht wurden mit veränderten Parametern (Wasserversorgung, Temperatur, Beleuchtungszeit) wiederholt. In absteigender Qualität der Wachstumsergebnisse bei den neuen Parametern waren dies: Öllein, Sandhafer, Inkarnatklees, Luzerne, Hornschotenklees

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- TP1.1: Die inaktiven Böden werden für Batchversuche zur Identifikation der Kontaminationspfade verwendet. Geplant sind radiometrische Messung des zu erhaltenden Bodens mittels der Gamma-, Beta- und Massenspektrometrie.
- TP1.3: Die Zeien- und Brümmer-Extraktion wird für die zu erhaltenden kontaminierten Böden für erste Aussagen zur Mobilität und Bioverfügbarkeit durchgeführt.
- TP1.5: Erste Versuche zur Bestimmung von Cäsium Isotopenverhältnissen der zu untersuchenden Böden werden durchgeführt.
- TP2.3: Es soll mit den kleinskaligen Pflanzenexperimenten gestartet und anschließend die Boden-Pflanzen-Transferfaktoren bestimmt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 066D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2021 bis 31.08.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 276.520,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Lösch	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Verbundprojekt “Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse” [RENA] untersuchen wir die Möglichkeiten zur Remediation von mehrfach kontaminierten Ex-situ-Bodenmaterialien von Standorten stillgelegter Kernreaktoren. Der Schwerpunkt liegt auf der Untersuchung der Mobilisierbarkeit von Kontaminanten durch und den Einbau in Pflanzen und Pilze.

Ein Vergleich mit anderen kontaminierten Bodenmaterialien bspw. aus Tschernobyl wird durchgeführt. Ab dem zweiten Projektjahr soll Material aus einem laufenden Rückbauvorhaben (Entsorgungswerk für Nuklearanlagen (EWN), Betriebsteil Rheinsberg) begleitend untersucht werden. Die Vergleichsuntersuchungen ermöglichen die Entwicklung einer Aufskalierungsstrategie für ein reaktives Transportmodell oberhalb der Porenskala des kontaminierten Materials.

Übergeordnetes Ziel ist eine bessere Vorhersagbarkeit der Remediationseffizienz und die Entwicklung eines diesbezüglichen Anwendungstools auf Basis der reaktiven Transportmodellierung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Am Beginn der Untersuchungen steht eine Analyse der Wirtsmaterialien, der Kontaminantentypen, insbesondere unterschiedliche Radionuklidspezies, und ihre Extraktionsmöglichkeiten. Weiterhin müssen Pflanzen und Mikroorganismen wie beispielsweise Pilze als Remediationsfaktoren identifiziert werden und mit konventionellen Verfahren verglichen werden.

Diese Arbeiten sind im Arbeitspaket 1: Materialanalyse, Kontamination, Bodenbestandteile, Mikrobiologie zusammengefasst.

Das zweite Arbeitspaket umfasst die Analyse des reaktiven Transports (Mobilisierung) durch experimentelle Arbeit mit den Schwerpunkten Remediationsprozesse, Fließpfade und Hydrodynamik im Bodenmaterial.

Im dritten Arbeitspaket zum Remediationskonzept (Numerische Prognose und Verallgemeinerungsfähigkeit) werden die hydrodynamischen Ergebnisse gemeinsam mit der Remediationseffizienz in ein reaktives Transportmodell überführt. Parallel wird die Aufskalierung der Experimente zur Bioremediation realisiert und es erfolgt die Skizzierung eines verallgemeinerungsfähigen Entsorgungskonzepts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden vom VKTA folgende Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Übergabe von insgesamt ~250 kg inaktiver Vergleichserde je nach Bedarf an die Projektpartner.  
Beprobung von 12 Fässern mit kontaminierter Erde aus dem Zwischenlager des VKTA. Die Erdstoffe entstammen Rückbauprojekten des VKTA am Standort Rossendorf. Die Erdstoffe sind Sande und in drei Fällen durchsetzt mit Bauschutt. Die erfolgte radiochemische Analytik (Gammaskpektrometrie & Flüssigszintillationsmessungen nach radiochemischer Trennung) lieferte spezifische Aktivitäten von 9 – 43 Bq/g. In 8 Proben ist das Nuklidpaar Sr-90/Y-90 für die Hauptaktivität verantwortlich, in den restlichen 4 Proben liegt Cs-137 in gleichen Teilen vor oder dominiert sogar. Weitere geringe Anteile an der Gesamtaktivität werden durch Co-60, Eu-152 und Eu-154 beigetragen.
- AP2: Nach Auswahl potentiell geeigneter Pflanzen für die Kultivierung auf den radioaktiven Erdstoffen erfolgten erste Wachstumstests mit Blauem Lein, Inkarnatklée, Hornschotenklée, Luzerne und Sandhafer in Hydrokultur und auf inaktiven Vergleichserden. Für hydroponische Experimente können alle Pflanzen genutzt werden. Auf den sandigen Vergleichsböden wuchsen ebenfalls alle Pflanzen, allerdings war der Biomassertrag (ober- und unterirdisch) beim Hornschotenklée deutlich geringer als bei den anderen Pflanzen. Bei den Leguminosen (Inkarnatklée, Hornschotenklée, Luzerne) wurde die Bildung von Wurzelknöllchen (Symbiose mit Knöllchenbakterien) zur Stickstofffixierung beobachtet. Speziell diese Pflanzen sind demnach in der Lage, der Nährstoffarmut und damit zu erwartenden Wachstumslimitierung in den zu Bearbeitenden Erdstoffen selbstständig entgegenzuwirken.
- AP3: Das Gewächshaus für die Upscaling Experimente wurde beschafft. Die zur Aufstellung und den Betrieb notwendige Genehmigungsänderung wurde beim Sächsischen Staatsministerium für Energie, Klimaschutz, Umwelt und Landwirtschaft (SMEKUL) gemeinsam mit der angepassten speziellen Strahlenschutzanweisung eingereicht.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Bereitstellung von aktivem Probenmaterial je nach gewünschtem Bedarf für die Projektpartner anhand der nun verfügbaren aktuellen Analyseergebnisse. Durchführung weiterer notwendiger Charakterisierungen des Erdreichs bezüglich polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs).
- AP2: Durchführung von hydroponischen Experimenten und Experimenten in inaktiven Vergleichserden mit Zusatz von inaktivem Strontium/Cäsium um anhand der von den Pflanzen in den Wurzeln und oberirdischen Pflanzenteilen akkumulierten Mengen die Pflanzenauswahl für die dann folgenden Experimente mit den aktiven Erdstoffen zunächst weiter einzuschränken.
- AP3: Nach erfolgter Rückmeldung durch das SMEKUL ist gegebenenfalls der Änderungsantrag für die Genehmigung der Arbeiten im Pufferlager sowie die Aktualisierung der speziellen Strahlenschutzanweisung zu überarbeiten. Es erfolgen Umbauten am Gestänge des Gewächshauses um eine sichere Verankerung im Betonboden zu gewährleisten. Der Aufbau des Gewächshauses und erste Tests zum geplanten Konzept (Aufbau MS-Boxen, Bewässerung, ...) sollen mit inaktiven Erdstoffen in der zweiten Jahreshälfte 2022 folgen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.



## **2.3 Strahlenforschung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 032</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.100.891,60 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rothkamm	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

### AP1: Alternatives Endjoining

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

### AP2: Homologe Rekombination (HR) und Replikation

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

### AP3: EGFR und ERK-Signalwege

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

### AP4: HPV-Infektion

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

### AP5: Lehre in Strahlenbiologie & Experimenteller Radioonkologie

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Zusätzliche Experimente zur Validierung der Rolle von RAP80 bei der Kontrolle der Resektion vs. Protektion von DSB-Bruchenden wurden durchgeführt.
- AP2: Ein Manuskript zum Zusammenhang zwischen DNA-Reparatur, Replikationsstress und immunogener zytosolischer DNA in strahlenresistenten Brustkrebsstammzellen wurde in *Frontiers in Immunology* veröffentlicht (Meyer et al. 2022).
- AP3: Der Artikel zu Replikationsstress in EGFRvIII-positiven Glioblastomen (Struve et al.) ist in finaler Form in *Neuro-Oncology Advances* erschienen. Über TMA-Analyse wurde Axl als prädiktiver Biomarker in HNSCC identifiziert und in *Cancers* publiziert (Busch et al. 2022).
- AP4: Eine Studie zum Beitrag der ATM-Schadensantwort zum Reparaturdefekt in HPV+ HNSCC wurde in *Frontiers in Oncology* veröffentlicht (Köcher et al. 2022). Zudem konnte besagter Reparaturdefekt in Gewebescheibenkulturen aus frischen HPV+ HNSCC-Proben demonstriert und in *Radiotherapy & Oncology* veröffentlicht werden (Zech et al. 2022).
- AP5: Erfolgreiche Umstellung der Strahlenbiologie-Lehre vom Online- zum Hybridformat.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5; Durchführung weiterer Experimente zu RAP80.
- AP2: Aufarbeitung 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- und Target-Validierung für HPV-pos HNSCC (M4.4 & M4.5).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms im Online- und Hybridformat.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Meyer F, Engel AM, Krause AK, Wagner T, Poole L, Dubrovskaya A, Peitzsch C, Rothkamm K, Petersen C, Borgmann K. Efficient DNA Repair Mitigates Replication Stress Resulting in Less Immunogenic Cytosolic DNA in Radioresistant Breast Cancer Stem Cells. *Front Immunol.* 2022 Feb 25;13:765284. doi: 10.3389/fimmu.2022.765284. PMID: 35280989; PMCID: PMC8913591
- Busch CJ, Hagel C, Becker B, Oetting A, Möckelmann N, Droste C, Möller-Koop C, Witt M, Blau-rock M, Loges S, Rothkamm K, Betz C, Münscher A, Clauditz TS, Rieckmann T. Tissue Microarray Analyses Suggest Axl as a Predictive Biomarker in HPV-Negative Head and Neck Cancer. *Cancers (Basel).* 2022 Apr 5;14(7):1829. doi: 10.3390/cancers14071829. PMID: 35406601; PMCID: PMC8997923
- Köcher S, Zech HB, Krug L, Gatzemeier F, Christiansen S, Meyer F, Rietow R, Struve N, Mansour WY, Kriegs M, Petersen C, Betz C, Rothkamm K, Rieckmann T. A Lack of Effectiveness in the ATM-Orchestrated DNA Damage Response Contributes to the DNA Repair Defect of HPV-Positive Head and Neck Cancer Cells. *Front Oncol.* 2022 May 31;12:765968. doi: 10.3389/fonc.2022.765968. PMID: 35719921; PMCID: PMC9204973
- Zech HB, Berger J, Mansour WY, Nordquist L, von Bargen CM, Bußmann L, Oetting A, Christiansen S, Möckelmann N, Böttcher A, Busch CJ, Petersen C, Betz C, Rothkamm K, Kriegs M, Köcher S, Rieckmann T. Patient derived ex vivo tissue slice cultures demonstrate a profound DNA double-strand break repair defect in HPV-positive oropharyngeal head and neck cancer. *Radiother Oncol.* 2022 Mar;168:138-146. doi: 10.1016/j.radonc.2022.01.017. Epub 2022 Jan 29. PMID: 35093407

<b>Zuwendungsempfänger:</b> IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036AX</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.05.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 31.05.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.306.436,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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) • Zusammenstellung der Daten und Vorbereitung zur Kooperations-Publikation: „Infrared co-exposure modulates UVB induced CPD repair through chromatin relaxation“. Plitta-Michalak, Stricker, Pavez Loriè, Janke, Chen, Volkmer, Greinert, Boukamp, and Rapp.

• Erfolgreich Durchführung der Spring School: „Kompetenzerhalt im Strahlenschutz: Non-ionizing and ionizing radiation: Mechanisms and consequences“, 25. – 27. April auf Schloss Mickeln, Düsseldorf.

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

Mit der zuvor beschriebenen differentiellen Genregulation sollte es nach UV (UVA+B) bzw. Bestrahlung mit dem Gesamtspektrum (KAUVIR) auch zu entsprechenden Veränderungen in der extra-zellulären Matrix (ECM) in den Hautäquivalenten (skin equivalents = SE) kommen. Die dermale ECM besteht vorzugsweise aus Collagen Type I (col I), Collagen type III (col III) und Hyaluronsäure (HA) und entsprechend zeigten die Kontroll-SEs mit den jungen Fibroblasten auch die in der Literatur beschriebene Inhibition der Genexpression der Kollagen Gene (RNAseq Analyse) sowohl nach UVA+B als auch KAUVIR Bestrahlung. Interessanterweise hatte dies aber keine kurzfristige Konsequenz auf den Kollagengehalt und/oder seine Organisation (Picrosirius Red Staining). Ebenso fanden wir keine Veränderung (Abnahme) in der HA Konzentration und Verteilung. D. h. die durch die Bestrahlung induzierte Genregulation blieb ohne offensichtliche Konsequenz für den Zustand (Protein Zusammensetzung) des dermalen Äquivalents – hatte also keinen wesentlichen Einfluss auf die Stabilität der „Dermis“ und damit auf die Hautphysiologie.

In den SEs mit den alten Fibroblasten war der Kollagengehalt generell geringer; hier besteht ja zusätzlich eine chondrogene Matrix. Ein gut ausgebildetes Kollagen Fibrillen Netzwerk war jedoch direkt unterhalb der Epidermis nachweisbar. Im restlichen DE lag dagegen nur ein loses Kollagen Netzwerk vor. Interessanterweise kam es durch die Bestrahlung zu einer Umverteilung und damit zum Verlust der Kollagen Konzentration unterhalb der Epidermis, was möglicherweise zur veränderte Physiologie verbunden mit verbessertem epidermalen Wachstum beigetragen hat. Ebenso kam es durch Bestrahlung zur Zunahme von HA, was ebenfalls die Funktionalität der „Dermis“ verbessern sollte – d. h. die Bestrahlung bewirkte ein verbessertes Erscheinungsbild einer dermalen Matrix. Bezüglich der chondrogenen Matrix, die die alten Fibroblasten charakterisiert, können wir zeigen, dass UV die Expression dieser Gene anregt. Selbst in den SEs mit jungen Fibroblasten konnten geringe Mengen von Aggrecan und Col XI nach Bestrahlung detektiert werden. Damit könnte UV-Strahlung durchaus ein Trigger für die chondrogene Differenzierung der dermalen Fibroblasten sein. Ebenso wesentlich, wurde durch UV in den „alten“ Fibroblasten die Verbesserung des dermalen Phänotyps provoziert, d. h. die Bestrahlung trug zur „Normalisierung“ der Dermis bei. Dies lässt vermuten, dass UV nicht nur schädigend ist, sondern „in Maßen genossen“ sogar einen positiven Einfluss auf die Physiologie speziell der alten Haut haben kann.

• Austausch von Materialien: Transfer von Gefriermaterial und RNA nach Buxtehude für die Analyse zur epigenetischen Regulation (miR Analyse) durch die Bestrahlung mit UVA+B und KAUVIR.

• Fertigstellung und Einreichung der Doktorarbeit von Katharina Janke „Photoaging and Fibroblasts: The role of a novel dermal fibroblast population in tissue regeneration and the response to solar radiation“.

Die Verteidigung ist am 8.8.2022 an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der HHU Düsseldorf.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Zu 2.4) • Zusammenfassung der Daten und Erstellung der Publikation zur Rolle von CsA und Bestrahlung in der Hautcarcinogenese.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Erlangung des Musterschutzes für die KAUVIR Lampe

Publikationen:

“Adverse Effects of Vemurafenib on Skin Integrity: Hyperkeratosis and Skin Cancer Initiation Due to Altered MEK/ERK-Signaling and MMP Activity”. Tham, Stark, Jauch, Harwood, Pavez Lorie, Boukamp. Front Oncol. 12:827985, Jan 2022

“Development and characterisation of an irradiation device for biomedical studies covering the solar spectrum with individual regulated spectral bands”. Plitta-Michalak, Stricker, Pavez Loriè, Chen, Pollet, Krutmann, Volkmer, Greinert, Boukamp, Rapp. Photochem Photobiol Sci. Jun 2022

Fertigstellung und Einreichung der Publikation: „Activation of Nrf2 in fibroblasts promotes a skin aging phenotype via an Nrf2-miRNA-collagen axis“. Hiebert, Martyts, Schwesternmann, Janke, Hafner, Boukamp, Mazza, Werner. Matrix Biology

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 047A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 953.537,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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-Maximilians-Universität München (LMU), Klinik für Strahlenheilkunde Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg (UKF).

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
- AP2: 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 (8 Zeitpunkte nach 0/8 Gy Bestrahlung) von Mundschleimhaut-Keratinozytenzellen zweier gesunder Spender und von zwei Kopf-Hals-Tumor-Zelllinienklonen (Cal33) wurde hinsichtlich der differenziellen Strahlenantwort in Zellen mit unterschiedlicher Strahlensensitivität untersucht. Davon abgeleitete Kandidatengene für eine Modulation der Strahlenantwort werden derzeit in RNA-seq Datensätzen von zwei HNSCC-Kollektiven hinsichtlich ihres prognostischen Werts untersucht, wobei PSMD10 und CD40 als Kandidaten für weiterführende Analysen zur Modulation der Strahlenantwort mittels geeigneter Wirkstoffe oder siRNAs ausgewählt wurden, deren Wirkung im Koloniebildungsassay und mittels CyTOF untersucht werden soll.

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

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 weitergeführt und am HMGU in den Manuskript-Entwurf integriert. Am Zelllinien-Panel werden derzeit PD-L1 Splicevarianten analysiert.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Von der Pathologie des UKF wurden insgesamt Tumor (T)- und Normalgewebeproben (N) von n=29 HNSCC Patienten bereitgestellt (n=19 T-N-Paare). Die HPV-Charakterisierung der n=28 T erfolgte mittels p16<sup>Ink4a</sup>-Immunhistochemie (IHC) in Kombination mit dem PCR-Nachweis Mukosa-assoziiierter HPV-DNA. Für n=28 T und n=18 N wurden RNA-seq Daten generiert, die derzeit zusammen mit den vom UKF erhaltenen klinischen Patientendaten analysiert werden. Eine erste hierarchische Clusteranalyse der Top 100 Gene mit der höchsten Varianz zeigte eine Separierung von T und N. In Zusammenarbeit mit dem BMBF-Projekt METABOLiST wurden von n=28 T MALDI MSI Messungen auf Metabolit-Ebene (100-1060 Da) durchgeführt. Eine erste Analyse zeigte die heterogene Verteilung der Metaboliten.

Für das LMU-Kollektiv 2013-16 adjuvant radio(chemo)therapierter HNSCC Patienten wurde der RNA-seq Datensatz vervollständigt und derzeit analysiert.

Für vom UKF erhaltene Mundschleimhaut-Keratinozytenzellen von n=20 Patienten (96 h nach 0/6 Gy Bestrahlung) wurden RNAseq Daten generiert. Die zugehörigen Zellkulturüberstände wurden für Cytokinmessungen an das CUB übergeben.

Bedingt durch die Corona-Pandemie fand das Projekttreffen am 05.05.2022 virtuell statt, an dem H. Zitzelsberger, P. Weber, K. Unger und J. Hess für das HMGU teilnahmen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Biopsy-Derived Oral Keratinocytes – a Model to Potentially Test for Oral Mucosa Radiation Sensitivity: C Aldrian, S Hornhardt, K. Huber, M Gomolka, J Hess, H Zitzelsberger, E B Monroy-Ordonez, M Henke, A Thomsen. Clin Transl Radiat Oncol. 2022 Mar 16;34:51-56

Integration of p16/HPV DNA Status with a 24-miRNA-defined Molecular Phenotype Improves Clinically Relevant Stratification of Head and Neck Cancer Patients: J Hess, K Unger, P Weber, K Lauber, M Henke, H Zitzelsberger, C. Belka. In revision Cancers

DeepClassPathway: Molecular pathway aware classification using explainable deep learning: J Hess, K Lauber, H Zitzelsberger, C Belka, K Unger. Under review European Journal of Cancer

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 564.650,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Um Strahlentherapie bedingte Entzündungsfaktoren im Blutplasma nachzuweisen, wurde die Olink-Technologie ausgewählt. Mit dieser zielgerichteten Proteomics-Methode können über 300 Proteine quantitativ nachgewiesen werden. Die Messungen von Blutplasma wurden in Absprache mit der Research Unit Protein Science des HMGU vorbereitet.
- AP2: Mit dem Kooperationspartnern Uniklinikum Freiburg (UKF) und der Research Unit Protein Science des HMGU war erfolgreich ein Protokoll zur massenspektrometrischen Analyse des Proteoms von Keratinozyten isoliert aus Mundschleimhautbiopsien etabliert worden. Mundschleimhautzellen von gesunden Probanden wurden nach in vitro-Bestrahlung (6 Gy) zu zwei Zeitpunkten (24 h und 96 h) untersucht, über 5000 Proteine wurden detektiert. Pathway-Analysen zeigen typische Reaktionen der Keratinozyten nach Stress und Verwundung und bilden somit die Charakteristika der Zellen gut ab. Zur Validierung der einmaligen Biopsie-Proben wurde die Keratinozyten-Zelllinie OKF6-tert1 (aus Mundschleimhaut wie die Biopsien) untersucht. Die Proteom-Analyse der Zelllinie bei gleicher Dosis und gleichen Zeitpunkten zeigte sehr ähnliche Ergebnisse, so dass ausgewählte Signalwege in der Linie validiert werden konnten. Dazu wurde ein Wundheilungstest (Scratch-Assay) und Immunfärbungen mit OKF6-Zellen etabliert. Ausgewählte, strahlenregulierte Proteine und Signalwege wurden mit der Western-Blot Methode validiert.
- AP3: Es wurden mit allen Verbundpartnern Grundlagen zur Aufarbeitung und Analyse des Patientenmaterials des Partners Universitätsklinikum Freiburg ausgearbeitet. Es wurden regelmäßig Blutproben von Patienten aus Freiburg im BfS aufgearbeitet. Vom Kooperationspartner UKF wurden 30 Mundschleimhautproben aus Biopsien von Hals-Kopf-Tumorpatienten mit Replikaten bestrahlt und zur Verfügung gestellt. Basierend auf den Vorversuchen mit gesunden Probanden wurden von der Research Unit Protein Science des HMGU mit dem Material (Kontrolle, in vitro- Bestrahlung 6 Gy, 96 h) Proteom-Analysen durchgeführt. Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung der Replikate. Die Daten befinden sich in der weiteren Auswertung. Präparate für den zuvor etablierten Reparaturfoci-Assay (RF-Assay,  $\gamma$ H2AX/53BP1) wurden erfolgreich analysiert und die Daten mit den Patientendaten korreliert. Dabei zeigte sich eine Assoziation mit strahlenempfindlichen Patienten mit dem Reparaturverhalten der Mundschleimhautzellen. Die in den Präparaten auffälligen Mikrokerne (Schäden der DNA in Form von Kleinkernen) wurden aufwändig manuell ausgezählt und werden in die Auswertungen einbezogen. Das Protokoll für den RF-Assay für asservierte Lymphozyten von Tumor-Patienten wurde angepasst. Der RF-Assay wird z. Z. laufend mit asservierten peripheren Lymphozyten von ca. 60 Hals-Kopf-Patienten vor und während der Strahlentherapie durchgeführt.
- AP4: Das erste Projekttreffen 2022 musste kurzfristig aufgrund der Corona-Situation abgesagt werden und wurde durch eine kurze Videokonferenz am 5.5.2022 ersetzt. Mit den Kooperationspartnern UKE (Essen) und Charité wurde abgesprochen, dass die Zytokinmessungen von Zellkulturüberständen, an denen die Partner interessiert sind, in Berlin durchgeführt und die Daten zur Verfügung gestellt werden. Zu AP2 hat Michael Omosanyin in dem experimentellen Teil seiner Masterarbeit im Studiengang „Masters in Radiation Biology“ Wundheilungstest in Kombination mit Bestrahlung in Keratinozytenzelllinien und relevante Proteine mit Westernblots untersucht. Zwei Studenten aus dem Studiengang „Masters in Radiation Biology“ wurden im Projekt betreut.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Thomsen AR, Aldrian C, Luka B, Hornhardt S, Huber K, Gomolka M, Moertl S, Hess J, Zitzelsberger H, Heider T, Schlueter N, Rau S, Monroy Ordonez B, Schäfer H, Rucker G, Henke M.: Biopsy-derived oral keratinocytes - A model to potentially test for oral mucosa radiation sensitivity. *Clin Transl Radiat Oncol.* 2022 Mar 16;34:51-56. doi: 10.1016/j.ctro.2022.03.007. PMID: 35345866; PMCID: PMC8956846

Subedi P, Moertl S, and Azimzadeh O: "Omics in Radiation Biology: Surprised but Not Disappointed" *Radiation* 2022; 2, no. 1: 124-129. <https://doi.org/10.3390/radiation2010009>

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 31.05.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 769.572,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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.

Die Arbeiten zu Radioresistenz und Tumorheterogenität wurden erfolgreich weiterentwickelt:

Aus der Integration der Radioresistenzdaten verschiedener Cal33-Zellklone mit RNA-Seq-Daten wurden mehrere Kandidaten der DNA-Schadensreparatur für molekular zielgerichtete Radiosensibilisierungsstrategien identifiziert. Diese Strategien befinden sich aktuell in der funktionellen Charakterisierung: Untersuchungen zum klonogenen Überleben nach Bestrahlung in Gegenwart pharmakologischer Inhibitoren wurden für einen Kandidaten erfolgreich abgeschlossen, für einen zweiten Kandidaten muss die Inhibitor-Konzentration weiter optimiert werden. Kinetische Analysen des strahlungsinduzierten Zelltods wurden für beide Kandidaten erfolgreich abgeschlossen. Zur Vorbereitung des geplanten Manuskripts wurden in Ko-

operation mit dem Partner CUB Singlecell-RNA-Seq-Daten der 10 HNSCC-Zelllinien erhoben und befinden sich aktuell in Auswertung. Parallel befindet sich die Erhebung von Singlecell-RNA-Seq-Daten für die isolierten Cal33-Subklone in Vorbereitung. Ziel dieser Untersuchungen ist es, die Heterogenität der Zelllinien bzw. Cal33-Subklone auf einer weiteren molekularen Ebene (neben Karyotyp-, chromosomalen Copynumber-Status- und Phosphoproteom-CyTOF-Analysen) zu zeigen.

Aus den zeitaufgelösten Phosphoproteom-CyTOF-Analysen nach Bestrahlung der unterschiedlichen Cal33-Subklone (durchgeführt in Kooperation mit dem Partner CUB) wurden verschiedene potenzielle Targets für die strahlungsinduzierte Zellzyklus-Regulation identifiziert. Pharmakologische Inhibition dieser Targets und ihr Einfluss auf die Zellzyklus-Regulation nach Bestrahlung werden aktuell mechanistisch in Kooperation mit dem Partner CUB untersucht.

In Analogie zu den Cal33-Subklonen wurden die Daten von 3 HNSCC-Patientenproben mit jeweils 5 Subklonen prozessiert. Die erhaltenen patientenspezifischen Resistenz-Phänotypen werden aktuell funktionell charakterisiert.

Angeregt durch unsere Untersuchungen zu Einflussgrößen des Koloniebildungstests (Brix et al. *Radiat. Oncol.* 2020, Brix et al. *Nature Protocols* 2021) haben wir uns mit den mathematischen Auswertalgorithmen des Limiting Dilution Assays, eines weiteren Verfahrens zur Analyse des klonogenen Wachstums *in vitro*, beschäftigt. Auch hier werden Aspekte der zellulären Kooperation bisher nicht berücksichtigt. Gemeinsam mit dem Partner HMGU wurde ein Auswerte-Tool entwickelt, das die Berücksichtigung der zellulären Kooperation ermöglicht. Eine entsprechende Publikation befindet sich in Vorbereitung.

Schnittstellen zum METABOLiST-Verbund (02NUK061) wurden in folgenden Punkten identifiziert und werden aktuell in Kooperation mit den METABOLiST-Partnern bearbeitet:

- Einfluss von Metformin auf Metabolismus, strahlungsinduzierte Seneszenz und Radioresistenz
- Charakterisierung des Metabolismus-assoziierten Radioresistenz-Phänotyps aus HNSCC-Patienten-Explant-Kulturen
- Methoden zur Analyse von klonogenem Wachstum *in vitro*
- Der eingereichte Tierversuchsantrag zu entsprechenden *In-vivo*-Charakterisierungen wurde im Juli 2022 von der prüfenden Behörde vollumfänglich bewilligt.

Sonstiges:

Das halbjährliche Treffen des Verbundes fand virtuell am 05.05.2022 statt. Für den Partner LMU nahmen Dr. Radostin Galabov (PostDoc) und Prof. Dr. Kirsten Lauber (Projektleiterin) teil.

Seit März 2022 arbeitet ein neuer Medizindoktorand an diesem Projekt mit.

#### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die zuletzt berichtete Gesamtverzögerung des Projektvorhabens beim Projektpartner LMU lag bei 15 Monaten (Stand 2021-07). Auf dieser Basis wurde ein Verlängerungsantrag mit Aufstockung gestellt und zur Förderung empfohlen. Wir sind zuversichtlich, dass damit die Weiterbearbeitung des Projekts nach Plan erfolgen kann.

#### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Kongressbeiträge

Inter- and intra-tumoral heterogeneity as drivers of radioresistance in HNSCC. Mutlu S, Branz P, Drexler, G, Lymenko O, Hess J, Unger K, Astaburuaga R, Sell T, Klinger B, Brix N, Belka C, Blüthgen N, Zitzelsberger H, Lauber K.; 3rd symposium on tumor-host interaction in head and neck cancer 2022 in Essen

Analysis of clonogenic survival after irradiation *in vitro*: Improved evaluation algorithms of the colony formation test and limiting dilution setups for more robust scoring. Brix N, Gehr K, Samaga D, Shouman M, Hennel R, Belka C, Zitzelsberger H, Lauber K.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE (2022) 198, S159-S159, DEGRO Jahrestagung 2022 in Stuttgart

Publikationen

Integrative analysis of therapy resistance and transcriptomic profiling data in glioblastoma cells identifies sensitization vulnerabilities for combined modality radiochemotherapy. Schnöller LE, Albrecht V, Brix N, Nieto AE, Fleischmann DF, Niyazi M, Hess J, Belka C, Unger K, Lauber K, Orth M.; *Radiat Oncol* (2022) 17(1):79

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 861.553,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Jendrossek	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das 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 AP1-4:*

AP1: In Kooperation mit den Partnern HMGU und LMU erfolgten Analysen zum prognostischen Wert möglicher Kandidatengene für eine differentielle Strahlenantwort in den RNA-seq Datensätzen des HNSCC Kollektivs der klinischen Kooperationsgruppe "Personalisierte Radiotherapie bei Kopf-Hals-Tumoren" und einem HNSCC Kollektiv aus der der TCGA Daten-

bank. Derzeit erfolgt eine Priorisierung vielversprechender Kandidaten für eine weiterführende Analyse an Patientengewebe (mit Partner LMU und HMGU).

- AP2: Die Analysen zu potentiellen protektiven Wirkungen des zweiten Immunmodulators auf frühe strahleninduzierte Normalgewebsveränderungen wurden gemäß dem Arbeitsprogramm nachgearbeitet. Die Experimente und deren Auswertung sind noch nicht abgeschlossen.
- AP3: Die generierten Daten zur Charakterisierung des HNSCC Zelllinienpanels *in vitro* und *in vivo* wurden in enger Zusammenarbeit mit den Partnern HMGU, LMU, BFS, und CUB weiter aufgearbeitet und in das gemeinsame Manuskript integriert. Die Daten der retrospektiven Speichelproben (n=105) wurden in Zusammenarbeit mit Partner HMGU einer ersten statistischen Analyse unterzogen (HMGU) (vgl. Zwischenbericht 02/21). Mögliche Kandidaten eines potentiell prädiktiven Musters für Normalgewebsveränderungen konnten hierbei erfolgreich eingegrenzt werden. Die Analysen werden in Abstimmung mit den Partnern HMGU und UKF fortgeführt; zur Validierung der Ergebnisse werden vom Partner UKF zusätzliche Patientenproben zur Verfügung gestellt. Auf Basis der Analysen der zeitaufgelösten Transkriptomdatensätze von Normalgewebsproben (Zwischenbericht 02/20) wurden interessante Kandidaten für die geplanten Zytokinanalysen identifiziert. In Abstimmung der Partner BFS, CUB, und IFZ wurden die Kandidaten-Panels für Zytokinanalysen festgelegt; diese werden zunächst in Zellkulturüberständen aus den *ex vivo* Analysen an kultivierten Patienten-Keratinocyten durchgeführt. Die entsprechenden Mess-Sets wurden bereits erhalten und die Analysen werden zeitnah vom Partner CUB durchgeführt; erhaltene Zytokin-Profile können dann ggf. in weiteren Patientenproben (z. B. Blut, Mukositisgewebe) verifiziert werden. Die ersten Patientenproben zur Analyse der Immunzellzusammensetzung im peripheren Blut wurden von den Partnern BFS/HMGU erhalten (s. Zwischenbericht 02/21). Die weiteren Proben werden gemäß Absprache (Telefonkonferenz) bis Q4/2022 beim BFS gesammelt und dann geschlossen an den Partner IFZ geschickt. Die Durchführung der in der trilateralen Telefonkonferenz (IFZ, BFS, CUB) auf Basis der Zellausbeute priorisierten Messungen der Immunzellzusammensetzung im peripheren Blut mittels Multicolor-Durchflusszytometrie wurde anhand von Testfärbungen mit Spenderblut optimiert und abgesichert. Die Analysen der Patientenproben sollen nach Erhalt des kompletten Probensets in Q4/2022 erfolgen.
- AP4: Im Rahmen des Projektes wurde im Projekt eine Bachelor-Kandidatin (Anette Haak) im Bereich strahleninduzierte Immunveränderungen ausgebildet. Das halbjährliche ZiSStrans Projekttreffen fand am 05.05.22 virtuell statt; für den Partner IFZ Essen nahmen V. Jendrossek und F. Wirsdörfer teil.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm mit den bereits dokumentierten zeitlichen Verzögerungen (siehe Punkt 9).

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Jendrossek V.: Zukunftsperspektiven, DEGRO Jahrestagung 2022 (Panel Diskussion)

Klein D.: Stromazellen als Zielstrukturen zur Verbesserung der Strahlenantwort. DEGRO 2022 (Vortrag)

Jendrossek V.: EACR Early Career Researcher's Conference (Panel Discussion)

Bocci I, Grüner B, Urban S, Jendrossek V, Wirsdörfer F: Targeting pathologic macrophages for widening the therapeutic window (Poster, Workshop EU ITN THERADNET, Italy)

Weitere Tagungsteilnahmen mit Poster/Vortrag/Poster fielen aufgrund der COVID19-Pandemie aus.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 625.248,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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**

Im Berichtszeitraum 1. Halbjahr 2022 wurden Einzelzellsequenzierungen des Zelllinienpanels durchgeführt, um die Heterogenität in diesen Zelllinien zu bestimmen und damit eventuelle Subklonalität aufzudecken. Die Zelllinien wurden beim Partner LMU kultiviert, dann fixiert und nach Berlin geschickt. Um die Vielzahl an Zelllinien mit den zur Verfügung stehenden Ressourcen zu bearbeiten und die Vergleichbarkeit zu erhöhen, wurden die Zelllinien nach dem dehydrieren gepoolt und gemeinsam in einer Reaktion bei der Einzelzellsequenzierung untersucht. Da die Zelllinien von unterschiedlichen Patienten abgeleitet sind, unterscheiden sie sich genomisch stark durch die „Single Nucleotide Polymorphisms“ (SNP), die zum de-barcoding genutzt wurden, d. h. jede sequenzierte Zelle konnte eindeutig einer Zelllinie zugeordnet werden. Interessanterweise zeigte eine Zelllinie (Cal33) eine starke transkriptionelle Heterogenität. Um Subklone dieser Zelllinie weiter zu charakterisieren, wurden dann Kulturen weiterer Zelllinien einzelzellsequenziert. Da diese vom gleichen Patienten abstammen, konnten hier die SNPs nicht zum de-barcoding genutzt werden, und es mussten die Zellen mit hinzugegebenen Oligonukleotiden markiert werden. Hierbei zeigte sich aber, dass das Markieren nach de-hydrierung zu einer Degradation der RNA führte. Daher wurde begonnen, dieses Protokoll zu optimieren, damit auch diese Einzelzellsequenzierungen durchgeführt werden können.

Zur weiteren Untersuchung der Signalwege (insbesondere ZiSS1) wurden weitere CyTOF-Messungen vorbereitet, bei denen identifizierte Signalwege gezielt gestört werden.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Das Protokoll zur Einzelzellsequenzierung der Subklone soll optimiert werden und dann sollen die Messungen wiederholt werden.

Die zeitaufgelösten Einzelzellproteinmessungen (CyTOF) der Signalwege nach Inhibition einzelner Signalwege soll durchgeführt werden und zur Modellierung genutzt werden.

Das Datenmanagement mit der HMGU wird konstant weiterentwickelt.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.04.2017 bis 28.02.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 713.690,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Im Berichtszeitraum wurden acht neue Patienten eingeschlossen; entsprechende Biomaterialien wurden gewonnen, untersucht oder für gebündelte Analysen asserviert. Für Analysen von (1) zeitabhängiger bestrahlungsinduzierte Genexpression, (2) Transkriptom, (3) Protein-Profil, (4) Zytokin-Sekretion sowie (5) von Doppelstrangbrüchen wurden abservierte kryokonservierte orale Keratinozyten weiterer 15 Patienten aufbereitet und werden den Projektpartnern zugesendet. Bestrahlungspläne behandelter Patienten wurden aufgearbeitet und klinische Daten aktualisiert.
- AP4: Demographische und Behandlungsdaten bisher behandelter Patienten wurden aktualisiert, entsprechende Biomaterialien asserviert oder vorbereitet.
- AP5: Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch erfolgten (s. Bericht des Sprechers, Prof. Dr. Zitzelberger) ausschließlich telefonisch und per Videokonferenz.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

- Speichel- und Serumproben sowie Mundschleimhautbiopsien werden protokollgemäß gesammelt, aufgearbeitet und kryokonserviert. Klinische Daten werden kontinuierlich erfasst. EDTA- und Heparin-antikoaguliertes Vollblut wird für zelluläre Analysen an den Projektpartner BfS gesendet. Aufgearbeitete, tiefgefrorene Speichelproben werden dem IFZ zugesendet.
- In-vitro-Radiosensitivitätsteste (spreading assay) neu rekrutierter Patienten werden durchgeführt, Überstände der assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert.
- Korrelationen der Ergebnisse der spread-assays zu  $\gamma$ H2AX/53BP1-foci werden validiert, zelluläre, in vitro-exkretorische und Serum-exkretorische Proteomveränderungen nach Strahlenexposition untersucht. Veränderungen des Transkriptoms nach Bestrahlung in vitro expandierter Keratinozyten mit weiteren Patientenproben ergänzt.
- Daten-Standardisierungen und -Bereinigungen werden durchgeführt.
- Die Datenbank zur Erfassung und Analyse sämtlicher Patientenproben, -befunde mit entsprechenden Ergebnissen wird gemeinsam mit Kollegen der CUB und des HGMU weiterentwickelt und Daten eingepflegt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Manuskript zur Etablierung primärer Mundschleimhaut-Keratinozyten aus Mikro-Biopsien und Testung der bestrahlungsveränderten Proliferations- und die Migrationsfähigkeit ist bei Clinical and Translational Radiation Oncology [https://www.ctro.science/article/S2405-6308\(22\)00020-9/fulltext](https://www.ctro.science/article/S2405-6308(22)00020-9/fulltext) online abrufbar (open access)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 049A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 984.192,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Generierung und Charakterisierung von zerebralen Organoiden mit sich aus ihnen entwickelnden pädiatrischen ZNS-Tumoren durch Manipulation von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen; erste Versuche mit Röntgen- und Partikelstrahlen sollen Aufschluss über die Interaktion der Tumorzellen und des sie umgebenden Normalgewebes unter Therapiebedingungen geben (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Anfertigung und Charakterisierung von Tumororganoid-Schnitten zur Verhinderung von nekrotischen Prozessen bei der Langzeitkultivierung; Etablierung moderner Schnitt-Protokolle und umfangreiche immunzytochemische Färbungen zur Charakterisierung des Systems. Funktionale Analysen zur neuronalen Netzaktivität innerhalb der angefertigten Organoidschnitte mittels Kalzium-Imaging und Mikroelektrodenarray-Technik (Technische Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Seit dem letzten Bericht konnte das als Basis für die Tumororganoid dienende Organoidmodell, das sowohl neuronale Zellen als auch gliale Zellen, Astrozyten und Oligodendrozyten, enthält, mittels Immunfluoreszenzfärbungen weiter charakterisiert werden. Darüber hinaus konnten die Tumororganoid weiterentwickelt und damit die reproduzierbare Generierung dieser erhöht werden: anstatt die Tumore wie bisher entweder durch die Überexpression von c-Myc als Onkogen oder durch die Deletion von Tumorsuppressorgenen (p53, NF1 und PTEN) zu generieren, wurden diese beiden Methoden kombiniert. Die genetisch manipulierten Zellen (Tumorzellen) wurden anhand ihres GFP-positiven Signals mittels Durchflusszytometrie isoliert und konnten erfolgreich in 2D-Bedingungen kultiviert und auch kryopräserviert werden. Dies ermöglicht eine genauere Charakterisierung dieser Tumorzellen, mit welcher bereits begonnen wurde. Des Weiteren konnten aus den Tumorzellen dreidimensionale Sphären gebildet werden, welche mit normalen, nicht-modifizierten Organoiden fusioniert wurden. Diese neue, reproduzierbare Modellform ermöglicht insbesondere eine Untersuchung möglicher Migrationsprozesse der Tumorzellen in die, das Normalgewebe repräsentierenden, Organoiden. Im Berichtszeitraum konnten auch die Organoidschnitte im Air-Liquid-Interface(ALI)-Kultursystem hinsichtlich der Zellkomposition umfassender charakterisiert werden. Das ALI-Kultursystem von Organoidschnitten ermöglicht eine längerfristige Kultivierung und verbesserte Differenzierung im Vergleich zu ganzen Organoiden. Mit isolierten GFP-positiven Tumorzellen ko-kultivierte Organoidschnitte wurden für die Untersuchung der Auswirkungen von Röntgenstrahlung (10-15 Gy, 250 kV, 16 mA, Dosisrate: 1,1 Gy/Minute) sowie Partikelstrahlung (15 Gy Kohlenstoffionen, 4 cm SOBP, LET: 50keV/μm) benutzt. Das Vorhandensein verschiedener Zelltypen und deren Anfälligkeit für Zelltod wurde durch quantitative RT-PCR und Immunfluoreszenzfärbungen von Markern unreifer und reifer Neurone und Gliazellen sowie Proliferations-, Zelltod- und Nekrosemarkern (z. B. Laktatdehydrogenase A) bestimmt. Ein deutlicher Überwuchs der Tumorzellen auf den Organoidschnitten weist auf ein realistisches in vitro System der Onkogenese hin. Die Wirkungen der Strahlung in den so generierten Tumoren und den entsprechenden Kontrollen werden derzeit durch quantitative RT-PCR- und immunohistochemische Analysen auf spezifische Marker für neuronale und gliale Zellen, Zelltodmarker sowie tumorspezifische Marker untersucht. Für eine tiefergehende Analyse der Interaktionen innerhalb der neuronalen Netzwerke wurde ein Protokoll zur 3D-Visualisierung von Organoidschnitten, basierend auf der Clearing-Technik des Gewebes und konfokaler Bildgebung, etabliert. Erste Visualisierungen der Zellstrukturen/Marker und Interaktion von Tumorzellen mit normalem Gewebe wurden durchgeführt. Derzeit werden die Beschaffenheit und die Interaktion von neuronalen Netzwerken mit den Tumorzellen durch PCR- und Sequenzierungsanalysen durchgeführt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten halben Jahr liegt der experimentelle Schwerpunkt auf der abschließenden Analyse (inklusive Sequenzierungsanalysen) und der genauen Charakterisierung/Bestätigung der Tumoreigenschaften (Migration und Invasion) der genetisch manipulierten Zellen und der aus ihnen generierten Tumororganoid/Tumororganoidschnitte. Die Wirkung von Röntgen- und Partikelstrahlung auf diese beiden Modellformen hinsichtlich der Zellkomposition, Zellinteraktion und des Zelltods wird weiter untersucht. Auch die Bereitstellung von Organoiden und Organoidschnitten zur abschließenden funktionellen Analyse (AP2) ist geplant. Schließlich sind Datenanalysen und die Veröffentlichung der Ergebnisse vorgesehen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Elena Maier, Masterarbeit "Air-liquid interface culture of human oligodendrocyte spheroids as a model to study mechanisms underlying ionizing radiation-induced disruption of CNS function", Studiengang Biomedical Sciences, Hochschule Albstadt Sigmaringen (2022)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Hochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 049B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 678.020,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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: Generierung und Charakterisierung von zerebralen Organoiden mit sich aus ihnen entwickelnden pädiatrischen ZNS-Tumoren durch Manipulation von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen; erste Versuche mit Röntgen- und Partikelstrahlen sollen Aufschluss über die Interaktion der Tumorzellen und des sie umgebenden Normalgewebes unter Therapiebedingungen geben (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).

AP2: Anfertigung und Charakterisierung von Tumororganoid-Schnitten zur Verhinderung von nekrotischen Prozessen bei der Langzeitkultivierung; Etablierung moderner Schnitt-Protokolle und umfangreiche immunzytochemische Färbungen zur Charakterisierung des Systems. Funktionale Analysen zur neuronalen Netzaktivität innerhalb der angefertigten Organoidschnitte mittels Kalzium-Imaging und Mikroelektrodenarray-Technik (Technische Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Der Fokus der im ersten Halbjahr 2022 durchgeführten Arbeiten lag auf der Optimierung der Signalverarbeitung von Daten, die durch MEA Messungen und Calcium-Imaging generiert wurden. Experimentelle Arbeiten konnten – aufgrund der in Abschnitt 9 beschriebenen Probleme – nur begrenzt durchgeführt werden.

Im Rahmen einer Masterarbeit mit dem Titel „*Entwicklung eines KI-basierten Arbeitsablaufs zur Signalverarbeitung von an humanen neuronalen Netzwerken erhobenen Daten*“ werden neue Herangehensweisen für die Detektion von Spikes in MEA-Messdaten entwickelt. Bereits etablierte Ansätze beruhen auf klassischen Threshold-basierten Methoden, die mit komplexen Algorithmen ergänzt werden können (z. B. SWTTEO). Ein niedriges Signal-Rausch-Verhältnis, wie es insbesondere für dreidimensionale Kultursystemen beschrieben wurde (Mayer et al. 2018), erschwert jedoch diese Herangehensweise. Im Berichtszeitraum wurde daher ein neuer Ansatz für die Detektion von Spikes konzipiert, bei dem mit Methoden der künstlichen Intelligenz und des maschinellen Lernens, Spikes zuverlässig vom Hintergrundrauschen identifiziert werden könnten.

Des Weiteren wurden die Arbeiten zur automatisierten Segmentierung und Signalanalyse von Kalzium-Imaging-Messdaten fortgeführt. Zusätzlich zu der im letzten Jahr bereits verwendeten Software Calima, werden derzeit im Rahmen einer Bachelorarbeit weitere Software-Pakete (Caiman, Sima und EZCalcium) in Hinblick auf eine möglichst präzise Segmentierung evaluiert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Entwicklung neuer Methoden für die Signalverarbeitung von MEA- und Calcium-Imaging Messdaten wird fortgeführt und mittels bereits im Projekt generierter Datensätze evaluiert.

Sobald die IT-Infrastruktur des Labors wieder vollständig hergestellt wurde, werden die pharmakologischen Studien mit der Methode des Calcium-Imagings durchgeführt. Hierbei soll der Einfluss des Chemotherapeutikums Cisplatin und des Antiepileptikums Levetiracetam auf die Funktionalität der Neurosphären untersucht werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Pascal Ruedel: Experimentelle und wirtschaftliche Untersuchung des Potentials von elektrischer Stimulation auf neuronale Netzwerke, Masterarbeit, Technische Hochschule Aschaffenburg, 2022

Simone Hufgard: Life-Science Engineering zur semi-automatisierten Analyse neuronaler Netzwerke mithilfe fluoreszenzbasierter Bildgebungsverfahren, Bachelorarbeit, Technische Hochschule Aschaffenburg, 2022

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.07.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 3.335.237,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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 Photon- und  $\alpha$ -Strahlung auf OB-Vorläuferzellen
  - Wirkung von Radon-Adsorption in hTNF- $\alpha$ -tg Mäusen;IDO-Expression in Lunge und Haut
  - Adhäsion von Lymphozyten auf Endothelzellen (organotypische), anti-oxidativer Einfluss

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Messungen zur Radonlöslichkeit in chemisch aufgereinigten Blutkomponenten wurden abgeschlossen. Ebenso wurden Messungen zur Charakterisierung der Bedingungen (Temperatur u. a. Parameter) in der Radonkammer fortgeführt, jedoch auf Grund eines Defekts des Messgerätes nicht abgeschlossen. Der Aerosolgenerator wurde eingebaut und ein anatomisches Lungenmodell sowie ein Beatmungsgerät wurden vorbereitet, mit welchem der Luftstrom im Lungenmodell simuliert werden soll. Messungen zur Filterung von Radonzerfallsprodukten in Gesichtsmasken wurden durchgeführt und zur Publikation vorbereitet.
- AP3: Die mFISH Chromosomenanalysen von Patientenproben aus der RAD-ON02 Studie wurden abgeschlossen. Für die begonnene Publikation zur Wirkung von dicht und dünnionisierender Strahlung auf humane Bronchialepithelzellen wurden ergänzende Versuche zur Barrierefunktion und der Immunreaktion des Bronchialepithels durchgeführt.
- AP4: Zur Analyse der Fusionierung der Osteoklasten wurden weitere Versuche durchgeführt und die Daten zusammen mit ausgewählten Patientendaten aus der IMMO-LDRT01 Studie publiziert. Es konnte gezeigt werden, dass die Fusionierung der Osteoklasten, welche von gesunden Spendern isoliert wurden, durch Röntgenbestrahlung inhibiert ist. Nach niedrigdosierter Röntgenstrahlentherapie (LDRT) konnte bei Patienten, welche vor allem an Calcaneodynia, Achillodynia leiden, keine Veränderung des Th17/Treg Verhältnisses, der Knochenaufbau und -abbauenden Marker festgestellt werden. In die IMMO-LDRT01 Studie wurden drei weitere Patienten mit Rheumatoider Arthritis und Osteoarthritis eingeschlossen. In Patientenproben der RAD-ON02 Studie wurden weitere Marker des Knochenabbaus und -aufbaus (Osteocalcin, Prokollagen Typ I, TRAP) mittels ELISA quantifiziert und das Th17/Treg Verhältnis bestimmt. Die ex-vivo-Untersuchungen von Fett aus infrapatellaren Fettpolstern (IPFP) und Synovialproben von Patienten (Kollaboration Prof. Rehart, Agaplesion-Markus-Krankenhaus Frankfurt/Main) wurden fortgesetzt, allerdings konnte aus einigen Patientenproben kein IPFP isoliert werden. Die Auswertung der Transkriptom-Daten wurde weitergeführt, eine Publikation ist in Vorbereitung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Der Charakterisierung der Bedingungen in der Radonkammer sollen abgeschlossen und der Aerosolgenerator in Betrieb genommen werden. Das Beatmungsgerät soll montiert und zusammen mit dem Lungenmodell getestet werden. Publikationen zum Lungenmodell, Mausexperimenten, Blutmessungen und Filterung sollen vorbereitet bzw. eingereicht werden. Bestrahlungsservice für andere APs ist geplant.
- AP3: Die Gesamt-Datenauswertung der Chromosomenanalysen im Rahmen der RAD-ON02 Studie soll abgeschlossen und eine Publikation über die zytogenetischen Risiken von Radonbädern vorbereitet werden. Die ergänzenden Versuche in Bronchialepithelzellen werden ausgewertet. Die sich in Arbeit befindliche Publikation zu den Effekten von ionisierender Strahlung auf die Bronchialepithelzellen soll weiter ausgearbeitet und zur Publikation eingereicht werden.
- AP4: Die Auswertung der RAD-ON02 Studie soll beendet und die Publikation vorbereitet werden. Weitere Experimente zur Inhibierung der Fusionierung der Osteoklasten durch Röntgenstrahlung werden durchgeführt, um ein Modell zu überprüfen, welches die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Osteoklasten-Vorläuferzellen fusionieren, modelliert. Eine Publikation hierzu wird vorbereitet. Die Untersuchungen des Aktivierungszustandes des IPFP aus Kniegewebeproben von Patienten werden mittels Immunhistochemie fortgesetzt. Außerdem wird der Einfluss der extrazellulären Vesikel, welche durch das Fettgewebe freigesetzt werden, untersucht. Publikationen zu Transkriptom-Analysen von Fettzellen nach Bestrahlung sollen abgeschlossen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Deloch L., Hehlhans S., Rückert M., Maier A., Hinrichs A., Flohr A.-S., Eckert D., Weissmann T., Seeling M., Nimmerjahn F., Fietkau R., Rödel F., Fournier C., Frey B., Gaipl U.S.: Radon Improves Clinical Response in an Animal Model of Rheumatoid Arthritis Accompanied by Increased Numbers of Peripheral Blood B Cells and Interleukin-5 Concentration. *Cells* 2022, 11, 689
- Papenfuß F., Maier A., Fournier C., Kraft G., Friedrich T.: In-vivo dose determination in a human after radon exposure: proof of principle. *Radiat Environ Biophys* 61, 279–292 (2022)
- Eckert D., Rapp F., Tsedek A.T., Kraft D., Wente I., Molendowska J., Basheer S., Langhans M., Meckel T., Friedrich T., Donaubaer A.-J., Becker I., Frey B. and Fournier C.: Modulation of Differentiation and Bone Resorbing Activity of Human (Pre-) Osteoclasts After X-Ray Exposure. *Front. Immunol.* 13:817281 (2022)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.07.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.046.137,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWIS $\alpha$  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  $\alpha$ -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  $^{241}\text{Am}$ -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

Vorangegangene Arbeiten in kultivierten Fibroblasten (Rothkamm & Löbrich 2003) zeigten, dass DNA-Doppelstrangbrüche (DSBs) nach einer Bestrahlung mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlung (z. B. 10 mGy) nur sehr ineffizient repariert werden. Dies war überraschend, denn DSBs, die nach hohen Dosen entstehen, werden sehr effizient repariert. Erste Hinweise auf den Mechanismus lieferte die Studie von Grudzenski et al. 2010 in PNAS, die zeigt, dass die Reparatureffizienz von DSBs nach Röntgenstrahlen vom Level des oxidativen Stresses abhängt. Tatsächlich wird die Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen deutlich erhöht, wenn die Zellen vor der Bestrahlung mit Wasserstoffperoxid (einer Chemikalie, die Radikale erzeugt, ohne selbst DSBs zu erzeugen) behandelt werden. Das bedeutet, dass ein ausreichend hohes Niveau von Radikalen (auch: ROS, *Reactive Oxygen Species*) benötigt wird, um eine effektive Reparatur zu initiieren. Durch ROS-Messungen mit dem Farbstoff CellROX haben wir festgestellt, dass in den Zellen nach einer Bestrahlung mit einer niedrigen Dosis von 10 mGy Röntgenstrahlung in der Tat deutlich weniger ROS entstehen, als bei Bestrahlung mit höheren Dosen (z. B. 100 und 1000 mGy) oder einer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Behandlung. Dies bestätigt unsere Vermutung, dass bei niedrigen Dosen nicht genug ROS entstehen, um eine effiziente Reparatur zu aktivieren.

Im letzten Halbjahr wurden die Studien hinsichtlich des zugrundeliegenden Mechanismus der Reparatur nach niedrigen Dosen fortgesetzt. Bereits durchgeführte Experimente zeigten, dass der relevante DSB-Reparaturmechanismus – das sogenannte *Non-Homologous End-Joining* – nach niedrigen Strahlendosen möglicherweise nicht aktiv ist. Als Zielprotein in diesem Reparaturweg haben wir die DNA-PKcs identifiziert und vermuten eine *indirekte* Aktivierung der DNA-PKcs durch PRDX2, einem regulatorischen Protein des Redoxstoffwechsels. Um die Idee einer ROS-abhängigen Interaktion zwischen der DNA-PK und PRDX2 zu konsolidieren, wurde 2021 mit der Etablierung von einer Co-Immunpräzipitation (CoIP) begonnen. Leider gestaltete sich die Etablierung der CoIP mit den bisher verwendeten Fibroblasten schwieriger als gedacht und führten trotz zahlreicher Versuche und Veränderungen im Protokoll nicht zu konsistenten Ergebnissen. Daher haben wir uns nun für eine neue experimentelle Strategie entschieden, bei der wir nicht länger versuchen, das native Protein und deren Interaktionspartner zu isolieren, sondern ein speziell markiertes Protein verwenden wollen. Durch diese Markierung eines der Proteine ist es in der Regel einfacher, das Protein selbst und dessen Interaktionspartner zu isolieren. Im letzten Halbjahr haben wir daher viel Zeit investiert, um ein Plasmid zur Expression von PRDX2 mit einem sogenannten FLAG-Tag in der Zelle herzustellen. Dieses Plasmid wird komplementiert durch eine Sequenz (siRNA oder shRNA), die den Abbau des nativen Proteins ermöglicht. Aktuell werden Untersuchungen zur Expression des PRDX2-Flag sowie des Abbaus des nativen PRDX2 in einer Krebszelllinie durchgeführt, die sich im Gegensatz zu Fibroblasten leicht transfizieren lässt. Zeigen diese Experimente, dass unser System funktioniert und PRDX2 durch den Tag in seiner Funktion und Lokalisation nicht beeinträchtigt ist, soll einerseits eine CoIP mit einer gut transfizierbaren Modellzelllinie durchgeführt werden und andererseits das System auf Fibroblasten übertragen werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Interaktion zwischen DNA-PKcs und PRDX2 soll mit der beschriebenen, veränderten Strategie weiter untersucht und der genaue Mechanismus der Interaktion beider Proteine näher charakterisiert werden. Dazu werden Interaktionsstudien mittels Co-Immunpräzipitation und Proximity Ligation Assay mit Modellzelllinien etabliert. Das Lebendzellmikroskop wird in Betrieb genommen, verschiedene Settings bzw. Softwareeinstellungen überprüft. Anschließend werden wir die Aufnahmebedingungen am Mikroskop optimieren und erste Experimente durchführen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.07.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 657.792,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

Ziel dieses APs ist es molekulare und zelluläre Wirkmechanismen der möglichen analgetischen Wirkung von Radon bei chronisch entzündlichen Schmerzen in einem systemischen Ansatz zu identifizieren und für die therapeutische Anwendung zu verstehen. Es wird vermutet, dass bei entzündlichen Gelenkerkrankungen zu den Symptomen einer gesteigerten Schmerzempfindung (Allodynie) und verstärkter Schmerzempfindung (Hyperalgesie) es in Form eines Schmerzgedächtnisses zu einer veränderten Genexpression in Neuronen kommt, die an der Nozizeption beteiligt sind. So gibt es Hinweise aus anderen Studien, dass NMDAR und Proteinkinasen für die spinale LTP von Bedeutung sind, z. B. die Phospholipid-abhängige Proteinkinase C (PKC). Im vorherigen Berichtszeitraum wurden aus einem arthritischen Mausmodell Gehirne entnommen und diese auf Veränderungen im Kontext des Schmerzgedächtnisses überprüft. Hierbei konnten Änderungen beim Auftreten als auch beim Phosphorylierungsgrad verschiedener, für die Langzeitpotenzierung (LTP) wichtiger, Rezeptoren nach Radonbehandlung aufgezeigt werden. Zusätzlich wurde durch Radon Behandlung die Menge an Proteinkinase  $\alpha$  (PKC- $\alpha$ ) im Vergleich zu unbehandelten arthritischen Mäusen signifikant erhöht. Beide Ergebnisse deuten auf eine Unterdrückung der LTP und eine Verschiebung zur Langzeitdepression (LTD) hin. In dem nun durchgeführten Berichtszeitraum wurden diese Ergebnisse in den direkten Vergleich zu Wildtyp Mäusen gestellt. Eine Phosphorylierung der GluN2B-Untereinheit des NMDARs konnte in Wildtyp Mäusen im Gegensatz zum arthritischen Modell nicht gefunden werden. Darüber hinaus wird die PKC $\alpha$  in Wildtyp Mäusen kaum exprimiert. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese der durch chronische Schmerzen induzierten Veränderungen im ZNS und deren Abschwächung durch Radon und lassen auf einen molekularen Wirkungsmechanismus für Radon zur Linderung chronischer Schmerzen schließen, welcher direkt mit dem neurosensorischen System interagiert. Aufgrund der radioaktiven Eigenschaften von Radon wurden in dem vergangenen Berichtszeitraum zusätzlich Zell Kulturen mit einer alpha-Quelle bestrahlt und die Expression von „early response genes“ (ERGs) unmittelbar nach Bestrahlung untersucht. Interessanterweise wurden 3 Stunden nach Bestrahlung NFAT sowie NF $\kappa$ B deutlich hochreguliert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im verbleibenden Berichtszeitraum soll die verfügbare Menge an extrazellulärem TNF- $\alpha$  nach  $\alpha$ - Bestrahlung bestimmt werden um die beobachtete PKC- $\alpha$  Aktivierung zu erklären. Des Weiteren sollen, um den Effekt von Radon auf die LTD detaillierter zu betrachten, weitere für diesen Signalweg typische Rezeptoren und Mediatoren untersucht werden. Wir werden auf der Basis der neuen Einblicke, die wir aus den abgeschlossenen Experimenten gewonnen haben, versuchen, die molekularen Mechanismen der analgetischen Wirkung durch Genregulation zu verstehen. Dabei geht es um die Frage der Induktion von Transkription durch ionisierende Strahlung.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 710.793,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rödel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die niedrig dosierte Strahlentherapie wird vorwiegend zur Behandlung degenerativ-inflammatorischer, d. h. benignen 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 weiteren Untersuchung der Fragestellung, ob das anti-oxidative System von Immunzellen einen Einfluss auf die anti-inflammatorische Wirkung von Radon-Exposition hat, wurden im Berichtszeitraum aus *ex vivo* kultivierten und Radon exponierten murinen Immunzellen in Kooperation mit den Projektpartnern in Erlangen (AP5) und der GSI in Darmstadt (AP1, AP4) die mRNA Expression der anti-oxidativen Enzyme Catalase, Superoxid-Dismutase 1 (SOD1) und Glutathion-Peroxidase 1 (GPx1) sowie deren Transkriptionsfaktor Nrf2 untersucht. Hierbei zeigte sich keine signifikante Veränderung nach Radon-Exposition in unstimulierten oder Tumor-Nekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) stimulierten Monozyten und Makrophagen (Radon Konzentration: 177 kBq/m<sup>3</sup>) und in Knochenmarkszellen (168 kBq/m<sup>3</sup>). Die Stimulation von Makrophagen bewirkte dagegen eine signifikant erhöhte Catalase, GPx1 und Nrf2 Expression, was mit einer signifikant verminderten intrazellulären ROS-Menge korrelierte. Zudem wurde die RNA-Isolation aus den Blutproben, die mit PAXgene-Röhrchen im Rahmen der RAD-ON02 Studie abgenommen wurden, abgeschlossen. Insgesamt liegen nun 829 Proben, darunter 113 Proben zu Zeitpunkt 1, 112 Proben zu Zeitpunkt 2, 106 Proben zu Zeitpunkt 3, 103 Proben zu Zeitpunkt 4, 102 Proben zu Zeitpunkt 5, 101 Proben zu Zeitpunkt 6, 93 Proben zu Zeitpunkt 7 und 97 Proben zu Zeitpunkt 8 vor. Zum Vergleich wurden von fünf normalen Spendern ebenfalls Blutproben in PAXgene Röhrchen abgenommen und die Catalase, SOD1, GPx1 und Nrf2 Expression mittels quantitativer PCR bestimmt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Berichtszeitraum wird die mRNA Expression von anti-oxidativen Faktoren in den RAD-ON02 Patientenproben im Verlauf der Therapie weiter untersucht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Deloch L, Hehlhans S, Rückert M, Maier A, Hinrichs A, Flohr AS, Eckert D, Weissmann T, Seeling M, Nimmerjahn F, Fietkau R, Rödel F, Fournier C, Frey B, Gaipf US.: Radon Improves Clinical Response in an Animal Model of Rheumatoid Arthritis Accompanied by Increased Numbers of Peripheral Blood B Cells and Interleukin-5 Concentration. *Cells*. 2022; 11: 689

Tandl D, Sponagel T, Alansary D, Fuck S, Smit T, Hehlhans S, Jakob B, Fournier C, Niemeyer BA, Rödel F, Roth B, Moroni A, Thiel G.: X-ray irradiation triggers immune response in human T-lymphocytes via store-operated Ca<sup>2+</sup> entry and NFAT activation. *J Gen Physiol*. 2022; 154: e202112865

Hehlhans S, Donaubaue A-J, Becker I, Frey B, Ott OJ, Weissmann T, Fournier C, Gaipf U S, Rödel F.: Analyse der Expression anti-oxidativer Faktoren im Blut von Patienten mit chronisch degenerativen und entzündlichen Erkrankungen vor und nach Niedrigdosisbestrahlung – IMMO-LDRT01 Studie. Abstract bei der 28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie, Stuttgart, 2022: *Strahlenther Onkol* 2022 (Suppl 1) 198: S143-S144

Eckert D, Rapp F, Tsecke AT, Molendowska J, Lehn R, Langhans M, Fournier C, Rödel F, Hehlhans S.: Der Redox-sensitive Transkriptionsfaktor Nrf2 moduliert die Leukozytenadhäsion an Endothelzellen nach Bestrahlung. Abstract bei der 28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie, Stuttgart, 2022: *Strahlenther Onkol* 2022 (Suppl 1) 198: S159

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.292.552,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Gaipf	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die naturwissenschaftliche Doktorarbeit wurde im Q1/2022 fertiggestellt und wird im Juli 2022 verteidigt werden. Die Haupt-Publikation zur RAD-ON02 Studie ist in der Vorbereitung und es wurden hierfür weiterführende Analysen zusammen mit einem unabhängigen professionellen Statistiker durchgeführt. Die Vorbereitungen zur Initiierung der Placebo-kontrollierten IMMO-LDRT02 Studie liefen gut und es wurde begonnen, eine Online-Datenbank zu entwickeln (Redcap), welche eine optimierte Sammlung und Auswertung der Studiendaten ermöglichen wird. Das positive Ethikvotum für diese Studie wurde am 25.01.2022 von der zuständigen Ethikkommission der FAU erteilt (21-410-B). Die Rekrutierung in der IMMO-LDRT01 Studie läuft nach wie vor gut (bislang 156 Patienten rekrutiert). Für die Lagerung des Biomaterials in der hauseigenen Biobank wurde ein neues System zur Dokumentation und Verwaltung des Biomaterials (StarLims) in die bestehenden Prozesse implementiert. Die zahnmedizinischen Doktorarbeiten zur RAD-ON02 und IMMO-LDRT01 Studie sowie zu Analysen humaner Osteoklasten wurden vom praktischen Teil her abgeschlossen. Zum Kompetenzerhalt und -ausbau in der Strahlenforschung wurde für Frau Donaubaue für zunächst 2 x 3 Jahre eine Hausstelle geschaffen, um im Fach Strahlenbiologie zu habilitieren. Deswegen wechselte Frau Donaubaue am 01.02.2022 auf diese Stelle und wird aber thematisch weiter an erweiterten Fragestellungen, welche sich aus dem GREWISalpha Projekt heraus ergeben, arbeiten. Um die ursprünglich geplanten Arbeiten erfolgreich zum Abschluss zu bringen wurde ab 02/2022 Frau Tina Jost als Vollwissenschaftlerin auf das GREWISalpha Projekt eingestellt. Frau Jost ist eine sehr gute Jungwissenschaftlerin, welche ihre bisher erworbenen Kompetenzen gerne auch zukünftig in die Strahlenforschung einbringen wird. Da zudem Frau Dr. Ina Becker vom 18. Juni bis zum 24. September 2022 im Mutterschutz, und anschließend in Elternzeit sein wird, ist die Mitarbeit von Frau Jost für die Immunphänotypisierungen der Studienpatienten im Rahmen von GREWISalpha enorm wichtig. Der geplante Review Artikel zum aktuellen Wissensstand der immunbiologischen und klinischen Wirkweise niedrig dosierter Strahlung schritt gut voran und soll bis Ende August 2022 eingereicht werden. Eine medizinische Doktorarbeit, welche die Daten zum Einfluss niedrig dosierter Röntgenstrahlung auf Makrophagen weiter untersucht, wurde begonnen. Das im Rahmen der NukSiFutur Ausschreibung von Frau Dr. Deloch ausgearbeitete Projekt „TOGETHER“ wurde dem Gutachtergremium vorgestellt. Eine Arbeit, welche sich mit den strahlungsinduzierten osteoimmunologischen Veränderungen im Mausmodell beschäftigt und im translationalen Ansatzes diskutiert wird, wurde in *Frontiers Immunology* publiziert und mit dem Günther-von-Pannowitz Preis 2022 der DEGRO ausgezeichnet. Eine zweite Veröffentlichung, welche sich mit immunologischen Effekten von Radon exponierten Mäusen beschäftigt wurde in *Cells* veröffentlicht. Auch wurden die Daten, welche im Rahmen des GREWISalpha Projekts erarbeitet wurden, im Mai auf dem EWRR in Wien erfolgreich vorgestellt. Des Weiteren wurden die Daten in Form eines Posters, eines Abstract-Vortrages sowie zwei eingeladenen Vorträgen auf der DEGRO in Stuttgart präsentiert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die erste Publikation zur RAD-ON02 Studie soll finalisiert werden. Die Rekrutierung der IMMO-LDRT01 Studie soll vorangetrieben werden, um Subgruppen-Analysen in der Studie zu ermöglichen. Des Weiteren ist parallel die Initiierung der IMMO-LDRT02 Studie geplant. Zudem sollen neben Osteoklasten von gesunden Spendern auch Zellen aus Patienten untersucht werden. Die Entwicklung zu weiterführenden Assays zur Charakterisierung von weiteren Immunzellpopulationen in der Immunphänotypisierung sollen abgeschlossen und die Daten zur Charakterisierung der TEMRA T Zellen sollen publiziert werden. Weitere Daten der anderen Assays (NK Zellsotypen und myeloide Suppressorzellen) werden ausgewertet und evaluiert. Die (zahn)medizinischen Doktorarbeiten sollen im Q4/2022 fertiggestellt werden und die daraus entstandenen Daten zu Makrophagen und Fibroblasten-ähnlichen Synoviozyten zur Publikation vorbereitet werden. Ein weiterer Review Artikel welcher sich mit dem Einfluss niedrig dosierter ionisierender Strahlung auf Makrophagen beschäftigt, soll ebenfalls bis Ende September fertiggestellt werden. Im Rahmen des im September stattfindenden Nachwuchssymposiums der jungen DeGBS wird derzeit in Zusammenarbeit mit *Cancers* (MDPI) eine *Special Issue* zum Thema „*The Future of Radiation Science*“ vorbereitet. Hier soll vor allem der Nachwuchs die Möglichkeit erhalten, Arbeiten zu publizieren. Für den geplanten DFG Antrages haben sich durch weitere Gruppen in Erlangen neue Möglichkeiten ergeben. Die für ein Habilitationsverfahren von Frau Dr. Deloch nötigen Unterlagen und Vorgaben wurden erfüllt und das Verfahren soll baldmöglichst eröffnet werden, so dass die Habilitation nach Möglichkeit in den nächsten zwei Jahren abgeschlossen werden kann. Ab 09/2022 soll zudem Frau Lilli Zülch die Arbeiten von Frau Dr. Becker übernehmen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Deloch L, Hehlhans S, Rückert M, Maier A, Hinrichs A, Flohr AS, Eckert D, Weissmann T, Seeling M, Nimmerjahn F, Fietkau R, Rödel F, Fournier C, Frey B, Gaipl US. *Cells*. 2022 Feb 16;11(4):689. (2) Weissmann T, Rückert M, Zhou JG, Seeling M, Lettmaier S, Donaubaue AJ, Nimmerjahn F, Ott OJ, Hecht M, Putz F, Fietkau R, Frey B, Gaipl US, Deloch L. *Front Immunol*. 2022 Jan 3;12:777792

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 054A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 935.813,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 vom 01.01.2022 bis zum 30.06.2022 wurden Vorexperimente für die anstehenden Strahlzeiten und die Hauptexperimente während der Li-UNILAC und C-SIS Strahlzeit durchgeführt.

Für die Strahlzeiten wurden zwei Gruppen von Experimenten durchgeführt: Zum einen wurden drei verschiedene Darmkrebszelllinien mit dem glykolytischen Inhibitor 2-Deoxy-D-Glucose (2-DG) und zwei Inhibitoren des antioxidativen Verteidigungssystems (GSH und TRX) behandelt. Bei den Inhibitoren handelt es sich um BSO, welches die Glutamatcysteinylgase hemmt und dadurch zu einer verringerten Glutathionkonzentration führt und um Auranofin, das die Thioredoxinreduktase hemmt. Zum anderen wurden drei Krebszelllinien aus unterschiedlichen Geweben und eine Normalgewebszelllinie mit dem glykolytischen Inhibitor 2-DG und dem NQO1-Inhibitor ES-936 behandelt, der die Regeneration des Reduktionsmittels Hydroquinone blockiert. Mittels Lebendzellproliferationsmessungen (Holomonitor und ZenCell Owl) wurden zuerst geeignete Inhibitorkonzentrationen bestimmt, die in den jeweiligen Kombinationen zellverträglich eingesetzt werden können. Um den Effekt der Inhibitoren auf die Reparatur strahleninduzierter DNA-Schäden zu analysieren, wurden die Inhibitoren mit Röntgen- oder Schwerionenstrahlung kombiniert und die Zellproliferation und das Zellüberleben analysiert. Dazu wurde für die Proliferationsassays zusätzlich der Sulforhodamin B Assay eingesetzt. Für das Zellüberleben wurde ein klonogener Assay verwendet. Als Ergebnis zeigte sich, dass die jeweiligen Inhibitorkombinationen die Zellproliferation beeinträchtigten. Dieser Effekt wurde durch Röntgenstrahlung verstärkt. Eine ähnliche Wirksamkeit war auch nach der Bestrahlung mit Lithium-Ionen zu beobachten. Die Daten der C-SIS Strahlzeit werden zurzeit noch ausgewertet. Ob die Kombination von Schwerionen und den entsprechenden Inhibitorkombinationen einen stärkeren Effekt auf das Zellüberleben haben als eine entsprechende Röntgenbestrahlung wird derzeit noch untersucht. Allerdings konnte bisher nach der Behandlung der Zellen mit den Inhibitoren 2-DG und ES-936 in Kombination mit Röntgenstrahlen kein signifikanter DNA Reparaturdefekt beobachtet werden, während nach der Bestrahlung mit Lithiumionen ein Einfluss der Inhibitoren auf die strahleninduzierte DNA-Reparatur sichtbar war. Ob dieser Reparaturdefekt auf den komplexeren DNA-Schäden, die durch Schwerionenbestrahlung den Zellen zugefügt werden, basiert, wird noch untersucht. Für die klonogenen Assays wurden zuerst Röntgenstrahlung und die Inhibitoren 2-DG und ES-936 benutzt. Beim Überleben zeigte sich, dass das Zellüberleben der verschiedenen Krebszelllinien stärker verringert waren, als das der zum Vergleich herangezogenen Normalgewebszelllinie. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass speziell der Metabolismus der Krebszelllinien durch die Kombination aus Inhibitoren und Strahlung sensibilisiert wird. Diese vorläufigen Ergebnisse müssen noch in Wiederholungsexperimenten verifiziert werden. Ein vergleichendes Experiment wurde auch in der Strahlzeit mit Kohlenstoffionen durchgeführt. Die Auswertungen der Ergebnisse der C-SIS Strahlzeit stehen noch aus.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Auswertungen der C-SIS Strahlzeit sollen abgeschlossen und mit den Ergebnissen der Li-UNILAC Strahlzeit abgeglichen werden. Zudem werden die Experimente mit Röntgenstrahlen für statistische Analysen komplettiert. Dazu werden die schon zuvor verwendeten Proliferationsassays und Überlebenskurven eingesetzt. Ein Vergleich der Ergebnisse von Schwerionenbestrahlung und Röntgenbestrahlung sollen Rückschlüsse auf eine potenzielle Abhängigkeit von der Schadenskomplexität liefern. Um eine Publikation der bisher erhaltenen Daten dieses Projektteils vorzubereiten sollen im kommenden Berichtszeitraum gezielt Experimente durchgeführt werden, die die bisherigen erhaltenen Daten abrunden, bzw. in Repetitionsexperimenten verifizieren. Dies beinhaltet auch eine spezifischere Analyse der Inhibitoren, die ihre exakte Wirkungsdauer- und -stärke auf die verwendeten Zelllinien umfasst um eine Korrelation zu den erhaltenen Daten herzustellen. Auch unspezifische Effekte auf den Zellzyklus sollen charakterisiert bzw. ausgeschlossen werden. Dazu sollen zum einen enzymatische Assays verwendet werden, die die Aktivität der inhibierten Zielenzyme misst und zum anderen Assays, die nach Inhibition die entstehende oxidative Produktmenge erfasst. Der Einfluss auf die metabolischen Aktivitäten durch Inhibitoren oder Strahlung soll durch Einsatz des Seahorse-Metabolic Analysers analysiert werden, das die Atmung und Glykolyse der Zellen messen kann.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Götting I et al.: Targeting AKT-Dependent Regulation of Antioxidant Defense Sensitizes AKT-E17K Expressing Cancer Cells to Ionizing Radiation. *Front Oncol* 2022 (in press)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 054B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 913.833,01 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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<sup>-/-</sup> 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  $\gamma$ H2AX Foci mittels konfokaler Mikroskopie. Fokus liegt hier auch auf der  $\gamma$ 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 März konnte erneut die Strahlzeit am UNILAC der GSI genutzt werden und eine hoch-LET-Bestrahlung durchgeführt werden. Dafür wurden Kohlenstoff-Ionen mit einer Energie von 10,1 MeV/u angewendet. Für diese Experimente wurden RPE-1 hTert Zellen zur GSI gebracht, in denen zuvor eine siRNA basierte Herunterregulierung von CTCF, SMC1 (Untereinheit von Cohesin) sowie SMC2 (gemeinsame Untereinheit von Condensin I und II) durchgeführt wurde. Nach Bestrahlung wurden Zellen für die Messung klonogenen Überlebens ausgesät sowie Proben gesammelt um Western Blot Analysen und zytogenetische Messungen durchzuführen. Aufgrund der relativ instabilen Experimentbedingungen (aufgrund des Transports von Darmstadt nach Essen) ist der Überlebensassay leider nicht aussagekräftig. Anhand der Western Blot Analyse konnte gezeigt werden, dass die Herunterregulierung der verschiedenen Proteine partiell funktioniert hat. Das ermittelte phospho-Kap1 Signal (ein bekanntes Zielprotein der ATM Aktivierung nach Bestrahlung) zeigte eine deutliche Aktivierung nach Bestrahlung. Diese Aktivierung ist deutlich erhöht in Zellen, in denen SMC2 herunterreguliert wurde. Ebenso konnte eine Erhöhung der phospho-ATM Signale und der  $\gamma$ -H2AX (auch Ziel von ATM) in diesen Zellen festgestellt werden. In Zellen ohne SMC1 bzw. ohne CTCF hingegen haben sich diese drei Signale gegenteilig (also niedriger) bzw. unwesentlich verändert. Die Experimente zur Untersuchung von Chromatidbrüchen und Translokationsbildung werden zurzeit noch ausgewertet.

Des Weiteren ist die siRNA basierte Herunterregulierung von CAPH (Condensin I) und CAPD3 (Condensin II) in RPE-1 hTert und 82-6 hTert Zellen gelungen. Die kombinierte Herunterregulierung zeigt eine Sensitivierung der RPE-1 hTert Zellen nach Bestrahlung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- CAPH (Condensin I), CAPD3 (Condensin II) sowie SMC2 (gemeinsame Unterheit beider Condensine) sollen ebenfalls in Adenokarzinomzellen herunterreguliert werden, um mögliche zelltypspezifische Unterschiede herauszufinden.
- Um eventuelle Unterschiede der Rolle von CTCF, Cohesin und Condensin I+II in der Signalübertragung und Reparatur von DSBs zwischen niedrigen und hohen Strahlungsdosen ausfindig zu machen, sollen die bereits beschriebenen Endpunkte unter erweiterten Dosispektren untersucht werden.
- Die Experimente, die im März 2022 an der GSI durchgeführt wurden, sollen in ähnlichem Umfang mit Röntgenbestrahlung wiederholt werden.
- Der Einfluss des CTCF Knockdowns auf die resektionsabhängige DSB-Reparatur soll weiter erforscht werden. Dazu soll u. a. der DNA-PKcs Inhibitor NU7441 verwendet werden, um den Hauptreparaturweg c-NHEJ auszuschalten.
- Außerdem soll der Einfluss der Herunterregulierung von CTCF, Cohesin und Condensin I+II auf die Bildung von Chromosomenaberrationen (z. B. Translokationen) 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.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 054C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 804.799,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 $\theta$  vermittelt wird, scheint von Rad52 unterdrückt zu werden.

Im ersten Teil des Teilprojekts soll diese Hypothese überprüft und das Wechselspiel von Rad52 und Pol $\theta$  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

1. Teil: In unseren bisherigen Studien konnten wir zeigen, dass resektierte DSBs in BRCA2-defizienten Zellen während der Mitose über den Weg des Pol $\Theta$ -vermittelten Alt-NHEJ repariert werden. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass BRCA2 und Rad52 eine vorzeitige Nutzung dieses Wegs in der G2-Phase, welche mit der Ausbildung letaler Chromosomen-Fusionen assoziiert ist, redundant verhindern. Zudem konnten wir Fluoreszenz-markiertes Rad52 an den resektierten DSBs in der G2-Phase und der frühen Mitose nachweisen. Wir postulieren, dass Rad52 und BRCA2 in der G2-Phase an die Bruch-Enden binden und so eine Pol $\Theta$ -vermittelte Reparatur verhindern. In der Mitose lösen sie sich von den Bruch-Enden ab, was dann eine Reparatur mittels Alt-NHEJ erlaubt. In diesem Berichtszeitraum sollte untersucht werden, ob Kinasen, die BRCA2 bzw. Rad52 spezifisch in der Mitose phosphorylieren, an der Regulation dieses Vorgangs beteiligt und für das Ablösen von BRCA2 bzw. Rad52 von den Bruch-Enden wichtig sein könnten. Dazu wurde die Pol $\Theta$ -vermittelte Reparatur in der Mitose nach Inhibierung von vier verschiedenen Kinasen analysiert. Die eingesetzten Inhibitoren zeigten hier zwar teilweise deutliche Effekte auf mitotische Zellen, eine Hemmung des Alt-NHEJ konnte aber nicht nachgewiesen werden. Dies spricht gegen eine Beteiligung dieser Kinasen an der Regulation des Alt-NHEJ, diese Annahme wird daher nicht weiter verfolgt werden.

2. Teil: In unseren bisherigen Studien zur Reparatur strahleninduzierter DSBs konnten wir zeigen, dass ATRX für einen in Wildtyp-Zellen dominierenden Unterweg der HR essentiell ist. In ATRX-defizienten Zellen erfolgt der HR-Prozess dagegen über den Unterweg des *synthesis-dependent strand-annealing* (SDSA), der von der Aktivität der Helikase RecQ5 abhängt. Eine RecQ5-Depletion resultiert folglich in ATRX-defizienten Zellen in einem starken Reparaturdefekt, während dies in Zellen mit ATRX kaum Effekte hat. Um die Bedeutung der beiden HR-Unterwege für die Reparatur klinisch besonders relevanter ein-endiger DSBs zu bestimmen, wurde in diesem Berichtszeitraum damit begonnen das Reparaturverhalten nach Behandlung mit dem Topoisomerase-Inhibitor CPT zu untersuchen. In ATRX-defizienten Zellen wurden CPT-induzierte DSBs weitgehend vollständig repariert, eine Depletion von RecQ5 führte dagegen zu einem deutlichen - wenn auch nur partiellen - Reparaturdefekt. Dies verdeutlicht, dass eine ATRX-unabhängige Reparatur von ein-endigen DSBs prinzipiell möglich ist und dass zumindest ein Teil der DSBs in ATRX-defizienten Zellen über den SDSA-Weg repariert wird.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

1. Teil: Im weiteren Verlauf des Projekts sollen die zellulären Prozesse der Rad52-vermittelten Restriktion des Alt-NHEJ auf den Zeitraum der Mitose weiter charakterisiert werden.

2. Teil: Wir konnten bisher eine unterschiedliche Bedeutung der beiden HR-Unterwege bei der Reparatur strahleninduzierter DSBs in Wildtyp- und ATRX-defizienten Tumorzellen nachweisen. Um zu beurteilen, ob dies auch auf ein-endige Brüche zutrifft, soll das Reparaturverhalten dieser DSBs weiter untersucht werden. Hierzu haben wir auch damit begonnen neue ATRX-KO-Zelllinien generiert, die in die weiterführenden Studien implementiert werden sollen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 055A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.12.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 336.499,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 (01.01.2022 – 30.06.2022) wurden zusammen mit der Projektpartnerin Prof. Borgmann weitere Daten mit dem zuvor etablierten Synchronisationsprotokoll generiert, die im Rahmen einer methodisch orientierten Publikation veröffentlicht werden sollen.

Die systematische Analyse der Auswirkungen einer pharmakologischen Hemmung von PARP1, den Proteinkinasen der DNA-Schadensantwort, ATM, Atr, Chk1 sowie DNA-PK, bzw. die Hemmung von PARP1 auf die Strahlenempfindlichkeit von Zellen basierend auf der *High Content Analysis* wurde im Rahmen einer Masterarbeit fortgesetzt. Dabei kamen auch isogene Zelllinien mit einer verringerten *BRCA1* bzw. *BRCA2*-Gendosis zum Einsatz.

Bis zum Abschluss der detaillierten bioinformatischen Analyse der Metabolom-Daten von zellzyklussynchronisierten Zellen mit und ohne IR-Bestrahlung durch den Projektpartner Prof. Cordes in Dresden konzentrierten sich metabolische Analysen der Zellzyklus-spezifische Sensibilisierung der Zellen durch IR-Bestrahlung zunächst auf Aspekte des Lipidmetabolismus und dem H<sub>2</sub>S-Signaling, basierend auf Daten der Literatur und den eigenen Metabolom-Rohdaten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Der Schwerpunkt für das zweite Halbjahr 2022 ist die Bereitstellung von Zellzyklussynchronisierten Proben für eine gezielte Metabolom-Analyse, welche dann im Partnerprojekt Prof. Cordes in Dresden verarbeitet und ausgewertet werden. Basierend auf der Auswertung der Metabolom-Daten werden neue und bereits identifizierte Target der Zellzyklus-spezifischen Strahlenempfindlichkeit charakterisiert und verifiziert.

Die High Content Analysen zur Charakterisierung des Beitrags der DNA-Schadensantwort zur Zellzyklus-spezifischen Strahlenempfindlichkeit wird abgeschlossen. Des Weiteren wird die Publikation des entwickelten Protokolls zur Zellzyklussynchronisation eingereicht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 055B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.12.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 256.960,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Berichtszeitraum vom 01.01.2022 bis 31.07.2027 wurden Experimente an synchronisierten Zellen zum Einfluss der unterschiedlichen Zellzyklusphasen auf die Strahlenempfindlichkeit durchgeführt. MDA-MB-231 Zellen wurden dafür durch die Inhibitoren, CDK1 (RO3306) und Mimosine, synchronisiert und in der G2-Phase, der G1-Phase sowie zu Beginn, in der Mitte und am Ende der S-Phase bestrahlt. Die Analysen zeigen, dass die Strahlenempfindlichkeit zellzyklusspezifisch variiert.

Zur Aufklärung zugrundeliegender Mechanismen beziehen sich aktuelle Untersuchungen auf die Ursachen der Zellzyklus-spezifischen Unterschiede der Strahlenempfindlichkeit. Entsprechend der in AP2 und AP3 aufgeführten Fragestellungen werden Untersuchungen zur zellzyklus-spezifischen Aktivierung der DNA-Schadensantwort, Marker der DNA-Reparatur und Auswirkungen auf die DNA-Replikation untersucht.

Aufgrund der Corona-Situation besteht weiterhin ein eingeschränkter Laborbetrieb. Das Personal arbeitete häufig aufgrund von Quarantänemaßnahmen und limitierter Personenzahl im Labor im Homeoffice und es bestehen weiterhin lange Lieferzeiten für benötigte Agenzien.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Abschluss der *in vitro* Untersuchungen zur Strahlenempfindlichkeit in Abhängigkeit des Zellzyklus in synchronisierten Zellkulturen.
- Analyse der beobachteten Unterschiede in Abhängigkeit der identifizierte Metabolite aus AP1.
- Einsatz spezifischer Inhibitoren gegen identifizierte metabolische Prozesse zur S-Phase-spezifischen Strahlensensibilisierung.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 055C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2020 bis 31.03.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 337.786,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 (01.01.2022 – 31.07.2022) wurden die Forschungsarbeiten an diesem Teilprojekt durch die weiter bestehenden Einschränkungen und Lieferengpässe der Corona-Pandemie sowie die Ausschreibung inklusive Rekrutierung und Entlassung einer neuen Doktorandin weiter verzögert. Die im vorherigen Berichtszeitraum durchgeführte Probenvorbereitung und -sammlung für die Metabolom-Analyse konnte auf Dresdner Seite nicht weiterbearbeitet werden. Die Anfang des Jahres neu rekrutierte Doktorandin mit herausragenden Referenzen konnte sich auch mit starker Unterstützung aller Mitglieder der Cordes Forschungsgruppe nicht in die Gruppe integrieren und verschwand unentschuldig zurück nach Indien. Die Entlassung aufgrund der unentschuldigten Abwesenheit war die Folge. Erneut benötigte es die Unterstützung von Fr. Gräber zur Diskussion und Lösung dieser Problematik. Nach Anfrage an den Projektträger sieht es jetzt so aus, als wenn eine neue Doktorandin auf die Personalstelle eingestellt werden dürfte und so die bioinformatischen Analysen der Metabolom-Proben nun durchgeführt werden. Aufbauend auf der ersten Metabolom-Analyse durch die Metabolom Facility der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, erfolgt anschließend die Identifizierung von Modulationen spezifischer Stoffwechselwege innerhalb unterschiedlicher S-Phasezeiten. Der Metabolom-Datensatz wurde bereits allen Parteien des Konsortiums in Jena und Hamburg zur Verfügung gestellt. Die identifizierte Kandidatin, die bereits der Cordes Forschungsgruppe angehört, soll ab September 2022 bis zum Laufzeitende zur Finalisierung ihrer Dissertation auf dieses Projekt eingestellt werden.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Schon vorab führt die designierte Doktorandin die Metabolom-Analysen durch, so dass die experimentellen Arbeiten wie vorgesehen und gemäß dem beschriebenen Untersuchungsprogramm durchgeführt werden können.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 057A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 673.430,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

Teilprojekt 3: Experimentelle Bestimmung und thermodynamische Modellierung der Speziation von Cm(III), Eu(III) und U(VI) in den Biofluiden des Verdauungssystems in An- und Abwesenheit von Dekorporationsmitteln

- 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)

Teilprojekt 6: Bioverfügbarkeit von Radium aus Lebensmitteln und Wechselwirkungen im Verdauungssystem

- AP2: Reaktion der Nahrungsmittelproben mit Biofluiden des Verdauungssystems
- AP3: Speziationsbestimmung von Eu(III) in den Biofluiden

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

TP3/AP1: Mittels zeitaufgelöster Laserfluoreszenzspektroskopie bei tiefen Temperaturen (cryo-TRLFS) wurde die Speziation von Uran(VI) in den gastrointestinalen Verdauungssegmenten und im gesamten Verdauungssystem experimentell untersucht. Im Verdauungstrakt Magen (Mischung aus Speichel und Magensaft, pH 1,3) wird die Uranspeziation von Mucin und Phosphat geprägt, dagegen

dominiert im Dünndarm (Mischung aus Pankreassaft und Gallenflüssigkeit, pH 7,9) sowie im gesamten synthetisch reproduzierten Verdauungssystem (Kombination aus Magen und Dünndarm, pH 6,5) jeweils Carbonat. Die Speziesverteilung in den Biofluiden und in den Verdauungssegmenten wurde mittels paralleler Faktoranalyse (parafac) quantifiziert.

**TP3/AP2:** In Kooperation mit dem Verbundpartner TUD wurden im Zelllabor des zentralen Radionuklidlabors *in vitro* Experimente mit renalen Zellen von Menschen (HEK-293) und Ratten (NRK-52E) begonnen. Der zeit- sowie konzentrationsabhängige Einfluss von Uran(VI) sowie der potentiellen Dekorporationsmittel Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) und 1-Hydroxyethan-1,1-diphosphonsäure (HEDP) auf die Vitalität beider Zelllinien wurde mittels XTT-Assay untersucht und aus diesen Daten Dosis-Wirkungskurven sowie  $EC_{50}$ -Werte ermittelt. ICP-MS-Analysen sowie cryo-TRLFS-Messungen wurden zur Bestimmung der Löslichkeit sowie der Speziation von U(VI) im Zellkulturmedium durchgeführt. Uran komplexiert im Zellkulturmedium hauptsächlich mit Carbonat und weist eine hohe Löslichkeit auf.

**TP3/AP4:** Der Einfluss von Ethylenglykol-bis-(2-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraessigsäure (EGTA) auf die Speziation in den synthetischen Biofluiden wurde mittels TRLFS untersucht. Es trat eine Änderung der Koordinationssphäre insbesondere in den Biofluiden Gallensaft, Pankreassaft, Dünndarm und gesamtes Verdauungssystem auf. Der Anteil der Eu(III) Spezies mit den Biofluid-Liganden nimmt deutlich ab, und der Anteil des Eu(III)-EGTA-Komplexes nimmt zu. Zur weiteren Quantifizierung der gebildeten Spezies wurde EGTA für 2H-NMR-Messungen deuteriert, um diese neben den Komponenten der Biofluide besser beobachten zu können. Die 2H-NMR-Spektren (ohne die Komponenten der Biofluide) zeigen die erwarteten Signale. In den Biofluiden konnte der Ligand jedoch nicht Eu(III)-gebunden beobachtet werden.

**TP3/AP6:** Die pKs-Werte von EGTA wurden mittels NMR-Spektroskopie bestimmt. Die Wechselwirkung zwischen EGTA und Eu(III) wurde mittels ITC und TRLFS quantifiziert und die Komplexbildungskonstante ermittelt ( $\log\beta = 18,0 \pm 0,02$ ). Neben dem Eu(III)-EGTA-System wurde mittels TRLFS das Cm(III)-EGTA-System untersucht. In pH- und konzentrationsabhängigen Messreihen konnte über den pH-Bereich von 3,5 bis 9 ein stabiler 1:1-Komplex beobachtet werden, die Komplexbildungskonstante ist mit  $\log\beta = 18,6 \pm 0,02$  etwas höher als die von Eu(III)-EGTA.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

TRLFS-Untersuchungen zur Reaktion der Dekorporationsmittel HEDP und DTPA mit Uran sowie der Einfluss auf die Uranspeziation in den Biofluiden werden begonnen.

Die Zellexperimente werden in Kooperation mit dem Verbundpartner TUD fortgesetzt (morphologische Zellveränderung nach Inkubation von Uran, HEDP oder DTPA; Anfärbung der Zellkompartimente Zellkern, Zytoskelett, Mitochondrien und Mikrotubuli).

Die Wechselwirkung zwischen Eu(III)/Cm(III) und den Komponenten der Biofluide sowie der Einfluss von Liganden wie EGTA soll genauer analysiert und quantifiziert werden. Die 2H-NMR-Experimente sollen verbessert werden. Für ein besseres Verständnis zwischen Struktur des Liganden und Affinität zu Eu/Cm soll EGTA leicht modifiziert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

19<sup>th</sup> Radiochemical Conference RadChem, 15.-20.05.2022, Marianske Lazne, Czech Republic:

Barkleit, A.; Heller, A.; Walther, C.; Walther, D.; Raskob, W.: Speciation and transfer of radionuclides in the human organism especially taking into account decorporation agents (RADEKOR) – a joint project. Poster

Butscher, D.; Barkleit, A.; Stumpf, T.: Spectroscopic investigation of the speciation of uranium(VI) in the biofluids of the human digestive system. Vortrag

Friedrich, S.; Holtmann, L.; Kretzschmar, J.; Barkleit, A.; Stumpf, T.: Complexation of Eu(III) in artificial digestive media by aminopolycarboxylic acid EGTA. Vortrag

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 057B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2020 bis 31.03.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 933.486,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

Zum 01.01.2022 hat die Biologisch-Technische Assistentin Stefanie Rebisch, ihre Arbeit im Projekt aufgenommen.

Im AP1 wurde nach Problemen mit dem ursprünglichen FKS ein zweiter Test verschiedener Chargen durchgeführt und eine neue gewählt.

Im AP2 wurden die Experimente zur Zellvitalität von renalen Ratten- (NRK-52E) und menschlichen Zellen (HEK-293) mittels XTT-Assay nach Eu(III)- und U(VI)- sowie HEDP- und DTPA-Exposition abgeschlossen. Bei allen Noxen zeigte sich ein konzentrations- wie auch zeitabhängiger zytotoxischer Effekt. Die aus den Dosis-Wirkungs-Kurven berechneten

EC<sub>50</sub>-Werte erlauben einen Vergleich mit Literaturwerten. Mittels Fluoreszenzmikroskopie nach Färbung einzelner Zellkompartimente wurde ein gehäuftes Auftreten morphologischer Veränderungen (Fragmentierung der Zellmembran und Verlust von Zell-Zell-Verbindungen) festgestellt. Die Löslichkeit der Noxen im Zellkulturmedium wurde mittels ICP-MS untersucht und für Eu(III) und U(VI) eine hohe Löslichkeit von ca. 90-95 % ermittelt, was eine hohe Bioverfügbarkeit für die Zellen *in vitro* bedeutet.

Im AP5 wurden die komplexen Prozesse im Eu(III)-HEDP-System weiter untersucht. Mittels Ultrazentrifugation und TRLFS im Spurenkonzentrationsbereich konnten schwer lösliche Spezies weitgehend abgetrennt und die lösliche Speziation aufgeklärt werden. Im Sauren wurde ein 1:1-Komplex mit HEDP<sup>2-</sup> charakterisiert, im Basischen ein 1:1-Komplex mit HEDP<sup>4-</sup>. Im nahneutralen pH-Bereich bildet sich eine neutral geladene und daher schwer lösliche 1:1-Spezies mit HEDP<sup>3-</sup>. Für alle drei Komplexe wurden Strukturmodelle entwickelt und mittels DFT die Bindungsenergien berechnet. Dabei zeigte sich die bevorzugte Bindung des Metalls in Chelatkomplexen, was zur Bildung von 6-Ringen führt. Solche Ringverbindungen sind energetisch besonders stabil. In beim Verbundpartner LUH durchgeführten ESI-MS-Messungen wurde zudem die Bildung eines zweiten Komplexes mit 1:2-Stöchiometrie im sauren pH-Bereich nachgewiesen. Die An-/Abwesenheit von Na zeigte keinen Einfluss auf die Speziation in Lösung. In Löslichkeitsexperimenten zeigten sich mit und ohne Na jedoch starke Unterschiede, die noch weiter untersucht werden.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im AP5 wird mit Partnern vom HZDR, der RWTH Aachen und der TU Dresden der Einfluss von Na auf die Bildung von schwer löslichen Eu-HEDP-Komplexen und deren Präzipitation weiter untersucht und eben diese charakterisiert. Hierfür werden TRLFS + PARAFAC, ATR-FT-IR, XRD, Festkörper-NMR (<sup>31</sup>P, <sup>13</sup>C und <sup>23</sup>Na), TG/DSC und ICP-MS angewandt. Schlussendlich werden aus diesen Daten Aussagen zur Struktur der verschiedenen Niederschläge abgeleitet und Komplexbildungskonstanten berechnet.

Im AP2 werden weitere Assays zur Fluoreszenzmikroskopie nach spezifischer Färbung verschiedener Zellkompartimente angewandt, um eine mögliche Apoptose der Zellen nach der Exposition zu untersuchen. Darüber hinaus wird die Bioassoziation von Eu(III) sowie U(VI) bestimmt und untersucht, welchen Einfluss eine gleichzeitige Applikation der DM auf die Zytotoxizität der Schwermetalle hat.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Konferenz: 19<sup>th</sup> Radiochemical Conference (RadChem), 15.-20.05.22 in Marienbad, CZ

Vortrag: C. Senwitz et al. "Impact of HEDP and DTPA as well as Eu(III) and U(VI) on human and rat kidney cells *in vitro*"

Poster: A. Heller et al. „Multi-method investigation of Eu(III)/La(III) complexation with HEDP over a wide pH range”

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 057C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 391.375,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Riebe	

## 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

- AP2: Zur Strukturaufklärung und Charakterisierung wurden Ra(II)/Ba(II)-haltige Komplexe mit D-Glucuronsäure, Glucosaminhydrochlorid, Etidronsäure (HEDP) und Nitrilotriessigsäure (NTA) synthetisiert. Die so hergestellten Komplexe wurden außer mit Elektrospray-Ionisation (ESI) mittels Infrarotspektroskopie (IR) und Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) untersucht.
- AP3: Neben den bereits charakterisierten Referenzverbindungen von Ba(II) mit Bestandteilen des Verdauungstraktes nach dem UBM-Protokoll (Barge) wurden erste Referenzverbindungen mit Komplexbildnern und Dekorporationsmitteln charakterisiert. In Übereinstimmung mit den Projektpartnern wurden dazu potentielle Komplexe von Barium mit EDTA, DTPA und HEDP untersucht.
- AP4: In ersten Versuchen wurde begonnen, die Speziation von Ra(II)/Ba(II) in den Biofluiden in Abhängigkeit von Komplexbildnern zu bestimmen. Im ersten Durchlauf wurde dazu EDTA als klassischer Komplexbildner verwendet. Um die Sorption von Radium an Proteinen und Makromoleküle in den Biofluiden zu untersuchen wurden Ultrafiltrations-Batchversuche durchgeführt. Die relative Fraktion an Radiumverbindungen mit einer molekularen Masse von weniger als 3000 u mittels Gammasspektrometrie gemessen. Diese Versuche wurden nach Zugabe von Chitosan, einem Polymer mit Verwendung in der Abwasseraufbereitung und Schwermetallbindung, wiederholt. Dabei zeigte sich, dass der Anteil an Radiumverbindungen mit einer Molekularmasse von über 3000 u durch Chitosan um ungefähr die Hälfte reduziert wurde. Da die Speziation von Ra(II)/Ba(II) im Verdauungstrakt von der initialen Speziation bei der oralen Aufnahme abhängen kann, wurde in Vorbereitung auf TP6 Mangold aufgezogen und erste Pflanzen getracert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Die Synthese Ra(II)/Ba(II)-haltiger Komplexe soll mit weiteren Liganden fortgeführt werden.
- Nach der Charakterisierung bariumhaltiger Referenzverbindungen mittels ESI-MS sollen im nächsten Schritt die Versuche mit Radium wiederholt werden, um den direkten Vergleich zwischen Barium und Radium zu ermöglichen.
- Die Speziation von Barium im Biofluidsystem in Abhängigkeit von Komplexbildnern soll in weiteren Messungen fortgeführt werden.
- Neben der Zugabe von Tracer soll auch die Messung nach Zugabe von getracertem Mangold stattfinden, da die Speziation von Ra(II)/Ba(II) in den essbaren Pflanzenteilen einen großen Einfluss auf die entsprechenden Verbindungen im Verdauungssystem des Menschen und die Bioverfügbarkeit des jeweiligen Elements haben könnte.
- Die Synthese des HOPO-Liganden wird fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterbeitrag auf der RadChem 2022 in Mariánské Lázně mit dem Titel „Characterization of radium-containing compounds in the human digestive tract for decorporation“

<b>Zuwendungsempfänger:</b> VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 057D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 406.245,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Dekorationsmittel 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  $^{228}\text{Ra}$  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  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  mit den entsprechend optimierten Methoden bestimmt und die Analysenwerte mittels Gammaskopimetrie 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  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  mittels Gammaskopimetrie, Alphaspektrometrie und  $\beta$ -Messung nach radiochemischer Trennung an.
- AP6: Aus den Aktivitätswerten werden die täglichen Ausscheidungsraten, die auf die verzehrte Aktivität normierten Ausscheidungsraten sowie der zeitliche Verlauf der Ausscheidungsraten von  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  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

Zur Bestimmung von  $^{228}\text{Ra}$  über sein Tochternuklid  $^{228}\text{Ac}$  sind weitere Versuche zur Trennung von Ra und Ac durchgeführt worden:

- Extraktionschromatographie unter Kombination von TEVA- mit DGA-, LN- oder RE-Resin
- Kombination von Kationenaustausch- und Extraktionschromatographie mit DOWEX 50Wx8 und DGA.

Mit dem Modellnuklid  $^{225}\text{Ac}$  (Folgenuklid von  $^{229}\text{Th}$ ) und Cer als stabilen Tracer sind im ersten Fall Wiederfindungen von 15-72 % für  $^{225}\text{Ac}$  und von 0,1-92 % für Cer erhalten worden, die teilweise von einer starken Diskrepanz zwischen  $^{225}\text{Ac}$  und Cer geprägt war, was die Verwendung von Cer als chemisch ähnlichen Tracer einzuschränken scheint.

Die Vergleichsuntersuchungen zur chemischen und radiochemischen Zusammensetzung von Paranüssen und anderen Nüssen sind um Walnüsse, Haselnüsse und Mandeln ergänzt worden. Auch für Wal- und Haselnüsse sind die Gehalte der Erdalkalielemente Ca, Sr und Ba deutlich kleiner als bei Paranüssen, was wiederum die Sonderstellung des Paranussbaums bzgl. des Mineralienhaushalts hervorhebt.

Diese Sonderstellung der Paranüsse ist auch beim Vergleich der Aktivitätskonzentrationen von  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Th}$  zu erkennen.

Zur Vorbereitung der Verzehrstudien sind die dafür benötigten Dokumente erstellt worden: Formular zur Identität der Teilnehmer, in dem ihnen eine anonymisierte Nummer zugewiesen wird, Protokolle zur Dokumentation der täglichen Verzehrsmengen an Lebensmitteln sowie der Paranüsse und der 24-h-Ausscheidungen, ein begleitendes Hinweisblatt zur Studiendurchführung sowie ein Dokument als Hilfestellung zur Abschätzung der täglichen Verzehrsmengen. Des Weiteren ist eine Präsentation für ein erstes Informationsgespräch mit den Interessenten in Vorbereitung.

Um allen Teilnehmern Paranüssen aus der gleichen Charge zur Verfügung stellen zu können, sind drei 1-kg-Chargen ganzer, geschälter Nüsse erworben worden. Jeweils fünf Teilproben zu ca. 50 g wurden gammaspektrometrisch gemessen, um die Homogenität der Nüsse innerhalb einer Charge zu überprüfen. Nur eine der drei Chargen kann unter Berücksichtigung der Messunsicherheit als homogen angesehen werden. Daraufhin ist für die Verzehrstudie eine weitere Strategie zur Feststellung der Aktivität in den verzehrten Paranüssen in Diskussion.

In Vorbereitung der 2. Verzehrstudie sind 4-5 Mineralwässer ausgewählt worden, die laut einer Studie des BfS eine erhöhte Ingestionsdosis aufweist.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die methodischen Arbeiten zur Bestimmung von  $^{228}\text{Ra}$  sollen endgültig abgeschlossen werden.

Die Durchführung der 1. Verzehrstudie ist für den Zeitraum November/Dezember geplant.

In Vorbereitung der 2. Verzehrstudie werden geeignete Mineralwässer beschafft und gammaspektrometrisch charakterisiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 057E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2020 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 317.343,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 RADEKOR. 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. An Teilprojekt 6 sind alle Partner beteiligt. In diesem fließen die verschiedenen Expertisen und Methoden aller Partner ein, um einen optimalen Synergieeffekt zu erzielen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nachdem 2020 erfolgreich ein Doktorand akquiriert werden konnte, verzögerte sich Pandemie bedingt seine Anstellung. Aufgrund von Corona Vorschriften und Visum Regelungen, konnte er seine Projektarbeit erst im März 2021 starten. Deshalb könnte eine kostenneutrale Verlängerung notwendig werden, um alle Ziele zu erreichen.

TP5: Nach der Entwicklung eines ersten modifizierten biokinetischen Modells für Americium, konzentrierten sich die Arbeiten auf die Identifizierung der wichtigsten biochemischen Pfade im menschlichen Körper um die physiologische Bedeutung der von der ICRP entwickelten Modelle besser zu verstehen. Ziel der Arbeiten ist ja eine Verfeinerung und Verbesserung der bestehenden Modelle. Das von der Leber ausgeschiedene Protein Fetuin wurde als wichtiger Träger von Americium in den Knochen identifiziert. Weiterhin wurden Ablagerungsprozesse in der Lunge ermittelt und die Biochemie von Nieren und Leber weiter untersucht. Sobald die Biochemie des Americiums in allen menschlichen Körperteilen besser verstanden ist, werden diese biochemischen Prozesse im Modell quantifiziert.

TP6: Dieses Teilprojekt wurde noch nicht gestartet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

TP5: In einem nächsten Schritt wird KIT den biochemischen Mechanismus des vermehrten und beschleunigten Ausscheidens von Americium mit DTPA genauer untersuchen. Dieses Verständnis wird dann im biokinetischen Modell umgesetzt und das jetzige Modell von Americium wird um ein DTPA-Americium-Interaktionsmodell erweitert. Um das Modellverständnis des Doktoranden zu erweitern, wird ein Aufenthalt am College of Pharmacy der Washington State University geplant. Dies dient auch dazu, um Information aus der umfangreichen Datenbank des United States Transuranium and Uranium Registries USTUR zu erhalten und damit Modelltests und Validierungen durchzuführen.

TP6: Der Beitrag zu diesem Teilprojekt startet erst in der 2. Hälfte des Projekts.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag auf EURADOS Konferenz, 20. – 24. Juli 2022, Belgrad, Serbien

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69120 Heidelberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 058A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 361.100,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 ferneren 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 ( $\gamma$ 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  $\gamma$ H2AX Clustern in Bezug zu benachbarten Chromatinregionen (Hetero-, Euchromatin, SINEs, LINEs).
- H2: Bestimmung und Topologien initialer Reparaturproteine in Korrelation zu  $\gamma$ H2AX Topologien/Korrelation von  $\gamma$ 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

a) H2, H3: Vom Verbundpartner Jülich wurden umfangreiche Sätze von Objektträgern geliefert: Dabei handelte es sich um Jurkat Zell-Präparate mit  $^{125}$ IUdR und nicht radioaktiver IUdR Markierung, die in früher und später S-Phase inkorporiert worden waren. Die Zellen waren zur Schadensanreicherung in der nächsten G1-Phase eingefroren und Aliquots wurden nach dem Auftauen nach 30 min, 1 h, 3 h, 5 h und 24 h fixiert. Zusätzlich wurden durchflusszytometrische Daten zum Zellzyklus zur Verfügung gestellt. Als Kontrollen wurden Zellen nach 3 Gy und 10 Gy low-LET Bestrahlung analysiert. Zusätzlich gab es noch Kontrollpräparate, die ausschließlich dem Schritt des Einfrierens und Auftauens ausgesetzt waren, um kryo-induzierte von strahlen-induzierten Schäden zu unterscheiden. Neben  $\gamma$ H2AX und 53BP1 wurde ebenfalls MRE11 in Kombination mit Heterochromatin

(H3K9me3) spezifisch markiert. Vorläufige Ergebnisse zeigen: Während MRE11 während der Reparatur verstärkt zur Clusterbildung neigt, nehmen in der Umgebung die H3K9me3 Signale zu, da die Antikörperzugänglichkeit durch Auflockerung der Heterochromatinverpackung größer wird. Solange MRE11 an einer Reparatur (1 h bis 5 h in den vorliegenden Daten) beteiligt ist, bleiben die Clustergrößen gleich. Demgegenüber scheint Heterochromatin während der Reparatur stärker relaxiert zu sein und formt erst nach 10 h wieder stärker Cluster. Topologische Analysen weisen auf zwei Gruppen von Netzwerken hin, die sich scheinbar signifikant unterscheiden. Weitere Auswertungen stehen noch offen und sollen systematisch zusammengefasst werden.

**b) H3:** Es waren Eigenschaften von Heterochromatin an nicht bestrahlten Zellen untersucht und im Zusammenhang mit genetischen Aktivitäten ein Arbeitsmodell über die funktionale Bedeutung der Heterochromatinarchitektur entwickelt worden (siehe Publikation Erenpreisa et al.). Diese Arbeiten sollen noch durch Analyse von L1 ergänzt werden. Hierzu wurden neue Oligonukleotidproben beschafft und auf Hybridisierbarkeit und Blinkverhalten in der Lokalisationsmikroskopie getestet.

**c) H1, H2, H3:** Die Auswertungen der Experimente mit Zellen, die in Lösung einem Radiopharmakon mit  $^{177}\text{Lu}$  (ca. 100 mGy) ausgesetzt waren, wurden für die Markerregionen ( $\gamma\text{H2AX}$ , 53BP1, Mre11, pATM) fortgesetzt und sollen publiziert werden. Ergänzende Messungen haben die bisherigen Ergebnisse bestätigt: Das Clusterverhalten wurde in Bezug auf Heterochromatin (H3K9me3 Marker) bewertet.  $\gamma\text{H2AX}$  Cluster kolokalisieren kaum mit den H3K9me3-Signalen, was insgesamt für weniger komplexe Schäden und eine NHEJ-Reparaturpräferenz spricht.

**d) H1, H3:** Es wurden 3 Zellsysteme hinsichtlich  $\gamma\text{H2AX}$  und Heterochromatin (H3K9me3) untersucht: a) normal proliferierende Fibroblasten; b) kontaktinhibierte Fibroblasten (quieszent) aus Langzeitkulturen (6 Monate); c) teilungsreaktivierte Fibroblasten aus Langzeitkulturen. Die Daten (siehe letzter Bericht) wurden aufbereitet und stehen zur Publikation bereit.

**e) H1, H2:** Die vergleichenden Ergebnisse zur räumliche Organisation von  $\gamma\text{H2AX}$  und pATM in HeLa Zellen nach Hyperthermiebehandlung (43 °C) und Bestrahlung (1Gy Röntgen) wurden im Rahmen einer umfassenderen Studie zum Hyperthermieverhalten von Zellen publiziert.

**f) H5:** Die Programmierung für eine beschleunigte Steuerung der optischen Elemente in LapView wurde weitgehend abgeschlossen und auf Funktionalität überprüft. Neue elektronische und optische Elemente für die Filtereinheiten wurden installiert (Zusammenarbeit mit der hauseigenen Elektronikabteilung). Das System wird zunächst in einer Wellenlänge in Betrieb genommen und umfangreichen Routinemessungen unterzogen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

**H1, H2, H3:** Fortsetzung der Auswertungen, insbesondere topologische Analysen und Zusammenfassung der Ergebnisse in einer verbundübergreifenden Publikation. Hier sollen insbesondere nicht nur die Charakteristika der Chromatinnetze zusammengefasst werden, sondern in Fortführung Einzelschäden.

**H4:** lokalisationsmikroskopische Analysen und Auswertungen.

**H5:** Fertigstellung der Komponenten und Steuersoftware.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Chakraborty S, Singh M, Pandita R, Singh V, Lo C, Leonard F, Horikoshi N, Moros E, Guha D, Hunt C, Makhijani K, Chau E, Ahmed K, Sethi P, Charaka V, Godin B, Makhijani K, Scherthan H, Deck J, Hausmann M, Mushtaq A, Altaf M, Ramos K, Bhat K, Taneja N, Das C, Pandita T (2022): Heat-induced SIRT1-mediated H4K16ac deacetylation impairs resection and SMARCAD1 recruitment to double strand breaks. *iScience* 25, 104142. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104142>

Vortrag (Arbeitskreis Strahlenbiologie des Fachverbandes Strahlenschutz, online), M. Hausmann: „Strahleninduzierte DNA Schäden und eine Schadensantwort des komplexen Systems Zellkern als Ganzes“

Vortrag (COST Symposium, online), M. Hausmann: „The nano-architecture of chromatin and DNA repair protein clusters in the cell nucleus after ionizing radiation attacks: a comparison of cancer and non-cancer cell“

Vortrag (1st Annual MultiChem Conference (MultiChem 2022), Boppard), M. Hausmann: „Irradiation and biochemistry driven (re)organization of membrane receptors and cell nucleus chromatin domains“

Vortrag (International Symposium Riga), M. Hausmann: „From Schrödinger’s cat to his chromosomal aperiodic crystal and what an irradiated cell nucleus “thinks” about it“

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 058B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 244.868,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> 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 ( $\gamma$ 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

Vom Verbundpartner Jülich wurden Jurkat Zell-Präparate mit Inkorporation des Radionuklids  $^{125}\text{IUdR}$  und nicht radioaktiver IUdR Markierung (als Kontrollen) in früher und später S-Phase

zur Verfügung gestellt. Die Zellen waren zur Schadens-Anreicherung in der nächsten G1-Phase eingefroren worden und Aliquots wurden für die TEM Analysen zu verschiedenen Zeitpunkten (5 min; 30 min; 1 h; 5 h) fixiert. Anschließend wurden die Zellpräparate für die TEM Analysen methodengerecht eingebettet, am Ultramikrotom sektioniert, durch Immunogold-Färbungen erfolgte die Markierung der DNA-Reparaturfaktoren pKu70,  $\gamma$ H2AX und 53BP1, und anschließend die eigentliche Analyse am Elektronen-Mikroskop. Die TEM-Ergebnisse der  $^{125}\text{IUdR}$  markierten Zellen zeigten, dass zu den frühen Zeitpunkten (5 und 30 Minuten nach dem Auftauen) nur sehr wenige Schäden nachweisbar waren. Diese Beobachtung wurde dahingehend interpretiert, dass die vormalig eingefrorenen Zellen im Rahmen ihrer Erwärmung zunächst ihre normalen physiologischen Prozesse wiederaufnehmen müssen; dementsprechend erfordert die effektive Schadendetektion zunächst etwas Zeit, um die DNA-Reparaturfaktoren an den Schadensort zu rekrutieren. Das maximale Schadens-Ausmaß zeigte sich 60 Minuten nach Beginn des Auftauprozesses. Das typische Schadensmuster zeigt einzelne pKu70 Beads (die noch unreparierte Brüche markieren) und einzelne 53BP1 Beads (die auch bereits reparierte Brüche anzeigen) immer in Randbereichen des Heterochromatins. Bei der  $^{125}\text{IUdR}$  Inkorporation in der späten S-Phase (versus frühe S-Phase) zeigten die Zellen deutlich mehr DNA Schäden. Um das Schadenslevel nach  $^{125}\text{IUdR}$  Inkorporation in der frühen versus späten S-Phase zu quantifizieren, wurde mit der HALO Software von IndicaLabs™ die automatisierte Analyse der TEM Bilder etabliert. In den Immunogold-markierten Mikrographen wurden 25 Zellkern-Anschnitte für jede Probe ausgewählt. Nach Abgrenzung des Zellkerns wurden die Zellkernflächen automatisiert bestimmt. In diesen Zellkern-Anschnitten wurden repräsentative Bildbereiche für die automatisierte Detektion der Immunogold-Partikel ausgewählt. Nach entsprechender Kontrasterhöhung erfolgte die automatisierte Detektion der Immunogold-Partikel durch eine mehrstufige Schwellenwert-Bildung sowie durch Größe und Zirkularität. Durch diese automatisierte Detektion konnten ca. 97 % der Immunogold-Partikel zuverlässig detektiert werden. Die Analysen umfassten das Registrieren von Partikelorten sowie das manuelle Definieren von Zellkompartimenten, gefolgt von einer Berechnung der Goldpartikeldichten pro Fläche. Zusätzlich wurde die Abstandsverteilung von Goldpartikeln untereinander durch das HALO *spatial analysis module* analysiert, um die Cluster-Bildung quantitativ vergleichen zu können. Die quantitative Auswertung zeigte signifikant höhere Werte bei einer  $^{125}\text{IUdR}$  Inkorporation in der späten S-Phase, und zwar sowohl hinsichtlich Dichte als auch Cluster-Bildung. Wir vermuten, dass bei der Zerfalls-Akkumulation im Heterochromatin ( $^{125}\text{IUdR}$  Inkorporation in der späten S-Phase) die Auger-Elektronen trotz relativ geringer Reichweite deutlich mehr DNA Schäden aufgrund der höheren Chromatindichte induzieren können.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Markierung von weiteren DNA-Schadensmarkern des nicht-homologen End-Joinings (NHEJ) sowie der homologen Reparatur sollen in der G2/M-Phase etabliert und die TEM-Auswertungen sollen entsprechend fortgesetzt werden. Die Ergebnisse sollen zu Publikationsmanuskripten zusammengefasst werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Nuclear Fragility in Radiation-Induced Senescence: Blebs and Tubes Visualized by 3D Electron Microscopy. Freyter BM, Abd Al-Razaq MA, Isermann A, Dietz A, Azimzadeh O, Hekking L, Gomolka M, Rube CE. *Cells*. 2022 Jan 13;11(2):273. doi: 10.3390/cells11020273. *Cells*. 2022. PMID: 35053389

Role of histone variant H2A.J in fine-tuning chromatin organization for the establishment of ionizing radiation-induced senescence. Abd Al-razaq MA, Freyter BM, Isermann A, Tewary G, Mangelinck A, Mann C, Rube CE. *Clin Cancer Res* 2022, *under review*

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhem-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 058C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> 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		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2020 bis 30.09.2023		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 255.775,18 EUR		<b>Projektleiter:</b> 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 ferneren 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 ( $\gamma$ 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

Zu K1.1: Es wurden, gemäß Absprachen zwischen den Projektteilnehmern, zusätzliche Antikörper-Co-Färbungen für  $\gamma$ H2AX/Mre11,  $\gamma$ H2AX/H3K9me3, 53BP1/Mre11 und  $\gamma$ H2AX/53BP1 erfolgreich etabliert und optimiert. Des Weiteren wurden in synchronisierten Zellkulturen Experimente mit  $^{125}\text{I}$ -UdR-Markierung in der frühen bzw. späten S-Zellzyklusphase mit anschließenden Einlaufen in die G1-Zellzyklusphase durchgeführt und die Zellen zur Akkumulation von Zerfällen eingefroren. Parallel dazu wurden synchronisierte Zellen in der G1-Zellzyklusphase auf Eis bestrahlt ( $^{137}\text{Cs}$ , Gammastrahlung). Nach Zerfallsakkumulation bzw. Bestrahlung wurden diese Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Auftauen bzw. Bestrahlung für die Fluoreszenzmikroskopie fixiert, Antikörper-Co-Färbungen für  $\gamma$ H2AX/Mre11 sowie 53BP1/H3K9me3 durchgeführt und dem Kooperationspartner Heidelberg zu weiteren Analysen zur Verfügung gestellt. Darüber hinaus wurden synchronisierte Zellen, die auf Eis in der G2/M-Zellzyklusphase gamma-bestrahlt wurden, zu verschiedenen Zeitpunkten nach Strahlenexposition fixiert und mit Antikörpern gegen  $\gamma$ H2AX/Mre11, 53BP1/H3K9me3 und  $\gamma$ H2AX/H3K9me3 co-gefärbt.

Zu K2: Synchronisierte Zellen wurden in der G2/M-Zellzyklusphase bzw. in der darauffolgenden G1-Zellzyklusphase auf Eis gamma-bestrahlt, zu definierten Zeiten fixiert und mit  $\gamma$ -H2AX Antikörpern immungefärbt und analysiert.

Die Durchflusszytometrieanalyse zeigte, dass 53 % bzw. 74 % der G2/M-Zellen 1 h nach 3 Gy bzw. 10 Gy Gamma-Bestrahlung ein starkes  $\gamma$ H2AX-positives Signal aufwiesen. Bei G1-Zellen zeigten 79 % bzw. 83 % der Zellen ein starkes  $\gamma$ H2AX-positives Signal 1 h nach 2 Gy bzw. 10 Gy Gamma-Bestrahlung. Beim Vergleich der Dot-Plots, die neben der  $\gamma$ -H2AX Signalintensität auch den DNA Gehalt anzeigen, zeigte sich, dass nach Bestrahlung die Zunahme der  $\gamma$ -H2AX Signalintensität in G1-Zellen wesentlich stärker ausgeprägt war, als dies in G2/M-Zellen zu beobachten war, obwohl, gemäß Poisson-Verteilung, in G2/M-Zellen mehr strahleninduzierte DSB als in G1-Zellen auftreten sollten, da in G2/M-Zellen der DNA-Gehalt höher (4 N) ist. Während die Medianwerte der  $\gamma$ H2AX Signalintensität in G1-Zellen 1 h nach 2 Gy bzw. 10 Gy Gamma-Bestrahlung 2,3- bzw. 4,2-fach gegenüber der Kontrolle erhöht waren, zeigten G2/M-Zellen nur eine 1,8 bzw. 2,6-fache Erhöhung nach 3 Gy bzw. 10 Gy Gamma-Bestrahlung. Der stärkere Anstieg der  $\gamma$ -H2AX Intensität in bestrahlten G1-Zellen gegenüber bestrahlten G2/M-Zellen könnte durch größere und/oder signalstärkere  $\gamma$ -H2AX Foci in bestrahlten G1-Zellen verursacht sein. Dies soll im weiteren Verlauf des Projektes über hochauflösende Mikroskopie abgeklärt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Für den Kooperationspartner Heidelberg werden bereits fixierte gamma-bestrahlte G1- bzw. G2/M-Zellen sowie  $^{125}\text{I}$ -exponierte G1-Zellen mit Antikörper-Co-Färbungen für  $\gamma$ H2AX/H3K9me3, 53BP1/Mre11 und  $\gamma$ H2AX/53BP1 präpariert und versendet. Bereits strahlenexponierte G2/M- sowie Trockeneis gamma-bestrahlte G1-Zellen werden fixiert und immungefärbt.

Des Weiteren werden die quantitativen Foci-Analysen für die verschiedenen Bestrahlungsszenarien fortgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 061A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 897.237,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Selmansberger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete Ziel dieses Verbundprojekts ist die Identifizierung von zellulären Stoffwechselprozessen, die mit der Strahlenantwort und dem therapeutischen Ansprechen bei Strahlentherapie von Kopf-Hals-Tumoren verknüpft sind sowie die Identifizierung von Biomarkern, die eine Stratifizierung von Patienten für eine personalisierte Therapie erlauben. Es sollen potentielle Zielstrukturen und Wirkstoffe identifiziert, die eine Modulation der Strahlenantwort durch Beeinflussung von metabolischen Prozessen erlauben und zu einer Verbesserung der Tumorthherapie führen. Hierzu werden Daten auf Metabolit- und Transkript-Ebene, von klinischen Proben sowie *in vitro* und *in vivo* Modellen generiert und analysiert. Im Verbundprojekt METABOLiST, bestehend aus 3 Partner (HMGU, LMU München und IFZ Essen) werden Vorarbeiten und Daten aus dem BMBF-geförderten Projekt ZiSStrans aufgegriffen und neu generierte Daten und Erkenntnisse zwischen den Projekten ausgetauscht. Weitere Ziele sind die Förderung von wissenschaftlichem Nachwuchs und die Integration von Systembiologie und metabolischer Forschung in die Strahlenforschung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In AP1 sollen aus existierenden und neu generierten Transkriptomdaten veränderte Stoffwechselwege in Abhängigkeit von der therapeutischen Strahlenantwort identifiziert werden. Die Verknüpfung mit Metabolitdaten (MALDI-MSI, ICR-MS) derselben Patienten soll zu einem integrierten Transkriptom-Metabolit-Netzwerk (Gen-Metabolit-Netzwerk) führen und die Identifikation von Zielstrukturen zur Modulation der Strahlenantwort ermöglichen. Integration von Metabolit- und Transkriptomdaten, generiert aus *in vitro*, *in vivo* und klinischen Proben.

In AP4 soll eine umfassende Tiefen-Charakterisierung der Metabolome aus den Patientenproben (Tumor- und Normalgewebe, Serum, Speichel) gewonnen werden. Auf Basis der daraus resultierenden Daten sollen sowohl veränderte Stoffwechselwege in ihrer Gesamtheit als auch einzelne Markermoleküle zur Patientenstratifizierung im Hinblick auf die Therapieantwort erarbeitet werden. Metabolische Marker sollen daraufhin in Serumproben gezielt verfolgt und validiert werden. Ziel ist die Erarbeitung von systemisch zirkulierenden Biomarkern, die eine individuelle Vorhersage der Strahlenantwort erlauben. Des Weiteren werden in AP4 zeitaufgelöste Metabolitenprofile der *In-vitro*- und *In-vivo*-Modelle erstellt und mit Daten der anderen Arbeitspakete integriert.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

**AP1:** Das Vorliegen distinkter metabolischer Subtypen (MPS) in HNSCC, basierend auf Aktivitäten metabolischer Signalwege ermittelt aus Genexpressionsdaten, konnte in eigenen klinischen Kollektiven sowie TCGA bestätigt werden. Ein eigenes klinisches Kollektiv konnte im Berichtszeitraum durch neu generierte RNAseq Daten (n=60) substantiell erweitert und in die Analysen einbezogen werden. Funktionelle Charakterisierungen der MPS zeigen kollektivübergreifend konsistente Ergebnisse. Die Tumorzell-Spezifität der MPS-Profile konnte durch Assoziation mit single-cell RNAseq Daten gezeigt werden. Die klinische Relevanz der MPS konnte mittels multi-variabler Cox-PH-Modellierung gezeigt werden. Im Zuge der Etablierung eines neuen klinischen HNSCC Kollektivs mit weiteren 64 Patienten, wurden Kryoschnitte von Tumor- und Normalgewebe aus der Klinik erstellt und eine histo-pathologische Analyse durchgeführt, mit dem Ziel RNAseq Daten und massenspektrometrische Daten zu erheben. In einem weiteren Teilprojekt wurde die Stratifikation von Patientenkollektiven mittels therapieassoziiertes 5-miRNA Signatur und Netzwerkintegration von miRNA sowie mRNA Expressionsdaten für die weitere Identifizierung von deregulierten Netzwerkmodulen umgesetzt.

**AP4:** Metabolome von Gewebeschnitten wurden zu verschiedenen Extraktionsverdünnungen analysiert, um ein Referenzmetabolom für MALDI-MSI Daten zu generieren. Ein Kompendium von 6402 Summenformel-annotierten Metabolit-Signalen konnte erstellt werden. Ein Programm zur Übertragung von MALDI-MSI Signal-Intensitäten auf das Referenzmetabolom wurde geschrieben und auf 600 MALDI-MSI Spektren von 30 Gewebeschnitten angewandt. Gewebeschnitte wurden in 300 Tumorzell-enthaltende „regions of interest“ (ROI) und 300 nonROIs ohne Tumorzellen aufgeteilt. Der niedrigen Massenauflösung der MALDI-MSI Daten und ihrer damit einhergehenden schlechten Annotierbarkeit, konnte durch deren Projektion auf FT-ICR MS Daten mit sehr hoher Auflösung und Genauigkeit begegnet werden. Ein Partial-Least-Squares Modell zur Klassifizierung von ROI und nonROI Regionen konnte generiert und einzelne Moleküle und Annotationen nach Wichtigkeit sortiert werden. Ein Protokoll für eine in der Klinik einfach durchzuführende Speichelprobenentnahme und eine analytisch störungsfreie Analyse wurde in enger Absprache mit den Klinikern der LMU (AP3) definiert und wird derzeit validiert. Proben werden derzeit von Prof. Baumeister gesammelt und sukzessive analysiert. Die Präsenz von peroxidierten Lipidstrukturen konnte in CD44v6 Knockout Zellen gezeigt werden, welche sich wiederum auf ferroptotische Zellprozesse zurückführen lässt. Eine entsprechende Publikation von allen Partnern unter Leitung der LMU wird gegenwärtig angefertigt.

Sonstiges:

Das halbjährliche Treffen des Verbunds fand virtuell am 24.03.2022 statt. Zusätzlich wurden verschiedene abstimmende Videokonferenzen abgehalten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet.

**AP1:** Weitere funktionelle Charakterisierung der MPS und Einbezug von vorliegenden Primär- und Rezidiv-Tumor Daten aus ZiSstrans.

Vervollständigung des Manuskripts zum MPS-Projekt und Publikation. Klassifikation der vorliegenden Zelllinien in metabolische Subtypen, als Vorbereitung für *in vitro/in vivo* Analysen (AP1, AP2, AP3).

Massenspektrometrische Charakterisierung der MPS anhand des neuen klinischen Frischgewebekollektivs (AP4).

**AP4:** Die Selektion geeigneter HNSCC Zelllinien und die Definition der korrespondierenden Bestrahlungsexperimente müssen auf Basis der gegenwärtigen Ergebnisse beschlossen werden. Die Metabolom-Analysen der Zelllinien-spezifischen Strahlenantworten sind durchzuführen. Die Eignung des gewählten Protokolls für die Speichelsammlung vor OP wird zeitnah geprüft.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 1, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 061B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 610.514,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Matschke	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete Ziel dieses Verbundprojekts ist die Identifizierung von Stoffwechselprozessen, die die zelluläre Strahlenantwort und das Therapieansprechen in Tumorgewebe von Kopf-Hals Tumoren beeinflussen. Stratifizierung von Patienten mittels metabolischer Marker und Modulation der Strahlenantwort durch Perturbation von metabolischen Zielstrukturen *in vitro* und *in vivo*. Etablierung eines prospektiven klinischen Kollektivs mit Gewebe-, Blut- und Speichelproben. Im Verbundprojekt METABOLiST, bestehend aus 3 Partner (HMGU, LMU München und IFZ Essen) werden Vorarbeiten und Daten aus dem BMBF-geförderten Projekt ZiSStrans aufgegriffen und neu generierte Daten und Erkenntnisse zwischen den Projekten ausgetauscht. Dabei soll der wissenschaftliche Nachwuchs gefördert und die Systembiologie und metabolische Forschung in die Strahlenforschung integriert werden.

Im Teilprojekt AP2 sollen metabolische Anpassungsreaktionen von Tumor- und Normalgewebszellen nach Exposition gegenüber ionisierender Strahlung *in vitro* in Echtzeit systematisch charakterisiert werden. Außerdem soll die funktionelle Relevanz der für die Radiosensitivität als kritisch identifizierten Gen/Metabolit-Netzwerke überprüft und die Eignung identifizierter metabolischer Engpässe als Target für die therapeutische Modulation der Radiosensitivität validiert werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In AP2 sollen die basalen als auch die Zeit- und Strahlendosis-abhängigen systemischen metabolischen Veränderungen von Tumor- und Normalgewebszellen und wichtige Parameter des Energie-Metabolismus und der Redox-Homöostase mittels Seahorse XFe96 Bioanalyzers identifiziert werden. Die funktionelle Validierung der in AP1 identifizierten und mit der Strahlenantwort assoziierten Stoffwechselwege soll durch Perturbation mit geeigneten Wirkstoffen in Kombination mit Bestrahlung durchgeführt werden. Die identifizierten potenziellen therapeutischen Zielstrukturen zur Modulation der Strahlenwirkung sollen durch definierte Wirkstoffe mit Hilfe von radiobiologischen Testverfahren in Zellkulturmodellen validiert werden. Die verfeinerte Charakterisierung und Validierung der, durch die Datenintegration mit AP1, AP4 und AP3, identifizierten metabolischen Veränderungen werden durchgeführt. Dabei ist das Ziel besonders die metabolischen Anpassungsreaktionen zu identifizieren, die zu einer Reduktion der reproduktiven Überlebensfähigkeit der Zellen führen und nicht nur die Zellproliferation beeinflussen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Die systematische Charakterisierung der Zeitaufgelösten Strahleninduzierten metabolischen Veränderungen mittels Seahorse XFe96 Bioanalyzers ist für 6 von 14 Zelllinien abgeschlossen. Zusätzlich beginnen erste Experimente, um die beobachtete metabolische Strahlenantwort der HNSCC Zelllinien durch potentiellen Wirkstoffe zu modulieren und somit deren Einfluss auf das Langzeitüberleben der HNSCC Zelllinien zu bestimmen.

Im Verbund METABOLiST wird die, im ZiSStrans als einer von 3 HNSCC-Patientenproben mit jeweils 5 Subklonen radiobiologisch charakterisierte HNSCC-Patientenprobe mit einem metabolischen Resistenz-Phänotyp, einer systematischen metabolischen Untersuchung *in vitro* unterzogen. Die Analyse von zeitaufgelösten Strahleninduzierten metabolischen Veränderungen dauert für 3 von 5 Subklonen momentan noch an.

Als eine weitere Brücke zum Verbundprojekt ZiSStrans werden *in vitro* Daten zum Einfluss einer Perturbation des Komplex-I der Atmungskette durch Metformin auf die Radiosensitivität der HNSCC Zelllinien generiert. Hier wurde eine Zeitaufgelöste Analyse von Strahleninduzierten systemischen metabolischen Veränderungen mittels Seahorse XFe96 Bioanalyzers durchgeführt. Die Auswertung der generierten Daten ist abgeschlossen und die Proben für die Genexpressionsanalysen mittels RNASeq (für AP1) und Massenspektrometrie-Untersuchungen mittels LC/MS (für AP4) werden schnellstmöglich an die Projektpartner für die Analyse übergeben.

Das halbjährliche Treffen des Verbundes METABOLiST fand virtuell am 24.03.2022 statt.

Vom Partner IFZ Essen nahmen J. Matschke und K. Eul teil.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

J. Matschke: Eingeladener Vortrag im Rahmen eines Partikeltherapeutischen Kolloquiums des Westdeutschen Protonentherapiecenters Essen (WPE) am 03.03.22; Titel: Metabolic dependencies as a molecular target to overcome radioresistance

J. Matschke: Eingeladener Vortrag auf der Jahrestagung der ESTRO am 08.05.22; Titel: Crosstalk of radiotherapy-induced mitochondrial impairment and resulting metabolic reprogramming impact DNA DSB repair capacity

#### Publikationen:

Goetting I., Larafa S., Eul K., Kunin M., Jakob B., Matschke J. and Jendrossek V.: Targeting AKT-Dependent Regulation of Antioxidant Defense Sensitizes AKT-E17K Expressing Cancer Cells to Ionizing Radiation. *Front. Oncol.* 2022, 12:920017. doi: 10.3389/fonc.2022.920017

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum der Universität München, Marchionenstr. 15, 81377 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 061C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2021 bis 31.12.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 454.653,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Lauber	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete Ziel dieses Verbundprojekts ist die Identifizierung von zellulären Stoffwechselprozessen, die mit der Strahlenantwort und dem therapeutischen Ansprechen bei Strahlentherapie von Kopf-Hals-Tumoren verknüpft sind sowie die Identifizierung von Biomarkern, die eine Stratifizierung von Patienten für eine personalisierte Therapie erlauben. Es sollen potentielle Zielstrukturen und Wirkstoffe identifiziert, die eine Modulation der Strahlenantwort durch Beeinflussung von metabolischen Prozessen erlauben und zu einer Verbesserung der Tumorthherapie führen. Hierzu werden Daten auf Metabolit- und Transkript-Ebene, von klinischen Proben sowie von In-vitro- und In-vivo-Modellen generiert und analysiert. Im Verbundprojekt METABOLiST, bestehend aus drei Partnern (HMGU, LMU Klinikum und IFZ Essen) werden Vorarbeiten und Daten aus dem BMBF-geförderten Projekt ZiSStrans (02NUK047) aufgegriffen und neu generierte Daten und Erkenntnisse zwischen den Projekten ausgetauscht. Übergeordnete Ziele sind die Förderung von wissenschaftlichem Nachwuchs und die Integration von Systembiologie und metabolischer Forschung in die Strahlenforschung.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Der Projektpartner LMU Klinikum verantwortet die Bearbeitung von AP3: Charakterisierung der Bedeutung distinkter Stoffwechselwege für den Radiotherapie-Erfolg in präklinischen Mausmodellen und Sammlung klinischer Proben

Folgende Ziele und Arbeitspakete wurden im Projektantrag formuliert:

- Untersuchung der Bedeutung distinkter Stoffwechselwege für den Radiotherapieerfolg in präklinischen Mausmodellen anhand von Kombinationstherapie-Ansätzen
- Entwicklung optimierte Parameter für die standardisierte Sammlung klinischer Proben
- Sammlung klinischer Proben mit optimierten Parametern

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Mit dem Ziel der Untersuchung der Abhängigkeit der Strahlenresistenz vom metabolischen Status von HNSCC-Zellen wurde ein im ZiSStrans-Verbund (02NUK047) generiertes Zellsystem – ein radioresistenter Subklon der HNSCC-Zelllinie Cal33 – ausgewählt. Dieser Subklon wurde über mehrere Wochen schrittweise an standardisierte Wachstumsbedingungen in einem Zielmedium mit von niedermolekularen Metaboliten freien Kälberserum adaptiert. Dabei wurden exakt definierte Konzentrationen der für den Energiemetabolismus essentiellen Schlüsselfaktoren Glucose,

L-Alanyl-L-Glutamin und Pyruvat gewählt. Derzeit läuft die initiale Charakterisierung des klonogenen Überlebens der Zellen in Abhängigkeit der Konzentrationen dieser drei Metabolite. Hierfür wurde das Limiting-Dilution-Assay-Format gewählt. Sofern sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Verfügbarkeit der drei Schlüsselmetabolite und der Strahlenresistenz erkennen lässt, wird mit diesem Assay-Format eine umfangreiche Matrix aus Radioresistenzwerten in Abhängigkeit der Konzentration der drei Metabolite erstellt und dieser Datensatz anschließend mit OMICS-Datensätzen (vorrangig RNA-Expressionsmuster) korreliert werden.

Aufbauend auf den beiden in Kooperation mit dem ZiSStrans (02NUK047)-Verbund veröffentlichten Manuskripten zur Robustheit der Plattierungseffizienz-basierten Auswertung von Klonogenitätsdaten ist die Datenerhebung für ein weiteres darauf aufbauendes methodisches Manuskript abgeschlossen. Hierbei werden die Erkenntnisse zum Koloniebildungstest aus den genannten Publikationen auf das Limiting-Dilution-Assay-Format übertragen, in Kooperation mit dem Partner HMGU in dessen mathematische Analyse integriert und zudem die Anwendbarkeit des Limiting Dilution Assays für Hochdurchsatzanalysen der Radioresistenz und auch für Komplexe Zellkulturmodelle wie HNSCC-Organoiden demonstriert. Die entsprechende Publikation befindet sich in Vorbereitung.

Eine weitere Schnittstelle zum ZiSStrans-Verbund (02NUK047) ließ sich über die metabolischen und lipidomischen Implikationen der Expression eines Stammzelloberflächen-Rezeptors in HNSCC-Modellen identifizieren. Die Auswertungen der hochauflösenden Massenspektrometrie-Untersuchungen (12T-FT/ICR-MS-Spektren) und LC/MS-Lipidom-Analysen aus Zellkulturproben +/- Rezeptor-Knockdown und +/- Bestrahlung werden aktuell vom Partner HMGU finalisiert. Der Tierversuchsantrag für die geplanten In-vivo-Experimente wurde von der prüfenden Behörde bewilligt, so dass nun tierexperimentelle Arbeiten zur Überprüfung in vitro erhobener Hypothesen möglich sind. Da im vollumfänglich bewilligten Antrag diverse verschiedene orthotope HNSCC-Modelle berücksichtigt wurden, sind für geplante In-vivo-Experimente Querverbindungen zu Fragestellungen aus dem ZiSStrans-Verbund (02NUK047) geplant.

Die Sammlung klinischer Proben findet – wie im Projektantrag beschrieben – im Rahmen der klinischen Kooperationsgruppe "Personalisierte Radiotherapie von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region" statt.

Sonstiges:

Das halbjährliche Treffen des Verbunds fand virtuell am 24.03.2022 statt. Zusätzlich wurden verschiedene abstimmende Videokonferenzen abgehalten. Für den Partner LMU Klinikum nahmen jeweils Nikko Brix (PostDoc) und Prof. Dr. Kirsten Lauber (Projektleiterin) teil.

#### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Die bisherige Verzögerung des Projektvorhabens beim Projektpartner LMU Klinikum liegt bei 4 Monaten und wurde bereits berichtet.

#### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Kongressbeiträge:

Analysis of clonogenic survival after irradiation in vitro: Improved evaluation algorithms of the colony formation test and limiting dilution setups for more robust scoring. Brix N, Gehr K, Samaga D, Shouman M, Hennel R, Belka C, Zitzelsberger H, Lauber K.; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE (2022) 198, S159-S159; DEGRO Jahrestagung 2022 in Stuttgart

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 064A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovasculatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2021 bis 31.01.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.182.531,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Sievert	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In diesem Verbundprojekt sollen akute und chronische, lokale und abkopale Strahlenschäden an Endothelzellen und Perizyten aus gesunden und malignen Geweben systematisch untersucht werden und mit Effekten auf das Immunsystem korreliert werden. Im vorliegenden Teilprojekt sollen Endothelzellen und Perizyten aus dem Herzen, Gehirn und Glioblastom nach Bestrahlung (Einzeldosen: 0, 8, 16 Gy, fraktionierte Dosen: 0, 4 x 2, 8 x 2 Gy) vergleichend analysiert werden. Vorarbeiten aus dem vorangegangenen Verbundprojekt weisen darauf hin, dass ionisierende Strahlen eine chronische Inflammation am Herz-Endothel auslösen, die u. a. über PPAR alpha reguliert wird. Zudem reagieren Endothelzellen und Perizyten aus langsam/nicht proliferierenden gesunden und proliferierenden Tumor-Geweben auf ionisierende Strahlung unterschiedlich. Daher sollen im aktuellen Forschungsvorhaben die Wirkungen von PPAR alpha regulierende anti-inflammatorische und anti-tumorale Substanzen wie Fenofibrat und Cannabidiol untersucht werden. Dabei werden Endothelzellen und Perizyten aus gesunden langsam/nicht proliferierenden Geweben (Herz, Gehirn) und malignen proliferierenden Geweben (Glioblastom) der Maus nach *in vivo* Bestrahlung isoliert und vergleichend analysiert (Dr. Sievert). Zudem sollen die neurophysiologische Vitalität und Funktionalität an Hirnschnittpräparaten des Hippocampus von Mäusen nach der Bestrahlung und potentiell kompensatorische Effekte von Fenofibrat und Cannabidiol untersucht werden (Prof. Rammes). Neben der Regulation von PPAR alpha und des Fettstoffwechsels liegt der Fokus auf der Untersuchung von Inflammations-, Adhäsions-, Proliferation und Apoptose-Parametern. Ziel des Vorhabens ist es, Normalgewebs-Endothelzellen und Perizyten optimal vor unerwünschten Nebenwirkungen einer Bestrahlung zu schützen und Tumoren-Endothelzellen gegenüber ionisierender Bestrahlung zu sensibilisieren.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Arbeitspakete 1-6: Strahlentherapie (Dr. Sievert), Arbeitspakete 7-10: Anästhesiologie (Prof. Rammes)

- AP1: Optimierung der Wirkung von Fenofibrat und Cannabidiol auf Endothelzellen und Perizyten nach unterschiedlichen Strahlendosen (Einzeldosis, fraktionierte Dosen) *in vitro*.
- AP2: Vergleichende Analysen der Strahlensensitivität von isolierten Endothelzellen und Perizyten aus proliferierenden Geweben (Glioblastom) und langsam/nicht proliferierenden Geweben (Herz, Gehirn) vor und nach Fenofibrat- bzw. Cannabidiol-Behandlung *in vivo*.
- AP3: Bestimmung des Zelltodmechanismus (Apoptose, Seneszenz) von proliferierenden und langsam/nicht proliferierenden Endothelzellen und Perizyten (Glioblastom, Herz, Gehirn) sowie Tumorzellen nach Bestrahlung vor und nach Fenofibrat- bzw. Cannabidiol-Behandlung *in vivo*.
- AP4: Phänotypische Charakterisierung der Proteinexpression primärer Endothelzellen und Perizyten aus nicht bestrahlten und bestrahlten Gewebe (Herz, Gehirn, Glioblastom) vor und nach Fenofibrat- bzw. Cannabidiol-Behandlung.
- AP5: Histologische und immunhistologische Analysen an Normal- und Tumorgewebe nach Bestrahlung und funktionelle Charakterisierung (tube formation, Ausrichtung unter Flussbedingungen, Lymphozytenadhäsion) primärer Endothelzellen aus nicht bestrahlten und bestrahlten Normal- und Tumor-Gewebe vor und nach Fenofibrat bzw. Cannabidiol-Behandlung.
- AP6: Erfassung der anti-inflammatorischen und anti-tumoralen Effekte von Fenofibrat und Cannabidiol in Kombination mit ionisierender Bestrahlung und Erstellung eines Modells zu den biologischen Mechanismen der strahleninduzierten Pathogenese am Gefäßsystem von Normal- und Tumorgewebe.
- AP7: Quantifizierung der synaptischen Transmission und synaptischen Plastizität (LTP) von Mäusen nach Bestrahlung und Gabe von Fenofibrat oder Cannabidiol.
- AP8: Quantifizierung der Dichte der neuronalen Dornfortsätze (Spine Density) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis.

AP9: Bestimmung der Astrozyten-abhängigen Synapseneliminierung.

AP10: Bestimmung der Mikroglia Polarisation zur Identifizierung neuroinflammatorischer Prozesse.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Mit dem Colony formation assay wurde das Zellüberleben der Endothelzelllinie H5V gegenüber Fenofibrat und Cannabidiol bestimmt. Eine Behandlung von 25  $\mu$ M Fenofibrat bzw. 10  $\mu$ M Cannabidiol führte zu einer signifikanten Abnahme des Zellüberlebens. Aktuell werden Bestrahlungsexperimente mit und ohne Fenofibrat bzw. Cannabidiol durchgeführt, um den Effekt beider Wirkstoffe gegenüber Bestrahlung zu untersuchen (Arbeitspaket 1).

Mit der CT-bildgestützten Hochpräzisionsbestrahlungsmaschine „Small Animal Radiation Research Platform“ (SARRP) wurde das Herz von 10 Wochen alten Mäusen mit 16 Gy bestrahlt und nach 10 Wochen mittels Durchflusszytometrie untersucht (aktuell in der Analyse). Insbesondere die Expressionen von Inflammationsmarkern auf isolierten Herz-Endothelzellen werden analysiert, um das Ausmaß der strahlen-induzierten Schäden im Rahmen der akuten Inflammation zu bestimmen (Arbeitspaket 4).

Mit der SARRP-Bestrahlungsmaschine wurde die linke Hirnhälfte (40 %) von 10 Wochen alten Mäusen mit 16 Gy bestrahlt und nach 4 Wochen unterschiedlicher Behandlungen untersucht. Das LTP Signal (Langzeitpotenzierung) im linken Hippocampus (wichtige Region für Lern- und Gedächtnis-Leistung) wurde separat nach sham (0 Gy) oder 16 Gy Bestrahlung, nach sham Bestrahlung und täglicher Behandlung der Trägersubstanz oder Cannabidiol sowie nach 16 Gy Bestrahlung und täglicher Behandlung mit Cannabidiol analysiert. Eine über 4 Wochen anhaltende tägliche Behandlung der Trägersubstanz (Saline/DMSO/Tween) oder der Cannabidiol-Lösung zeigten im Vergleich zu den sham bestrahlten Kontrollen eine unveränderte LTP Induzierbarkeit. Weder die Trägersubstanz noch Cannabidiol beeinflussen in den verwendeten Dosen das LTP Signal. Im Vergleich zu den sham bestrahlten Kontrollen konnten wir eine signifikante Reduzierung von LTP im 16 Gy bestrahlten Hippocampus nachweisen. Eine tägliche Behandlung der 16 Gy bestrahlten Mäusen mit Cannabidiol über 4 Wochen zeigte eine vollständige Kompensierung der strahlen-induzierten LTP Reduzierung (Arbeitspaket 7). Des Weiteren wurden (noch nicht abschließend) von den verschiedenen Behandlungsgruppen (sham, 16 Gy, sham + Trägersubstanz, sham + Cannabidiol, 16 Gy + Cannabidiol) weitere Analysen durchgeführt wie spine density (Dichte der neuronalen Dornfortsätze), Astrozyten-abhängige Synapseneliminierung (Rückbildung von Synapsen) und Mikroglia Polarisation (Geweberemparatur), um die Ursache der LTP Reduzierung und die Veränderungen der neuronalen Plastizität nach 16 Gy Bestrahlung bzw. deren Kompensation nach Cannabidiol Behandlung zu untersuchen (Arbeitspaket 8, 9, 10). Zudem werden aktuell in Zusammenarbeit mit Z. Khan (Teilprojekt B) Gewebe-Schnitte vom Hippocampus der verschiedenen Behandlungsgruppen (sham, 16 Gy, sham + Cannabidiol, 16 Gy + Cannabidiol) mittels Proteomik untersucht. Durch die vergleichende Analyse aller involvierten Proteine können sich neue Zusammenhänge zur Wirkungsweise von Cannabidiol ergeben.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Bestrahlungsexperimente mit der Endothelzelllinie H5V mit und ohne Fenofibrat sollen fortgesetzt werden (Arbeitspaket 1). Zudem sollen die Analysen der 16 Gy bestrahlten Herzen abgeschlossen werden. Anschließend sollen die Effekte von Fenofibrat und Cannabidiol auf bestrahlte primäre Endothelzellen untersucht werden (Arbeitspaket 4). Die Messungen der Funktionalität (LTP) an Hirschnittpräparaten des Hippocampus sollen mit zusätzlichen Behandlungsgruppen erweitert werden. Eine Behandlungsgruppe soll aus 16 Gy Bestrahlung und täglicher Behandlung mit der Trägersubstanz bestehen, um einen möglichen kompensatorischen Einfluss der Trägersubstanz zu bestimmen. Weitere Behandlungsgruppen sollen aus 16 Gy Bestrahlung und täglicher Behandlung mit Cannabidiol in geringeren Konzentrationen bestehen, um eine mögliche konzentrationsabhängige Wirksamkeit von Cannabidiol zu bestimmen (Arbeitspaket 7). Zudem sollen die Analysen (spine density, Astrozyten-abhängige Synapseneliminierung, Mikroglia Polarisation), die die Ursache der LTP Reduzierung und die Veränderungen der neuronalen Plastizität in den verschiedenen Gruppen (sham, 16 Gy, sham + Trägersubstanz, sham + Cannabidiol, 16 Gy + Cannabidiol) untersuchen, weitergeführt werden (Arbeitspaket 8, 9, 10).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Ballmann: Compensatory effects of Cannabidiol in Hippocampal Synaptic Plasticity (Vortrag)

L. Bauer: Compensation of radiation-induced damage of endothelial cells (Vortrag)

W. Sievert: Improved overall survival of mice by reducing lung side effects after high-precision heart irradiation (Vortrag at the Fifth Conference on Precision Image-Guided Small Animal Radiotherapy, 2022)

Manuskript: Long-term increase of ICAM-1 and VCAM-1 on endothelial cells after local heart irradiation (in preparation)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 064B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2021 bis 31.01.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 739.043,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Khan	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des vorliegenden Projektes ist es, akute und chronische sowie lokale und abkopale Strahlenschäden an Endothelzellen und Perizyten aus gesunden und malignen Geweben zu untersuchen und mit Effekten auf das Immunsystem zu korrelieren. Der Schwerpunkt von dem Teilprojekt B ist es, die mögliche Schutzwirkung von Fenofibrat oder Cannabidiol, beide Agonisten von Transkriptionsfaktor PPAR alpha, vor den späten Strahlenschäden zu untersuchen. Wir werden die Proteom-Antworten von Zellen vergleichen, die aus Herz, Gehirn oder Tumor von scheinbestrahlten und lokal bestrahlten Mäusen mit oder ohne Agonist-Behandlung isoliert wurden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Optimierung der Methoden zu Proteinextraktion und Proteinausbeute.
- AP2: Vergleichende Proteom-Analyse von Endothelzellen und Perizyten aus scheinbestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft mit oder ohne Agonist-Behandlung.
- AP3: Durchführung der Bioinformatik-Analyse der Proteomik-Daten.
- AP4: Validierung der Proteomik-Daten mittels Immunblotting, Enzymaktivitätstests, gezielter Transkriptomik-Analyse und ELISA.
- AP5: Integrierung der Daten zu einem Modell über den biologischen Mechanismus der strahleninduzierten Pathogenese (zusammen mit Teilprojekt 1).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die experimentellen Arbeiten mit Tierbehandlungen (Bestrahlung und Agonisten) und die anschließende Isolierung von Herzendothelzellen, wie im Vorschlag vorgesehen, sind eine laufende Aufgabe (Teilprojekt A und B).

Die Wirksamkeit von PPAR-alpha-Regulatoren: Fenofibrat und Cannabidiol, wird in vitro an der Maus Glioblastom-Zelllinie (GL261) getestet. Die vorläufigen Ergebnisse zeigten eine Reduktion der Zellproliferation sowohl zu kurzen als auch zu langen Zeitpunkten. Darüber hinaus hemmten beide Agonisten die Zellprogression und lösten einen Zelltod-Phänotyp aus, was die Wirksamkeit der Wirkstoffkandidaten in unserem Studienmodell bestätigt. Es ist uns

auch gelungen, die Proteomik-Plattform zu optimieren, indem wir Material aus den vorangegangenen Experimenten verwendet haben, um die erforderlichen Mindestmengen zu bestimmen und die Nachbearbeitung der Proben zu minimieren. Die Proteomanalyse würde uns helfen, eine systemische Wirkung auf verschiedenen omics-Ebenen (Teilprojekt A und B) in denselben Probensätzen abzubilden.

Der Hippocampus ist eine hochgradig strahlungsempfindliche Gehirnstruktur, die an der Bildung, Organisation und Speicherung von Erinnerungen beteiligt ist. Seine kritische Rolle in der Pathogenese strahleninduzierter neurokognitiver Dysfunktionen ist gut dokumentiert [1, 2]. Die Hemmung der Neurogenese im Hippocampus von Erwachsenen nach einer Bestrahlung wirkt sich nachweislich nicht nur auf die Zellen aus, die von der Strahlungsspur durchquert werden, sondern auch auf nicht bestrahlte Nachbarzellen, eine Reaktion, die als strahleninduzierte Bystander-Effekt (RIBE) beschrieben wird [2]. Die Kommunikation zwischen bestrahlten und nicht bestrahlten Nachbarzellen, die molekulare Signale über interzelluläre Kommunikation oder durch lösliche, von bestrahlten Zellen produzierte sekretierte Faktoren beinhaltet, löst RIBE aus. Die " Out-of-Field" (abscopal) gelten als einer der Hauptmechanismen der strahleninduzierten kognitiven Dysfunktion [1]. Eines der Ziele unseres aktuellen Projekts ist die Entschlüsselung der potenziellen neuroprotektiven Wirkungen von Cannabidiol auf strahleninduzierte kognitive Toxizität. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden die linken Hemisphären von Mäusen mit 16 Gy unter Verwendung einer computertomographischen, bildgesteuerten Kleintier-Strahlenforschungsplattform (SARRP) bestrahlt. Nach einer 4-wöchigen Bestrahlung und einer täglichen Cannabidiol-Kur wurden die Hippocampi (bestrahlt und scheinbestrahlt) aller Studiengruppen isoliert, lysiert und die Gesamtproteinmengen quantifiziert (BCA-Methode). Derzeit werden die Proben für die proteomische Analyse (LC-MS/MS) aufbereitet.

Diese Studie ist Teil des Teilprojekt B, das biologische Erkenntnisse über die Erhaltung der Neurogenese im Hippocampus und die Verbesserung der durch Strahlung verursachten kognitiven Beeinträchtigung liefern soll. Die Verfügbarkeit dieser Daten würde die eingehende Charakterisierung der pharmakologischen Wirkungen von CBD auf bestrahlte Zellen und Organe ermöglichen und damit die Übertragung dieser präklinischen Studie in den klinischen Bereich beschleunigen.

#### **4. Geplante Weiterarbeiten**

In Kürze werden wir eine vergleichende proteomische Analyse von Endothelzellen und Perizyten aus scheinbestrahlten und bestrahlten Herzen mit oder ohne Fenofibrat- oder Cannabidiol-Behandlung durchführen (Material aus Teilprojekt A).

#### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Pazzaglia S, Tanno B, Antonelli F, Giardullo P, Babini G, Subedi P, Azimzadeh O, Khan ZN, Oleksenko K, Metzger F, Toerne CV, Traynor D, Medipally D, Meade AD, Kadhim M, Lyng FM, Tapio S, Saran A, Mancuso M.: Out-of-Field Hippocampus from Partial-Body Irradiated Mice Displays Changes in Multi-Omics Profile and Defects in Neurogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 20;22(8):4290. doi: 10.3390/ijms22084290. PMID: 33924260; PMCID: PMC8074756

Hei TK, Zhou H, Ivanov VN, Hong M, Lieberman HB, Brenner DJ, Amundson SA, Geard CR: Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model. *J Pharm Pharmacol.* 2008 Aug;60(8):943-50. doi: 10.1211/jpp.60.8.0001. PMID: 18644187; PMCID: PMC4410683

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Fahnenbergplatz, 79098 Freiburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 064C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikro- vaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2021 bis 31.01.2025	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 806.321,81 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Niedermann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In diesem Verbundprojekt sollen akute und chronische, lokale und abskopale Strahlenschäden an Endothelzellen und Perizyten aus gesunden und malignen Geweben systematisch untersucht werden und mit Effekten auf das Immunsystem korreliert werden. In diesem Teilprojekt werden Tumormodelle mit einem bestrahlten und einem nicht bestrahlten Tumor eingesetzt. Zunächst werden die Auswirkungen von nicht-ablativer bzw. ablativer Bestrahlung auf primäre Tumor-Endothelzellen und Tumor-Perizyten mit und ohne Immuntherapie untersucht. Neben dem Zellüberleben und anderen radiobiologischen Parametern soll der Schwerpunkt auf Untersuchungen des bestrahlungsinduzierten inflammatorischen Phänotyps liegen. Dabei sollen auch inflammatorische Effekte der Tumorbestrahlung auf Endothelzellen und Perizyten von Herz und Lunge (systemische inflammatorische Normalgewebseffekte) untersucht werden. Anschließend möchten wir die Effekte einer zusätzlichen Gabe von Fenofibrat und Cannabidiol bei alleiniger Radiotherapie und bei kombinierter Radio- Immuntherapie analysieren. Dabei sollen Dosen von Fenofibrat bzw. Cannabidiol verwendet werden, die einen Schutz von Normalgewebs-Endothelzellen verleihen, und, wenn möglich, auch einen anti-tumoralen bzw. radiosensitivierenden Effekt haben. Neben der Wirkung auf das lokale und abskopale Tumorwachstum sollen dann wieder die radiobiologischen Effekte auf Tumor- und Normalgewebsendothelien sowie deren Inflammationsstatus untersucht werden. Ziel dieses Teilprojektes ist es, neben der potenziell protektiven Wirkung der PPAR alpha regulierenden Substanzen auf die Mikrovasculatur von Normalgeweben auch deren Einfluss auf Tumorendothelien und auf die anti-tumoralen Effekte kombinierter Strahlen-/Immuntherapien zu untersuchen. Aufgrund der bekannten anti-tumoralen und strahlensensitivierenden Wirkung dieser Substanzen erwarten wir neben einer Abmilderung der Strahlenschäden an Normalendothelien auch eine bessere Wirksamkeit kombinierter Strahlen- und Immuntherapien.

Zusammenarbeit mit Klinik für Radioonkologie, Klinikum rechts der Isar (TU München) Dr. Sievert (02NUK064A) und mit HMGU Institut für Strahlenbiologie Dr. Tapio (02NUK064B). Folgevorhaben von 02NUK038 „Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe.“

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Tumorbestrahlung (ablativ bzw. nicht-ablativ) +/- Immuntherapie sowie Isolierung von Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz.
- Erfassung direkter und indirekter genotoxischer Effekte auf Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz.
- Phänotyp- und Proteom-Analysen (Inflammationsstatus) von Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz.
- Erfassung antitumoraler Effekte nach Tumorbestrahlung +/- Immuntherapie +/- Fenofibrat oder Cannabidiol.
- Radiobiologische Analysen nach Tumorbestrahlung +/- Immuntherapie +/- Fenofibrat oder Cannabidiol.

- Phänotyp- und Proteom-Analysen vor allen Dingen zur Charakterisierung des Inflammationsstatus von Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz nach Tumorbestrahlung +/- Immuntherapie +/- Fenofibrat oder Cannabidiol.
- Funktionelle Analyse von Endothelzellen unter physiologischen Fluss/Scherstressbedingungen nach Tumorbestrahlung +/- Immuntherapie +/- Fenofibrat oder Cannabidiol.
- Erstellung eines Modells zu den biologischen Mechanismen der strahlen-induzierten Pathogenese an der Mikrovaskulatur mit und ohne Fenofibrat oder Cannabidiol zusammen mit den anderen Teilprojekten.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Protokolle mit geeigneten Settings für die Analyse von isolierten Endothelzellen und Perizyten mittels Mehrfarbendurchflusszytometrie wurden verbessert, so dass eine erhöhte Anzahl an Oberflächen- und anderen zellulären Markern bei geringerer Zellzahl analysiert werden kann (Arbeitspaket 1). Wir haben gerade ein hochmodernes „second generation“ Spektraldurchflusszytometer (Cytek Aurora) kompetitiv erworben, das uns noch detailliertere Analysen erlauben wird. Wir haben kombinierte Radio/Immuntherapien in syngenem Mausmodellen etabliert, für die anti-tumorale Effekte durch Fenofibrat und Cannabidiol beschrieben worden sind. Verwendet wurden dabei nicht-ablative und ablative hypofraktionierte Bestrahlung mit 3 x 8 Gy und 1 x 20 Gy, sondern wir haben auch damit begonnen, andere Dosis/Fraktionierungsschemata zu untersuchen. Dabei sind insbesondere relativ niedrig dosierte Schemata hervorzuheben, die in letzter Zeit in der Radioonkologie immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses gerückt sind.

Die Isolierung von Tumor-Endothelzellen, Tumor-Perizyten und malignen Tumorzellen aus bestrahlten und nicht bestrahlten Tumoren wurde verbessert. Wir haben strahleninduzierte inflammatorische Veränderungen der Proteinexpression bei den isolierten Zellen mittels FACS bestimmt. Daneben wurde damit begonnen, DNA-Doppelstrangbrüche zu analysieren. Ein besonderer Schwerpunkt lag auf der Analyse der Aktivierung des inflammatorischen cGAS/STING/Interferon-Wegs infolge RT-induzierter DNA-Schädigung. Des Weiteren haben wir daran gearbeitet, die Isolierung von Endothelzellen und Perizyten aus dem Herzen zu verbessern.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Halbjahr möchten wir die Untersuchungen zur Erfassung strahleninduzierter inflammatorischer Veränderungen an Endothelzellen und Perizyten aus bestrahlten und nicht bestrahlten Tumoren sowie dem Herzen fortsetzen. Experimente zur Strahlensensitivität von Tumor-Endothelzellen, Tumor-Perizyten und malignen Tumorzellen des bestrahlten Tumors nach nicht-ablativer bzw. ablativer (höher dosierter) hypofraktionierter RT +/- Immuntherapie sowie niedrigdosierter RT im Vergleich zu nicht bestrahlten Mäusen (Sham RT) sollen ebenfalls weitergeführt werden. Es sollen strahleninduzierte DNA-Reparatur-Foci, Zellzyklus-veränderungen, Zelltod und Seneszenz direkt *ex vivo* nach RT bestimmt werden. Neben der Analyse von DNA-Doppelstrangbrüchen, Zelltod und ROS (reaktive Sauerstoffspezies) in Endothelzellen und Perizyten von abkopalem Tumor, Herz und linkem Lungenflügel (potentielle Bystandereffekte) soll ein Schwerpunkt auf der Analyse des inflammatorischen cGAS/STING Weges liegen und wir hoffen, diese Untersuchungen zur Publikationsreife zu bringen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

R. Luo, K. Onyshchenko, L. Wang, A. Grosu, E. Firat, G. Niedermann. OC-0262 Factors determining the potency of platinum derivatives to enhance the abscopal effect. *Radiotherapy and Oncology* 170, S220-S221

R. Luo, K. Onyshchenko, L. Wang, E. Firat, A.L. Grosu, G. Niedermann. Extracellular ATP and mitochondrial DNA determine the potency of platinum derivatives to enhance the abscopal effect. *Strahlentherapie und Onkologie* 198 (SUPPL 1), S12-S13

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 065A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2021 bis 30.09.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 438.975,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Hürkamp	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In aktuellen nuklearmedizinischen Therapieansätzen zur palliativen Behandlung von metastasierendem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs (insbesondere  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA oder  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA) werden die applizierten Radionuklide und ihre Folgeprodukte vom Patienten über die Atemluft, die Haut, den Urin und den Stuhl zum großen Teil wieder ausgeschieden. Klinikpersonal und Angehörige der Patienten sind während und nach der Therapie über die emittierte Gamma- und Bremsstrahlung, aber auch die Raumluft, die Atemluft oder über Hautkontaminationen in Folge der Versorgung der Patienten einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt. Im Verbundprojekt wird in sechs Arbeitspaketen untersucht, welche Expositionen durch die behandelten Patienten in der Klinik entstehen, wie hoch die effektiven Dosen für Klinikpersonal und Angehörige sein werden und wie sie minimiert werden können. Eine individualisierte Dosimetrie der nuklearmedizinischen Therapien, die die Berechnung der erzielten Tumordosis sowie der Strahlenexposition von Risiko-Organen des einzelnen Patienten beinhaltet, soll den Einsatz der Radionuklide optimieren. Der Ansatz dient der Verbesserung des Strahlenschutzes für Patient, Klinikpersonal und Angehörige. Zusammenarbeiten der Verbundpartner Helmholtz Zentrum München, den Kliniken für Nuklearmedizin rechts der Isar der Technischen Universität München und der Ludwig-Maximilians-Universität München, des VKTA Rossendorf und der Fa. SARAD GmbH sind in den Programmen der jeweiligen Arbeitspakete festgelegt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm ist in zwei Arbeitspakete (AP) mit folgenden Themen gegliedert:

- AP1.1: (Shamil Galvez Febles, Kerstin Hürkamp, Jochen Tschiersch, Stephanie Combs)  
Atem- und Raumluft: Radionuklide in der Atemluft von Patienten und der Raumluft in nuklearmedizinischen Einrichtungen
- AP3: (Lena Katzdobler, Weibo Li, Kerstin Hürkamp)  
Biokinetische Modelle: Biokinetische Modellierung und interne Dosisabschätzung für Klinikpersonal und Patienten auf der Basis experimenteller Messdaten

Das Teilprojekt A befasst sich mit der Erfassung (Messung, Modellierung, Dosimetrie) signifikanter Expositionen durch die Inhalation von Therapienukliden, die mit der Medikation und Versorgung der Patienten betraut sind. Die aufgenommene Strahlendosis ist essentiell für die Abschätzung des quantitativen Gesundheitsrisikos am Arbeitsplatz.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Am 30.06.2022 fand das erste Projekttreffen nach dem Kick-off-Meeting als Präsenztreffen am Institut für Strahlenmedizin, Helmholtz Zentrum München (HMGU) statt.

Zum 01.07.2022 werden die beiden Doktorandenstellen am Helmholtz Zentrum in den AP1.1 (Betreuung an der LMU München) und AP3 (Betreuung an der TUM) besetzt mit

- Shamil Samanta Galvez Febles, MSc Physik an der Universität Mailand, AP1.1
- Lena Katzdobler, MSc Mathematik an der TU München, AP3.

In AP1.1 wurden die praktischen Arbeiten zur Messung der Raum- und Atemluft durch intensive Literaturrecherche vorbereitet. Mit den experimentellen Arbeiten soll begonnen werden, wenn die Doktorandin eingestellt wurde und für die Kalibrationsmessungen in Kooperation mit AP1.2 nach Dresden zu Fa. SARAD GmbH fahren kann.

In AP3 wurden auf Grundlage der systemischen biokinetischen Modelle, der Modelle für den menschlichen Verdauungstrakt und des überarbeiteten Modells für den menschlichen Atemtrakt, die in den ICRP-Veröffentlichungen 100, 130, 137 und 141 beschrieben sind, allgemeine biokinetische Modelle für die Inhalation der Radionuklide  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{225}\text{Ac}$  und  $^{177}\text{Lu}$  als Elemente ohne Markierungsliganden und Antikörper erstellt. Die Modellparameter, d. h. die Transferraten zwischen den Kompartimenten, wurden für jedes Radionuklid in Tabellen aufgeführt. Die Zerfallskonstanten dieser drei Radionuklide wurden aus der ICRP-Publikation 107 entnommen. Diese drei Inhalationsmodelle wurden in die kommerzielle Software SAAM II implementiert. Es wurden die zeitlichen Aktivitätskurven in Organen und Geweben sowie die Ausscheidungsraten berechnet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten werden entsprechend der Arbeitspaketbeschreibungen fortgeführt.

In AP1.1 wird am 28.07.2022 ein erstes Treffen mit der neuen Doktorandin vor Ort stattfinden. Die Radonmessgeräte, die bereits im Besitz des HMGU sind werden für die geplante Kalibrierung zur Messung von  $^{219}\text{Rn}$  (Aktinon) mitgenommen.

Im AP3 wird ein biokinetisches Modell für die Modellierung der Exhalation von  $^{219}\text{Rn}$  nach der Injektion von  $^{223}\text{Ra}$  bei einem Patienten erstellt. Dabei wird das in der ICRP-Publikation 137 vorgeschlagene systemische biokinetische Modell für  $^{223}\text{Ra}$  angewandt. Unabhängige biokinetische Modelle für die Nachkommen  $^{219}\text{Rn}$  und  $^{215}\text{Po}$  werden dem biokinetischen Modell für das Ausgangsradionuklid  $^{223}\text{Ra}$  hinzugefügt. Die Konstruktion der unabhängigen biokinetischen Modelle für die Nachkommen folgt dem in der ICRP-Publikation 130 dargelegten Prinzip der Behandlung von Zerfallsprodukten, wobei jedoch einige menschliche physiologische Eigenschaften berücksichtigt werden.

Die biokinetischen Modelle für die Inhalation der Radionuklide  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{225}\text{Ac}$  und  $^{177}\text{Lu}$  werden unter Berücksichtigung des Zerfalls aller Folgeprodukte im menschlichen Körper erstellt. Die Methode zur Erstellung des biokinetischen Modells für das Ausgangsradionuklid und seine Nachkommen folgt im Wesentlichen dem Prinzip der Behandlung von Zerfallsprodukten gemäß der ICRP-Publikation 130 und den biokinetischen Modellen und Parametern, die in der ICRP-Publikationsreihe für die berufliche Aufnahme von Radionukliden (*occupational intake of radionuclides* – OIR) angegeben sind.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Am 30.06.2022 hat Frau Samaa Saleh (Masterstudiengang Radiation Biology, TUM) erfolgreich ihre Masterarbeit zum Thema „*In vitro investigation of  $^{225}\text{Ac}$ - and  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-I&T internalization in prostate cancer cells*“ am Klinikum rechts der Isar (TUM) verteidigt, die fachlich am Helmholtz Zentrum München von Frau Hürkamp betreut wurde. Teile der Arbeit waren die Erstellung des biokinetischen ICRP-Basismodells für Actinium und die Berechnung der internen Dosimetrie für einzelne Organe, die einen wertvollen Beitrag im Projekt zu AP3 liefern

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 065B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2021 bis 30.09.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 146.857,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Weber	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In aktuellen nuklearmedizinischen Therapieansätzen zur palliativen Behandlung von metastasierendem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs (insbesondere  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{177}\text{Lu-PSMA}$  oder  $^{225}\text{Ac-PSMA}$ ) werden die applizierten Radionuklide und ihre Folgeprodukte vom Patienten über die Atemluft, die Haut, den Urin und den Stuhl zum großen Teil wieder ausgeschieden. Klinikpersonal und Angehörige der Patienten sind während und nach der Therapie über die emittierte Gamma- und Bremsstrahlung, aber auch die Raumluft, die Atemluft oder über Hautkontaminationen in Folge der Versorgung der Patienten einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt. Im Verbundprojekt soll in sechs Arbeitspaketen untersucht werden, welche Expositionen durch die behandelten Patienten in der Klinik entstehen, wie hoch die effektiven Dosen für Klinikpersonal und Angehörige sein werden und wie sie minimiert werden können. Eine individualisierte Dosimetrie der nuklearmedizinischen Therapien, die die Berechnung der erzielten Tumordosis sowie der Strahlenexposition von Risiko-Organen des einzelnen Patienten beinhaltet, soll den Einsatz der Radionuklide optimieren. Der Ansatz dient der Verbesserung des Strahlenschutzes für Patient, Klinikpersonal und Angehörige. Zusammenarbeiten der Verbundpartner Helmholtz Zentrum München, den Kliniken für Nuklearmedizin rechts der Isar der Technischen Universität München und der Ludwig-Maximilians-Universität München, des VKTA Rossendorf und der Fa. SARAD GmbH sind in den Programmen der jeweiligen Arbeitspakete festgelegt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Sammlung und Analyse von Proben  
Patientenuntersuchungen
- AP2: Erstellung und Validierung der kinetischen Modelle auf Basis nichtinvasiver Bildgebung  
Möglichkeit der Modellvereinfachung, Parameter-Festlegung
- AP3: Synchronisation der Ergebnisse mit Projektpartnern
- AP4: Evaluation der Ergebnisse und Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Wir arbeiten an der Erweiterung der Patientenkohorte zwecks Sammlung von Urinproben. Die Urinproben werden in Abstimmung mit VKTA in den ersten 48h nach der  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA Therapie gesammelt, sofort mit Salpetersäure (1 ml Säure pro 100 ml Urin) angesäuert und danach bei uns gelagert, bis wir sie gefahrlos an VKTA für weitere Analysen verschicken dürfen.

Darüber hinaus haben wir die ersten Ergebnisse mit dynamischer PSMA PET/CT und PET/MRT Bildgebung. Im PET/CT wurden die Patienten in zwei Zeitfenstern untersucht, 0-20 min und 20-60 min nach der Radiotracerinjektion; im PET/MRT jedoch mit Zeitfenstern 0-20 min und 60-100 min. Der Radiotracer wird in beiden Fällen direkt im Scanner injiziert, um die frühe Dynamik erfassen zu können. Die frühe dynamische Aufnahme (0-20 min) wird in Einbettposition (25 cm, im Scanbereich der Prostata) durchgeführt, um die frühe Radiotracerabgabe mit hoher zeitlicher Auflösung einzufangen.

Die rekonstruierten Bilder wurden mit der hauseigenen Software Anima analysiert. ROIs (Regions of interest) wurden über die Urinblase sowie die Arterien aus den MIP (Maximal intensity projection) Bildern gezeichnet und Zeit-Aktivitätskurven ermittelt. Das „frühe“ Signal (0-20 min) gemessen in Arterien wurde als die Eingangsfunktion für die weitere kinetische Analyse von Traceraufnahmen genommen. Die Bilder 1 und 2 zeigen eine hohe Variabilität zwischen den Aufnahmen in Arterien bzw. Risikoorganen (Niere und Leber) und deuten darauf hin, dass eine bildgestützte populationsbasierte Eingangsfunktion für dieses Protokoll nicht möglich bzw. nicht präzise genug wäre, und somit die Scanzeit auch nicht verkürzt werden dürfte, um die variable Dynamik richtig erfassen zu können.

Außerdem haben wir das  $^{225}\text{Ac}$ -Messgerät für die Messungen der Raumluftkontamination von SARAD GmbH übernommen und Test-Messungen durchgeführt als Vorbereitung für die kommenden  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA Synthesen. Die Synthesen sind für die letzte Woche Juli und Mitte September geplant.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Erweiterung der  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA Patientenkohorte – weitere Sammlung von Urinproben und deren Analyse bei VKTA;
- Erweiterung der  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA Patientenkohorte zwecks Erstellung der kinetischen Modelle aus den dynamischen PET/CT und PET/MRT Daten;
- Messungen der  $^{225}\text{Ac}$ -Raumluftkontamination mit SARADs AER5000 Messgerät während  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA-Synthese im Heißlabor (Personal aus der Radiopharmazie) sowie posttherapeutische Messungen der  $^{225}\text{Ac}$ -Ausatmung ( $^{225}\text{Ac}$ -PSMA Patienten).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 065C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2021 bis 30.09.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 285.199,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Ziegler	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In aktuellen nuklearmedizinischen Therapieansätzen zur palliativen Behandlung von metastasierendem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs (insbesondere  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA oder  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA) werden die applizierten Radionuklide und ihre Folgeprodukte vom Patienten über die Atemluft, die Haut, den Urin und den Stuhl zum großen Teil wieder ausgeschieden. Klinikpersonal und Angehörige der Patienten sind während und nach der Therapie über die emittierte Gamma- und Bremsstrahlung, aber auch die Raumluft, die Atemluft oder über Hautkontaminationen in Folge der Versorgung der Patienten einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt. Im Verbundprojekt soll in sechs Arbeitspaketen untersucht werden, welche Expositionen durch die behandelten Patienten in der Klinik entstehen, wie hoch die effektiven Dosen für Klinikpersonal und Angehörige sein werden und wie sie minimiert werden können. Eine individualisierte Dosimetrie der nuklearmedizinischen Therapien, die die Berechnung der erzielten Tumordosis sowie der Strahlenexposition von Risiko-Organen des einzelnen Patienten beinhaltet, soll den Einsatz der Radionuklide optimieren. Der Ansatz dient der Verbesserung des Strahlenschutzes für Patient, Klinikpersonal und Angehörige. Zusammenarbeiten der Verbundpartner Helmholtz Zentrum München, den Kliniken für Nuklearmedizin rechts der Isar der Technischen Universität München und der Ludwig-Maximilians-Universität München, des VKTA Rossendorf und der Fa. SARAD GmbH sind in den Programmen der jeweiligen Arbeitspakete festgelegt.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA Therapie stellt eine vielversprechende Therapiealternative für das fortgeschrittene Prostatakarzinom bei unzureichendem Ansprechen auf die  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA dar. Jedoch existiert bisher keine klinische  $^{225}\text{Ac}$ -Bildgebung, so dass die Patienten-spezifische Pharmakokinetik und insbesondere die Ausscheidung des  $^{225}\text{Ac}$  und seiner Tochternuklide bisher größtenteils unbekannt ist. Zudem dient die Patienten-spezifische Bildgebung als Basis für die individualisierte Dosimetrie. Im Rahmen des Projekts soll eine klinische Bildgebung des  $^{225}\text{Ac}$  bzw. der Tochternuklide realisiert und in Kombination mit Probenmessungen (Urin, Blut) die Pharmakokinetik und Dosimetrie des  $^{225}\text{Ac}$  untersucht werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Der Schwerpunkt des zweiten Halbjahres lag auf der Untersuchung der Ac-225-Bildgebung zu mehreren Zeitpunkten und der Ableitung pharmakokinetischer Informationen für die Lu-177/Ac-225-PSMA-I&T Kombinationstherapie.

Die Lu-177/Ac-225-Bildgebung wurde zunächst mit einer hybriden planar-SPECT-basierten Bildgebungsmethode untersucht. Die 3D SPECT ist prinzipiell die bevorzugte Methode zur patientenspezifischen

sche Dosimetrie im Vergleich zur Verwendung von planaren 2D-Projektionen, da anreichernde Strukturen in der 3D Darstellung gut voneinander getrennt betrachtet werden können. Allerdings erfordert die SPECT im Allgemeinen eine höhere Signalstärke bzw. höhere Untersuchungszeiten. Im hybriden Ansatz wurden zwei planare Szintigrafien des Abdomens bei 24 h und 48 h nach Injektion sowie ein einzelnes SPECT bei 24 h verwendet, um die effektive Halbwertszeit und Dosimetrie für Nieren und Läsionen bei drei Patienten nach Kombinationstherapie abzuleiten. Obwohl die hybride Bildgebung für Lu-177 gute Ergebnisse liefert, ist die genaue Segmentierung von Risikoorganen und Läsionen für den 440-keV-Peak des Ac-225 schwierig aufgrund der stark begrenzten räumlichen Auflösung, die insbesondere mit der planaren Bildgebung hochenergetischer Gammas verbunden ist. Aufgrund der geringen Signalstärke bei der klinischen Ac-225-Bildgebung ist für eine ausreichende Unterdrückung des Bildrauschens ein großer Glättungsfilter (30 mm FWHM Gauß) erforderlich, was zu einer weiteren Verschlechterung der räumlichen Auflösung führt.

Daher wurde der Fokus auf ein reines SPECT-basiertes Bildgebungsprotokoll gelegt. Das Akquisitionprotokoll des ersten Halbjahres wurde für die Bildgebung von fünf Patienten mit Kombinationstherapie bei 24 und 48 h angewendet. Die Analyse der Bildgebungsdaten ergab eine vergleichbare mittlere effektive Halbwertszeit der Läsionen für Bi-213 (440 keV) und Lu-177 (63 h vs. 60 h). Die mediane effektive Halbwertszeit für die Nieren lag für Bi-213 jedoch sechs Stunden höher (40 h vs. 34 h). Da sich freies Bi-213 bekanntermaßen in den Nieren anreichert, könnte dies die Annahme bestätigen, dass der erste Alphazerfall die Bindung zum PSMA-Liganden aufbricht und die daraufhin freien Tochter-nuklide ein abweichendes pharmakokinetischen Verhalten zeigen.

Dieses Ergebnis wird durch die vorläufige Blut- und Urinanalyse von drei Patienten bestätigt. Durch Messung der Proben vor und während des säkularen Gleichgewichts in einem kalibrierten Probenwechsler, können die Anteile an gebundenem Lu-177 und Ac-225 sowie an freiem Bi-213 zum Zeitpunkt der Probenentnahme bestimmt werden. Die Daten deuten darauf hin, dass Ac-225 und Lu-177 eine ähnliche PSMA-gesteuerte Pharmakokinetik aufweisen, während der Anteil des Tochter-nuklids Bi-213 sowohl im Urin als auch im Blut mit der Zeit zunimmt.

Das Verhältnis von Bi-213 zu Ac-225 im Urin wurde auch im Rahmen der Nierendosimetrie für die Ac-225-PSMA-I&T auf Basis der 440-keV-Linie berücksichtigt. Dabei wurde in erster Näherung davon ausgegangen, dass die jeweiligen Verhältnisse für Urin und Nieren ähnlich sind. Bei den drei Patienten, bei denen Urinproben gesammelt wurden, führt die Nierendosimetrie unter der Annahme eines Gleichgewichts von Ac-225 und Bi-213 zu einer Überschätzung von etwa 35 %, verglichen mit der Nicht-Gleichgewichtssituation unter Berücksichtigung des freien Bi-213.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Schritt werden weitere Patientendaten wie oben beschrieben gesammelt. Die gesammelten Daten werden mit AP3 geteilt, um die pharmakokinetischen Modelle für die Lu-177/Ac-225-PSMA-I&T Therapie anzupassen. Parallel sollen weitere Rekonstruktionsmethoden (z. B. AI-basiert) untersucht werden, um die Ac-225-Bildgebung zu verbessern bzw. die Untersuchungszeiten für die Patienten weiter zu verkürzen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Veröffentlichungen/Vorträge:

Investigation of the biodistribution and dosimetry for combined  $^{177}\text{Lu}/^{225}\text{Ac}$ -PSMA-I&T therapy using multi-isotope quantitative SPECT imaging. A. Delker, M. Schleske, G. Liubchenko, I. Berg, M. J. Zacherl, M. Brendel, F. J. Gildehaus, A. Harbach, M. Rumiantcev, S. Resch, L. Kaiser, J. Brosch-Lenz, V. Wenter, L. Unterrainer, A. Todica, P. Bartenstein, H. Ilhan, S. Ziegler, L. Beyer, G. Böning. Angenommen als Vortrag auf der EANM Oktober 2022, Barcelona

Multi-Isotope SPECT-based evaluation of kidney and lesion SUV and pharmacokinetics for combined Ac-225/Lu-177-PSMA-I&T therapy. G. Liubchenko, M. Rumiantcev, M. Zacherl, F. Gildehaus, A. Harbach, I. Berg, S. Resch, V. Wenter, P. Bartenstein, S. Ziegler, L. Beyer, G. Böning, A. Delker. Angenommen als e-Poster auf der EANM Oktober 2022, Barcelona.13.2

<b>Zuwendungsempfänger:</b> VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 065D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2021 bis 30.09.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 240.400,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Großmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In aktuellen nuklearmedizinischen Therapieansätzen zur palliativen Behandlung von metastasierendem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs (insbesondere  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA oder  $^{225}\text{Ac}$ -PSMA) werden die applizierten Radionuklide und ihre Folgeprodukte vom Patienten über die Atemluft, die Haut, den Urin und den Stuhl zum großen Teil wieder ausgeschieden. Klinikpersonal und Angehörige der Patienten sind während und nach der Therapie über die emittierte Gamma- und Bremsstrahlung, aber auch die Raumluft, die Atemluft oder über Hautkontaminationen in Folge der Versorgung der Patienten einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt. Im Verbundprojekt soll in sechs Arbeitspaketen untersucht werden, welche Expositionen durch die behandelten Patienten in der Klinik entstehen, wie hoch die effektiven Dosen für Klinikpersonal und Angehörige sein werden und wie sie minimiert werden können. Eine individualisierte Dosimetrie der nuklearmedizinischen Therapien, die die Berechnung der erzielten Tumordosis sowie der Strahlenexposition von Risiko-Organen des einzelnen Patienten beinhaltet, soll den Einsatz der Radionuklide optimieren. Der Ansatz dient der Verbesserung des Strahlenschutzes für Patient, Klinikpersonal und Angehörige. Zusammenarbeiten der Verbundpartner Helmholtz Zentrum München, den Kliniken für Nuklearmedizin rechts der Isar der Technischen Universität München und der Ludwig-Maximilians-Universität München, des VKTA Rossendorf und der Fa. SARAD GmbH sind in den Programmen der jeweiligen Arbeitspakete festgelegt.

Das Teilprojekt D befasst sich mit der Analytik von Ausscheidungsproben zur Überwachung der Inkorporation der eingesetzten Radionuklide, vor allem für Beschäftigte von Kliniken und Pflegediensten sowie für Angehörige, aber auch für den Patienten selbst. Ziel ist die Entwicklung von routinetauglichen Analyseverfahren für  $^{223}\text{Ra}$  und  $^{225}\text{Ac}$  sowie deren Anwendung zur experimentellen Abschätzung der Strahlenexposition von Kontaktpersonen, die im Zusammenhang mit den Ausscheidungsdaten des Patienten steht.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Entwicklung von routinetauglichen Methoden zur Bestimmung von  $^{223}\text{Ra}$  und  $^{225}\text{Ac}$  in Urin und Stuhl
- AP2: Ausscheidungsanalytik von Patienten sowie Beschäftigten und pflegenden Familienangehörigen und Abschätzung der Strahlenexposition
- AP3: Analytik von Probenmaterial der anderen Arbeitspakete
- AP4: Überlegungen zur Übertragung auf  $^{227}\text{Th}$ -haltige Radiopharmaka

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Zunächst wurde die Methodenentwicklung für die alphaspektrometrische Bestimmung von  $^{225}\text{Ac}$  in den Mittelpunkt der Arbeiten des ersten Projektlaufjahres gerückt. (Schritt 1)
- Bei Recherchen wurde eine Literaturstelle zu dieser Thematik gefunden: Cusnir et al., *Analytica Chimica Acta*, 2022. In dieser Literaturstelle wird  $^{243}\text{Am}$  als Tracer bei  $^{225}\text{Ac}$ -Analysen vorgeschlagen und ein selbst hergestelltes Austauschharz (Resin) angewendet.
- Wir haben daher für unsere Versuche ebenfalls  $^{243}\text{Am}$  als Tracer eingesetzt und getestet. Außerdem wurden bei unseren Versuchen eine Tracerlösung mit Cer zugesetzt, da man von einem analogen chemischen Verhalten von Cer zu Actinium ausgeht und dieses gut mittels der ICP-MS zu analysieren ist.
- Es wurden bisher verschiedene Trennungsgänge unter Verwendung verschiedener kommerziell erhältlicher Harze (von Triskem) getestet. Getestete Harze bisher: LN-, DGA- und RE-Resin.
- Des Weiteren wurden drei verschiedene Methoden zur elektrolytischen Abscheidung getestet: (1) Elektrolyse aus dem schwefelsauren Milieu, (2) Ammoniumoxalat-Elektrolyse unter Zugabe von Pt-Salz und (3) Elektrolyse aus Natriumsulfatlösung nach Cusnir et al. (2022).
- Um  $^{225}\text{Ac}$  in der Probe vorzulegen wurde in allen Versuchen ein  $^{229}\text{Th}$ -Tracer im Gleichgewicht mit seinen Töchtern zugegeben. Aus diesem Grund ist stets eine Abtrennung des Th über eine TEVA-Resin-Säule notwendig. Dieser Schritt wird in der zu entwickelnden Methode dann allerdings nicht mehr notwendig sein, da in der klinischen Anwendung von  $^{225}\text{Ac}$  ohne Mutternuklid ausgegangen werden kann.
- Zunächst wurden Trennungsgänge aus Wasser mit den vorgelegten Tracerlösungen getestet. Es zeigte sich, dass die Elektrolyse (1) aus dem schwefelsauren Milieu für Ac Ausbeuten von < 30 % ergibt und somit nicht geeignet ist. Die anderen beiden Elektrolysen brachten jedoch sehr gute Ausbeuten.
- Anschließend wurden verschiedenste Trennungsgänge an Urinproben mit vorgelegten Tracerlösungen durchgeführt. Dabei zeigt sich, dass bei Verwendung von DGA-Resin es häufig zu unterschiedlichen Ausbeuten bezüglich  $^{243}\text{Am}$ ,  $^{225}\text{Ac}$  und Ce kommt. Des Weiteren scheinen die Waschschriffe zur Entfernung der Matrix des Urins die Wiederfindung für  $^{225}\text{Ac}$  negativ zu beeinflussen.
- Die beste Wiederfindung von  $^{225}\text{Ac}$  in den bisher durchgeführten Versuchen ist unter Verwendung von RE-Resin (59-72 %) erzielt wurden. Allerdings gingen dabei die getesteten Tracernuklide  $^{243}\text{Am}$  und Ce verloren. Diese sind aber für die zukünftige Aktivitätsberechnung von unbekanntem Proben zwingend notwendig.
- Auffällig ist allgemein, dass sich bei realen Probenmaterial wie Urin der Analyt  $^{225}\text{Ac}$  und die getesteten Tracer  $^{243}\text{Am}$  und Ce unterschiedlich verhalten und somit in unterschiedlich guten Ausbeuten wiedergefunden werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Tests mit weiteren Alternativ-Resin (z. B. TRU) und von weiteren Tracer (z. B. Lanthan)
- Weitere Modifikation des Trennungsgangs unter Verwendung von RE-Resin
- Weitere Versuche unter Verwendung von LN-Resin

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> SARAD GmbH, Wiesbadener Str. 10, 01159 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 065E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2021 bis 30.09.2024	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.01.2022 bis 30.06.2022	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 356.264,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Oeser	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zur palliativen Behandlung von metastasierendem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs werden zunehmend neue nuklearmedizinische Therapieansätze in deutschen Kliniken verfolgt, bei denen z. T. flüchtige Radionuklide von den Patienten ausgeschieden werden. Dazu gehören neben dem bereits zugelassenen Radium-223 ( $^{223}\text{Ra}$ ) insbesondere Therapien mit Lutetium-177 oder Actinium-225 markierten Liganden des „Prostata Spezifischen Membran Antigens“ (PSMA I&T, PSMA-617) und Radiopeptiden (DOTATATE). Bei einer Radionuklidtherapie werden dem Patienten hohe Aktivitäten an Radionukliden appliziert. Diese Radionuklide und ihre Folgeprodukte werden vom Patienten über die Atemluft, die Haut, den Urin und den Stuhl zum großen Teil wieder ausgeschieden. Klinikpersonal und Angehörige der Patienten sind während und nach der Therapie über die emittierte Gamma- und Bremsstrahlung, aber auch die Raumluft, die Atemluft oder über Hautkontaminationen in Folge der Versorgung der Patienten einer erhöhten Strahlenexposition ausgesetzt. Dabei sind die Strahlendosen für Ärzte, klinisches Personal und andere involvierte Personen so niedrig wie möglich zu halten (ICRP 2007, 2007a). Im Verbundprojekt soll deshalb untersucht werden, welche Expositionen durch die behandelten Patienten in der Klinik entstehen, wie hoch die effektiven Dosen für Klinikpersonal und Angehörige sein werden und wie sie minimiert werden können. Eine individualisierte Dosimetrie der nuklearmedizinischen Therapien, die die Berechnung der erzielten Tumordosis sowie der Strahlenexposition von Risiko-Organen des einzelnen Patienten beinhaltet, soll den Einsatz der Radionuklide optimieren. Damit soll gleichzeitig der Strahlenschutz für Patient, Klinikpersonal und Angehörige verbessert werden (COUNCIL DIRECTIVE 2013/59/EURATOM).

Abhängig von den Arbeitsplatzbedingungen kann der routinemäßige Umgang bei Produktion und Handling der Radiopharmaka (insbesondere  $^{223}\text{Ra}$  sowie dessen Folgeprodukt  $^{219}\text{Rn}$ ) Radionuklide im Kontrollbereich in nuklearmedizinischen Einrichtungen in die Luft freisetzen, die zu einem erheblichen Risiko der Exposition des Personals mit Dosen über 1 mSv a-1 durch chronische Inkorporation führen (Carneiro et al., 2015). Zudem erhöht der Umgang mit Patienten, die flüchtige Radionuklide exhalierten, das Risiko einer beruflichen Exposition wie auch der der Angehörigen durch Inkorporation erheblich (Hänscheid et al., 2003). Inwieweit bei dem Einsatz von Lu-177 das Personal kontaminiert werden kann, ist zu klären.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1.2: Optimierung der Messtechnik

- Entwicklung eines geeigneten Messalgorithmus zur Bestimmung der luftgetragenen Aktivität von Ac-225
- Konzeption, Konstruktion und Erstellung der Test- und Kalibrierumgebung
- Konzeption, Konstruktion und Fertigung Probenahme-Einrichtungen für Raumluft und Atemluft

- Implementierung des Messalgorithmus in Messgerät
- Test, Optimierung und Kalibrierung der Messgeräte
- Test und Einsatz unter realen Klinikbedingungen

### **3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse**

Der im Rahmen des Projektes entwickelte Messzyklus für Ac-225 wurde in die Firmware und Software des Aer implementiert und das Gerät entsprechend modifiziert. Dieser Punkt wurde vorgezogen, da das Gerät in Absprache mit dem Projektpartner TU München bereits Anfang Juni für erste Testmessungen in der Klinik eingesetzt werden soll. Eine rückführbare Kalibrierung ist bisher aufgrund der fehlenden Kalibrierumgebungen nicht möglich gewesen. Die Planung einer entsprechenden Kalibrierumgebung erforderte umfangreiche Studien hinsichtlich der Generation einer stabilen Aerosolatmosphäre mit definierter Partikelgrößenverteilung und der an diese Partikel gebundenen Radioaktivität. Aufgrund des komplexen Verhaltens von Aerosolen im Raum (Verteilung, Ablagerung, Wachstum usw.) wurde letztlich eine Strömungskanal-Lösung favorisiert. Damit können Aktivität und Partikelkonzentration durch Manipulation der jeweiligen Quelle gesteuert und zeitliche bzw. räumliche Veränderungen der Atmosphäre vermieden werden. Hier besteht jedoch die Herausforderung, genügend Partikel und Aktivität in den Luftpfad zu bringen. Limitiert wird dies durch die technischen Möglichkeiten der Aerosol-Generierung und Aspekte des Strahlenschutzes (limitierte Quellen-Aktivität). Außerdem wird der Ersatz des Ac-225 durch vor Ort generierbare Radionuklide angestrebt. Hierzu eignen sich die Folgeprodukte von Radon, da diese leicht aus Radon-Quellen gewonnen werden können. Zunächst wurde die Möglichkeit untersucht, Folgeprodukte in eine für die Aerosolgenerierung verwendbare Salzlösung einzubringen. Dazu wurde Radon-Gas eine Natrium-Nitrat Lösung gebracht und diese so konditioniert, dass die beim Zerfall entstehenden Blei-Ionen zur Bildung von Bleinitrat führen, welches gut in Wasser löslich ist. Es war möglich in einem geschlossenen Kreislauf eine Konzentration von ca. 5 kBq/l zu erzielen. Dies bedingt allerdings das ständige Vorhandensein einer entsprechend hohen Radon-Konzentration. Bei der Erzeugung von Aerosolen wird jedoch aufgrund des notwendigen Treibgases ein signifikanter Teil des Radon-Gases ausgetrieben, so dass sich eine theoretische Obergrenze von einigen hundert Bq/m<sup>3</sup> ergibt. Da sich der Treibgasstrom proportional zum Masse-Ausstoß der Aerosollösung verhält, ist eine Generationsrate von ca. 1000 radioaktiven Partikeln pro Stunde erzielbar - für Kalibrierzwecke eine zu geringe Anzahl. Deshalb wird aktuell der Ansatz der Anlagerung von Folgeprodukten an sich bereits im Strömungskanal befindliche Aerosole verfolgt. Ein entsprechender Aufbau wird gerade konstruiert. Für die durchgeführten Versuche und die Kalibrier-einrichtung wurde bereits ein Aerosolgenerator TOPAS ATM228 angeschafft.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Fertigstellung der mechanischen Konstruktion und Aufbau des Strömungskanals. Anschaffung einer Radonquelle mit notwendiger Quellstärke. Aufbau eines Aer5000 mit isokinetischer Probenahme und Test des Strömungskanals mit manueller Manipulation der Einflussgrößen (Radonkonzentration, Aerosolkonzentration, Durchflüsse). Prüfung auf Homogenität des Aerosolstromes unter der Glocke.

### **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.



### 3 Verzeichnis der Forschungsstellen

<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Fahnbergplatz, 79098 Freiburg</b>	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F  102
02 NUK 064C	Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C  156
<b>Becker Technologies GmbH, Rahmannstr. 11, 65760 Eschborn</b>	
02 NUK 067B	Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package (HCP), Teilprojekt B  28
<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter</b>	
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  94
<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin</b>	
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E  100
<b>Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich</b>	
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A  36
02 NUK 056B	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B  48
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  144
02 NUK 059D	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D  62
02 NUK 060C	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C  72
<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen</b>	
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E  116
02 NUK 059E	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E  64

- 02 NUK 068B Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektrischer Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt B  32

**Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena**

- 02 NUK 066B Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklididentifizierung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt B  80

**Gesellschaft für Analgen- und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, Schwertner-  
gasse 1, 50667 Köln**

- 02 NUK 062D Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D  22

**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  104

- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A  108

- 02 NUK 054A Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A  118

**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  12

- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  38

- 02 NUK 056C Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C  50

- 02 NUK 057A Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorpositionsmitteln, Teilprojekt A  130

- 02 NUK 059B Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B  58

- 02 NUK 060A Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A  68

- 02 NUK 066A Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt A  78

**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  44

**Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim**

- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  92
- 02 NUK 061A Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A  146
- 02 NUK 064B Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B  154
- 02 NUK 065A Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt A  158

**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  42

**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  106

**IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf**

- 02 NUK 036AX Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  90

**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  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D  114
- 02 NUK 060E Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E  76

<b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe</b>
--

- 02 NUK 059F Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F  66
- 02 NUK 062A Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A  16

<b>Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München</b>
---

- 02 NUK 047C Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  96
- 02 NUK 061C Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C  150
- 02 NUK 065C Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt C  162

<b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München</b>
--

- 02 NUK 064A Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A  152
- 02 NUK 065B Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt B  160

<b>Leibniz-Institut für Altersforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena</b>
---

- 02 NUK 055A Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A  124

<b>Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover</b>
---

- 02 NUK 057C Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt C  134
- 02 NUK 066C Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt C  82

<b>Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Templergraben 55, 52062 Aachen</b>
--

- 02 NUK 060B Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B  70
- 02 NUK 060D Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D  74

- |   |   |
|---|---|
| <b>SARAD GmbH, Wiesbadener Str. 10, 01159 Dresden</b>   |   |
| 02 NUK 065E   | Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt E  166   |
| <b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen</b> |   |
| 02 NUK 053C   | Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C  40   |
| 02 NUK 056A   | Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A  46   |
| 02 NUK 057E   | Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E  138  |
| 02 NUK 059A   | Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A  56   |
| <b>THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1, 94469 Deggendorf</b>   |   |
| 02 NUK 041D   | Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen  14   |
| <b>Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin</b>   |   |
| 02 NUK 056D   | Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D  52   |
| <b>Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt</b>  |   |
| 02 NUK 050B   | Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B  110   |
| 02 NUK 050C   | Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C  112   |
| 02 NUK 054C   | Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C  122   |
| <b>Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden</b>  |   |
| 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  10 |

- 02 NUK 055C Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C  128
- 02 NUK 057B Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionuklid-  
en im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorpo-  
rationsmitteln, Teilprojekt B  132
- 02 NUK 063 Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation  24
- 02 NUK 068A Verbundprojekt ROBIN: Entwicklung und Einsatz robuster elektri-  
scher Mess- und Bildgebungsverfahren zur hochaufgelösten Erfassung  
von thermohydraulischen Parametern in Großversuchsanlagen der  
nuklearen Sicherheitsforschung, Teilprojekt A  30
- Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München**
- 02 NUK 062C Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeüber-  
gangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern,  
Teilprojekt C  20
- 02 NUK 067A Verbundprojekt KONHCP: Konsolidierung des HTR Code Package  26  
(HCP), Teilprojekt A
- Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen**
- 02 NUK 056E Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung  54  
durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E
- Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken**
- 02 NUK 058B Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, mul-  
tipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die  
übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die  
Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B  142
- Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg**
- 02 NUK 058A Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, mul-  
tipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die  
übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die  
Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A  140
- 02 NUK 059C Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-  60  
Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C
- Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart**
- 02 NUK 062B Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeüber-  
gangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern,  
Teilprojekt B  18

<b>Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen</b>
---

- 02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  98
- 02 NUK 054B Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B  120
- 02 NUK 061B Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B  148

<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg</b>
--

- 02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  88
- 02 NUK 055B Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B  126

<b>VKTA – Strahlenschutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden</b>
--

- 02 NUK 057D Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D  136
- 02 NUK 065D Verbundprojekt ExperT: Strahlenschutz in der Klinik – Expositionen von Klinikpersonal bei nuklearmedizinischen Therapien, Teilprojekt D  164
- 02 NUK 066D Verbundprojekt RENA: Biologische Radionuklidentfernung durch Nutzung natürlicher Assoziationsprozesse, Teilprojekt D  84