

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

**PTE-N Nr. 16**

BMBF geförderte FuE zu  
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Juli - 31. Dezember 2017

Projektträger Karlsruhe  
Wassertechnologie und Entsorgung  
PTKA-WTE

**Juni 2018**

## PTE-Berichte

Der Projektträger Wassertechnologie und Entsorgung (PTKA-WTE) 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/wte/287.php](http://www.ptka.kit.edu/wte/287.php)

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

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

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

## Vorwort

Das KIT betreut im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) Referat 722 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.

Alle bisherigen Fortschrittsberichte sind auf den Internetseiten des Projektträgers unter folgendem Link abrufbar:

<http://www.ptka.kit.edu/wte/287.php>



## 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>11</b>
2.1	Sicherheitsforschung für Kernreaktoren .....	11
2.2	Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung.....	35
2.3	Strahlenforschung.....	67
<b>3</b>	<b>Verzeichnis der Forschungsstellen .....</b>	<b>183</b>



# 1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

## 1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren








- |                    |   |   |      |
|--------------------|---|---|------|
| <b>02 NUK 027A</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern                   | <b>TU Dresden</b>                                   | 📖 12 |
| <b>02 NUK 027B</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens   | <b>TU Dresden</b>                                   | 📖 14 |
| <b>02 NUK 027C</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen   | <b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>   | 📖 16 |
| <b>02 NUK 027D</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten   | <b>Hochschule Zittau/Görlitz</b>                    | 📖 18 |
| <b>02 NUK 027E</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen | <b>TU Dresden</b>                                   | 📖 20 |
| <b>02 NUK 040A</b> | Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt A: Mischnähte, Ausströmen   | <b>Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut -</b> | 📖 22 |

- 02 NUK 040B** Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt B: Numerische Simulation turbulenter Strömung **Universität Stuttgart**  24
- 02 NUK 041A** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem **TU Dresden**  26
- 02 NUK 041B** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  28
- 02 NUK 041C** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem **Framatome GmbH, Erlangen**  30
- 02 NUK 041D** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen **TH Deggendorf**  32



## 1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

<b>02 NUK 039A</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 36
<b>02 NUK 039B</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 38
<b>02 NUK 039C</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C	<b>Ruprecht-Karls- Universität Heidel- berg</b>	📖 40
<b>02 NUK 039D</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 42
<b>02 NUK 039E</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E	<b>TU München</b>	📖 44
<b>02 NUK 044A</b>	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A	<b>Leibniz Universität Hannover</b>	📖 46
<b>02 NUK 044B</b>	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt B	<b>Johannes Gutenberg- Universität Mainz</b>	📖 48
<b>02 NUK 046A</b>	Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A	<b>TU Dresden</b>	📖 50

- 02 NUK 046B** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  52
- 02 NUK 046C** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C **Universität Leipzig**  54
- 02 NUK 051A** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A **Universität Hannover**  56
- 02 NUK 051B** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  58
- 02 NUK 051C** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C **Universität Jena**  60
- 02 NUK 051D** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D **Universität Bremen**  62
- 02 NUK 051E** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E **Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V.**  64








### 1.3 Strahlenforschung

- |                    |  |   |      |
|--------------------|--|---|------|
| <b>02 NUK 017A</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A | <b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>                                      | 📖 68 |
| <b>02 NUK 017B</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B | <b>TU Darmstadt</b>   | 📖 70 |
| <b>02 NUK 017D</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D | <b>TU Darmstadt</b>   | 📖 72 |
| <b>02 NUK 017E</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E | <b>TU Darmstadt</b>   | 📖 74 |
| <b>02 NUK 017F</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F | <b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>   | 📖 76 |
| <b>02 NUK 017G</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G | <b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>  | 📖 78 |
| <b>02 NUK 030A</b> | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A   | <b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b> | 📖 80 |
| <b>02 NUK 030B</b> | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B   | <b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>                        | 📖 82 |

<b>02 NUK 030C</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionuklid- liden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C	<b>Friedrich-Schiller- Universität Jena</b>	📖 84
<b>02 NUK 030E</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionuk- liden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E	<b>TU München</b>	📖 86
<b>02 NUK 030F</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionuk- liden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 88
<b>02 NUK 030G</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionuk- liden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G	<b>VKTA – Strahlen- schutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossen- dorf e. V.</b>	📖 90
<b>02 NUK 031A</b>	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET- Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A	<b>Universität der Bun- deswehr München</b>	📖 92
<b>02 NUK 032</b>	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Me- chanismen und Targets	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 94
<b>02 NUK 034A</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A	<b>TU Darmstadt</b>	📖 96
<b>02 NUK 034B</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B	<b>TU Darmstadt</b>	📖 98
<b>02 NUK 034C</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C	<b>GSI Helmholtzzent- rum für Schwer- ionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	📖 100
<b>02 NUK 034D</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	<b>Friedrich-Alexander- Universität Erlan- gen-Nürnberg</b>	📖 102
<b>02 NUK 035A</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA- Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlen- empfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Universität des Saar- landes</b>	📖 104
<b>02 NUK 035B</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA- Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlen- empfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 106
<b>02 NUK 035C</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA- Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlen- empfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>TU Dresden</b>	📖 108
<b>02 NUK 035D</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA- Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlen- empfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Salz- gitter</b>	📖 110
<b>02 NUK 035E</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA- Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlen- empfindlichkeit, Teilprojekt E	<b>Medipan GmbH, Dahlewitz</b>	📖 112

<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>	📖 114
<b>02 NUK 036B</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	<b>Elbe Kliniken Stadte-Buxtehude</b>	📖 116
<b>02 NUK 036C</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	<b>IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH</b>	📖 118
<b>02 NUK 036D</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	📖 120
<b>02 NUK 037A</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	📖 122
<b>02 NUK 037B</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 124
<b>02 NUK 037C</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C	<b>TU Darmstadt</b>	📖 126
<b>02 NUK 038A</b>	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A	<b>Klinikum rechts der Isar der TU München</b>	📖 128
<b>02 NUK 038B</b>	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 130
<b>02 NUK 042A</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	📖 132
<b>02 NUK 042B</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	<b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	📖 134
<b>02 NUK 042C</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	<b>Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen</b>	📖 136

<b>02 NUK 042D</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	📖 138
<b>02 NUK 043A</b>	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 140
<b>02 NUK 043B</b>	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 142
<b>02 NUK 043C</b>	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C	<b>Universität Rostock</b>	📖 144
<b>02 NUK 045A</b>	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 146
<b>02 NUK 045B</b>	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	<b>Bundesamt für Strahlenschutz</b>	📖 148
<b>02 NUK 045C</b>	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C	<b>TU München</b>	📖 150
<b>02 NUK 047A</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 152
<b>02 NUK 047B</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Bundesamt für Strahlenschutz</b>	📖 154
<b>02 NUK 047C</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>Klinikum der Universität München</b>	📖 156
<b>02 NUK 047D</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 158
<b>02 NUK 047E</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin</b>	📖 160
<b>02 NUK 047F</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg</b>	📖 162
<b>02 NUK 048A</b>	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	📖 164
<b>02 NUK 048B</b>	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	<b>Universität Ulm</b>	📖 166

- 02 NUK 049A** Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A **GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH**  168
- 02 NUK 049B** Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B **Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg**  170
- 02 NUK 050A** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A **GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH**  172
- 02 NUK 050B** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B **TU Darmstadt**  174
- 02 NUK 050C** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C **TU Darmstadt**  176
- 02 NUK 050D** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D **Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main**  178
- 02 NUK 050E** Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E **Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg**  180





## **2 Formalisierte Zwischenberichte**

### **2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 31.03.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 637.525,92 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Lippmann	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP0: Wurde bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP1:

- Die Experimente zu den Szenarien „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ mit einem Spaltabstand von 5 mm mit Einsatz des Gittersensors wurden abgeschlossen.
- Der Zusatzkanal zur Strömungsbegrenzung wurde ausgebaut, um den Einfluss des vergrößerten Strömungsquerschnittes auf die Temperaturentwicklung innerhalb des Heizstabündels zu überprüfen.

- Die durchgeführten Experimente zeigten, dass der Ausbau bei kleineren Heizleistungen (<50 W/Stab) einen signifikanten Einfluss auf die maximale Staboberflächentemperaturentwicklung innerhalb des Heizstabbündels hat.
- Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der durchgeführten Experimente wurden stichprobenartige Zusatzexperimente mit gleichen Parametern für zu den Szenarien „Ausdampfen“, „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ durchgeführt. Die Experimente bezüglich des Szenarios „Ausdampfen“ zeigten eine für hohe Leistungen 100 W/Stab eine gute Reproduzierbarkeit. Bei kleineren Leistungen (<50 W/Stab) ist eine Reproduzierbarkeit nur näherungsweise gegeben, da einerseits ein hoch dynamischer, instabiler Siedeprozess vorliegt und sich andererseits der Einfluss der Umgebungsbedingungen auf die Entwicklung der maximalen Staboberflächentemperaturen vergrößert. Da die Umgebungsbedingungen allerdings von den Bedingungen im Versuchsfeld abhängen und keine konditionierte Überströmung möglich war, lagen keine reproduzierbaren Umgebungsbedingungen vor, was sich demnach auf den Störfallablauf auswirkte.
- Bei den Experimenten zu den luftgekühlten BE („Wasserblockade“, „trockenes Lagerbecken“) verstärkte sich der Effekt aufgrund der reinen Luftkühlung und der stärkeren Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen.
- Es erfolgte eine umfassende Auswertung und Vergleich der Versuche. Die maßgebliche Erkenntnis ist, dass die Heizleistung der Haupteinflussfaktor für die Entwicklung der Staboberflächentemperaturen ist. Erst ab Heizleistungen unter 20 W/Stab wird ein signifikanter Einfluss der Lagerbedingungen (der Spaltbreite) bzw. der Umgebung deutlich. Für die Fortsetzung des Projektes und für die Evaluierung dieses Einflusses ist es unbedingt notwendig, definierte Umgebungsbedingungen zu erzielen, indem ein entsprechender Überströmkanal mit einstellbaren bzw. messbaren Überströmparametern ergänzt wird.

AP2/3: Hier erfolgt keine Beteiligung von TUD-WKET.

AP4:

- Die Analyse mit ATHLET wurde weitergeführt und es fand ein Vergleich der Simulationsdaten mit den experimentellen Daten für das Szenario „Ausdampfen“ bei Leistungen 50 W/Stab und 100 W/Stab statt.
- Die Simulation weist einen deutlich verzögerten Aufheizprozess auf. D. h., Siedebedingungen werden später erreicht (ca. 2-3 h). Die Füllstandabnahme ist in guter Übereinstimmung. Bei der Simulation ist festzustellen, dass die Stabbereiche bei anderen (einphasigen) Füllständen freigelegt werden als im Vergleich zum Experiment.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP0: Analyse des erreichten Standes der Experimente an den Versuchsanlagen ALADIN und DVA-BEG und der Simulationen mittels Systemcode und CFD, Ermittlung der Randbedingungen für Überström- und Sprayexperimente an der Versuchsanlage
- AP1: Bestimmung der geometrischen und thermohydraulischen Auslegungsparameter für die Zusatzkomponenten Überströmkanal und Sprayeinrichtung
- AP4: Durchführung einer Sensitivitätsanalyse, um den Einfluss der unterschiedlichen Parameter (z. B. Wärmekapazitäten, Wärmeverluste) auf die Temperaturentwicklungen zu untersuchen. Durchführung von Modellrechnungen zu den Szenarien „trockenes Lagerbecken“ und „Wasserblockade“ und Vergleich mit den experimentellen Daten.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Konferenzbeitrag NURETH-17 (September 2017):

Partmann, C.; Schuster, C.; Hurtado, A.: “Experimental investigation about the thermal hydraulics of evaporating spent fuel pools”

Abstract AMNT2018 eingereicht und angenommen:

Partmann, C.; Schuster, C.; Hurtado, A.: „Summary of experimental investigations at the ALADIN test facility for the thermal hydraulic analysis of accident scenarios in spent fuel pools”

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 31.03.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 489.910,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Fröhlich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Der Zuwendungsempfänger ist an folgenden Arbeitspaketen im Forschungsvorhaben beteiligt:

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

Im Aufstockungszeitraum sind im Teilprojekt folgende Arbeitspunkte vorgesehen:

- AP0A: Festlegung von Randbedingungen für erweiterte Experimente und Simulationen
- AP1A: CFD-Simulationen zur Bewertung der erweiterten Experimente
- AP2A: Anwendung von CFD-Codes; Erweiterung auf Instationarität und mesoskalige Effekte
- AP3A: Konsequenzen aus erweiterten CFD-Berechnungen für Module für ATHLET und COCOSYS

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde intensiv an der 3D-Modellierung eines Brennelementes (BE) im Lagerbecken gearbeitet. Dazu wurden zahlreiche Variantenrechnungen für ein SWR-Brennelement unter den Bedingungen des Störfalls von Fukushima durchgeführt (AP3). Randbedingungen für diese Untersuchung stammen aus großskaligen Simulationen am Helmholtz-Zentrum Dresden Rossendorf (02NUK027C). Die Simulationsmatrix umfasste eine Variation des Füllstandes zwischen 2,5 m und 3,5 m (entsprechend 1,5 m bis 0,5 m freigelegte aktive Länge), der Nachzerfallsleistung (maximale und mittlere Leistung) und der konvektiven Randbedingung in der Atmosphäre oberhalb des BE. Die Ergebnisse zeigen ein Eindringen von Kaltluft in den Brennelementkopf in allen Fällen, vor allem bis zum obersten Abstandhalter. Es erfolgt eine Deformation des Temperaturprofils bedingt durch eindringendes Kaltgas. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die Kühlwirkung von der Intensität der Querströmung oberhalb der Brennelemente abhängt. Je größer der horizontale Impuls, desto schlechter ist die Kühlbarkeit der Brennelemente, was mit einem größeren Widerstand für den aufsteigenden Dampf zusammenhängt.

Zur Modellierung des Einzeleffektexperiments an der Hochschule Zittau-Görlitz (02NUK027D) wurden ebenfalls Variantenrechnungen unter stationären Randbedingungen durchgeführt (AP3). Die Simulation des BE-Dummys im Querstrom bildet zwei verschiedene Szenarien ab: Zum einen ein partiell ausgedampftes Lagerbecken, bei dem das BE von Wasserdampf durchströmt wird und zum anderen ein komplett ausgedampftes Lagerbecken mit von Luft durchströmten BE. Die Randbedingungen für diese Untersuchung wurden auf Basis von zwei dimensionslosen Kennzahlen, Richardson-Zahl und Impulsstromverhältnis, eingestellt. Die Untersuchungen zeigen ebenfalls ein Eindringen von Kaltluft in das Brennelement unter Störfallbedingungen. Eindringtiefe und Intensität der Kühlung steigen mit zunehmender Richardson-Zahl und sinkendem Impulsstromverhältnis. Vergleichende Simulationen der Stoffpaarungen Luft-Luft sowie Luft-Dampf mit den gleichen Kennzahlen machen deutlich, dass eine Übertragbarkeit der Ergebnisse für das Strömungsfeld, aber nicht für das Temperaturfeld möglich ist. Die aufbereiteten Simulationsdaten werden den Projektpartnern für die Modulentwicklung zur Verfügung gestellt (AP4).

Die Simulationen zum Integralexperiment ALADIN wurden fortgeführt und auf instationäre Randbedingungen erweitert (AP3, AP2A). Erste Untersuchungen widmeten sich der Auswirkung instationärer Siedevorgänge (Geysireffekt) auf den Wärmetransport, modelliert durch einen zeitlich veränderlichen Massestrom am Eintritt in das Rechengebiet. Die korrekte Vorgabe von Dauer und Amplitude der Massestromschwankung stellte ein Problem dar, da dafür bisher nicht ausreichend Messwerte zur Verfügung stehen. Mit den gewählten Werten konnte bisher keine signifikante Auswirkung auf den Wärmetransport festgestellt werden.

Zu Beginn der Aufstockungsphase des Vorhabens wurden die bisherigen Ergebnisse im Teilprojekt gesichtet und hinsichtlich der geplanten Erweiterungen der Experimente ausgewertet (AP0A). Die abgeleiteten Anforderungen an die Versuchseinrichtungen fließen in die Arbeiten der Teilprojektpartner ein.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Erweiterung der Experimente wird durch CFD-Simulationen unterstützt und bewertet. (AP1A). In bilateralen Treffen mit den Teilprojektpartnern (02NUK027A und 02NUK027D) sollen Festlegungen zur Auswahl und Dimensionierung der Versuchseinrichtungen, zu Randbedingungen sowie Anforderungen an die Messung abgesprochen werden (AP0A). Zusätzlich wird mit der erweiterten Modellierung der Instationarität an der CFD-Modellgrenze und im Kopfbereich begonnen. Die wissenschaftliche Verwertung der gewonnenen Ergebnisse im AP3 zusammen mit dem HZ Dresden-Rossendorf (02NUK027C) ist ebenfalls geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 31.03.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 434.844,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Krepper	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Für den Berichtszeitraum sieht der Arbeitsplan die Anwendung des geschaffenen Modellkomplexes auf verschiedene Geometrien und Beladungsszenarien vor. Eine zu erwähnende Charakteristik des Ansatzes besteht darin, dass die Transiente welche zu dem postulierten Szenario führt nicht betrachtet wird. Die Erwärmung der Festkörperstrukturen unterliegt einer erheblich größeren Zeitskala als die Strömung in der Atmosphäre, was die Anwendung eines quasi-stationären Ansatzes erforderlich macht um die Rechenzeiten in vertretbaren Grenzen zu halten. Hierfür wird die Wasseroberfläche als untere und zugleich unveränderliche Grenze des Rechengebietes gezogen. Demnach beinhalten die Modelle nur den von Wasser freigelegten Teil der Lagergestelle. Für jeden betrachteten Wasserspiegel muss das Rechengebiet neu definiert werden. Die Lösung der einzelnen Simulationsmodelle erfolgt iterativ, bis ein thermisches Gleichgewicht zwischen der in den Brennelementen freigesetzten Wärme und deren Abtransport durch Konvektion oder Wärmeleitung besteht.

Zu den untersuchten Anlagen zählt der Reaktorblock 4 des ehemaligen Kernkraftwerks Fukushima Daiichi, über das umfangreiches Datenmaterial zur Verfügung steht (Gaunt et al., 2012) sowie eine Siedewasserreaktor-Referenzanlage gemäß Steinrötter et al. (2014). Für das Szenario einer partiellen Freilegung der Brennelemente, wurde die Abhängigkeit der Konvektion in der Beckenatmosphäre vom Wasserspiegel, der Zerfallswärmeanordnung und dem Beladungszustand untersucht. Die betrachteten Wasserspiegel 3,5 m, 3 m und 2,5 m entsprechen einer wärme-freisetzenden Länge von 0,5 m, 1 m beziehungsweise 1,5 m. Hinsichtlich der Zerfallswärmeanordnung wurden drei verschiedene Szenarien postuliert. Dazu gehört die Anordnung von Brennelementen mit hoher Zerfallswärmeleistung in Wandnähe, im Zentrum sowie deren gleichmäßige Verteilung über den Beckenquerschnitt. Zu den untersuchten Beladungszuständen zählen die Normalbeladung des Beckens im Leistungsbetrieb, die Teilbeladung während eines Auswechslens von abgebrannten Brennelementen sowie die Vollbeladung für den Fall einer Revision des Reaktordruckbehälters.

Alle durchgeführten Simulationen bestätigen weiterhin die Erkenntnis, dass das kalte Gas überwiegend im Lagerbeckenzentrum eindringt, während das warme Gas entlang der Lagerbeckenwand aufsteigt. Als Folge dessen kommt es zu einer Staupunktströmung im Kopfbereich zentral gelagerter Brennelemente, und deren Querüberströmung in Richtung Beckenwand. Diese Charakteristik bleibt weitgehend unabhängig vom Beladungszustand und der Zerfallswärmeverteilung bestehen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten im Teilprojekt werden mit der Anpassung des Modellkomplexes an eine Druckwasserreaktor-Referenzanlage fortgesetzt. Des Weiteren sind weiterführende Untersuchungen zur vollständigen Freilegung der Brennelemente im Lagerbecken vorgesehen. Insbesondere für dieses Szenario ist ein großer Einfluss der Zerfallswärmeverteilung zu erwarten, da eine Unterspülung der Lagergestelle nur dann möglich ist, wenn ein entsprechender Strömungspfad zur Verfügung steht. Es ist zu erwarten, dass eine gleichmäßige Verteilung der Brennelemente über den Beckenquerschnitt hierfür ungünstig ist. Im Ergebnis werden auch hierfür konkrete Empfehlungen zur Lagerbeckenbeladung erarbeitet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 31.03.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 712.104,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kästner	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden Arbeiten zu den AP-B2 und AP-B4 des Basisprojektes abgeschlossen und Arbeiten zu den AP-A0, AP-A1 und AP-A3 der Aufstockung durchgeführt.

Bei den Arbeiten zu isothermen Versuchen mit Luft-Luft für beide Strömungspfade wurden redundante und ergänzende Messungen zur Erstellung der Geschwindigkeitsprofile für die Vertikal – und Horizontalströmung an der Versuchsanlage DVABEG generiert. Mit dem Einsatz des Gittersensors zur Geschwindigkeitsmessung der Vertikalströmung, vor dem Abstandshalter und zwischen den Stäben wurden relevante lokale Parameter gemessen, welche für den Vergleich mit den CFD-Simulationen herangezogen wurden.

Bei den nicht-isothermen Versuchen mit Luft-Luft wurde der Einfluss der Temperaturänderung für konditionierte Horizontalströmung auf die entsprechende Geschwindigkeit analysiert und das Eindringen der Luft in den BE-Kopf-Bereich durch die Messung der Temperatur mit einer Messlanze für verschiedene Geschwindigkeitsverhältnisse der Horizontal - zur Vertikalströmung nachgewiesen.

Bei den Untersuchungen des dichtegetriebenen Austausches zwischen der Vertikal – und Horizontalströmung wurden im Rahmen von nicht-isothermen Versuchen zunächst die Strukturen und die Luft im vertikalen Strömungspfad mit einem Heizgebläse auf  $T = 70\text{ °C}$  aufgeheizt. Nach Ende der Aufheizung wurde die Einstromung in den vertikalen Strömungspfad geschlossen und die horizontale Überströmung mit kälterer Luft gestartet. Es wurde ein axiales Temperaturprofil im zentralen Kühlkanal des BE-Dummy mit dem Ziel aufgenommen, das Eindringen der kälteren Luft mit höherer Dichte zu erfassen. Als Ergebnis wurde festgestellt, dass die Austauschprozesse von horizontal überströmender Luft mit höherer Dichte und stehender Luft im BE-Dummy mit geringerer Dichte nur im Kopfbereich bis zum ersten AH stattfanden.

Die Versuche mit Modellgasen zur Analyse des Einflusses der Dichteunterschiede für ausgewählte Reynolds-Zahlen bestätigten die mit Luft-Luft-Versuchen erworbenen Kenntnisse. Durch die Messung der Sauerstoffkonzentration in verschiedenen Ebenen wurde nachgewiesen, dass bei stehender Luft bzw. geringen Geschwindigkeiten der Horizontalströmung mehr Luft in die Brennstäbe eindringt, was mehr Kühlbarkeit für die Stäbe gewährleistet.

Zum Verifizieren des mathematischen Modells der Beschreibung des radialen Strahlungsverhaltens wurde ein ATHLET-Modell entwickelt und experimentell validiert. Zu diesem Zweck wurde ein Versuchsstand mit einer Stabkonfiguration  $3 \times 3$  aufgebaut, wobei ein Stab elektrisch beheizt wurde und die axiale bzw. radiale Temperatur der Nachbarstäbe mit den Thermoelementen erfasst wurde. Die analytische Lösung mit ATHLET stimmt mit den experimentellen Ergebnissen gut überein.

Im Rahmen der Aufstockung wurden Parameteranalysen für Bedingungen nach dem Ausdampfen von DWR-BE-LB in geschlossener SHB-Atmosphäre durchgeführt und der Versuchsstand mit der BE-Konfiguration  $3 \times 1$  konzipiert. Diese Recherchen dienen ferner zur Strukturierung der Nodalisation für COCOSYS-Rechnungen über dem DWR-BE-LB.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Nach der Planung des Versuchsstandes mit der BE-Konfiguration  $3 \times 1$  wird der Versuchstand errichtet und instrumentiert. Die Arbeiten zum Einsatz von COCOSYS im meso- bis großskaligen Maßstab werden fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen statt:

Arbeitstreffen am 14.09.2017 in der TU-Dresden - ISM zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner

Es wurde ein Vortrag auf dem Doktorandenseminar des Kompetenzzentrums Ost für Kerntechnik im HZDR am 07.12.17 gehalten:

Chahi, H., Kästner, W., Alt, S.: "Investigation of gas-gas flow behavior in a rectangular T-junction channel above a PWR fuel assembly dummy", KompOst 2017

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 31.03.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 449.159,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Verbundprojekt besteht Zusammenarbeit mit folgenden Einrichtungen:

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Analyse ADELA-Experimente für spezielle Messtechnik, Literaturstudium

AP2: Selektion/Erprobung von Messverfahren

AP3: Entwicklung und Aufbau der Instrumentierung

AP4: Erprobung und Kalibrierung spezieller Instrumentierung an eigenem Strömungsversuchsstand

AP5: Unsicherheitsanalysen

AP6: Einsatz der Strömungsmessverfahren am Integralexperiment, Datenanalysen

Aufstockung AP0: Analyse bisheriger Versuche und Messtechnologierecherche

Aufstockung AP1: Optimierung, technologische Umsetzung und Experimente

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### AP6:

An der DVABEG Versuchsanlage beim Projektpartner HSZG-IPM wurde der Thermoanemometriegittersensor (TAGS) zwischen 2. und 3. Abstandhalter montiert. In dieser Position wurde das radiale Geschwindigkeitsfeld in den Unterkanälen bestimmt. Die Ergebnisse dienen zur Festlegung der Eintrittsbedingung für die Strömungssimulation. Die Experimentaldaten, welche mit dem TAGS begleitend zu den Experimenten beim Projektpartner TUD-WKET an der Versuchsanlage ALADIN generiert wurden, bilden die Grundlage für weiterführende Analysen. Es wurde hinsichtlich des konvektiven Wärmetransports in den Unterkanälen folgenden Fragestellungen nachgegangen:

- Phänomenologische Betrachtung: Nachweis der Dampfkühlung bei den Ausdampfversuchen und Nachweis eines Naturumlaufs über den Strömungspfad Randspalt - Eintrittsöffnung Kanal – Unterkanäle des Rohrbündels für das Aufheizexperiment bei trockenem Rohrbündel
- Quantifizierung des Wärmetransports in Rohrbündelunterkanälen. Als Austrittsbedingungen des Bilanzraums um das Rohrbündel wurden die mit dem TAGS gemessenen Temperaturen und Geschwindigkeiten verwendet. Die Eintrittsbedingungen ergeben sich aus mit Thermoelementen gemessener Temperatur am Rohrbündel-Eintritt für den Trockenversuch bzw. der Siedetemperatur von Wasser für den Ausdampfversuch.

#### Aufstockungsphase/AP0:

Die zeitliche Auflösung zwischen zwei Geschwindigkeitsmesspunkten ist aktuell auf 10 min beschränkt. Es wurde herausgefunden, dass die Temperatur der elektronischen Bauteile bedingt durch den Lastwechsel für Temperatur- und Geschwindigkeitsmessung variiert, was bei Nichteinhaltung der 10 min infolge der temperaturabhängigen Charakteristik Messfehler bewirkt.

Weiterhin wurden bestehende Methoden zur bidirektionalen Geschwindigkeitsmessung recherchiert. Dabei kommt ein Aufbau aus zwei Temperatursensoren und einem dazwischen befindlichen Heizer zum Einsatz. Die Methodik beruht entweder auf der time-of-flight oder der kalorimetrischen Methode.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

#### Aufstockungsphase/AP1:

Die betroffenen elektronischen Bauteile werden identifiziert und die Schaltung optimiert, der TAGS-Sensor auf konstruktive Möglichkeiten zur Umordnung der Messpunkte überprüft sowie mögliche Alternativkonzepte zur bidirektionalen Geschwindigkeits-Messung erstellt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Arlit et al.: "Instrumentation for experiments on a fuel element mock-up for the study of thermal hydraulics for loss of cooling or coolant scenarios in spent fuel pools", Nuclear Engineering and Design, acc. 01.07.2017, (2017)

M. Arlit, E. Schleicher and U. Hampel: "Thermal Anemometry Grid Sensor", Sensors, 17, (2017)

M. Arlit, E. Schleicher and U. Hampel: "Thermal Anemometry Grid Sensor for Spatially-Resolved Measurement of Gas Phase Temperature and Velocity in Fuel Element Subchannels", Proceedings of the 17th NURETH in Xi'an/China, (2017)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 040A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt A: Mischnähte, Ausströmen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2014 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 737.927,20 EUR	<b>Projektleiter:</b> Schuler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Verbesserung des Verständnisses und der Grundlagen zur quantitativen Beschreibung der Wechselwirkungsvorgänge zwischen dem Wandwerkstoff druckbeaufschlagter Komponenten und der turbulenten Durchströmung bei hohen Drücken bis zu 75 bar. Zum einen soll die thermische Wechselbelastung einer Rohrumfangsschweißnaht (Mischschweißnaht) untersucht werden, welche sich stromab einer Einspeisestelle warm/kalt (T-Abzweig) befindet. Zum anderen soll kontrolliert eine Leckstelle (wanddurchdringender Fehler/Leck definierter Größe in Rohrbauteil) eingebracht werden, deren Verhalten unter dem Einfluss des Innendruckes, der Temperaturverteilung und der turbulenten Strömung untersucht wird. Das Vorhaben baut direkt auf dem Vorhaben 02NUK009A auf und nutzt den im Rahmen dieses Vorhabens aufgebauten Versuchskreislauf. In diesem Zusammenhang werden vom Institut für Kernenergetik (IKE) Universität Stuttgart und der Materialprüfanstalt (MPA) Universität Stuttgart experimentelle und numerische Untersuchungen von LWR-spezifischen Rohrleitungselementen durchgeführt. Ziel ist die gekoppelte dreidimensionale Simulation und experimentelle Validierung der Vorgänge bei im Rohrleistungssystem auftretenden Rohrumfangsschweißnähten und rissartigen Lecks. Zur Charakterisierung des mechanischen Verhalten von Mischweißnähten werden Laborproben im Ermüdungsversuch an Luft und bei Bedingungen des LWR-Mediums geprüft sowie Rohrstücke mit Rohrumfangsschweißnaht unter realen Bedingungen (75 bar, 280 °C) im Versuchskreislauf untersucht. Experimentelle Untersuchungen zum Ausströmverhalten aus rissartigen Lecks sollen den bisherigen Kenntnisstand verfügbarer Berechnungsmodelle prüfen und erweitern. Das IKE-Teilprojekt (02NUK040B) umfasst die messtechnische Erfassung der Strömungsvorgänge im Versuchskreislauf sowie die strömungsmechanische Modellierung (Thermofluidodynamik) mit entsprechenden Simulationsrechnungen. Das MPA-Teilprojekt (02NUK040B) beinhaltet den Umbau der bestehenden FSI-Versuchsanlage entsprechend den Vorhabenszielen, die Durchführung von Ermüdungsversuchen an Laborproben sowie die Durchführung von Ermüdungsversuchen an geschweißten Rohrmodulen bzw. Ausströmversuchen an Leckmodulen. Strukturmechanische Berechnungen werden eingesetzt um Werkstoffmodelle anhand von Ermüdungsversuchen mit Laborproben aufzubauen um das mechanische Verhalten der Mischschweißnaht- bzw. Leckmodule numerisch abzubilden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Untersuchungen an einer Mischschweißnaht, im Einzelnen:

Werkstoffcharakterisierung (AP1.1), Strömungstechnische Untersuchungen (AP1.2), Versuchskreislauf und Versuchsdurchführung (AP1.2.1), Durchführung der Messungen (AP1.2.2), Auswertung der Messergebnisse (AP1.2.3), Gekoppelte Simulation (AP1.3)

- AP2: Ausströmverhalten aus einem Leck, im Einzelnen:  
 Teststrecke und Versuchsdurchführung (AP2.1), Messung der Leckströmung (AP2.2), Gekoppelte numerische Simulation (AP2.3), Bewertung der Messergebnisse (AP2.4)
- AP3: Berichtswesen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.1: Das Versuchsprogramm zu den Ermüdungsversuchen wurde im August 2017 abgeschlossen. Die Auswertung der Versuche lief planmäßig.
- AP1.2: Umbaumaßnahmen an der Kreislaufführung zur Durchführung der Bauteilversuche mit Mischschweißnaht wurden durchgeführt. Die Mischschweißmodule wurden gefertigt und mit Thermoelementen instrumentiert.
- AP1.2.1: Bauteilversuche an den Mischschweißnahtmodulen sind abgeschlossen. Die Auswertung der Ergebnisse ist abgeschlossen.
- AP1.2.2: siehe IKE
- AP1.2.3: Auswertung der Versuche verläuft planmäßig.
- AP1.3: siehe IKE
- AP2.1: Erforderliche Umbaumaßnahmen am FSI-Kreislauf zur Durchführung der Leckageversuche sind durchgeführt. Der Kondensator zur Kondensation des ausgetretenen Dampfmassenstroms am Leckmodul ist in Betrieb.  
 Das Leckmodul wurde in den Kreislauf eingebaut und Versuche mit unterschiedlichen Rissblenden durchgeführt. Es wurden Leckageblenden mit realistischen Ermüdungsrissen hergestellt. Im Rahmen der Projektverlängerung sind weitere Leckageblenden mit größeren Wandstärken geplant.
- AP2.2: siehe IKE
- AP2.3: siehe IKE
- AP2.4: Die Auswertung der Messreihen an Kleinversuchsständen (IKE+MPA) und FSI-Großversuchsstand (MPA) läuft parallel mit weiteren Messungen. Die Leckageberechnungen mit analytischen Modellen mittels WinLeck (GRS) laufen.
- AP3: Die bisherigen Erkenntnisse zu AP1 wurden in Form des Abschlussberichts dokumentiert. Die Berichtserstellung läuft.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.1: Fortsetzung der Ermüdungsversuche gemäß Prüfplan.
- AP1.2: Vermessung der Strömung unter veränderten Bedingungen.
- AP2.1: Durchführung weiterer Messreihen zur Untersuchung der Erfassung von Druck- und Temperaturzuständen im Spalt sowie Leckagemessungen an weiteren Schlitzen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- M.C. Kammerer, X. Schuler, S. Weihe, M. Zhou, R. Kulenovic, E. Laurien: Thermo-mechanical loading of full-scale welded piping components in high temperature water environment. ASME PVP Conference, July 16-20, 2017, Paper 65606
- F.E. Silber, X. Schuler, S. Weihe, S. Schmid, R. Kulenovic, E. Laurien, K. Heckmann, J. Sievers: Investigation of leakage rates in pressure retaining piping. ASME PVP Conference, July 16-20, 2017, Paper 65360

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart, Keplerstr.7, 70174 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 040B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt B: Numerische Simulation turbulenter Strömung		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2014 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.030.269,54 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Laurien	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundprojekt erfolgt in Zusammenarbeit mit der Materialprüfanstalt Stuttgart. Es werden Untersuchungen an einer Rohrrundschweißnaht (ausgeführt als Mischschweißnaht) unter thermisch fluktuierender Beanspruchung stromab einer Vermischungsstelle (T-Abzweig) durchgeführt.

Des Weiteren sollen rissartige Lecköffnungen in die Rohrwand kontrolliert eingebracht und Leckströmungen sowie deren Umgebung bei unterschiedlichen Temperaturen, Drücken und Strömungsbedingungen vermessen werden. Die Untersuchungen finden im modular aufgebauten Rohrleitungsversuchsstand (FSI-Kreislauf, FSI: Fluid-Struktur-Interaktion) bei realitätsnahen thermohydraulischen Versuchsbedingungen ( $p_{\max} = 75$  bar,  $T_{\max} = 280$  °C) statt. Messungen der turbulenten Strömungsgrößen und der Temperaturverteilung innerhalb der Rohrwand werden mit Thermoelementen durchgeführt. Die Entwicklung und der Test weiterer, fortgeschrittener Strömungs-Messtechnik und von Visualisierungsmethoden erfolgt im IKE anhand vereinfachter, isothermer Experimente. Die ein- und zweiphasige Strömungs-Struktur-Wechselwirkung wird außerdem mit zeitabhängig gekoppelten numerischen CFD-Simulationen unter Zuhilfenahme der Large-Eddy-Simulation untersucht sowie mit den erhaltenen experimentellen Ergebnissen verglichen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in 3 Arbeitspakete (AP) unterteilt.

AP1: Untersuchungen Mischschweißnaht, i. E.: Werkstoffcharakterisierung (AP1.1), Strömungstechnische Untersuchungen (AP1.2), Versuchskreislauf und Versuchsdurchführung (AP1.2.1), Durchführung der Messungen (AP1.2.2), Auswertung der Messergebnisse (AP1.2.3), Gekoppelte numerische Simulation (AP1.3)

AP2: Untersuchungen zum Ausströmverhalten aus einem Leck, i. E.: Teststrecke und Versuchsdurchführung (AP2.1), Messung der Leckströmung (AP2.2), Gekoppelte numerische Simulation (AP2.3), Bewertung der Messergebnisse (AP2.4)

AP3: Berichtswesen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.2.2: Strömungstechnische Untersuchung der Geschwindigkeitsprofile in den Einlaufbereichen des T-Stücks der FSI-Versuchsanlage mithilfe des Particle Image Velocimetry (PIV) Messverfahrens. Die Messungen erfolgten am stromauf installierten optischen Modul des horizontal orientierten 90° T-Stücks sowohl im Hauptstrang als auch im Nebenstrang für 3 unterschiedliche Fluidtemperaturen im Hauptstrang ( $T = 90$  °C,  $120$  °C und  $150$  °C) bei Haupt- und Nebenstrangmassenströmen  $0,6$  kg/s bzw.  $0,2$  kg/s. Die PIV-Messungen wurden an jeder Messstelle in einer vertikalen und horizontalen Messebene durchgeführt. Zur Reduzierung von optischen Verzerrungen in PIV-Bildaufnahmen, hervorgerufen durch thermisch induzierte Konvektion im optischen Modul, wurde das Background Oriented Schlieren (BOS) Verfahren eingesetzt.

AP1.2.3: Auswertung der PIV-Messungen mithilfe des 2D-Kreuzkorrelationsverfahrens und Datenaufbereitung erhaltener Strömungsgeschwindigkeitsprofile für Vergleiche mit Simulationsergebnissen.

Frequenzanalysen der mit Thermoelementen gemessenen, zeitabhängigen Temperaturschwankungen im Strömungsvermischungsbereich zeigen z. T. einen niederfrequenten Peak in entsprechenden Frequenzspektren auf. Als Ursache hierfür wurde eine tangential vorliegende Oszillation der thermischen Strömungs-

schichtung identifiziert und als neue Strömungsform in thermischen Strömungsvermischungsvorgängen an einer horizontal orientierten T-Stück-Rohrverbindung klassifiziert, die in Abhängigkeit von Haupt- und Nebenstrangmassenstrom sowie deren Temperatur-differenz initiiert wird.

- AP1.3: Durchführung von LES-Simulationsrechnungen für maximale experimentelle Betriebsbedingung ( $T = 265\text{ °C}$ ,  $75\text{ bar}$ ) unter Verwendung der Einlaufbedingungen aus dem Experiment (physikalisch simulierte Zeit ca.  $90\text{ s}$ ). Auswertung der Simulationsergebnisse und Vergleich mit experimentellen Daten. Die berechneten Temperaturverteilungen in der Vermischungszone zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem Experiment. Die tangentielle Schwingung der thermischen Strömungsschichtung in der Vermischungszone wird ebenfalls abgebildet, sodass weitere, detaillierte numerische Strömungsuntersuchungen bzgl. dieser spezielle Strömungsform möglich sind.
- AP2.2: Anpassung des Leakage Flow (LF) Versuchsstands für Messungen an Rissgeometrien mit größeren Wandstärken. Umbau des Versuchsstands für optische Strömungsuntersuchungen am Risseintritt mittels Endoskop.
- AP2.3: Anpassung des 3-dimensionalen numerischen CFD-Netzes der Rissgeometrie von Riss 1 mit Ansys ICEM unter Ausnutzung der zweiten Symmetrieebene des rechteckigen Risskanals zur Verringerung der Simulationsrechenzeit. Parameterstudie zur Untersuchung des Einflusses von Keimanzahldichte und minimalem Blasendurchmesser auf das Ergebnis von Leckmassenstrom und Dampfgehalt. Simulation der Zweiphasenströmung bei  $120\text{ °C}$  und  $140\text{ °C}$  im Druckbereich von  $4\text{ bar}$  bis  $6\text{ bar}$  unter Berücksichtigung der experimentellen Ergebnisse.
- AP2.4: Vergleich der experimentellen Ergebnisse im zweiphasigen Strömungsbereich ab  $100\text{ °C}$  mit analytischem Modell (modifizierte Bernoulli-Gleichung) und mit CFD-Simulationsergebnissen. Berechnung der Rohrreibungszahl verschiedener Rissgeometrien unter Berücksichtigung der experimentellen Ergebnisse aus den einphasigen Strömungsexperimenten: 1) Riss 1 mit Blasius-Gleichung für glatte Rohrwand; 2) Riss 2 mit Colebrook-Gleichung für den Übergangsbereich von hydraulischer glatter Wand zu vollkommen rauher Wand; 3) Bohrung mit von Kármán-Gleichung für vollkommen raue Rohre. Gute Übereinstimmung zwischen experimentellen und theoretischen Werten bei hohen Drücken bzw. bei Fluidunterkühlungen größer als  $25\text{ K}$  mit mittleren absoluten Abweichungen von  $4\%$  (Riss 1),  $8\%$  (Riss 2) und  $6\%$  (Bohrung). Zunahme der Abweichung mit abnehmender Unterkühlung des Fluids unter  $25\text{ K}$  bis zu  $100\%$ , da modifizierte Bernoulli-Gleichung für kleine Fluidunterkühlung ihre Gültigkeit verliert. Gute Übereinstimmung der Simulationsergebnisse bei  $120\text{ °C}$  und  $4\text{ bar}$  bzw.  $6\text{ bar}$  (Abweichung  $< 5\%$ ). Zunahme der Abweichung ( $15\%$ ) bei  $140\text{ °C}$  und  $6\text{ bar}$ , Ursache: bisherige Rechnungen mit  $1\text{ bar}$  als Auslassdruck (Umgebungsdruck), allerdings liegt aufgrund der Verdampfung der unterkühlten Flüssigkeit im Risskanal der Druck im Auslass über dem Umgebungsdruck. Zunahme des Effekts mit zunehmender Fluidtemperatur bzw. abnehmender Unterkühlung.
- AP3: Noch nicht begonnen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.2.2: Experimentelle Untersuchung der Strömungsvermischung am vertikal eingebauten T-Stück der FSI-Versuchsanlage.
- AP1.2.3: Auswertung durchgeführter Messkampagnen zum Vergleich mit numerischen Simulationen.
- AP1.3: LES-Rechnungen mit verschiedenen Einlaufbedingungen (Variation Massenstrom Haupt-/Nebenstrang und Temperatur Hauptstrang). Vergleich der Simulationsrechnungen mit experimentellen Untersuchungsergebnissen.
- AP2.2: Optische Untersuchungen der Leckströmung am Risseintritt mittels Endoskop. Vermessung weiterer Rissgeometrien mit größeren Wandstärken im Druck- und Temperaturbereich bisher durchgeführter Experimente.
- AP2.3: Anpassung des Simulationsnetzes für CFD-Simulationen mit Phasenübergang bis  $170\text{ °C}$ . Variation der Druckrandbedingungen am Strömungsausstritt.
- AP2.4: Vergleich experimenteller Ergebnisse im unterkühlten Bereich mit weiteren theoretischen Modellen für Zweiphasenströmungen (z. B. Homogenes Gleichgewichtsmodell) geringerer Unterkühlung und CFD-Simulationen.
- AP3: Erstellung des Abschlussberichts.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- M. Zhou, R. Kulenovic, E. Laurien: Investigation on temperature fluctuations near a geometric weld-seam model downstream of a  $90^\circ$  T-junction in a thermal mixing process, 17th International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal-Hydraulics (NURETH-17), Xi'an, China, September 3-8, 2017
- M. Kammerer, X. Schuler, S. Weihe, M. Zhou, R. Kulenovic, E. Laurien: Thermo-mechanical loading of full-scale welded piping components in high temperature water environment, ASME 2017 Pressure Vessels and Piping Conference, PVP2017, Waikoloa, Hawaii, USA, July 16-20, 2017
- S. Schmid, R. Kulenovic, E. Laurien, F. E. Silber, X. Schuler, S. Weihe: Investigations on subcooled leakage flows at a through-wall crack, 17th International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal-Hydraulics (NURETH-17), Xi'an, China, September 3-8, 2017

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 041A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.009.512,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Lippmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

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

Seitens der GRS wurden Arbeitspakete wie folgt definiert:

- AP1.1: Recherche (bis 12/2015)
- AP1.2: Modellentwicklung und Validierung (10/2016 bis 06/2018)
- AP2: Technischer Support (01/2017 bis 12/2018)



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Abgeschlossen.
- AP2: Die Mängelbeseitigung an den Volumendampfgehalts-Sonden hat stattgefunden.
- AP3: Die Experimente zum Wärmeübergang am Einzelrohr sind abgeschlossen. Die Messdaten stehen den Partnern zur Diskussion auf dem Projektlaufwerk bereit. Die Geometriemodifikationen des Steig- und Fallrohrs wurden konstruktiv ausgearbeitet. Die Umbaumaßnahmen haben begonnen.
- AP4: Für die Weiterentwicklung der Wärmeübergangsmodelle wurden die in ATHLET implementierten Korrelationen mit den experimentellen Daten verglichen und in Zusammenhang gesetzt. Die Entwicklung eines ersten, auf die GENEVA abgestimmten, reduzierten Rechenmodells hat stattgefunden. Der Vergleich mit den ATHLET-Rechenergebnissen zeigt, dass Dichtewellenoszillationen 2. Art, aber noch kein Flashing und Geysering mit dem erstellten Modell abgebildet werden können.
- AP5: Noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 03/2017 bis 12/2018).
- GRS: Hinsichtlich der Validierung und Modellentwicklung des Systemcodes ATHLET einschließlich der Weiterentwicklung des Post-Processing-Tools wurde der Datensatz zur Simulation der COSMEA erstellt und erste Voraussrechnungen durchgeführt. Die Unterstützung der Projektpartner bei der Anwendung von ATHLET erfolgte weiterhin. Die Ergebnisse sind im Halbjahresbericht der GRS (2017\_HJ01\_PANAS) enthalten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: Durchführung von Experimenten und Auswertung der Daten
- 07/2017: Abschluss der Versuchsreihe „Experimente zum Wärmeübergang am Einzelrohr“
  - 01/2018: Durchführung der Versuchsreihe „Experimente zur Naturumlaufstabilität“
  - 02/2018: Durchführung der Versuchsreihe „Experimente zum Wärmeübergang am Rohrbündel“
- AP4: Modellentwicklung und Weiterentwicklung RAM/ROM
- 01/2018: Überprüfung der ATHLET-Modelle hinsichtlich Verdampfung innen und Kondensation außen anhand der experimentellen Daten
  - 03/2018: Entwicklung neuer Integralmodelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren
  - 03/2018: Implementierung von Rückströmung und dem Fall Siedegrenze im Riser
- AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems
- 02/2018: ATHLET-Simulation der GENEVA
  - 03/2018: ATHLET-Simulation des gesamten Notkühlsystems NOKO und GEKO
  - 07/2018: Bewertung der Stabilitätseigenschaften
- GRS: Nachrechnung der COSMEA Experimente und Vergleich von experimentellen und Simulationsdaten, Überprüfung des ATHLET Datensatzes aufgrund der Unterschiede zu den Ergebnissen der THD, Verbesserung der Bedienbarkeit des graphischen Post-Processing-Tools zur Darstellung der Strömungsformen

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Experimental investigation of the developing two-phase flow in a slightly inclined heated tube; F. Viereckl, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; Poster: Multiphase Flow Conference, Dresden-Rossendorf, November 2017

Thermohydraulische Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärmeabfuhrsystemen von Reaktoren der Generation 3+; F. Viereckl, C. Schuster, A. Hurtado; Vortrag/Präsentation: Kraftwerkstechnisches Kolloquium, Kernenergetisches Symposium, Dresden, Oktober 2017

Investigation of thermal hydraulic models for condensation and boiling in passive safety systems; F. Viereckl, R. Manthey, C. Schuster, A. Hurtado; Conference paper: 25th International Conference on Nuclear Engineering, Shanghai, China, Juli 2017

<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 31.12.2018		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 787.100,00 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: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP2: Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, Instrumentierung der Versuchsanlagen und Erprobungsphase (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP3: Durchführung von Experimenten, Datenauswertung und –aufbereitung für die Modellentwicklung und Stabilitätsanalyse (TUD-WKET, THD, HZDR, Framatome)
- AP4: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR, Framatome)
- AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems durch Einsatz der neuen Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Eine umfangreiche Literaturstudie zur Modellierung von Mehrphasenströmungen mit Stoff- und Wärmeübergang wurde durchgeführt. Insbesondere die verschiedenen Formen der Kondensation, wie direkte Kontakt-kondensation, Filmkondensation und Kondensation an Tröpfchen wurden betrachtet. Es erfolgte die Einarbeitung in die im HZDR entwickelten CFX-Modellansätze, wie iMUSIG, AIAD und GENTOP.

Gemeinsam mit den anderen Doktoranden des PANAS-Projektes wurde mit der Erstellung eines Überblicks zu passiven Wärmeabfuhrsystemen begonnen. Wegen der enormen Datenmenge wurde beschlossen, den Bericht in zwei Teilen abzufassen. Der erste Teil wurde bereits zum 2ten Mal von allen Doktoranden überarbeitet und kann nun an die Betreuer weitergegeben werden. Der zweite Teil ist noch in Bearbeitung.

AP2: Im 3. und 4. Quartal 2017 wurden an der Versuchsanlage COSEMA-I die experimentellen Daten zur Kondensatgerinne-Entwicklung im geneigten Rohr (Notkondensator als weiterer Teil des passiven Wärmeabfuhrkonzepts) für verschiedenen Druckstufen (5, 12, 25, 45 und 65 bar) erhoben. Zur berührungslosen Bestimmung der Kondensatgerinne-Höhen auf der Innenseite des Kondensationsrohres kam die konventionelle Röntgen-CT zum Einsatz. Weiterhin konnte über die im Querschnitt des Kondensationsrohres azimuthal verteilten Wär-

mestromsonden die korrespondierenden Wärmeströme bestimmt werden. Insgesamt wurden 28 ausgewählte stationäre Strömungszustände an der COSMEA-Anlage eingestellt und entsprechend vermessen.

Im Anschluss der Messungen wurde die zusätzlich Dampfstützleitung in die COSMEA-Anlage integriert und geprüft. Die dadurch realisierbaren Messungen mit erhöhtem Wassergehalt (wichtig für die Validierung der Phasenübergänge von geschichteter zu Slug- und Pfropfenströmung) sind für Juni 2018 geplant. Aktuell wird eine Ringströmung initial in das Kondensationsrohr über einen Zweiphasenmischer eingespeist. Die für die Numerik wichtigen, möglichst real zu definierenden, initialen Strömungsbedingungen für höhere Wassergehalte, können mit diesem Mischer nicht realisiert werden. Daher wurde ein neuer Mischer konzipiert, mit dem eine geschichtete Strömung initial realisiert werden soll. Dieser soll später auch für die Titanrohrteststrecke (COSEMA-II) in modifizierter Form zum Einsatz kommen. Entwicklung, Aufbau und Montage des Mixers wird ca. drei Monate in Anspruch nehmen.

Die Titan-Halbzeuge für die neue Titan-Teststrecke, welche für den Einsatz der ultraschnellen Röntgentomographie benötigt werden, sind durch Lieferschwierigkeiten noch immer nicht am HZDR eingetroffen. Daher wird es hier zu einer jetzt doch erheblichen Verzögerung der TÜV-Zertifizierung und der Fertigung, Installation und Inbetriebnahme von COSEMA-II kommen. Aktuell ist von mindestens ca. 2 Monaten zusätzlich zu den bereits in den vorhergehenden Zwischenberichten angezeigten 6 Monaten auszugehen.

Die im Rahmen einer interdisziplinären Projektarbeit konstruierten und bereits gelieferten Teile des ultraschnellen Röntgentomographs (Vakuumrezipient und modularer Detektorkopf) konnten durch die aktuell noch durchzuführenden Messungen an COSMEA-I mit erhöhtem Wassergehalt noch nicht zusammengebaut, getestet und installiert werden.

Da sich sowohl bei der Realisierung des durchstrahlbaren Targets als auch bei den intensiven Vorstudien zur Entwicklung eines neuen Mehrebenen-detektors starker zeitlicher Verzug abzeichnet, wurde dessen Umsetzung zurückgestellt und stattdessen der Einsatz eines vorhandenen und modifizierten Zweiebenen-Scanners (ROFEX) beschlossen. Da das Design des Detektorkopfes modular ausgeführt worden ist, kann ein Standardtarget genutzt werden. Der zur Verfügung stehende Strahlungsdetektor muss seitens des Detektorfrontends modifiziert werden. Die Arbeiten für die Anpassung des Detektors werden ca. sechs Monate dauern, wobei mit der aktuellen Planung an COSMEA-I diese vollparallel im Projekt ausgeführt werden können.

AP3: Die Messdaten der stationären Strömungszustände in COSMEA-I (Temperaturen, Drücke, Gasgehalte, Wärmeströme, Kondensationsraten) wurden ausgewertet und den Projektpartner via Email und auf dem PANAS-Projektordner der TU Dresden zur Verfügung gestellt. Um eine größere Sichtbarkeit der Messergebnisse und der einzigartigen Messanlage COSEMA-I zu erreichen, wird deren Publizierung in einem Journal nebst Messdatenarchivierung im ersten Halbjahr 2018 angestrebt.

AP4: Wenn Dampf unter hohem Druck in den Notkondensator gelangt, treten zwei Arten der Kondensation auf. Wenn Dampf mit der Wand in Berührung kommt, erfolgt Kondensation und ein dünner Flüssigkeitsfilm entsteht. Bei Vorhandensein des Films tritt Kondensation auch an der Grenzfläche Flüssigkeit-Dampf (Direct Contact Condensation (DCC)) auf. Deshalb wurde zuerst die Wandkondensation betrachtet. In der ANSYS CFX Software ist ein Wandkondensationsmodell implementiert, das selbst für einphasige Strömung funktioniert, aber den Flüssigkeitsfilm vernachlässigt. Die Eigenentwicklung konzentrierte sich daher auf die Beschreibung des an der Wand entstehenden Flüssigkeitsfilms.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP2:

- Inbetriebnahme der zusätzlichen Dampfstützleitung
- Herstellung und Montage eines neuen Zweiphasenmischers für COSMEA-I
- Anschließende Messungen mit erhöhten Wassergehalten
- TÜV-Zertifizierung der Titan-Grad-9-Proben
- Modifikation des vorhandenen Strahlungsdetektors (ROFEX)
- Herstellung eines Strahlungstargets und Installation in den vorhandenen CT-Kopf

AP4:

- Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Korrelationen für den Wärmeübertragungskoeffizienten
- Weitere Untersuchung des Einflusses verschiedener Einbauten auf den Wärmeübertragungsprozess
- Detailliertere Studien zur Anwendung des GENTOP-Konzeptes
- Untersuchung der Ursache von Temperaturdifferenzen an unterschiedlichen azimuthalen Positionen in jedem Querschnitt
- Vergleich zu Messungen mit höheren Wassergehalt

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Framatome GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 041C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 320.606,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Walther	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

Die Genauigkeit der bestehenden Modelle des von Framatome verwendeten Systemcodes S-RELAP5 wurde durch die Nachrechnung eines Experiments des Notkondensators am INKA Teststand geprüft. Im Ergebnis unterschätzt die Simulation die im Experiment beobachtete Wärmeübertragungsrate. In einem nächsten Arbeitsschritt wurde ein mechanistisches Kondensationsmodell, entwickelt von Frau Dr. Rita Szijarto im Rahmen ihrer Dissertation ETH - 22550 an der ETH Zürich (2015), in den Systemcode S-RELAP5 implementiert. Eine genaue Analyse dieses mechanistischen Kondensationsmodells hat darin Modellschwächen offenbart, die im Rahmen der durchgeführten Arbeiten überarbeitet wurden. Dieses Modell stellt die Grundlage für die weiteren Modellentwicklungen dar.

Der COSMEA-Teststand am HZDR wurde mit CFD abgebildet. Da hierzu bislang noch keine vom HZDR entwickelten CFD Modelle vorlagen, wurden erste CFD-Simulationen mit dem bereits in ANSYS CFX verfügbaren Kondensationsmodell unter Verwendung von modifizierten Parametern zum Massenübergang durchgeführt. Die Ergebnisse erscheinen physikalisch plausibel; das Modell ist in der Lage, die Kondensation qualitativ zu erfassen und zeigt quantitativ vor allem bei hohem Druck mit dem Experiment vergleichbare Ergebnisse. Die Framatome CFD-Simulation stellt somit einen guten Vergleichspunkt für die weitere Modellentwicklung basierend auf den dann verfügbaren CFD-Modellen des HZDR dar.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Basierend auf den experimentellen Daten vom NOKO-Teststand COSMEA am HZDR soll unter Berücksichtigung des revidierten mechanistischen Kondensationsmodells die empirischen Korrelationen in den Wärmeübertragungsmodellen mit Phasenübergang in S-RELAP5 weiter vorangetrieben werden. Diese physikalischen Modelle sollen im Rahmen einer anschließenden Rechnung validiert werden.

Mit Hilfe der experimentellen Daten vom Versuchstand GENEVA der TU Dresden sollen neue Integralmodelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren, in denen Verdampfung stattfindet, entwickelt werden.

Die physikalischen Modelle sollen im Rahmen einer anschließenden Rechnung validiert werden. Ziel ist eine Simulation des gesamten Notkühlsystems.

Hinsichtlich der CFD-Modellentwicklung ist geplant, die von den Projektpartnern des HZDR entwickelten CFD-Modelle für die primärseitige Kondensation auf industrielle CFD-Anwendungen zu übertragen, deren Performance zu testen und gegebenenfalls zu verbessern. Ziel hierbei ist eine Validierungsrechnung für das Modell.

### **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 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 308.568,00 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 Teilprojekt D behandelt die Modellierung der statischen und transienten Wärmeübertragungsvorgänge einer Zweiphasen-Wasser-Dampf-Strömung sowie die Wärmeüberträger-Strukturen. Ausgehend von den in der Literatur verfügbaren Modellen und auf Basis kinetischer Modelle werden die Messergebnisse, die an den Testständen GENEVA der Technischen Universität Dresden und des Teststandes zur Wärmedurchgangsmessung in geneigten Rohren des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf analysiert und optimierte Wärmeübergangsmodelle erarbeitet. Daran anschließend wird die Implementierbarkeit dieser Modelle in gängige Fluidynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

AP1: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen

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

AP3: Vergleich des Simulationsresultats mit dem Messergebnis und Entwicklung von Modellen im Hinblick auf vorhandene Zweiphasenströmungs-Instabilitäten und transienten Modellen. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch-statischer und thermisch-dynamischer Kopplungen

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

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

Der Terminplan wurde an die Änderungen im PANAS Projekt angepasst.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Das AP1 ist erfolgreich abgeschlossen. Die Arbeiten im Rahmen des AP2, 3 und 4 haben gleichzeitig begonnen. Es entspricht den AP1, die Ergebnisse aus der Literaturrecherche wurden im PANAS-Meeting präsentiert. Die Sensitivitätsanalysen der Wärmeübertragungskoeffizienten und der Strömungskarten wurden durchgeführt. Die Ergebnisse wiesen darauf hin, dass sich der am besten geeignete Koeffizient für die Wärmestromdichte aus dem Shah Koeffizient berechnet. Des Weiteren werden die Resultate der Literaturrecherche in einem Overviewpaper erfasst. Der Entwurf wurde bereits erstellt und die zweite Korrektur innerhalb Doktoranden durchgeführt. Das Paper wird kurzfristig für die Betreuer freigegeben. Aufgrund der Daten von vorherigen Experimenten aus COSMEA wurde das Kondensationsmodell von ATHLET entwickelt. Das Model berücksichtigt innerseitige Kondensation und außenseitige einphasige erzwungene Konvektion. Die Ergebnisse der Simulation, die von thermischen Kopplungsparametern (wie z. B. Wärmestromdichte, Temperatur) abhängen, wurden ausgewertet, um die Simulationsergebnisse mit den experimentalen Ergebnissen zu vergleichen. Die Genauigkeit der Simulation über die Wärmestromdichte und Kondensationsrate war ausreichend und der Fehler wurde angegeben. Die bisherigen Ergebnisse wurden in einem Konferenzpaper zusammengefasst und bei der NURETH Konferenz veröffentlicht. Ein Vortrag über den Kondensationsprozess in COSMEA wurde in SG-FANS Symposium Karlsruhe präsentiert. Diese Präsentation wurde zur Veröffentlichung im Journal "Nuclear Engineering (Kerntechnik)" ausgewählt. Übrigens wurde das ATHLET-Model aufgrund der Experimente von GENEVA entwickelt. Diese Modelle umfassen die Simulation des Einzelrohrs und Rohrbündels. Bezüglich des Models wurde ein Paper für die AMNT-Konferenz geschrieben und der Abstract wurde bereits angenommen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Eine Overviewpaper-Veröffentlichung wird durch den Doktoranden im Projekt geplant, wobei der erste Entwurf Anfang 2018 eingereicht werden soll. Das ATHLET-Model von COSMEA wird anhand von neuen experimentalen Ergebnissen validiert. Bei Bedarf werden die thermischen Kopplungsmodelle mit CFX entwickelt, sodass die Ergebnisse mit Versuchen von GENEVA vergleichbar sind. Drei Publikationen (AMNT, Kerntechnik, NUTHOS) werden vorbereitet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Konferenzpaper (Simulation of Condensation in a slightly inclined tube at COSMEA facility with ATHLET code) wurde für die NURETH-Konferenz veröffentlicht.

Eine Veröffentlichung (Overviewpaper für die verschiedenen Wärmeübertragungsmodelle) wird verfasst. Der erste Entwurf wird Anfang 2018 eingereicht.

Ein Vortrag (Investigate of condensation process in COSMEA with ATHLET code) im SG-FANS Symposium wurde präsentiert und die Präsentation wurde zur Veröffentlichung im Journal Kerntechnik ausgewählt.

Ein Abstract des Konferenzpapers wurde für die AMNT-Konferenz angenommen. Das Paper ist noch in Bearbeitung.

Ein Abstract des Konferenzpapers wurde für die NUTHOS Konferenz angenommen. Das Paper ist noch in Bearbeitung.





## **2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung**

<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 039A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.916.145,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Altmaier	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP1: Initialisierungsarbeiten

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei erhöhten Temperaturen

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

AP5: Bewertung von Schätzmethode

AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen des Berichtszeitraums wurden von KIT-INE folgende Arbeiten durchgeführt:

- KIT-INE, Projektmanagement: Abschluss des Aufstockungsantrags für ThermAc, Organisation von Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Abschluss der Löslichkeitsexper. mit Ca-U(VI)-CO<sub>3</sub>(s) Festphasen. (ii) Erstellung Manuskript Lee et al. „Impact of T on Np(V) solid phases“, (iii) Erstellung Manuskript Endrizzi et al. zu „U(VI) solubility in dilute to concentrated NaCl at T = 25, 55, 80 °C, (iv) Erstellung Manuskript zu Nd(III) Löslichkeit bei höheren T (Endrizzi et al.), (v) Abschluss der Redoxexperimente mit Np(V).
- Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS:
  - (i) Weitgehender Abschluss isopiesterischer Messungen von Hexacyanoferraten, (ii) Löslichkeitsexperimente in gemischten Hexacyanoferratlösungen zur Analyse von Wechselwirkungen, (iii) Redoxmessungen in MgCl<sub>2</sub>-Lösungen (Ausfällung von Festphasen beobachtet).
- Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos21:
  - Anwendung der Enthalpie/Entropie Schätzmethode bzw. Vergleich mit experimentellen Daten für: (i) U(VI) System, (ii) Nd(III)-OH und Nd(III)-Cl Systeme, (iii) Np(V)-OH, Np(V)-Cl, Np(V)-SO<sub>4</sub> Systeme, (iv) Eu(III)-OH und Eu(III)-Cl System.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES:
  - (i) Systematische Evaluation isocoulombischer/iselektrischer Reaktionen, (ii) Automatisierter Datenexports in das PHREEQC-Format, (iii) Dokumentation der Applikationsmodule zur Generierung von allgemeinen und isocoulombischen/iselektrischen Reaktionen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- KIT-INE Projektmanagement: Abschluss des Aufstockungsantrags für ThermAc, Organisation von Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Erstellung Manuskript Lee et al. „Solubility of Ca-U(VI)-CO<sub>3</sub>(s) systems at T = 25 and 80 °C“, (ii) Einreichung der Publikation Lee et al. zu „Impact of T on Np(V) solid phases“, (iii) Einreichung Publikation Endrizzi et al. „U(VI) solubility in dilute to concentrated NaCl at T = 25, 55, 80 °C (Manuskript II), (iv) Einreichung Publikation Endrizzi et al. „Nd(III) solubility and hydrolysis at elevated T“ (v) Erstellung Manuskript Lee et al. „Redox chemistry of Np at elevated T“.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS:
  - (i) Fortführung der Redoxmessungen, (ii) Abschluss der isopiester. Messungen an einfachen Hexacyanoferrat-Lösungen, Start isopiester. Versuche im System NaCl-Na<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>-H<sub>2</sub>O, (iii) Polytherm. Modell für Hexacyanoferrate (25-80 °C), (iv) Modell zur Berechnung des O<sub>2</sub>-Partialdrucks auf Basis von Redoxmessungen in NaCl- und MgCl<sub>2</sub>-Lösungen.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos21:
  - (i) Erstellung technischer Datenblätter zu Ergebnissen der Schätzmethode, (ii) Weitergabe der Datenblätter an Projektpartner und Start der Diskussion zur Anwendbarkeit der Schätzmethode, (iii) Beitrag zur Publikation Endrizzi et al. „Nd(III) Löslichkeit bei höheren T“.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES:
  - (i) Vergleich von isocoulombischen Extrapolationen mit Experimenten, (ii) Erstellung einer Publikation zur ThermoFun-Programmibibliothek und, (iii) einer Publikation zu den Resultaten der isocoulombischen logK-Temperatur extrapolationen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

(1) Manuskript Endrizzi et al. bei J. of Chem. Thermodyn., (2) Vortrag: X. Gaona et al. „Np solution chemistry“ bei ACS Konferenz, Washington (USA), (3) Poster: Lee et al. „Np solid phases at elevated T“, Migration Conf., Barcelona (Spain). (4) Poster: Altmaier et al. „Generic Thermac poster“, Migration Conf., Barcelona (Spain)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 785.091,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Huitinen	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Die aus spektroskopischen Daten erhaltenen Komplexbildungskonstanten für das Cm(III)/Eu(III)-Phosphat-System wurden auf eine Ionenstärke von null korrigiert. Im Anschluss wurden Specific-Ion-Interaction (SIT) Parameter  $\varepsilon(\text{CmH}_2\text{PO}_4^{2+}/\text{EuH}_2\text{PO}_4^{2+}, \text{ClO}_4^-)$  bestimmt. Mit Hilfe der SIT-Methode konnten die temperaturabhängigen Komplexbildungskonstanten auf eine Ionenstärke von null extrapoliert werden und daraus die thermodynamischen Parameter  $\Delta_R H$  und  $\Delta_R S$  berechnet werden. Die erhaltenen Daten werden in einer wissenschaftlichen Publikation zusammengefasst.
- Hinsichtlich des U(VI)-Silikat-Systems erfolgten erste temperaturabhängige Lumineszenz-Untersuchungen im sauren pH-Bereich zur Validierung bereits vorhandener Literaturdaten.
- In Kollaboration mit dem Paul Scherrer Institut (PSI) erfolgten erste Untersuchungen im U(VI)-Silikat-System mit Hilfe der Schubert-Methode im basischen pH-Bereich, für welchen bisher noch keine U(VI)-Si-Komplexe bekannt sind. Die bisherige Auswertung der Daten weist auf eine 1:1 Stöchiometrie zwischen U(VI) und Si im basischen pH-Bereich hin.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Das Manuskript zu den Arbeiten der Eu(III)/Cm(III) Komplexierung mit Phosphaten wird fertiggestellt und für die Veröffentlichung in *Inorganic Chemistry* vorbereitet.
- Für die Cm(III)-Phosphat-Komplexierung sollen Untersuchungen bei höheren pH-Werten erfolgen, bei welchen die  $\text{HPO}_4^{2-}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  Liganden die Speziation dominieren. Ziel dieser Arbeiten ist es, für beide Liganden, Komplexbildungskonstanten und thermodynamische Daten für die Komplexe  $\text{CmHPO}_4^+$  und  $\text{CmPO}_4$  abzuleiten.
- Gleichzeitig sollen im Rahmen einer Masterarbeit neue Studien zum Einfluss der Halogenide ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ) auf das Quenchverhalten der U(VI)-Lumineszenz erfolgen. Dabei soll der Einfluss der Temperatur und der Anregungswellenlänge auf die photo-induzierte Reduktion von U(VI) zu U(V) untersucht werden.
- Im U(VI)-Silikat-System folgen TRIFS Untersuchungen über den gesamten pH-Bereich, um die bisherigen Erkenntnisse aus den Untersuchungen am PSI zu bestätigen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

N. Huittinen, N. Jordan, H. Lösch: „Complexation of trivalent lanthanides and actinides with aqueous phosphates at elevated temperatures (25–80 °C)” Posterpräsentation auf der Migration 2017, Barcelona, Spanien, September 10-15, 2017.

H. Lösch, N. Huittinen, T. Stumpf: „Uranium(VI) complexation with aqueous silicates under elevated temperatures” Posterpräsentation auf der Migration 2017, Barcelona, Spanien, September 10-15, 2017.

N. Jordan, M. Demnitz, H. Lösch, V. Brendler, N. Huittinen: Complexation of trivalent lanthanides (Eu) and actinides (Cm) with aqueous phosphates at elevated temperatures, *in Bearbeitung für Inorganic Chemistry*.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 654.706,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Panak	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- WP2: Die Hydrolyse von Cm(III) wurde als Funktion des pH-Wertes (3.7 – 11.8, 14) spektroskopisch untersucht. Die Ergebnisse weisen eine hohe Sensitivität des Messaufbaus bis in den nanomolaren Bereich auf. Eine Lösungsspeziation der Hydrolysereaktion konnte für geringe Ionenstärken bei 25 °C erhalten werden. Die Temperaturabhängig-

keit der Reaktion wurde qualitativ untersucht. Die vierte Hydrolysespezies  $\text{Cm}(\text{OH})_4^-$  konnte anhand der Fluoreszenzspektren bei pH 14 bei hohen Ionenstärken in NaCl nicht nachgewiesen werden. Ein Prototyp einer neuartigen Hochtemperaturzelle zur Untersuchung aquatischer Systeme bis 200 °C wurde angefertigt und erste Messungen zur Funktionalität durchgeführt. Die spektroskopische Zelle soll für die Laserfluoreszenz-, Röntgenabsorptions- und UV/Vis-Spektroskopie eingesetzt werden.

WP3: Im  $\text{NpO}_2^+$ -Cl<sup>-</sup>-System konnte eine Komplexierung von Np(V) bei sehr hohen Ionenstärken und hohen Chloridkonzentrationen beobachtet werden. Die Komplexierung zeichnet sich durch eine schwache Rotverschiebung der Absorptionsspektren aus. Zwei Komplexspezies,  $\text{NpO}_2\text{Cl}$  und  $\text{NpO}_2\text{Cl}_2^-$ , wurden identifiziert, deren Bildung mit steigender Temperatur und Ionenstärke zunimmt. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass steigende Elektrolytkonzentrationen Blauverschiebungen der Absorptionsbanden bewirken. Dieser Effekt wird derzeit eingehend untersucht, sodass zeitnah verlässliche thermodynamische Daten für das  $\text{NpO}_2^+$ -Cl<sup>-</sup>-System bestimmt werden können. Bisher zeigt die aktuelle Datenlage, dass die Stabilitätskonstanten der Komplexierung von Np(V) mit Cl<sup>-</sup> sehr niedrig sind und die Reaktion endotherm abläuft.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

WP2: Vorbereitende Untersuchungen zur Verwendung der neu entwickelten Hochtemperaturzelle zur Untersuchung aquatischer Systeme bis 200 °C. Aufbereitung der neuen Cm-Charge und quantitative Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Hydrolysereaktion.

WP3: Komplementierung der Studien zum  $\text{NpO}_2^+$ -Cl<sup>-</sup>-System durch zusätzliche Extraktionsexperimente. Optimierung und Inbetriebnahme des experimentellen Aufbaus für die Absorptionsspektroskopie bis 200 °C. Untersuchung der Komplexierung von  $\text{NpO}_2^+$  mit  $\text{SO}_4^{2-}$  bis 200 °C.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Maiwald, M. M., Fellhauer, D., Skerencak-Frech, A., Panak, P. J.: Thermodynamics of the complexation of neptunium(V) with fluoride in aqueous solution, in preparation.

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: The complexation and thermodynamics of Cm(III) with chloride in diluted to saturated NaCl, LiCl, CaCl<sub>2</sub> and MgCl<sub>2</sub> solution, studied by time resolved laser fluorescence spectroscopy, in preparation.

Maiwald, M. M., Sittel, T., Fellhauer, D., Skerencak-Frech, A., Panak, P. J.: Thermodynamics of neptunium(V) complexation with sulfate in aqueous solution, The Journal of Chemical Thermodynamics 2018 (116): 309-315.

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: Fluoreszenzspektroskopie von Cm(III)-Halogenid und -Pseudohalogenidkomplexen im Temperaturbereich von T= 25-200 °C, Vortrag, GDCh Wissenschaftsforum, Berlin.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 582.309,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Brandt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Projekts ist die Erweiterung der thermodynamischen Datenbasis für Actiniden, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für die Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender Abfälle. Der Fokus liegt auf dem Verhalten in aquatischen Systemen bei erhöhten Temperaturen bis 90 °C und niedrigen bis mittleren Ionenstärken - unter Nutzung von Abschätzalgorithmen, neuen experimentellen Untersuchungen und quantenchemisch gestützten Strukturinformationen. Um dieses Ziel zu erreichen, werden die beteiligten Verbundpartner aus Universitäten und nationale Forschungseinrichtungen ihre Expertise und Aktivitäten in Synthese, Charakterisierung, und Theorie bündeln, um zu einem tieferen Verständnis der Thermodynamik der ausgewählten Systeme zu gelangen.

Durch die das Projekt im Wesentlichen tragenden Doktoranden und Post-Doc Stellen und die verbesserte Vernetzung der beteiligten Institutionen wird ein wichtiger Beitrag zur Nachwuchsförderung mit dem Ziel des Erhalts und der Erweiterung von radiochemischer und kern-technischer Kompetenz in Deutschland geleistet.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: *Initialisierungsarbeiten*

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei höheren Temperaturen

AP3: *Erarbeitung von thermodynamischen Daten zur Speziation der Actinide und Spalt- und Aktivierungsprodukte in wässrigen und festen Systemen* – Experimentelles Programm zur Ermittlung der Temperaturabhängigkeit thermodynamischer Daten von endlager-relevanten Sekundärphasen Zirkon-Doppelhydroxide (LDH = layered double hydroxide) und Ba-Ra-Sulfat

AP4: Quantenchemische Rechnungen

AP5: *Bewertung von Schätzmethoden* – Vergleich und Bewertung von Schätzmethoden mit den in AP3 erarbeiteten thermodynamischen Daten; Auswahl von thermodynamischen Daten für den Gebrauch in bestehenden Datenbanken

AP6: *Qualitätsmanagement/Dokumentation*



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Die Arbeiten wurden abgeschlossen.

AP3: Alle Experimente zu den Zr-haltigen Phasen sind abgeschlossen und ausgewertet. Rekristallisationsexperimente von Baryt in Gegenwart von Radium bei insgesamt vier unterschiedlichen Temperaturen sind abgeschlossen und ausgewertet. Derzeit werden Experimente mit einer erhöhten Ionenstärke ausgewertet.

AP5: Detaillierte geochemische Modellierungen sind zu beiden Systemen erfolgt. In Zusammenarbeit mit D. Kulik (PSI) wurden thermodynamische Daten für die Löslichkeit von  $\text{RaSO}_4$  und das System  $(\text{Ba,Ra})\text{SO}_4$  abgeleitet. Dabei stellte sich heraus, dass der Van't Hoff Ansatz nur funktioniert, wenn eine isocoulombische Reaktionsgleichung verwendet wird. Bei den LDH wurden mit zwei theoretischen Ansätzen unabhängige thermodynamische Datensätze erzeugt. Beide Datensätze stimmen bezüglich der freien Gibbs-Energie überein. Zusätzlich konnte letztlich gezeigt werden, dass der Van't Hoff Ansatz zur Vorhersage der Löslichkeit der Zr-LDH im Bereich bis 70 °C anwendbar ist.

AP6: Da das Projekt fortgesetzt wird, werden die vorhandenen Ergebnisse am Ende der Projektverlängerung in einem Endbericht zusammengefasst werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP3: Neue Experimente für die Projektfortsetzungsphase befinden sich in Vorbereitung und werden kurzfristig gestartet.

AP5: Die Arbeiten zu AP5 werden mit aktuellen experimentellen Daten in Bezug auf den Effekt der Ionenstärke bei unterschiedlichen Temperaturen fortgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vinograd V. L., Kulik D. A., Brandt F., Klinkenberg M., Weber J., Winkler B. and Bosbach D. (2018): Thermodynamics of the solid solution - Aqueous solution system  $(\text{Ba,Sr,Ra})\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ : I. The effect of strontium content on radium uptake by barite. *Appl. Geochemistry* 89, 59–74.

Vinograd V. L., Kulik D. A., Brandt F., Klinkenberg M., Weber J., Winkler B. and Bosbach D. (2017): Thermodynamics of the solid solution - Aqueous solution system  $(\text{Ba,Sr,Ra})\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ : II. Radium retention in barite-type minerals at elevated temperatures. *Appl. Geochemistry*.

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

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 039E
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 575.528,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Krüger

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziele:

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

Bezug zu anderen Vorhaben: Teilprojekt im Verbund ThermAc.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst folgende Arbeitspakete:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

AP3: Untersuchungen zu einkernigen Hydroxycarbonatkomplexen von Np(V) (AP2) und Np(VI) wurden im Wesentlichen abgeschlossen. Die Modellierung weiterer Isomere (Ligandenorientierung, Koordination) bestätigte bisherige Ergebnisse. Für Np(V) wurden Strukturen und Energien der Komplexe mit dem für lokalisierte Elektronen wohl genaueren PBE0-Funktional überprüft. Dabei ergaben sich etwas geringere Komplexbildungsenergien, Trends und Werte auf Monohydroxidkomplexe normierter relativer Energien wurden jedoch sehr gut bestätigt.

AP4: Modellierungen zu mehrkernigen Np-Komplexen wurden mit Rechnungen zu dreikernigen Np(VI)-Hydroxokomplexen und An(VI)-Hemicarbonaten für Np und U fortgeführt. Die Untersuchungen zu dreikernigen Neptunyl(VI)-Hydroxokomplexen wurden in Analogie zu bekannten U(VI)-Spezies um Spezies mit Ladungen +3 und -n, n = 1-3 ergänzt. Für  $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_3^{3+}$  wurden ein zentral oxoverbrücktes und eine lineares Isomer als stabilste Strukturen gefunden, die jedoch nicht stabiler als monomere Komplexe sind. Damit ist wie für U(VI)  $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_4^{2+}$  als erste dreikernige Hydrolysespezies bei saurem pH zu erwarten. Damit werden für alle Komplexladungen zentral oxoverbrückte Spezies als bevorzugte Isomere und für anionische Komplexe offene Ringe als nächststabilere Strukturen bestätigt. In Übereinstimmung mit thermodynamischen Daten ist die Bildung trimerer Np(VI)-Hydroxokomplexe aus Monomeren etwas weniger exotherm als für U(VI).

Der bisher nur für U(VI) bekannte zweikernige Hemicarbonatkomplex  $(\text{AnO}_2)\text{CO}_3(\text{OH})_3^-$  wurde für U(VI) und Np(VI) modelliert. Durch systematische Variation der Koordination der Liganden wurde neben den literaturbekannten vier Strukturen, die sich wesentlich durch die Art der Verbrückung der Actinyle unterscheiden, einige weitere Isomere gefunden und verglichen. Dabei wurden auch stabilere Strukturen erhalten, die relative Stabilität der bekannten Isomere für U(VI) jedoch bestätigt. Die bisher unsichere Strukturbestimmung durch Experimente und Modellierungen kann möglicherweise durch eine neu gefundene Struktur verbessert werden, die zumindest zu einer Gruppe stabilerer Isomere für U(VI) führt, die mit der Häufigkeit der Isomere aus NMR-Messungen besser verträglich ist. Für Np(VI) wurde eine größere Energiedifferenz zwischen den verschiedenen Strukturvarianten als für U(VI) gefunden, sodass für Np(VI) wohl weniger Isomere gleichzeitig vorkommen. In weiteren Untersuchungen werden insbesondere die Koordinationszahl der Actinylzentren der wichtigeren Isomere überprüft und relative thermodynamische Parameter abgeschätzt.

AP5: Rechnungen zur Temperaturabhängigkeit der Komplexierung von Actinoiden werden derzeit auf Carbonatkomplexe ausgedehnt. Ergebnisse zu Np(V) zeigen sinkende Gibbssche Energien der Komplexierung mit steigender Temperatur für Mono- und Dicarbonat, während für Tricarbonat der gegenteilige Effekt erhalten wird. Die einzige verfügbare Messung ergab sinkende Gibbssche Energien für alle Carbonatkomplexe und nur für Np(V)-Monocarbonat eine gute Übereinstimmung mit den Modellierungen. Diesen Abweichungen wird weiter nachgegangen. Rechnungen zur Temperaturabhängigkeit der Komplexierung für Np(VI)- und U(VI)-Carbonate sind derzeit in Arbeit.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP4: Mehrkernige Np-Komplexe; AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexierung

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

I. Chiorescu, A. Gray, S. Krüger, N. Rösch: Quantum chemical modeling of An(VI/V) hydrolysis complexes: Characterization of species and their relative stabilities. Vortrag, 16<sup>th</sup> Migration 2017, 10.-15.9.2017, Barcelona, Spanien

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 044A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 838.914,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Walther	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die beantragte Mittelumwidmung wurde genutzt, um Material zur kontinuierlichen Laserleistungsabschwächung der einzelnen Laser zu beschaffen. Im Strahlengang eines Ti:Sa-Lasers wurde zuerst testweise, dann dauerhaft, Polarisationsoptik zur kontinuierlichen Abstimmung der Laserleistung eingebaut. Die Laserstrahlführung wurde aus Sicherheitsgründen besser abgeschirmt, so dass die gesamte Anlage an der SIMS jetzt als Laser Klasse 1 (niedrigste Kategorie) betrieben werden darf.
- AP2: Zur Fixierung von Probenmaterial für die SSNTD wurde ein System aus Epoxidharz und Aluminiumfolie erprobt, um das problematische und teure Indium zu ersetzen. Um die fehlende Leitfähigkeit für SNMS-Messungen auszugleichen, wurden Testreihen mit einem Epoxidharz-Graphitgemisch durchgeführt. Die Ergebnisse sind äußerst vielversprechend, aufgrund neuerer Entwicklungen allerdings noch nicht final.  
Zusätzlich wurde die Probenvorbereitung erweitert: Probenmaterial aus dem Sediment des zum KKW Tschernobyl gehörenden Kühlteiches wurde durch Sieben in Fraktionen verschiedener Partikelgrößen unterteilt und die Aktivitäten der einzelnen Fraktionen untersucht. Durch die Kombination der neueren Optimierungen konnte innerhalb weniger Tage ein Brennstoffpartikel in der Probe gefunden und mit SIMS untersucht werden.

Am bereits gefundenen ersten Partikel wurden Messungen mit verschiedenen Anregungsschemata für Plutonium durchgeführt, um eine bessere Unterdrückung von  $^{238}\text{U}$  zu erreichen. Dazu wurden verschiedene Anregungsschemata getestet und Wellenlängenverstellungen vorgenommen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass mit dem bisher verwendeten ersten Anregungsschritt keine vollständige Unterdrückung von  $^{238}\text{U}$  erfolgen kann. Daher müssen weitere erste Anregungsschritte in Betracht gezogen werden.

AP3: Der neu gefundene Brennstoffpartikel wurde mittels SSNTD, SIMS, Elektronenmikroskopie und EDX analysiert und charakterisiert. Seine Zusammensetzung und Morphologie unterscheiden sich signifikant vom ersten gefundenen Partikel. Ein hoher Zr-Anteil ermöglicht zukünftige Vergleichsmessungen zur Zr/Sr-Diskriminierung mit der SNMS.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: In Kollaboration mit der JGU Mainz sollen die Simulationen zur zweitstufigen Extraktion vervollständigt und eine kombinierte Datenaufnahme von Laserparametern und Ionensignal entwickelt werden.

Tests des Anregungsverhaltens des Messsystems bezüglich Americium.

Implementierung der kontinuierlichen Laserleistungsabschwächung für alle Laser.

AP2: Kooperation mit der JGU Mainz zur Herstellung von isotonenreinen, implantierten Testproben zur vergleichenden Effizienzmessung für alle relevanten Radionuklide.

Tests weiterer verschiedener Anregungsschemata für Pu und U.

Erprobung eines REM/Mikromanipulator Systems zum Einsatz in der Partikelsuche und Isolation einzelner Partikel.

AP3: Analyse von weiteren Umweltproben aus bekannten kontaminierten Regionen, z. B. Tschernobyl und Fukushima, auf U, Pu, Am und Sr.

Ausdehnen der Partikelsuche mit verbesserter (schnellerer) Routine.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

H. Bosco: „Spatially resolved ultra-trace analysis on actinides and their fission products by resonant Laser-SNMS“, Vortrag, Actinides Sendai, 12.07.2017

M. Weiss, L. Hamann, H. Bosco, M. Franzmann, K. Wendt, C. Walther: „Alpha-track detection as a localization method for SIMS and rL-SNMS and investigation of actinide containing particles in environmental samples“, Poster, Actinides Sendai, 12.07.2017

H. Bosco, M. Weiß, M. Franzmann, K. Wendt, C. Walther: „Resonant Laser Secondary Neutral Mass Spectrometry for Ultra-trace Analysis of Actinides and Their Fission Products“, Poster, GDCh WiFo Berlin, 12.09.2017

M. Weiss, L. Hamann, H. Bosco, M. Franzmann, K. Wendt, C. Walther: „Localization of actinide-bearing particles in environmental samples by  $\alpha$ -track detection following SIMS and rL-SNMS investigations“, Poster, GDCh WiFo Berlin, 12.09.2017

M. Franzmann, H. Bosco, C. Walther, K. Wendt: „A new resonant Laser-SNMS system for environmental ultra-trace analysis: Installation and optimization“, Int J Mass Spectrom 423 (2017) 27-32

Linda Hamann: „Untersuchung radioaktiver Partikel mittels Sekundärionen-Flugzeit-Massenspektrometrie“, Hannover 27.10.2017, Dissertation

C. Walther, L. Hamann, H. Bosco, M. Franzmann, M. Weiss, M. Tanha, K. Wendt: „Nuclear track detection in radioecology: Investigation of hot particles in Chernobyl and Fukushima“, ICNTM Strasbourg 28.08.2017, eingel. Vortrag

C. Walther, H. Bosco, L. Hamann, M. Weiss, M. Franzmann, M. Tanha, K. Wendt: „Quasi-non-destructive Investigations of Actinide Particles Recent Applications of the Secondary Neutral Ionisation SIMS“, Migration Barcelona 13.09.2017, Vortrag

C. Walther: „Quasi-zerstörungsfreie Untersuchungen an einzelnen Actinid Partikeln mit „Secondary Neutral Mass Spectrometry“, Festkolloquium für G. Geipel, Dresden, 03.11.2017, eingeladener Vortrag

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 044B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 964.500,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Reich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die folgenden Arbeitspakete sind vorgesehen:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Institut für Kernchemie:

Mithilfe einer Gadolinium-Folie wurden Gadolinium-Laserionen in der SIMS-Apparatur erzeugt und nachgewiesen. Durch Scans der Laserposition, Messung von Sättigungskurven und den Vergleich verschiedener Timing-Optionen wurden die Messparameter optimiert und verschiedene Parametersets für optimale Transmission bzw. Massenauflösung erhalten. Das Lasersystem wurde anschließend auf die Wellenlängen von Plutonium umgestellt, erste Plutonium-Laserionen erzeugt und mit der Charakterisierung der Laser-SNMS für Plutonium begonnen. Weiterhin wurden erste Untersuchungen zu systematischen Effekten bei der Ladungskompensation im Laser-SNMS-Modus durchgeführt. Hierfür wurden eine Teflon-Folie bzw. natürliches Tongestein (Opalinuston) als nichtleitendes Material eingesetzt.

Institut für Physik:

Es wurde an der Mainzer Spektroskopieapparatur MABU der Ansatz weiterverfolgt, die Laserionisation an Actiniden besser auf Routineanwendungen der Laser-SNMS zu adaptieren. Dazu wurde mit der Entwicklung zweistufiger Anregungsschemata begonnen, die den Aufwand für den Laserbetrieb deutlich verringern sollen, ohne die Spezifikationen Elementreinheit und Effizienz nennenswert zu beeinträchtigen. Dazu wurden ausgehend vom ersten Zwischenniveau der bekannten Dreischritt-Anregung im Plutonium autoionisierende Resonanzen direkt adressiert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Institut für Kernchemie:

Nach weiteren Optimierungen des Laser-SNMS-Signals mit Plutonium-Proben wird die Methode im Hinblick auf die Präparation zukünftiger Sorptionsproben durch den Einsatz von Proben mit einer definierten Oberflächenbeladung mit Plutonium weiter charakterisiert. Danach werden die Arbeiten mehr auf die Untersuchung von Plutonium-Diffusionsproben mittels Laser-SNMS ausgerichtet. Im Fokus stehen dabei die Ladungskompensation bei verschiedenen nichtleitenden Proben im Laser-SNMS-Modus sowie ein Vergleich des Matrix-Effekts im SIMS- bzw. Laser-SNMS-Modus bei unterschiedlichen, im Hinblick auf die Untersuchung von Tonproben relevanten Probenmatrices. Neben Laser-SNMS-Messungen zur Diffusion von Plutonium in Tongestein sind außerdem SIMS-Untersuchungen an Zementoberflächen bzw. Zementalterationsphasen geplant.

Institut für Physik:

An verschiedenen Mischungen aus Uran und Plutonium mit unterschiedlichen Element- und Isotopenzusammensetzungen soll die laserresonante Zweischritt-Anregung gegenüber der bisher angewendeten Dreischritt-Anregung zuerst allgemein charakterisiert werden. Hierzu sind sowohl Sättigungs- als auch Effizienzmessungen vorgesehen. Anschließend ist die Übertragung dieser Resultate auf die Laser-SNMS geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Franzmann, H. Bosco, C. Walther, K. Wendt: A new resonant Laser-SNMS system for environmental ultra-trace analysis: Installation and optimization, *Int. J. Mass Spectrom.* 423, 27-32 (2017)

D. Schönenbach, P. Schönberg, J. Börner, T. Reich: Application of SIMS and Laser-SNMS to Study Actinide Diffusion in Natural Clay, Vortrag auf der 21<sup>st</sup> International Conference on Secondary Ion Mass Spectrometry, 10.-15.09.2017, Kraków, Polen

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 046A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 31.10.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.123.790,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Weigand	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Komplexbildungseigenschaften von Phosphorylpyrazolonen gegenüber den f-Elementen Thorium, Neptunium und Cer in der Oxidationsstufe IV sowie  $\text{UO}_2^{2+}$  wurden fortgeführt. Erste Ergebnisse wurden in einem Vortrag auf der Internationalen Konferenz „Actinides“ 2017 im Juli in Sendai, Japan vorgestellt (K. Schnaars, J. März, F. Hennersdorf, D. Harting, M. Acker, M. Wenzel, A. Ikeda-Ohno, T. Stumpf, K. Gloe, J.J. Weigand, 4-Phosphorylpyrazolones as receptor molecules for f-block elements) und die Veröffentlichung der Ergebnisse ist in Vorbereitung.

Detaillierte Untersuchungen zu den Komplexbildungseigenschaften von N-Salicyliden-D-glucosamin mit Uranylionen weisen auf eine Koordination des Metallzentrums durch N- und O- Donoratome des Substituenten sowie durch die C-1 OH-Gruppe des Zuckers nach Deprotonierung hin. Weiterführende  $^1\text{H}$ -NMR-Studien zeigen eine bevorzugte Komplexbildung durch das  $\alpha$ -Anomer.

Röntgenbeugungsexperimente an Einkristallen bestätigen die Metallkoordination durch die N- und O- Donoratome des Liganden und zeigen die Bildung von Komplexen in einer 3:3-Stöchiometrie unter Koordination von Alkalimetallionen durch die Sauerstoffatome der Uranylionen.

Weiterhin wurden in den vergangenen Monaten die Arbeiten zur Adsorption von Europium und Curium an Chitin, Chitosan sowie den entsprechenden Monomeren (n-Acetylglucosamin, Glucosamin) im Hinblick auf eine geplante Veröffentlichung weitergeführt und vervollständigt. Dabei wurden neben spektroskopischen Untersuchungen an den Adsorptionskomplexen auch ICP-MS-Untersuchungen zur Quantifizierung ausgeführt. Darüber hinaus wurde begonnen, die Adsorption von Europium und Uran an Biosilikat von Diatomeen umfassend zu untersuchen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Spektroskopische Studien der Ligand-Metallion-Wechselwirkungen in Lösung
- Durchführung von Kristallisationsexperimenten zur Gewinnung von Einkristallen der Liganden und relevanter Metallkomplexe
- Aufklärung der Ligand- bzw. Komplexstruktur durch Röntgeneinkristallstrukturanalyse
- Weiterführende NMR-Untersuchungen an ausgewählten Actinid- und Lanthanid-Isotope
- Darstellung und Charakterisierung von iminifunktionalisierten Aminosäuren sowie tripodaler Ligandensystemen auf Basis von Glucosamin bzw. Aminosäuren
- Untersuchung ausgewählter Maillardprodukte als alternative Modellschubstanzen für Naturstoff-basierten Liganden
- Thermogravimetrische und dynamische differenzkalorimetrische Untersuchungen der synthetisierten Komplexverbindungen
- Ausdehnung der Untersuchungen auf spezielle Arten von Chitin (Schwammchitin,  $\beta$ -Chitin) sowie Chitosan und chemisch modifiziertes Chitin

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 046B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 31.10.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 675.486,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Stumpf	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zur Sicherung des akademischen Nachwuchses und des Kompetenzerhalts sind Gelder für die Anstellung von wissenschaftlichen Hilfskräften im Projekt beantragt. Im Berichtszeitraum sind zwei Studenten, die am Ende Ihres Studiums stehen, für Arbeiten zur Koordinationschemie der f-Elemente angestellt worden (Herr Bodo Felsner – für 3 Monate, Frau Ilka Vinçon – für 6 Monate). Ein Doktorand (Herr Thomas Radoske) geht zum Ende des Berichtszeitraums für drei Monate in Elternzeit. Der beantragte Postdoc nimmt mit Ende des Berichtszeitraums seine Arbeit zum Reaktiven Transport auf. Die geplanten Dienstreisen zur Actinides (Sendai, Japan – zwei Vorträge) und zur Migration 2017 (Barcelona, Spanien – ein Vortrag, ein Poster) wurden wie geplant durchgeführt.

AP1: Die Serien an Ligandsystemen aus der Gruppe der Amidinate wurde durch verschiedene Substitutionen an den zentralen Gruppen erweitert, um gezielt die sterischen Eigenschaften der Liganden zu beeinflussen. Die synthetischen Arbeiten wurden mit externen Kooperationspartnern durchgeführt.

AP2: Arbeiten zu AP2 sind erst ab Ende 2018 geplant.

- AP3: Die Serie der Komplexe von Th(IV) und U(IV) mit Schiffischen Basen wurden um erste Komplexe des Np(IV) erweitert und die entstehenden Komplexe mit SC-XRD und NMR charakterisiert. In Zusammenarbeit mit dem AK Weigand (TUD) wurden ausgewählte Komplexe der Pyrazolon-Reihe für EXAFS Messungen an der ROBL Beamline synthetisiert und konditioniert. Laserspektroskopische Untersuchungen an An(III) und Ln(III) zur Identifikation der Bindungsstellen an Chitin und Chitinosan wurden gemeinsam mit dem AK Brunner (TUD) vervollständigt.
- AP4: Arbeiten zum AP4 beginnen mit Ende des Berichtszeitraums. Ein Postdoc wird mit Beginn 2018 seine Arbeit an dem Projekt aufnehmen.
- AP5: Es entsteht derzeit eine Publikation zu den Amidinat-Systemen. Sowohl in den Kooperationsarbeiten zu den phosphorhaltigen Ligandensystemen (mit AK Weigand - TUD), als auch den Komplexbildungsstudien mit Chitin und Chitinosan (mit AK Brunner - TUD) werden peer-reviewed Publikationen angefertigt. Mit insgesamt sechs Vorträgen und einem Poster wurden die Ergebnisse auf der Actinides 2017 in Sendai, Japan vorgestellt. Auf der Migration 2017 in Barcelona, Spanien wurden die Arbeiten in einem Vortrag und einem Poster präsentiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Bisher stellten die Ligandensysteme eine Reihe mit identischen Bindungsmotiven dar. Diese soll im Fall der Schiffischen Basen nun um Vertreter erweitert werden, die ausschließlich Stickstoffdonoren tragen. Zudem soll die Koordinationschemie auf Liganden der Klasse der Carbene erweitert werden. Erkenntnisse aus den Komplexbildungsversuchen (AP3) fließen laufend in die Synthese neuer Ligandensysteme ein. Das Design der Liganden wird zudem maßgeblich durch begleitende quantenchemische Arbeiten im Haus unterstützt.
- AP3: Die Arbeiten zur Komplexbildung von Amidinaten und Schiffischen Basen mit Th(IV) und U(IV) werden abgeschlossen und Komplexe von Np(IV) mittels SC-XRD, UV/Vis und NMR charakterisiert. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen dann gegebenenfalls auf Pu(IV) übertragen werden. Die Kooperationsarbeiten mit AK Weigand (TUD) zur Koordination von Th(IV), U(IV) und Np(IV) werden fortgesetzt und sollen zukünftig auf Pu(IV) erweitert werden. Arbeiten zur Komplexbildung von dreiwertigen An(III) und Ln(III) an Biosilikaten (mit AK Brunner (TUD)) mittels TRLFS werden begonnen. Zudem werden Arbeiten zur Charakterisierung von Calix[4]aren-Komplexen mittels NMR (mit AK Kersting (Uni Leipzig)) aufgenommen.
- AP4: Im Hinblick auf die potentiell mobilisierende Wirkung von Komplexbildnern aus dem Inventar eines Endlagers soll der Einfluss des Dekontaminationsmittels DTPA auf das Adsorptionsverhalten von Eu(III) als Analogon dreiwertiger Actinide an geogenen Festphasen pH-Wert-abhängig untersucht werden, wobei <sup>152</sup>Eu als Radiotracer verwendet wird. Als Grundlage von Ausbreitungsmodellen ist die Konzentrationsverteilung aller gelösten und adsorbierten Spezies anhand von Gleichgewichtskonstanten zu berechnen.
- AP5: Die Publikationen zu den Ergebnissen der Komplexbildung von Th(IV) und U(IV) mit Amidinaten und Schiffischen Basen werden derzeit geschrieben. Die Kooperationsarbeiten mit TUD (AK Weigand und AK Brunner) sollen ebenso in peer-reviewed Journalen publiziert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

##### Publikationen:

Schöne, S.; Radoske, T.; März, J.; Stumpf, T.; Patzschke, M.; Ikeda-Ohno, A., [UO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>], a Simple Uranium(VI) Compound with a Significantly Bent Uranyl Unit (phen = 1,10-phenanthroline), Chemistry - A European Journal, 2017, 23(55), 13574-13578

Martin, N. P.; März, J.; Volkringer, C.; Henry, N.; Hennig, C.; Ikeda-Ohno, A.; Loiseau, T., Synthesis of coordination polymers of tetravalent actinides (U and Np) with phthalate or mellitate ligand in aqueous medium, Inorganic Chemistry, 2017, 56 (5), 2902-2913

##### Vorträge:

Actinides 2017, 09.-14.07.2017, Sendai, Japan

Migration 2017, 11.09.2017, Barcelona, Spanien

GDCh-Wissenschaftsforum Chemie 2017, 10.-14.09.2017, Berlin, Deutschland

##### Poster:

Relativistic Effects on heavy Element Chemistry and Physics, 02.-06.09.2017, Marburg, Deutschland

GDCh Wissenschaftsforum, 10.-14.09.2017, Berlin, Deutschland

Migration 2017, 11.09.2017, Barcelona, Spanien

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 046C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 31.10.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 489.065,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kersting	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Bisher war es möglich, Chitosan-ähnliche Liganden auf Calix[4]arenbasis zu synthetisieren, welche umfassend auf ihre Komplexierungseigenschaften in Bezug auf ausgewählte Lanthanoide und Actinoide untersucht wurden. Hierbei zeigt sich eine gewisse Affinität zu den dreiwertigen Lanthanoidionen und vierwertigem Thorium und dem Uranylkation. Zurzeit werden die Strukturen dieser Verbindungen bestimmt. Zusätzlich wurden Untersuchungen angestellt, Glucosamin als weiteren Naturstoff an den Calix[4]aren-Grundkörper zu binden. Bisher wurden entsprechende Vorstufen zugänglich gemacht, die nun zu den Zielliganden umzusetzen sind. Details dazu wurden auf dem Projektmeeting in Dresden-Rossendorf am 4.12.2017 präsentiert. Weitere Untersuchungen wurden zur Anbindung der Calix[4]aren-basierten Liganden an Oberflächen angestellt. Dieses Gebiet steht weiterhin im Fokus. Die Installation der ITC (Isotherme Titrationskalorimetrie) beinhaltete ein Training zur Benutzung des Gerätes. Dieses wurde in Anspruch genommen. Daraufhin wurden erste Komplexierungsreaktionen mit dem Gerät durchgeführt. Zur Präsentation der bisherigen Forschungsergebnisse in Form eines Posters besuchten alle Mitarbeiter die 14th International Conference on Calixarenes in Tianjin (China). Zusätzlich wurden zwei der Beiträge als Vortrag präsentiert (Hahn, Mehnert). Des Weiteren erfolgte die Teilnahme am Projekt-Meeting in Dresden (04.12.2017) mit zwei Vorträgen (Hahn, Mehnert).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Ziel der nachfolgenden Monate ist es, weitere Liganden auf Calix[4]aren- bzw. Thiacalix[4]arenbasis darzustellen. Der Fokus soll hierbei auf Substitutionen am lower-rim mit natürlichen Bindungsfunktionen liegen, wobei das Chitosanmolekül als Leitbild dienen soll. Außerdem sollen erste Versuche der upper-rim-Substitution mit Anbindung an eine Oberfläche angestellt werden. Das Komplexierungsverhalten in Festkörper als auch in Lösung von bereits erhaltenen Calix[4]aren-Liganden wird mit ausgewählten Lanthanoid- sowie Actinoidionen weiterhin umfassend untersucht. Darüber hinaus soll ein tieferes Einarbeiten in die Messmethodik der ITC erfolgen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

Mehnert, A.: Isothermal Titration Calorimetry- first measurements and results, Projekttreffen FENABIUM, Dresden, 04.12.2017

Hahn, P.: Synthesis and Complexation of Monofunctionalized Calix[4]arenes and Strategies for the Synthesis of upper-rim glycosylated Calix[4]arenes for Binding of f-Elements, Projekttreffen FENABIUM, Dresden, 04.12.2017

Mehnert, A.: Synthesis of Bifunctionalized Calix[4]arenes with N-Donor Atoms to Complex f-Elements, Konferenz 14<sup>th</sup> International Conference on Calixarenes, Flash presentation, Tianjin (China), 23.08.2017

Hahn, P.: Novel Monofunctionalized Calix[4]arenes with N-donors for the Binding of f-Elements, 14<sup>th</sup> International Conference on Calixarenes, Flash presentation, Tianjin (China), 23.08.2017

Poster:

Mehnert, A.: Synthesis of Bifunctionalized Calix[4]arenes with N-Donor Atoms to Complex f-Elements, 14<sup>th</sup> International Conference on Calixarenes Flash presentation, Tianjin (China), 20.-25.08.2017

Hahn, P.: Novel Monofunctionalized Calix[4]arenes with N-donors for the Binding of f-Elements, 14<sup>th</sup> International Conference on Calixarenes Flash presentation, Tianjin (China), 20.-25.08.2017

Zielke, T.: Novel Calix[4]arenes and Thiacalix[4]arenes with Dangling Substituents at the Lower Rim for f-Element Complexation, 14<sup>th</sup> International Conference on Calixarenes Flash presentation, Tianjin (China), 20.-25.08.2017

Bis jetzt sind noch keine zitierfähigen Publikationen verfasst worden.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 051A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 811.518,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Riebe

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Für den Einfluss des Bodens auf die Radionuklid-speziation wurde eine umfangreiche Literaturrecherche durchgeführt.
- AP2: Konzeption/Beschaffung von Labor-Lysimetern und kleinvolumigen Bodensäulen für Vorversuche mit ausgewählten Tracern.
- AP3: Für die Bestimmung der Transferfaktoren von- Iod, Technetium-, Plutonium- und Americium-Isotopen in Nutzpflanzen wurden Gefäßversuche mit Karotten und Kartoffeln in RefeSol-01A (Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME)) angelegt.
- AP4: Als Modelorganismus für die Klonierung von Metabolitransportern wird *Arabidopsis thaliana* verwendet. Die Literaturrecherche hat ergeben, dass folgende Transporter in Frage kommen: AtCCC1, AtGLR3.7, AtNRAMP1/AtNRAMP2, AtPHT1, AtIRT1 sowie AtNRT1.1. Es wurde mit der Klonierung von AtGLR3.7 in den Oozyten-Expressionsvektor begonnen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Herstellung von Tracerlösungen für Pflanzen- und Säulenversuche
- Markierung der bereits angezogenen Pflanzen (Karotten/Kartoffeln in RefeSol-01A) mit Iod-, Tc-, Pu-, Am-Tracern und Aufzucht weiterer Pflanzen (Erbsen/Weizen in RefeSol-01A)
- Batchversuche, Vorversuche mit kleinvolumigen Bodensäulen und Testlauf mit Labor-Lysimetern
- Beschaffung von Material für Versuche zu einem weiteren Bodentyp
- Elektrophysiologische Charakterisierung des klonierten Metabolitransporters in Oozyten sowie Klonierung weiterer Transporter

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 051B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 520.337,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Sachs	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1:

- Etablierung einer Nutzpflanzen-Wurzelzellkultur aus Karotten: Eine Kalluszellkultur wurde angelegt. Kalluszellen wurden in Suspensionszellkulturen überführt. Zur Bestimmung des Wachstumsverhaltens der Zellen in Suspensionskultur wurden Wachstumskurven aufgenommen
- Literaturrecherche zur Freisetzung von Metaboliten (Karotten)
- Untersuchungen zur konzentrations- und zeitabhängigen Wechselwirkung von U(VI) und Eu(III) als Analogon für dreiwertige Actinide mit Brassica napus-Zellen (Raps) in Suspensionszellkultur wurden durchgeführt. Der Einfluss von U(VI) und Eu(III) auf die Vitalität der Zellen wurde bestimmt
- Es erfolgten erste Untersuchungen zur Freisetzung von Metaboliten aus Brassica napus-Zellen bei Exposition mit U(VI) und Eu(III). Diese umfassten die Anreicherung der ins Nährmedium frei gesetzten Metabolite durch Festphasenextraktion mit anschließender Trennung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)
- Erste Untersuchungen mittels zeitaufgelöster laserinduzierter Fluoreszenzspektroskopie bei tiefen Temperaturen (cryo-TRLFS) zur Bestimmung der U(VI)-Speziation im Nährmedium sowie an/in Brassica napus-Zellen wurden durchgeführt

Ausschreibung der Postdoktorandenstelle, Besetzung der Stelle zum 01.02.2018

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Ausweitung der in AP1 begonnenen Untersuchungen zur konzentrations- und zeitabhängigen Wechselwirkung von U(VI) und Eu(III) mit Pflanzenzellen auf Wurzelzellen von Karotten
- Fortsetzung der Untersuchungen zur Freisetzung von Pflanzenzellmetaboliten nach Exposition der Zellen mit U(VI) und Eu(III) mit dem Ziel der Identifizierung der frei gesetzten Stoffwechselprodukte
- Literaturrecherche und cryo-TRLFS-Messungen von U(VI)-Modellkomplexen mit Bioliganden zur Interpretation der gemessenen Spektren mit Pflanzenzellen und zur Identifizierung der U(VI)-Speziation im Nährmedium in Gegenwart von Stoffwechselprodukten sowie gebunden an/in Pflanzenzellen
- Beginn der Arbeiten im AP2
- Das nächste Treffen des Projektverbundes wird vom 26.-27.04.2018 in Dresden stattfinden. Das Treffen dient der ersten Vorstellung erzielter Ergebnisse. Darüber hinaus ist eine Kurzschulung zum Thema „Modellierung“ geplant

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 051C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 443.493,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schäfer

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Status: Neben der hauptsächlich laut Projektbeschreibung beim Partner Öl liegenden GIS Analyse der IST Böden wurden in Absprache im Rahmen einer Masterarbeit die von BGR publizierten potentiellen Standortregionen für Kristallin, Salz und Tonformationen mit geologischen und bodenkundlichen Karten mittels GIS Arc-Map 10.5.1 verschnitten und die Anteile der dominanten Bodentypen für die Standortregionen vergleichsweise bestimmt. Auf Basis der Auswertung von Öl und FSU wurden in Zusammenarbeit mit LUH-IRS zwei Referenz-

bodentypen (IST-Böden) aus dem vom Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME) entwickelte RefeSol System ausgewählt (vom Umweltbundesamt anerkannte Böden für Testverfahren nach Bundes-Bodenschutz-Gesetz/ Verordnung). Es handelt sich um zwei Braunerden: a) RefeSol 01-A (schwach lehmiger Sand, mittel sauer, sehr schwach humos, die Ackerbaustandarte repräsentiert) und b) 03-G (schluffiger Lehm, mittel sauer, mittel humos, die Grünlandstandarte repräsentiert). RefeSol Boden 01-A wurde von der identen Charge wie LUH-IRS bestellt und geliefert. Der zweite RefeSol-Boden (03-G) ist bestellt. Die sedimentologische und mineralogische Charakterisierung des RefeSol 01-A läuft momentan im Rahmen von zwei studentischen Projektmodularbeiten.

AP2: Status: Die Bewerbungsfrist für die ausgeschriebene Postdocstelle zum Transportmodellierung ist abgelaufen und es läuft momentan das Auswahlverfahren. Die Einstellung des Postdoktoranden ist zum 1.4.2018 geplant. Speziationkalkulationen des granitischen Grundwassers, des RefeSol Gleichgewichts-Porenwassers und Mischwässer zu den Radionuklid U, Am, Np, Pu, Se, Tc und I mit Geochemist's Workbench laufen momentan im Rahmen eines Master-Projektmoduls.

AP3: Status: Für die in AP3 geplanten Arbeiten konnte zum 1.1.2018 mit Herrn M.Sc. Marcus Böhm erfolgreich ein Doktorand rekrutiert werden, der sich momentan in die Thematik einarbeitet. Vier Labor-Lysimeter mit Instrumentierung von Eh, pH und Temperaturfühlern sowie Saugkerzen zur Porenwasser-Probennahme sind einsatzbereit. Auf Basis eines Leihsystems wurden zweimonatige Vorversuche zur Sensitivität und Stabilität eines Optroden-Messsystems (chemisch-optische Sensoren) zur orts aufgelösten Messung von pH, O<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> in Vorbereitung auf die geplante Investition in ein VisiSens TD System (Fa. PreSens) durchgeführt. Die Ergebnisse des Vorversuchs zeigen, dass dieses innovative Messsystem im Rahmen der geplanten Lysimeter-Versuche zur orts aufgelösten Messung physiko-chemischer Parameter entlang eines Tiefenprofils (gesättigte Bodenzone-Kapillarsaum-ungesättigte Bodenzone) genutzt werden kann. Weiterhin zeigte sich, dass die pH-Optroden bei einer zu geringen Bodenfeuchte keine Messdaten mehr liefern. Die Ausschreibungsunterlagen zur geplanten Investition in ein Nanopartikel-Detektionssystem sind kurz vor dem Abschluss. Weitere Arbeiten fokussierten auf der Bestimmung der Gleichgewichts-Porenlösung des RefeSol 01-A mittels Batch-Experimenten in Zeitreihen bis 60 Tagen. Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass neben schnellen Kationenaustauschprozessen langsame Mineralauflösungs-Kinetiken im Kontakt mit kristallinem Grundwasser eine bedeutende Rolle spielen und es zu einem signifikanten Austrag organischer Substanz kommt. Hohe Phosphatkonzentrationen sind vermutlich auf die Düngung des Ackerbodens zurückzuführen.

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

AP1: Schwerpunkt des nächsten halben Jahres wird in der mineralogisch, geochemischen und Nanopartikel-Charakterisierung der beiden IST-Böden liegen. Nach Festlegung der beiden SOLL-Bodentypen als Produkte der klimatischen Entwicklung der gewählten IST-Böden werden diese bestellt oder selbst in Absprache mit LUH-IRS im Rahmen einer Probenahme genommen und aufbereitet.

AP2: Einstellung des Postdoktoranden und konzeptionelle Erstellung eines Transportmodells.

AP3: Vorbereitungen zu den Lysimeterversuchen; Bestimmung der physikochemischen und boden- physikalischen Randbedingungen zu Beginn der Versuche (z. B. Lagerungsdichte, kf-Wert und Saugspannungen (pF-Werte)). Weiterhin werden Säulenversuche mit Modellwasser und RefeSol-Böden zur Generierung einer Gleichgewichtsporenlösung der ungestörten künstlichen Bodenmatrix im Tages- bis Wochenmaßstab durchgeführt. Vergleich von Batch-Experimenten und Umlaufsäulen-Studien zur GGW-Konzentration und dem initialen Stadium der Bildung und des Transportes von Kolloiden sowie des RN- Transportes während der Sättigung des Bodensubstrates mit Modellwasser.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 051D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 256.465,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Fischer

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

Im Zeitraum vom 1. September bis 15. Oktober 2017 wurden noch keine Arbeiten durchgeführt, da die Stelle erst ab dem 16. Oktober 2017 besetzt werden konnte.

Danach wurde die Literaturstudie und die Implementation des „Model VII“ von Tipping et al. (2011) für die Bindung von Kationen an organische Substanz (relevant für Am und Pu) begonnen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Folgende Arbeiten für den nächsten Berichtszeitraum geplant:

Fertigstellung der Implementation des Modells VII und Validierung (zunächst für U) anhand von Literaturdaten. Weitere Literaturstudie zu Am, Pu, I, Tc und Se und deren Verhalten im Boden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 051E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 338.312,63 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Ustohalova

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.1.1/AP1.1.2b: Die für die Kommission Lagerung hoch radioaktiver Abfallstoffe von BGR erstellte Karte mit Überblick über den tieferen geologischen Untergrund der potentiell geeigneten Standortgebiete im Ton, Salz und Kristallin wurde in das ArcGIS System (V 10.5) überführt und eine GIS-Analyse der Verteilung übergreifender Bodentypen oberhalb dieser Gebiete durchgeführt. Im Wesentlichen sind Braunerden und Parabraunerde-Variationen vertreten, gefolgt von Auenböden, Podsol und Pseudogley. Die Verlinkung mit der RefeSol-Systematik zeigt gute Abdeckung vor allem im Hinblick auf die Braunerdetypen: RefeSol 01-A, 03-G, 11-G und 12-G. Die weiteren Bodentypen können grundsätzlich im Refesol-System zugeordnet werden. Für die Experimente wurde Braunerde 01-A und 03-G festgelegt. Der Vergleich der RefeSol und der WRB Systematik zeigte eine wesentlich differenziertere Bodendefinition mit Hilfe diagnostischer Horizonte im WRB. Die im Rahmen der GIS-Analyse identifizierten Böden wurden den Böden des oberen Klassifikationsniveaus (Bodengruppen) der WRB-Systematik zugeordnet und die diagnostischen Horizonte identifiziert. Die RefeSol Systematik wird im Zuge der weiteren Abstimmung zu Parameterwahl ggf. erweitert (siehe weiter unten).
- AP1.2.1: Die wesentlichen Einflussfaktoren des Radionuklidtransfers Boden-Pflanze und die zugehörigen geochemischen, hydraulischen und transportbezogenen Parameter unter Berücksichtigung der voraussichtlich zu priorisierenden Elemente Am, Pu, Se, Tc und I wurden zwischen ÖI, FSU-AnGeo und UB-IUP vorläufig abgestimmt. Daraus ausgehend wird gegenwärtig die Parameterbetrachtung im Hinblick auf den Experimentaufbau und die Überführung in die Modellierungsansätze (COMSOL/PHREEQC) abgeleitet. Ein wesentlicher Aspekt ist dabei der zeitliche Ablauf der Experimente unter Berücksichtigung der Anfangs- und Randbedingungen inklusive klimatische Einflüsse. Als zentraler Inputparameter fungiert der Quellterm in Form von Radionuklidmengen und -konzentrationen.
- AP1.3.1: Gemäß den parallel laufenden Auswertungen wurden in der gegenwärtigen Endlagerforschung (siehe AP1.3.2) zwei Referenzregionen - Nord- und Süddeutschland - im Hinblick auf die klimatischen Entwicklungen identifiziert. Die Ableitung der unter diesen Klimaabläufen erfolgten regionbezogenen Pedogenese (Süd und Nord) der Ist-Bodenhorizonte anhand deren bodenkundlichen und geologischen Eigenschaften wurde gestartet.
- AP1.3.2: Ausgehend aus BIOCLIM-Projekt und der letzten Forschung wurden die wahrscheinlichsten Klimaszenarien extrapoliert, zwei werden für die Pedogenese unterstellt: mediterran som-mertrocken und humid kalt-gemäßigt (Csa-Csb/Dfc-Dfb nach Köppen-Geiger Klassifikation).
- AP1.4.1: Nach Absprache mit den Projektpartnern wurde mir der Ausarbeitung der zukünftigen Pedogenese beider experimentell untersuchten Ist-Böden jeweils unter Einbeziehung dieser zwei Klimaszenarien begonnen, final sollen vier Soll-Böden vorgeschlagen werden.
- AP2.4.1b: Austausch von relevanter Publikationen und Ansätze zum Modellaufbau mit FSU-AnGeo.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.1.2b: Fortsetzung der GIS-Analyse: Ermittlung der Grundwasserflurabstände und weiteren Informationen ausgehend aus den Bodenkarten entsprechend weiteren Fragenstellungen.
- AP1.2.1/AP1.5.1: Kontinuierliche Absprache mit Projektpartnern zum Fortschritt und Anpassungen/Erweiterungen der Parametrisierung auch im Hinblick auf RefeSol/WRB, Abschätzung des realistischen und Vorschlag des experimentellen Quelltermes.
- AP1.3.1: Ausarbeitung der Horizontierung relevanter RefeSol Ist-Böden entlang deren erfolgten Genese unter dem Einfluss des Klimas der Referenzregionen.
- AP1.3.2: Definition einzelner Phasen der Extrapolation der Klima- und Bodenhorizontentwicklung im Bezug zu den unterstellten klimatischen Szenarien.
- AP1.4.1: Die Wahl der experimentell zu untersuchenden Soll-Böden wird abgeschlossen.
- AP2.4.1b: Zum Aufbau des bodenspezifischen Strömungs- und Transportmodelle in IcP ist ein Treffen in Jena (FSU-AnGeo) geplant.
- AP2.1.2: Der Aufbau der Datenbank der Parameter zur Bodenhydrologie wird gestartet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.





## **2.3 Strahlenforschung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.915.981,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Fournier	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer, physikalische Dosimetrie für die Bestrahlungsexperimente
- AP2: Biologische Dosimetrie, Schadensinduktion durch Radon in Zellkulturen und Gewebe
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen und im Knochen
- AP5: Intrazelluläre Signaltransduktion (insbesondere NF $\kappa$ B), Regulation von Adhäsionsmolekülen
- AP6: Untersuchung entzündungshemmender Reaktionen durch cholinerge Mechanismen

- AP7: Inhibition der Schmerzentstehung durch Veränderung der Aktivität von Ionenkanälen  
 AP8: Diskontinuierliche Dosis-Effekt-Beziehung (DNA-Reparatur, Stressantwort, ROS)  
 AP9: Untersuchung immunologischer Gefahrensignale und entzündlicher Reaktionen im Tiermodell

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die geplanten Arbeiten wurden übergangslos im Projekt GREWIS-alpha fortgeführt.  
 AP3: Vorbereitung einer Publikation.  
 AP4: (a) In humanen Endothelzellen wurden Kombinationsfärbungen etabliert, um seneszente Zellen und solche, die endothelial-mesenchymale Transition durchlaufen, nach Bestrahlung zu identifizieren. Es wurden erste Experimente zur Stimulierung mit Visfatin durchgeführt und eine pro-inflammatorische Reaktion dokumentiert.  
 (b) Zur Osteoklastenaktivität auf Matrix wurden ebenfalls erste Experimente durchgeführt und ausgewertet. Die Anheftung von Monozyten auf Folie sowie die Ablösung zur Weiterkultivierung wurde entscheidend verbessert und eine erste alpha-Bestrahlung durchgeführt. Eine spezielle 3D-Software zur Darstellung der Osteoklasten auf verschiedenen Substraten mittels konfokaler Laser-Mikroskopie wurde angeschafft.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1 und AP3: Arbeiten im Rahmen des GREWIS Projektes wurden abgeschlossen.  
 AP4: (a) Der Einfluss von laminaren Strömungsbedingungen auf die Seneszenz oder endothelial-mesenchymale Transition wird weiterverfolgt, auch unter längeren Inkubationszeiten als bislang. Die Flow Chamber wird für eine alpha-Bestrahlung umgerüstet. Die Stimulierung mit Visfatin wird in Kombination mit Photonen- und alpha-Bestrahlung untersucht. Die Untersuchung der Adhäsionsmoleküle nach laminarer Kultivierung und Bestrahlung wird mittels Einzelzell- Mikroskopie weiter vertieft (Kooperation Prof. Meckel, TUD).  
 (b) Die alpha-Bestrahlung wird wiederholt, um die Ergebnisse zu bestätigen. Die Aktivitätsmessung der Osteoklasten auf verschiedenen Substraten wird um die dreidimensionale Untersuchung der Anheftungsstrukturen ergänzt. Eine Publikation der Osteoklasten-Daten wird vorbereitet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Cucu A., Shreder K., Kraft D., Rühle P.F., Klein G., Thiel G., Frey B., Gaipf U.S. and Fournier C. Decrease of Markers related to Bone erosion in serum of Patients with Musculoskeletal Disorders after serial low-Dose radon spa Therapy. *Frontiers in Immunology*, 8:882, 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.00882  
 Rühle P.F., Wunderlich R., Deloch L., Fournier C., Maier A., Klein G., Fietkau R., Gaipf U.S., Frey B. Modulation of the peripheral immune system after low-dose radon spa therapy: Detailed longitudinal immune monitoring of patients within the RAD-ON01 study. *Autoimmunity*. 2017 Mar;50(2):133-140. doi: 10.1080/08916934.2017.1284819. Epub 2017 Feb 21.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.10.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.10.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 324.660,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Thiel	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Arbeiten dienen zur Untersuchung der Wirkung von Radonstrahlung auf zelluläre Prozesse. Damit soll prinzipiell die molekulare Wirkung von schwach-ionisierender Strahlung bei der Behandlung von Entzündungsprozessen verstanden werden. Die Arbeiten sind Teil des Projektes: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Elektrophysiologische und fluoreszenzoptische Messungen an Zellen unter Einfluss von ionisierender Strahlung.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die laufenden Arbeiten beschäftigen sich mit der Wirkung von niedrig dosierter Strahlung einschließlich  $\alpha$ -Strahlung auf Zellen des Immunsystems:

Die wichtigsten Befunde:

In der letzten Phase der Projektlaufzeit haben wir die interessantesten experimentellen Befunde bezüglich der Wirkung von niedrig dosierter Strahlung auf das Immunsystem ausgewertet und in zwei Promotionen bzw. einer Publikation zusammengeschrieben. Die Publikation wurde in dem Journal „Frontier in Immunology“ begutachtet. Die Kritikpunkte der Gutachter werden zurzeit bearbeitet, um bald möglichst eine verbesserte Version des Manuskriptes bei dem gleichen Journal einzureichen. Im Sommer wurden die Promotionen von Herrn Voos bzw. Herrn Fuck erfolgreich abgeschlossen. Zurzeit ergänzen wir noch Messungen hinsichtlich der Signalkette, die eine primäre Strahlenwirkung mit der Immunaktivierung verbindet. Wir haben beobachtet, dass niedrig dosierte Strahlung zu einer Generierung von Sauerstoffradikalen führt, was wiederum eine verzögerte Erhöhung der Konzentration an freiem  $\text{Ca}^{2+}$  im Cytosol auslöst. Wir hoffen, diese Daten bald mit den Befunden aus der Promotion von Herrn Fuck publizieren zu können.

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

Keine. Projekt abgeschlossen.

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

Voos, P., Fuck, S., Weipert, F., Babel, L., Tandl, D., Meckel, T., Fournier, C., Rödel, F., Moroni, A., Thiel, G.: Ionizing radiation induces morphological changes and immunological modulation of Jurkat cells. *Frontiers in Immunology* (in Revision)

Voos, P. (2017): Niedrig dosierte ionisierende Strahlung bewirkt bei Zellen des Immunsystems morphologische und immunologische Veränderungen. Dissertation TU Darmstadt.

Fuck, S. (2017): Kurz- und Langzeiteffekte ionisierender Strahlung auf die T-Zelllinie Jurkat. Dissertation TU Darmstadt.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.10.2017		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.10.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 832.129,20 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Cardoso

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Verbundprojekt Grewis sollen die genetische und die entzündungshemmende Wirkung von dicht ionisierender Strahlung - insbesondere von Radon - untersucht werden. Neben Röntgen- und Alpha-Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radon Kammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes sowie in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt.

In unserem Teilprojekt (*AP5*) soll die Rolle des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in der Vermittlung von anti-inflammatorischen Effekten nach Bestrahlung untersucht werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer sowie physikalische Dosimetrie (GSI)
- AP2: Biologische Dosimetrie (TUD)
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen (GSI)
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen/Knochen (GSI)
- AP5: *Die Rolle von NF- $\kappa$ B bei der anti-inflammatorischen Wirkung von Strahlung (TUD)*
- AP6: Untersuchung entzündungshemmender Reaktionen durch cholinerge Mechanismen (TUD)
- AP7: Inhibition der Schmerzentstehung durch Veränderung der Aktivität von Ionenkanälen (TUD)
- AP8: Untersuchung der diskontinuierlichen Dosis-Effekt-Beziehung (GUF)
- AP9: Untersuchung immunologischer Gefahrensignale und Inflammation im Tiermodell (UKER)

### Meilenstein AP5:

I.

- NF- $\kappa$ B Expression in Knochen-resorbierenden Osteoklasten, Makrophagen, Endothelzellen: auf RNA-Ebene (mittels RT-PCR) und auf Protein-Ebene (mittels Western Blot/FACS Analyse)
- Einfluss von Strahlung auf die Expression von NF- $\kappa$ B

II.

- Aktivierung von NF- $\kappa$ B nach Bestrahlung
- Transport in den Zellkern (mittels Immunfluoreszenz)
- Bindung an DNA Konsensus-Sequenzen mittels EMSA (electrophoretic mobility shift assay) und für das Gesamt-Genom mittels Chromatin-Immunpräzipitierung
- Ausdehnung der Untersuchungen zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B auf primäre menschliche Zellen (einschließlich Patientenproben) und auf Gewebe des RA Mausmodells

## III.

NF- $\kappa$ B Inhibierung durch Einschleusen des NEMO-Peptids in die Zellen (nach Choi u. a. 2003) oder durch NF- $\kappa$ B knock-down mittels siRNA

- Auswirkung auf die genannten anti-entzündlichen Prozesse

## IV.

- Untersuchung von Expression und Aktivierung von NF- $\kappa$ B im cholinergen Signalweg

## V.

- Systematische Analyse verschiedener NF- $\kappa$ B-Komponenten mit dem „Operetta High-content/High-throughput imaging system“ in unterschiedlich exponierten und unbehandelten Proben (Mensch und Maus)

## VI.

- Systematische Analyse der NF- $\kappa$ B Aktivierung/Inhibierung in Osteoklasten und Osteoblasten

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In vorliegenden Berichtszeitraum konnten wir die statistische Auswertung der Endothelzellexperimente abschließen.

Parallel arbeiteten wir an einem Verfahren zur automatischen Auswertung von Osteoclasten-Experimenten, dass sich jedoch auf Grund der morphologischen Merkmale dieses Zelltyps äußerst schwierig gestaltete. Für unsere Fragestellung wollten wir den Einfluss von Strahlung und Entzündungsfaktoren (TNFa) auf das Differenzierungsverhalten von Osteoclasten und die Aktivierung von NF- $\kappa$ B (p65) in Osteoclasten untersuchen. Zu diesem Zweck wurden von unserem Kooperationspartner Zellen behandelt und in Osteoclasten differenziert. Zu verschiedenen Differenzierungszeitpunkten wurden anschließend Immunfärbungen durchgeführt um Morphologie und Aktivität von NF- $\kappa$ B zu analysieren. Im Laufe unsere Analysebemühungen mussten wir erkennen, dass diese Aufgabe nur ansatzweise gelöst werden kann. Speziell in späten Synzytien-Stadien gelang es nicht, Zellen und Zellkerne eindeutig von einander zu trennen. Zwar konnte unsere Bildanalyse-Pipeline so modifiziert werden, dass verschiedene Osteoclasten-Klassen unterschieden werden konnten, allerdings fanden wir kein zufriedenstellendes Verfahren, um die NF- $\kappa$ B Aktivierung in Osteoclasten zu bestimmen.

Ebenfalls schwierig gestaltete sich die Analyse von Schulterpräparaten von radonbehandelten Mäusen. Auch hier gelang zwar die Präparation von Parafinschnitten, jedoch gelang bis jetzt keine zufriedenstellende Immunfärbung, auf die sich eine Auswertung stützen könnte.

Erfreulicherweise konnten wir unsere entwickeltes High-Content Bildanalyseverfahren auf weitere „Lamina Flow-Chamber“ Experimente anwenden, die in eine Bachelor Abschlussarbeit eingingen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Unsere Arbeiten endeten am 31. Oktober 2017.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

“Einfluss von physiologischen Strömungsbedingungen und Bestrahlung auf Morphologie und anti-inflammatorische Reaktionen von humanen Endothelzellen” (2017), Bachelor Arbeit Philipp Wendel, Hochschule Darmstadt, Fachbereich Chemie- und Biotechnologie, Studiengang Biotechnologie

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.07.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.007.984,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWIS sollen 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 Entzündungs-hemmende 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. Das Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GSI durchgeführt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Bestrahlung von Zellkulturen mit einer  $^{241}\text{Am}$  -Quelle
- Bestimmung von  $\alpha$ -Teilchenspuren in zellulären Monolayern, lateral und in Bestrahlungsrichtung (mit und ohne Kollimator)
- Bestimmung von  $\alpha$ -Teilchenspuren in zellulären Multilayern; Ausdehnung und Reichweite der Spuren
- Etablierung von Auswerte-Algorithmen/Methoden/Konzepten zur Analyse konfokaler/dekonvulierter Spurstrukturen
- Etablierung von Immunfluoreszenzfärbungen zum biodosimetrischen Nachweis von  $\alpha$ -Teilchen
- Empfindlichkeitsbestimmung: Schadenshintergrund im Gewebe (Foci pro Zelle), untere Nachweisgrenze (Foci pro Zelle)
- Charakterisierung/Zelltypisierung der jeweiligen Organe
- Erstellung von Eichkurven mit Röntgenstrahlen (zur Bestimmung von Äquivalenzdosen)
- Exposition von Mäusen mit Radongas
- Exposition mit unphysiologisch hohen Dosen zur Etablierung des Mausmodells zur Biodosimetrie
- Exposition mit physiologischen Dosen und fraktionierter Bestrahlung entsprechend einer Kuranwendung
- Analyse bestrahlter Mäuse direkt nach Exposition (Induktionspunkte)
- Zeitreihen über Minuten bis wenige Stunden zur Analyse von biologischen Diffusionskoeffizienten
- Zeitanalysen über Tage bis Wochen zur Langzeitwirkung einer Radonexposition



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde der letzte Tierversuch im Rahmen des Projektes durchgeführt. In diesem sollte untersucht werden, welchen Einfluss Radikale auf die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen haben. Es ist bekannt, dass Radikale während einer Bestrahlung entstehen und auf einem indirekten Weg DNA-Schäden induzieren können. Bei einer Bestrahlung mit Röntgenstrahlen wird die Energie homogen verteilt, wobei freie Radikale im Wesentlichen nicht miteinander, sondern mit anderen Molekülen in der Zelle interagieren. Infolgedessen leisten Radikale einen großen Beitrag zur Entstehung von DSBs nach der Exposition mit Röntgenstrahlen. Im Gegensatz dazu werden durch die hohe lokale Energiedeposition bei einem  $\alpha$ -Zerfall Radikale lokal erzeugt, die aufgrund ihrer räumlichen Nähe innerhalb weniger Milli-Sekunden miteinander reagieren. Durch diese Radikalrekombination schädigen die Radikale seltener (als nach einer Bestrahlung mit Röntgenstrahlen) andere Moleküle wie die DNA, weshalb Radikale bei der Schadensinduktion durch Radon nur einen geringen Einfluss haben. Um die Situation nach einer Radonexposition besser abzubilden, sollten daher in einem ausgewählten Röntgenexperiment die Radikale durch N-Acetylcystein (NAC) abgefangen und "unschädlich" gemacht werden. Für den Versuch wurden die Mäuse, angelehnt an andere tierexperimentelle Studien, über 14 Tage mit 40 mM NAC im Trinkwasser behandelt. Eine Kontrollgruppe von Mäusen erhielt über den gleichen Zeitraum normales Trinkwasser. Zur Untersuchung der DSB-Induktion wurden die Mäuse mit 10 mGy oder 20 mGy Röntgenstrahlung bestrahlt und 15 min nach der Bestrahlung zur Organentnahme getötet. Eine unbestrahlte Gruppe von NAC-behandelten Mäusen bzw. von Mäusen aus der Kontrollgruppe wurden entsprechend behandelt und diente der Analyse der spontan auftretenden DSBs im jeweiligen Gewebe. Zur Analyse der DSBs wurden zunächst Gewebeschnitte der Lunge angefertigt, da in der Lunge die höchste Dosisdeposition nach der Radonexposition beobachtet wurde. Analog zu diesen Untersuchungen wurden die Gewebeschnitte zur Analyse der DSBs gegen 53BP1 gefärbt und die resultierenden Foci in den Bronchialepithelzellen der Lunge quantifiziert. Erste Analysen von jeweils einer der drei Mäuse zeigten eine verringerte DSB-Induktion der NAC behandelten Maus im Vergleich zur DSB-Induktion in der unbehandelten Maus nach Bestrahlung mit 10 mGy und 20 mGy Röntgenstrahlen. Die beobachtete Ausprägung des Effektes ist bisher bei beiden Strahlendosen vergleichbar, muss aber durch weitere Untersuchungen der anderen Mäuse validiert werden. Diese wird zeigen, ob der Effekt bei allen Organen auftritt und ob dies bei der Verwendung einer Kalibriergeraden von Röntgenstrahlen zur Dosisabschätzung nach einer Radonexposition berücksichtigt werden muss. Diese Analyse wird im Rahmen von GREWIS-alpha durchgeführt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Quantifizierung der 53BP1-Foci in der Lunge soll durch die Analyse der Lunge von weiteren Mäusen vervollständigt werden. Zusätzlich soll ein Effekt von NAC auf die Induktion von DSBs in weiteren Organen untersucht werden.

Für die Etablierung des Korrekturfaktors in vitro müssen erneut verschiedene Reagenzien zum Beschichten der Folie für die Kultivierung der Zellen ausgetestet werden bzw. die Dosimetrie überprüft werden. Anschließend können die Experimente zur Etablierung des Korrekturfaktors wiederaufgenommen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Steinlage, J. Mirsch, R. Schäfer, C. Fournier and M. Löbrich: "Biodosimetry of alpha-particle-induced DNA double-strand breaks in murine bones and soft tissue", GSI Scientific Report 2014 (2015)

J. Mirsch, F. Tommasino, A. Frohns, S. Conrad, M. Durante, M. Scholz, T. Friedrich, M. Löbrich: "Direct measurement of the 3-dimensional DNA lesion distribution induced by energetic charged particles in a mouse model tissue", Proc Natl Acad Sci USA (2015)

R. Biehs, M. Steinlage, O. Barton, et al.: "DNA double-strand break resection occurs during non-homologous end-joining in G1 but is distinct from resection during homologous recombination", Mol. Cell. (2017)

<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 017F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2017		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.07.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 483.408,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rödel

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für die anti-inflammatorische Wirkung einer niedrig dosierten Strahlentherapie (LD-RT: Low Dose Radiation Therapy) konnten in den vergangenen Jahren eine Reihe zugrundeliegender Mechanismen beschrieben werden. Bemerkenswerterweise zeigten die in diesem Zusammenhang bekannten Effekte nicht-lineare und biphasische Dosis-Effekt-Beziehungen, deren ursächliche Mechanismen noch nicht bekannt sind. In dem Projekt soll entsprechend die Fragestellung, ob und in welchem Umfang die Anwendung von Radon und dicht-ionisierender Strahlung, ebenso wie eine Bestrahlung mit niedrigen Dosen von Röntgenstrahlen, *in vitro* und *in vivo* zu diskontinuierlichen Wirkungsbeziehungen führen und welche zugrundeliegenden molekularen Mechanismen existieren, untersucht werden. Dazu werden als mögliche übergeordnete Regulationsmechanismen die Rolle der DNA-Reparatur, der zellulären Stressantwort und der Aktivität von reaktiven Sauerstoffradikalen bzw. antioxidativen Systemen in der Modulation von Entzündungsprozessen evaluiert. Diese Untersuchungen bilden zudem eine Grundlage für ein vertieftes Verständnis der Modulation von Adhäsionsprozessen (TP Fournier), der NF- $\kappa$ B-Aktivierung (TP Cardoso), des cholinergen System (TP Layer) und von Ionenkanälen (TP Thiel) nach Bestrahlung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Der erste Themenkomplex beinhaltet mechanistische Untersuchungen zur Rolle der DNA-Doppelstrangbruchreparatur für die Ausprägung von diskontinuierlichen Dosis-Wirkungsbeziehungen in Endothelzellen und Leukozyten nach Radon-, Photonen- und Kohlenstoff-Bestrahlung.
- AP2: Gegenstand dieses Themenkomplexes sind Analysen zur Relevanz der zellulären Stressantwort (Hitzeschockproteine, Danger Signale) in Endothelzellen und Leukozyten.
- AP3: In diesem Arbeitspaket wird konsekutiv in Endothelzellen und Leukozyten die Produktion von Reactive Oxygen Species (ROS) und die Rolle antioxidativer Systeme (Gluthation und Glutamylcysteinsynthase) mit der Induktion/Ausprägung von diskontinuierlichen Dosis-Wirkungsrelationen und der Modulation von Entzündungsprozessen in Beziehung gesetzt.
- AP4: Unklar ist zudem, in welchem Ausmaß distinkte Dosen an Radon und Röntgenstrahlen zu diskontinuierlichen Dosis-Effekt-Beziehungen *in vivo* beitragen. Gegenstand des Themenkomplexes stellen Untersuchungen zur Relevanz möglicher Schlüsselmechanismen (DNA-Reparatur, Transkriptionsfaktoren, ROS) für nicht-lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen im Modell der hTNF- $\alpha$  transgenen Maus dar.

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

In den vorangegangenen Arbeiten im Rahmen von GREWIS konnten wir eine Modulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen und Lymphozyten nach Photonen- und Schwerionenbestrahlung im Niedrigdosisbereich nachweisen. Dabei wurden detoxifizierende Enzyme wie Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Catalase biphasisch reguliert, was in einer ebenfalls nichtlinearen Dosis-Wirkungsbeziehung der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und der Reparatur strahleninduzierter DNA-Doppelstrangbrüche resultierte. Nrf2 ist dabei der entscheidende Transkriptionsfaktor für die differentielle Expression der antioxidativen Enzyme. Zudem wurden micro(mi)RNA, miR-27a, miR-200a und miR-200b/c als potentielle Regulatoren der biphasischen Dosis-Wirkungsbeziehung untersucht. Nach spezifischer Inhibition von miR-27a ergab sich eine Aufhebung der diskontinuierlichen ROS-Produktion in Endothelzellen nach Bestrahlung mit Dosen zwischen 0 und 1 Gy. Im vorliegenden Berichtszeitraum wurde zudem untersucht, ob die Reparatur strahleninduzierter DNA-Schäden in diesem Dosisbereich ebenfalls einer Regulation durch miRNAs unterliegt. Dazu erfolgte nach Transfektion von Endothelzellen mit Inhibitoren der miRNAs miR-27a, miR-200a und miRNA200b eine Bestrahlung im Niedrig- und Intermediärdosisbereich zwischen 0 und 1 Gy. Die residuellen DNA-Doppelstrangbrüche 24 h nach Bestrahlung wurden mittels  $\gamma$ H2AX/53BP1 Foci Assay als Maß für DNA-Doppelstrangbrüche angefärbt und werden im Rahmen des Verbundprojektes GREWISalpha ausgewertet.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Im Rahmen des Verbundprojektes GREWISalpha werden die molekularen Zusammenhänge der Regulation des antioxidativen Systems nach Niedrigdosisbestrahlung mit Photonen und  $\alpha$ -Partikeln im Detail untersucht. Dazu werden die bestrahlungsabhängige differentielle Expression von miRNAs, deren Einfluss auf Nrf2, SOD, Catalase und GPx Funktion in an der Immunantwort beteiligten Zellen weiter untersucht (Task 21-26). Diese Grundlagen werden im Folgenden dann in Patientenstudien verifiziert werden (Task 23).

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 017G
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.07.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 636.516,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> PD Dr. Gaipf	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die entzündungshemmende und –modulierende Wirkung von Radon und X-rays (Low Dose Radiation Therapy, LDRT) soll *in vitro* und *in vivo* untersucht werden. Der Fokus vom Teilprojekt G liegt auf der Analyse von immunologischen Gefahrensignalen und der Modulation der Entzündung in humanen Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (hTNF- $\alpha$ ) transgenen Mäusen (entwickeln eine chronische Polyarthrit) und in Patienten mit entzündlichen Erkrankungen nach Therapie mit LDRT oder Radon. Ein Hauptziel ist der Vergleich des spezifischen Immunstatus von Patienten, welche mit LDRT behandelt wurden und mit solchen, welche in Radonbädern oder –stollen  $\alpha$ -Strahlung exponiert wurden. Mittels Mehrfarbendurchflusszytometrie werden Immunzell(sub)populationen im peripheren Blut der Patienten vor, während und nach der Exposition analysiert. Des Weiteren werden Monozyten des peripheren Blutes der Patienten *ex vivo* zu Makrophagen differenziert und deren funktionellen Aktivität (Phagozytose, Zytokinfreisetzung, Vitalität) nach Exposition mit niedrig dosierter Strahlung unterschiedlicher Qualität bestimmt und verglichen. In Abhängigkeit der Ergebnisse der Immunzellpopulations-Analysen, werden analoge funktionelle Tests mit anderen Immunzellen durchgeführt. Das zweite Hauptziel ist die Aufdeckung der zellulären und molekularen Mechanismen, welche zur Verbesserung des Krankheitsverlaufes der chronischen Polyarthrit in hTNF- $\alpha$  transgenen Mäusen nach Exposition mit X-rays und Radon führen. Die Radon-Exposition der Tiere wird beim Verbundpartner Dr. Kraft durchgeführt. Ein Fokus bei den Tiermodellen ist ebenfalls die Analyse von immunmodulierenden Gefahrensignalen und Untersuchungen von Inflammationsgewebe, Osteoklasteninfiltration und Knorpeldestruktion in den Gelenken der Mäuse. Das Biomaterial steht den anderen Projektpartnern für ihre Analysen zur Verfügung.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeitshypothese ist, dass Röntgen- und/oder Radonbestrahlung die Populationen und Funktionen von Immunzellen sowie die Sekretion von Gefahrensignalen und Zytokinen moduliert und somit eine anti-entzündliche Mikroumgebung induziert.

AP1: Bestimmung des spezifischen Immunstatus von Patienten vor, während und nach der Behandlung mit Röntgenstrahlung oder Radon Exposition.

AP2: Funktionelle *ex vivo* Analysen von Monozyten/Makrophagen und weiteren Immunzellen von Patienten nach Behandlung mit LDRT oder Radon.

- AP3: Untersuchung des Krankheitsverlaufes der chronischen Polyarthritits an hTNF- $\alpha$  transgenen Mäusen nach Exposition mit X-rays oder Radon.
- AP4: Analyse von immunmodulierend wirkenden Gefahrensignalen im Serum der Mäuse vor, während und nach Exposition mit X-rays oder Radon.
- AP5: Untersuchung von Inflammationsgewebe, Osteoklasteninfiltration und Knorpeldestruktion in Gelenken der hTNF- $\alpha$  transgenen Mäuse vor und nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlenqualitäten und -dosen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Immunphänotypisierungen (IPT) im Rahmen der IMMO-LDRT01 Studie (NCT02653079) wurden fortgesetzt. Es zeigte sich, dass insbesondere eosinophile Granulozyten und T-Zellen temporär nach LDRT in der Peripherie erniedrigt sind. Die Planungen und Vorbereitungen für die RAD-ON02-Folgestudie wurden fortgeführt. Die Ethik-Kommission der BLÄK hatte die Studie erneut auf Basis der neuen Rechtsgrundlage (AMG-Studie) geprüft. Die erhobenen Einwände wurden im Juli 2017 bearbeitet zur wiederholten Begutachtung eingereicht. Am 04.08.2017 wird die BLÄK auf Basis der neuen Rechtsgrundlage der Studie ein erneutes positives Ethikvotum erteilen. Die RAD-ON02-Folgestudie wird im Rahmen von GREWIS-alpha im Herbst 2018 starten.

Die Arbeit „Low-dose radiotherapy reduces synovial fibroblast proliferation and osteoclast differentiation exerting anti-inflammatory effects in arthritis“ wurde fertig gestellt und am 24.07.2017 zur Begutachtung bei *Annals of the Rheumatic Diseases* eingereicht. Für die Osteoklasten wurde ein *pit-formation* Assay zur Untersuchung des funktionellen Knochenabbaus *in vitro* etabliert. Für die FLS wurde ein *Matrigel Invasion Assay* (MIA), welcher es ermöglicht das tumorähnliche, invasive Wachstum der RA-FLS *in vitro* weiter zu untersuchen, etabliert. Somit wurden wichtige Grundlagen für das neu beantragte GREWIS-alpha Projekt geschaffen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt endet am 31.07.2017. Somit sind im Rahmen dieses Projektes keine Weiterarbeiten möglich.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Frey et al., *Immunol Rev.* 2017;280(1):231-248

Rückert et al., *Onkologe* 2017; published online 27. Juli 2017

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 030A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 30.11.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 30.11.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.582.482,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Tschiersch	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zum Erhalt und Weiterentwicklung der Kompetenz in der Strahlenforschung sollen im Rahmen des Verbundprojekts TransAqua in sechs Arbeitspaketen Nachwuchskräfte ausgebildet und neue Erkenntnisse auf folgenden Gebieten erarbeitet werden: Verhalten und Ausbreitung von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen, insbesondere Schnee, heterogene Grundwassersysteme sowie Auswirkungen auf Trinkwasserversorgung und Stadtentwässerung, Untersuchungen zur Biokinetik inkorporierter Radionuklide zur Dosisabschätzung. Zusammenarbeiten mit den Verbundpartnern Universität Bremen, Leibniz Universität Hannover, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Karlsruher Institut für Technologie, Technische Universität München, Hochschule Ravensburg-Weingarten, Helmholtz Zentrum Dresden-Rossendorf und VKTA Rossendorf sind in den Programmen der jeweiligen Arbeitspakete festgelegt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm ist in sechs Arbeitspakete (AP) gegliedert. Im Einzelnen haben die AP folgende Themen:

- AP1.2: Transport von Radionukliden von einem Schneefeld in Vorfluter: Bilanzierung am Beispiel des Reintals, Zugspitze (Hürkamp, Tschiersch)
- AP1.3: Das Verhalten von Plutonium in der Schnee-Hydrosphäre (Shinonaga)
- AP2.5: Untersuchung und Bewertung des reaktiven Stofftransports von Radionukliden in heterogenen Grundwassersystemen (Maloszewski, Stumpp)
- AP3.1: Untersuchungen zur Biokinetik inkorporierter Radionuklide aus aquatischen Ökosystemen zur verbesserten Dosisabschätzung (Oeh, Höllriegl, Li)
- AP4.2: Abschätzung der radiologischen Auswirkungen von Nuklearunfällen auf die städtische Trinkwasserversorgung und Stadtentwässerung (Kaiser, Staudt)
- AP5: Ausbildung und Nachwuchsförderung: Forschungsaufenthalte, Austauschprojekte, Sommerschule (Rühm)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nachdem der Gesamtverbund TransAqua bereits auf dem 3. Projektstatusgespräch in Dresden der in der nuklearen Sicherheitsforschung tätigen Community in Deutschland vorgestellt werden konnte, wurde das Forum der 4th International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity (ICRER) in Berlin, 3.-8. September 2017 genutzt, um die Erfolge der deutschen Verbundforschung auch international sichtbar zu machen. In dem Vortrag konnte zudem auf die Vielzahl von Vorträgen und Postern einzelner Arbeitspakete des Verbunds verwiesen werden.

- AP1.2: Nach Abschluss aller Labor- und Feldarbeiten wurden die Ergebnisse ausgewertet und interpretiert. Entscheidende Faktoren für den Radionuklidtransport im Schnee und deren Freisetzung mit dem Schmelzwasser sind neben dem Zeitpunkt der Deposition, die Struktur des Schnees und die Dauer und Intensität der ersten Schmelzperiode im Frühjahr. Die Projektarbeiten wurden auf den internationalen Konferenzen ICRER Berlin und ICRP-ERPW Paris sowie auf dem Cross-Programme Workshop zur Strahlenforschung der Helmholtz-Zentren in Darmstadt vorgestellt. Aktuell wird der Abschlussbericht verfasst und mögliche Publikationen vorbereitet.
- AP1.3: Die Ergebnisse des Arbeitspakets wurden in einem hochrangigen Journal (Nature Scientific Reports) veröffentlicht. Der Abschlussbericht wurde fertig gestellt.
- AP2.5: Die Simulation der Ergebnisse der Laborexperimente mit einem weiterentwickelten Modell ist abgeschlossen. Die erhobenen Daten werden für die Publikationen im Abschlussbericht sowie in einem wissenschaftlichen Journal aufbereitet.
- AP3.1: Die Auswertung der Humanstudie zur Biokinetik von Cer nach Gabe von zwei stabilen Cer-Isotopen ( $^{136}\text{Ce}$  und  $^{138}\text{Ce}$ ), die als Ce-(III)-Zitratkomplexe vorlagen, ergab eine erhöhte Urinausscheidung sowie Plasmaclearance von Cer-Zitrat im Vergleich zum biokinetischen Cer-Modell nach Taylor und Leggett. Der Vergleich von Humandaten und Modellvorhersage legt eine Abhängigkeit der Urinausscheidung und der Plasmaclearance von Cer von der chemischen Speziation der verabreichten Cer-Verbindung (als Zitratkomplex) nahe. Die Auswertungen der Humanstudie zeigen somit einen Einfluss der chemischen Speziation auf das biokinetische Verhalten von Cer im menschlichen Körper.
- AP4.2: Die Ergebnisse der Abwasser-Modellrechnungen in ++Systems wurden in weiteren Szenarien verifiziert. Der Abschlussbericht des Arbeitspakets wurde fertig gestellt.
- AP5: Über das Arbeitspaket wurde ein Laboraustausch einer Studentin aus Jena mit dem Labor am HZDR finanziert. Zwei Nachwuchswissenschaftlerinnen vom HMGU und aus Jena erhielten finanzielle Unterstützung für den Besuch der internationalen Konferenzen ICRER Berlin bzw. für die Goldschmidt Tagung in Paris. Die Ergebnisse der AP-Workshops sowie eine Aufstellung der über das AP finanzierten Teilnahmen von Nachwuchswissenschaftlern an Sommerschulen, internationalen Konferenzen und Laboraustauschen werden aktuell im Abschlussbericht zusammengefasst.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten in den Arbeitspaketen sind beendet und ausgewertet. Aktuell wird der Abschlussbericht verfasst und die Ergebnisse für Publikationen aufbereitet. Die Homepage (<http://transaqua.helmholtz-muenchen.de>) bleibt auch nach Projektende bestehen und wird weiterhin mit News, Terminen sowie neuen Publikationen der Verbundpartner aktualisiert.

### 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 030B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.10.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.10.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 164.749,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Breustedt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Radionuklide im Trinkwasser und die daraus resultierenden Strahlenexpositionen können eine Gefährdung für die Bevölkerung darstellen. Dies gilt sowohl für Anreicherungen natürlicher Radionuklide im Trinkwasser als auch für den Eintrag anthropogener Radionuklide nach deren Freisetzung. Im Arbeitspaket 2.1 „Entwicklung eines Detektors zum empfindlichen Online-Nachweis von Radionukliden im (Trink-)Wassernetz“ soll ein Detektorsystem entwickelt werden, mit dem Radionuklide im Trinkwasser empfindlich nachgewiesen werden. Algorithmen für die Online-Analyse sollen entwickelt werden, um einen Dauerbetrieb des Detektorsystems als Aktivitätsmonitor zu ermöglichen. Die Arbeiten erfolgen in Zusammenarbeit mit den Verbundpartnern. So werden z. B. mit Hilfe der Kollegen aus AP3.1 „Untersuchung zur Biokinetik inkorporierter Radionuklide“ die für den sicheren Nachweis vorgegebener Dosiswerte notwendigen (Aktivitäts-)Nachweisgrenzen des Detektorsystems für ausgewählte Radionuklide ermittelt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Arbeitspaket 2.1 ist in drei Teilschritte unterteilt:

- *Design des Detektors:* Test und Auswahl verschiedener Detektormaterialien. Ein modernes akkreditiertes Messlabor zur Analytik von Radionukliden kann dabei in vollem Umfang genutzt werden. Endgültiges Design und Optimierung für das Detektormaterial und die Messgeometrie erfolgen durch die Simulation des Strahlungs- und Lichttransports im Detektor.
- *Aufbau eines Prototyps:* Test und weitere Optimierung unter Laborbedingungen. Nach der Entwicklung von Analysealgorithmen zur getrennten Erfassung von Alpha-, Beta- und Gammastrahlung sowie der Anpassung von bereits vorhandener Standardelektronik für den online Betrieb, sollen erste online Messungen in einem Testsystem erfolgen.
- *Test und Bewertung des entwickelten Detektorsystems:* Der Test des Systems soll in einem simulierten Wassernetz unter realitätsnahen Bedingungen erfolgen. Dabei werden für ausgewählte dosisrelevante Nuklide auch die erreichbaren Nachweisgrenzen experimentell bestimmt. Die Ermittlung der zu betrachteten Radionuklide und der Dosisfaktoren erfolgt in Zusammenarbeit mit den anderen Verbundpartnern (z. B. AP3.1).



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

- Weiterentwicklung der Detektorkühlung zur Rauschreduzierung
- Validierungen der Simulationsergebnisse
- Weiterentwicklung des Auslese- und Analyseprogramms
- Arbeiten an einer softwarebasierten Koinzidenzmessung
- Mechanische Optimierung des Prototyps

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Veröffentlichung der Projektergebnisse.

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

Ein Manuskript zur Veröffentlichung ist bei Radiation Protection Dosimetry eingereicht, derzeit in der Revision

Eine Dissertation ist in Arbeit

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 030C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 30.11.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 30.11.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 398.304,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Büchel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Teilprojekt soll einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis der Freisetzung, des Transports und der Immobilisierung der Radionuklide im System Gestein/Wasser liefern. Die möglichst genaue Kenntnis der beteiligten hydrogeochemischen und mikrobiologischen Prozesse trägt gezielt zur Reduzierung des negativen Einflusses der Radionuklide auf das Trinkwasser bei.

Das Teilprojekt setzt unmittelbar bei den Verbund-Schwerpunkten „Verständnis der hydrogeochemischen und biologischen (mikrobiellen) Prozesse bei der Freisetzung und beim Transport von Radionukliden“ sowie „Bewertung der Sensitivität von unterschiedlichen Reservoiren in den Kompartimenten Grundwasser und Trinkwasser“ an. Die gewonnenen Ergebnisse bzgl. Radionuklideinträge lassen Abschätzungen zu den Prozessen in fluvialen Systemen und Abwassersystemen zu. Damit werden die in den ersten Förderrunden des BMBF begonnenen Kooperationen zwischen der Friedrich-Schiller-Universität Jena mit anderen Hochschulen und Einrichtungen der Helmholtz-Gemeinschaft intensiviert.

Die Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses anhand konkreter Forschungsprojekte und die Einbindung in die forschungsorientierte Lehre an der Universität im Rahmen der Studiengänge B.Sc. und M.Sc. Biogeowissenschaften leistet einen erheblichen Beitrag zum Kompetenzerhalt in der Radioökologie.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Es werden drei wichtige Lithotypen untersucht:

AP1: Grundwasser-führende Gesteine des Mittleren Buntsandsteins (z. B. Umgebung von Jena und Eichsfeld). Sie stellen einen der wichtigsten Grundwasser-Aquifere in Deutschland und darüber hinaus dar. Die Grundwässer enthalten häufig erhöhte Urangehalte ( $> 10 \mu\text{g/L}$ ).

AP2: Tiefenwasser-führende Rhyolithe (z. B. Kreuznacher Rhyolith, Saar/Nahe-Gebiet). Sie enthalten neben Uran auch Radium und sind für Radon-Emanation bekannt.

AP3: Oberflächennahe Grundwasser-führende Schwarzpelite bzw. Schiefer. Sie sind für hohe Radionuklid-, u. a. Uran- und Radiumgehalte und hohe Emanationsraten bekannt.

In den geplanten Untersuchungen wird auf der einen Seite die Mineralogie der Festkomponenten und auf der anderen Seite die Hydrochemie und die Mikrobiologie der aus dem Gestein stammenden Grund- und Tiefenwässer bestimmt und in Relation zu den Lithotypen gesetzt. An den Gesteinsproben sind parallel Laborversuche (Batch- und Säulenexperimente) geplant. Aus den Ergebnissen können konkrete Hinweise auf die vorherrschenden Prozesse der Radionuklidmigration gewonnen werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Sequenzierungsergebnisse der gewonnenen Isolate beider untersuchter Quellen (Rückstandshalde Hattorf) verweisen auf eine geringe mikrobielle Diversität, wobei Pseudomonaden und *Bacillus* sp. dominierten. Zudem wurden halotolerante/halophile Bakterien und Pilze wie *Virgibacillus* sp., *Salinicola* sp. oder *Cladosporium* sp., welche eine NaCl-Konzentration von 3,6 M tolerieren, in der stärker salzbelasteten Quelle nachgewiesen. Allgemein ist die geringe mikrobielle Diversität in diesen Quellen auf den erniedrigten pH-Wert, die hohe elektrische Leitfähigkeit und erhöhte RN/SM-Konzentrationen zurückzuführen.
- AP2: Um mögliche Veränderungen innerhalb der RN-Konzentrationen im Grundwasser bei Bad Kreuznach nachzuweisen, wurden ausgewählte Brunnen erneut beprobt und gammaspektrometrisch analysiert (VKTA). Dabei konnte gezeigt werden, dass über einen längeren Zeitraum die Aktivitätskonzentration einzelner RN nur minimale Schwankungen aufzeigt. Die gammaspektrometrische Analyse der Gesteinsproben Bad Kreuznachs unterstützt die Theorie, dass das Rn im Grundwasser nicht nur aus dem vorherrschenden Rhyolith stammt.
- AP3: Anhand der U-Sorptionstests in Kooperation mit dem HZDR Dresden konnte im Falle des Isolates *Mucor* sp. MF 83 mittels ICP-MS eine Uransorptionskapazität von bis zu 86,93 % bzw. 90,61 mg Uran pro Gramm Trockenmasse nachgewiesen werden. Für die schwermetalltoleranten Zygomyceten *Conidiobolus* sp. MF 91 und *Arthrobacter* sp. + *Umbelopsis* sp. MBMF 110 konnten Uranabsorptionsraten von 22,50 % bzw. 43,91 % gezeigt werden. Zudem wurde geprüft, ob die Uranbindung intrazellulär oder durch Sorption/Bindung an die Zellwand erfolgt. Erste Ergebnisse mittels REM/TEM zeigten beides, sie wiesen sowohl auf eine Sorption des Urans an der Zellwand, als auch auf eine intrazelluläre Akkumulation hin. Zur Differenzierung und Quantifizierung der Sorptionskapazität zwischen lebender und toter Biomasse wurden die Uransorptionstests mit autoklavierten Stämmen wiederholt. Bei der TRLFS der mit Uranylнитrat kultivierten Mikroorganismen *Arthrobacter* sp. + *Umbelopsis* sp. MBMF 110, *Mucor* sp. MF 83 und *Conidiobolus* sp. MF 91 konnten eindeutige Fluoreszenzspektren aufgenommen werden, die auf die Ausbildung isolatspezifischer, gebundener Uranspezies hindeuten. In Bezug auf die Interaktion zwischen Isolat und Schwarzschiefer wurden Messungen mittels Raman-Spektroskopie durchgeführt. Es konnte nachgewiesen werden, dass Bereiche der Schwarzschieferoberfläche durch die Mikroorganismen degradiert wurden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Sowohl die DNA-Extraktion und die im Anschluss durchzuführende Sequenzanalyse aller Isolate soll abgeschlossen und mit Datensätzen der vorherigen Untersuchungen ähnlicher salzbelasteter Quellen verglichen werden.
- AP2: Es sind keine weiteren Arbeiten geplant.
- AP3: Die Ergebnisse der Uransorptions-Kontrollansätze werden mit den zuvor erzeugten Datensätzen verglichen. Unter Verwendung von TEM-EDX sollen die an den Zellen sorbierten und in den Zellen akkumulierten Uranphasen bestimmt werden. Zudem werden die mittels ESI-MS produzierten Daten bezüglich der Siderophorenidentifizierung final ausgewertet. Die Erstellung von Publikationen zu allen Arbeitspaketen wird fortgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Burow, K., Grawunder, A., Harpke, M., Schäfer, D., Bock, S., Dietrich, N., Wagner, L., Merten, D., Büchel, G., Kothe, E. (2017). Microbial (im)mobilization of radionuclides: active or passive?. 16th symposium on remediation, Jena
- Burow, K., Grawunder, A., Harpke, M., Schäfer, D., Bock, S., Dietrich, N., Merten, D., Kothe, E., Büchel, G. (2017). Actors in rock-water-systems: microbial radionuclide mobilization. Goldschmidt-Tagung, Paris
- Harpke, M. (2017). Spezifizierung mikrobieller (Im)mobilisierungsprozesse von Elementen und/oder Radionukliden aus Schwarzschiefer. Masterarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 30.11.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 30.11.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 140.292,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Schönert	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel ist es eine Methode zu entwickeln die es erlaubt, anthropogene, langlebige Spaltprodukte und zusätzlich Plutoniumisotope in derselben Probe in aquatischen Ökosystemen nachzuweisen und ihre Ausbreitung zu verfolgen. An den verschiedenen Messplätzen der Beschleuniger-Massenspektrometrie am Münchner Tandem Beschleuniger sollen dazu dedizierte Tests durchgeführt werden, die durch numerische Simulationen begleitet werden sollen. Als Anwendung sollen in Schneeproben zum einen Profile von Spaltnukliden und zum anderen Plutonium-Profile bestimmt werden. Zudem ist geplant, erstmals Radionuklidkonzentrationen in Schnee-, Wasser- und Regenwasserproben zu bestimmen. Diese Arbeiten stellen einen ersten Schritt zur Quantifizierung des globalen Inventars der oben genannten Nuklide dar.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Um die unterschiedlichen Methoden zu optimieren, sind sehr umfangreiche Messungen nötig. Diese umfassen sowohl die Optimierung und Bestimmung der geeigneten negativen Molekül-Ionen zur Isobaren-Unterdrückung als auch der effizienten Ausbeute. Detaillierte Simulationsrechnungen müssen dabei zu allen Schritten der Isobaren-Trennung bei den beschleunigten Ionen durch Absorber bzw. Magnete durchgeführt werden, um die optimalen Parameter zur isobarischen Trennung zu finden.

Ressourcen: Beschleuniger mit AMS Anlage (Flugzeitmessung, Gasgefüllter Magnet, Q3D Spektrograph), chemisches Labor und Rechneranlage sind vorhanden.

Entsprechend der Fortschritte werden Messungen an Schneeproben durchgeführt.

Geeignete Schneeproben werden parasitär in enger Zusammenarbeit mit AP1.3 uns zur Verfügung gestellt.

Die Arbeitsgruppe, in der die Arbeiten durchgeführt werden sollen, besteht aus auf dem Gebiet der AMS erfahrenen Wissenschaftlern sowie Doktoranden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nach Genehmigung des Antrages zur kostenneutralen Verlängerung bis November 2017 haben wir uns auf die weitere Entwicklung der Methoden zum höchstempfindlichen Nachweis des Spaltnuklides  $^{99}\text{Tc}$  konzentriert um erstmalige Messungen in Umweltproben durchzuführen.

Wie bereits in den vorherigen Berichten ausführlich dargelegt, ist die Verwendung eines anderen langelebigen Tc Isotopes als Spike bei der Chemie aber auch bei der AMS-Messung der Proben benötigt. Geeignet ist hierfür  $^{97}\text{Tc}$  ( $T_{1/2} = 4 \cdot 10^6 \text{a}$ ), was wir selber herstellen mussten. Dabei gingen wir parallel vor. Einerseits über Neutronenaktivierung von hochangereichertes  $^{96}\text{Ru}$ , wobei das kurzlebige  $^{97}\text{Ru}$  ( $T_{1/2} = 2.9 \text{d}$ ) zu  $^{97}\text{Tc}$  zerfällt. Der andere Ansatz ging über eine Kernreaktion  $^{93}\text{Nb}(^7\text{Li}, 3\text{n})^{97}\text{Ru}$  (Hierbei wurde eine dünne  $^{93}\text{Nb}$ -Folie mit  $32 \text{MeV } ^7\text{Li}$  beschossen), wobei das gewünschte  $^{97}\text{Tc}$  (ebenfalls aus dem Zerfall vom  $^{97}\text{Ru}$ ) erzeugt wurde. Die Trennchemie Nb-Tc ist bekannt und einfach durchzuführen. Nach chemischer Abtrennung hatten wir dann bereits bei einer Messung Anfang Juli das  $^{97}\text{Tc}$  zur Verfügung. Es konnte nachgewiesen werden und damit wurde die Trennchemie erfolgreich bestätigt. Der gleichzeitig beobachtete, relativ große Untergrund vom stabilen  $^{97}\text{Mo}$  hat sich inzwischen durch einen weiteren Trennschritt, mittels eines Harzes, signifikant reduzieren lassen. In weiteren Versuchen, konnten wir erfolgreich die Verwendung des Trägermaterials (bei Tc entweder Mn oder Nb) als Referenzmaterial, zur Bestimmung von  $^{99}\text{Tc}$ , zeigen.

Als Messmethode wurde wiederum unser GAMS System eingesetzt, wobei die Isobaren-Trennung mittels eines gasgefüllten Magneten plus einer Ionisationskammer mit 5 Anoden geschieht. Dies ist bereits in früheren Berichten ausführlich dargelegt worden.

Diese sehr aufwendigen Tests führten dann schließlich zum Erfolg. Die Messung der Umweltprobe (Wildseemoor, Schwarzwald) ergab einen Wert von  $10^8$   $^{99}\text{Tc}$  in einer 100ml Wasserprobe. Dies ist der erstmalige Nachweis von  $^{99}\text{Tc}$  in einer natürlichen Umweltprobe aus Deutschland; das  $^{99}\text{Tc}$  stammt vom globalen Fallout der Kernwaffentests in den 50er und 60er Jahren. Auf Grund der extrem hohen Empfindlichkeit (circa 3 Größenordnungen empfindlicher als andere Methoden) sind damit erstmalig Messungen mit äußerst wenig Probenmaterial möglich. Unsere Empfindlichkeit liegt gegenwärtig bei  $10^7$   $^{99}\text{Tc}$ .

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die erzielten Ergebnisse erlauben uns in Zukunft das Thema unabhängig weiter zu bearbeiten.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

AMS Konferenz in Ottawa (Kanada), 14.08. bis 18.08.2017, Poster

Zwei Veröffentlichungen sind eingereicht

Eine weitere Veröffentlichung ist z. Z. in Vorbereitung

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 30.11.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 30.11.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 596.288,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Arnold	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der vorgeschlagene Kompetenzverbund „Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen“ hat zum Ziel, die Abschätzung von Strahlenexpositionen über aquatische Ökosysteme und die damit einhergehende Dosisermittlung für den Menschen zu verbessern. Durch multidisziplinäre Zusammenarbeit sollen die verschiedenen Aspekte des Eintrages, des Transportes und der Ausbreitung von Radionukliden in Oberflächen-, Grund-, Trink- und Abwasser sowie in fluviale oder limnische Sedimente, des Transfers an Grenzflächen in biologisches Material und in die Nahrungskette bis hin zu biokinetischen Stoffwechselmodellen der Radionuklide im Menschen zu einem Gesamtbild zusammengefügt werden. Aus den gewonnenen Erkenntnissen können Maßnahmen bei Störfällen kerntechnischer Anlagen, zur Sanierung von Altlasten und bei Betrieb von Anlagen, die natürliche Radionuklide durch ihre Prozessführung anreichern (TENORM), abgeleitet werden. Es ist beabsichtigt, die in den ersten Förderrunden des BMBF begonnene Kooperation zwischen Einrichtungen der Helmholtz-Gemeinschaft und Hochschulen fortzusetzen und durch verstärkte Vernetzung zu intensivieren. Damit wird auch die Erfüllung der Zielstellungen des Kompetenzverbundes, Forschungsarbeiten unterschiedlicher Disziplinen auf einen gemeinsamen Schwerpunkt zu bündeln - hier der Radionuklidtransfer in aquatischen Ökosystemen - sowie durch moderne Fragestellungen einen effizienten Wissenstransfer und nachhaltigen Kompetenzerhalt auf den Feldern der Strahlenforschung zu erreichen, vorangetrieben. Das Vorhaben ist thematisch in fünf Teilprojekte gegliedert, wobei das hier vorliegende im Teilprojekt drei „Biokinetik“ und vier „kontaminierte Wässer“ angesiedelt ist. Das Institut für Ressourcenökologie des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf bearbeitet innerhalb des Teilprojekts 3 das AP „Spektroskopische Bestimmung der Bindungsform (Speziation) trivalenter Actinide/Lanthanide in Biofluiden des menschlichen Gastrointestinaltraktes und im Blut“ und im Teilprojekts 4 das AP „Untersuchungen zu den Wechselwirkungen zwischen unter Tage lebenden Mikroorganismen mit Uran und deren Einfluss auf das Migrationsverhalten von Uran in gefluteten Urangruben“. Die Projektarbeiten erfordern den sensitiven Umgang mit  $\alpha$ -strahlenden Radionukliden in Strahlenschutzkontrollbereichen. Die internationale Wettbewerbsfähigkeit wird durch die Verbindung von mikrobiologischen und radiochemischen Arbeitsmethoden realisiert.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

#### AP3.2:

- Modellierung der Speziation von Ln(III)/An(III) in natürlichen Wässern
- Spektroskopische Untersuchung der Speziation von Eu(III) und Cm(III) im Gastrointestinaltrakt
- Spektroskopische Untersuchung der Speziation von Eu(III) und Cm(III) im Blut
- Spektroskopische Untersuchung der Speziation von Ce(III) im Urin

#### AP4.3:

- Anziehen von Reinkulturen und Durchführung von Bioakkumulationsexperimenten
- REM und TEM Untersuchungen
- Untersuchungen mit der zeitaufgelöste Laser Fluoreszenz Spektroskopie und Anfärben der Zellen
- Konfokales Laser Scanning Mikroskop kombiniert mit der Laser-induzierten Fluoreszenz-Spektroskopie
- Dokumentation: Technische Berichte, Zwischenberichte, Abschlussberichte

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3.2: Die Struktur des Eu(III)-Komplexes mit dem Zuckermolekül N-Acetylneuraminsäure (NANA), welches den metallbindenden Hauptbestandteil des Glycoproteins Mucin des Gastrointestinaltraktes darstellt, wurde im Institut für Radioökologie der Leibniz-Universität Hannover (Projektpartner in TransAqua) mit ESI-MS-Messungen weiter untersucht, die erhaltenen Ergebnisse unterstützen die bisherigen experimentell und theoretisch erhaltenen Aussagen.

Frau Claudia Wilke hat ihre Dissertationsschrift fertiggestellt und in der TU Dresden eingereicht.

AP4.3: Der aus dem Flutungswasser isolierte Stamm *Penicillium simplicissimum* (KS1) wurde hinsichtlich seines Potentials für die Bioremediation untersucht. Der filamentös und aerob wachsende Pilz weist hohe Schwermetallresistenzen auf (U: 0,7 mM, Pb: 5 mM, Cr: > 15 mM und Zn > 22 mM), Nickel hingegen wirkt toxisch (resistent bis 0,2 mM). Die hohe Schwermetalltoleranz kann damit begründet werden, dass KS1 aus dem sauren und schwermetallhaltigen Flutungswasser der ehemaligen Uranerzmine Königstein isoliert wurde. Ein Großteil der darin vorkommenden Mikroorganismen tolerieren hohe Konzentrationen, beispielsweise indem sie die Schwermetalle extrazellulär immobilisieren (Biominalisierung, Biosorption) oder intrazellulär akkumulieren (Bioakkumulation). Geeignete Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Fructose und Galactose. Die Ergebnisse der Uranimmobilisierungsversuche mit dem aus dem Flutungswasser isolierten Stamm KS1 zeigten eine Immobilisierung von 55 % des in Lösung befindlichen Urans (0,1 mM Ausgangskonzentration) innerhalb von 52 h. Eine höhere Immobilisierung wäre durch einen Einsatz einer größeren Biomasse erreichbar. Des Weiteren zeigte sich eine Abhängigkeit von Temperatur und Zellvitalität auf aktive und passive Mechanismen der Uraufnahme. Der zum Vergleich eingesetzte Referenzstamm DSM 62867 zeigte im Vergleich zum isolierten Stamm eine signifikant niedrigere Uranimmobilisierung. Die Ergebnisse zu den Untersuchungen des isolierten Stamm KS1 werden zurzeit zur Einreichung als Publikation in einer peer-reviewten Zeitschrift vorbereitet.

Die Ergebnisse zu den Untersuchungen der Schwermetalltoleranz und Uranimmobilisierung durch *Rhodospiridium toruloides* wurden bereits in Microbial Biotechnology eingereicht und befinden sich im Reviewprozess. Des Weiteren ist Frau Ulrike Gerber gerade dabei, eine Dissertationsschrift zum Abschluss zu bringen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP3.2: Frau Wilke wird ihre Dissertation baldmöglichst verteidigen. Ein nachfolgendes Verbundprojekt ist in Vorbereitung; die Verbundprojektskizze mit dem Titel „Einfluss von Dekorporationsmitteln auf die Speziation und den Transfer von Radionukliden im Menschen (DekoRa)“ wurde bereits beim Projektträger eingereicht.

AP4.3: Frau Gerber wird ihre Dissertationsschrift baldmöglichst einreichen und verteidigen. Ein nachfolgendes Verbundprojekt wird vorbereitet und wurde bereits als Skizze mit dem Titel „Mikrobiell induzierter Radionuklidtransport – Biogeochemie in verwahrten Tailings (MikroBioGeo)“ beim Projektträger eingereicht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Artikel in peer-reviewten Zeitschriften:

C. Wilke, A. Barkleit, T. Stumpf, A. Ikeda-Ohno: Speciation of the trivalent f-elements Eu(III) and Cm(III) in digestive media. J. Inorg. Biochem., 175(2017), 248-258.

E. Krawczyk-Bärsch, et al.: Multidisciplinary characterization of U(VI) sequestration by *Acidovorax facilis* for bioremediation purposes. J. Hazard. Mater. 147(2018), 233-241.

Konferenzbeiträge:

A. Barkleit, C. Wilke: Chemical speciation of trivalent lanthanides and actinides in body fluids. 2nd International Conference on Pollutant Toxic Ions and Molecules, PTIM2017, 06.-09.11.2017, Caparica, Portugal (Eing. Vort.)

A. Barkleit, C. Wilke: Speziation trivalenter Actinide/Lanthanide im Verdauungssystem. 2.Workshop-Helmholtz Cross Program Activity, Querschnittsthema Strahlenforschung "Transportprozesse in Mensch und Umwelt", 24.-25.10.2017, Darmstadt, Deutschland (Eingeladener Vortrag)

A. Barkleit, C. Wilke: Speziation trivalenter f-Elemente in den Biofluiden des Verdauungssystems. GDCh-Wissenschaftsforum Chemie 2017, 10.-14.09.2017, Berlin, Deutschland (Vortrag)

Krawczyk-Bärsch, et al.: Spectroscopic and microscopic approach of U(VI) sorption on *Acidovorax facilis* for remediation purpose, Goldschmidt2017, 13.-18.08.2017, Paris, France (Vortrag)

Krawczyk-Bärsch, et al.: Characterization of U(VI) sequestration by *Acidovorax facilis* - a spectroscopic and microscopic approach, 16. Remediation Colloquium Jena, 05.-06.10.2017, Jena, Germany (Eingeladener Vortrag)

Schäfer, S.; et al.: Biomineralization of uranium(VI) by fungi - alternative for remediation approaches? 16. Remediation Colloquium Jena, 05.-06.10.2017, Jena, Germany (Eingeladener Vortrag)

Gerber, U.; Schäfer, S.; Krawczyk-Bärsch, E. Interactions of natural occurring microorganisms with U(VI). Im Rahmen einer Vorlesung der Universidad Tenica Federico Santa Maria, 27.07.2017, Valparaiso, Chile

<b>Zuwendungsempfänger:</b> VKTA - Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030G</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 30.11.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 30.11.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 326.236,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Walther	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

$^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  sind für die Ingestion von Trinkwasser als expositionsrelevante Nuklide zu berücksichtigen. Außerdem werden sie zur Untersuchung von Transport- und Austauschprozessen im Ozean herangezogen. In hochsalinen Fluiden aus der Nutzung tiefer geothermischer Quellen sind  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$  und  $^{224}\text{Ra}$  mit Aktivitätskonzentrationen von einigen  $10 \text{ Bq l}^{-1}$  beobachtet worden.

Die Freisetzung von Radium aus dem Gestein in die flüssige Phase erfolgt sowohl durch chemische als auch physikalische Prozesse. Um den Einfluss des Alphaschleisses zu quantifizieren und von den chemischen Vorgängen zu unterscheiden, werden hier geeignete Laborexperimente durchgeführt. Dabei werden das Grenzflächensystem Aquifergestein-Fluid durch geeignete Bohrkern aus Porenspeichern, realen hydrothermalen Tiefenwässern sowie Modellwässern abgebildet und im Experiment verschiedene apparative und chemische Parameter variiert. Der physikalischen, mineralogischen und (radio-)chemischen Charakterisierung der Bohrkern folgen Experimente unter Variation von Druck, Temperatur und chemischer Zusammensetzung der wässrigen Lösungen in Anlehnung an verschiedene Typen von Gesteins-, Grund- bzw. Tiefenwasser-Systemen. Nach definierten Verweilzeiten werden in den wässrigen Lösungen  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{224}\text{Ra}$ ,  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{228}\text{Ra}$  und  $^{222}\text{Rn}$  mit Hilfe radiochemischer Analysemethoden sowie die Elementzusammensetzung analysiert. Innerhalb des Verbundprojektes ist eine Zusammenarbeit mit AP2.4 geplant. Weitere Vernetzungsmöglichkeiten bestehen zu AP2.2.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben umfasst folgende Teilaufgaben:

- Nach intensiver Recherche und Studium einschlägiger Literatur auf hydrogeologischem, kernphysikalischem und radiochemischem Gebiet sind von dem Doktoranden geeignete Experimente zur Beobachtung des Radiumtransfers aus Gesteinen ins Wasser zu konzipieren.
- Zur Durchführung von Versuchen unter Variation von Druck und Temperatur ist eine Druckzelle oder ein Autoklavensystem aufzubauen und hinsichtlich konstanter Versuchsbedingungen zu testen.
- Um die experimentellen Daten auf reale hydrogeologische Aquifergestein-Fluid-Systeme übertragen zu können, sind reale Bohrkern aus Porenspeichern sowie hydrothermale Tiefenwässer zu beschaffen und physikalisch, mineralogisch und (radio-)chemisch zu charakterisieren. Die Versuchsdurchführung beinhaltet die Variation von Druck, Temperatur, Laufzeit und chemische Zusammensetzung der wässrigen Lösungen sowie die Bestimmung verschiedener chemischer und radiologischer Parameter mithilfe radiochemischer Trenn- und Messmethoden.



- Mit den experimentellen Daten werden zum einen Vergleiche schon durchgeführter Modellrechnungen zur Erklärung der Radiumgehalte in hochsalinen Fluiden aus der Geothermie und zum anderen Optimierungen und Verbesserungen eines darauf basierenden Prognosemodells erarbeitet.
- Die Ergebnisse der experimentellen und modelltheoretischen Untersuchungen werden sowohl im Rahmen einer Promotionsarbeit als auch in einem Abschlussbericht gegenübergestellt sowie Auswertungen und Schlussfolgerungen zusammengefasst.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die letzten Untersuchungen wurden abgeschlossen.

Unter Anderem liegen alle Ergebnisse der Gesteins- bzw. Wasseruntersuchungen einer Probenkampagne im Raum Bad Kreuznach vor. Die Wässer der Heilbrunnen in Bad Kreuznach zeichnen sich durch hohe Aktivitätskonzentrationen ( $> 10$  Bq/l) der Radiumisotope  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  aus. Es wurden Gesteine verschiedener Lagerungen/Schichten untersucht, welche als Ursprung der Radiumisotope im Wasser grundsätzlich in Frage kommen. Für radioaktive Gleichgewichte (stationäre Zustände) wird eine Korrelation zwischen dem Isotopenverhältnis  $^{228}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$  im Wasser und dem Isotopenverhältnis  $^{232}\text{Th}/^{238}\text{U}$  im Gestein von

$$\left. \frac{^{228}\text{Ra}}{^{226}\text{Ra}} \right|_{\text{fluid}} = 0,72 \cdot \left. \frac{^{232}\text{Th}}{^{238}\text{U}} \right|_{\text{solid}} \text{ erwartet.}$$

Keines der untersuchten Gesteine steht in der oben genannten Korrelation zum Wasser der Karlsbader Bäderquelle. Sie scheiden somit als Aquifer aus, in welchem das Wasser vor der Entnahme einen stationären Zustand im Kontakt mit dem Gestein ausbildet. Das im Wasser ermittelte  $^{228}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$ -Verhältnis spiegelt daher entweder den stationären Zustand mit einem weiteren nicht untersuchten Aquifergestein wider oder die für die Ausbildung der stationären Zustände aller Radiumisotope notwendige Zeitspanne von  $\geq 10000$  a ist, z. B. durch die ständige Entnahme des Wassers, deutlich länger als die Aufenthaltszeit des Wassers im Aquifer. Weitere Informationen sind für die Bewertung notwendig.

Die Zusammenarbeit innerhalb des Teilprojektes 2 wurde fortgesetzt. Vor allem mit dem Teilprojekt 2.4 erfolgte ein verstärkter Austausch.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt ist inklusive Verlängerung am 30.11.2017 ausgelaufen. Im Abschlussbericht werden die durchgeführten Arbeiten, Methodenentwicklungen, und Ergebnisse der Untersuchungen beschrieben und ausgewertet.

In einer gemeinsamen Publikation mit den Kolleginnen vom Teilprojekt 2.4 sollen Methoden und Analyseergebnisse vorgestellt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Degering, D., Dietrich, N., Krüger: Radium isotopes in saline deepwaters as tracers of source aquifer, Proceedings of the 4th International Conference of environmental Radioactivity Envira 2017, Vilnius, Lithuania, (2017), Id-65, 202

Dietrich, N., Degering, D.: Radium release at solid/fluid interface – experimental investigations, 5th-International Nuclear Chemistry Congress (5th INCC 2017), Gothenburg, Sweden, (2017), (Posterpräsentation)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 031A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 851.064,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Dollinger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Projekts ist ein verbessertes grundlegendes Verständnis der erhöhten biologischen Wirksamkeit (RBW) von dicht-ionisierender Strahlung durch strahlenbiologische Experimente mit räumlich fokussierter Dosisapplikation von Niedrig-LET-Strahlung, wodurch Eigenschaften der räumlichen Dosisverteilung von Schwerionenbestrahlung simuliert werden. Im vorliegenden Teilprojekt sollen die Möglichkeiten für strahlenbiologische Experimente mit fokussierter Ionenapplikation am Rasterionenmikroskop SNAKE erweitert werden, um zum einen weitere strahlenbiologische Endpunkte, z. B. Test der Koloniebildungsfähigkeit, zugänglich zu machen und zum anderen die applizierte räumliche Dosisverteilung gezielt variieren zu können. In enger Zusammenarbeit mit Teilprojekt B soll diese Bestrahlungsmethodik genutzt werden um strahlenbiologisch relevante Daten zu gewinnen, welche die Validierung und Weiterentwicklung von Computermodellen zur Berechnung von RBW in Abhängigkeit des LET und der Ionengeschwindigkeit ermöglichen (Teilprojekt C und D).

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Entwicklung von Zellüberlebensexperimenten mit fokussierten Ionenstrahlen.  
- Erhöhung der Bestrahlungsraten und damit der Bestrahlungsflächen.  
- Entwicklung von speziellen Zellwachstumsbehältern, welche die mechanische Beschränkung der Zellwachstumsfläche erlaubt.
- AP2: Verkleinerung des Strahldurchmessers und gezielte Variation des Strahldurchmessers.  
- Charakterisierung von fluoreszierenden Kernspurdetektoren zur Vermessung des Strahlprofils.  
- Vermessung des Strahlprofils in Abhängigkeit der Bestrahlungsparameter zur Identifikation limitierender Faktoren.
- AP3: Variation der Energie und Ionensorte (Deuteronen, alpha-Teilchen, Li) der fokussierten Ionenstrahlen zur Erweiterung der Modifikationsmöglichkeiten der Dosisverteilung.
- AP4: Durchführung von strahlenbiologischen Experimenten mit fokussierten Ionenstrahlen am Rasterionenmikroskop SNAKE.
- AP5: Bewertung der experimentellen Ergebnisse und der Berechnungen in Zusammenarbeit mit allen beteiligten Arbeitsgruppen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In Zusammenarbeit mit dem ehemaligen Projektpartner TUM wurden ergänzende Experimente zum Zellüberleben durchgeführt. Damit wurden die Daten vervollständigt, so dass jetzt alle Daten für eine komplette Darstellung der Mikrometer-Interaktion von Doppelstrangbrüchen nach ionisierender Strahlung vorliegen. Mit den vom Projektpartner GSI erarbeiteten Analysen mittels LEM IV war somit ein direkter Vergleich der Messdaten mit den Modellvorhersagen möglich. Damit war die Grundlage gelegt für eine intensive Datenanalyse und Interpretation. Die Vorbereitung einer Publikation der Messergebnisse zusammen mit einem Vergleich zu den Modellvorhersagen konnte damit abgeschlossen werden. Eine erste Version des Manuskripts lag zum Ende des Berichtszeitraums vor.

Außerdem wurden weitere Experimente zur Untersuchung der Chromosomenaberrationen in Abhängigkeit der DSB-Interaktionen auf der Mikrometer-Skala mit dem Partnerinstitut der TUM weitergeführt. Hier wurden systematische Unsicherheiten weiter reduziert, so dass jetzt nochmals verbesserte Daten mit fokussierten Protonen, Lithium-Ionen und Kohlenstoffionen gewonnen werden konnten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Publikation zur Beeinflussung des Zellüberlebens durch die DSB-DSB Interaktion auf der Mikrometerskala soll fertiggestellt werden. Es wird angestrebt, diese Arbeiten hochrangig zu publizieren.

In der restlichen Projektlaufzeit sollen die Experimente zur Untersuchung der Chromosomenaberrationen durch DSB-DSB Interaktionen vervollständigt werden und abgeschlossen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Low LET proton microbeam to understand high-LET RBE by shaping spatial dose distribution. C. Greubel, K. Ilicic, T. Rösch, J. Reindl, C. Siebenwirth, M. Moser, S. Girst, D.W. Walsh, T.E. Schmid and G. Dollinger; Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 404 (Supplement C) (2017) 155 – 161

Optimization of beam arrangements in proton minibeam radiotherapy by cell survival simulations. M. Sammer, C. Greubel, S. Girst and G. Dollinger; Medical Physics 44 (11) (2017) 6096-6104

Nanoskopische Analyse von DNA Doppelstrangbrüchen in menschlichen Krebszellen nach Ionenbestrahlung. Judith Reindl; Dissertation, Universität der Bundeswehr München, 2017

Gezielte Bestrahlung zellulärer und nukleärer Substrukturen am Ionenmikrostrahl SNAKE. Christian Siebenwirth; Dissertation, Universität der Bundeswehr München, 2017

<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 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<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 Tumormpatienten zu erreichen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

### AP1: Alternatives Endjoining

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

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

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

### AP3: EGFR und ERK-Signalwege

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

### AP4: HPV-Infektion

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

### AP5: Lehre in Strahlenbiologie & Experimenteller Radioonkologie

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Zwei Manuskripte zur Etablierung von PTEN-Verlust und BCL2-Überexpression als neue Targets (M1.4) und deren Validierungen mittels TMA (M1.5) wurden eingereicht; eines davon ist zurzeit in Revision.
- AP2: Arbeiten zur Etablierung neuer Targets wurden weitergeführt.
- AP3: Ein Manuskript zur Identifikation und Verifikation der für das Therapieansprechen bei HNSCC und GBM relevanten Signalwege (M3.2/3.3) ist nach mehreren Ablehnungen wieder eingereicht. Ein anderes wurde gerade veröffentlicht (Gleißner et al. 2017, s. u.). Mindestens ein weiteres Manuskript wird weiter vorbereitet und sollte in Kürze eingereicht werden können. Untersuchungen zu assoziierten Biomarkern wurden weitergeführt.
- AP4: Die Untersuchungen zu Biomarkern der DNA-Schadensantwort und DSB-Reparatur wurden weitergeführt (M4.3) und werden in Kürze abgeschlossen sein. Ein Abstract zur Etablierung neuer Targets für HPV-pos HNSCC wurde bei ESTRO 2018 als Vortrag angenommen.
- AP5: Die kontinuierliche Aktualisierung und Forschungsvernetzung der strahlenbiologischen Lehrinhalte wurde fortgeführt. Ein weiteres Proseminar zu Strahlenschutz und Strahlenwirkung wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Kirchner (Zentrum für Naturwissenschaft und Friedensforschung) durchgeführt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Veröffentlichung der laufenden Manuskripte. Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Etablierung von neuen Targets im Bereich von HR- und Replikationsstörungen und deren Validierung (M2.4 & M2.5).
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zur Etablierung von Biomarkern für individualisierte Therapieansätze in HNSCC und GBM und deren Validierung (M3.3 & M3.4).
- AP4: Biomarker-Validierung und Etablierung neuer Targets für HPV-pos HNSCC (M4.4 & M4.5).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Gleißner L, Kwiatkowski M, Myllynen L, Steffen P, Petersen C, Rothkamm K, Schlüter H, Kriegs M (2017): Analyzing the influence of kinase inhibitors on DNA repair by differential proteomics of chromatin-interacting proteins and nuclear phospho-proteins. ONCOTARGET 8:110983-110993

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.130.602,80 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: In diesem Halbjahr wurde wie geplant die Abhängigkeit der DNA-Reparatur in neuronalen Stammzellen von der Resektion der DNA-Bruchenden analysiert und mit den Ergebnissen von embryonalen Stammzellen und somatischen Zellen (Mausfibroblasten) verglichen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass sich neuronale Stammzellen wie somatische Zellen verhalten: Hier hat eine Inhibition der Resektion mittels eines PLK3-Inhibitors keinen Einfluss auf die Effizienz der DNA-DSB Reparatur. In weiteren Experimenten wurde in neuronalen Stammzellen RNaseH1 überexprimiert. Hierdurch wird die Ausbildung von DNA-RNA-Hybriden verhindert, welche - so die Theorie - in embryonalen Stammzellen eine RNA-basierte DNA-Reparatur erst ermöglicht. Erneut zeigte sich - wie auch in somatischen Zellen - kein Einfluss einer solchen Überexpression auf die Effizienz der DNA-Reparatur. Embryonale Stammzellen zeigen dagegen sowohl nach PLK3-Inhibition, als auch nach RNaseH1 Überexpression eine verringerte Effizienz der DNA-Reparatur.

Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass eine Resektion der DNA-Bruchenden auch in neuronalen Stammzellen und somatischen Zellen möglich ist, wobei dies von der Komplexität der Brüche abhängig ist.

AP2: Im letzten Halbjahr konnten erfolgreich mehrere Bestrahlungsexperimente von embryonalen Rad54- und Nek1-defizienten Mäusen durchgeführt werden. Die Experimente zeigten eine deutliche Induktion eines G2/M Checkpoints zum Zeitpunkt von 2 Stunden nach Bestrahlung in allen untersuchten Mauslinien (WT, Nek1 und Rad54): Die Progression der bestrahlten Zellen durch die Mitose und somit in die G1-Phase war in allen Mauslinien drastisch reduziert.

Ein weiteres Projekt dieses Arbeitspakets ist die Zucht von Mäusen in denen das Rad54 Protein mittels Knock-In Mutationen gezielt verändert wurde (Rad54-KI Mäuse). Hier konnten ebenfalls weitere Fortschritte erzielt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Unsere Ergebnisse aus dem ersten Arbeitspaket zeigen, dass die langsame Komponente der DNA-Reparatur nur in embryonalen Stammzellen von der Resektion der Bruchenden abhängig ist. In neuronalen Stammzellen der Zelllinie J1 oder somatischen Zellen ist dies dagegen nicht der Fall. Zur weiteren Validierung dieser Ergebnisse sollen die Versuche zur Resektion nun noch einmal mit primären neuronalen Stammzellen wiederholt werden. Neben der weiteren Charakterisierung der DNA Reparatur in G1-Phase Zellen soll nun außerdem die für das Arbeitspaket 2 bedeutsame Reparatur mittels HR mithilfe von primären neuronalen Stammzellen *in vitro* untersucht werden. Parallel zur Gewinnung der neuronalen Stammzellen aus E13,5 Embryonen sollen außerdem embryonale Mausfibroblasten aus WT-, Nek1 und Rad54-Mäusen für *in vitro* Versuche gewonnen werden.

Für das Arbeitspaket 2 wurde beim Regierungspräsidium ein Erweiterungsantrag für das Tierversuchsvorhaben gestellt, welches die Bestrahlung von WT, Nek1- und Rad54-Mäusen beinhaltet. Hier soll durch die Analyse eines zusätzlichen Zeitpunkts nach Bestrahlung (4 Stunden) der Vergleich der DNA Reparatur mittels HR zwischen WT- und Nek1-defizienten Mäusen ermöglicht werden.

Außerdem sollen in diesem zweiten Arbeitspaket die begonnenen Experimente mit WT- und Rad54-defizienten P10 Tieren ausgewertet werden.

Zuletzt sollen weitere Etablierungsarbeiten mit den Rad54-KI Mäusen begonnen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Poster-Präsentation beim 4. Deutsch-Französischen "DNA Repair Meeting" im September 2017: "The role of Rad54 and Nek1 in irradiated mice"

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 899.352,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Laube	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP3: Ziel des Projekts ist die Erfassung der Auswirkungen geringer Strahlendosen auf die DNA-Reparaturkapazität und die physiologische Funktionalität ausdifferenzierter Astrozyten und Oligodendrozyten in vivo und in vitro. Für die geplanten Versuche wird das in AP4 beschriebene neuronale Stammzellkultursystem verwendet. Nach der Ausdifferenzierung der NSZ in Astrozyten/Oligodendrozyten wird mit speziellen Markern die Reinheit und Funktionalität überprüft. Anschließend wird die Expression verschiedener Ionenkanäle in den Astrozyten und Oligodendrozyten untersucht und die Funktionalität durch elektrophysiologische Messungen an verschiedenen Ionenkanälen (spannungs-abhängige sowie inhibitorische und exzitatorische Liganden-gesteuerte Kanäle) überprüft. Die so charakterisierten glialen Zellen werden anschließend mit geringen Dosen IR bestrahlt um eventuelle Veränderungen im physiologischen Status dieser Zellen aufzeigen zu können.
- AP4: In dem vorliegenden Arbeitspaket wird der Einfluss ionisierender Strahlung auf die morphologische und funktionelle Ausbildung von Neuronen und neuronaler Netzwerke während der neuronalen Differenzierung von NSZ untersucht. Diese Untersuchungen sollen mit der Hilfe von in vitro kultivierten neuronalen Stammzellen durchgeführt werden, die zu den verschiedenen Zelltypen differenziert und in verschiedenen Differenzierungsstadien bestrahlt werden. Hierfür werden ES-derivierte und primäre NSZ nach etablierten Protokollen in vitro zu Neuronen differenziert. Für die morphologischen und funktionellen Analysen werden die NSZ in verschiedenen Entwicklungsstadien mit unterschiedlichen Dosen bestrahlt und deren Effekte auf die Ausdifferenzierung der Neurone und der neuronalen Netzwerke elektrophysiologisch untersucht. Die Neuriten- und Synapsenbildung wird während der neuronalen Differenzierung quantitativ und qualitativ erfasst und anhand elektrophysiologischer Untersuchungen ein Entwicklungsprofil erstellt
- A8: Ziel dieses Arbeitspaketes ist es, anhand verhaltensbiologischer Analysen bestrahlter Mäuse (embryonal bis postnatal) eine Risikoabschätzung niedriger Strahlendosen für die Entwicklung des Gehirns zu ermöglichen. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen wird auf der Korrelation neurologischer Auffälligkeiten und von Defiziten im räumlichen Lernen mit dem Bestrahlungszeitpunkt liegen, um besonders strahlenempfindliche Phasen der Entwicklung des Gehirns zu identifizieren.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP3: Im AP3 konnte festgestellt werden, dass Astrozyten und Oligodendrozyten im Vergleich zu adulten Neuronen eine verminderte Strahlensensitivität aufweisen. Interessanterweise konnte jedoch beobachtet werden, dass die Behandlung der Neurone mit Glutamat sich positiv auf die Reparaturkinetik der DNA Doppelstrangbrüche, ausgelöst durch Gammastrahlung (500mGy), auswirkte. Die durchgeführten Experimenten-



te zeigen außerdem, dass Glutamat exklusiv nur in Neuronen Doppelstrangbrüche (53BP1 Foci) induziert. Da diese Prozesse sich vor allen Dingen auf den NMDA-Rezeptor der Glutamatrezeptorfamilie stützen, wurde der spezifische NMDA Blocker MK801 eingesetzt. Nun wurde bestätigt, dass sich der positive Reparatureffekt von Glutamat und die Induktion von DSBs durch MK801 inhibieren lassen, da MK801 den positiven Effekt von Glutamat auf die Reparatur und Induktion der DNA-Doppelstrangbrüche blockierte. Dadurch verstärkt sich die Annahme, dass Glutamat durch die Induktion von Doppelstrangbrüchen in der DNA von Neuronen spezifisch Gene aktiviert, welche die Reparatur von nicht gezielten Brüchen (z. B. verursacht durch Gammastrahlung) positiv unterstützt.

- AP4: Zu Beginn des Projektes konnte eine Zunahme der Leitfähigkeit in NSZs nach einer Bestrahlung mit 500 mGy als auch nach Zugabe des Stickoxid-Donors NOC-18 beobachtet werden. Darüber hinaus konnte anhand des Einsatzes spezifischer Blocker die Zunahme der Leitfähigkeit wahrscheinlich dem Kv3.1, Kv1.3 oder  $K_{ATP}$  Kanal zugeordnet werden. Gleichzeitig konnte das Auftreten des Markers DCX nach Bestrahlung nachgewiesen werden. Dies führte zu der Hypothese, dass eine Bestrahlung von NSZs im Niedrigdosis-Bereich zu einer Ionenkanalvermittelten, selbstinduzierten Differenzierung führt. Die sowohl durch Bestrahlung als auch NO-Zugabe hervorgerufenen Effekte konnten mit Hilfe von Radikalfängern inhibiert werden und führten zu einem Ausbleiben der selbstinduzierten Differenzierung.
- AP8: Seit dem letzten Zwischenbericht wurden Mäuse zu einem weiteren Zeitpunkt (Embryonaltag 14,5) mit 250 und 500 mGy bestrahlt und in Bezug auf eventuelle Spätfolgen untersucht. Bei der Analyse der Motorkoordination mittels Rotarod Test wurde kein Unterschied in Bezug auf die Aufenthaltszeit auf dem rotierenden Stab festgestellt. Bei der Analyse des Aktivitäts-, Angst- und Explorationsverhaltens der Tiere im Elevated Zero Maze konnte ebenfalls kein Unterschied in Bezug auf relevante Messparameter festgestellt werden. Nach Bestrahlung mit 250 und 500 mGy wurden jedoch bei diesen Gruppen im Morris Water Maze im Vergleich zu Kontrolltieren längere Schwimmdistanzen im Verlauf der Trainingsphase beobachtet. Es wurden ebenfalls Unterschiede in den Latenzzeiten bis zum Erreichen der Plattform festgestellt. Die Analyse der Suchstrategien und des Probe Tests ohne Plattform ergab, dass die 500 mGy Gruppe signifikant weniger räumliche Suchstrategien verwendete und verringerte Aufenthaltszeiten im Zielquadranten besaß. Bei der 250 mGy Gruppe waren diese Unterschiede nicht signifikant, sodass sich dosisabhängige Effekte vermuten lassen. Eine ähnliche Dosisabhängigkeit wurde auch für die Parameter Durchschnittsdistanz zur ehemaligen Plattformposition und Frequenz der Aufenthalte an der ehemaligen Plattformposition festgestellt. Die Auswertung ergab außerdem Hinweise auf Defizite im räumlichen Lernverhalten während des initial learnings nach einer Bestrahlung an E14,5 mit 250 mGy und 500 mGy. Diese Unterschiede bei E14,5 mit 500 mGy bestrahlten Mäusen sind offensichtlich auf ein verändertes Lernverhalten zurückzuführen, da keine veränderte Motorkoordination oder ein verändertes Angst-/Explorationsverhalten festgestellt werden konnte.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im AP3 soll in weiteren Experimenten die Auswirkung von niedrigdosierter Strahlung auf Astrozyten intensiver untersucht werden. Vorherige Versuche zeigten, dass Astrozyten weniger 53BP1 Foci nach einer 500mGy Bestrahlung aufweisen als Neurone. Es soll untersucht werden, ob das geringere Auftreten von DNA Doppelstrangbrüchen mit einem effizienteren Puffersystem von freien Radikalen zusammenhängt. Freie Radikale können nach Gammabestrahlung in großer Zahl in der Zelle auftreten und dort DNA Doppelstrangbrüche verursachen. Da ein Zusammenhang zwischen Bestrahlung und der vermehrten Produktion an Stickoxid über die neuronale Stickoxid Synthase (nNOS) vermutet wird, würden im weiteren Verlauf nNOS Inhibitoren eingesetzt werden. Die Rolle von Nitrit-Oxiden könnte nachgewiesen werden und die Analysen auf weitere Niedrigdosen ausgeweitet werden um den Einfluss des Kv1.3 zu überprüfen. Außerdem könnten Inhibitoren für Mitochondrien generierte ROS genutzt werden, um den „ROS induced ROS release“ (RIRR) nach Bestrahlung zu blockieren um die postulierte ROS/NO-Signalkaskade nach Bestrahlung zu bestätigen. Im AP8 ist in der nächsten Phase geplant die weiteren Bestrahlungen an E14,5 Stadien mit 500 mGy und 250 mGy durchzuführen, um die Gruppen aufzufüllen. Außerdem wird noch die letzte geplante Dosis bei P10 (125 mGy) analysiert, um die Experimente bei P10 abzuschließen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Poster-Beitrag zum SfN-Kongress im November 2017. Mehrere abgeschlossene Bachelor- und Masterarbeiten.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 406.411,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Ritter	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Untersuchungen zur Funktionalität von NSZ nach Röntgenbestrahlung (Neurosphärenassay) wurden komplettiert. Die NSZ wurden direkt nach der Bestrahlung sowie 1 und 2 Tage nach Bestrahlung in 96-Well Platten ausgesät und die Anzahl gebildeter Neurosphären nach einer Kultivierungszeit von 14 Tagen bestimmt. Die Experimente zeigen, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen erst nach einer Bestrahlung mit  $\geq 1$  Gy Röntgenstrahlung die Fähigkeit der Zellen zur Neurosphärenbildung dosisabhängig sinkt. Wird der Assay 1 oder 2 Tage nach der Strahlenexposition durchgeführt, werden mehr Neurosphären gebildet als direkt nach der Bestrahlung. Dies weist auf Erholungsprozesse hin. Weiterhin wurden Neurosphären fixiert, um Kryoschnitte herzustellen. Mittels immunhistochemischer Färbung soll die Expression von Stammzell- und Differenzierungsmarkern untersucht werden (siehe Abschnitt 4).

Um zu überprüfen, ob in NSZ ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Chromatid-Typ-Aberrationen und der intrazellulären Konzentration von reaktiven Sauerstoffverbindungen (ROS) besteht, wurden 2 Methoden (DCF- und DHE-Assay) zum Nachweis von ROS etabliert. Unsere Versuche (N=4) weisen darauf hin, dass ein solcher Zusammenhang besteht; differenzieren pluripotente Zellen zu NSZ sind die ROS-Konzentration und die Aberrationsrate niedrig, während in NSZ (ab Passage 1) die ROS Konzentration sowie die Aberrationsrate deutlich höher sind.

Ein weiterer Schwerpunkt des Arbeitspaketes ist die Untersuchung des Einflusses von ionisierender Strahlung auf die tripotente Differenzierungsfähigkeit von NSZ. Hierzu werden unter anderem Genexpressionsstudien eingesetzt. Im Berichtszeitraum wurden Marker zum Nachweis von neuronalen Zellen (TUBB3, HES1), Astrozyten (SLC1A3, FGFR3) und Oligodendrozyten (MBP) etabliert. Darüber hinaus wurde der Transport von NSZ zum National Centre of Oncological Hadrontherapy (CNAO, Pavia, Italien) getestet. Der Vorversuch zeigte, dass spezifische Eigenschaften der NSZ (zum Beispiel die Selbsterneuerung) nicht beeinträchtigt werden, so dass wir diesen Beschleuniger für Ionenbestrahlungen nutzen können.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Bestimmung von chromosomalen Schäden und der Apoptoserate in den Nachkommen von bestrahlten NSZ (0-2 Gy Röntgenstrahlung, Untersuchungszeitraum 1-14 Tage nach der Exposition) sollen abgeschlossen werden. Weiterhin ist geplant, die Untersuchungen zur Differenzierungsfähigkeit von bestrahlten NSZ fortzuführen. Hierzu sollen vor allem Genexpressionsstudien durchgeführt werden. Darüber hinaus sollen Kryoschnitte von Neurosphären hergestellt und mittels Immunfluoreszenzfärbung analysiert werden, um Informationen über den Aufbau und die Zusammensetzung (Art) der sphärenbildenden Zellen zu erhalten. Der Schwerpunkt soll hierbei auf der Wirkung von Röntgenstrahlung liegen. Ein Experiment mit Kohlenstoffionen (im ausgedehnten Bragg Peak, LET: 65-75 keV/ $\mu$ m) wird vorbereitet und soll Mitte März 2018 am CNAO durchgeführt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Mayer M., Arrizabalaga O., Lieb F., Ciba M., Ritter S., Thielemann C.: Electrophysiological investigation of human embryonic stem cell derived neurospheres using a novel spike detection algorithm. *Biosensors & Bioelectronics* 100, 462–468 (2017)

Muñoz Rizzo L.: Effects of ionizing radiation on neural stem cells. Bachelor Thesis, University of Gerona, Spanien (2017)

Muñoz Rizzo L.: Risikoabschätzung für strahleninduzierte neurologische Spätfolgen. Abschlussbericht (2017)

Arrizabalaga O., Muñoz-Rizzo L., Ney D., Ritter S.: Influence of ionizing radiation on the capacity of neural stem cells to form neurospheres. p328, GSI Report 2017-1

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 401.520,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Uder	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel dieses Projektes ist es, durch Kombination anatomischer und funktioneller Daten eine möglichst vollständige in vivo Struktur-Funktions-Charakterisierung des Mausgehirns nach Bestrahlung vorzunehmen. Wir nehmen hiermit eine nicht-invasive Risikoabschätzung strahleninduzierter neurologischer Spätfolgen am Mausmodell vor und zeigen unmittelbar eine translationale Perspektive für die Klinik auf. Die fMRT-Analyse soll funktionelle Veränderungen von Aktivitäten im Gehirn der in utero und postnatal zu unterschiedlichen Zeitpunkten und mit unterschiedlichen Dosen bestrahlten Mäuse liefern. Diese Ergebnisse werden direkt mit den Ergebnissen aus den Verhaltensstudien (AP8) korreliert. Die hochaufgelösten MR Anatomien erfassen die Strukturveränderungen im Gehirn und dienen zunächst als Atlasreferenzsystem sowie zur direkten Integration der histologischen Untersuchungen (AP6). Hiermit können also Gehirnbereiche definiert werden, die funktionell und/oder strukturell Veränderungen aufzeigen und in denen man daher nach Effekten auf zellulär-molekularer Ebene suchen sollte.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Mit adulten Kontrolltieren sowie zukünftig den Ras51 ko Tieren, nach 500 mG bzw. 250 mG P10 Bestrahlung wird zunächst eine „Resting-state“ Aufnahme und anschließend ein fMRT Experiment mit thermisch nozizeptiver Stimulation aufgenommen. Direkt im Anschluss wird nochmals eine „Resting-state“ Aufnahme durchgeführt, um im Vergleich vor und nach nozizeptiver Stimulation, dynamisch-plastische Effekte der Änderungen der Verbindungsstrukturen im Gehirn zu untersuchen. Im Anschluss kann, je nach Befundlage von TP8 (Verhalten), eine Charakterisierung der anderen sensorischen Systeme in einem fMRT Experiment mit multimodaler Stimulation erfolgen. Abschließend wird eine höheraufgelöste Anatomie an den Positionen der funktionellen Bilddaten aufgenommen. Die Daten werden quantitativ mit besonderem Fokus auf die Graphtheorie ausgewertet und entsprechend visualisiert. Auf Ebene der Gruppenstatistik erfolgt synergetisch die Zusammenführung der Ergebnisse aus den anderen TPs, insbesondere die zellulären in vivo Daten aus TP2, die Standardhistologie aus TP6 und die Verhaltensdaten aus AP8.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In dieser Phase des Projektes wurden hauptsächlich MRT- und Schmerzverhaltens-Messungen durchgeführt (September 2017 bis einschließlich Februar 2018). Insgesamt 43 Tiere wurden jeweils einer Resting-State Messung ohne Stimulation und einer fMRI-Messung mit thermischer Stimulation (40 °C und 45 °C als nicht schmerzhafte und 50 °C und 55 °C als schmerzhafte Stimualtion) unterzogen. Zusätzlich wurde bei allen 43 Tieren sowohl das mechanische als auch das thermische Schmerzverhalten über die Wegzug-Latenz der Hinterpfoten nach mechanischer (von Frey-Test) und thermischer (Hargreaves-Test) Reizung gemessen. Folgende experimentelle Gruppen wurden untersucht:

- 12 im Alter von 10 Tagen (P10) mit 125 mGy bestrahlte Tiere
- 10 embryonal (E14.5) mit 500 mGy bestrahlte Tiere
- 11 embryonal (E14.5) mit 250 mGy bestrahlte Tiere
- 10 naive Tiere, die embryonal (E14.5) eine Sham-Bestrahlung erhalten haben (0 mGy).

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

Für die Auswertung der Daten wurde parallel der in unserer Arbeitsgruppe verwendete digitale Maushirn-Atlas (basierend auf: Franklin and Paxinos. The Mouse Brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press. Third edition 2008) erweitert und optimal an ein anatomisches MRT-Maushirn-Template angepasst. Dieses Maushirn-Template wurde aus den anatomischen Messungen der naiven Kontrolltiere erstellt. Somit ist gewährleistet, dass der zur Analyse verwendete Atlas bestmöglich auf die in diesem Projekt erhobenen fMRI-Daten passt. Zurzeit werden alle bis dato erhobenen Daten ausgewertet, es liegen noch keine weiteren Ergebnisse vor.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Weitere Messungen mit embryonal bestrahlten Tieren (125 mGy) sowie mit Rad54 Knockout Mäusen sind geplant. Zudem wird die Auswertung der fMRI- und Verhaltens-Daten und die Optimierung der Prozessierung und Analyse der hochaufgelösten anatomischen Daten fortgesetzt. Letzteres beinhaltet neben der Anpassung der VBM (voxel based morphometry) Analyse auch die Etablierung des aktuellen ABA Mausatlases mit seinen zusätzlichen Informationen zur strukturellen Konnektivität und Genexpression innerhalb des Maushirns.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Die Publikation zu dem etablierten „Resting-state“-Analyseverfahren befindet sich bei der Zeitschrift „Frontiers in Neuroscience“ im aktiven Review-Verfahren. Ein Reviewer hat die Arbeit bereits unterstützt, die Entscheidung des zweiten Reviewers nach eingereicherter Revision steht noch aus.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken	<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 613.602,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rube

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### *AP2: Akkumulation von RF nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung*

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

### *AP4: Akkumulierte RF als Marker des Normalgeweberisikos*

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: Die bereits erzielten Ergebnisse hinsichtlich der pathophysiologischen Auswirkungen einer fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung (100 mGy) auf die komplexe Neurogenese im Hypocampus werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst. Durch die fraktionierte Niedrig-Dosis-Bestrahlung wird die kontinuierliche Ausreifung neuronaler Stammzellen zu funktionell integrierten Neuronen deutlich gestört. Insbesondere das juvenile Gehirn zeigte im Verlauf der Bestrahlungsserie eine ausgeprägte Einschränkung der Neurogenese in der kritischen postnatalen Reifungsperiode. Um auch die langfristigen Entwicklungsstörungen zu erfassen, wird die Morphologie des murinen Gehirns zu definierten Zeitpunkten nach der Bestrahlung (1, 3, 6 und 12 Monate) mittels der Magnet-Resonanz-Tomographie (7-Tesla Kleintier-MRT) untersucht. Neben morphologischen und volumetrischen Analysen der kritischen Hirnstrukturen, werden auch die Diffusion und Perfusion mittels MRT-Bildgebung untersucht. Die Verlagerung von intra- und extrazellulären Wasseranteilen führt zu eingeschränkten Diffusionsbewegungen mit entsprechenden MR-Signalveränderungen in den betroffenen Hirnarealen. Die Perfusions- und Diffusions-Bildgebung bietet somit zusätzlich funktionelle Informationen hinsichtlich der Gewebedurchblutung. Durch nicht-invasive Techniken können die Strukturen des Kapillarsystems und die Permeabilität der Gefäßwände in den verschiedenen Hirnarealen quantitativ bestimmt werden. Wir vermuten kausale Zusammenhänge zwischen einer gestörten Gewebedurchblutung und einer chronische Neuroinflammation nach fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung.
- AP4: Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und Rektum-Karzinomen wurden vor und während der Radiotherapie Blutproben gewonnen, und die RF wurden in den in-vitro bzw. in-vivo bestrahlten Blutlymphozyten quantifiziert. Die ermittelten Foci-Werte wurden mit der applizierten Bestrahlungsdosis, dem entsprechenden Bestrahlungsvolumen, den individuell aufgetretenen Nebenwirkungen sowie der applizierten Chemotherapie korreliert. Darüber hinaus wurden diese strahleninduzierten DNA Schäden mit Hilfe der Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) in der Chromatin-Ultrastruktur charakterisiert. Die Auswertung der Daten ergab, dass die während der Radiotherapie ermittelten Foci-Werte in den Blutlymphozyten nur bedingt mit dem Bestrahlungsvolumen korrelierten. Durch die TEM-Analysen persistierender Foci zeigten sich deutlich komplexere DNA Schäden bei kombinierter Radio-/Chemotherapie im Vergleich zu alleiniger Radiotherapie. Insgesamt korrelierten die vor und während der Radiotherapie gemessenen Foci-Werte und Kinetiken in den Blutlymphozyten nur bedingt mit den aufgetretenen Nebenwirkungen der Patienten. Nach erfolgreicher Daten-Auswertung wurde zwischenzeitlich ein entsprechendes Publikationsmanuskript erstellt (Lorat Y et al. 2018).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Nach der Bildakquisition müssen die komplexen MRT-Bilddaten zunächst für die morphologische Befundbeurteilung ausgewertet werden. Durch die hochaufgelöste Darstellung der unterschiedlichen Hirnregionen im zeitlichen Verlauf nach Bestrahlung sowie im Vergleich zu altersentsprechenden Kontrolltieren sollen die morphologischen und strukturellen Veränderungen im Sinne einer potentiellen Neurodegeneration infolge der Bestrahlungsserie erfasst werden. Durch den Vergleich der fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung bei adulten versus juvenile Versuchstieren soll die erhöhte Vulnerabilität während der postnatalen Gehirnentwicklung herausgearbeitet werden. Für die multiparametrische Gewebecharakterisierung sollen auch die Perfusions- und Diffusions-Messungen mit speziellen Gradienten-Techniken berücksichtigt werden, um eine potentielle Neuroinflammation mit regionalen Blutflussänderungen diagnostizieren zu können. Die Verknüpfung unserer molekularbiologischen Analysen mit der funktionellen MRT-Bildgebung ermöglicht eine präzise Charakterisierung der pathophysiologischen Prozesse im Gehirn nach fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung.
- AP4: In Normalgewebs- und Tumorzellen wird nach Strahlenexposition die Induktion und Reparatur von DNA Schäden vergleichend durch die Foci-Quantifizierung mittels IFM und deren ultrastrukturelle Charakterisierung mittels TEM untersucht. In Kooperation mit der Fa. ZEISS werden hierbei korrelative Techniken etabliert werden, um Informationen aus der Lichtmikroskopie mit der Auflösungskraft der Elektronenmikroskopie zu kombinieren (Timm S. et al. 2018). In Kooperation mit der AG C. von Neubeck/M. Krause werden in FADU Xenograft-Tumoren die RF vor u. nach Strahlenexposition in unterschiedlich oxygenierten bzw. proliferierenden Tumorregionen bestimmt und mittels TEM ultrastrukturell charakterisiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Hair follicle stem cell fate is dependent on chromatin remodeling capacity following low-dose radiation. Schuler N, Timm S, Rube CE. Stem Cells. 2017 Dec 28

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 820.920,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Dikomey	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP3:

Versuch V3.1: Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit

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

Versuch V3.3: Etablierung eines Tumorzellarrays

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

AP6:

Versuch V6.1: Genomische Instabilität von Tumorzellen

Versuch V6.2: Genomische Instabilität von Normalzellen

Versuch V6.3: Zelluläre Strahlenempfindlichkeit von Tumorzellen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3:

Die Analyse von Reparaturfoci und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Tumorzell-Array sowie an frischem Tumorgewebe wurde weitergeführt. Funktionelle Endpunkte wurden mit histopathologischen Untersuchungen kombiniert, um differenziell das Ansprechen von Normalgewebs- und Tumorzellen in den Gewebeproben analysieren zu können. Ein diesbezügliches Manuskript wurde weiter vorbereitet.

AP6, V6.3:

Die Untersuchungen zur Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Tumorzelllinien wurden fortgeführt.



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

AP3, V3.3:

Fortführung der Analyse von RF und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Tumorzell-Array.

AP3, V3.4:

Veröffentlichung der methodischen Ansätze zur Bestimmung von Reparaturphänotypen in ex vivo-Proben. Weiterentwicklung des ex vivo-Assays.

AP6, V6.3:

Weiterführung der Versuche zur Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Tumorzelllinien und deren Vergleich mit Markern der genomischen Instabilität.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 213.756,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Krause	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

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

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

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

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Die Tumoren von sieben Tumormodellen wurden vollständig immunhistochemisch und mittels Immunfluoreszenz gefärbt; ein weiteres Modell wurde gestartet. Die randomisierte und verblindete Auswertung der RF ist für sieben Tumormodelle beendet. Diese zeigen einen dosisabhängigen Unterschied in den RF sowie eine Korrelation zwischen den Steigungen der Dosis-Antwort-Kurven und den Tumorkontrolldosen in vivo (TCD50).

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

Die Untersuchung der Dosis- und der Zeitabhängigen DNA-Reparatur mittels RF wurden für zwei Tumormodelle abgeschlossen und für zwei weitere Modelle begonnen. Die Analyse von DNA-RF in in vivo bestrahlten Tumoren und ex vivo bestrahlten Biopsien der gleichen Tumoren wurde für drei Tumormodelle durchgeführt und für vier weitere Modelle begonnen. Für den Vergleich der biologischen Heterogenität von DNA-RF wurde das statistische Modell auf in vivo bestrahlte Tumoren angewendet. Ein Manuskript ist in Vorbereitung.

#### AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Im Berichtszeitraum haben mehrere Treffen zwischen Medipan und dem UKD stattgefunden. Der Austausch von Bilddateien wurde fortgesetzt. Die Erkennung von Gefäßstrukturen in Immunfluoreszenz gefärbten Tumorgewebeschnitten wurde zum Patent angemeldet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

#### AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Die Ergebnisse zur Korrelation zwischen den Steigungen der Dosis-Antwort-Kurven und den Tumorkontrolldosen in vivo (TCD50) sollen publiziert werden. Zusätzlich sollen die Ergebnisse mit Daten aus primären Patientenproben verglichen werden.

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

Die histologischen Untersuchungen werden fortgesetzt. Das entwickelte statistische Modell soll auf weitere Tumormodelle angewendet werden. Der Vergleich von ex vivo und in vivo gewonnenen Daten wird fortgeführt. Es wird eine baldige Publikation angestrebt.

#### AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Die Frequenz an Projektbesprechungen sowie der Austausch von Bilddateien soll beibehalten werden. Die manuell ermittelten RF Daten aus AP1 und AP2 sollen mit Ergebnissen der entwickelten Software an Immunfluoreszenzbildern verglichen werden. Die Erkennung von Gefäßstrukturen in Immunfluoreszenz gefärbten Tumorgewebeschnitten soll publiziert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Patentanmeldung EP 17192123.2, Anmeldedatum 20.09.2017

Joint 43rd ERRS and 20th GBS Conference, Essen, Germany:

von Neubeck et al., Vortrag, Using  $\gamma$ H2AX Foci as potential predictors for individual radiosensitivity  
 Rassamegevanon et al., jPoster, Heterogeneous radiation response determined with a  $\gamma$ H2AX foci assay in human head and neck squamous cell carcinoma (hHNSCC) tumor models

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035D
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 266.628,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Gomolka	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer chronischen Strahlenexposition

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

V1.1: Der Nachweis von verschiedenen RF mittels Immunfluoreszenz in hoch und niedrig exponierten Uran-Bergarbeitern erfordert eine Methodenetablierung. Dazu konnten die Proteine:  $\gamma$ H2AX, 53BP1, MDC1, pATM, und Rap80 in kryokonservierten G0-Lymphozyten nachgewiesen werden. Diese Proteine sind an der Signalisierung von DNA-Doppelstrangbrüchen und der Reparatur mittels nicht-homologer Reparatur beteiligt. Die Dosis-Effektkurven (0 Gy, 0,05 Gy, 0,1 Gy, 0,25 Gy, 0,5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, 8 Gy) und Reparaturkinetiken (1 h, 4 h, 8 h, 24 h) wurden im 4fachen biologischen Replikat erstellt. Die Etablierung erfolgte in Einzelfärbung vom jeweiligen Protein. Es wurde die Etablierung für die automatische Foci-Detektion und Auswertung mittels Fluoreszenzmikroskopie abgeschlossen. Für die Ermittlung des passenden Auswertalgorithmus wurden die Parameter Integrationszeit und Intensität der Fluoreszenzsignale angepasst. In die Evaluierung wurde auch der Einfluss einer Bewertung der Rohdaten und eine manuelle Foci-Auswertung mit Auge einbezogen. Aktuell laufen Versuche aus den Replikaten der Dosis-Effekt-Kurve. Es wurde beobachtet, dass für  $\gamma$ H2AX verlässliche Ergebnisse in den einzelnen Replikaten erzielt wurden. Bei den weiteren Proteinen zeigten sich in den Replikaten Unterschiede aufgrund von Qualitätsschwankungen in den RF-Assays.

V1.2: Die Aussagekraft zur Strahlenempfindlichkeit des RF Assays und der mFISH Analyse wurde an Lymphozyten von strahlenempfindlichen Kindern (AT-Patienten) im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe überprüft. Die mFISH-Auswertung wurde abgeschlossen. Die Analyse der Reparaturfoci von  $\gamma$ H2AX wurde experimentell ebenfalls abgeschlossen. Hier steht eine Auswertung der automatisch detektiert Foci noch aus. Neben  $\gamma$ H2AX wurde zusätzlich in einigen Probanden pATM angefärbt. In Kooperation mit der AG Gene Vectors des Helmholtz-Zentrums München wurden von 5 AT-Patienten aus den primären Lymphozyten lymphoblastoide Zelllinien generiert. Diese wurden zunächst in Hinblick auf ihr Wachstum charakterisiert. Dabei zeigte sich für alle AT-Patienten Zelllinien ein individuelles Wachstum. Bei Untersuchungen zum Zellüberleben nach Bestrahlung konnte die Strahlenempfindlichkeit in den Zelllinien der AT-Patienten nachgewiesen werden. Dabei zeigten die Patienten Zelllinien eine Vitalität von 20-50 % 72h nach in vitro Bestrahlung mit 10Gy und die Kontrollzelllinie von 60 %. Die Zelllinien wurden im Anschluss auf das Vorhandensein verschiedener Proteine untersucht. In der Westernblot Untersuchung konnte bei allen AT-Patienten kein ATM und pATM nachgewiesen werden. Der Nachweis von 53BP1 war in allen Patienten positiv. 53BP1 spielt eine entscheidende Rolle in der Reparatur von DNA-Schäden. Somit wären alle Patienten theoretisch in der Lage den gesetzten DNA-Schaden zu reparieren. Bei der Untersuchung von pKAP1 zeigte sich in allen Zelllinien eine Signalzunahme durch die Bestrahlung. Dabei zeigte sich bei höherer Dosis auch eine höhere Signalmenge. Im Zeitverlauf nach der Bestrahlung nahm die Signalmenge wieder ab. Die Signalmenge in den Patienten Zelllinien war insgesamt geringer im Vergleich zu den Kontrollzelllinien eines gesunden Probanden. pKAP1 sorgt durch eine Strukturveränderung des Chromatins für einen besseren Zugang des DNA-Schadens während der Reparatur. Kap1 wird mittels Phosphorylierung durch ATM aktiviert. Dieser Aktivierungsprozess scheint in den Patienten Zelllinien durch andere Proteine in einem geringeren Maße durchgeführt zu werden.

V1.3: Mit der mFISH Untersuchung von kryokonservierten Lymphozyten von Wismut-Bergarbeitern wurde begonnen. Von 4 niedrig exponierten Kontrollen und 29 kumulativ hoch exponierte Wismutbergarbeitern wurden die kryokonservierten Lymphozyten nach einem zuvor etablierten Protokoll aufgetaut und stimuliert. Anschließend erfolgte die mFISH-Präparation der Kontrollen. Die mFISH-Analyse der Chromosomen konnte begonnen werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterbeiträge: Bucher M, Roessler U, Oestreicher U, Kulka U, Samaga D, Endesfelder D, Dückers G, Lankisch P, Borkhardt A, Kirlum H.J., Rübe C.E, Meese E, Hornhardt S and Gomolka M.: Genome instability and DNA repair capacity in radiation sensitive children. 20. Tagg. der Ges. für bio. Strahlenforschg, 17.-21.09.2017, Essen  
 Bucher M, Roessler U, Oestreicher U, Kulka U, Samaga D, Endesfelder D, Dückers G, Lankisch P, Borkhardt A, Kirlum H.J., Rübe C.E, Meese E, Hornhardt S and Gomolka M. DNA damage response in radiation sensitive children. 3. Tag der Forschung am Bundesamt für Strahlenschutz, 27.-28.11.2017, Berlin

Vorträge:

Bucher M.: Genomische Instabilität und DNA-Reparatur bei strahlenempfindlichen Kindern. 3. Tag der Forschung am Bundesamt für Strahlenschutz, 27.-28.11.2017, Berlin

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 723.729,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Roggenbuck	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurde eine Parametrisierung von verschiedenen Zelllinien durchgeführt, um die Ergebnisse bei der Messung mittels Mikrotiterplatte (MTP) zu verbessern. Dafür mussten mehrere Testläufe durchgeführt werden, um die geeigneten Parameter festzulegen. Dabei handelt es sich sowohl um Parameter für die Detektion von Zellkernen, als auch um Parameter für die Erkennung der  $\gamma$ H2AX-Signale.

Es wurde eine Reihe von Anpassungen in der AKLIDES® NUK Software durchgeführt, um die Parametrisierung der einzelnen Wells innerhalb einer MTP zu ermöglichen. Es wurden außerdem Anpassungen bei der Fokussierung durchgeführt, um die Parameter der einzelnen Zelllinien verwenden zu können.

Um ein Verfahren zur Aufnahme und Überlagerung von zwei Aufnahmen, welche im Hellfeld und mittels Fluoreszenzmikroskopie generiert werden sollen, zu entwickeln, wurden Vorversuche mittels einer in den Tischdeckel integrierten Lichtquelle mit verschiedenen LED-Quellen in verschiedenen Formen und Konstellationen begonnen. Es konnten ein LED-Ring und eine LED-Platine identifiziert werden, welche genügend Licht ausstrahlten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Für die kombinierte Hellfeld-Fluoreszenzaufnahme sind weitere Verbesserungen und Optimierungen nötig. Die Steuerung der Lichtquelle muss in einen Analyseablauf integriert werden. Dafür muss vorerst eine Verbindung mit dem Controller, welcher die Lichtquelle steuert, aufgebaut werden. Es muss ein Befehlssatz entwickelt werden, um die Lichtquelle einzuschalten und die Intensität steuern zu können.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

20.09.2017 - Europäische Patentanmeldung: EP17192123.2

Projekttreffen und Telefonkonferenzen mit dem Projektpartner OncoRay in Dresden:

15.08.2017 Treffen: Besprechung bezüglich der Kameraqualität

25.08.2017 TelKo: Besprechung bezüglich der Fokussierungsprobleme mit der neuen Kamera

15.09.2017 TelKo: Besprechung bezüglich der Aufnahme verschiedener Zelllinien und mögliche Lösungen für die Parametrisierung

05.12.2017 TelKo: Probleme mit der Bildqualität, mögliche Ursachen

11.12.2017 Treffen: Umbau des Einlegerahmens für die MTP

<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 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 892.529,00 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.

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zu 2.2) • Bestrahlungsexperimente mit der KAUVIR Lampe:

Die KAUVIR Lampe wurde im Gewebekulturlabor installiert, die Spektren überprüft und zur Koordination nach Buxtehude geschickt. Nach dem ersten Kontrollexperiment zur Stahlsensitivität und Temperatur-



Kontrolle wurde ein erstes OTK Experiment zum Vergleich UVA+B versus KAUVIR Gesamtspektrum (einmalige Bestrahlung) durchgeführt. Erste histologische Auswertungen weisen auf ein individuelles Reaktionsprofil hin.

- Damage Pathway Aktivierung und Mechanismus der Telomerlängenregulation nach akuter UVA Bestrahlung (24 J/cm<sup>2</sup>).

Der Nachweis von ROS (Oxidative Stress Detection Reagent) erbrachte für NHEK eine initial (20 min) signifikante Reduktion und nach 24h eine signifikante Zunahme, während in den HaCaT Zellen der ROS Level bis zu 48 h erniedrigt blieb. Dagegen kam es in beiden Zelltypen zu einem schnellen und anhaltend signifikanten Anstieg von Superoxyd Anionen (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Der Nachweis von pATM,  $\gamma$ H2AX, PAR und 53BP1 zeigte, dass alle DNA Damage Repair Proteine 1h nach Bestrahlung in den NHEK hochreguliert waren, während in den HaCaT Zellen fast keine Veränderung nachweisbar war. Zudem waren speziell die Doppelstrangbruch Marker  $\gamma$ H2AX und 53BP1, aber auch PAR, direkt am Telomer von NHEK nachweisbar, d. h. das Telomer wurde direkt geschädigt. In den HaCaT Zellen waren lediglich PAR am Telomer nachweisbar. Die Q-FISH Telomermessung zeigte für die NHEK 1h nach Bestrahlung einen temporären Anstieg der Signalintensität und für die HaCaT Zellen nach 48 h. Verhinderung der ROS Bildung durch das Antioxidant Gluthation verhinderte den TSI Anstieg und bestätigte so den kausalen Zusammenhang. Der temporäre TSI Anstieg konnte als Histonmodifikation (Relaxierung) identifiziert werden.

Zu 2.3) • Age-OTKs:

Für alle Fibroblastenstämme konnte mit dem neu etablierten, PCR-basierten Analyseverfahren die Virusfreiheit bestätigt werden, sodass alle Fibroblasten jetzt einsetzbar sind.

- Ein erstes Bestrahlungsexperiment (UVA+B versus KAUVIR Gesamtspektrum) mit OTKs mit Fibroblasten eines jungen (23 J) und eines alten (74 J) Spenders wurde durchgeführt. Prinzipiell ist das DE der alten Fibroblasten deutlich schlechter und unterstützt nur unzureichend die Epidermisbildung. Dadurch sind Unterschiede im Grad der Schädigung (Atrophie) durch UVA+B versus KAUVIR Gesamtspektrum kaum auszumachen. Mit jungen Fibroblasten kommt es nur durch UVA+B zu einer leichten Hypotrophie.

Zu 2.4) • Um die Rolle von CsA auf die Geweberegulation zu ermitteln, wurden noch ein weiterer OTK Versuche mit HaCaT Zellen durchgeführt. Reproduzierbar kam es unter CsA Behandlung zur Invasion. Zusätzlich wurden auch CsA-behandelte Kulturen in einem ersten Ansatz mit dem KAUVIR Gesamtspektrum bestrahlt. Möglicherweise wird dadurch die Invasion verstärkt.

- Fortführung der Auswertung der RNA Mikroarrayanalysen in Kooperation mit Dr. Jörg Galle, Leipzig.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Zu 2) • Zusammenstellung der Daten und Vorbereitung der Publikation zur Charakterisierung von humanen spontan immortalisierten, p53 wildtyp Keratinozyten

- Fertigstellung der Daten und Vorbereitung der Publikation zum Einfluss von Serum auf das Wachstum und Schadensprofil der Keratinozyten durch UV-Strahlung.

Zu 2.2) • Telomerlängenanalyse nach chronischer Bestrahlung von OTKs mit UVA versus UVA+B.

Zu 2.3) • Auswertung des ersten OTK Experiments zur Alters-abhängigen UV Sensitivität (Morphologie/Differenzierung/Proliferation) nach Bestrahlung mit UVA+B versus KAUVIR Gesamtspektrum. Forschungsaufenthalt von Katharina Jahnke in der AG Buxtehude zum Erlernen der CpD Analysen und Vertiefen der „Strahlenphysik“. Auswertung des ersten OTK Experiments bezüglich CpD Induktion.

Zu 2.4) • Weitere Auswertung und Verifizierung der RNA Daten aus den Mikroarray Analysen und Vorbereitung zur Publikation. Neues Bestrahlungsexperiment von CsA behandelten OTKs mit dem KAUVIR Gesamtspektrum.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

September 2017: GBS Essen, Vortrag

September 2017: 27. Deutscher Hautkrebskongress: ADO 2017, Mainz, Vortrag

Oktober 2017: 3rd Basel-Manchester Forum (BMF) on Skin Repair and Regenerative Plastic Surgery

November 2017: Hallmarks of Skin Cancer, Heidelberg, Poster

Dezember 2017: Universität Zürich, Seminarvortrag

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 891.400,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Greinert	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Zusammenhang der einzelnen spektralen Komponenten im solaren Spektrum ist komplex und im Einzelnen nicht verstanden. Durch den Einsatz der Kombinationsstrahlung soll besser verstanden werden, wo Unterschiede zur Einzelbestrahlung auftreten und Erkenntnisse gewonnen werden, wie sich solare Strahlung in ihren biologischen Effekten von eher „artifizierter“ Einzelbestrahlung unterscheiden kann. Ziel der Arbeiten ist es, die Bedeutung von zellulären Antworten und Reparaturprozessen für die Hautkrebsentstehung nach Induktion von UV-Schäden durch Kombinationsstrahlung (UV-VIS-IR) im Detail zu erforschen. Dazu ist es notwendig, (i) die Schadensinduktion und im besonderen Maße die nachfolgende DNA-Reparatur nach Kombinationsstrahlung im Vergleich zu anderen UV-Strahlenqualitäten (UVA und UVB) zu untersuchen; (ii) unterschiedliche Expositionsmuster (chronisch vs. akut) miteinander zu vergleichen; (iii) UV-VIS-IR-induzierte epigenetische Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial zu charakterisieren; (iv) molekulare und zelluläre Antwort mittels Ausschalten oder Aktivierung von Schlüsselfaktoren zu beeinflussen. Es ist das Ziel, bei den Punkten (i) – (iv) insbesondere den Einfluss von microRNAs und epigenetischen Faktoren (DNA-Methylierung, Histon-Methylierung) zu bestimmen.

In Kooperation mit AG1 (Heidelberg) werden Zellkulturproben (humane Keratinozytenzelllinie) und OTKs (organotypische Kultur) untersucht, die mit einer chronischen oder akuten Kombinationsbestrahlung behandelt sind. In Kooperation mit AG3 (Düsseldorf) werden Schadeninduktion und Reparatur der in vivo mit UV-VIS-IR bestrahlten Mausproben untersucht. Die Messungen zu Reparaturkinetiken und Histonmodifikationen werden eng mit AG4 (Darmstadt) koordiniert.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Messung der globalen DNA-Methylierung (Methylierung von Line-1) und Promotor-Methylierung krebsrelevanter Gene und der Änderung der Histonmodifikation nach akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

*Ergebnisse:* Änderungen der DNA Methylierung stellen ein wichtiges Merkmal in Krebszellen dar. Insbesondere sind die Reduzierung der globalen DNA-Methylierung (Hypomethylierung) und eine Erhöhung der Promoter-Methylierung (Hypermethylierung) von Tumorsuppressorgenen von großer Bedeutung bei der Carcinogenese. Diese Änderungen werden als „Hallmarks of Cancer“ bezeichnet. Eine globale Hypomethylierung konnten wir auch in dem „nativen SCC Tumor-Material“ und in einigen SCC-Zelllinien feststellen (Bericht-2015-2 und -2016-2). In jetzigem Berichtszeitraum wurden die DNA-Methylierungsänderungen und Histonmodifikationen nach einer akuten Kombinationsbestrahlung mit allen vier spektralen Komponenten: UVB + UVA + VIS + IRA (Dosis: 1 MED) oder nur mit dem VIS+IRA-Anteil, oder nur mit dem UVB + UVA-Anteil in HaCaT untersucht. Sechs Stunden nach der Bestrahlung konnte eine leichte Reduzierung der globalen Methylierung bei UVB + UVA + VIS + IRA (54,7 %), UVB + UVA (55,9 %) und VIS + IRA (53,5 %) gegenüber der nicht bestrahlten Kontrolle (59,0 % Methylierung) detektiert werden. Die globale Hypomethylierung konnte 24 Stunden nach der Bestrahlung nur noch bei VIS + IRA beobachtet werden, nicht aber bei UVB + UVA + VIS + IRA und bei UVB + UVA. Eine leichte Promotor-Hypomethylierung konnte auch bei miR-124-2, einer tumor-suppressiven microRNA, 6 Stunden nach der Bestrahlung (mit allen 3 Bestrahlungsprotokollen) festgestellt werden. Interessanterweise konnte 24 Stunden nach der Bestrahlung die Hypomethylierung bei miR-124-2 wie im Fall der globalen Methylierung nur noch bei VIS + IRA (9,3 % versus 17,2 % bei der Kontrolle) beobachtet werden nicht aber bei UVB + UVA + VIS + IRA und bei UVB + UVA. Die Methylierungsänderung nach der Bestrahlung konnte auch bei DNMT1 und hTERT gemessen werden. Im Gegensatz, zeigte EZH2 keine bestrahlungsabhängige Methylierungsänderung. Diese Ergebnisse zeigen, dass durch akute Bestrahlung kleine Methylierungsänderungen induziert werden können und die Veränderungen eine Abhängigkeit zu der verwendeten Strahlenqualität zeigen. Neben der DNA-Methylierung spielen auch die Histonmodifikationen eine große Rolle bei der Chromatinstruktur und Genregulation. In unserer Veröffentlichung (Photochem. Photobiol. Sci 2012) haben wir die Veränderungen der Histonmodifikationen (z. B. genspezifische Reduzierung von H3K4me3 und Erhöhung von H3k9me3) nach chronischer UVA-Bestrahlung in HaCaT nachgewiesen. Nun haben wir die Histonmodifikationen 0,5, 6, 24 und 48 Stunden nach der Kombinationsbestrahlung in HaCaT bestimmt. Eine halbe Stunde nach der Bestrahlung war keine Änderung bei der globalen H3K4me3 zu sehen. Eine leichte Erhöhung von H3K4me3 um etwa 15 % konnte jedoch 6 Stunden nach VIS + IRA und UVB + UVA aber nicht nach UVB + UVA + VIS + IRA detektiert werden. Die Änderung konnte 24 Stunden nach der Bestrahlung noch beobachtet werden. Eine starke Reduzierung um 40 % konnte 48 Stunden nach UVB + UVA und eine Reduktion um 20 % konnte 48 Stunden nach UVB + UVA + VIS + IRA gemessen werden. Eine Reduktion der globalen H4ac konnte ebenfalls 48 Stunden nach UVB + UVA und UVB + UVA + VIS + IRA festgestellt werden. Diese Ergebnisse weisen eine dynamische Histonmodifikationen nach Kombinationsbestrahlung hin. Insbesondere 48 Stunden nach UVB + UVA und UVB + UVA + VIS + IRA könnte eine kompaktere und inaktivere Chromatinstruktur hervorgerufen werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP3: Bestimmung der DNMT-Aktivität/Expression nach akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

AP4: Messung der Apoptose und Bestimmung der Schadensinduktion in HaCaT Zellen nach der akuten Kombinationsbestrahlung.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<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 036C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 602.574,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Krutmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Ergebnisse: In den letzten Monaten untersuchten wir die UV-induzierte Apoptose in HaCaT Keratinozyten nach simultaner Bestrahlung (UVB + UVA, UVB + UVA + IRA oder UVB + UVA + VIS + IRA) mit physiologisch relevanten Dosen und verglichen diese mit UVB- bzw. UVA-Einzelbestrahlungen. In diesen Versuchen konnten wir zeigen, dass i) die Apoptoserate nach simultaner Bestrahlung im Vergleich zur UVB-Einzelbestrahlung signifikant geringer ist ii) dieser Effekt dosisabhängig durch UVA-Strahlung vermittelt wird, VIS und IRA allerdings keinen Einfluss auf die Apoptose haben und iii) diesem Mechanismus eine UVA-induzierte Modulation des extrinsischen Apoptose Signalwegs auf Ebene der Zellmembran zu Grunde liegt.

Innerhalb des Konsortiums wurde der Einbau mehrerer optischer Filter in die KAUVIR-Lampe beschlossen. Dies hat zur Folge, dass innerhalb des Emissionsspektrums der UVB- und UVA-Lampe, bisher aufgetretene Kontaminationen durch Wellenlängen außerhalb des Zielspektrums eliminiert werden.

Arbeitspakete 3, 4 und 5: Die für die in vivo Versuche vorgesehene Bestrahlungseinheit ist funktionsfähig, wird allerdings momentan mit den bereits oben beschriebenen Filtern ausgerüstet, so dass sie baugleich mit der für die in vitro Versuche verwendeten Lampe ist.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1, 2: Der nach Kombinationsbestrahlung auftretende modulierende Effekt von UVA-Strahlung auf die UVB-induzierte Apoptose soll in den nächsten Experimenten weiter charakterisiert werden. Hierfür werden in Zusammenarbeit mit der AG Greinert und der AG Rapp weiterführende mechanistische Studien und Experimente zur DNA-Reparatur durchgeführt.

Arbeitspakete 3, 4, und 5: Nach Einbau der oben beschriebenen Filter werden die ersten in vivo Versuche durchgeführt. In den ersten Experimenten wird die akute Stressantwort nach UVB bzw. UVA-Einzelbestrahlung und simultaner Kombinationsbestrahlung untersucht. Im Anschluss wird die erste Photokarzinogese-Studie durchgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

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

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.024.872,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Rapp	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden alle, bei den Projektpartnern installierten Bestrahlungsanlagen, in Betrieb genommen. In biologischen und physikalischen Ringversuchen wurden die Bestrahlungsanlagen miteinander verglichen. Die dazu erzielten Ergebnisse wurden beim Projekttreffen am 9.11. in Düsseldorf präsentiert und verglichen. Dabei zeigte sich, dass die Bestrahlungsanlagen noch eine Baureihenschwankung aufweisen und dass die UVA und UVB Spektralbereiche für isolierte Bestrahlungen zu sehr überlappen. Deshalb wurden weitere Modifikationen beschlossen und deren Umsetzung eingeleitet. Abschließend wurde vereinbart die verschiedenen Bestrahlungsanlagen mit standardisierten biologischen Tests (CPD Induktion und Apoptosemessung) zu validieren, die in einem Referenzlabor des Konsortiums durchgeführt werden, um experimentelle Variationen zu minimieren. Eine Einreichung der Bestrahlungsanlage zum Musterschutz wurde im Berichtszeitraum gestartet.

Für die Projektarbeiten innerhalb des Konsortiums wurde zusätzlich zu der etablierten Zelllinie HaCaT seit Beginn eine zweite Keratinozytenzelllinie (HaSKpw) verbreitet und in allen Arbeitsgruppen verwendet. Diese Zelllinie hat den Vorteil, dass diese nicht in p53 mutiert ist. Als Grundlage für weitere Arbeiten wurde diese Zelllinie genauer charakterisiert und in den Punkten Zellzyklus, Proliferationsrate, Koloniebildung, Verhalten in organotypischen Kulturen, Migrationsassays, Wundheilungsassays, Karyotyp, Genetik und Expressionsprofilen mit der etablierten Zelllinie HaCaT verglichen. Die daraus entstandenen Daten wurden zu einer Publikation zusammengefasst und stehen kurz vor der Einreichung.

Für das Arbeitspaket 4 wurden weitere Experimente mit verschiedenen Kombinationen der solaren Strahlung durchgeführt und in Hinblick auf Schadensinduktion und Reparatur analysiert. Schwerpunkte waren hier die UV Exposition mit und ohne Infrarot-Koexposition. Weiterhin wurden Migrations- und Wundheilungs-Experimente nach Exposition durch UVA/B, VIS und Infrarot, sowohl in isolierten Bändern als auch in Kombination begonnen, da bei der Zellcharakterisierung hierbei starke Unterschiede aufgefallen sind.

Bei Vorversuchen der *in vitro* Exposition von lebenden Zellen unter dem Mikroskop (Arbeitspakete 2 und 3) hat sich ein Problem ergeben, welches darauf beruht, dass eine kontinuierliche Exposition, vor allem mittels UVA zu einem Bleichen der Fluoreszierenden Reporterproteine führt (GFP). Ebenso kommt es auf der Detektionsseite zu teilweisen Überlappungen der applizierten Strahlung mit den Detektierten, emittierten Wellenlängen der Reporterproteine (GFP, mRFP). Deshalb wird momentan an einer Lösung gearbeitet, die auf schmalbandigen variablen Filtern im Mikroskop beruht und weitere Varianten von fluoreszenten Reporterproteinen werden getestet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Ringversuche mit den Bestrahlungsanlagen an den einzelnen Standorten soll im kommenden Projektzeitraum abgeschlossen werden, letzte Bauteile werden im Februar 2018 erwartet. Die Versuche mit knock-out Zellen, die einen spezifischen DNA Reparatur-Defekt besitzen werden weitergeführt, um den Einfluss der unterschiedlichen spektralen Anteile auf das entstehende Schadensprofil näher zu untersuchen.

Darüber hinaus werden die beiden im Projekt verwendeten Zelllinien dahingehend analysiert, in wie weit diese Unterschiede in Bezug auf die Schadensantwort zeigen. Diese Untersuchungen orientieren sich an den oben beschriebenen Methoden und sollen in einem weiteren Manuskript veröffentlicht werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Kind, B., Wolf, C., Engel, K., Rapp, A., Cardoso, M.C., Lee-Kirsch, M.A. (2018): Single Cell Gel Electrophoresis for the Detection of Genomic Ribonucleotides. *Methods in molecular biology* 1672, 311-318

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 992.585,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Jakob	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorangegangenen Projektzeitraum hatte sich ein Sirtuineinfluss auf die DNA-Reparatur speziell nach dicht ionisierender Strahlung (Alphas) gezeigt. Nun konnte gezeigt werden, dass eine Inhibition von Parp1 keine



Auswirkung auf die Reparaturkinetik der DNA-Doppelstrangbrüche nach Alpha-Bestrahlung hat. Eine Reduktion der Reparaturkapazität nach Sirtuininhibition durch eine Unterdrückung der Parp1 Aktivierung via Sirtuin-abhängiger Mono(ADP)Ribosylierung kann somit ausgeschlossen werden. Um den Wirkmechanismus aufzuklären wurde nun ein Pulldown-System für Sirt1 und Sirt6 mittels FLAG-Tag etabliert. Damit konnten bereits literaturbekannte Interaktionspartner, wie SNF2H für Sirt6, erfolgreich nachgewiesen werden. Im speziellen konnte eine strahlungsabhängige Interaktion von Sirt1 mit NBS1 gezeigt werden. Experimente mit einer FLAG-Sirt1-Mutante ohne Deacetylasefunktion ergab, dass diese strahlungsabhängige Komplexbildung zumindest nach Alphabestrahlung unabhängig von der Deacetylaseaktivität des Sirt1 ist.

Bei den Studien zur Untersuchung des Einflusses von RNF138 auf die Resektion komplexer DSBs konnte sowohl in U2OS- als auch in HeLa-Fucci-Zellen ein homozygoter RNF138-KO Klon etabliert werden. HeLa-Fucci-Zellen ermöglichen eine fluoreszenzbasierte Unterscheidung zwischen G1 und S/G2 Zellen und erlauben somit eine distinkte Aussage über den Einfluss eines RNF138-KO in den verschiedenen Zellzyklusphasen.

Zudem konnten FLAG-getagte RNF138-Plasmide (WT/ $\Delta$ RING) generiert werden um die Interaktion von RNF138 mit z. B. Ku80 und CtIP zellzyklusabhängig in den HeLa-Fucci in Abhängigkeit der Strahlenqualität untersuchen zu können. Der Nachweis der Rekrutierung von RNF138 über den FLAG-Tag mittels Immunfluoreszenzfärbung nach UV-Laserbestrahlung bestätigte die Funktionalität der Plasmide. Für Ubiquitinierungsanalysen konnte ein Pulldown-System für ubiquitinierte Proteine etabliert werden. Erste Versuche zeigten hierbei, dass Ku80 nach Bestrahlung mit 30 Gy X-IR sowohl in asynchronen als auch G1-Phase Zellen ubiquitiniert wird.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Um der Frage nachzugehen, welcher Faktor für die Ubiquitinierung von Ku80 in den verschiedenen Zellzyklusphasen verantwortlich ist, soll das Pulldown-System in HeLa-Fucci-RNF138-KO und HeLa-Fucci RNF8 kd Zellen angewendet werden. Zudem soll die Interaktion von RNF138 mit Ku80 bzw. CtIP mittels Co-Immunopräzipitation untersucht werden, um auch hier zellzyklusabhängige Unterschiede nach Bestrahlung mit X-IR im Vergleich zu Ionen herauszufinden. Eine Analyse der Rolle von VCP/p97 soll klären, ob VCP/p97 an dieser Ubiquitinierung beteiligt ist und dadurch, wie beschrieben, Ku80 vom Doppelstrandbruch entfernt wird. Dazu und zur Klärung der Frage, ob Ku80 nach Induktion komplexer Schäden in G1 am Schaden verbleibt soll versucht werden die Färbung von Ku80-Foci in der Immunfluoreszenz zu etablieren. Weiterhin soll untersucht werden, ob RNF138-KO Zellen einen strahlungsinduzierten DSB-Reparaturdefekt in den verschiedenen Zellzyklusphasen aufweisen und welche Rolle die Strahlenqualität dabei spielt.

In den bisherigen Inhibitionsexperimenten (Verzögerung der DNA-Reparatur nach Alphabestrahlung) wurde der pan-Sirtuin-Inhibitor Nicotinamid eingesetzt. Dieser inhibiert aufgrund einer Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes der enzymatischen Reaktion mehrere Mitglieder der Sirtuin Familie. Zur Identifikation, welches nukleär agierenden Sirtuine vorrangig an der Reparatur beteiligt ist, sollen Vergleichsversuche mit spezifischeren Inhibitoren durchgeführt werden. Zusätzlich soll geklärt werden, ob nach Sirtuininhibition verbleibende Schäden überproportional heterochromatinassoziiert sind, was auf eine Funktion in der Chromatinrestrukturierung hinweisen würde. Die biochemischen Charakterisierungen der oben genannten Interaktionspartner von Sirt1 und Sirt6 soll fortgeführt werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

S. Timm, Y. Lorat, B. Jakob, G. Taucher-Scholz and C. Rube: Clustered DNA lesions along particle trajectories prevent efficient chromatin restoration following ion irradiation Clin. Can. Res., submitted

Im Berichtszeitraum wurden die im AP1 erzielten wissenschaftlichen Ergebnisse von den Projektmitarbeitern auf folgender Konferenz in Form von Vorträgen oder Postern präsentiert:

43<sup>rd</sup> Annual Meeting of European Radiation Research Society and 20<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Biological Radiation Research – ERRS and GBS, Essen, 17.-21. September 2017

Burkhard Jakob, et al.: Protein dynamics in response to radiation induced DNA damage of different complexity (Vortrag)

Susanne Tonnemacher, et al.: Use of Tetracycline and ReAsH as Markers for 53BP1 in Fluorescence and Electron Microscopy (Poster)

Nicole Averbeck, et al.: Proliferating versus quiescent cells: Repair and survival of low- or high-LET radiation induced DNA double-strand breaks (Poster)

Anja Heselich, et al.: Influence of Posttranslational Modifications on Radiation-induced DNA Damage Repair Processes (Poster)

Carina Barent, et al.: RNF138 stimulates resection upon heavy-ion- irradiation in human G1-phase cells (Poster)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 752.328,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Iliakis	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In Untersuchungen des G2-Checkpoints mithilfe einfacher DNA-Färbung und Durchflusszytometrie in G2-synchronisierten humanen RPE-1 wt Zellen wurde gezeigt, dass die Behandlung mit hypo- und hypertone Medium zwecks Modifizierung der Chromatinstruktur zum Einen eine Verlangsamung des Fortschreitens durch die Mitose bis in die G1-Phase zufolge hat (Chromatindekondensation durch hypotone Behandlung) und zum Anderen dafür sorgt, dass die Zellen in den jeweiligen Zellzyklusphasen verbleiben und sich nicht weiter teilen (Chromatinkondensierung durch hypertone Behandlung). Auf der Ebene der Metaphasen konnte eine Dekondensierung bzw. Kondensierung des Chromatins durch eine Veränderung in der Tonizität mithilfe der Zytogenetik visualisiert werden.

Nachdem gezeigt werden konnte, dass der Methyltransferase-Inhibitor Chaetocin die Reparatur durch alt-EJ in serum-deprivierten HCT116 Lig4<sup>-/-</sup> Zellen verbessert, wurde die DSB-Reparatur im Allgemeinen mittels der konfokalen Mikroskopie untersucht. Die Analyse der  $\gamma$ H2AX und 53BP1 Foci-Bildung zeigte keinen Unterschied zwischen mit Chaetocin behandelten und unbehandelten Proben.

Aus vorherigen Studien wurde ersichtlich, dass DNA-PK defiziente Zellen keine Inhibierung der DSB-Reparatur in der G0-Phase zeigen, im Gegensatz zu anderen c-NHEJ defizienten Zellen. Um dieses Phänomen zu ergründen wurden CHO Zellen mit verschiedenen Mutationen in der DNA-PKcs verwendet. In Überlebensexperimenten konnte gezeigt werden, dass Zellen mit Alanin-Substitutionen im PQR-Motif genauso radioresistent sind wie wt-Zellen, wohingegen die Kinase-inaktivierte Mutante und die phospho-imitierende Mutante JKD2 (wt Kinaseaktivität) sehr strahlungsempfindlich sind. Diese Ergebnisse konnten in PFGE Experimenten bestätigt werden.

Hinsichtlich der Abhängigkeit vom Wachstumsstadium des alt-EJ zeigten nur die JKD2 und die Kinase-inaktivierte Mutante eine Inhibierung der DSB-Reparatur in der G0-Phase.

Aus vorherigen Experimenten ist bekannt, dass der DNA-PK Inhibitor NU7441 für eine drastische Verschlechterung der Reparatur in wt-Zellen in der G0-Phase sorgt. In Kombination mit einer Mutation in DNA-PKcs zeigt er allerdings nur bei der ND5 Mutante (phosphoimitierende Mutation im N-Terminus) eine Verschlechterung der Reparatur. In den Mutanten JKD2 und Kinase-inaktiviert konnte kein Effekt des NU7441 festgestellt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Um die Mechanismen des G2-Checkpoints unter hypo- und hypertonen Bedingungen besser zu verstehen, sollen die Aktivitäten der Proteine der zugrundeliegenden Signalkaskaden (ATM, ATR, DNA-PK, Chk1, Chk2, etc.) mit der Western Blot Methode näher untersucht werden.
- Da vermutet wird, dass CtIP eine große Rolle hinsichtlich der Reparatureffizienz des alt-EJ in G0-Zellen spielt, sollen die RNA Level des CtIP untersucht werden.
- Weitere Methylierungsstellen im Chromatin (H3K27me3 und H4K20me3) sollen in Kombination mit Chaetocin untersucht werden.
- Die Rolle der verschiedenen DNA-PKcs Mutanten soll weiter hinsichtlich der Reparatureffizienz des c-NHEJ und alt-EJ und im Allgemeinen hinsichtlich der Wahl zwischen den Reparaturwegen eruiert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Moscariello, M. and Iliakis, G. (2013): Effects of chromatin decondensation on alternative NHEJ. DNA Repair 12, 972-981

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 719.412,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Im bisherigen Verlauf des Projekts konnte etabliert werden, dass ATRX eine Funktion bei der Reparatur von DSBs durch den Prozess der HR besitzt. Des Weiteren konnte nach Induktion von DSBs eine direkte Interaktion von ATRX und PCNA nachgewiesen werden, welche durch eine bisher unbeschriebene Proteindomäne von ATRX vermittelt wird.

Mittels site-directed mutagenesis konnten zudem ATRX-Deletionsmutanten etabliert werden, die spezifische Defekte in den Eigenschaften für die DNA-Bindung, die ATPase-Aktivität bzw. die Interaktion mit PCNA aufweisen. Für alle diese Eigenschaften von ATRX konnte eine Bedeutung für die Reparatur von DSBs mittel HR nachgewiesen werden. So konnte mittels Immunfluoreszenz-Analysen in allen getesteten Mutanten ein DSB-Reparaturdefekt nachgewiesen werden, welcher genauso stark ausgeprägt war wie der in ATRX-defizienten Zellen. Darüberhinaus wurde im vorherigen Berichtszeitraum ein neuer methodischer Ansatz etabliert, der eine Visualisierung der DNA-Reparatursynthese während des HR-Prozesses in der Immunfluoreszenz ermöglicht. Mit diesem Ansatz konnten nach Induktion von DSBs Reparatursyntheseprozesse in Wildtyp-Zellen nachgewiesen werden, jedoch nicht in ATRX-defizienten Zellen oder den zuvor beschriebenen Deletionsmutanten. Dies verdeutlicht eine essentielle Funktion von ATRX für die DNA-Reparatursynthese während der HR.

In diesem Berichtszeitraum wurde mit RFC ein Faktor in die Untersuchungen aufgenommen, dem eine essentielle Funktion bei der Rekrutierung von PCNA zugeschrieben wird. Dies impliziert eine mögliche Funktion von RFC während des HR-Prozesses, was nun experimentell bestätigt werden konnte. So wurde in RFC- und in PCNA-depletierten Zellen ein vergleichbarer DSB-Reparaturdefekt wie in ATRX-defizienten Zellen sowie eine ausbleibende DNA-Reparatursynthese während der HR beobachtet. Außerdem wurden Immunfluoreszenzfärbungen gegen RFC, PCNA und ATRX etabliert, mit denen eine Rekrutierung dieser drei Faktoren an DSBs zu späten Zeiten nach der DSB-Induktion nachgewiesen werden konnte. Hierbei zeigten alle drei untersuchten Faktoren ein vergleichbares Verhalten. Abschließend konnte zudem mittels Co-Immunpräzipitation eine direkte Interaktion von ATRX mit RFC und PCNA nach DSB-Induktion bestätigt werden.

AP2: Dieses Arbeitspaket wurde bereits abgeschlossen, da alle Ziele erreicht wurden. So wurde im Rahmen dieses Arbeitspakets gezeigt, dass Zellen mit fortgeschrittenen HR-Intermediaten in die Mitose eintreten können, um diese dort weiter zu prozessieren.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: In vielen Studien der letzten Jahre wurde etabliert, dass DSB-Reparaturvorgänge häufig von Remodellierungs-Prozessen am Chromatin begleitet werden. Auch für ATRX wurde eine Funktion während dieser Prozesse beschrieben, wobei ATRX für den Einbau der Histonvariante H3.3 benötigt wird. Hierbei kooperiert ATRX mit dem Faktor DAXX. Im weiteren Verlauf des Projekts soll nun überprüft werden, ob die Funktion von ATRX in der Chromatin-Remodellierung für den HR-Prozess von Bedeutung ist. Mit Hilfe der zuvor beschriebenen experimentellen Ansätze soll dabei untersucht werden, ob eine Depletion von DAXX oder Histon H3.3 zu vergleichbaren Phänotypen führt, wie sie nach Depletion von ATRX, PCNA oder RFC beobachtet wurden. Zudem sollen neue methodische Ansätze etabliert werden, mit denen der Einbau von Histon H3.3 während der HR direkt nachgewiesen und die Bedeutung von ATRX für diesen Vorgang bestimmt werden kann.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Spies, J., Waizenegger, A., Barton, O., Sürder, M., Wright, W.D., Heyer, W.-D., Löbrich, M. (2016): Nek1 Regulates Rad54 to Orchestrate Homologous Recombination and Replication Fork Stability. doi:10.1016/j.molcel.2016.04.032

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 038A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 762.720,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Multhoff	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Aufklärung der funktionellen Änderungen von pathogener Relevanz in mikrovaskulären Endothelzellen (mECs) isoliert aus Herz, Haut, Leber und Lunge von C57BI/6 Mäusen nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlendosen (0,2 Gy, 2 Gy, 4 Gy, 8 Gy, 16 Gy).
- Vergleichende phänotypische Charakterisierung von frisch isolierten mECs aus nicht bestrahlten und bestrahlten (2 Gy, 4 Gy, 8 Gy, 16 Gy) Tieren mittels Durchflusszytometrie.
- Analyse der migratorischen Kapazität von mECs unter statischen Kulturbedingungen und unter Fluss-/Scherstressbedingungen (IBIDI System) (Riederer et al. 2008).
- Interaktion von mECs (nicht bestrahlt und bestrahlt) mit Subpopulationen von Leukozyten unter statischen Bedingungen und unter Fluss/Scherstressbedingungen.
- Erfassung der histologischen und immunhistologischen Änderungen von nicht bestrahlten und mit niedrigen Dosen bestrahlten mECs. Quantifizierung der infiltrierenden Lymphozyten.
- Vergleichende Proteom-Analyse von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- Vergleichende Transkriptom-Analysen von ECs aus Schein-bestrahlten und bestrahlten Geweben von unterschiedlicher Herkunft.
- Integrierung der Daten zu einem Modell über den biologischen Mechanismus der strahlen-induzierten Pathogenese.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Mit Hilfe des CT-bildgestützten Hochpräzisionsbestrahlungsgerätes „Small Animal Radiation Research Platform“ (SARRP) konnte ein innovatives Bestrahlungsprotokoll etabliert werden, das eine komplette Herzbestrahlung mit nur geringfügiger Bestrahlung der Lunge zulässt. Bei einer klinisch relevanten Herzbestrahlungsdosis von 16 Gy beträgt das Lungenvolumen, das einer Dosis von 10 Gy ausgesetzt ist, lediglich 14 % (V<sub>10</sub>=14 %), und nur 7 % des Lungenvolumens wurde einer Bestrahlung von 16 Gy ausgesetzt (V<sub>16</sub>=7 %). Dadurch konnte das symptomfreie Überleben der Mäuse nach kompletter Herzbestrahlung mit 16 Gy auf mindestens 50 Wochen verlängert werden. Herkömmliche Bestrahlungsprotokolle, die einen großen Anteil der Lunge mitbestrahlen, induzieren einen frühen Tod der Tiere. Das von uns neu entwickelte Bestrahlungsprotokoll erlaubt erstmals die Analyse von Langzeiteffekten einer isolierten Herzbestrahlung in einem Mausmodell. Geringfügige Amyloid-Ablagerungen im Herzen, eine schwache Hypertrophie der linken Herzkammer und geringfügige Fibrosen und Entzündung in der Lunge konnten von den Mäusen selbst 50 Wochen nach Herzbestrahlung gut kompensiert werden. Mit Hilfe der neuen Bestrahlungsplanung konnten wir zeigen, dass 50 Wochen nach einer Herzbestrahlung (8, 16 Gy) Veränderungen in der Zelloberflächenexpression von Adhäsionsmolekülen auf primären Herz-Endothelzellen auftreten, die für die Leukozytenadhäsion von Bedeutung sind.

Um Unterschiede der Strahlensensitivität von nicht-proliferierenden (Normalgewebsendothel) und proliferierenden Geweben (Tumore) zu analysieren, wurden neben Herzendothelzellen auch primäre Endothelzellen aus subkutanen Melanom-Tumoren (B16F0) nach lokaler *in vivo* Bestrahlung des Tumors vital isoliert. Durchflusszytometrische Analysen der Tumorendothelzellen haben ergeben, dass Veränderungen in der Expression von Zelloberflächenmarkern, die für Zellproliferation, Adhäsion und Stammzeleigenschaften verantwortlich sind mit einem reduzierten Wachstum und einer erhöhten Nekrose des Tumors nach Bestrahlung korrelieren.

In einem weiteren Projektteil wurde der komb. Langzeiteffekt von Bestrahlung (10 Gy) und Scherkräften, die durch den Blutfluss induziert werden, in einem künstlichen Flusssystem (Ibidi) simuliert. Dazu wurden bestrahlte Herz- und Lungen-Endothelzellen 7 Tage entweder unter Fluss- oder unter statischen-Bedingungen kultiviert und anschl. in Kooperation mit dem Institut für Strahlenbiologie, HMGU einer Proteomanalyse unterzogen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Derzeit wird die der Daten einer isolierter *in vivo* Herzbestrahlung mit 8 und 16 Gy nach 20, 30, 40 und 50 Wochen durchgeführt, um Langzeiteffekte einer Herzbestrahlung zu erfassen.

Die Interaktion isolierter Herz-Endothelzellen nach *in vivo* Bestrahlung mit Leukozyten soll im Flusssystem (Ibidi) untersucht werden. Dazu muss ein neuer Versuchsaufbau im Ibidi System bestehend aus unterschiedlichen Zelltypen etabliert werden.

Um den Einfluss einer Brustkrebsbestrahlung von Patientinnen auf Erkrankg. des Herzkreislaufsystems besser zu verstehen, ist geplant, Teilbestrahlung des linken Herzens von Mäusen mit Hilfe des SARRP Geräts und neuen Bestrahlungsplänen vorzunehmen. Diese Ergebnisse sollen mit Daten von humanen Brustkrebs-Patientinnen korreliert werden, bei denen es während einer Strahlentherapie ebenf. zu einer Teilherzbestrahlung gekommen ist.

Die Auswertung der Daten von Tumor-Endothelzellen nach 16 Gy *in vivo* Bestrahlung wird zurzeit durchgeführt. Die Ergebnisse könnten zu einer verbesserten Bestrahlungsplanung und Tumorkontrolle führen. Zusätzlich ist eine Proteom-Analyse der eingefrorenen Endothelzellen aus nicht bestrahlten und bestrahlten Tumoren in Vorbereitung (Institut für Strahlenbiologie, HMGU).

Die Ergebnisse der Proteom-Analysen von nicht bestrahlten und bestrahlten Endothelzellen unter statischen- und unter Fluss-Bedingungen sollen zeitnah mit Hilfe biochemischer Methoden validiert werden. Zusätzlich sollen löslichen Inflammationsparameter im Medium untersucht werden, die von unbestrahlten und bestrahlten Endothelzellen unter Fluss- und unter statischen Bedingungen sezerniert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ostheimer C, et al.: Dynamics of heat shock protein 70 serum levels as a predictor of clinical response in non-small-cell lung cancer and correlation with the hypoxia-related marker osteopontin. *Front Immunol* 18(8): 1305, doi: 10.3389/fimmu.2017.01305, 2017

Thorsteinsdottir J, et al.: Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *J Neurooncol*, 135(3): 443-452, doi: 10.1007/s11060-017-2600-z, 2017

Shevtsov M, et al.: Heat shock protein 70 (Hsp70) a therapeutic target for cancer therapy. *Phil. Trans. R. Soc. B-Issue* 373:20160526

Sievert W, et al.: Improved overall survival of mice by reducing lung side effects after high precision heart irradiation using SARRP, under review

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 038B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 367.263,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Tapio	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Zusätzlich, mithilfe der neuen Analyseverfahren, wurden die Proteom-Analysen der primären unbestrahlten und bestrahlten Mauslungenendothelzellen und Mausherzendothelzellen durchgeführt. Erste Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen einerseits die Effekte beider Zelltypen aufeinander, da sie ähnliche aktivierte Signalwege zeigen. Bei Betrachtung der deregulierten Proteine fällt auf, dass die Lungenendothelzellen wesentlich stärker auf die angewandte Strahlung reagieren als dies Herzendothelzellen unter gleichen Kulturbedingungen tun. Hierbei fällt insbesondere die entzündungsabhängige Reaktion ins Gewicht, welche in den Lungenendothelzellen deutlich stärker ausgeprägt ist als in den Herzendothelzellen. Dies deutet darauf hin, dass das Lungenendothel strahlensensitiver ist als das Herzendothel.

Auch die Scherspannung bewirkt eine Änderung der Sensitivität in Bezug auf die eingesetzte radioaktive Strahlung. Die Folgen der Scherspannung auf die Strahlenantwort wurden in primären Mausherzendothelzellen untersucht. Die ersten Ergebnisse zeigten, dass die angelegte Scherspannung sich positiv auf die Zellen auswirkt und dadurch die Sensitivität in Bezug auf radioaktive Strahlung herabsetzt.

Weiterhin wurden die Endothelzellen von unbestrahlten und bestrahlten Tumoren am Modell des Melanoms in der Maus isoliert. Hierbei zeigte sich bereits, dass die bestrahlten Tumore viel nekrotischer als die unbestrahlten Tumore sind.

Diese Arbeiten laufen in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Multhoff teilweise am Klinikum rechts der Isar ab.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im letzten Bericht (Zeitraum 01.01.2017 - 30.06.2017) wurde über bestrahlte Koronarendothelzellen berichtet. Diese Studie wurde im Journal of Proteome Research publiziert. Um die geplanten Ergebnisse weiter zu validieren, werden Zellkulturexperimente angesetzt und durchgeführt. Die Messungen und Analysen sind zeitnah geplant. Hierzu werden die Auswirkungen der Strahlung auf Endothelzellen und Kardiomyocyten analysiert. Des Weiteren sind geplant, die Auswirkungen des Sekretoms der Endothelzellen auf Kardiomyocyten zu analysieren. Eine Proteom-Analyse der Endothelzellen von unbestrahlten und bestrahlten Melanomen ist vorbereitet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Poster: Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Juliane Merl-Pham, Donna Lowe, Ken Raj, Michael J. Atkinson and Soile Tapio: Radiation-induced endothelial inflammation is transferred via the secretome to recipient cells in a STAT-driven process, HUPO 2017, 17.-21.09.2017, Dublin

Publikation: Philipp J., Azimzadeh O., Subramanian V., Merl-Pham J., Lowe D., Hladik D., Erbdinger N., Ktitareva S., Founier C., Atkinson MJ., Raj K., Tapio S.: Radiation-Induced Endothelial Inflammation Is Transferred via the Secretome to Recipient Cells in a STAT-Mediated Process., Journal of Proteome Research, 6. Oktober 2017; 16(10): 3903-3916

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.095.956,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Blettner	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die von der VIVE-Studie erhaltenen Daten wurden auf Plausibilität und Vollständigkeit geprüft und deskriptiv ausgewertet. Es wurde eine Bestimmung der Lokalisation der Bestrahlung basierend auf den ICD10 und ICDO3 Daten vorgenommen. Für die erste Entität ALL wurden die Therapieprotokolle gesichtet und alle Strahlentherapie relevanten Informationen extrahiert. Die für die Dosimetrie notwendigen Modelle wurden vom NCI angefordert und liegen der Radioonkologie Mainz vor.

- AP2: Die Rekrutierung von Patienten Neoplasien wurde im zweiten Halbjahr des Jahres 2017 fortgeführt. Zudem wurden weitere zu den Krebspatienten passende krebsfreie Kontrollpatienten rekrutiert. Hierfür wurden bisher insgesamt Zelllinien von 135 ehemaligen Kinderkrebspatienten mit Primärneoplasien (PN), von 48 ehemaligen Kinderkrebspatienten mit Sekundärneoplasien (SN) sowie von 41 krebsfreien Kontrollprobanden (CO) erstmals kultiviert und DNA extrahiert. Des Weiteren wurden bei 19 vollständigen Matchgruppen, bestehend aus jeweils einem SN, einem auf Grundlage von Alter, Geschlecht, Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung passenden PN sowie einem dazu passenden krebsfreien CO, zeitgleich Bestrahlungsexperimente durchgeführt und RNA extrahiert.
- AP3: In Zusammenarbeit mit AP2 wurde der statistische Auswertepan für AP2 vorbehaltlich kleinerer Änderungen finalisiert. Für die Prozessierung der Whole Genome Sequencing Daten wurde begonnen eine bioinformatische Pipeline aufzusetzen.
- AP4: Kultivierungsversuche und Bestrahlungsexperimente der Triplets sind abgeschlossen. DNA und RNA ist extrahiert. Analyse der Bisulfidsequenzierung (Kooperation Würzburg) ist abgeschlossen. Das Paper ist geschrieben und zur Ergänzung in Würzburg beim Kooperationspartner Prof. Haaf. Ein Beitrag für die DEGRO 2018 wurde zu diesem Thema eingereicht. CGH Analysen der Patienten und Kontrollen (unbestrahlt) sind abgeschlossen. Die Korrelation der CGH Analysen 2N, 1N und 0N Datensätze mit RNA-SEQ Datensätzen des Triplet Experiments sind vorläufig abgeschlossen.
- AP7a: Bestrahlungsexperimente mit 21 Triplets, d. h. 63 Zelllinien von 3 gematchten Spendern (Kontrolle, PN und SN) der GenkiK/ KIKME Phase I Fibroblasten, wurden durchgeführt. Zytogenetische Analysen von 18 Triplets zeigen bisher keine signifikanten Unterschiede in der chromosomalen Radiosensitivität zwischen den Studienpopulationen. Auffällig waren spontane chromosomale Instabilitäten in Zellen von SN-Spendern.
- AP7b: Die Analyse von DNA Doppelstrangbrüchen in peripheren Leukozyten von 12 Patienten (7 x Orthovoltgerät, 5 x Linearbeschleuniger) zeigen bisher keine signifikanten Unterschiede in der Dosisbelastung der Patienten zwischen den Bestrahlungstechniken, lediglich eine Tendenz zu erhöhten Dosisbelastung nach einer Radiotherapie mit einem Linearbeschleuniger.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Therapiedatenerhebung wird weiter fortgeführt. Die Phantome des NCI werden an die Therapieplanungssysteme der Radioonkologie angepasst. Basierend auf den Informationen aus den Protokollen werden entsprechende Behandlungspläne rekonstruiert, welche die vorgenommenen Behandlungen simulieren sollen.
- AP2: Die Rekrutierung von Probanden mit Sekundärneoplasie und Primärneoplasie sowie von krebsfreien Kontrollen soll auch im folgenden Halbjahr in der Klinik und Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie sowie im Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie fortgeführt werden. Es werden weitere Bestrahlungsversuche durchgeführt sowie RNA und DNA extrahiert.
- AP3: Die in Kürze erwarteten Whole Genome Sequenzdaten werden mit der aufgesetzten Pipeline prozessiert. Anschließend wird eine statistische Analyse gemäß dem entwickelten Analyseplan durchgeführt.
- AP4: Die Methylierungsdatensätze des Vorversuchs werden ausgewertet und mittels des erarbeiteten Moduls korreliert. Es folgen Bestätigungsexperimente mit Pyrosequenzierung und Western-blots. Nach Verifikationsexperimenten mittels QPCR für die CGH-Analysen (voraussichtlich März 2018) wird die Publikation erstellt.
- AP7a: Methodenetablierungen für den Vergleich der Telomerlängen in Speichelproben der GenKiK/ ISIMEP Phase II-Spender laufen derzeit.
- AP7b: Fortlaufende Patientenrekrutierung und Analyse.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 518.880,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hankeln	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Absprache und Synchronisierung der Arbeitsschritte für die NGS-Analysen

AP2: RNA-Sequenzierung von Zellkultur-Proben vor und nach radioaktiver Bestrahlung

AP3: DNA-Sequenzierung des Genoms ausgewählter Probanden

AP4: Replikation der genetischen Daten in einem zweiten unabhängigen Probandenkollektiv

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

Im Rahmen von Vor- und Hauptversuchen wurden in der zweiten Jahreshälfte 2017 insgesamt 36 RNA Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2) zu RNA aufgearbeitet, qualitätsüberprüft, entsprechende Sequenzier-Bibliotheken erstellt und mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren sequenziert.

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

Im August 2017 hat Herr Dr. Steffen Rapp, der verantwortlich mit der Prozessierung der Sequenzierproben befasst war, aufgrund des WissZeitVG (12 Jahres-Grenze) die Universität verlassen müssen. Dies hat leider zu einer nicht unerheblichen Verzögerung insbesondere bei den RNA-Seq-Arbeiten geführt. Inklusiv der bereits wegen des verspäteten Projektbeginns gemeldeten 3-monatigen Verzögerung gehen wir am Jahresende 2017 davon aus, dass wir zwar einen Teil des Rückstands in 2018 aufholen werden, dennoch aber zum ursprünglich geplanten Projektende im August 2018 etwa 6 Monate hinter dem ursprünglichen Zeitplan sein werden. Es wird daher ein Antrag auf kostenneutrale Laufzeitverlängerung gestellt werden müssen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Auf dem Gebiet der RNA-Seq und der Bedienung des HiSeq-Geräts muss schnellstens ein Ersatz für Herrn Dr. Rapp eingearbeitet werden. Glücklicherweise konnten wir mit Frau Dr. Regina Stiehl eine Kraft bereits in Teilzeit einstellen, die alle grundlegenden Abläufe der Illumina-Technologie bereits kannte. Dennoch muss Frau Stiehl sich naturgemäß mit den Details erst einmal vertraut machen. Für die RNA-Seq-Arbeiten werden nach dieser Einarbeitungsphase die Hauptversuche unverzüglich fortgeführt. Es wird aufgrund der verbesserten Rekrutierungsabläufe in AP2 mit einer Probenanzahl von > 250 in 2018 gerechnet.

Für die DNA-Sequenzierung der Genome werden Anfang 2018 die Parameter und Methoden im Detail festgelegt, da sich in Kürze erstmals die Möglichkeit ergeben wird, auf einem neuen Illumina-Sequenziergerät (NovaSeq) die Proben zu vertretbaren Kosten analysieren zu lassen.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr.30, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 042C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 438.337,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Marron	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Strahlenexposition und Krebsentstehung im Kindesalter sowie der Entwicklung von Folgeneoplasien als Langzeitfolge stellen das übergeordnete Ziel des ISIBELA Forschungsverbundes dar. Die enge Zusammenarbeit mit weiteren drei Verbundpartnern (Universitätsmedizin Mainz, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz und Technische Universität Darmstadt) verknüpft verschiedenste Herangehensweisen aus der molekularen Epidemiologie, der Biostatistik, der Genomik, der Molekularbiologie und der Radiodosimetrie. Durch diese umfassende Betrachtung der Zusammenhänge von strahleninduzierten Krebserkrankungen und genetischer Disposition können grundlegende Informationen zu den Mechanismen der Karzinogenese gewonnen werden. Diese können zu Optimierungen in der Strahlentherapie herangezogen werden und als Grundlage zur Entwicklung von Markern für eine genetische Krebsdisposition nach Expositionen durch Strahlung (z. B. nach Strahlentherapie oder Strahlenunfällen) dienen. Das Teilprojekt C am Standort Bremen ist dabei für die wissenschaftliche Leitung des Arbeitspaketes 2 (AP2) des ISIBELA Verbundes zuständig. Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Durchführung der molekular-epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie KIKME (Krebserkrankungen im Kindesalter und molekulare Epidemiologie) und der genomweiten Identifizierung von Genen und Gen-Strahlen-Interaktionen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Rekrutierung von ehemaligen Kinderkrebspatienten (Fällen) mit Primär- (PN) und Sekundärneoplasien (SN) sowie von krebsfreien Kontrollen (CO) wurde in der vergangenen Förderperiode fortgeführt. Derzeit haben sich von insgesamt 198 angeschriebenen SN Patienten 68 (34 %) zur Teilnahme

an der Studie bereiterklärt. Bei den PN Patienten liegt die Einwilligungsrate bei 18 % (331 Zusagen von insgesamt 1533 angeschriebenen potenziellen PN Probanden). Darüber hinaus sind 78 (79 %) der bisher 99 in der Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Mainz direkt angesprochenen Kontrollen zur Studienteilnahme bereit. Inzwischen nehmen über die Hälfte der teilnehmenden Fälle (56 % der SN und 55 % der PN Patienten) eine Rekrutierung in ihrer Wohnortnähe in Anspruch. Um die Rekrutierung über niedergelassene Hautärzte gewährleisten zu können, wurde daher die Rekrutierung der Ärzte deutschlandweit fortgeführt. Mittlerweile konnten 104 niedergelassene Hautärzte als Kooperationspartner für die Hautprobenentnahme bei den Fällen der KiKme-Studie gewonnen werden. Alle teilnehmenden Fälle und Kontrollen wurden weiterhin in einem laufenden Prozess unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht sowie bei den ehemaligen Kinderkrebspatienten von Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung, Matchinggruppen zugeordnet. Alle vorhandenen Bioproben, Informationen zur Probenqualität und -quantität sowie zum aktuellen Probenstatus wurden fortlaufend in die Bioprobendatenbank eingepflegt. Derzeit sind in der Bioprobendatenbank 2349 Bioproben erfasst. Zusätzlich werden Informationen zur Probenentnahme, zu den Kultivierungsphasen, zur Zellentwicklung, zum Verbleib und zur Qualität von Extraktionen gespeichert. Des Weiteren wurde die Eingabe der Informationen der Studienteilnehmer in die Studiendatenbank fortgeführt. Dies geschieht unter Berücksichtigung von standardisierten Verfahrensanweisungen und zu Zwecken der Qualitätssicherung in einer parallelen Doppelteingabe an zwei Bildschirmen. Darüber hinaus wurden die im ersten Halbjahr 2017 durchgeführten zweiten Vorversuche zur Beendigung des Experiments nach 2 und 4 Stunden in der vergangenen Förderperiode ausgewertet. Im Vergleich zu einer Beendigung des Experiments nach 2 Stunden konnten nach 4 Stunden mit Adjustierung für fälschlicherweise zurückgewiesene Nullhypothesen (False Discovery Rate) deutlich mehr differentiell exprimierte Gene identifiziert werden, sodass für die Hauptversuche eine Beendigung der Experimente nach 4 Stunden festgelegt wurde. Auf Grundlage der Ergebnisse der durchgeführten Vorversuche wurden im vergangenen Halbjahr in Zusammenarbeit mit dem Labor der Radioonkologie in Mainz Hauptversuche an Hautproben von insgesamt 57 Probanden (dies entspricht 19 Triplets mit je 1 SN, 1 PN und 1 CO Proband) durchgeführt. Für diese Versuche wurden insgesamt 3 gezählte und G0 synchronisierte Zelllinien pro Proband mit den festgelegten Strahlungs Dosen 0 Gy, 50 mGy und 2000 mGy zeitgleich bestrahlt. Die 121 Experimente wurden nach 4 Stunden beendet, die RNA und DNA extrahiert, die Quantität und Qualität gemessen und die Extrakte zur Sequenzierung an das Labor der Mainzer Universität weitergegeben. Zur Erstellung eines detaillierten statistischen Analyseplans für die in AP2 festgelegten Fragestellungen zu Gen-Strahlen-Interaktionen haben in der vergangenen Förderperiode drei Arbeitsgruppentreffen mit den Mainzer Statistikern stattgefunden. Bei diesen Treffen wurde der statistische Analyseplan für die genomweite Identifizierung von Gen-Strahlen-Interaktionen mit Methoden der Hochdurchsatz-Entschlüsselung von DNA und RNA für AP2 ausgearbeitet.

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

Für die kommende Förderperiode ist eine Fortführung der Rekrutierung von Fällen und Kontrollen geplant. Für die Fallrekrutierung ist eine weitere Rekrutierungswelle für Januar 2018 geplant. Im fortlaufenden Prozess des Matchings sollen weiterhin für jeden teilnehmenden SN auf Grundlage von Alter, Geschlecht, Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung Matchinggruppen gebildet und entsprechende PNs und krebsfreie Kontrollen zugeordnet werden. Für die zur Verfügung stehenden Biopsie-Triplets sollen fortlaufend weitere Bestrahlungsversuche durchgeführt werden. Alle vorhandenen Informationen zu den gewonnenen Fibroblastenzelllinien und deren Extrakte (DNA und RNA) sollen weiterhin in die Bioprobendatenbank eingegeben werden. Darüber hinaus soll mit der DNA-Extraktion aus den Speichelproben begonnen werden. Alle weiteren Fragebogeninformationen der Teilnehmer sollen fortlaufend qualitätsgesichert in die Studiendatenbank eingetragen werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 805.884,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP5: Die 40 Zelllinien der GenKIK-Studie aus der ersten Förderperiode (ISIMEP), d. h. insgesamt 20 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einem Zweitumor nach Ersttumor im Kindesalter sowie 20 Zelllinien von Patienten mit einer primären Neoplasie im Kindesalter ohne Zweitumor, wurden bei unserem Kooperationspartner



in Mainz durch weitere 20 Zelllinien von gesunden, gematchten Probanden ergänzt. Sämtliche Zelllinien, einschließlich derer, die schon in der ersten Förderperiode analysiert wurden, sollen auf ihre individuelle Reparaturkapazität nach niedrigen Strahlendosen hin untersucht werden. Dies ist unabdingbar, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aller 60 Zelllinien zu gewährleisten, da im Rahmen der vergangenen Berichtszeiträume die Analysemethoden sowie das halbautomatische Auswertesystem optimiert wurden. Inzwischen wurden die entsprechenden Experimente mit allen 60 Zelllinien durchgeführt und Bildaufnahmen zur Auswertung angefertigt. Der Scan des letzten Drittels der Experimente konnte aufgrund von aufgetretenen technischen Problemen mit dem halbautomatischen Scanningsystem erst mit Verzögerung begonnen, aber dennoch zum Ende des aktuellen Berichtszeitraums abgeschlossen werden. Die nachfolgende Auswertung der Bild-Dateien wurde für die ersten 40 Patientenproben durchgeführt. Hierbei handelt es sich um einen gemischten Probensatz, der sowohl Zelllinien von Patienten mit primärer oder sekundärer Neoplasie als auch Zelllinien von gesunden Probanden beinhaltet. Als Zwischenstand der bisherigen Auswertung lässt sich folgendes festhalten:

1) Alle bislang analysierten Zelllinien zeigten im Vergleich zu den im Rahmen von ISIMEP zuvor untersuchten Zelllinien ein tendenziell niedrigeres Foci-Level, was wir jedoch auf die verbesserte Analysesoftware zurückführen, welche zur Quantifizierung der DNA-Doppelstrangbrüche eingesetzt wird.

2) Spontan auftretende DSBs in Zellen von gesunden Probanden zeigen eine den Neoplasiepatienten vergleichbar große Variabilität zwischen den einzelnen Zelllinien. Jedoch fielen einzelne Zelllinien (aller Gruppen) aufgrund von Foci-Zahlen auf, die vom Durchschnitt abwichen. Hierbei traten unter anderem schon in den unbestrahlten Kontrollen eine hohe Anzahl spontan auftretender DSBs sowie ein deutlicher Abfall der Reparatureffizienz nach niedrigen Dosen Röntgenstrahlung (2,5 – 10 mGy) auf. Nach Bestrahlung mit einer vergleichsweise hohen Dosis (100 mGy) wurden die induzierten Schäden in den betreffenden Proben jedoch teilweise bis unterhalb des Kontroll-Niveaus repariert. Diese Zelllinien sollen nach Abschluss der Auswertung von allen 60 Zelllinien mittels einer detaillierteren Analyse der DNA-Reparatur näher charakterisiert werden.

Von den GenKIK-Zelllinien liegen aus Vorarbeiten der AG Galetzka bereits Daten aus CGH- (*comparative genome hybridization*) und CpG-Analysen vor. Darüber hinaus wurden von einzelnen Zelllinien auch Expressionsanalysen von Proteinen der DNA-Schadensantwort durchgeführt. Die dort erhobenen Daten sollen im Rahmen von AP5 durch genomische Untersuchungen komplementiert werden. Dazu wird das gesamte Exom aller GenKIK-Zelllinien sequenziert (Whole Genome Sequencing) und die Sequenzen mit denen der Kontrollzelllinien verglichen. Für die geplante Exom-Sequenzierung wurden sukzessive die Zelllinien expandiert und die Zellpellets bis zum Zeitpunkt der Sequenzierung kryokonserviert. Im aktuellen Berichtszeitraum konnte die Expansion der Zelllinien abgeschlossen werden, sodass deren Zellpellets nun zur Sequenzierung geschickt werden können.

AP6: Im aktuellen Berichtszeitraum wurden uns von AP2 die ersten Zelllinien bereitgestellt, die im Rahmen der KIKME Phase 2 von rekrutierten Patienten etabliert wurden. Derzeit befinden sich 19 pseudonymisierte Triplets in Darmstadt, welche sukzessive expandiert sowie danach in Kryoröhrchen in dem in diesem Berichtszeitraum erworbenen Kryotank eingelagert werden.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Reparatur-Kapazität: Die Bilddateien des letzten Drittels der Zelllinien sollen ausgewertet werden. Darüber hinaus müssen die Experimente für einige Zelllinien komplett wiederholt werden, da die Auswertung aufgrund der schlechten Qualität der Immunfluoreszenzfärbung nicht möglich war. Für eine erneute Kontrolle auffälliger Zelllinien wird eine detaillierte Analyse hinsichtlich der DNA-Reparatur vorgenommen werden.

Exom-Sequenzierung: Da die Expansion der Zellen und die Kryokonservierung der Zellpellets nun vollständig ist, werden die Zellpellets nach einem geplanten Besprechungstermin mit unserer Kundenbetreuerin des Sequenzierungsunternehmens verschickt und sequenziert. Anschließend werden die Daten an AP3 am IMBEI (Mainz) zur Auswertung übermittelt.

AP6: Beginnend mit acht von insgesamt neunzehn vorliegenden Triplets werden diese sowohl auf ihre Reparaturkapazität als auch auf die Checkpoint-Sensitivität hin untersucht. Die Ergebnisse sollen mit den bisherigen Daten aus der GenKIK-Studie verglichen werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 043A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 569.567,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Kriehuber	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: In G1-Zellen, die im vorangegangenen Zellzyklus in der frühen bzw. späten S-Phase mit EdU gelabelt wurden, wurde nach Hetero- bzw. Euchromatinanfärbung fluoreszenzmikroskopisch gezeigt, dass die EdU-Signale in Zellen, die in der frühen S-Phase gelabelt wurden, flächig homogen verteilt waren, während Zellen, die in der späten S-Phase gelabelt wurden, eher ein distinktes, punktförmiges EdU-Signalmuster mit signalstärkeren Foci aufwiesen. Das punktförmige EdU-Signalmuster, welches Bereiche mit hoher DNA-Dichte zeigt, ist ein Indiz für angefärbte Heterochromatinbereiche, die, wie auch bereits in der Literatur beschrieben, in der späten S-Phase repliziert wurden. Dies bestätigend konnte in diesen Zellen auch eine Kollokalisierung zwischen Heterochromatin-Antikörper und punktförmigen EdU Signalen gezeigt werden.
- AP2: Die transiente Transfektion von SCL-II WT Zellen mit Genreporter-<sup>125</sup>I-TFO-Hybriden erbrachte bei der PCR-basierten Charakterisierung der resultierenden Mutanten 10 distinkte Bandenmuster. Dabei trat ein typisches Muster, bestehende aus 4 PCR-Fragmenten (65 bp, 80 bp, 140 bp und 280 bp) bei 97.4 % aller Mutanten auf. Mittels TA-Klonierung und Sequenzierung konnten in dem 140 bp Fragment eine ca. 20 bp große charakteristische Deletion festgestellt werden, die 50 bp entfernt von der TFO-Bindestelle und der Position des Iod-125 lag.
- Die gen- und zytotoxische Wirkung zweier <sup>125</sup>I-markierten TFOs (TFO-p2RT mit 1 - 20 Bindestellen und TFO-MBS mit > 10<sup>5</sup> Bindestellen im Genom) wurde in der stabil-transfizierten SCL-II p2RT Zelllinie untersucht. <sup>125</sup>I-TFO-p2RT exponierte Zellen zeigten dabei im Annexin-V Apoptose-assay eine signifikant verminderte Vitalität im Vergleich zu <sup>125</sup>I-TFO-MBS exponierten Zellen bei gleicher Anzahl an akkumulierten Zerfällen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Durchführung von Experimenten zur Gewinnung von <sup>125</sup>IIdU-pulsgelabelten Zellen, die in der frühen/späten S-, G2- sowie in der nachfolgenden G1-, S- und G2-Phase bei -150 °C radioaktive Zerfälle akkumulieren. Analyse dieser Zellen bezüglich Induktion und Reparatur von <sup>125</sup>IIdU-induzierten DSB ( $\gamma$ -H2AX/53BP1 Foci-Analysen), Apoptose- und Mikrokerninduktion, Genexpressionsänderungen sowie Chromosomenaberrationen.
- AP2: Bestimmung der Mutationsmuster in stabil transfizierten SCL-II p2RT Zellen nach <sup>125</sup>I-TFO Exposition mittels Sanger Sequenzierung. Durchführung von Experimenten zur gen- und zytotoxischen Wirkung (Apoptose Assay, 53BP1 Foci Assay und der Mikrokern Assay) von <sup>32</sup>P-markierten TFO als Referenz  $\beta^-$ -Emitter zu <sup>125</sup>I.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Dahmen V., Schmitz S., Kriehuber R.: Induction of the chromosomal translocation t(14;18) by targeting the BCL-2 locus with specific binding I-125-labeled triplex-forming oligonucleotides. *Mutat Res.* 2017 Nov;823:58-64

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 043B
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.558.260,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Iliakis

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

**UDE-1:** Frühere Experimente legten nahe, dass 53BP1 eine Rolle bei der Reparatur komplexer DSB und DSB-Cluster spielt. Um diese Möglichkeit zu überprüfen initiierten wir Experimente, bei denen mehrere SSB durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Behandlung zusätzlich zu den I-SceI-induzierten DSB eingeführt werden, um die Komplexität zu erhöhen. In ersten Experimenten haben wir die Bedingungen optimiert, indem wir die Wirkung verschiedener H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Konzentrationen und Behandlungszeiten auf das Überleben der Zellen testeten. Die Charakterisierung neu erzeugter humaner RPE-1 Zelllinien ergab, dass die Klone zwischen 4 und 13 Integrationen des Konstrukts beherbergen. Diese teilten wir in zwei Gruppen ein: Eine mit höherer Integrationszahl (1xS.D9, 2xS50.R9, 2xS100.Rx, 2xS200.R13 und 4xS.R11) und eine mit mittlerer Integrationszahl (1xS.D8, 2xS50.R8, 2xS100.Rx, 2xS200.R7 und 4xS.R8). Da die minimale Anzahl von Integrationen für einige Klone nicht niedriger als 7 war, konnte keine Gruppe mit sehr niedriger Anzahl gebildet werden. Wir konnten durch die Analyse von  $\gamma$ H2AX und 53BP1 Foci nachweisen, dass die transiente Expression von I-SceI in den transgenen RPE-1 Zellen zur Erzeugung von DSB führte. Die Anzahl der  $\gamma$ H2AX- und 53BP1-Foci stimmte nahezu perfekt mit der Anzahl an I-SceI-Integrationen in den RPE-1 Genomen überein. Um die Identifizierung von transfizierten Zellen zu erleichtern haben wir eine Strategie entwickelt in der ein Plasmid, das entweder fluoreszierendes mScarlet oder EGFP-KAP1 exprimiert, mit dem I-SceI-Plasmid ko-transfiziert wurde.

**UDE-2:** Da bisherige Versuche stabile Zelllinien mit induzierbarer Expression von I-SceI basierend auf bereits bestehenden Glukokortikoidrezeptor-Fusionsproteinen zu erzeugen durch Probleme der Stabilität sowie des Auftretens von nicht-induzierter Translokation behindert wurden, haben wir zwei neue Plasmide für die stabile und induzierbare Expression von I-SceI entwickelt. Diese basieren auf der Fusion von I-SceI mit einem Estrogenrezeptor (ER) und einer destabilisierenden Domäne (DD). Wir konnten die erfolgreiche Expression des chimären I-SceI-Proteins nach Transfektion von CHO-I-SceI-Zellen mit beiden Plasmiden nachweisen und haben erfolgreich bestätigt, dass dieses Protein exklusiv nach Verabreichung von Liganden effizient in den Kern transloziert und dort I-SceI-Stellen gezielt schneidet. Die Erzeugung von stabilen induzierbaren CHO- und RPE-1 I-SceI-Zelllinien mit diesen neuen Transgenen ist im Gange.

**UDE-3:** Erste Resultate zum Einfluss der Inhibition des MRN-Reparaturkomplexes mit Mirin wurden durchgeführt. Mirin inhibierte die Zellproliferation in einer dosis- und zeitabhängigen Weise signifikant. Die Kombinationsbehandlung von Mirin/Cisplatin (CP) und IR zeigte die höchste antiproliferative Wirkung im Vergleich zu IR allein, CP/IR oder Mirin/IR. Die radiosensibilisierende Wirkung von CP auf Cisplatin-resistente NSCLC-Zelllinien im Koloniebildungstest wurde durch Mirin verstärkt. Der Effekt war besonders ausgeprägt bei CP-resistenten NSCLC-Zellen (A549) und sensibilisierte sie gegenüber CP. Auf molekularer Ebene erhöhte Mirin die Pt-[GG]-Adduktmenge in DNA in CP-resistenten Zelllinien, aber in CP-sensitiven Zelllinien wurde keine signifikante Veränderung beobachtet.

Die radiosensibilisierende Wirkung von CP in beiden Zelllinien wurde durch Metformin (MET) im Vergleich zur alleinigen Behandlung mit CP, die mit einer erhöhten Initial- und Rest-DSB-Induktion assoziiert war, stark verstärkt. Unsere Experimente zeigen auch, dass die Bildung von CP-DNA-Addukten in beiden Zelllinien signifikant höher war, wenn MET mit CP kombiniert wurde. Bezüglich der molekularen Mechanismen konnten wir zeigen, dass MET den MEK1/2 Signalweg und die Expression des ERCC1, ein Schlüsselenzym der NER, hemmt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

**UDE-1:** Nach Optimierung der Bedingungen für die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Behandlung werden Experimente mit I-SceI-transfizierten Zellen durchgeführt und das zelluläre Überleben, die Foci-Bildung und Chromosomenaberration als Endpunkte für den Einfluss der durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induzierten, erhöhten Komplexität der DSB untersucht werden.

**UDE-2:** Sobald die bereits gewonnenen Zellklone unter Selektion ausreichend herangewachsen sind, werden alle bereits in Zelllinien mit transienter I-SceI-Transfektion durchgeführten Analysen mit Hochdruck an den induzierbaren Klonen durchgeführt.

**UDE-3:** Die molekularen Effekte von Mirin auf die Strahlensensibilisierung von NSCLC in Kombination mit CP und IR, insbesondere deren Effekt auf Reparaturfoci und Aktivierung von Nucleotid-Excisions Reparatur (NER) wird weiter untersucht. Die Untersuchungen zum Einfluss von MET auf die kombinierte CP/IR Behandlung, den Einfluss auf die Chromatinstruktur (Acetylierung von Histonproteinen) sowie die molekularen Wirkmechanismen werden fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock	<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 043C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 237.438,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wolkenhauer

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: Innerhalb des Arbeitspaketes wurden aktuelle technische Methoden für die Analyse und Integration von Datenanalysesoftware für die Quantifizierung der Genexpression überprüft und als Übersichtsartikel in der bioinformatischen Fachzeitschrift „Journal of Biotechnology“ veröffentlicht. Die Ergebnisse dieser Analyse werden innerhalb des Projektes zur Auswählerleichterung der zu verwendeten Technologie zur Datenanalyse und nachhaltigen Arbeitsablaufentwicklung beitragen. Um die Wiederverwendung der verwendeten Tools innerhalb der Genexpressionsanalyse einer breiteren wissenschaftlichen Gemeinschaft sicher zu stellen, wurde an einer Online-Trainingsplattform (<https://galaxyproject.github.io/training-material/>) für bioinformatische Datenanalysen mitgewirkt und veröffentlicht.
- AP3: Es wurde eine Methodvalidierung zur Integration von Hochdurchsatzdaten und in molekulare Netzwerke mit Hilfe von spezieller Analysesoftware (KeyPathwayMiner) in Cytoscape durchgeführt. Diese verwendete Methodik erlaubt es Genexpressionsdaten unabhängig von bereits erstellten Netzwerken innerhalb eines integrativen Ansatzes zu nutzen und somit angereicherte Signalwege zu identifizieren.
- AP5: Zusätzlich zu dem bisherig verwendeten Arbeitsablauf für die Identifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen wurde eine neue, unabhängige Technologie (DeepVariant) basierend auf Maschinelles Lernen, speziell Deep Learning, implementiert und angewendet. Diese Methodik erlaubt eine unabhängige, computergestützte Validierung von DNA-Doppelstrangbrüchen und damit eine Erhöhung der Genauigkeit bei der Identifizierung von strukturellen Variationen. Diesbezüglich wurde die entwickelte Analysestrategie für die Identifizierung von strukturellen Variationen (SV) im Genom für eine verbesserte Detektion von Doppelstrangbrüchen um neue Algorithmen geprüft und erweitert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Anhand der ausgewählten Tools und des entwickelten Klassifizierungsalgorithmus für die Analyse von SVs und der Genexpression werden mit Hilfe von Testdaten, die durch die Projektpartner bereitgestellt werden, die aktuellen Workflows weiterhin evaluiert, optimiert und validiert.

Die neuartige Methodik basierend auf „Deep Neuronal Networks“ wird mit den klassischen Herangehensweisen abgeglichen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Lott SC, Wolfien M, Riege K, Bagnacani A, Wolkenhauer O, Hoffmann S, Hess WR.: Customized workflow development and data modularization concepts for RNA-Sequencing and metatranscriptome experiments. J. Biotech. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.06.1203

Batut B, Hiltmann, Bagnacani A, Wolfien M, Gruening B.: Community-driven data analysis training for biology. bioRxiv. doi: 10.1101/225680

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 045A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 988.930,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Graw	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Ergebnisse des 2. Halbjahres 2017 wurden im Rahmen einer INSTRA-Vollversammlung am 20.11.2017 vorgetragen und diskutiert; hier erfolgt nur eine kurze Darstellung:



AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Die 6-Monats-Kohorte wurde histologisch und immunhistochemisch untersucht; es gab in Übereinstimmung mit den restlichen Proben keine Veränderungen in Bezug auf die Strahlung oder den Genotyp. Die Bestrahlungsversuche mit den Linsenepithelzellkulturen und Linsenorgankulturen befinden sich in der Auswertung und eine Reparaturkinetik wird berechnet.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die weitere Auswertung der Verhaltensdaten zeigte, dass sich Männchen 4 Monate nach der Bestrahlung mit 0,5 Gy weniger bewegen und über ein geringeres soziales Gedächtnis verfügen. Im Gegensatz dazu zeigen Weibchen 18 Monate nach der Bestrahlung mit 0,5 Gy ein vermindertes Angstverhalten. Die Wiederholung der Verhaltenstests 4 Monate nach Bestrahlung mit 0,5 Gy zeigte, dass die Ergebnisse reproduzierbar sind.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Zur Analyse differentieller Genexpression im Blut wurden aus 192 Blutproben mRNA isoliert; die Qualität ist bei 164 Proben so gut, dass damit die geplanten Array-Analysen durchgeführt werden konnten. Von den 241 Schilddrüsen-Schnitten wurden 190 befundet. Von 27 ausgewählten Proben (9 Neoplasien, 9 umgebende Normalgewebe und 9 Normalgewebe nicht bestrahlter Kontrollen) wurde mit Hilfe von Lasermikrodissektion Gewebeproben präpariert. Die extrahierte RNA hat eine für RNA Sequenzierung ausreichende Qualität und wird im nächsten Schritt in die Reaktion für die Erstellung der Sequenzierbibliothek eingesetzt.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es wurden einige Zellkulturproben bestrahlt.

Z2: Pathologie (HMGU-PATHO; Frauke Neff): ausgeschiedenZ3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Es wurden die neu gewonnenen Daten auf den INSTRA-Server überspielt.

**4. Geplante Weiterarbeiten**AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Wegen Kontamination der Zellkultur konnten die geplanten Zellkulturarbeiten im 2. HJ 2017 nicht durchgeführt werden; die Probleme sind jetzt gelöst und die Bestrahlungsversuche an Linsenzellkulturen werden im 1. HJ 2018 durchgeführt und ausgewertet (incl. Metabolom-Untersuchungen).

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Es werden Gehirnschnitte immunhistologisch mit Antikörpern gegen NeuN, GFAP, MAP2 und Synaptophysin angefärbt, stereologisch untersucht und statistisch analysiert.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Nachdem die Array-Untersuchungen mit den Blutproben durchgeführt wurden, werden die Daten systembiologisch analysiert. In den Schilddrüsenproben mit guter mRNA-Qualität werden Transkriptomanalysen durchgeführt.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es werden weiterhin die geplanten Bestrahlungen an Organ- und Zellkulturen durchgeführt.

Z2: Pathologie (PATHO; Frauke Neff): ausgeschiedenZ3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Die Sammlung von Daten wird weitergeführt. Erste Netzwerk-Analysen werden durchgeführt.

Allgemein:

Zum Austausch statistischer Verfahren findet am 01.02.2018 ein Statistik-Workshop aller INSTRA-Gruppen statt (Förderkennzeichen A-C).

**5. Berichte, Veröffentlichungen**

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 045B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 262.634,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Kulka	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Untersuchungen am Plasma:

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

AP2: Untersuchungen an der Milz:

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

AP3: Untersuchungen an der Leber:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### AP1: Untersuchungen am Plasma:

Die geplanten Untersuchungen von inflammatorischen Faktoren in wissenschaftlich-technischer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Dr. Stefan Lehr am Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie des Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf (Unterauftragnehmer) bearbeitet. Dabei werden mit Hilfe des Multiplex Immunassays Veränderungen von Cytokin-/Chemokinspiegeln gemessen, welche bekannter Weise bei einer Strahlenantwort betroffen sind. Nach einem Vorversuch im Mai 2017 konnten mehrere inflammatorische Marker identifiziert werden, die eine strahlenabhängige Reaktion 4 h nach Bestrahlung zeigten, z. B. Eotaxin. Darauf aufbauend wurde eine Auswahl von Plasmaproben von männlichen Versuchstieren bestimmt, um folgende Fragestellungen zur Bestrahlung im Niedrigdosisbereich zu verfolgen: (i) Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen 0 Gy und 500 mGy zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung der Tiere (24 Stunden, 12, 18, 24 Monate nach Bestrahlung) (ii) Vergleich der Effekte der verschiedenen Strahlendosen (0 mGy, 63 mGy, 125 mGy, 500 mGy) (iii) Einfluss der rezessiven Mutation Ercc2S737P auf den Phänotyp.

#### AP2: Untersuchungen an der Milz:

Die Untersuchung von ca. 29 Kandidatenproteinen in Leberextrakten wird mittels Westernblot-Methode durchgeführt. Dabei wurden die Herstellung von Milzextrakten, Proteinbestimmung und Vorversuchen mit Antikörpern fortgesetzt.

#### AP3: Untersuchungen an der Leber:

Die Proteinexpression in der Leber wird mittels DIGE durchgeführt. Der Proteinextrakt wird aus tiefgefrorenem Pulver der gesamten Leber hergestellt. Die Herstellung der Leberextrakte und Analyse durch DIGE wurden fortgeführt, weitergehend wurde an einer komplexen systematischen Auswertung unter Einbeziehung aller bis dahin durchgeführten DIGE-Analysen gearbeitet. Es zeigten sich differentiell exprimierte Proteine nach 500 mGy Bestrahlung, mit geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Strahlenantwort. Erste Versuche zum Nachweis differentiell exprimierter Phosphoproteine wurden mittels 2D-Analyse und einer speziellen Phosphoproteinfärbetechnik (ProQ-Diamond) erfolgreich durchgeführt.

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

Das zweite Jahrestreffen 2017 des INSTRA-Verbundes fand am 20.11.2017 am Helmholtz-Zentrum München statt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 045C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 208.353,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Atkinson	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Analysen der Proben (Hippocampus) 24 Monate nach Bestrahlung zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Strahlendosen, abhängig von Geschlecht und Genotyp. Nach einer strikten statistischen Analyse, zeigt nur die weibliche Wildtypgruppe eine starke Dereglulierung des Proteoms. Als zentraler Signalweg wurde der CREB Signalweg anhand bioinformatischer Auswertungen identifiziert. Dieser spielt eine wichtige Rolle in der Erhaltung der normalen Funktionalität von Neuronen, indem er die Transkription von anti-apoptotischen Proteinen reguliert und demnach neuro-protektiv gegenüber externen Stressoren wirkt. Zudem ist der Transkriptionsfaktor CREB auch an der Steuerung der Plastizität der Synapse beteiligt. Zielmoleküle dieses Signalwegs wurden mit Immunoblot-Analysen validiert, wodurch die Relevanz dieses Signalwegs in der Strahlenantwort verifiziert werden konnte. Es wurde gezeigt, dass sich die Regulation zwischen den Dosen unterscheidet. Nach 0,063 und 0,125 Gy wurde eine Aktivierung des Signalwegs festgestellt. Das deutet auf eine neuro-protektive Antwort auf die Strahlenexposition hin. Dahingegen zeigt die höchste Dosis 0,5 Gy eine Inaktivierung des Signalwegs. Zusätzlich wurden erhöhter oxidativer Stress und erhöhte Mengen von proapoptotischen Proteinen gemessen. Das könnte auf eine Beeinträchtigung der neurologischen Funktion hinweisen, was mit den Ergebnissen der Verhaltenstests übereinstimmt.

Die Herzproben wurden parallel zu den Gehirnproben nach gleichem Ablauf bearbeitet. Die ausgewerteten LS-MS/MS Proteom-Daten zeigten keine signifikanten Veränderungen, die auf die Strahlenexposition zurückzuführen sind. Dies könnte bedeuten, dass das Gehirn, jedenfalls der Hippocampus, strahlensensitiver ist als das Myokard.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Weitere Validierung der massenspektrometrischen Daten der 24 Monate Proben mit Immunoblotting ist geplant. Zusätzlich zu den Proteinanalysen, wird die extrahierte RNA durch gezielte quantitative Transkriptom-Analyse untersucht. Auf diesen Daten basierend ausgewählte mikro-RNAs werden unter Einsatz von echtzeit-PCR-basiertem miRNA-Nachweis (Taq-Man) gemessen. Die finalen Ergebnisse werden zu einem Manuskript zusammengefasst.

Zudem werden die Proben der 12 Monate nach Bestrahlung bearbeitet.

Anschließend werden die in-vivo gewonnenen Erkenntnisse unter Verwendung zweier Zellmodelle (HT22- und Ntera2-Zellen) vertieft. HT22-Zellen sind immortalisierte Neurone von murinen Hippocampus-Zellen, die schon als Modellsystem für die Untersuchung der Wirkung ionisierender Strahlung verwendet worden sind. Die humane embryonale Karzinom-Stammzelllinie Ntera2 dient als Modellsystem, um den Effekt von Strahlung auf den Differenzierungsprozess von Stammzellen zu terminal differenzierten Zellen zu untersuchen.

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

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag auf der GBS/ERRS Konferenz 2017 in Essen, Deutschland

Posterpräsentation auf der Jahrestagung der RRS 2017 in Cancun, Mexiko

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<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 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 806.645,00 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 (HMGU; Koordination), Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin (CUB), Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen (IFZ), Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilian-Universität München (LMU), Klinik für Strahlenheilkunde Freiburg, Universitätsklinikum Freiburg (UKF)

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

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

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

*AP1.1: Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort*

Die im Vorgängerprojekt gewonnenen integrativen, zeitaufgelösten Omics Datensätze von strahlenempfindlichen, normalen und resistenten Zelllinien werden derzeit in enger Kooperation mit dem CUB mithilfe von Netzwerkgraphanalyse bezüglich zentraler Knoten und Module analysiert. Am 6./7.2.2018 wird Herr Unger in Rahmen eines Arbeitstreffens zusammen mit Herrn Klinger und Herrn Blüthgen (CUB) in Berlin intensiv an der Identifizierung der zentralen Netzwerkmodule der Strahlenantwort arbeiten.

Um den zeitlichen Verlauf von strahleninduzierten SASP-Faktoren zu erfassen und darüber hinaus übergeordnete Netzwerkknotenpunkte zu identifizieren, wurden vom IFZ weitere murine Pneumonitis-Proben (Thoraxbestrahlung mit 15 Gy) einer Zeitreihe (0-21 d) generiert und die RNA (Gesamtlungen-Homogenate) extrahiert. Die ex vivo Proben aus diesen Versuchen wurden für Genexpressionsanalysen vom IFZ zur Verfügung gestellt.

Des Weiteren wurde am 7.12.2017 für AP1 eine Doktorandenstelle „Systembiologische Charakterisierung und Modulierung der Strahlenantwort in der Strahlentherapie“ ausgeschrieben (Bewerbungsfrist 31.1.2018).

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Die Aufarbeitung des retrospektiven Tumorkollektivs primär-definitiv strahlentherapierter HNSCC Patienten (LMU-KKG Kollektiv) wurde abgeschlossen. Es wurden alle relevanten Gewebeblöcke in der Pathologie der LMU ausgewählt, Serienschritte auf Objektträgern angefertigt und histopathologisch beurteilt. Anschließend wurde simultan DNA und RNA aus den gekennzeichneten Tumorzellarealen nach Mikrodissektion isoliert. Die Quantifizierung der Nukleinsäuren erfolgte mit Hilfe des Qubit-Fluorometers, wobei aus dem Großteil der Proben ausreichende Mengen DNA und RNA isoliert werden konnten. Gegenwärtig wird der HPV-Status der Tumorproben mittels immunhistochemischer Färbung von p16INK4a und PCR-Analysen zum Nachweis von HPV auf DNA-Ebene analysiert.

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

Vom Projektpartner Freiburg (UKF) wurden Zellpellets von einem Pilotversuch zur Generierung von Mundschleimhaut-Keratinocyten-Proben zur Verfügung gestellt. Hierzu wurden Keratinocyten-Zellen von drei Normal Spendern präpariert, bestrahlt (0/4 Gy) und nach 24 h und 96 h geerntet und jeweils 3 Aliquots Zellpellets schockgefroren. Am HMGU wird derzeit ein Protokoll zur simultanen Isolation von DNA/RNA/Protein aus den Zellpellets etabliert. Nach erfolgreicher Isolation werden die Isolate an die Projektpartner verteilt.

Theresa Heider wurde zum 01.09. als PostDoc auf das Projekt eingestellt.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes ZISStrans fand am 07./08. November in München als Kickoff-Meeting statt. Für das HMGU nahmen H. Zitzelsberger, K. Unger, T. Heider und J. Hess teil.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 047B
<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 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 516.332,00 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: Es wurde eine Sichtung der vorhandenen Daten und eine Auswahl geeigneter Kandidaten für die nachfolgende Netzwerkanalyse vorgenommen. Es wurden insbesondere zellzyklusspezifische Signaltransduktionswege sowie vielversprechende Netzwerkknoten/Repräsentanten identifiziert.
- AP2: Vorbereitung von Experimenten und Entwicklung von Methoden zur genaueren Analyse der ausgewählten Kandidatenproteine Rb, Lamin A, Cdc6 und des MCM-Proteinkomplexes. Die Analyse der Expressionslevel von Kandidaten und die Aufklärung der stöchiometrischen Komplexzusammensetzung sowie die Strahlungsabhängigkeit der Bindung an Interaktionspartner, werden durch Immundetektion und Co-Immunpräzipitation durchgeführt. Dies wird in Zellextrakten aus asynchronen und arretierten Kulturen von lymphoblastoiden Zelllinien untersucht.
- AP3: Die Weiterverarbeitung und Analyse des Patientenmaterials des Partners Universitätsklinikum Freiburg wurde detailliert mit allen Verbundpartnern besprochen und geplant.  
Die zur Verfügung stehenden Zellmengen wurden festgelegt und es wurden verschiedene Methoden zur Kandidatenvalidierung in Zellkulturen des Patientenmaterials überprüft.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

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

Keine.

<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 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 688.212,00 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 Tumorgeewebe von Kopf-Hals-Tumoren erlauben, ohne die Normalgewebstoxizität zu erhöhen. Ausgehend von den im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Signalnetzwerken der Strahlenantwort werden Zellkultur- und Tiermodelle zur Charakterisierung der Signalwege, zur systembiologischen Modellierung der Netzwerke und zur Validierung identifizierter Netzwerkpräsentanten eingesetzt. Die gewonnenen Hypothesen werden in translationalen Studien an Tumor- und Normalgewebeproben von Patientenkollektiven untersucht, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind.

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

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

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

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

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des Projektpartners LMU zu AP1 - 4 dargestellt: Die im Rahmen des vorliegenden Projekts etablierten Nachweismethoden der HPV-Assoziation von HNSCC-Tumoren wurden mit denen der DTKT-ROG-Forschergruppe verglichen und erfolgreich publiziert (Linge et al. Radiother Oncol 2017).

Die wissenschaftliche PostDoc-Mitarbeiterin, die bisher dieses Projekt bearbeitet hat, hat zum 01.07.2017 die Leitung des strahlenbiologischen Labors in der Klinik für Strahlentherapie der Philipps-Universität in Marburg übernommen. Im Sinne des Kompetenzerhalts und der Nachwuchsförderung darf dies als wichtiger Erfolg von ZiSS und ZiSStrans gewertet werden. Wir haben mittlerweile über 15 Kandidatinnen und Kandidaten für die Nachbesetzung interviewt, und sind aktuell dabei, in der engeren Auswahl eine endgültige Entscheidung zu treffen. Dieser Auswahlprozess hat deutlich mehr Zeit als geplant in Anspruch genommen. Von daher ist leider eine Verzögerung von ca. 9 Monaten in der Projektbearbeitung eingetreten.

Sonstiges:

Das Kickoff-Treffen des Verbundes wurde am 7./8. November 2017 in Oberschleißheim (Organisation Team HMGU) abgehalten. Für den Projektpartner LMU hat Kirsten Lauber teilgenommen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Sobald ein wissenschaftlicher PostDoc-Mitarbeiter (m/w) gefunden ist, wird das Projekt wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet.

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

Linge A., Schötz U., Löck S., Lohaus F., von Neubeck C., Gudziol V., Nowak A., Tinhofer I., Budach V., Sak A., Stuschke M., Balermipas P., Rödel C., Bunea H., Grosu A.L., Abdollahi A., Debus J., Ganswindt U., Lauber K., Pigorsch S., Combs S.E., Mönnich D., Zips D., Baretton G.B., Buchholz F., Krause M., Belka C., Baumann M.; DTKT-ROG.: Comparison of detection methods for HPV status as a prognostic marker for loco-regional control after radiochemotherapy in patients with HNSCC. Radiother Oncol. 2017 Dec 30. pii: S0167-8140(17)32762-7. doi: 10.1016/j.radonc.2017.12.007. [Epub ahead of print]

<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 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 739.080,00 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 Netzwerkpräsentanten eingesetzt. Die gewonnenen Hypothesen werden in translationalen Studien an Tumor- und Normalgewebeproben von Patientenkollektiven untersucht, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind.

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

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

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des IFZ zu AP1 - 4 vorgestellt.

Um den zeitlichen Verlauf der im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Strahlungs-induzierten SASP-Faktoren zu erfassen und darüber hinaus übergeordnete Netzwerkknotenpunkte zu identifizieren, wurden neue murine Pneumonitis-Proben (Thoraxbestrahlung mit 15Gy) einer Zeitreihe (0-21d) generiert und die RNA (Gesamtlungen-Homogenate) extrahiert. Die ex vivo Proben aus diesen Versuchen wurden für die mRNA Mircoarray-Analysen an den Partner HMGU weitergegeben (zur Identifizierung übergeordneter Knotenpunkte). Die Quantifizierung der Expressionslevel bereits identifizierter und relevanter Strahlungs-induzierten SASP-Faktoren mittels Real-Time PCR ist Gegenstand aktueller Untersuchungen (Erfassung des zeitlichen Verlaufs der Expression).

Weiterhin wurden die Versuchsserien zum Einfluss der Inhibition eines SASP Faktors mit immunmodulierenden Eigenschaften auf strahleninduzierte Lungenschäden fortgeführt und der erforderliche Tierversuchsantrag zur Bestimmung der Effekte des Inhibitors auf das Tumorstadium und die Tumorradiosensitivität gestellt. Derzeit erfolgt die weitere Auswertung der Gewebeproben. Ebenso werden die Effekte einer potentiell radiosensibilisierenden Substanz, die im Mausmodell bei einzelnen HNSCC-Tumorzellen bereits erfolgreich getestet wurde, derzeit auf mögliche Toxizitätsfördernde bzw. protektive Eigenschaften in unserem Mausmodell zur Normalgewebsreaktion getestet (laufender Versuch).

Vom Projektpartner Freiburg (UKF) wurden Speichelproben (Zellpellets und Speichelüberstand) von gesunden Kontrollpatienten erhalten. Hier wird derzeit getestet, ob sich aus den so erhaltenen Pellets noch qualitativ hochwertige RNA extrahieren lässt, die zur Überprüfung relevanter Strahlungs-induzierter Faktoren herangezogen werden kann (als Vorbereitung zur späteren Untersuchung an Proben aus Studienpatienten mit einer frühen und späten Mukositisreaktion). Außerdem wurde begonnen Ausstriche dieser Proben immunhistologisch auf das Vorhandensein bestimmter Immunzellpopulationen zu untersuchen; hierzu müssen die in den murinen Proben etablierten Methoden auf das humane System übertragen werden. Dies ist Gegenstand aktueller Arbeiten.

Die bislang im Projekt beschäftigte Post Doc Frau Dr. deLeve befindet sich seit dem 7.7.2017 in Mutterschutz/Elternzeit und hat im August eine gesunde Tochter zur Welt gebracht. Um Verzögerungen zu vermeiden wird sie in Abstimmung mit dem BMBF von Frau Dr. Alina Meyer vertreten; diese konnte am 14.11.2017 erfolgreich ihre Promotion abschließen. Als naturwissenschaftliche Doktorandin (Arbeitsgruppenübergreifende Doktorandenausbildung mit der LMU) hat Frau Christine Hansel (MSc Medizinische Biologie) zum 01.10.2017 ihre Arbeiten aufgenommen und sich bereits erfolgreich u. a. auch mit Unterstützung von Frau Dr. Alina Meyer in verschiedene für das Projekt erforderliche Methoden eingearbeitet.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes ZISStrans fand am 07./08. November am HMGU in München als Kickoff-Meeting statt. Für das IFZ nahmen V. Jendrossek und D. Klein teil.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ergebnisse aus dem Verbund wurden auf der ERRS-GBS Tagung in Essen u. a. von Prof. V. Jendrossek und PD Dr. D. Klein im Rahmen von Vorträgen vorgestellt (19. - 21.9.2017).

Die Nachwuchswissenschaftlerinnen aus dem Projekt konnten an einem „Young Investigator Workshop“ zum Thema Karriereplanung teilnehmen (Dr. Simone deLeve; Alina Meyer).

<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 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 582.708,00 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

In der vorausgegangenen Berichtsperiode wurde ein Netzwerkmodell des besonders interessanten AKT/PI3K-Signalwegs zusammengestellt. Um dieses Netzwerk quantitativ zu untersuchen, sind detaillierte quantitative Experimente nötig, und daher wurden Assays zur Quantifizierung des Signalnetzwerks etabliert. Da in Experimenten mit erhältlichen Assays eines Herstellers, der als einziger Bead-basierte ELISAS zur Messung des Signalnetzwerks der PI3K/AKT/mTOR-Signalknoten ready-made anbietet, keine überzeugenden Daten generiert werden konnten, wurden alternative Assays (Bead-basierte ELISAS) zusammen mit einem alternativen Hersteller entwickelt und getestet. Intensive Tests mit verschiedenen Lysaten zeigten überzeugende Daten insbesondere für Akt (T308), GSK3a/b (S21/S9), P70S6K (T389), RPS6 (S235/S236), PRAS40 (T246). Damit konnten nun Assays zur detaillierten Charakterisierung und quantitativen Messung dieses Markernetzwerks etabliert werden.

Weiterhin wurde eine Modellierungssoftware (STASNet) zur Modellgenerierung aus Perturbationsmessungen fertig gestellt und zur Publikation eingereicht (als Preprint bei BioArxiv unter <https://doi.org/10.1101/243600> erhältlich). Diese Modellierungssoftware wurde anhand von Daten des EGFR/AKT/PI3K Signalnetzwerkes von isogenen Zelllinien getestet und validiert.

Die Zytokine aus den Proben der AG Lauber (LMU) wurden mit Hilfe der Luminex-Technologie gemessen und anhand von Standards modelliert. Die Daten wurden an die AG Lauber gegeben.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Als nächstes sollen Signalnetzmodelle für resistente und sensitive Klone generiert werden. Dazu findet Anfang 2018 ein Treffen mit der AG Unger in Berlin statt, um die weitergehenden Perturbationsexperimente zur Charakterisierung der Signalnetzwerke, der quantitativen Messungen und der Modellierungen zu planen und zeitnah durchzuführen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Preprint der Modellierungspipeline wurde bei BioRxiv hinterlegt:  
<https://doi.org/10.1101/243600>

<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 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 611.208,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Henke	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Fortsetzungsprojekt ZiSStrans strebt an, die Ergebnisse aus ZiSS für weiterführende Experimente unmittelbar zu nutzen. In ihm werden in den einzelnen Arbeitspaketen die identifizierten Signalwege, die mit der Seneszenz, dem Zellzyklus, dem Immunsystem und dem PI3K/Akt Signalweg in Verbindung stehen, ihre systembiologische und funktionelle Charakterisierung und Deregulation in Gewebeproben validiert. Ferner werden eine weitere Datenanalyse und zusätzliche experimentelle Daten dazu führen, neue Knotenpunkte und Repräsentanten in den Netzwerken der Strahlenantwort nachzuweisen. Im Fortsetzungsprojekt werden daher sowohl Zellkulturmodelle zur Charakterisierung der Signalwege und zur systembiologischen Modellierung der Netzwerke als auch klinische Gewebeproben von Patientenkollektiven, die durch klinische Endpunkte hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind, 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 nicht vorgesehen.

Arbeiten des UKF in AP3:

Es wurde ein Patientenkollektiv mit klinischen Endpunkten der Strahlenempfindlichkeit zur retrospektiven Validierung von Netzwerken und Markern identifiziert. Es wurde eine Kurzzeitkultur von Normalgewebe mit anschließender in vitro Bestrahlung zur Validierung von Netzwerken der Strahlenantwort etabliert.

Anschließend wurde ein gemeinsames Laborprotokoll für die Weiterverarbeitung des Zellkulturmodells mit den Projektpartnern erarbeitet, welches die Validierung von Netzwerken der Strahlenantwort an den jeweiligen Partnerstandorten ermöglicht. Die Etablierung des Protokolls im Labor Freiburg wurde an Probandenmaterial durchgeführt und das Biomaterial wird den Partnerstandorten CUB, HMGU, LMU, BfS und IFZ zur Verfügung gestellt.

Speichelpelletts von 10 Probanden wurden zur Etablierung der Tests an den Partnerstandort IFZ versandt.

Arbeiten des UKF in AP4:

Die Validierung der Biomarker aus AP1 - AP3 wird in einem breiten Patientenkollektiv prospektiv validiert. Es wurde für die Erfassung und Sammlung klinischer Daten und Proben ein klinisches Protokoll erstellt.

Nach positivem Ethikvotum wurden bisher 20 Patienten in die klinische Studie rekrutiert, klinische Daten erfasst und Biomaterialien asserviert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

- Speichelproben, Serumproben und Tumorproben sowie klinische Endpunkte des identifizierten Patientenkollektivs werden in Kooperation mit IFZ, BfS und HMGU bearbeitet
- Die Kurzzeit-Gewebekultur wird in Kooperation mit den Projektpartnern optimiert, um für jeweilige Untersuchungen Protokolle zu erstellen und Proben aufzubereiten
- Insbesondere werden weiterhin Patienten rekrutiert und Biomaterialien asserviert
- Zur Datenakquisition und Optimierung der klinischen Abläufe und damit in Zusammenarbeit mit dem Studienzentrum des Universitätsklinikums eine remote-data-entry Datenbank erstellt

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 048A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.05.2017 bis 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 819.068,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Wollschläger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018.

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Vorbereitende Aktivitäten (AP1-AP3):

Positives Votum der Ethik-Kommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz liegt vor. Abstimmung des Datenschutzkonzeptes mit dem Beauftragten für den Datenschutz des Universitätsklinikums Mainz ist erfolgt. Noch ausstehend: Votum des Landesdatenschützers Rheinland-Pfalz.

- AP1: Anpassung der Erhebungsinstrumente (Musteranschreiben an Einwohnermeldeämter, Gesundheitsämter)
- AP2a: Anpassung der Erhebungsinstrumente (Fragebogen, Patientinnen-Information, Einverständniserklärung)
- AP2b: Absprachen mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz und Entwicklung von SOPs zum Abgleich der ES-KaRa-Kohorte mit den Daten des Registers
- AP3: - Überarbeitung des PASSOS Herzatlas (Struktur His-Bündel/AV-Knoten)  
 - Erstellung von Listen bereits namentlich bekannter Fallpersonen aus Mainz und Ulm zur Akquise der elektronischen Daten zur Strahlentherapieplanung  
 - Geschichtete zufällige Ziehung von jeweils 2 gematchten Kontrollpersonen für jede Fallperson aus Mainz und Ulm nach dem Incidence-Density-Sampling Verfahren  
 - Entwicklung eines standardisierten Verfahrens zum Privacy Preserving Record Linkage zur Identifikation der die Strahlentherapie durchführenden Klinik bei Patientinnen mit Primärtherapie in einer Ulmer Netzwerkklinik. Testläufe des Record Linkage in Mainz und Ulm  
 - Entwicklung von SOPs zur Akquise elektronischer Daten zur Strahlentherapieplanung aus den Netzwerkkliniken in Absprache mit Ulmer Kooperationspartner: Aufsetzen und Test einer Online-Plattform zum Austausch von DICOM-Dateien zur Bildgebung und Strahlentherapie  
 - Einstellung und Einarbeitung eines Medizinphysikers in Ulm zum 01.09.2017  
 - Einstellung eines Medizinphysikers in Mainz zum 15.10.2017 sowie einer MTRA in Mainz zum 01.01.2018  
 - Start der Herzkonturierung nach dem PASSOS Herzatlas inkl. der Erfassung von technischen Parametern der Strahlentherapie für Fälle und Kontrollen in Mainz und Ulm

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Abschluss der Vorarbeiten: Einreichung des Datenschutzkonzeptes beim Beauftragten für den Datenschutz Rheinland-Pfalz sowie beim Beauftragten für den Datenschutz der Universitätsmedizin Mainz. Einholung eines Votums der Ethik-Kommission.

- AP1: Follow up: Start Juli 2018. Einrichten einer Projekt-Webseite zur Außendarstellung gegenüber Studienteilnehmerinnen und an der Datenerhebung beteiligten Kliniken
- AP2a: Start Mitte 2019 nach Abschluss von AP1
- AP2b: Einholung des Votums des Landesbeauftragten für den Datenschutz in Rheinland-Pfalz sowie Genehmigung der Aufsichtsbehörde des Krebsregisters Rheinland-Pfalz (Ministerium für Arbeit, Soziales, Gesundheit, Frauen und Familie). Sondierungsgespräche: Klinisches Krebsregister Baden-Württemberg, CCC Ulm.
- AP3: Record Linkage zwischen Netzwerkklinik-Gynäkologien und Strahlentherapie-Kliniken im Umland von Ulm mit anschließender Rekrutierung der Strahlentherapiepatienten für Fälle und Kontrollen mit Primärtherapie in einer Netzwerkklinik. Fortsetzung der Dosimetrie für Fälle und Kontrollen mit Primärtherapie in Mainz und Ulm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 048B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.05.2017 bis 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 270.727,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wiegel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP1+2: Ein positives Folge-Ethikvotum in Ulm wurde eingeholt und liegt seit dem 13.12.2017 vor. Einstellung einer medizinischen Dokumentarin ab 03/18 in der Frauenklinik Ulm zur Vorbereitung und Durchführung des Mortalitäts-FU und des Fragebogensurveys.

AP3: Patientenliste entsprechend Fall-Kontroll-Design in Studienzentrale Mainz selektiert und von Gynäkologie Ulm de-anonymisiert an Strahlentherapie übermittelt. CTs mit Behandlungsplänen von Originaldatenträgern (Tape/CD) auf Server übertragen. Datentransformation für Segmentierung in aktueller Planungssoftware ECLIPSE. Herz mit Teilstrukturen (Myokard, linke/rechte Herzvorderwand, Aortenklappe, Pulmonalklappe, Reizleitungssystem) für 150 Patienten konturiert und Dosisvolumenhistogramme erstellt. Dokumentation zugehöriger Fall- und Behandlungsdaten in ESKaRa-spezifischem Standard-Format. Konturierung von CT-Serien im Rahmen des Inter-Observer-Vergleichs/PASSOS-Herzatlas. Verschlüsselung der Patientenkennung zum Abgleich zwischen Gynäkologie- und Strahlentherapie-Patienten bei Studienzentrale Mainz.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

AP1+2: Vorbereitung des Mortalitäts-FU. Prüfung wie viele PASSOS-Fragebögen 2014 verschickt wurden, wie der genaue Rücklauf war und von wie vielen Studienteilnehmerinnen die Einwilligung zu einer erneuten Befragung vorliegt.

AP3: Fortsetzung der Konturierung/Dokumentation von Index- und Kontrollfällen. Pseudonymisierte Archivierung der CTs mit Behandlungsplänen und re-konturierten Herzstrukturen.

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

Keine.

<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 31.12.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 596.000,00 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: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/ mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapie, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1:

Der erste und somit bestimmende Schritt für eine erfolgreiche Differenzierung von hESZ in Neurone ist die reproduzierbare Bildung neuraler Stammzellen (NSZ). Zur Optimierung der neuralen Differenzierung wurden die Protokolle nach Y. Yan et al. (Stem Cells Translational Medicine 2(11), 2013, 862-870), Z. Yao et al. (Cell Stem Cell 20 (1), 2016, 120-134) und L. Zhang et al. (Neuroscience 337, 2016, 88-97) hinsichtlich der Effizienz zur Generierung von hESZ-abgeleiteten NSZ verglichen. Dabei konnte gezeigt werden, dass sich das Protokoll von Yao et al. in diesem Fall nicht zur neuralen Differenzierung von hESZ eignet, da die Zellen während der frühen neuralen Differenzierung abstarben. Innerhalb der Differenzierungsansätze nach Yan et al. und Zhang et al., ließ sich in den generierten NSZ-Linien eine große Variabilität aufzeigen, welche in den durchgeführten RNA- und Proteinanalysen ersichtlich war. Darüber hinaus konnten mittels der Multicolour-Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (mFISH) und durch eine Antikörperfärbung gegen  $\gamma$ -H2AX gezeigt werden, dass die generierten NSZ eine hohe Zahl an Doppelstrangbrüchen und anderen Aberrationen und somit keinen stabilen Karyotyp aufweisen. Aus diesen Gründen sind die generierten NSZ nicht als Basis zur Etablierung eines adäquaten neuronalen *in vitro* Modells geeignet. Hinsichtlich der Proteinexpression des neuralen Markers PAX6 konnte, nach der Optimierung der hESZ-Kultivierung, in den nach Zhang et al. generierten NSZ eine Verbesserung im Vergleich zu den nach Yan et al. generierten NSZ festgestellt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

In einem auf der Jahrestagung der Society for Neuroscience im November 2017 in Washington DC hergestellten Kontakt zum Verbundprojekt HiPSTAR (BMBF - Richtlinie zur Förderung innovativer Stammzelltechnologien für die individualisierte Medizin) wurden neue Strategien zur Generierung von neuralen Rosetten (neurale Vorläuferzellen, die dem Neuralrohr ähneln) diskutiert und diese sollen nun implementiert werden. Des Weiteren sollen zwei Protokolle zur Differenzierung der Zellen aus den neuralen Rosetten zu funktionalen Neuronen entwickelt werden. Ein Protokoll soll die 2D Differenzierung in kortikale Neurone umfassen, um einen erleichterten Transfer auf das MEA-System zu gewährleisten, während der zweite Ansatz die Bildung von 3D Strukturen (Organoide) beinhaltet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Bericht zur Projektarbeit „Optimierung der Differenzierung von humanen embryonalen Stammzellen in neurale Vorläuferzellen“ (Modul 18) im Masterstudiengang Biologie der Johannes Gutenberg Universität Mainz von Celine Schielke.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule für angewandte Wissenschaften - Fachhochschule 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 31.12.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2017
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 389.735,00 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: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/ mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapie, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Fokus der im Berichtszeitraum durchgeführten Experimente stand die Etablierung neuer Methoden, die in das Projekt eingebunden werden sollen.

Um die Funktionalität der Organoid Kulturen besser charakterisieren zu können, sollen die üblicherweise verwendeten MEA Chips, die neun bis sechzig Elektroden besitzen, durch CMOS-basierte sogenannte *highdensity* MEAs (HDMEA) mit einigen tausend Elektroden ersetzt werden. Dies ermöglicht es die elektrophysiologische Aktivität von Zellkulturen mit einer höheren örtlichen und zeitlichen Auflösung zu untersuchen. In den letzten Monaten wurde das dafür benötigte Messsystem im *BioMEMS* Labor in Betrieb genommen und die ersten Vorversuche durchgeführt. Dabei wurden erfolgreich Protokolle etabliert um humane, aus iPSC abgeleitete Kardiomyozyten sowie kortikale Neurone aus der Ratte auf den HDMEAs zu kultivieren. Dabei zeigte sich ein gutes Adhäsionsverhalten der Zellen auf dem Elektrodenfeld. Von den Kardiomyozyten konnten bereits die ersten elektrischen Signale detektiert werden.

Eine Möglichkeit um 3D-Zellkulturen zuverlässig und reproduzierbar herzustellen ist die Verwendung eines Bioprinters. Hiermit können die Kulturen automatisiert und hochgenau auf die MEA Chips gedruckt werden. Ein solcher Bioprinter wurde Ende letzten Jahres im *BioMEMS* Labor in Betrieb genommen. In ersten Vorversuchen wurden sowohl HEK Zellen, als auch auf hESC basierende Neurosphären in geeigneter Biotinte vermengt und in einer mäanderförmigen Struktur gedruckt. Mithilfe einer Lebend-Tod-Färbung (durchgeführt mit DAPI und *CellTracker green*) wurde nachgewiesen, dass die Zellen den Druckprozess überleben.

Des Weiteren wurde die Software Metamorph mit dem dazugehörigen *Neurite outgrowth* Modul erworben. Diese Software wird in den kommenden Experimenten dazu eingesetzt, um mögliche Strahlen- und/oder Medikamenteneinwirkungen auf das Auswachsen der Neurite zu erfassen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Es ist geplant die Versuche mit neuronalen Zellen auf den HDMEAs fortzuführen. Nach erfolgreicher Detektion der elektrischen Signale von den kortikalen Neuronen aus der Ratte, sollen Protokolle zur Kultivierung dreidimensionaler Zellkulturmodelle auf den HDMEAs etabliert werden. Neben den Kultivierungsprotokollen müssen auch die Algorithmen zur Datenanalyse an das neue Messsystem angepasst werden.

Des Weiteren soll das Protokoll zum Druck neuronaler Zellen mithilfe des Bioprinters optimiert werden. Hierbei sollen einerseits intakte Neurosphären und andererseits dissoziierte Neurone zum Einsatz kommen. Die Vitalität der gedruckten Zellen wird mittels einer DAPI/CellTracker green und die Morphologie durch eine MAP2 Immunfluoreszenz Färbung überprüft.

Ferner soll die Software Metamorph und das dazugehörige *Neurite outgrowth* Modul etabliert werden. Erste Vorversuche sollen mit kortikalen Neuronen aus der Ratte sowie mit auf hESC basierenden Neurosphären durchgeführt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Mayer M., Arrizabalaga O., Lieb F., Ciba M., Ritter S. and Thielemann C.: Electrophysiological investigation of human embryonic stem cell derived neurospheres using a novel spike detection algorithm, *Biosensor and Bioelectronics*, Volume 100, p. 462-468, 2018

Mayer M.: Einfluss ionisierender Strahlung auf die elektrophysiologischen Eigenschaften sich entwickelnder neuronaler Netzwerke, Dissertation TU Darmstadt, 2017

<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 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.08.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.944.335,00 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 Photonen- 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: Es wurden umfangreiche Messungen zur Löslichkeit und Diffusion unter anderem in unterschiedlichen Fettsäuren durchgeführt und fortgesetzt. Diese wurden mit molekular-dynamischen Rechnungen aus der Arbeitsgruppe von Prof. Drossel (TU Darmstadt) verglichen und werden nun für eine Publikation vorbereitet. Eine Publikation zur Bestimmung der Radondiffusion in unterschiedlichen Materialien wurde vom Journal „Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B“ zur Veröffentlichung akzeptiert. In der Radonkammer wurden Zellkultur- und ein Tierexperiment erfolgreich durchgeführt. Die Alpha-Bestrahlungsvorrichtung wurde verbessert, so dass sie nun für mehr Nutzer zur Verfügung steht. Hierzu ist eine Publikation (technical report) in Vorbereitung. Zur Weiterführung der Lungen-Experimente konnte eine neue Doktorandin gewonnen werden. Geplanter Arbeitsbeginn ist 02/2018.
- AP3: Es wurden Chromosomenschäden (dizentrische Chromosomen, dic) in Lymphozyten von Niedrigdosis-Strahlentherapie-Patienten (IMMO-LDRT Studie) mittels semiautomatischer Analyse bestimmt. Bisher wurden Proben von 6 Patienten ausgewertet, wobei insgesamt 10.000 Zellen vor Therapie und 30.000 Zellen nach Therapie analysiert wurden. Die Aberrationsrate lag vor Therapie bei  $0,103 \pm 0,031$  und danach bei  $0,155 \pm 0,022$  dic pro 100 Zellen. Die Auswertung des ersten in vitro Radon-Experiments (humane Lymphozyten,  $\approx 500$  kBq/m<sup>3</sup>, 1 h) zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontrolle und Radon-exponierter Probe ( $0,070 \pm 0,018$  vs.  $0,093 \pm 0,021$ , jeweils 20.000 analysierte Metaphasen). Es wurde ein weiteres Radon-Experiment (3h Expositionsdauer) durchgeführt. Erste Versuche mit humanen Bronchialepithelzellen wurden vorbereitet.
- AP4: Nach einer Zeit mit Zuchtproblemen konnte wieder ein Experiment mit hTNF $\alpha$ -tg Mäusen in der Radonkammer und anschließender Immunphänotypisierung durchgeführt werden. Außerdem wurden weitere Gewebeproben (Gelenke) genommen, um eine morphologische Auswertung zu erhalten. Die Daten zur Strahlenantwort von Adipozyten wurden vervollständigt, um zur Publikationsreife zu gelangen. Ein erstes Experiment zur Proteom-Analyse von Adipozyten wurde durchgeführt, mit der bioinformatischen Auswertung wurde begonnen. Darüber hinaus wurde eine Kooperation gestartet mit dem Zweck, eine ergänzende Transkriptom-Analyse von Adipozyten durchzuführen. Die IMMO-LDRT Studie läuft weiterhin; die Abläufe zu Probenahme und Kultivierung wurden z. B. hinsichtlich der Serumauswahl optimiert. Serumproben zur Bestimmung von Adipokinen und Knochenmetabolismus-Markern werden weiter gesammelt und aufgearbeitet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Messungen zur Diffusion und Löslichkeit von Radon sollen in verschiedenen Materialien fortgeführt werden. Die bisherigen Ergebnisse sollen mit den Ergebnissen der theoretischen Berechnungen von Prof. Drossel publiziert werden. Die neue Doktorandin soll eingearbeitet werden und erste Vorarbeiten zur Verbesserung des Lungenmodells durchgeführt werden. Die Publikation zur Alphabestrahlungsvorrichtung soll eingereicht werden.
- AP3: Die Analyse von dic in Blutproben der LDRT-Patienten wird fortgesetzt. Das Radonexperiment (3h Expositionszeit) wird ausgewertet. Die erstellte Röntgen-Kalibrationskurve soll um einen weiteren Niedrigdosis-Punkt (0,01 Gy) ergänzt werden. Weiterhin sind erste Versuche mit humanen Bronchialepithelzellen geplant.
- AP4: Die Experimente mit hTNF $\alpha$ -tg Mäusen in der Radonkammer werden weitergeführt, wie es die Zucht erlaubt. Die im letzten Experiment genommenen Proben werden aufgearbeitet. Ein neuer Tierversuchsantrag wird in Zusammenarbeit mit AP5 eingereicht, in dem auch das Serum-Transfer-Mausmodell beantragt wird. Die Strahlenantwort der Präadipozyten mittels Transkriptom- und Proteom-Analyse wird weiterverfolgt. Die Untersuchungen zur Funktionalität von Adipozyten nach Bestrahlung werden vorbereitet, um die Daten zur Strahlenantwort von Adipozyten zu ergänzen. Eine Ko-Kultivierung oder organotypische Kultivierung von Gewebe aus dem Kniegelenk von Patienten sowie Charakterisierung der Zelltypen in Proben aus Synovialflüssigkeit werden in Kooperation mit Prof. Rehart (Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) etabliert, um die Beteiligung verschiedener Zelltypen an der Adipokin- bzw. Zytokinfreisetzung nach Bestrahlung zu ermitteln. Das Sammeln und Auswerten der Proben der IMMO-LDRT-Patienten läuft weiter bis zur geplanten Fallzahl. Die RAD-ON02 Studie in Zusammenarbeit mit AP5 wird vorbereitet für das 2. Halbjahr 2018.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

4 Poster bei GBS/ERRS 2017, Essen, Germany, September 2017

<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 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.08.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 588.971,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWISalpha soll die genetische und die entzündungshemmende Wirkung von dicht ionisierender Strahlung, insbesondere von Radon untersucht werden. Die hier vorgeschlagene interaktive Forschungsarbeit wird zu einem besseren Verständnis der Wirkung von Radon beitragen und die Auseinandersetzung von jungen Wissenschaftlern mit den vielseitigen Aspekten der Radon-Problematik fördern. Wir erwarten wichtige Erkenntnisse für den Strahlenschutz von langlebigen radioaktiven Isotopen und Verbesserungen in der therapeutischen Anwendung von Radon und der niedrig-dosierten Strahlentherapie nicht maligner Erkrankungen gewinnen zu können. Neben Röntgen- und  $\alpha$ -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

Im Berichtszeitraum wurden die Planungen für einen Tierversuchsantrag konkretisiert und durch zusätzliche Treffen mit den anderen Projektpartnern (besonders AP1) abgestimmt. Darüber hinaus wurden weitere Gewebeschnitte der Lunge aus dem letzten, im Rahmen des Vorgängerprojektes GREWIS, durchgeführten Tierversuch ausgewertet. In diesem sollte untersucht werden, welchen Einfluss Radikale auf die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen haben. Für die Studien von GREWIS-alpha wurden bereits in diesem Versuch zusätzlich Mäuse zur Analyse des Einflusses von Radikalen auf die Reparatur mitgeführt.

Neben dem bekannten Effekt von Radikalen auf die Induktion von DSBs konnte in Grudzenski *et al.* (veröffentlicht in PNAS 2010) gezeigt werden, dass das Radikallevel innerhalb der Zelle zusätzlich einen entscheidenden Einfluss auf die Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlen hat. Da in tierexperimentellen Studien keine radikalinduzierenden Substanzen eingesetzt werden konnten, wurden die Mäuse mit dem Radikalfänger N-Acetylcystein (NAC) behandelt. NAC kann Radikale in der Zelle abfangen und damit "unschädlich" machen. Wenn Radikale tatsächlich entscheidend für eine effiziente Reparatur sind, würde man entsprechend unserer Hypothese aus Grudzenski *et al.* eine verschlechterte Reparatureffizienz erwarten.

Für den Versuch wurden die Mäuse, angelehnt an andere tierexperimentelle Studien, über 14 Tage mit 40 mM NAC im Trinkwasser behandelt. Eine Kontrollgruppe von Mäusen erhielt über den gleichen Zeitraum normales Trinkwasser. Zur Untersuchung der DSB-Induktion wurden die Mäuse mit 20 mGy Röntgenstrahlung bestrahlt und 15 min bzw. 24 h nach der Bestrahlung zur Organentnahme getötet. Eine unbestrahlte Gruppe von NAC-behandelten Mäusen bzw. von Mäusen aus der Kontrollgruppe wurde entsprechend behandelt und diente der Analyse der spontan auftretenden DSBs im jeweiligen Gewebe. Zur Analyse der DSB-Induktion und vor allem deren Reparatur wurden zunächst Gewebeschnitte der Lunge angefertigt, da diese im natürlichen Kontakt zum Luftsauerstoff steht und möglicherweise daher auch einen höheren Radikalstress aufweist. Die Gewebeschnitte wurden zur Analyse der DSBs gegen 53BP1 gefärbt und die resultierenden Foci in den Bronchialepithelzellen der Lunge quantifiziert. Die Quantifizierung der Foci zur Analyse der DSB-Induktion zeigte eine verringerte Anzahl der Foci in den NAC-behandelten Mäusen im Vergleich zu unbehandelten Mäusen nach Bestrahlung. Dieses Ergebnis bestätigt damit die erste Auswertung aus der Lunge von einer Maus (von insgesamt 3 Mäusen pro Zeitpunkt und pro Behandlungsgruppe), die noch im Rahmen von GREWIS durchgeführt wurde. Darüber hinaus wurde eine geringfügig jedoch nicht signifikant verschlechterte Reparatur in den NAC-behandelten Mäusen festgestellt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Quantifizierung der 53BP1-Foci in der Lunge soll durch die Analyse weiterer Organe vervollständigt werden. Diese weiterführende Analyse anderer Organe wird zeigen, ob NAC einen Effekt auf die Reparatur in anderen Organen hat, deren endogener Radikalstress vermutlich niedriger ist als in der Lunge.

### 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 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.08.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 398.280,00 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**

Die beiden Stellen für dieses Arbeitsprojekt wurden zur Bewerbung ausgeschrieben und ab dem 01.09.2017 mit Frau Dominique Tandl (G. Thiel) und ab 01.10.2017 mit Frau Juliane Joswig (B. Laube) besetzt. Im ersten Berichtszeitraum wurden Methoden entwickelt, um in naiven T-Zellen mittels FACS-Analyse die strahleninduzierte Oberflächenexpression von spezifischen Rezeptoren zu detektieren und zu quantifizieren. Diese Arbeiten ergänzen Daten aus klassischen Westernblot-Analysen. In parallelen Experimenten wurden fluoreszenzmikroskopische Methoden angepasst, die es erlauben, eine strahleninduzierte Oszillation von cytosolischem  $\text{Ca}^{2+}$  in T-Zellen zu messen. Um die komplexen Zeitreihen der  $\text{Ca}^{2+}$  Oszillationen zu quantifizieren, werden zurzeit analytische Methoden entwickelt, die eine Quantifizierung dieser Signale ermöglichen. Des Weiteren wurde begonnen, differenzierte J1-NSCs zu Neuronen und Astrozyten elektrophysiologisch zu charakterisieren und auf  $\text{O}_2$ -beschichteten Mylar-Folien wachsen zu lassen, um die Wirkung von Strahlung auf Neurone zu analysieren.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die FACS-Analysen sind Teil einer Revision einer Publikation, die in dem Vorläuferprojekt GREWIS entstanden ist und in den kommenden Wochen wieder an das Journal zurückgeschickt werden soll. Die Arbeiten dienen gleichzeitig der Etablierung der FACS-Analyse im Labor; diese Messungen werden für ähnliche Experimente im laufenden Projekt benötigt. Sobald die Werkzeuge für eine robuste Datenanalyse der strahleninduzierten  $\text{Ca}^{2+}$ -Oszillationen in T-Zellen einsetzbar sind, werden die schon vorhandenen Messungen analysiert. Die Auswertung dieser Daten wird die Auslegung der folgenden Experimente inspirieren. Im Fokus der Arbeiten wird die Frage stehen, über welche Zwischenschritte Strahlung zu einer verzögerten  $\text{Ca}^{2+}$ -Oszillation führt und welche zellulären Reaktionen durch die Frequenzen der Oszillationen ausgelöst werden. In den nächsten Monaten werden Neurone mit Alpha-Quellen und Röntgenstrahlen behandelt und elektrophysiologisch charakterisiert. Des Weiteren soll die Neuroblastozelllinie ND7-23 etabliert werden, um alternativ zu den differenzierten J1-NSCs den Einfluss von Strahlung zu untersuchen und um Radon-spezifische Effekte zu erarbeiten.

### **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 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.08.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 405.538,00 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. benigner Erkrankungen eingesetzt. Die ursächlichen Mechanismen, die zur antientzündlichen Wirkung niedrig dosierter Strahlung führen, sind bislang jedoch nur unzureichend geklärt. Arbeiten unserer und anderer Arbeitsgruppen konnten jedoch in den letzten Jahren für viele Effekte eine nicht-lineare Dosis-Wirkungsbeziehung nach Röntgen- und Schwerionen-Bestrahlung beobachten, an der entscheidend reaktive Sauerstoffspezies (ROS) beteiligt sind. Diese werden in der Zelle hochpräzise durch antioxidative Enzyme reguliert und führen im Niedrigdosisbereich funktionell zu einer Minderung der Leukozytenadhäsion als einer wesentlichen Komponente der Inflammation. In Teilprojekt D werden als mögliche Regulatoren des oxidativen Systems und der ROS-Produktion in Endothelzellen und Leukozyten der Transkriptionsfaktor Nrf2 sowie micro(mi)RNAs nach Bestrahlung mit Photonen und mit dicht-ionisierenden Strahlenquellen *in vitro*, *in vivo* und in Patientenstudien in enger Kooperation mit AP1 (Maier & Kraft, GSI), AP4 (C. Fournier, GSI) und AP5 (U. Gaipl & B. Frey, UKER) untersucht.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Entsprechend der im Rahmen des Verbundprojektes GREWIS gewonnenen Erkenntnisse ist das Untersuchungsprogramm des Teilprojektes D (Arbeitspaket 6) wie folgt gegliedert:

Task 21: Der erste Themenkomplex beinhaltet Untersuchungen der Nrf2 Aktivität in Endothelzellen und Leukozyten nach Photonen- und Radon-Bestrahlung.

Task 22: Dieses Arbeitspaket befasst sich mit der Analyse von Nrf2 und dessen Targetgenen nach Bestrahlung von Subpopulationen muriner und humaner Lymphozyten.

Task 23: In diesem Themenkomplex sollen die *in vitro* gewonnenen molekularen Erkenntnisse über die differentielle Regulation der ROS-Produktion durch antioxidative Enzyme und miRNAs *in vivo* im Mausmodell sowie in Patientenstudien bestätigt werden.

Task 24: Gegenstand dieses Arbeitspaketes ist die Identifizierung der an der differentiellen Regulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen und der Leukozytenadhäsion beteiligten miRNAs mittels spezifischer miRNA Inhibitoren und Next Generation Sequencing (NGS).

Task 25: In weiteren funktionellen Analysen werden die anti-oxidativen Einflüsse auf die Lymphozyten-Adhäsion an Endothelzellen mittels Flow Chamber untersucht.

Task 26: Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Etablierung organotypischer Blutgefäß-Kulturen zur Messung von Lymphozyten-Adhäsion nach Niedrigdosisbestrahlung.



### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In den vorangegangenen Arbeiten im Rahmen des Verbundprojektes GREWIS konnten wir eine biphasische Regulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen und Lymphozyten sowohl nach Photonen- und Schwerionenbestrahlung im Bereich niedrig- und intermediär dosierter Strahlung nachweisen. Dabei konnte gezeigt werden, dass die antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Catalase sowohl nach Photonenbestrahlung als auch nach Bestrahlung mit dicht-ionisierender Strahlung in Endothelzellen und Leukozyten biphasisch reguliert werden. Dies resultierte wiederum in einer ebenfalls biphasischen Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und der Reparatur strahleninduzierter DNA-Doppelstrangbrüche. Als hauptsächlich verantwortlicher Transkriptionsfaktor für die differentielle Expression der antioxidativen Enzyme wurde Nrf2 identifiziert, dessen Aktivität durch die miRNA miR-27a nichtlinear in Endothelzellen reguliert war. Um die *in vitro* gewonnenen Erkenntnisse *in vivo* zu verifizieren wurde im vorliegenden Berichtszeitraum in enger Kooperation mit AP1, AP4 und AP5 in einem Vorversuch RNA aus Blut von mit Radon (430 kBq) bestrahlten und unbestrahlten hTNF $\alpha$ -transgenen Mäusen sowie aus bestrahlten und unbestrahlten C57Bl/6 Kontrollmäusen (n = 2 pro Gruppe) isoliert. Es konnte pro Maus ausreichend Blut (200  $\mu$ l) für die RNA-Präparation mit einer genügend hohen Konzentration für die Herstellung von cDNA mittels reverser Transkription gewonnen werden. Für die quantitative Messung der Expression der murinen antioxidativen Enzyme mSOD1, mGPx1 und mCatalase sowie des Transkriptionsfaktors mNrf2 wurden Publikationen nach für quantitative Real-Time PCR geeignete Primer- und Sondensequenzen durchsucht, geeignete Oligonukleotide synthetisiert und diese zunächst mittels semiquantitativer RT-PCR getestet. Für die Vergleichbarkeit der Real-Time PCR Messungen mittels Standardkurven wurden zudem mSOD1, mGPx1, mCatalase und mNrf2 PCR-Fragmente mittels TA-Klonierung in pCR2.1 inseriert. Zur Normierung wurde zudem ein Fragment des *House-Keeping* Gens mHPRT kloniert. Die Etablierung der Real-Time PCR zur Messung der murinen Enzyme und Faktoren mit Standardkurve wird im nächsten Berichtszeitraum erfolgen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

In weiterführenden Studien innerhalb des Verbundprojektes GREWISalpha werden die Aktivität, Expression und Regulation des antioxidativen Systems und des Transkriptionsfaktors Nrf2 nach Niedrigdosisbestrahlung mit Photonen und Radon durch miRNAs im Detail mittels Next Generation Sequencing (NGS) sowohl in Endothelzellen als auch in Leukozyten Subpopulationen untersucht werden (Task 21, 22, 24). Des Weiteren sollen die gewonnenen Erkenntnisse in funktionellen Adhäsionsexperimenten mittels Flow Chamber und organotypischen Blutgefäß-Kulturen, *in vivo* (Task 23, 25, 26) sowie in Patientenstudien (Task 23) nach Photonen und Radon Bestrahlung bestätigt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<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 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.08.2017 bis 31.12.2017	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 694.760,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Gaipl	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

Am 04.08.2017 hat die BLÄK auf Basis der neuen Rechtsgrundlage der RAD-ON02-Studie nach AMG ein erneutes positives Ethikvotum erteilt. Die RAD-ON02-Folgestudie wird im Rahmen von GREWISalpha somit 2018 starten können. Die neue Doktorandin, Frau Anna Donaubaue, wurde in die Immunphänotypisierungen (IPT) in Theorie und Praxis von der bis Ende Dezember 2017 auf dem Projekt arbeitenden Wissenschaftlerin mit Bachelorabschluss, Frau Alexandra Harrer, umfassend eingearbeitet. Die IPT von Patienten der IMMO-LDRT-01-Studie wurde fortgesetzt, wie auch detaillierte vergleichende Untersuchungen an Tumorpatienten innerhalb von Studien. Die Publikation zu den Zytokindaten aus der RAD-ON01-Studie wurde für das Einreichen bei *Biomed Res Int* begonnen umzuschreiben. Die Publikation „Impact of radon and combinatory radon/carbon dioxide spa on pain and hypertension: Results from the explorative RAD-ON01 study“ wurde fertiggestellt und bei *Modern Rheumatology* zur Begutachtung eingereicht. Im Rahmen der Untersuchungen an Tiermodellen wurde ein erster Versuch mit KRN Mäusen durchgeführt der den Einfluss der lokalen Röntgenstrahlung auf das periphere Immunsystem im Fokus hatte. Es zeigte sich, dass ähnlich zu den Daten aus der IMMO-LDRT-01-Patientenstudie, im peripheren Blut der Mäuse die B-Zellen leicht erniedrigt, die eosinophilen Granulozyten dagegen erhöht waren. Weiterhin wurden hTNF $\alpha$  tg und Wild-Typ Tiere in der Radonkammer exponiert (463 kBq/m<sup>3</sup> für 1 h) und ebenfalls eine Analyse der Immunzellen im peripheren Blut durchgeführt. Diese ersten Analysen mit jeweils 2 Tieren pro Gruppe geben Hinweise darauf, dass das Immunsystem in Abhängigkeit vom basalen Entzündungsstatus unterschiedlich durch Radon moduliert wird. Der *pit formation* Assay für die Untersuchungen des Knochenstoffwechsels wurde weiter optimiert und erste Untersuchungen durchgeführt. Auch wurden zwei zahnmedizinische Doktorarbeiten begonnen, die sich mit der weiteren Aufklärung der anti-entzündlichen Wirkmechanismen von Niedrigdosisstrahlenexposition beschäftigen. Ein besonderes Augenmerk liegt hierbei auf den *fibroblast-like synoviocytes* (FLS). Ein neuer Tierversuchsantrag, der auch das neue K/BxN Modell miteinschließt, wurde begonnen mit allen Projektpartnern abzustimmen, so dass möglichst viele Analysen mit den Biomaterial der Tiere zu mehreren Zeitpunkten nach Strahlungsexposition durchgeführt werden können.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Eine neue Wissenschaftlerin mit Bachelorabschluss wird ab Januar 2018 Frau Alexandra Harrer ersetzen und muss in die Immunphänotypisierungen eingearbeitet werden. Die Publikation „Reduced pain sensitivity following radon balneology correlates with temporarily increased TGF $\beta$  and lowered CD69 expression on peripheral T cells“ zu Daten aus der RAD-ON01-Studie soll fertiggestellt und bei *Biomed Res Int* eingereicht werden. Die Vorbereitungen für die RAD-ON02-Studie werden fortgesetzt und es ist ein Treffen beim Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit geplant. Die IPT innerhalb der IMMO-LDRT-01-Studie und der Vergleichsstudien werden fortgesetzt. Es sollen drei Abstracts mit GREWISalpha Daten für die DEGRO 2018 vorbereitet und eingereicht werden. Des Weiteren soll im Januar 2018 ein Treffen aller GREWISalpha-Projektpartner an der GSI stattfinden, um den/die Tierversuchsanträge abschließend abzustimmen. Ein zweiter Versuch mit lokaler Röntgenbestrahlung soll mit dem Serumtransfermodell durchgeführt werden. Hierbei soll erneut eine Immunphänotypisierung des Blutes sowie des Knochenmarks erfolgen. An Stelle von Pfotenschnitten soll diesmal RNA aus den Pfoten isoliert werden und mit Hilfe von qPCR auf Veränderungen in Entzündungsmarkern sowie im Knochenstoffwechsel in den bestrahlten vs. nicht bestrahlten Extremitäten untersucht werden, um die osteoimmunologischen Mechanismen im Detail besser aufklären zu können. Das Paper „Radiotherapy reduces synovial fibroblast proliferation and osteoclast differentiation exerting anti-inflammatory effects in arthritis“ soll fertiggestellt werden und bei *Frontiers in Immunology* eingereicht werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen



Keine.








### 3 Verzeichnis der Forschungsstellen

	<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg</b>	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	162
	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter</b>	
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	110
02 NUK 045B	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	148
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	154
	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin</b>	
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	160
	<b>Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade</b>	
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	116
	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich</b>	
02 NUK 039D	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	42
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	140
	<b>Framatome GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen</b>	
02 NUK 041C	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	30
	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen</b>	
02 NUK 017G	Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G	78
02 NUK 034D	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	102
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E	180






<b>Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena</b>
---

- 02 NUK 030C Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C  84
- 02 NUK 051C Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C  60






<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt</b>
--

- 02 NUK 017A Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A  68
- 02 NUK 034C Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C  100
- 02 NUK 037A Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A  122
- 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  168
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A  172


<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden</b>
---

- 02 NUK 027C Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  16
- 02 NUK 030F Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F  88
- 02 NUK 041B Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  28
- 02 NUK 046B Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B  52
- 02 NUK 051B Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B  58


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

- 02 NUK 030A Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C  80
- 02 NUK 038B Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B  130
- 02 NUK 039B Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B  38
- 02 NUK 045A Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A  146
- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  152



**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  170



**Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau**

- 02 NUK 027D Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten  18

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

- 02 NUK 036AX Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  114
- 02 NUK 036C Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  118



**Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main**

- 02 NUK 017F Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F  76
- 02 NUK 050D Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D  178


- |   |   |
|---|---|
| <b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz</b>                                       |   |
| 02 NUK 042B   | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B <span style="float: right;">📖 134</span>  |
| 02 NUK 044B   | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur ortsaufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B <span style="float: right;">📖 48</span>  |
| <b>Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München</b>                                   |   |
| 02 NUK 047C   | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 156</span>  |
| <b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München</b>      |   |
| 02 NUK 038A   | Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 128</span>  |
| <b>Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr. 30, 28359 Bremen</b> |   |
| 02 NUK 042C   | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 136</span>  |
| <b>Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover</b>   |   |
| 02 NUK 044A   | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur ortsaufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 46</span>  |
| 02 NUK 051A   | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 56</span> |
| <b>Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz</b>  |   |
| 02 NUK 035E   | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E <span style="float: right;">📖 112</span>  |
| <b>Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg</b>            |   |
| 02 NUK 051E   | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E <span style="float: right;">📖 64</span> |
| <b>Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg</b>                               |   |
| 02 NUK 039C   | Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 40</span>                     |













<b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen</b>
---

- 02 NUK 030B Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B  82
- 02 NUK 039A Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A  36







<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  32




<b>Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt</b>
--

- 02 NUK 017B Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B  70
- 02 NUK 017D Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D  72
- 02 NUK 017E Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E  74
- 02 NUK 034A Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A  96
- 02 NUK 034B Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B  98
- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  120
- 02 NUK 037C Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C  126
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  138
- 02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B  174
- 02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C  176


<b>Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden</b>
--

- 02 NUK 027A Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern  12
- 02 NUK 027B Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens  14
- 02 NUK 027E Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  20
- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  108
- 02 NUK 041A Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlauftabilität in einem passiven Wärmetransportsystem  26
- 02 NUK 046A Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A  50


<b>Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München</b>
--












- 02 NUK 030E Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E  86
- 02 NUK 039E Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E  44
- 02 NUK 045C Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C  150

<b>Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen</b>
---


- 02 NUK 051D Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D  62


<b>Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg</b>
--

- 02 NUK 031A Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A  92

- |  |  |
|--|--|
| <b>Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken</b>   |  |
| 02 NUK 035A  | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  104   |
| <b>Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig</b>   |  |
| 02 NUK 046C  | Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C  54   |
| <b>Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock</b>   |  |
| 02 NUK 043C  | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C  144   |
| <b>Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart</b>  |  |
| 02 NUK 040B  | Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt B: Numerische Simulation turbulenter Strömung  24 |
| <b>Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart</b> |  |
| 02 NUK 040A  | Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt A: Mischnähte, Ausströmen  22                    |
| <b>Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm</b>  |  |
| 02 NUK 048B  | Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  166  |
| <b>Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen</b>  |  |
| 02 NUK 037B  | Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B  124  |
| 02 NUK 043B  | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  142   |
| 02 NUK 047D  | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  158  |
| <b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg</b>                                 |  |
| 02 NUK 032   | DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  94  |
| 02 NUK 035B  | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  106   |

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

**02 NUK 042A** Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  132

**02 NUK 048A** Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  164

**VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner  
Landstr. 128, 01328 Dresden**

**02 NUK 030G** Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G  90