

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

PTE-N Nr. 15

BMBF geförderte FuE zu
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Januar - 30. Juni 2017

Projektträger Karlsruhe
Wassertechnologie und Entsorgung
PTKA-WTE

Februar 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

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.

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

1	Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....	1
1.1	<i>Sicherheitsforschung für Kernreaktoren</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung</i>	<i>3</i>
1.3	<i>Strahlenforschung</i>	<i>5</i>
2	Formalisierte Zwischenberichte	11
2.1	Sicherheitsforschung für Kernreaktoren	11
2.2	Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung.....	35
2.3	Strahlenforschung.....	57
3	Verzeichnis der Forschungsstellen	179

1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

02 NUK 027A	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern	TU Dresden	📖 12
02 NUK 027B	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens	TU Dresden	📖 14
02 NUK 027C	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 16
02 NUK 027D	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten	Hochschule Zittau/Görlitz	📖 18
02 NUK 027E	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	TU Dresden	📖 20
02 NUK 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	Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut -	📖 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 **AREVA 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

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

1.3 Strahlenforschung

- | | | | |
|--------------------|--|---|------|
| 02 NUK 017A | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A | GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt | 📖 58 |
| 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 | TU Darmstadt | 📖 60 |
| 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 | TU Darmstadt | 📖 62 |
| 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 | TU Darmstadt | 📖 64 |
| 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 | Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main | 📖 66 |
| 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 | Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg | 📖 68 |
| 02 NUK 024B | Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 2 | Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg | 📖 70 |
| 02 NUK 024C | Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3 | Klinikum der Universität München | 📖 72 |

02 NUK 024D	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4	Universitätsklinikum Essen	📖 74
02 NUK 024E	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5	Charité - Universitätsmedizin Berlin	📖 76
02 NUK 030A	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 78
02 NUK 030B	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B	Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 80
02 NUK 030C	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C	Friedrich-Schiller-Universität Jena	📖 82
02 NUK 030D	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D	Leibniz Universität Hannover	📖 84
02 NUK 030E	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E	TU München	📖 86
02 NUK 030F	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 88
02 NUK 030G	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G	VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V. Rossendorf e. V.	📖 90
02 NUK 030H	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H	Universität Bremen	📖 92
02 NUK 030I	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I	Hochschule Ravensburg-Weingarten	📖 94
02 NUK 031A	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A	Universität der Bundeswehr München	📖 96
02 NUK 031B	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B	Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München	📖 98
02 NUK 031C	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt C	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 100

02 NUK 031D	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	📖 102
02 NUK 032	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 104
02 NUK 034A	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A	TU Darmstadt	📖 106
02 NUK 034B	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B	TU Darmstadt	📖 108
02 NUK 034C	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	📖 110
02 NUK 034D	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg	📖 112
02 NUK 035A	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Universität des Saarlandes	📖 114
02 NUK 035B	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 116
02 NUK 035C	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	TU Dresden	📖 118
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter	📖 120
02 NUK 035E	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Medipan GmbH, Dahlewitz	📖 122
02 NUK 036AX	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A	IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 124
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	Elbe Kliniken Stade-Buxtehude	📖 126
02 NUK 036C	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 128

02 NUK 036D	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	TU Darmstadt	 130
02 NUK 037A	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt	 132
02 NUK 037B	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	 134
02 NUK 037C	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C	TU Darmstadt	 136
02 NUK 038A	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A	Klinikum rechts der Isar der TU München	 138
02 NUK 038B	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	 140
02 NUK 042A	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	 142
02 NUK 042B	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	Johannes Gutenberg-Universität Mainz	 144
02 NUK 042C	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen	 146
02 NUK 042D	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	TU Darmstadt	 148
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	Forschungszentrum Jülich GmbH	 150
02 NUK 043B	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	 152
02 NUK 043C	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C	Universität Rostock	 154

02 NUK 045A	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 156
02 NUK 045B	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	📖 158
02 NUK 045C	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C	TU München	📖 160
02 NUK 047A	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg	📖 162
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	📖 164
02 NUK 047C	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	Klinikum der Universität München	📖 166
02 NUK 047D	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Universitätsklinikum Essen	📖 168
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Charité - Universitätsmedizin Berlin	📖 170
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	📖 172
02 NUK 048A	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 174
02 NUK 048B	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	Universität Ulm	📖 176

2 Formalisierte Zwischenberichte

2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 574.986,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hurtado	

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 Durchführung und Bewertung von Experimenten zu den Szenarien „Ausdampfen“, „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ wurden mit 50 mm Spaltabstand zwischen dem inneren Bündel und den Rand-/Eckelementen bei Einzelstableistungen von (20, 50, 70 und 100) W abgeschlossen. Das Szenario „Ausdampfen“ wurde ebenfalls für einen Spaltabstand von 5 mm und für die verschiedenen Leistungen abgeschlossen.

- Die Versuche mit dem Gittersensor wurden für die Spaltabstände 50 mm und 25 mm für die Szenarien „Ausdampfen“, „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ abgeschlossen.
- Die Auswertung der Versuche zum Szenario „Ausdampfen“ zeigen für höhere Leistungen (>50 W) einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Füllstand und der maximalen Stabtemperatur. Das bedeutet, dass die maximale Staboberflächentemperatur abhängig von dem Füllstand und unabhängig von der Leistung ist (adiabate Theorie).
- Die Auswertung der Szenarien „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ weisen für höhere Leistungen geringe Karenzzeiten von < 120 Minuten auf. Radiale Wärmeleitung und Konvektionsströmungen haben keinen nennenswerten Einfluss auf die Temperaturentwicklung.

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

AP4: Weiterführung der Analyse mit ATHLET:

- Es erfolgte eine physikalisch logische Anpassung des ATHLET-Modells der Versuchsanlage ALADIN, um eine bessere Übereinstimmung mit den Versuchsdaten zu erzielen. Dieses Ziel wurde erreicht.
- Die neuen Modell-Berechnungen zeigen Temperaturosillationen (Geysir-Effekte) nach Unterbrechung des Naturumlaufes. Die experimentell vorliegenden Temperaturosillationen durch Wiederbeheizung freigelegter beheizter Messbereiche sind modellrechenmäßig nicht vorhanden – für den maximalen Staboberflächentemperaturverlauf allerdings nicht entscheidend.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1:

- Fortsetzung der Versuche zu den Szenarien „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ mit einem Spaltabstand von 5 mm.
- Einsatz des Gittersensors bei einem Spaltabstand von 5 mm.
- Umbau der Versuchsanlage: Einbau des Kompaktlagerschachtes und Versuchsdurchführung bei den Szenarien „Ausdampfen“, „Wasserblockade“ und „trockenes Lagerbecken“ für einen festgelegten Spaltabstand.
- Auswertung und Vergleich der Versuche untereinander.

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 AMNT2017 (Mai 2017):

Partmann, C.; Schuster, C.; Hurtado, A.: “Convective Heat Transfer for an air cooled BWR Spent Fuel Assembly”

Journal Publikation NED (angenommen 2017):

Arlit, M.; Partmann, C.; Schleicher, E.; Schuster, C.; Hurtado, A.; Hampel, U.: „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”

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 348.852,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Fröhlich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- 2.1 Simulation Wärmetransport im BE-Dummy
 - BED1 Geometriemodellierung und Gittererzeugung Einzelexperiment (EE)
 - BED2 Simulation EE, Transition, Turbulenzerzeugung durch Abstandhalter
 - BED3 Variantenrechnung EE
- 2.2 Simulation Integralexperiment
 - INT1 Diskussion geometrische und thermohydraulische Auslegungsparameter
 - INT2 Geometriemodellierung und Gittererzeugung IE
 - INT3 Produktionsrechnung IE für verschiedene Betriebspunkte
 - INT4 Auswertung und physikalische Interpretation (mit WKET und HZDR)
 - INT5 Validierung des gesamten Simulationsmodells am Integralexperiment in Koop. mit WKET
 - INT6 CFD Modellierung des BE für Szenarien mit stationären Randbedingungen
 - INT7 Szenarien mit instationären Randbedingungen
- 2.3 Modulentwicklung für Integralcodes
 - MOD1 Bereitstellen Simulationsdaten EE für Modulentwicklung
 - MOD2 Bereitstellen Simulationsdaten IE für Modulentwicklung
 - MOD3 Sensitivitätsstudien nach Bedarf, Bestimmung von Modulunsicherheiten

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im ersten Halbjahr 2017 wurden die Untersuchungen zum Integralexperiment fortgeführt. Dazu wurde das Simulationsmodell auf die Berücksichtigung beliebiger Füllstände erweitert. Anhand von Produktionsrechnungen für verschiedene Betriebspunkte (INT3) wurde eine Sensitivitätsanalyse zu verschiedenen Einflussgrößen des Wärmetransports durchgeführt. Die Auswertung (INT4) zeigte einen räumlich begrenzten Einfluss der Wärmeverluste an der inneren und äußeren Kanalwand des IE. Eine starke Abhängigkeit von der Wahl der Parameter des Strahlungsmodells wurde ebenfalls festgestellt, sodass hier eine besondere Sorgfalt erforderlich ist. Der Abgleich mit den experimentellen Daten (INT5) zeigte eine gute Übereinstimmung bei hohen Füllständen und schlechter werdende Übereinstimmung bei niedrigem Füllstand. Je größer der Abstand zwischen Wasserspiegel und detailliertem Simulationsgebiet, desto stärker sind die Abweichungen. Es bedarf zusätzlicher Modellierungsarbeit, um die Zustandsänderung vom Wasserspiegel bis zum Eintritt in das Berechnungsgebiet korrekt abzubilden.

Diesem Problem wird mit der Simulation des Integralexperiments in einem Netzwerk-Modell (umgesetzt im Systemsimulationsprogramm *SimulationX*) zur Abbildung eines Quadranten des IE begegnet. Die Parametrierung des Sektormodells erfolgte auf Grundlage der Simulations- und Messergebnisse in den Teilprojekten A, B und E. Mithilfe dieses Werkzeugs können effizient Variantenrechnungen durchgeführt und die bestehenden CFD-Simulationen ergänzt werden.

In enger Kooperation mit dem HZ Dresden-Rossendorf (TP C) wurden die Untersuchungen zur Interaktion eines ausdampfenden BE mit der Luftströmung im Containment fortgeführt (INT6). Das CFD-Modell bildet den Kopfbereich eines generischen BE mit stationären Randbedingungen im Lagerbecken ab. Anhand von Variantenrechnungen wurde das Eindringen von Kaltluft in den BE-Kopf und die Auswirkung auf die Temperaturverteilung untersucht. Selbst bei stationären Randbedingungen stellt sich keine stabile Strömung ein. Daher ist eine transiente Simulation zur Berechnung der instationären Strömung notwendig, wodurch der rechentechnische und zeitliche Aufwand erheblich steigt. Die Ergebnisse zeigen, dass das Eindringen von Kaltluft bis zum obersten Abstandhalter möglich ist, wodurch die mittlere Temperatur im Kopfbereich sinkt. Zudem ist eine Abhängigkeit der Eindringtiefe vom Füllstand erkennbar. Die Ergebnisse aus diesem Arbeitspaket wurden auf der 48. Jahrestagung Kerntechnik (AMNT) in Berlin vorgestellt.

Zur Untersuchung des Wärme- und Stofftransports im BE-Dummy (BED2+3) wurden im Berichtszeitraum zahlreiche Variantenrechnungen durchgeführt. In Anlehnung an die vorliegenden Messdaten im Teilprojekt D erfolgten zunächst stationäre Simulationen bei isothermen Bedingungen mit reiner Luft als Medium. Das Impulsstromverhältnis wurde als bestimmende Kennzahl identifiziert, wodurch die Anzahl der benötigten Betriebspunkte für den Vergleich auf ein Minimum reduziert wurde. Die Ergebnisse zeigen eine klare Abhängigkeit der Lage der Mischungsschicht oberhalb des BE-Dummys vom Impulsstromverhältnis. Der Abgleich mit den Messdaten steht noch aus.

Aufgrund von Verzögerungen im Aufbau der experimentellen Arbeiten bei TUD-WKET und HSZG-IPM verzögerten sich auch die Simulationen, da die Validierung erst nach Vorliegen gesicherter Messwerte möglich war. Dadurch wurde der Zeitplan im Teilprojekt zum Berichtszeitpunkt um 3 Monate überschritten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im zweiten Halbjahr 2017 liegt ein Schwerpunkt auf der Untersuchung des Wärme- und Stofftransports am BE-Kopf (INT6). In Zusammenarbeit mit dem HZDR ist eine Veröffentlichung der Ergebnisse in einem Fachjournal geplant. Die Modellierung des IE für stationäre, einphasige Bedingungen soll mithilfe des Sektormodells und ausgewählten CFD-Rechnungen abgeschlossen werden (INT3-5). Die Rechnungen zum BE-Dummy (BED3) werden auf Untersuchungen mit Modellgasatmosphäre und auf nicht-isotherme Bedingungen erweitert. Zuletzt soll eine Untersuchung unter realen Bedingungen mit Dampf-Luft-Atmosphäre erfolgen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

T. Hanisch, F. Rüdiger, J. Fröhlich: CFD Analysis of Flow and Heat Transfer in the Head Region of a Fuel Assembly under the Conditions of a Partly Filled Spent Fuel Pool. Berlin, AMNT 2017.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 348.892,00 EUR	Projektleiter: Dr. Krepper	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zur Berechnung der axialen und radialen Stabtemperaturprofile bei unterschiedlichen Störfallszenarien sowie zur Beurteilung der Kühleffektivität unterschiedlicher Mechanismen im Brennelement-Lagerbecken (Zirkulationsströmungen, Verdampfung, Dampfaufstieg, 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 Erweiterung und Qualifizierung des bestehenden CFD-Modells für eine geschlossene Reaktorgebäudeatmosphäre vor. Hierfür diene die von Steinrötter et al. (2012) dokumentierte SWR-Referenzanlage als Untersuchungsgegenstand. Basierend auf den verfügbaren Informationen zur Leistungsverteilung im Lagerbecken, wurden verschiedene Lagerbeckenbetriebsarten simuliert. Dazu zählt die Normbeladung des isolierten Lagerbeckens im Leistungsbetrieb mit 1,62 MW, die Teilbeladung während einer Revision mit 5,35 MW sowie die Vollbeladung des isolierten Lagerbeckens mit 13,79 MW Gesamtwärmeleistung. Untersucht wurde zunächst die Originalverteilung der Brennelemente gemäß Steinrötter et al. (2012). Im Fokus stand die Frage, inwiefern die bisher ermittelten Strömungsmuster auch in einer geschlossenen Reaktorgebäudeatmosphäre anzutreffen sind. Da das jeweilige CFD-Modell nicht die volle Transiente des Unfallablaufes einbezieht, sondern den quasi-stationären Zustand für einen gewählten Füllstand bestimmt, müssen bei einer geschlossenen Atmosphäre passende Anfangs- und Randbedingungen vorgegeben werden. Die MELCOR-Rechnungen von Steinrötter et al. legen nahe, dass für die betrachteten Füllstände näherungsweise von einer Satttdampf-atmosphäre ausgegangen werden kann. Die Temperaturen im Dombereich des Reaktorgebäudes liegen laut Steinrötter et al. bei 100 °C, ebenso die Wandtemperaturen des Lagerbeckens.

Alle durchgeführten Simulationen bestätigen die bisherige Erkenntnis, dass das Warmgas primär entlang der Lagerbeckenwand aufsteigt und das Kaltgas im Zentrum des Beckens eindringt. Als Folge dessen kommt es zu einer Querüberströmung im Kopfbereich der Brennelemente, mit zunehmender Atmosphärentemperatur vom Beckenzentrum zur Beckenwand. Ein Großteil der Brennelemente ist einer solchen Querüberströmung ausgesetzt. Die kleinskalige Konvektion im Kopfbereich des Einzelbrennelementes wird in der großskaligen Simulation aufgrund der groben Diskretisierung nicht abgebildet. Die Ergebnisse können jedoch im Rahmen von der komplementären Betrachtung des Einzelbrennelementes bei TUD-ISM weiterverwertet werden. Hierfür stellt das vorliegende Teilprojekt die Randbedingungen.

Steinrötter T., Arndt J., Kowalik M., Löffler H., Mildenerger O., Sievers J. (2015): Fortschrittliche Methoden und Werkzeuge für die PSA der Stufe 2. Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS) mbH

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten im Teilprojekt werden mit Parameterstudien zur SWR-Referenzanlage fortgesetzt. Bisher zeigte sich, dass die Qualität der Konvektionsmuster in der Atmosphäre weitgehend beeinflusst ist von der räumlichen Anordnung der Brennelemente. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Anordnung eine Auswirkung auf die Intensität der Konvektion hat, und demnach auf den Wärmeübergang zwischen Becken- und Reaktorgebäudeatmosphäre. Mit einer Intensivierung der Konvektion steigt auch der Wärmeübergang im Kopfbereich der Brennelemente, wodurch deren Kühlung begünstigt wird. Im Ergebnis werden konkrete Empfehlungen zur Lagerbeckenbeladung erarbeitet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		Förderkennzeichen: 02 NUK 027D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 434.394,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kästner	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Anhand von kombinierten Experimenten und Simulationen sollen gesicherte Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines teilweise bzw. vollständig ausgedampften BE-LB (Brennelement-Lagerbecken) sowohl innerhalb der Brennstabbündel von BE (Brennelemente) als auch in den Zwischenräumen zwischen den BE geliefert werden, um damit über die Modellbildung und -anwendung die Entwicklung der axialen und radialen Stabtemperaturprofile bei unterschiedlichen Störfallszenarien prognostizieren zu können.

Der zur Verfügung stehende 16 x 16 DWR-Brennelement-Dummy stellt für die Hochschule Zittau/Görlitz (HSZG) die Basis der fluiddynamischen Untersuchungen zu den dichtegetriebenen vertikalen Austauschbewegungen von Gasen in Stabbündelgeometrien dar.

Mit Hilfe der Versuchsanlage sollen Erkenntnisse zu Einzeleffekten erworben und die Strömungsverhältnisse in einem realen Prozess, wobei Wasserdampf durch beheizte Stäbe entsteht, durch ein Modellfluid ersetzt werden. Konkret besteht das Ziel darin, Unterschiede bezüglich des vertikalen Transportverhaltens von Luft, Modellfluiden und Wasserdampf im BE-Dummy zu analysieren und die Modellierung/Simulation dieser Prozesse mit geeigneten Codes zu ermöglichen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm gliedert sich in 4 Arbeitspunkte.

Der Arbeitspunkt AP1 beinhaltet die Auslegung, Errichtung und Inbetriebnahme der Integralversuchsanlage sowie die Durchführung und Bewertung der Experimente.

Die Aufgaben der HSZG besitzen unterstützenden Charakter zur Errichtung der 1:1 Integralversuchsanlage an der TUD-WKET. Hierbei werden basierend auf den erworbenen Kenntnissen aus dem Arbeitspunkt AP0 die experimentellen Randbedingungen bestimmt und die Mitwirkung bei Aufstellung der Versuchsmatrix aus den kleinskaligen Experimenten an der HSZG gewährleistet.

Außerdem soll in dieser Phase die Unterstützung bei der Auswahl von spezieller Messtechnik aus den im AP0 gewonnenen Erkenntnissen gewährleistet werden.

Zum Schluss sollen die Ergebnisse von Integralexperimenten zur Ableitung von Anforderungen an Einzeleffektexperimente zur Parameterbestimmung für die Modellierung von Einzelphänomenen analysiert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde die Versuchsmatrix zur Untersuchung der Horizontal- und Vertikalströmung an der DVABEG-Versuchsanlage erweitert. Die Auswertung der entstandenen Scherschicht wurde nach dem Impulsverhältnis der Horizontalströmung zur Vertikalströmung statt der nach entsprechenden Reynolds-Zahlen festgelegt, wobei das Untersuchungsintervall immer auf den relevanten Reynold-Zahlen basiert.

Bei der Horizontalströmung wurden mehrere Techniken zur Messung der Geschwindigkeitskomponente als Funktion des Wandabstandes angewandt. Für Geschwindigkeiten unter 0,2 m/s wurde das nicht-invasive Messverfahren mit Nebeldotierung und Kameraaufnahme eingesetzt, welches ein charakteristisches turbulentes Profil über den Messquerschnitt im Überströmkanal lieferte. Im Bereich höherer Geschwindigkeiten wurde das thermische Anemometer (Messbereich 0 bis 2 m/s) eingesetzt, um Strömungsprofile auszumessen. Es wurden Experimente mit Variation der Lufttemperatur für die horizontale Luftüberströmung durchgeführt.

Für die Ermittlung lokaler Geschwindigkeiten der Vertikalströmung im DWR-Dummy wurde das bereits erwähnte Anemometer vertikal gesehen im freien Spalt zwischen Hüllrohren und der Lochplatte des BE-Kopfes positioniert. Damit wurde an dieser Höhenposition das Strömungsprofil der Vertikalströmung über den Querschnitt bestimmt. Das Geschwindigkeitsprofil über den halben Querschnitt zeigte aufgrund der austrittseitig versetzten Spannfedern ein typisches zyklisch wechselndes Geschwindigkeitsverhalten in W-M-Form. Dieses Phänomen wurde bei verschiedenen Volumenströmen beobachtet.

Messungen in der Höhe des BE-Kopfes (oberhalb der Lochplatte) zeigten einen Wechsel von lokalen Maximal- und Minimalgeschwindigkeiten als Funktion der Position des Sensors. Dieses Verhalten wurde simulativ durch CFD-Analysen des Projektpartners TUD-ISM bestätigt. Die Extrema wurden an den Messorten oberhalb des zwischen zwei Bohrungen liegenden Festkörpers (Minimum) und oberhalb des Bohrungsmittelpunktes (Maximum) gemessen.

Zur Verbreiterung der Datenbasis für die Validierung der CFD-Simulationen wurden lokale Geschwindigkeiten zwischen den Hüllrohren vor und hinter dem obersten Abstandshalter mit Hilfe des, durch den Projektpartner TUD-ASP, entwickelten thermischen Gittersensors bestimmt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Versuchsauswertung und Dokumentation zu den beschriebenen Experimenten und die Gegenüberstellung mit Simulationen wird fortgesetzt. Den mit Einsatz von Luft-Luft-Strömungen gewonnenen Erkenntnissen werden Ergebnisse von Experimenten mit dem Einsatz von Modellgas-Gemischen (Ar-He) für bestimmte Versuchsrandbedingungen gegenübergestellt.

An einem kleinskaligen Versuchsstand mit elektrisch beheizbaren Einzel-Stäben werden die Oberflächentemperaturen an einem betrachteten Nachbarstab gemessen. Dies dient der Validierung des Modells zum radialen Strahlungsaustausch.

Die abschließende Dokumentation der im Teilprojekt D erzielten Ergebnisse erfolgt durch Erarbeitung des Abschlussberichtes.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen statt:

Arbeitstreffen am 24.01.2017 in der TU-Dresden (ASP) zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner

Arbeitstreffen am 20.06.2017 in der TU-Dresden (WKET) zur Vorstellung des Arbeitsstandes aller Projektpartner

Es wurde ein Paper im Rahmen der internationalen Konferenz (ICONE25) eingereicht und akzeptiert: Chahi, H., Kästner, W., Alt, S.: "Flow Regimes above the PWR-Fuel Assembly in Fuel Storage Pool by Loss Of Coolant Accident LOCA", ICONE25, Shanghai, 02.-06.07.2017

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 027E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2013 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 316.464,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hampel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Verbundprojekt besteht Zusammenarbeit mit folgenden Einrichtungen:

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Analyse ADELA-Experimente für spezielle Messtechnik, Literaturstudium

AP2: Selektion/Erprobung von Messverfahren

AP3: Entwicklung und Aufbau der Instrumentierung

AP4: Erprobung und Kalibrierung spezieller Instrumentierung an eigenem Strömungsversuchsstand

AP5: Unsicherheitsanalysen

AP6: Einsatz der Strömungsmessverfahren am Integralexperiment, Datenanalysen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP6: Gemäß der Experimentalmatrix laut Projektplan von TUD-WKET wurden verschiedene Experimente an der Versuchsanlage ALADIN durchgeführt. Begleitend zu den Experimenten wurde der Thermoanemometrie-Gittersensor (TAGS) zur Messung der Gasphasentemperaturen und – geschwindigkeiten in den Unterkanälen eingesetzt. Im Berichtszeitraum wurden Experimente mit folgenden Variationsparametern gemeinsam durchgeführt:

- Konfiguration: Trockenes BE / Wasserschloss / Ausdampfen
- Breite des Randspalts: 25 mm, 5 mm
- Stableistungen: 20 W, 50 W, 100 W (nur bei Spaltbreite 25 mm)

Das Ergebnis sind zeit- und orts aufgelöste Profile der Gasphasentemperaturen und -geschwindigkeiten. Die wesentlichsten Erkenntnisse aus den Messdaten des TAGS lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- In der Konfiguration „Trockenes BE“ stellt sich ein Naturumlauf über den Pfad Randspalt -> Eintrittsöffnung BE-Kanal -> BE ein, welcher in der Konfiguration „Wasserschloss“ versperrt ist
- In der Konfiguration „Trockenes BE“ reduziert sich mit abnehmender Randspaltbreite die Strömungsgeschwindigkeit im Unterkanal
- Mit zunehmender Stableistung nimmt das Maximum der Geschwindigkeit zu
- Aus den Ergebnissen der Ausdampfexperimente geht hervor, dass mit abnehmender Spaltbreite die Geschwindigkeit des aufsteigenden Dampfes steigt.

Beim Projektpartner HSZG-IPM wurde an der DVABEG-Anlage das Strömungsfeld der vertikalen Strömung vor dem Eintritt in den Horizontalkanal untersucht. Die Kenntnis dessen ist als Eintrittsbedingung für die Simulation erforderlich. Dazu wurde der TAGS zunächst am oberen Ende des DWR-Dummys mit einem Abstand von 5 mm hinter dem 3. Abstandshalter (AH) montiert und die Verteilung der Geschwindigkeiten für verschiedene Volumenströme gemessen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP6: Die abschließenden Arbeiten erfolgen gemäß den Untersuchungszielen gemeinsam mit den Projektpartnern.

Dazu werden die Daten von der Messung an der ALADIN-Anlage thermohydraulischen Gesichtspunkten analysiert. Weiterhin wird der konvektive Wärmetransport in den Unterkanälen abgeschätzt. An der DVABEG-Anlage beim Projektpartner HSZG-IPM wird das Geschwindigkeitsfeld an einer zweiten Position (zwischen 2. und 3. AH) untersucht.

Darüber hinaus wird an der Erstellung des Abschlussberichts gearbeitet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Arlit, E. Schleicher, U. Hampel: “Study of thermal hydraulics in a fuel element mock-up during dry-out with a thermal anemometry grid sensor”, CD-Proceedings. 48th AMNT, Berlin/Germany, 16.-17.05.2017.

Zuwendungsempfänger: Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart		Förderkennzeichen: 02 NUK 040A
Vorhabensbezeichnung: 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		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2014 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 541.890,00 EUR	Projektleiter: 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 Materialprüfungsanstalt (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 Mischschweißnähten 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 (Thermofluidynamik) 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 ist weitgehend abgeschlossen. Ein Versuch steht noch aus. Das Versuchsprogramm wird im August 2017 abgeschlossen. Die Auswertung der Versuche läuft 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 wurden erfolgreich abgeschlossen. Der Kondensator zur Kondensation des ausgetretenen Dampfmassenstroms am Leckmodul wurde gefertigt und erfolgreich in Betrieb genommen. Das Leckmodul wurde in den Kreislauf eingebaut und Versuche mit unterschiedlichen Rissblenden durchgeführt. Es wurden Leckageblenden mit realistischen Ermüdungsrissen hergestellt.
- AP2.2: siehe IKE
- AP2.3: siehe IKE
- AP2.4: Die Auswertung der Messreihen an Kleinversuchsständen (IKE+MPA) und FSI-Großversuchsstand (MPA) ist noch nicht vollständig abgeschlossen. Die Leckageberechnungen mit analytischen Modellen mittels WinLeck (GRS) laufen noch.
- 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.
- AP2.1: Beendigung der Messreihen zur Untersuchung der Erfassung von Druck- und Temperaturzuständen im Spalt.

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.

Zuwendungsempfänger: Universität Stuttgart, Keplerstr.7, 70174 Stuttgart		Förderkennzeichen: 02 NUK 040B
Vorhabensbezeichnung: 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		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2014 bis 30.09.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 840.216,00 EUR	Projektleiter: 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 ($p_{\max} = 75 \text{ bar}$, $T_{\max} = 280 \text{ °C}$) 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: Untersuchung thermische Vermischungsvorgänge (FSI-Versuchsanlage) anhand orts- und zeitaufgelöster Messungen der Fluidtemperaturverteilung in rohrowandnahen Strömungsbereichen mit LED induzierten Nahwand-Fluoreszenz-Verfahren (Farbstoff Rhodamin B, Hochgeschwindigkeitsvideokamera 100 Bilder/s). Messdurchführung am optischen Modul (mit/ohne Modellschweißnaht) stromab 90° T-Stück bei 3 Hauptstrang-Fluidtemperaturen ($T = 90 \text{ °C}$, 120 °C und 150 °C) sowie Haupt- und Nebenstrang-massenstrom $0,6 \text{ kg/s}$ bzw. $0,2 \text{ kg/s}$. Nahwand-Temperatur-verteilung bei $T = 150 \text{ °C}$ unterscheidet sich deutlich von denen bei $T = 90 \text{ °C}$ und 120 °C .

AP1.2.3: Auswertung Fluoreszenz-Messungen (gemittelte Temperaturverteilungen, effektive Temperaturschwankungen/ RMS-Werte). Ergebnisse weisen unsymmetrische Nahwand-Temperatur-verteilungen

in betrachteten Messbereichen nach; Schweißnahtwurzel in Vermischungszone erhöht zum Teil RMS-Temperaturwerte um >20 K).

Methodische Verbesserung Spektralanalyse Mikrothermoelement-Messdaten (gemittelte Filterung), um in PSD (Power Spectrum Density)-Ergebnissen HCTF (High Cycle Thermal Fatigue)-relevante Frequenzpeaks zu identifizieren.

- AP1.3: Qualitätsüberprüfung erstellter numerischer Gitternetze anhand stationärer Simulationsrechnungen. Für LES-Rechnungen Auswahl Gitterstruktur mit 10 Mio. Knoten als Basisnetz für Versuchsgeometrie (ca. 20D Hauptstrang) sowie erweiterte Gitterstruktur mit 17 Mio. Knoten (ca. 30D Hauptstrang). Ableitung Einlaufbedingungen für LES-Rechnungen aus experimentellen Geschwindigkeits- und Temperaturprofilen.
- AP2.1: Siehe MPA-Bericht (Projekt 02NUK040A).
- AP2.2: Messkampagnen (Leakage Flow (LF)-Versuchsstand: Variation abs. Systemdruck 2 – 10 bar, Inkrement 2 bar, Fluidtemperatur ≤ 170 °C) an 2 definierten Rissgeometrien mit unterschiedlichen Rissflächen (Riss 1: $A = 2,08$ mm², $dh = 0,16$ mm; Riss 2: $A = 0,95$ mm², $dh = 0,07$ mm) sowie an Bohrung mit gleicher Fläche wie Riss 2 ($A = 0,95$ mm², $d = 1,1$ mm). Zunahme Leckmassenstrom im einphasigen Bereich mit steigender Temperatur bis 90 °C bei beiden Rissen (z. B. bei 10 bar: Riss 1 von 0,048 kg/s auf 0,055 kg/s; Riss 2 von 0,0086 kg/s auf 0,013 kg/s), dagegen nur geringe Änderung Leckmassenstrom bei Bohrung (20 °C: 0,031 kg/s; 80 °C: 0,030 kg/s). Strömung in beiden Rissen laminar bzw. im Übergangsbereich laminar/turbulent (Riss 1: $750 \leq Re \leq 13000$; Riss 2: $80 \leq Re \leq 3000$), Strömungswiderstand hier abhängig von Re ; in Bohrung vollausgebildete turbulente Strömung ($18000 \leq Re \leq 102000$), Strömungswiderstand hier unabhängig von Re . Mit weiter zunehmender Temperatur bis 170 °C Abnahme Leckmassenstrom bei Riss 1/2 und Bohrung aufgrund zunehmender Verdampfung unterkühltes Fluid.
- AP2.3: Erstellung 3D-Netz für Rissgeometrie 1 mit Ansys ICEM unter Ausnutzung Symmetrieebene zur Verringerung Simulationsrechenzeit. Simulation einphasige Strömung (20 °C, Druckbereich 2 – 10 bar) unter Berücksichtigung experimenteller Ergebnisse (laminare Strömung bei 2 und 4 bar, Strömung im glatten Rohr bei 6 – 10 bar); Netzanpassung für Strömungen mit Phasenübergang; Simulationsbeginn für Zweiphasenströmungen.
- AP2.4: Aus experimentellen Ergebnissen Bestimmung Strömungswiderstand bzw. Rohrreibungszahl im einphasigen Strömungsbereich bis 90 °C mit Bernoulli-Gleichung und Vergleich mit analytischen Modellen. Gute Übereinstimmung experimenteller Rohrreibungszahlen mit berechneten Werten im laminaren Bereich (durchschn. abs. Abweichung Riss 1 ca. 8 % Riss 1, Riss 2 ca. 20 %), wobei Abweichung mit Annäherung Strömung an Rekrit zunimmt. Während Strömung bei Riss 1 im Übergangsbereich laminar/turbulent gut mit Theorie glatter Oberflächen (Abweichung 14 %) übereinstimmt, zeigt Strömung in Riss 2 eher Charakter einer Strömung im rauen Rohr (Abweichung 21 %). Gute Übereinstimmung zwischen Simulation und Experiment (durchschn. abs. Abweichung 2,4 %). Größte Druckabnahme unmittelbar an Strömungseintrittsstelle Riss durch Strömungsbeschleunigung, lokales Druckminimum direkt hinter Strömungseintrittsstelle Riss aufgrund von Ablöseblase mit Strömungsumkehr. Nach Ausbildung stationärer Strömung nahezu lineare Druckabnahme bis zur Strömungsaustrittsstelle Riss.
- AP3: Noch nicht begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.2.2: PIV (Particle-Image-Velocimetry)-Messungen Strömungsgeschwindigkeitsprofile.
- AP1.2.3: Auswertung Messkampagnen für Vergleiche mit numerischen Simulationen.
- AP1.3: Instationäre Simulationen sowie LES-Rechnungen mit definierten Einlaufbedingungen. Vergleich Simulationsrechnungen mit experimentellen Untersuchungsergebnissen.
- AP2.1: Siehe MPA-Bericht (Projekt 02NUK040A).
- AP2.2: Optische Untersuchung Leckausströmverhalten mittels Hochgeschwindigkeitsvideokamera.
- AP2.3: Simulation Ausströmverhalten von unterkühltem Fluid mit Phasenübergang.
- AP2.4: Vergleich experimentelle Ergebnisse im unterkühlten Bereich mit theoretischen Modellen für Zweiphasenströmungen (z. B. Homogenes Gleichgewichtsmodell) und CFD-Simulationen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Zhou, R. Kulenovic, E. Laurien, M. C. Kammerer, X. Schuler, Thermocouple measurements to investigate the thermal fatigue of a cyclic thermal mixing process near a dissimilar weld seam, Nuclear Engineering and Design, 320, pp. 77-87, 2017

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2018		Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.009.512,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Hurtado

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, gesicherte Kenntnisse über das Verhalten und die Wärmetransportprozesse von passiven Systemen zu erhalten. Für experimentelle Untersuchungen ist an der TUD die Versuchsanlage GENEVA errichtet worden. Sie bildet ein passives Nachzerfallswärmeabfuhrsystem ab. An der Anlage werden die Wärmeübertragungsprozesse Kondensation an und Verdampfung in leicht geneigten Rohren messtechnisch vertieft untersucht. Anhand der erzielten Ergebnisse werden die im Systemcode ATHLET vorhandenen Modelle für passive Systeme validiert und gegebenenfalls ertüchtigt. Des Weiteren sind 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, AREVA)
- AP2: Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, Instrumentierung der Versuchsanlagen und Erprobungsphase (TUD-WKET, HZDR, AREVA)
- AP3: Durchführung von Experimenten, Datenauswertung und –aufbereitung für die Modellentwicklung und Stabilitätsanalyse (TUD-WKET, THD, HZDR, AREVA)
- AP4: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR, AREVA)
- 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 Sonden zur bestimmen des Volumendampfgehalts wurden eingebaut und getestet
- AP3: Die Experimente zum Wärmeübergang mit der Erfassung des Temperatur- und Voidprofils im Einzelrohr wurden abgeschlossen. Die Messdaten werden parallel ausgewertet und den Partnern zur Diskussion bereitgestellt.
Die Ausarbeitung von Geometriemodifikationen des Steig- und Fallrohrs wurden konstruktiv ausgearbeitet.
- AP4: Für die Weiterentwicklung der RAM-ROM-Methode für Naturumlaufsysteme wurde ein ROM für ein Niederdrucksystem, wie es der Gebäudekondensator abbildet, erstellt. Dieses ROM ist ein modifiziertes Modell des im letzten HB entwickelten für Hochdrucksysteme unter Anwendung der Proper-orthogonal Dekomposition. Die Beurteilung der Güte wird anhand von Rechnungen mit dem Systemcode ATHLET durchgeführt.
- AP5: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 10/2017 bis 12/2018).
- GRS: Umstrukturierung des ATHLET-Quellcodes zur Reduzierung der Rechenzeit bei Anwendung des Modells nach Thome et al. Ebenfalls wurden Stand-Alone-Rechnungen mit diesem Modell durchgeführt, die auf eine exakte Wiedergabe der in der Literatur enthaltenen Daten hinausgelaufen sind und somit auf eine korrekte Implementierung hinweisen. 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“
 - 08/2017: Durchführung der Versuchsreihe „Experimente zum Wärmeübergang am Rohrbündel“ mit Temperatur- und Voidprofil im Rohr
 - 11/2017: Durchführung der Versuchsreihe „Experimente zur Naturumlaufstabilität“
- AP4: Modellentwicklung und Weiterentwicklung RAM/ROM
- 06/2017: Validierung und Modifizierung des entwickelten ROM für Niederdrucksysteme mit dem Systemcode ATHLET, Einbindung eines Leistungsprofils zur Abbildung einer adiabaten Zone als Steigrohr
 - 08/2017: Überprüfung der ATHLET-Modelle hinsichtlich Verdampfung innen und Kondensation außen anhand der experimentellen Daten
 - 10/2017: Entwicklung neuer Integralmodelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren
- AP5: Gesamtanalyse des passiven Wärmeabfuhrsystems
- 11/2017: ATHLET-Simulation der GENEVA
- GRS:
- Prüfung der Nutzung von GENEVA-Versuchsdaten zur ATHLET Validierung bzgl. Tropfenkondensation auf der Gebäudekondensator-Außenseite
 - Fertigstellung des ATHLET-Datensatzes der COSMEA-Teststrecke zur Validierung der im Rahmen von PANAS in ATHLET zu implementierenden Kondensationsmodellen
 - Verbesserung der Strömungsform-Visualisierung im Post-Processing-Tool

5. Berichte, Veröffentlichungen

“Nonlinear stability analysis of natural circulation systems by application of model order reduction and system codes”, R. Manthey, A. Knosp, C. Lange, C. Schuster, A. Hurtado; Proceedings, Annual Meeting on Nuclear Technology, Berlin, 2017

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 787.100,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hampel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, HZDR, AREVA)
- AP2: Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, Instrumentierung der Versuchsanlagen und Erprobungsphase (TUD-WKET, HZDR, AREVA)
- AP3: Durchführung von Experimenten, Datenauswertung und –aufbereitung für die Modellentwicklung und Stabilitätsanalyse (TUD-WKET, THD, HZDR, AREVA)
- AP4: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, HZDR, AREVA)
- 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 Kontaktkondensation, 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 3 PhD Studenten des PANAS-Projektes wurde mit der Erstellung eines Überblicks zu passiven Wärmeabfuhrsystemen begonnen. Wegen der enormen Datenmenge wurde beschlossen, den Bericht in 2 Teilen abzufassen. Es ist vorgesehen, diese 2 Berichte etwa im November 2017 einzureichen.

AP2: Für Bereitstellung von experimentellen Daten zur Kondensatfilmentwicklung im geneigten Rohr (Notkondensator als weiterer Teil des passiven Wärmeabfuhrkonzepts) wurden sowohl der ther-

mohydraulische Versuchsstand COSMEA als auch die zum Einsatz kommenden Messsysteme modifiziert.

Aktuell ist die Versuchsanlage COSMEA einsatzbereit – allerdings ohne die im letzten Bericht erwähnte Druckstützleitung, welche erst im Anschluss an die aktuell laufenden Messungen mit konventioneller Röntgen-CT installiert und in Kombination mit der schnellen Röntgen-CT zur Anwendung kommen soll. Leider konnten diese Messungen nicht wie in ZB 2016/II prognostiziert im 1. Quartal 2017 durchgeführt werden.

Für den Betrieb der ultraschnellen Röntgentomographie (USRCT) wurden die Konstruktionsarbeiten im Rahmen einer interdisziplinären Projektarbeit durch Herrn Patrick Junge abgeschlossen und bereits Teile (z. B.: Vakuumrezipient und modularer Detektorkopf) geliefert.

Die Vorstudien zur Beschichtung eines durchstrahlbaren Targets mit Wolfram sind erfolgreich abgeschlossen worden, sodass in den kommenden Monaten das durchstrahlbare Target realisiert werden soll.

Die Vorstudien für den Einsatz des (Mehrebenen)-Strahlungsdetektors dauern noch an und werden im Rahmen einer Masterarbeit mit dem Titel „Study on optimal scintillation detectors system for ultrafast electron beam X-ray CT scanners“ von Herrn Kerolos Iskander bearbeitet.

Die Konstruktions-Zeichnungen zur neuen Ti-Teststrecke und der zusätzlichen Dampfstützleitung wurden fertig gestellt. Aktuell wird bereits seit über einem Monat auf die Reaktion des PT gewartet (siehe Anfrage von Herrn Wehner zu Ti-Halbzeugen am 20.06.17 und zur TÜV-Prüfung am 11.07.17 sowie eine diesbezügliche Erinnerungsmail am 25.07.17). Dadurch wird eine Verzögerung des Projektes um ca. 2 Monate proklamiert.

Die Arbeiten zum Datenmanagement für externe Zugriffe (vor allem der Projektpartner, aber auch für zukünftige Validierungen) laufen aktuell immer noch.

AP3: Für die Auswertung der konventionellen Röntgen-CT-Daten in AP2 konnte das Script zur automatischen Verarbeitung der Aufnahmedaten nur teilweise genutzt werden, da durch eine temperaturbedingte Längenausdehnung des Kondensationsrohres weitere Analyseschritte der Daten nötig werden.

AP4: Für dieses Arbeitspaket wurde eine Simulationsstrategie entwickelt, um die Modellierung zu systematisieren. 3 Schritte wurden definiert:

Erster Schritt: Untersuchung der Kondensation im horizontalen Rohr durch Berücksichtigung eines Filmes. Am Eintritt wird eine Ringströmung als Randbedingung vorgegeben. Die für die Entstehung des Filmes am Anfang des Rohres verantwortliche Wandkondensation wurde hierfür vernachlässigt.

Zweiter Schritt: Erweiterung des Modells zur Berücksichtigung der Kondensation an der Wand. Hierzu wird am Eintritt des Rohres reiner Dampf angenommen. Durch die Kondensation an der Wand entsteht ein Flüssigkeitsfilm an der Wand. Es wird der AIAD-Ansatz mit 2 kontinuierlichen Phasen angewendet.

Dritter Schritt: In diesem Schritt werden verschiedene Morphologien mit Hilfe des GENTOP-Ansatzes simuliert, welches ein 3-Fluid-Modell darstellt. Hierbei werden auch die kleinen Skalen der Strömung wie Blasen, beschrieben.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Im 3. Quartal 2017 soll die Bestimmungen der Strömungsformen respektive Flüssigkeitsverteilungen im geneigten Kondensationsrohr unter Nutzung der konventionellen Röntgen-CT abgeschlossen werden. Ende des Jahres soll der neue USRCT-Scanner initial zusammengebaut werden. Für den Einsatz des Mehrebenen-Detektors werden Vorstudien zur optimalen Detektoranordnung im Rahmen einer Masterarbeit angefertigt. Weiterhin müssen im nächsten halben Jahr die Festigkeitsmessungen der Titan-Grad 9 Proben durchgeführt und die Teststrecke in Auftrag gegeben werden.

AP4: Geplant ist die Implementierung des GENTOP-Ansatzes mit Wärme- und Stoffübertragung, die Untersuchung der Fälle mit höherer Wärmeübertragungsrates, die Fortsetzung der Arbeiten zur Modellvalidierung und die Ermittlung von Randbedingungen zur Verwendung in ATHLET-Rechnungen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Interdisziplinäre Projektarbeit (P. Junge)

Zuwendungsempfänger: AREVA GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 041C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 320.606,00 EUR	Projektleiter: Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

AREVA 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 AREVA 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. AREVA 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

Um die Genauigkeit der verfügbaren Modelle des von AREVA verwendeten Systemcodes RELAP zu prüfen, wurde zunächst ein Experiment des Notkondensator- (NOKO-) Teststands in Jülich nachgerechnet. Als Kondensationsmodell wurde ein mechanistisches Kondensationsmodell verwendet, welches von Frau Dr. Rita Szijarto im Rahmen ihrer Dissertation ETH - 22550 an der ETH Zürich (2015) entwickelt wurde. Im Vergleich zum Experiment unterschätzt die Simulation die zu beobachtende Wärmeübertragungsrate, ähnlich wie vorliegende ATHLET-Berechnungen der GRS. Darüber hinaus wurden ältere Versuche des COSMEA-Teststands am HZDR mit RELAP modelliert. Die Verwendung des o. g. Kondensationsmodells liefert gute Übereinstimmung mit ihren Simulationsergebnissen und den in der Dissertation referenzierten experimentellen Daten.

Der COSMEA-Teststand am HZDR wurde auch mit CFD abgebildet. Da bisher keine experimentellen Ergebnisse der aktuellen Messkampagne vorliegen, wurde ein Vergleich mit den im Teilprojekt B erstellten CFD-Simulationsdaten vom HZDR gezogen. Die AREVA-CFD-Simulationen liefern vergleichbare Ergebnisse und sind physikalisch plausibel. Die in der AREVA-CFD-Simulation implementierten physikalischen Modelle zur Kondensation stellen einen vernünftigen Startpunkt für die weitere Modellentwicklung für CFD dar.

4. Geplante Weiterarbeiten

Basierend auf den zu erwartenden neuen experimentellen Daten vom NOKO-Teststand COSMEA am HZDR soll die Verbesserung der empirischen Korrelationen in den Wärmeübertragungsmodellen mit Phasenübergang in S-RELAP5 vorangetrieben werden. Im Anschluss daran kann mit deren Implementierung in das Teststandmodell und anschließender Validierung begonnen werden.

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

Abhängig von der Verfügbarkeit experimenteller Daten am Versuchstand GENEVA der TU Dresden, soll mit der Entwicklung neuer Integralmodelle für den Wärmetransport an geneigten Rohren, in denen Verdampfung stattfindet, begonnen werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1, 94469 Deggendorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 041D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 308.568,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Leyer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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 abgeschlossen und die Arbeiten im Rahmen des AP2 wurden begonnen. Zum Schluss des AP1 wurden die Ergebnisse aus der Literaturrecherche im PANAS-Meeting dargelegt. Diese umfassen die einphasige Konvektion, die laminare erzwungene Konvektion, die natürliche Konvektion, die laminare Filmkondensation, die turbulente Filmkondensation und das Keimsieden. Des Weiteren wurden die Sensitivitätsanalysen der Wärmeübertragungskoeffizienten und der Strömungskarten durchgeführt. Die Ergebnisse wiesen darauf hin, dass der am besten geeignete Koeffizient für Wärmestromdichte sich aus der Shah Koeffizient berechnet. Aufgrund der Daten von vorherigen Experimenten aus COSMEA wurde das Kondensationsmodell von ATHLET entwickelt. Das Modell berücksichtigt innerseitige Kondensation und außenseitiges Sieden. Die Ergebnisse der Simulation, die hängen von thermische Kopplungsparameters (z. B. Wärmestromdichte, Temperatur) wurden ausgewertet, um das Resultat mit den Experimenten zu vergleichen. Die Genauigkeit der Simulation über die Wärmestromdichte und die Kondensationsrate war ausreichend und der Fehler wurde angegeben. Aber im Vergleich zu den experimentellen Daten hatten die vorhergesagte Temperatur des inneren und äußeren Rohres, die Mittelwert von Oberfläche des wand gerechnet wurde, relativ große Unterschied. Die bisherigen Ergebnisse wurden in einem Konferenzpaper zusammengefasst und bei der NURETH-Konferenz eingereicht. Der Abstract wurde bereits bei der Konferenz angenommen. Wie geplant ist das Overviewpaper in Kooperation mit den anderen Partnern in Bearbeitung. Der Entwurf wurde schon erstellt und die zweite Korrektur wurde bereits begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Eine Overviewpaper-Veröffentlichung wird durch den Doktoranden im Projekt geplant, wobei der erste Entwurf Ende September eingereicht werden soll. Das Kondensationsmodell von COSMEA wird von dem Kandidaten verbessert und mit PYTHON gekoppelt, um die Temperatur besser auszurechnen. Bei Bedarf werden die thermischen Kopplungsmodelle entwickelt, sodass die Ergebnisse mit Versuchen vergleichbar sind. Das Modell wird aufgrund der Experimente von GENEVA in ATHLET entwickelt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Konferenzpaper wurde zur NURETH Konferenz eingereicht. Die Korrekturen und Anmerkungen der Reviewer wurden eingearbeitet. Die offizielle Annahme des Papers steht noch aus. Eine Veröffentlichung (Overviewpaper für verschiedene Wärmeübertragungsmodelle) wird verfasst. Der erste Entwurf wird im Sep. 2017 eingereicht. Eine Veröffentlichung (Simulation of evaporation in a slightly inclined tube at GENEVA facility with ATHLET code) wird verfasst.

2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 039A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 28.02.2018		Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.324.928,00 EUR		Projektleiter: Dr. Altmaier

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP1: Initialisierungsarbeiten

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei erhöhten Temperaturen

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

AP5: Bewertung von Schätzmethode

AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

- KIT-INE. Projektmanagement: Entwicklung des Verlängerungsantrags, Organisation und Durchführung von Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, experimentelles Programm: (i) Beginn der Löslichkeitsexperimente mit Ca-U(VI)-CO₃(s) Festphasen. (ii) XAFS-Analyse von Np-Festphasen aus Autoklavexperimenten. (iii) Einreichung der Publikation von Endrizzi et al. zu U(VI)-Löslichkeit in 0.5 M NaCl und T = 80 °C (Manuskript I). (iv) Abschluss der Löslichkeitsexperimente mit U(VI) bzw. Nd(III). Erstellung von Manuskripten. (v) Beginn der Redoxexperimente mit Np(V).

Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS:

- (i) Isopiestic Messungen an Hexacyanoferraten - größter Teil der geplanten Messungen ist abgeschlossen. (ii) Thermodynamisches Modell (25 °C) für Mg₃[Fe(CN)₆]₂·H₂O, Mg₂Fe(CN)₆·H₂O, Na₄Fe(CN)₆·H₂O und Na₃Fe(CN)₆·H₂O entwickelt. (iii) Messungen bei 60 °C erschwert.

Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos21:

- (i) Anwendung von Schätzmethode für Enthalpie/Entropie-Daten auf die Systeme U(VI), Nd(III)-OH, Nd(III)-Cl, Cm(III)-OH, Cm(III)-Cl, Np(V)-SO₄. (ii) Einschätzung der Unsicherheiten bei Anwendung von geschätzten SIT-Parameter für geochemische Rechnungen bei 25 °C < T < 90 °C.

Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES:

- (i) Algorithmus zur Formulierung von isocoul./isoele. Reaktionen entwickelt. (ii) Beginn Anwendung der isocoul./isoele. Extrapolationsmethode. (iii) Import von thermodyn. Datensets in ThermoHub. (iv) Implementierung Datenbankserver in BSONIO für ThermoHub-Datenbank. (v) Integration der ThermoFun-Bibliothek in Reaktor für GEM-Selektor, GEMS4R, GEMSFITS.

4. Geplante Weiterarbeiten

- KIT-INE. Projektmanagement: Abschluss des Verlängerungsantrags für ThermAc, Organisation und Durchführung von Projekttreffen, Dissemination, Kommunikation mit Assoziierten Partnern.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Abschluss der Löslichkeitsexperimente mit Ca-U(VI)-CO₃(s) Festphasen. (ii) Erstellung Manuskript Lee et al. „Impact of T on Np(V) solid phases“. (iii) Einreichung des Manuskripts Endrizzi et al. zu „U(VI) solubility in dilute to concentrated NaCl at T = 25, 55, 80 °C (Manuskript II). (iv) Erstellung Manuskript zu Nd(III) Löslichkeit bei höheren T (Endrizzi et al.). (v) Abschluss der Redoxexperimente mit Np(V).

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS:

- (i) Abschluss der isopiestic Messungen, inklusive einzelner Kontrollmessungen an gemischten Lösungen des Typs Na₃Fe(CN)₆·NaCl·H₂O, Na₄Fe(CN)₆·NaCl·H₂O, Mg₂Fe(CN)₆·MgCl₂·H₂O, Mg₃[Fe(CN)₆]₂·MgCl₂·H₂O. (ii) Erstellung eines polythermen Modells für die genannten Hexacyanoferrate für 25 bis 80 °C. (iii) Redoxmessungen in MgCl₂-Lösungen und Mischungen.

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos21:

- (i) Anwendung der Schätzmethode und Entwicklung neuer Daten für die Systeme Np(V)-OH, Np(V)-Cl, Np(V)-SO₄, Eu(III)-OH, Eu(III)-Cl. (ii) Weiterentwicklung der Schätzmethode für SIT bei (T < 25 °C). (iii) Überblick: Anwendbarkeit verschiedener Schätzmethode.

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES:

- (i) Evaluation von isocoul./isoele. Reaktionen zur Temperaturextrapolation von log K-Werten. (ii) Export von thermodyn. Datensets aus ThermoHub in z. B. PHREEQC-Format. (iii) Dokumentation: Generierung von allgemeinen und isocoul./isoele. Reaktionen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

(1) Einreichung eines Manuskripts von Endrizzi et al. bei Journal of Chemical Thermodynamics, (2) Vortrag: X. Gaona et al. zu „ThermAc Projekt“ bei ACS Konferenz (USA), (3) Vortrag: Altmaier et al., ABC-Salt V Workshop, Ruidoso, NM, USA. (4) Vorträge: Altmaier et al., Skerencak-Frech et al., anlässlich 3. Projektstatusgespräch zur BMBF geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung, Dresden.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 039B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 28.02.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 562.819,00 EUR	Projektleiter: 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 Untersuchungen zur Komplexierung im wässrigen U(VI)-Sulfat-System sind zusammenfassend in eine Masterarbeit eingegangen.

Die experimentellen Untersuchungen zur Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) im Phosphat-System bei einem konstanten pH-Wert ($\text{pH} = 1$) als Funktion der Ionenstärke (0,5-2 M) im Temperaturbereich zwischen 25-80°C konnten abgeschlossen werden. Die Ergebnisse lassen auf jeweils zwei An(III)/Ln(III)-Phosphat-Komplexe in Lösung in Abhängigkeit von der eingesetzten Phosphatkonzentration schließen. Mit Hilfe der linearen Regression konnten ionenstärkeabhängige Komplexbildungskonstanten für $\text{CmH}_2\text{PO}_4^{2+}$ bzw. $\text{EuH}_2\text{PO}_4^{2+}$ bestimmt werden.

Zur Vervollständigung der bereits vorhandenen Daten zur U(VI)-Hydrolyse (UV-Vis, TRLFS, ATR-FT-IR) erfolgten weitere Untersuchungen bei verschiedenen Temperaturen. Die Messungen ermöglichen einen Vergleich der Methoden unter gleichen Messbedingungen. Die Aufnahme der Daten erfolgte bei 25 °C, 40 °C und 60 °C.

Im Rahmen der Promotionsarbeit von Henry Lösch erfolgten vorläufige Untersuchungen zur Komplexierung von Uran(VI) mit löslichen Silikaten bei 25 °C. Um eine mögliche Polymerisation bzw. Kolloidbildung zu verhindern, wurde eine Silikat-Konzentration unterhalb von 10^{-2} M verwendet. Somit soll eine mögliche Beeinflussung der Komplexierung des Urans durch andere Spezies vermieden werden. Bisherige Untersuchungen ohne Silikat-Zugabe zeigen, dass bei einem pH-Wert von vier nur das freie Uranyl-Aquo-Ion und die erste Hydrolyse-Spezies UO_2OH^+ in der wässrigen Lösung vorliegen. Weitere Untersuchungen nach Silikat-Zugabe weisen auf die Bildung eines Uran-Silikat-Komplexes $\text{UO}_2\text{OSi}(\text{OH})_3^+$ hin. Jedoch wird dieser Komplex nur zu einem sehr geringen Anteil gebildet, was auf die geringe Dissoziation der Orthokieselsäure bei pH 4 zurückzuführen ist.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die aus spektroskopischen Daten erhaltene Komplexbildungskonstante für das Cm(III)/Eu(III)-Phosphat-System soll mittels Extrapolation auf eine Ionenstärke von null korrigiert werden. Im Anschluss kann die Bestimmung der Specific-Ion-Interaction (SIT) Parameter $\epsilon(\text{CmH}_2\text{PO}_4^{2+}/\text{EuH}_2\text{PO}_4^{2+}, \text{ClO}_4^-)$ erfolgen. Mit Hilfe der SIT-Methode können dann temperaturabhängige Komplexbildungskonstanten auf eine Ionenstärke von null extrapoliert und daraus die thermodynamischen Parameter Δ_{RH} und Δ_{RS} berechnet werden. Die erhaltenen Daten sollen in eine wissenschaftliche Publikation einfließen.

Die Komplexierung im wässrigen U(VI)-Silikat-System soll auf höhere pH-Werte ausgeweitet werden, in welchem die U-Silikat Speziation als dominierende Spezies erwartet wird. Zur Bestätigung der erhaltenen Konstanten aus spektroskopischen Messungen soll parallel eine nicht-spektroskopische Methode angewandt werden. Diese soll vor allem die Messwerte im alkalinen pH-Bereich bestätigen. Diese Untersuchungen werden in Kollaboration mit dem Paul-Scherrer-Institut (PSI) erfolgen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Eva Ritter (2017): "Einfluss von Temperatur und Sulfat auf die Uran(VI)-Speziation im aquatischen System", Masterarbeit, Technische Universität Dresden

Zuwendungsempfänger: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 039C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 28.02.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 479.748,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Panak	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen dieses Verbundprojekts werden Untersuchungen durchgeführt, die den Kenntnisstand und die thermodynamische Datenbasis für Actinide, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für Langzeitsicherheitsanalysen zur Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender nuklearer Abfälle erweitern. Schwerpunkte der geplanten Arbeiten im Rahmen dieses Teilprojekts sind die Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen durch Anwendung von Speziationsmethoden wie 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: Erste spektroskopische Untersuchungen der Hydrolyse von Cm(III) wurden in Anwesenheit der vorhandenen Cm(OH)_{3,cr}-Festphase als Funktion des pH-Wertes (3.7 – 11.8) bei 25 °C durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen eine deutliche Steigerung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses der Spektren verglichen mit der Literatur, wodurch

eine höhere Sensitivität erreicht wurde. Aufgrund der Beeinträchtigung der Fluoreszenz der Lösungsspezies durch die nicht zu vernachlässigende Fluoreszenz der Festphase wurden im Folgenden Speziationsuntersuchungen in Abwesenheit des Bodenkörpers durchgeführt. Die Auswertung der zahlreichen Fluoreszenzspektren sowie die Ermittlung der Lösungsspeziation erfolgt derzeit.

WP3: Die im NpO_2^+ -Fluorid-System beobachtete Bildung einer Festphase bei erhöhten Temperaturen konnte eindeutig auf eine Redoxreaktion zurückgeführt werden. Die Intensität der charakteristischen Absorptionsbande von Np^{4+} bei ca. 725 nm nahm mit steigender Fluoridkonzentration und Temperatur deutlich zu. Zusätzlich wurde die Gesamtmenge an gebildeten Np(IV) durch Extraktion mit HDEHP ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass bei der höchsten Fluoridkonzentration und Temperatur ca. 50 % des Neptuniums zu Np(IV) reduziert waren. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse konnte die Komplexbildung von Np(V) mit F^- als Funktion der Temperatur ($T = 25 - 85$ °C) quantifiziert werden. Zwei Komplexspezies, $\text{NpO}_2(\text{F})$ und $\text{NpO}_2(\text{F})_2^-$ wurden identifiziert, deren Bildung mit steigender Temperatur zunahm. Anhand der SIT wurden die thermodynamischen Stabilitätskonstanten beider Komplexbildungsreaktionen bestimmt. Die Ergebnisse zeigten im untersuchten Temperaturbereich einen Anstieg von $\log \beta^0_1(25^\circ\text{C}) = 1.54 \pm 0.09$ um 0.25 und $\log \beta^0_2(25^\circ\text{C}) = 1.77 \pm 0.16$ um 0.59. Die hierbei ermittelten thermodynamischen Funktionen zeigen für beide Komplexspezies endotherme Reaktionsenthalpien ($\Delta_r H^0_{m,01} = 6.7 \pm 1.5$ kJ/mol, $\Delta_r H^0_{m,02} = 18.5 \pm 3.9$ kJ/mol). Des Weiteren wurden die Reaktionsentropien ($\Delta_r S^0_{m,01} = 51 \pm 5$ J/mol·K, $\Delta_r S^0_{m,02} = 97 \pm 16$ J/mol·K) ermittelt, welche die Triebkraft der Komplexbildung darstellen.

4. Geplante Weiterarbeiten

WP2: Fortführung der Untersuchungen zur Hydrolyse von Cm(III).

WP3: Absorptionsspektroskopische Charakterisierung der Komplexbildung von NpO_2^+ mit Cl^- bei $T = 25 - 85$ °C.

Publikation der Ergebnisse zum $\text{Np(V)}-\text{SO}_4^{2-}$ -System und $\text{Np(V)}-\text{F}^-$ -System.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: The complexation and thermodynamics of Cm(III) with chloride in diluted to saturated NaCl, LiCl, CaCl₂ and MgCl₂ solution, studied by time resolved laser fluorescence spectroscopy, in preparation.

Maiwald, M.M., Fellhauer, D., Gaona, X., Skerencak-Frech, A., Altmaier, M., Panak, P.J.: Thermodynamics of the complexation of Np(V) with SO_4^{2-} in aqueous NaCl and NaClO₄ solutions at elevated temperatures, in preparation.

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: Fluorescence Spectroscopy of Aqueous Cm(III) Halide and Pseudohalide Complexes at Elevated Temperatures, Conference Talk, Actinides 2017, Sendai, Japan.

Maiwald, M.M., Fellhauer, D., Sittel, T., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: Thermodynamics of the neptunium(V) complexation in fluoride and sulfate, Conference Talk, Actinides 2017, Sendai, Japan.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 039D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 28.02.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 422.181,00 EUR	Projektleiter: Dr. Brandt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Projekts ist die Erweiterung der thermodynamischen Datenbasis für Actiniden, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für die Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender Abfälle. Der Fokus liegt auf dem Verhalten in aquatischen Systemen bei erhöhten Temperaturen bis 90 °C und niedrigen bis mittleren Ionenstärken - unter Nutzung von 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, inklusive der in Zusammenarbeit mit der Universität Frankfurt, AG Prof. Winkler durchgeführten Messungen. Die theoretische Ableitung und Auswertung der experimentellen Daten ist ebenfalls abgeschlossen worden.

Rekristallisationsexperimente von Baryt in Gegenwart von Radium laufen weiterhin bei insgesamt vier unterschiedlichen Temperaturen, zusätzlich laufen Experimente mit einer erhöhten Ionenstärke.

AP5: Detaillierte geochemische Modellierungen sind zu beiden Systemen erfolgt.

In Zusammenarbeit mit D. Kulik (PSI) wurden vorhandene thermodynamische Literaturdaten, experimentelle Daten und atomistische Simulationen kombiniert und wurden thermodynamische Daten für die Löslichkeit von RaSO_4 und das System $(\text{Ba,Ra})\text{SO}_4$ abgeleitet. Verschiedene theoretische Ansätze wurden getestet. Dabei stellte sich heraus, dass der Van't Hoff Ansatz nur funktioniert, wenn eine isocoulombische Reaktionsgleichung verwendet wird. Eine Veröffentlichung der Ergebnisse befindet sich in derzeit Begutachtung (Vinograd et al. 2017).

Bei den LDH wurden mit zwei Ansätzen, (1) Ermittlung der freien Gibbs-Energie mittels einer Simulation von experimentellen Ergebnissen mit der GEM-Software des PSI und (2) Kalorimetrie, 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 $70\text{ }^\circ\text{C}$ anwendbar ist. Eine Veröffentlichung hierzu ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP3: Die Experimente werden wie geplant fortgesetzt, mit einem Schwerpunkt auf das System $(\text{Ba,Ra})\text{SO}_4$.

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vinograd, V. L., Kulik, D. A., Brandt, F., Klinkenberg, M., Winkler, B., and Bosbach, D. (2017): Thermodynamics of the solid solution – aqueous solution system $(\text{Ba,Sr,Ra})\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$, eingereicht bei Chemical Geology

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 039E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2015 bis 28.02.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 394.116,00 EUR	Projektleiter: Dr. Krüger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziele:

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

Bezug zu anderen Vorhaben: Teilprojekt im Verbund ThermAc.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst folgende Arbeitspakete:

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Untersuchungen zu einkernigen Komplexen von Np(V) (AP2) und Np(VI) (AP3) wurden mit Modellierungen zu ternären Hydroxocarbonatkomplexen fortgeführt. Betrachtet wurden die Spezies $\text{Np}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_y^q$ für $x+y = 2$ und 3, die für Np(V) bereits vorgeschlagen wurden, während für Np(VI) und U(VI) lediglich mehrkernige Mischkomplexe bekannt sind. Im Vergleich mit Hydroxo- und Carbonatkomplexen mit gleicher Ligandenanzahl ergaben sich beim sukzessiven Austausch von Hydroxid durch Carbonat nur geringe Energieunterschiede. Dies legt nahe, dass bei gegebenem pH mit wachsender Carbonatkonzentration Hydroxokomplexe

zunächst in Hydroxocarbonate umgewandelt werden, bevor Carbonatkomplexe gebildet werden. Der Vergleich auf Monohydroxid normierter relativer Komplexierungskonstanten für Hydroxo- und Carbonatkomplexe zeigt für Np(VI) und U(VI) eine gute Übereinstimmung mit dem Experiment. Für Np(V) fällt dieser Vergleich schlechter aus, wenn akzeptierte Daten der NEA-Datenbank zugrunde gelegt werden. Auch experimentell bestimmte Komplexierungskonstanten der Np(V)-Hydroxocarbonate erscheinen tendenziell etwas zu hoch. Derzeit werden weitere Eigenschaften der Komplexe analysiert um die Trends der Energien zu untermauern sowie um Möglichkeiten einer spektroskopischen Identifizierung zu untersuchen. Der Vergleich mit EXAFS-Daten für Np(V)-Hydroxocarbonat zeigt eine gute Übereinstimmung mit dem Komplex $\text{Np}(\text{CO}_3)(\text{OH})_2^{3-}$ mit einer Koordinationszahl von 4.

Die Charakterisierung mehrkerniger Np-Hydroxokomplexe (AP4) wurde fortgesetzt. Die Untersuchung möglicher Strukturen dimerer Np(VI)-Komplexe wurde um die Spezies $(\text{NpO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$ mit einem verbrückenden und einem terminalen OH-Liganden ergänzt, der sich als etwa 15 kJ/mol weniger stabil als entsprechende Monomere erwies. Diese Spezies dürfte als Intermediat bei der Bildung von Dimerkomplexen auftreten. Die Modellierung weiterer dreikerniger Np(VI)-Hydroxokomplexe $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_5^+$ im Vergleich mit analogen U(VI)-Spezies bestätigt weiterhin eine zentral O-verbrückte Struktur als stabilste. Im Gegensatz zu U(VI) stellt neben der linearen Struktur eine zentral unverbrückte Spezies ein relativ stabiles Isomer dar. Erste Ergebnisse zu trimeren Komplexen $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_4^{2+}$ und $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_6^0$ deuten darauf hin, dass auch diese bevorzugt als zentral O-verbrückte Struktur vorliegen, wobei andere Isomere nur etwas weniger stabil sind. Im Gegensatz zu Ergebnissen für U(VI) wurde für $(\text{NpO}_2)_3(\text{OH})_4^{2+}$ ein zentral unverbrücktes Isomer gefunden, das stabiler als eine lineare Struktur ist.

Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Komplexierung von Actinoiden (AP 5) mittels statischer Modelle wurden mit der Berechnung des Temperatureffektes für Dihydroxide fortgesetzt. Für Np(VI) und U(VI) wurde in Abhängigkeit von der Koordinationszahl der Komplexe ein sehr ähnliches Muster wie für Monohydroxid erhalten, das den Einfluss der Entropie bei Wechsel der Koordinationszahl spiegelt. Für Np(V) ergab sich eine gute Übereinstimmung mit dem Experiment, wenn von einer Koordinationszahl von 4 für die beteiligten Komplexe ausgegangen wird. Als alternative Methode zur Modellierung von Temperatureffekten wurden dynamische Modellierungen begonnen. Für das Np(V)-Aquaion in einem periodischen Modell mit 120 Wassermolekülen ergab die dynamische Simulation bereits bei Raumtemperatur die Koordinationszahl 4, während statische Modellierungen nur eine sehr geringe Präferenz für diese Koordinationszahl zeigen.

4. Geplante Weiterarbeiten

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 044A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 838.914,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurde ein Piezo-getriebenes Spiegelhaltersystem installiert, um eine feinere Überlagerung der Laserstrahlen zu ermöglichen. Des Weiteren wurden das Kamerasystem zur Überwachung der Strahlposition sowie die Laserstrahlabschirmung ausgebaut.
- AP2: Eine Versuchsreihe mit neuen SSNTD-Detektoren auf CR-39-Basis von verschiedenen Herstellern wurde durchgeführt, um Alternativen für die bisher verwendeten Detektoren zu finden. Dabei stellte sich heraus, dass dieses Material für die Anwendung in diesem Projekt den bisher verwendeten Detektoren deutlich überlegen ist. Eines der getesteten Materialien wurde auf Basis der Ergebnisse für weitergehende Experimente gewählt.
Es wurden im Zusammenhang mit den Umweltpartikelmessungen (siehe AP3) Testmessungen an Mischoxidbrennstoffproben vorgenommen, um das Abschwächverhalten des Systems an einem Isotopengemisch zu untersuchen. Des Weiteren wurde der Einfluss des Bias beim Unterdrücken der Sekundärionen auf das Sekundärneutralteilchensignal untersucht.

- AP3: Es wurden auf aus Umweltproben extrahierten Partikeln Messungen durchgeführt, um Isotopenverhältnisse langlebiger Actiniden sowie Spaltprodukten zu analysieren. Dabei konnten erfolgreich in den Umweltpartikeln Plutoniumisotope sowie Strontium-90 und Uranisotope nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde bei den Messungen der Einfluss von Messparametern auf das gewonnene Signal untersucht. Die bisher angewandte Methode der SSNTD wurde erfolgreich auf ein neues Detektormaterial (CR-39) übertragen. Gleichzeitig wurde der Prozess der Detektorentwicklung- und Auswertung angepasst und weiterentwickelt. Der zum Lokalisieren von Hot Particles in Bodenproben benötigte Zeitraum wurde dadurch von mehreren Wochen auf wenige Tage reduziert. Im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe um Gareth Law von der Universität Manchester wurden einige gezielt mit stabilem Strontium kontaminierte Stahlproben analysiert. Dabei sollte die Eindringtiefe von Strontium in Stahl untersucht werden, in Abhängigkeit von Konzentration, pH-Wert und Zusammensetzung der Lösung, um Rückschlüsse auf die Wiederverwendbarkeit und Dekontaminierbarkeit von in Lagerbecken u. Ä. verwendetem Material zu ziehen.

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. Es sollen verschiedene Reduktionsmethoden zur Steigerung der Anzahl der für die Laser-SNMS verfügbaren atomar vorliegenden Radionuklide untersucht und getestet werden. Beschaffung und Aufbau eines verbesserten Systems zur Abschwächung der Laserleistung für alle Laser. Einbau einer kontinuierlichen Strahlabschwächung durch Polarisationsoptik
- AP2: Kooperation mit der JGU Mainz zur Herstellung von isotonenreinen, implantierten Testproben zur vergleichenden Effizienzmessung für alle relevanten Radionuklide. Verbesserung der Probenvorbereitung mit Epoxidharz, um leitfähige Proben zu erstellen. Anpassung von verwendeten Messparametern für die Verwendung auf Umweltproben. Tests verschiedener Anregungsschemata für Pu und U.
- AP3: Analyse von weiteren Umweltproben aus bekannten kontaminierten Regionen z. B. Tschernobyl, Fukushima und Sellafield, auf U, Pu und Sr sowie bereits anderweitig vermessenen Partikeln. Möglichkeiten zur Isolation gefundener Partikel erarbeiten. Ausdehnen der Partikelsuche mit verbesserter (schnellerer) Routine.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 044B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 964.500,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Reich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die folgenden Arbeitspakete sind vorgesehen:

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Institut für Kernchemie wurden zunächst zwei neue Scroll-Pumpen in das Vakuumsystem des TOF-SIMS III implementiert und in Betrieb genommen. Die Ankopplung des Ti:Sa-Lasersystems an die TOF-SIMS III Apparatur wurde abgeschlossen. Bedingt durch die Strahl-fokussierung und die räumlichen Gegebenheiten der Apparatur lässt sich nur ein minimaler Abstand zwischen Probe und Extraktor von etwa 2 mm erreichen. Da das Justieren der Ionen-optiken im normalen Betrieb für einen Abstand von 1,5 mm ausgelegt ist, wurden diverse Messparameter angepasst und hinsichtlich lateraler und Massenauflösung sowie maximaler Zählrate optimiert. Um eine Synchronisation von Lasern und TOF-SIMS III zu gewährleisten, wurde das Trigger-Signal der SIMS-Apparatur abgegriffen und als externer Trigger für die Laser benutzt. Für diesen Zweck wurde ein neu angeschaffter Channel-Delay-Generator erfolgreich in Betrieb genommen, sodass alle Vorarbeiten zur Erzeugung von Laserionen in der TOF-SIMS III Apparatur abgeschlossen sind.

Die Auswertung der an dem TOF-SIMS V-Gerät des Kooperationspartners Hannover gemeinsam durchgeführten Charakterisierungsmessungen wurde abgeschlossen und zur Veröffentlichung eingereicht. Die Entwicklungsarbeiten an den Ti:Sa-Lasern des Instituts für Physik zum schnellen Wechsel von der Laseranregung eines Element zu der eines anderen Elements wurden fortgeführt. Weiterhin wurden die spektroskopischen Daten von Zirkonium, das im Hüllenmaterial von Brennelementen Verwendung findet, ausgewertet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Nach einer Optimierungsphase des SNMS-Betriebs an der TOF-SIMS III werden erste Charakterisierungen zu systematischen Effekten mit Pu-Proben angestrebt. Im Fokus stehen dabei die Ladungskompensation bei verschiedenen nichtleitenden Proben im SNMS-Modus sowie ein Vergleich des Matrix-Effekts zwischen SIMS- und SNMS-Modus bei unterschiedlichen, im Hinblick auf die Untersuchung von Tonproben relevanten Probenmatrices. Neben SNMS-Messungen an Pu-Diffusionsproben sind des Weiteren SIMS-Untersuchungen an Zement-Ton-Grenzflächen bzw. resultierenden Alterationsphasen geplant.

Das Institut für Physik wird dem Kooperationspartner Hannover einen zusätzlichen Ti:Sa-Laser zur Verfügung stellen, mit dem es dann möglich wird, das bereits für Cs/Sr ausgearbeitet Verfahren des schnellen Wechsels bei der resonanten Laserionisation zweier Elemente auf die Elementpaare U/Pu bzw. Pu/Sr zu übertragen. Um längerfristig den Messvorgang zu vereinfachen und einen höheren Probendurchsatz zu ermöglichen, sollen am Institut für Physik neue, zweistufige Anregungsschemata schrittweise für alle relevanten Elemente entwickelt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

C. Walther, H. Bosco, L. Hamann, M. Franzmann, K. Wendt, Resonant Laser-SNMS on actinides for spatially resolved ultra-trace analysis, eingeladener Vortrag auf der DPG-Frühjahrstagung des Fachverbandes Massenspektrometrie, 6.-10.03.2017, Mainz.

D. Schönenbach, Anwendung der TOF-SIMS zur Untersuchung der Diffusion von Np in Tongestein, Vortrag auf dem 3. Projektstatusgespräch BMBF-geförderter FuE-Arbeiten auf dem Gebiet der Nuklearen Sicherheits- und Entsorgungsforschung sowie Strahlenschutz, 27.-28.04.2017, Dresden.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.123.790,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Weigand	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Untersuchungen zu den Komplexbildungseigenschaften von Phosphorylpyrazolonen gegenüber f-Elementen wurden fortgeführt. Die Ergebnisse wurden zur Internationalen Konferenz „Actinides“ 2017 in Sendai, Japan im Rahmen eines Vortrages vorgestellt (K. Schnaars, J. März, F. Hengersdorf, 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“).

Außerdem wurde begonnen, eine Reihe von iminsubstituierten Glucosaminen (ausgehend von Salicylaldehyd, o-Vanilin, Vanilin) zu synthetisieren und zu charakterisieren. Die Iminopyranosen wurden zu den entsprechenden Aminen reduziert. Das Komplexbildungsverhalten dieser Imine und Amine gegenüber Cu(II), Zn(II), La(III) und Eu(III) wurde UV/Vis-spektroskopisch untersucht. Typische Komplexzusammensetzungen konnten dabei mit Hilfe der Jobschen Methode ermittelt werden.

Die in den Vormonaten begonnenen Arbeiten zur Adsorption von Lanthan-, Europium- und Curiumionen an Chitin und Chitosan sowie zur spektroskopischen Untersuchung der gebildeten Adsorptionskomplexe (Festkörper-NMR-Spektroskopie, TRLFS, ICP-OES) wurden für kommerziell erhältliches Chitin weitgehend abgeschlossen und sind Gegenstand eines gemeinsamen Posters von TU Dresden und Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (K. Kammerlander, N. Huittinen, M. Patzschke, S. Paasch, T. Stumpf, E. Brunner: „A spectroscopic and computational study of trivalent f-element sorption onto α -chitin“). Internationale Konferenz „Actinides 2017“, July 9-14, 2017, Sendai, Japan). Eine entsprechende Publikation ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Darstellung und Charakterisierung von iminfunktionalisierten Aminosäuren
- Darstellung und Charakterisierung von tripodale Ligandensystemen auf Basis von Glucosamin bzw. Aminosäuren
- 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
- Thermogravimetrische und dynamische differenzkalorimetrische Untersuchungen der synthetisierten Komplexverbindungen
- Ausdehnung der Untersuchungen auf spezielle Arten von Chitin (Schwammchitin, β -Chitin) sowie Chitosan und chemisch modifiziertes Chitin
- NMR-Untersuchungen an ausgewählten Actinid- und Lanthanid-Isotope

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 675.486,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Stumpf	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Für das Projektjahr 2017 sind als Investitionen der Kauf von 1 g Pu-239 und 3 g Np-237 mit einem Gesamtbetrag von 23,600 € geplant. Eine Bestellung dazu ist ausgelöst; der Gesamtbetrag übersteigt mit 66,405 € zzgl. Versand den eingestellten Betrag um knapp das 3-fache. Die Mehrkosten werden vom Institut übernommen. Die Beträge für Chemikalien und Glaswaren sind für das Berichtsjahr 2017 bereits ausgeschöpft.

- AP1: Die zwei Serien an Ligandsystemen aus der Gruppe der Amidine und der Schiffschen Basen wurde durch verschiedene Substitutionen an den lateralen Gruppen erweitert, um gezielt die

elektronischen Eigenschaften der Liganden zu beeinflussen. Die synthetischen Arbeiten wurden sowohl im Haus, als auch mit externen Kooperationspartnern durchgeführt. Das Design der Liganden wird maßgeblich durch begleitende quantenchemische Arbeiten im Haus unterstützt. In Kooperation wurden für den AK Kersting (Uni L) Charakterisierungen neuer Calixaren-Liganden mit SC-XRD- durchgeführt.

- AP3: Erste Komplexe von Th(IV) und U(IV) mit Amidinaten und Schiffischen Basen wurden erfolgreich hergestellt und die entstehenden Komplexe mit SC-XRD und NMR charakterisiert. In Zusammenarbeit mit dem AK Weigand (TUD) wurden Komplexierungsstudien von Phosphorylpyrazolone mit U(IV) und Np(IV) begonnen und deren Komplexverbindungen mit SC-XRD, NMR und UV/Vis charakterisiert. Charakterisierungen des Komplexierungsverhaltens dieser Liganden mit dreiwertigen An(III) und Ln(III) wurden zudem mit TRLFS durchgeführt. Laserspektroskopische Untersuchungen an An(III) und Ln(III) zur Identifikation der Bindungsstellen an Chitin und Chitinosan wurden gemeinsam mit dem AK Brunner (TUD) durchgeführt. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen mit NMR-Arbeiten an den Monomeren sowie quantenchemischen Berechnungen verglichen werden.
- AP5: Die Arbeiten an den Amidinat-Systemen werden zur Publikation vorbereitet. Sowohl in den Kooperationsarbeiten zu den phosphorhaltigen Ligandensystemen (mit AK Weigand (TUD)), als auch den Komplexierungsstudien mit Chitin und Chitinosan (mit AK Brunner (TUD)) sind peer-reviewed Publikationen in Vorbereitung. Die ersten fertigen Ergebnisse werden in insgesamt 6 Vorträgen und einem Poster auf der Actinides 2017 in Sendai, Japan vorgestellt. Für die Migration 2017 in Barcelona, Spanien sind bereits ein Vortrag und ein Poster geplant.
- AP2 + AP4: Arbeiten zu AP2 sind erst ab Ende 2018 geplant. Arbeiten zum AP4 sind erst ab Ende 2017 geplant.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die verwendeten Ligandensysteme stellen eine Reihe mit identischen Bindungsmotiven dar, die durch sterisch-unterschiedliche Brücken miteinander verknüpfen werden und sich durch Variation in der Substitution der lateralen Gruppen unterscheiden. Erkenntnisse aus den Komplexierungsversuchen (AP3) fließen laufend in die Synthese neuer Ligandensysteme ein.
- AP3: Die Arbeiten zur Komplexierung von Amidinaten und Schiffischen Basen mit Th(IV) und U(IV) sowie deren Charakterisierung mittels SC-XRD, UV/Vis und NMR werden komplettiert und sollen zügig zu ersten Publikationen (AP5) der erhaltenen Ergebnisse führen. Die gewonnenen Erkenntnisse aus der Komplexierung von Th(IV) und U(IV) sollen auf Np(IV) und gegebenenfalls 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. Die Arbeiten zur Komplexierung von dreiwertigen An(III) und Ln(III) an Chitin und Chitinosan bzw. deren Monomere werden fortgesetzt.
- AP5: Die Publikation der bereits erhaltenen Ergebnisse zu der Komplexierung von Th(IV) und U(IV) mit Amidinaten und Schiffischen Basen werden zur Publikation in peer-reviewed Journalen vorbereitet. Die Kooperationsarbeiten mit TUD (AK Weigand und AK Brunner) sollen ebenso in peer-reviewed Journalen publiziert werden. Insgesamt sechs Vorträge und ein Poster auf der Actinides 2017 sowie ein Poster und ein Vortrag auf der Migration 2017 machen die erzielten Ergebnisse der wissenschaftlichen Öffentlichkeit zugänglich.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

Radoske, T., Synthese und Charakterisierung vierwertiger Actinidkomplexe (Th, U) mit salenartigen Iminliganden, 1. Projekttreffen FENABIUM, Leipzig, 10.05.2017

Schöne, S., Synthese und Charakterisierung vierwertiger Actinidkomplexe (Th, U) mit Benzamidaten, 1. Projekttreffen FENABIUM, Leipzig, 10.05.2017

Zuwendungsempfänger: Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		Förderkennzeichen: 02 NUK 046C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 489.065,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kersting	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Zu Beginn der Arbeiten von M.Sc. Anne Mehnert und M.Sc. Tony Zielke zum Projekt (01. Januar 2017) wurden unter anderem Literaturrecherchen durchgeführt, um eine erfolgreiche Einarbeitung in den relevanten Themengebieten zu ermöglichen. Ebenso begannen beide Mitarbeiter mit der Ligandensynthese.

M.Sc. Peter Hahn konnte bereits einige Liganden darstellen sowie deren Fähigkeit zur Komplexbildung teilweise untersuchen.

Des Weiteren wurde ein Projekt-Meeting in Leipzig (10.05.2017) organisiert und zwei Vorträge gehalten.

Ebenso wurde nach erfolgter Ausschreibungen der Kauf eines isothermen Titrationskalorimeters (ITC) getätigt.

Hinzukommend wurden alle Projektmitarbeiter der Universität Leipzig von Frau Dr. M. Acker im zentralen Radionuklidlabor in Dresden (22.07.2017) über das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen unterrichtet.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den nachfolgenden Monaten sollen weitere Liganden auf Calix[4]aren- bzw. Thiacalix[4]arenbasis dargestellt werden. Der Fokus soll hierbei auf Substitutionen am lower-rim mit natürlichen Bindungsfunktionen liegen. Als Vorbild soll weiterhin das Chitosanmolekül dienen. Hinzukommend sollen auch erste Versuche der upper-rim-Substitution gestartet werden.

Das Komplexierungsverhalten bereits erhaltener Calix[4]aren-Liganden gegenüber ausgewählten Lanthanoid- sowie Actinoidionen wird nun untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Bis heute sind keine zitierfähigen Publikationen verfasst worden. Ausgewählte Ergebnisse wurden beim Projekttreffen am 10. Mai 2017 in der Universität Leipzig in zwei Vorträgen vorgestellt.

M.Sc. Anne Mehnert hielt einen Vortrag mit dem Titel: Vorstufensynthese von bifunktionalisierten Calix[4]arenen mit N-Donoratomen zur möglichen Komplexierung von f-Elementen.

M.Sc. Tony Zielke sprach über: Synthese von Thiacalix[4]arenen mit phosphatähnlichen Bindungsfunktionen zur Komplexierung von Actiniden/Lanthanoiden

2.3 Strahlenforschung

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 017A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.915.981,00 EUR	Projektleiter: Dr. Fournier	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer, physikalische Dosimetrie für die Bestrahlungsexperimente
- AP2: Biologische Dosimetrie, Schadensinduktion durch Radon in Zellkulturen und Gewebe
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen und im Knochen
- AP5: Intrazelluläre Signaltransduktion (insbesondere NF κ 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 Messung des Anteils der Radonzerfallsprodukte an der Lungendosis mit dem mechanischen Lungenmodell wurde begonnen. Dafür wurde die Radonkammer technisch so verbessert, dass eine 10-15fach erhöhte Radonkonzentration erreicht und ebenfalls Messungen zur Radondiffusion und

Löslichkeit in unterschiedlichen Materialien möglich werden. Hierzu werden verschiedene Fettsäuren gemessen und mit molekulardynamischen Simulationen (Prof. Drossel, TU Darmstadt) verglichen. Die Alphabestahlungsvorrichtung wird zurzeit an eine Bestrahlung von sensitiven Zellen angepasst. Die Publikation zur Messung der Radondiffusion und -löslichkeit wurde eingereicht (NIMB).

- AP3: Die semiautomatische Analyse von dizentrischen Chromosomen (dic) wurde fortgesetzt. Es wurde eine Röntgen-Kalibrierungskurve für den Dosisbereich 0-6 Gy aus über 140.000 Metaphasen erstellt. Die niedrigste verwendete Dosis von 0,025 Gy konnte dabei von den Kontrollproben unterschieden werden ($1,56 \pm 0,20$ vs. $1,03 \pm 0,17$ DZ pro 1000 Metaphasen). Zwei Radon-Bestrahlungsexperimente mit Blutlymphozyten werden derzeit ausgewertet. Außerdem werden die von mehreren (MSD-) Patientenproben (IMMO-LDRT) semiautomatisch ausgewertet.
- AP4: (a) Die Publikation zur Adhäsion wurde veröffentlicht (mit AP5 und 8). Die quantitative Bild-Analyse des Einflusses der laminaren Kultivierung auf Endothelzellen (EC) wurde um zellmorphologische Parameter erweitert. In weiteren Experimenten wurde die NF κ B-Translokation erstmals unter laminaren Bedingungen nach Photonenstrahlung untersucht. Die Etablierung der Bestrahlung von EC mit α -Teilchen unter laminaren Bedingungen wurde begonnen.
- (b) Die Methode zur Herstellung von extrazellulärer Matrix durch Osteosarkomzellen wurde etabliert. Im Rahmen der IMMO-LDRT Studie (mit AP9) werden laufend Blutproben von Patienten aufgearbeitet und die Protokolle optimiert. Die Publikation der Daten der Rad-ON 01 Studie befindet sich in Revision. Wir konnten bestätigen, dass die Bestrahlung die Proliferation von Präadipozyten inhibiert, nicht aber den Differenzierungsprozess und dass die entzündliche Wirkung von Adipokinen auf Synovialfibroblasten von Patienten in vitro durch Röntgenbestrahlung teilweise inhibiert wird. Beides weist ebenso wie die Ergebnisse der RAD-ON01 Studie auch in vitro auf eine Rolle von Faktoren, die von Fettgewebe freigesetzt werden, hin.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Messungen zur Diffusion und Löslichkeit von Radon in verschiedenen Fettsäuren werden fortgeführt. Die Ergebnisse sollen zusammen mit den molekulardynamischen Simulationen von Prof. Drossel (TU Darmstadt) für eine gemeinsame Publikation vorbereitet werden. Weiterhin soll das mechanische Lungenmodell weiterentwickelt und die bisherigen Daten zu einer Publikation zusammengefasst werden. Die Arbeiten zur Verbesserung der Alphabestahlungsvorrichtung werden fortgeführt.
- AP3: Eine Publikation wird vorbereitet.
- AP4: (a) Die Rolle von NF- κ B und der Aktivierungszustand der Adhäsionsmoleküle bei der veränderten Adhäsion nach Bestrahlung soll unter laminaren Bedingungen aufgeklärt und eine weitere Publikation vorbereitet werden. Ein potentiell systemischer Einfluss von Adipokinen auf das Adhäsionsverhalten sowie die Mechanismen eines lokalen Effektes auf RASF soll untersucht werden. Die Etablierung von α - Bestrahlung unter laminaren Bedingungen soll fortgesetzt werden.
- (b) Die Osteosarkomzell-Matrix wird zur Bestimmung der Osteoklastenaktivität zum Einsatz kommen. Es soll geklärt werden, ob die Reduktion des Visfatin-Serumspiegels auf einen lokalen oder systemischen Effekt der Strahlung zurückzuführen ist. Dazu sind Untersuchungen zur nahezu unbekanntem entzündlichen Wirkung von Adipozyten nach Bestrahlung auf Ebene des Proteoms und Secretoms geplant. Die Serumproben von (MSD-) Patienten (IMMO-LDRT) werden weiter gesammelt und aufgearbeitet um Adipokinkonzentrationen nach einer Photonentherapie (lokal) zu bestimmen. Eine Publikation der Ergebnisse zu der Strahlungsantwort von Adipozyten wird vorbereitet. Zur Klärung der Frage, welche Zelltypen an der Adipokin- bzw. Zytokinfreisetzung beteiligt sind, wird im Rahmen des Folgeantrags weiter untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Fournier C., Kraft G., Maier A., van Beek P.: Strahlenschutzpraxis 2016, 2:16-19
 Rödel F., Fournier C., Wiedemann J., Merz F., Gaipl U.S., Frey B., Keilholz L., Seegenschmiedt M.H., Rödel C., Hehlhans S.: Front. Immunol. 03 May 2017
 Erbdinger N., Rapp F., Ktitareva S., Wendel P., Bothe A.S., Dettmering T., Durante M., Friedrich T., Bertulat B., Meyer S., Cardoso M.C., Hehlhans S., Rödel F., Fournier C.: Front. Immunol. 1 June 2017

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 017B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 324.660,00 EUR	Projektleiter: 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 α -Strahlung auf Zellen des Immunsystems:

Die wichtigsten Befunde:

Nach vier Jahren Projektlaufzeit haben wir sehr interessante Befunde bezüglich der Wirkung von niedrig dosierter Strahlung auf das Immunsystem erarbeitet. Wir finden, dass Strahlung bei einer Subpopulation von T-Zellen und bei dem Modellsystem Jurkatzellen zu einer stimulierten Immunantwort führt. Bestrahlung mit Photonen, aber auch mit α -Strahlung, induziert in den Zellen eine vermehrte Adhäsion an Epithelzellen. Dies wird über eine Hochregulation und Clusterbildung von Integrinmolekülen in der Plasmamembran der Zellen gesteuert. Die Adhäsion der Zellen geht einher mit einer teilweisen Immunaktivierung und einer Reihe an morphologischen und molekularen Veränderungen in den Immunzellen.

Durch weitere Arbeiten haben wir auch Einblick in die Signalkaskade, die den Strahlenstress mit der Immunaktivierung verbindet, erhalten. Wir können nachweisen, dass am Beginn der Signalkette eine Generierung von Sauerstoffradikalen steht. Diese führen zu einer verzögerten Erhöhung der Konzentration an freiem Ca^{2+} im Cytosol. Letzteres ist ein zentraler Schalter für die Regulation wichtiger Proteinkomponenten bei der Immunaktivierung der Zellen.

Wir sind überzeugt, dass diese Befunde einen wichtigen Beitrag zum besseren Einsatz von

Strahlentherapie bei akute Lymphatische Leukämie liefern. Unsere Daten könnten wichtig für die Reduktion von Nebenwirkungen in der Strahlentherapie sein.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die restliche Laufzeit des Projektes wird genutzt, um die reichhaltigen Daten zu publizieren. Zwei Promotionen stehen demnächst an:

Patrick Voos: "Niedrig dosierte ionisierende Strahlung bewirkt bei Zellen des Immunsystems morphologische und immunologische Veränderungen", Verteidigung am 14.07.2017;

Sebastian Fuck: "Kurz- und Langzeiteffekte ionisierender Strahlung auf die T-Zelllinie Jurkat", Verteidigung 11.08.2017.

Eine Masterarbeit, die im 1. Halbjahr 2017 begonnen wurde, kommt im August 2017 zum Abschluss: Dominique Tandl: "Niedrig dosierte Photonen Strahlung bewirkt eine Ca^{2+} abhängige Signalkaskade in der Jurkat T-Zelllinie".

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikation:

Voos, P., Yazar, M., Lautenschläger, R., Rauh, O., Moroni, A., Thiel, G. (2017): "The small neurotoxin Apamin blocks not only Small conductance Ca^{2+} activated K^+ channels (SK type) but also the voltage dependent $Kv1.3$ channel". European Biophysics Journal, doi: 10.1007/s00249-016-1196-0.

Cucu, A., Shreder, K., Kraft, D., Rühle, P. Klein, G., Thiel, G., Frey, B., Gaipl, U., Fournier, C. (2017): "Decrease of markers related to bone erosion in serum of patients with musculoskeletal disorders after serial low-dose radon spa therapy". Front. Immunol. doi: 10.3389/fimmu.2017.00882

Voos, P. Fuck, S., Weipert, S., Babel, L., Tandl, D., Spahn, A. Fournier, C. Rödel, F., Moroni, A., Thiel, G.: "Low dose photon irradiation activates Jurkat cells via single stand DNA damage", Manuskript in Vorbereitung

Vorträge/Teilnahme an Tagungen:

Gerhard Thiel: "Low dose irradiation induces morphological changes and increased adhesion of Jurkat cells", Vortrag Columbia University, New York, Mai 2017

Gerhard Thiel, Teilnahme am 61. Ann. Meeting der Biophys. Soc. New Orleans, USA, Februar 2017

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 017D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.10.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 832.129,20 EUR	Projektleiter: 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- κ 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- κ 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. (Monate 1-6)

- NF- κ 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- κ B

II. (Monate 6-24)

- Aktivierung von NF- κ 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- κ B auf primäre menschliche Zellen (einschließlich Patientenproben) und auf Gewebe des RA Mausmodells

III. (Monate 25-42)

- NF- κ B Inhibierung durch Einschleusen des NEMO-Peptids in die Zellen (nach Choi u. a. 2003) oder durch NF- κ B knock-down mittels siRNA
 - Auswirkung auf die genannten anti-entzündlichen Prozesse
- IV. (Monate 18-24)
- Untersuchung von Expression und Aktivierung von NF- κ B im cholinergen Signalweg
- V. (Monate 43-66)
- Systematische Analyse verschiedener NF- κ B-Komponenten mit dem „Operetta High-content/High-throughput imaging system“ in unterschiedlich exponierten und unbehandelten Proben (Mensch und Maus)
- VI. (Monate 49-66)
- Systematische Analyse der NF- κ B Aktivierung/Inhibierung in Osteoklasten und Osteoblasten

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Berichtszeitraum konnten wir mit unserem „High-Content & High-Throughput“ Bildanalyseverfahrens erste vergleichende Analysen von „statischen“ und „dynamischen“ Kulturbedingungen (Zellkultur mit laminarer Stromung) an primären humanen Endothelzellen (HMVEC) durchführen. Dazu wurden in Zusammenarbeit mit Verbundpartner AP4 jeweils technische Triplikate hinsichtlich p65 Aktivierung nach TNF-alpha Behandlung und unterschiedlichen Röntgendosen evaluiert. Ein weiteres biologisches Replikat zur Validierung unserer Ergebnisse ist in Arbeit.

Obwohl in den vorläufigen Ergebnissen eine gewisse Schwankung zu beobachten ist, zeigen laminare Daten eine deutlich höhere NF- κ B Aktivierung im Vergleich zu statischen Bedingungen. Parallel, konnten wir zusammen mit unseren Verbundpartner AP4 (Fournier, GSI), AP7 (Thiel, TU Darmstadt) und AP8 (Rödel, Uni Frankfurt), das im Januar 2017 eingereichte Manuskript erfolgreich veröffentlichen (Punkt 5).

Nach intensiven Bildanalyseanstrengungen musste die automatisierte „High-Content“-Analyse von NF- κ B-Signalen in Osteoclasten aufgegeben werden. Auch manuelle Auswertungsversuche gestalteten sich problematisch, da noch kein geeignetes Normalisierungsverfahren zur Auswertung von mehrkernigen Zellen gefunden werden konnte.

Parallel verfolgen wir weiter die Charakterisierung unseres auf Transdifferenzierung basierenden 3D-Zellkultursystems. Hier konnten wir in einer neuen Kooperation Unterschiede im Differenzierungsverhalten von humanen Fibroblasten aus Patienten mit rheumatischer Arthritis beobachten. Die entsprechenden Ergebnisse befinden sich momentan in der Analyse.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im Laufe der ausstehenden Projektzeit planen wir:

- (i) die vergleichende Analyse von dynamischen und statischen Zellkulturbedingungen abzuschließen und als Manuskript einzureichen.
- (ii) Daten zu humanen RA-Fibroblasten zu komplettieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Erbeldinger, N., Rapp, F., Ktitareva, S., Wendel, P., Bothe, A. S., Dettmering, T., Durante, M., Friedrich, T., Bertulat, B., Meyer, S., Cardoso, M. C., Hehlhans, S., Rodel, F., Fournier, C. (2017): *Frontiers in Immunology*, doi: 10.3389/fimmu.2017.00627

Muster, B., Rapp, A. and Cardoso, M. C. (2017): *AIMS Genetics* 4: 47-68

Natale, F., Rapp, A., Yu, W., Maiser, A., Harz, H., Scholl, A., Grulich, S., Anton, T., Horl, D., Chen, W., Durante, M., Taucher-Scholz, G., Leonhardt, H. and Cardoso, M. C. (2017): *Nat. Commun* 8: 15760

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 017E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.007.984,40 EUR	Projektleiter: 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 α -Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radonkammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes und in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt. In Zell- und Tier-Versuchen soll die 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}Am -Quelle
- Bestimmung von α -Teilchenspuren in zellulären Monolayern, lateral und in Bestrahlungsrichtung (mit und ohne Kollimator)
- Bestimmung von α -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 α -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

In diesem Teilprojekt soll am Mausmodell untersucht werden, wie sich Radongas im Körper verteilt und ob eine Anreicherung in bestimmten Organen zu beobachten ist. Dazu werden die durch Zerfälle von Radon bzw. der Tochternuklide induzierten DNA-Doppelstrangbrüche (DSBs) über den hochsensitiven γ H2AX-53BP1-Foci Assay nachgewiesen und quantifiziert. Nach der Radonexposition mit 440 kBq/m^3 wurde eine inhomogene Verteilung von Radon im Körper festgestellt, wobei in der Lunge eine höhere Focus-Anzahl festgestellt wurde als in den anderen analysierten Organen. Diese Focusanzahl in der Lunge entsprach der induzierten Focus-Anzahl nach der Bestrahlung mit 10 mGy Röntgenstrahlung, in den anderen analysierten Organen (Niere, Leber, Herz) $3\text{-}4 \text{ mGy}$ Röntgenstrahlung.

Die inhomogene Verteilung von Radon im Körper konnten wir bei der Analyse der Organe von Mäusen nach einer einstündigen Exposition mit 44 kBq/m^3 Radon bestätigen. Diese Exposition entspricht einem Aufenthalt im Heilstollen von Bad Gastein, wie sie im Rahmen einer Therapie angewendet wird. Da die erwarteten Effekte sehr klein sind und bekannt ist, dass die α -Zerfälle und damit auch die Schädigung innerhalb eines Organs inhomogen verteilt ist, wurden von zwei unabhängigen Personen die Foci in mehreren tausend Zellen ausgewertet. Bei der Analyse der Organe (Niere und Leber) wurde kurz nach dem Ende der Exposition mit 44 kBq/m^3 Radon keine Schadensinduktion festgestellt. In der Lunge hingegen wurde von beiden Personen eine deutliche Schadensinduktion nachgewiesen. Dieses Ergebnis war unerwartet, da keine Proportionalität zwischen der Aktivitätskonzentration und der Schadensinduktion, wie sie für Röntgenstrahlung beschrieben ist, vorliegt. Dieses nicht-lineare Verhältnis deutet auf einen starken Einfluss der Tochternuklid-gebundenen Aerosole bei der Schadensinduktion hin, was in weiteren Versuchen im Rahmen des Projektes GREWIS-alpha untersucht werden soll.

Eine naheliegende Frage dieser Studie mit Wildtyp-Mäusen ist die Übertragbarkeit auf Mäuse mit einem dem Patienten entsprechenden Krankheitsbild, die im Rahmen einer kürzlich durchgeführten Bachelorarbeit adressiert wurde. Dazu wurden vom Projektpartner im GREWIS-Verbund (AP9) Mäuse des Krankheitsmodells Rheumatoider Arthritis (hTNF α -Mäuse) zur Verfügung gestellt. Rheumatoide Arthritis wird im Mausmodell mittels einer Überexpression des humanen TNF α induziert (J. Keffer *et al.*, EMBO, 1991). TNF α ist ein Zytokin des Immunsystems, welches bei lokalen und systemischen Entzündungsprozessen auftritt und dessen erhöhtes Vorkommen mit der Ausbildung von Rheumatoider Arthritis beim Menschen assoziiert ist. Entsprechend dem Krankheitsbild haben diese Mäuse geschwollene bzw. verformte Gelenke der Pfoten sowie eine verringerte "Griffstärke" (J. Keffer *et al.*, EMBO, 1991). Wie im Rahmen der Bachelorarbeit gezeigt werden konnte, ist die Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen bei einer definierten Dosis Röntgenstrahlen von hTNF- α Mäusen und Wildtyp-Mäusen vergleichbar. Die Analyse der Reparatur von Radon-induzierten Brüchen zeigte ebenfalls keinen Unterschied im Reparaturverhalten von Wildtyp- und hTNF α -Mäusen. Obwohl derzeit noch kein initialer Wert zur Schadensausbildung kurz nach der Radonexposition vorliegt (siehe Punkt 9) deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die durchgeführte Biodosimetrie an Wildtyp-Mäusen auch auf Mäuse mit einem dem Patienten entsprechendem Krankheitsbild übertragbar sind.

4. Geplante Weiterarbeiten

Für die Etablierung des Korrekturfaktors aufgrund der unterschiedlichen Strahlenqualität (α -Teilchen vs. Röntgenstrahlung) müssen erneut verschiedene Reagenzien zum Beschichten der Folie ausgetestet werden, da die Zellen derzeit nicht auf der Mylarfolie wachsen. Anschließend können die Experimente zur Etablierung des Korrekturfaktors wiederaufgenommen werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

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

Zuwendungsempfänger: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		Förderkennzeichen: 02 NUK 017F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2017		Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 483.408,00 EUR		Projektleiter: 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- κ 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 (Hitze-schockproteine, 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 Glutamylcysteinesynthase) 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- α transgenen Maus dar.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen unserer Untersuchungen bzgl. des Einflusses von Photonen- und Schwerionenstrahlung im Niedrig- und Intermediärdosisbereich auf Entzündungsreaktionen von Endothelzellen und Lymphozyten konnte eine biphasische Dosis-Wirkungsbeziehung von Enzymen des antioxidativen Systems beider Zellkomponenten nachgewiesen werden. Dazu gehören Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Catalase, welche reaktive Oxygenspezies (ROS) in der Zelle zu unschädlichen Verbindungen umsetzen und damit entscheidend an der zellulären Strahlenreaktion beteiligt sind. Zur Translation unserer *in vitro* Untersuchungen auf die strahlen-

therapeutische Behandlung von benignen Erkrankungen in Patienten wurde im vorliegenden Berichtszeitraum die quantitative Messung von SOD, GPx und Catalase mRNA im Blut von gesunden Patienten etabliert. Dazu wurde von verschiedenen Probanden Blut mit unterschiedlichen Röhrchen (EDTA, Heparin) entnommen und die RNA-Präparation aus Frischblut mit derjenigen aus eingefrorenen Blutproben verglichen. Im Anschluss an die RNA-Präparation wurden SOD1, GPx und Catalase mRNA-Expression mittels quantitativer Real-Time PCR ($\Delta\Delta\text{CT}$ Methode) bestimmt. Dabei zeigte sich, dass (a) sowohl Heparin- als auch EDTA-Blut für die quantitative Messung der Antioxidationsfaktoren geeignet ist und dass (b) das Einfrieren der Blutproben zu einer ca. 20 %igen Reduktion der gemessenen SOD1-mRNA, einer ca. 50 % erniedrigten GPx-mRNA Menge und einer 60-80 % verminderten Catalase-mRNA Menge führte. Aus diesem Grund wurde die RNA-Extraktion aus frisch entnommenem Patientenblut zusammen mit den Kooperationspartnern in Erlangen (TP Gaipl; Patientenstudie IMMO-LD-RT und prospektiv RAD-ON02) etabliert. Sofort nach Blutentnahme wird nun fortlaufend von den Kollegen in Erlangen die RNA aus dem Patientenblut isoliert und bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. In regelmäßigen Abständen wird dann die Versendung der Patienten-RNA auf Trockeneis nach Frankfurt und die Messung der SOD1, GPx und Catalase mRNA-Expression mittels quantitativer PCR im Rahmen des Verbundprojektes GREWIS-alpha erfolgen. Für die exakte Bestimmung der Kopienzahl von SOD1, GPx und Catalase mRNA im Blut von Patienten wurden zudem bislang schon SOD1 und GPx Fragmente kloniert, die für eine Eichkurve in der Real-Time PCR verwendet werden können. Die Klonierung des Catalase-Fragmentes steht noch aus und wird im Rahmen von GREWIS-alpha erfolgen.

Zur weiteren Aufklärung der Regulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen, wurde in vorangegangenen Versuchen der Transkriptionsfaktor Nrf2 als entscheidender Regulator der diskontinuierlichen Transkription von SOD, Glutathionperoxidase und Catalase nach Bestrahlung identifiziert. Als mögliche Regulatoren der strahlenabhängigen differentiellen Nrf2 Expression kommen zudem verschiedene micro(mi)RNA, miR-27a, miR-200a und miR-200b/c in Frage, die eine diskontinuierliche Expression in Endothelzellen nach Bestrahlung mit Dosen im Bereich 0,1 bis 1 Gy aufweisen. Im vorliegenden Berichtszeitraum wurden in diesem Zusammenhang Endothelzellen mit Inhibitoren von miR-27a, miR-200a und/oder miR-200b/c transfiziert, 48 h später mit Dosen zwischen 0 und 1 Gy bestrahlt und im Anschluss daran die zelluläre ROS-Produktion, SOD-Aktivität, SOD1-, Catalase- und Nrf2-Expression untersucht. Es zeigte sich nach miR-27a Inhibition bei allen Dosen eine verminderte ROS-Produktion und eine fast lineare Dosis-Wirkungsbeziehung. Im Gegensatz dazu wiesen sowohl ROS-Mengen, SOD-Aktivität und Expression der antioxidativen Enzyme sowie des Nrf2 Transkriptionsfaktors nach Inhibition von miR-200a oder miR-200b/c bei insgesamt erhöhten ROS-Werten weiterhin einen biphasischen Verlauf im Niedrigdosisbereich auf. Nach Kombination aller verwendeten miRNA zeigte sich eine intrazelluläre ROS-Produktion im Bereich der Kontroll-miRNA Transfektion mit einer nicht-linearen Dosis-Abhängigkeit.

Des Weiteren wurde die Stressantwort von Endothelzellen nach Niedrigdosisbestrahlung und miRNA-Inhibition untersucht. Dabei zeigte sich eine nichtlineare Dosis-Wirkungsbeziehung hinsichtlich der HMGB1-Expression in den Kontrollzellen, die nach miRNA-Inhibition deutlich moduliert war.

Zusammengefasst belegen diese Ergebnisse eine miRNA-abhängige Regulation der Strahlenantwort von Endothelzellen im Bereich zwischen 0 und 1 Gy.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die weiteren Arbeiten erfolgen im Rahmen von GREWIS alpha und beinhalten die detaillierte Untersuchung des antioxidativen Systems *in vitro* und *in vivo* nach Photonenbestrahlung oder Bestrahlung mit α -Partikeln, die genaue Analyse der Expression von miRNA nach Bestrahlung durch „Next Generation Sequencing“ und die Analyse der funktionellen Bedeutung der differentiell regulierten miRNA auf die Immunantwort (Task 21-26). Ein weiterer Task umfasst die Translation der *in vitro* erarbeiteten Ergebnisse auf Lymphozyten im Blut von Patienten, die im Rahmen von Studien mit niedrigen und intermediären Strahlendosen sowie mit Radon behandelt werden (RAD-ON02- und IMMO-LDRT-01 Studien) (Task 23).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Badawi A, Hehlhans S, Pfeilschifter J, Rödel F, Eberhardt W. Silencing of the mRNA-binding protein HuR increases the sensitivity of colorectal cancer cells to ionizing radiation through upregulation of caspase-2. *Cancer Lett* 2017, 393: 103-112

Erbeldinger N, Merz F, Ktitareva S, Wendel P, Bothe AS, Dettmering T, Durante M, Friedrich T, Bertulat B, Meyer S, M. Cardoso C, Hehlhans S, Rödel F, Fournier C. Measuring leukocyte adhesion to (primary) endothelial cells after photon and charged particle exposure with a dedicated laminar flow chamber. *Front Immunol* 2017; 8: 627

Rödel F, Fournier C, Wiedemann J, Merz F, Gaipl US, Frey B, Keilholz L, Seegenschmiedt MH, Rödel C, Hehlhans S. Basics of radiation biology when treating hyperproliferative benign diseases. *Front Immunol* 2017; 8: 519.

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 017G
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2012 bis 31.07.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 636.516,00 EUR	Projektleiter: 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- α (hTNF- α) transgenen Mäusen (entwickeln eine chronische Polyarthritits) 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 α -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 Polyarthritits in hTNF- α 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- α 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- α transgenen Mäuse vor und nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlenqualitäten und -dosen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Zytokin-Daten aus der RAD-ON01 Studie wurden bei *Autoimmunity* zur Publikation eingereicht („Reduced pain sensitivity following radon balneology correlates with temporarily increased TGF β and lowered CD69 expression on peripheral T cells“) und befinden sich aktuell im Begutachtungsprozess. Auch wurden die Daten zur Wirkung von Radon und gemischten Radon/CO₂-Bädern auf das Herz-Kreislaufsystem beim *Scandinavian Journal of Rheumatology* zur Publikation eingereicht („Impact of radon and combinatory radon/carbon dioxide spa on pain and hypertension: Results from the explorative RAD-ON01 study“) und befinden sich aktuell auch im Begutachtungsprozess. Die Immunphänotypisierungen (IPT) im Rahmen der IMMO-LDRT01 Studie (NCT02653079) wurden fortgesetzt und die Daten werden aktuell ausgewertet. Die Planungen und Vorbereitungen für die RAD-ON02-Folgestudie wurden fortgeführt. Die Ethik-Kommission der BLÄK hat die Studie nun erneut auf Basis der neuen Rechtsgrundlage (AMG-Studie) geprüft. Die erhobenen Einwände wurden bearbeitet und werden im Juli 2017 zur wiederholten Begutachtung eingereicht. Die RAD-ON02-Folgestudie könnte somit erst im Frühjahr 2018 starten.

Es wurde eine weitere Immunphänotypisierung für Knochenmark sowie Synovialflüssigkeit von Mäusen etabliert, die auch in den zukünftigen *in vivo* Experimenten zum Einsatz kommen soll. Eine Publikation welche große Teile der Dissertation zu den prä-klinischen Modellsystemen enthält wurde fertig gestellt und wird bei *Annals of the Rheumatic Diseases* im Juli 2017 eingereicht. Dafür wurde noch ein zusätzliches *in vivo* Experiment durchgeführt mit dem Fokus auf der Vermessung der Hinterpfoten der Mäuse mittels μ CT. Die Dissertation, welche sich mit den prä-klinischen Modellsystemen beschäftigt, wurde fertig gestellt und am 23. Mai 2017 eingereicht. Die im Q2/2016 begonnene Masterarbeit „Der Einfluss niedrig dosierter Röntgenstrahlung auf die Zytokinfreisetzung entzündlicher Fibroblasten-ähnliche Synoviozyten und deren Einfluss auf die Makrophagenpolarisation im hTNF- α tg Mausmodell“ wurde erfolgreich abgeschlossen. Der beim *European Workshop for Rheumatology Research* im März 2017 in Athen eingereichte Abstract, welcher sowohl Daten aus der Dissertationsschrift sowie der Masterarbeit enthielt, wurde mit einem Posterpreis ausgezeichnet. Die weitere Vermessung von gesunden FLS, Osteoklasten und Osteoblasten zeigte, dass vor allem im Knochen der vorliegende Entzündungsstatus Einfluss auf die Reaktion des Gewebes auf Strahlung darstellt. So wurde etwa im nicht entzündeten Gewebe die Osteoklastenzahl durch Strahlung bis 2.0Gy nicht signifikant reduziert und bis zu einer Dosis von 0.5Gy wurde keine veränderte Genexpression in den Entwicklungsmarkern der Osteoklasten festgestellt. Der Knochenaufbau im gesunden Normalgewebe kann jedoch auch durch LD-RT positiv beeinflusst werden. Alle Untersuchungen wurden anhand von gesunden *littermates* durchgeführt. Des Weiteren wurde die neue Röntgenröhre in Erlangen erfolgreich für die *in vivo* Niedrigdosis-Bestrahlung eingemessen. Um die Radonexperimente voranzutreiben wurden die Zuchtpaare der hTNF- α tg Mäuse weiter aufgestockt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Auswertungen der bisherigen IPT-Daten aus der IMMO-LDRT01 Studie werden abgeschlossen. Des Weiteren werden die konkreten Zeit-Planungen für die RAD-ON02-Folgestudie durchgeführt.

Um zukünftig weitere funktionelle Analysen nach Bestrahlung durchführen zu können soll für die Osteoklasten ein *pit-formation* Assay zur Untersuchung des funktionellen Knochenabbaus *in vitro* sowie für die FLS ein *matrigel invasion* Assay (MIA), welcher es ermöglicht das tumorähnliche, invasive Wachstum der RA-FLS *in vitro* weiter zu untersuchen, fertig etabliert werden. Die Publikation „Low-dose radiotherapy reduces synovial fibroblast proliferation and osteoclast differentiation exerting anti-inflammatory effects in arthritis“ wird bei *Annals of the Rheumatic Diseases* eingereicht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

(a) Frey et al., *Front Immunol.* 2017 Mar 8;8:231; (b) Rühle PF et al., *Autoimmunity.* 2017 Mar;50(2):133-140; (c) Rühle PF et al., *Front Neurol.* 2017 Jun 23;8:296; (d) Kurow O et al., *Front Immunol.* 2017 Jun 28;8:722; (e) Rödel F et al., *Front Immunol.* 2017 May 3;8:519; (f) Cucu A et al., *Front Immunol.* 2017 Jul 28;8:882

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 024B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 2		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2012 bis 28.02.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 28.02.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 416.227,00 EUR	Projektleiter: Dr. Unger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Verbundprojekt sollen in humanen Zelllinien mit genau charakterisierter Strahlenempfindlichkeit veränderte Gene bzw. Proteine erfasst werden. Durch integrative Analyse von molekularen Daten verschiedener Ebenen (Genom, Transkriptom, Epigenom, Proteom und Phosphoproteom) sollen deregulierte Netzwerke und deren zentrale Effektorgene/-proteine identifiziert werden. Über funktionelle *in vitro* und *in vivo* Analysen soll die Bedeutung von Kandidatengenen in der Signalkaskade nach Strahlenschädigung in den verschiedenen Arbeitspaketen näher untersucht werden und dabei insbesondere bereits im Vorhaben 02NUK007C identifizierte Kandidatenproteine. Über zeitaufgelöste Perturbationsexperimente und die Erstellung mathematischer Modelle aus den gewonnenen Daten sollen involvierte Signalkaskaden und potentielle molekulare Angriffspunkte systembiologisch erfasst werden. Mit Hilfe von *in vitro* und *in vivo* (Maus-Xenograft) Experimenten wird dann verifiziert, inwieweit zielgerichtete strahlensensibilisierende und -protektive Substanzen („small molecules“) diese Signalwege beeinflussen. Ziel ist, die molekularen Netzwerke, welche die Strahlensensitivität modulieren und die Wirkung von pharmakologischen Substanzen auf diese Netzwerke aufzuklären.

Das Verbundprojekt besteht aus 5 Projektpartnern: Bundesamt für Strahlenschutz, AG-SG1.1, Koordination und AP1 (Dr. S. Hornhardt, Dr. M. Gomolka), Helmholtz-Zentrum München, Abteilung für Strahlenzytogenetik, AP2 (Prof. Dr. H. Zitzelsberger, Dr. J. Heß), AP3 (Prof. Dr. H. Zitzelsberger, Dr. K. Unger), Charite Berlin, Institut für Pathologie, AP4 (Prof. Dr. Nils Blüthgen), Universitätsklinikum Essen, Institut für Zellbiologie, AP5 (Prof. Dr. V. Jendrossek), LMU München, Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, AP6 (Prof. Dr. K. Lauber).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP2: „Identifizierung von Targetproteinen mittels genomischer und epigenomischer Charakterisierung“

- Generierung von HNSCC-Tumorzelllinien oder hTERT immortalisierten normalen Zellen mit über- und unterexprimierten Targets (FANCA, MCM7 und SerpinB9) (HMGU/LMU)
- „Omics“-Charakterisierung von Zelllinien-Modellen aus AP2.1 mit über- und unterexprimierten Targets (FancA, MCM7) (HMGU)
- „Omics“-Charakterisierung von Zellkulturmodellen strahlenüberempfindlicher normaler Zellen und strahlenresistenter Zellen aus dem Hals-Kopf-Bereich (HMGU/BfS/LMU)

AP3: „Integrative Datenanalyse“

- Primäranalyse und Organisation der Daten aus der „omics“-Charakterisierung von Zelllinien aus AP2 (HMGU/BfS/LMU)
- Integration der Daten der verschiedenen molekularen Ebenen und der Phänotypisierungs-Daten aus AP1 und AP2 (HMGU/BfS/LMU/IFZ)
- Berechnung von Korrelationsmatrizen aus Daten der verschiedenen molekularen Ebenen (HMGU)
- Identifizierung der molekularen Regulationsnetzwerke und Zielmoleküle zur Strahlenüberempfindlichkeit/-resistenz (HMGU/CUB)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: „Identifizierung von Targetproteinen mittels genomischer und epigenomischer Charakterisierung“

Um den Einfluss der potentiell Radiosensitivitäts-modulierenden Kandidatengene *FancA* und *MCM7* in HNSCC-Zellen zu untersuchen, wurden tumorigene HNSCC-Zelllinien (Cal33) mit Doxycyclin-induzierbarer Expression beider Kandidatengene generiert. Die stabilen Subklone wurden an AP5 für die in vivo Analysen übergeben. Für *FancA* konnte weder in vitro noch in vivo eine signifikante Steigerung der Strahlenresistenz in Cal33-Zellen nachgewiesen werden. Da es sich um eine sehr resistente HNSCC-Zelllinie handelt, wurde der Einfluss von *FancA* in Koloniebildungstests nach gamma-Bestrahlung ebenfalls in Kombination mit dem Chemotherapeutikum 5-FU untersucht. Auch hier zeigte sich kein Einfluss von *FancA* auf die Radiosensitivität in Cal33-Zellen. Für das Kandidatengen *MCM7* konnte in vitro keine erhöhte Radiosensitivität nach gamma-Bestrahlung im Koloniebildungstest gezeigt werden (Zellgemisch und Subklone). Nach zusätzlicher 5-FU-Behandlung vor Bestrahlung zeigte sich ein Trend zu besserem Überleben *MCM7*-überexprimierender Zellen bei hohen Dosen. Für weitere Endpunkte nach Bestrahlung (Zellviabilität, Zellzyklus und Apoptose) konnte kein Einfluss der induzierten *MCM7*-Expression nachgewiesen werden. In vivo führte die *MCM7*-Induktion jedoch zu einer tendenziellen Steigerung der Strahlenresistenz dieser Zellen (AP5). Um die *MCM7*-Expression und deren prognostischen Wert in Patientenproben zu untersuchen, wurden immunhistochemische Analysen von *MCM7* in Gewebeproben von 28 Kopf-Hals-Tumor-Patienten (schlechte Prognosegruppe: n=13; gute Prognosegruppe: n=15) durchgeführt. Die Quantifizierung der Färbung erfolgte mit Hilfe der Definiens Software. Es konnte keine differenzielle *MCM7*-Expression in den beiden Prognosegruppen gezeigt werden. Darüber hinaus war kein Unterschied im Gesamtüberleben oder Rezidiv-freien Überleben der Patienten in Abhängigkeit der *MCM7*-Expression zu sehen. Die Ergebnisse zur mechanistischen Aufklärung der *FancA*-vermittelten erhöhten Strahlenresistenz, welche aus den Untersuchungen humaner Keratinozytenzellen mit *FancA*-Überexpression gewonnen wurden, konnten im Journal Cancer Letters veröffentlicht werden.

AP3: „Integrative Datenanalyse“

Die mRNA Mikroarray Analysen aus der Charakterisierung der Zellkulturmodelle strahlenresistenter Tumorzellen und Normalgewebe mit normaler und ausgeprägter Strahlenempfindlichkeit wurden in einer vergleichenden Analyse integriert um Hypothesen für die zentralen molekularen Mechanismen der Strahlenempfindlichkeit zu gewinnen. Hierbei wurden als zentrale Module die molekularen Signalwege Seneszenz, Zellzyklus, Immunsystem und PI3K/Akt identifiziert. Die zentralen Gene dieser Signalwege werden bezüglich einer strahlenmodulierenden Wirkung im Folgeprojekt ZiSstrans systembiologisch charakterisiert.

Für die Analyse der in vivo Radiosensitivität von HNSCC-Zellklonen mit veränderter Radioresistenz nach in vitro Selektion wurden von AP5/AP6 in vivo explantierte Cal33-Klone (mRNA-Expressionsanalysen) erhalten. Alle Tumore (5 Tiere pro Gruppe: parentale Cal33 Zellen, radioresistenter Cal33 Klon und radiosensitiver Cal33 Klon) wurden an Tag 4 nach Bestrahlung (10 Gy) geerntet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Ergebnisse bilden die Grundlage für die Weiterarbeiten im Folgeprojekt ZiSstrans.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Genomic amplification of Fanconi anemia complementation group A (*FancA*) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC): Cellular mechanisms of radioresistance and clinical relevance. Hess J, Unger K, Orth M, Schötz U, Schüttrumpf L, Zangen V, Gimenez-Aznar I, Michna A, Schneider L, Stamp R, Selmsberger M, Braselmann H, Hieber L, Drexler GA, Kuger S, Klein D, Jendrossek V, Friedl AA, Belka C, Zitzelsberger H, Lauber K.; Cancer Lett. 2017 Feb 1;386:87-99. doi: 10.1016/j.canlet.2016.11.014

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 024C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2012 bis 28.02.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 28.02.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 497.520,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lauber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Verbundprojekt sollen in humanen Zelllinien mit genau charakterisierter Strahlenempfindlichkeit veränderte Gene bzw. Proteine erfasst werden. Durch integrative Analyse von molekularen Daten verschiedener Ebenen (Genom, Transkriptom, Epigenom, Proteom und Phosphoproteom) sollen deregulierte Netzwerke und deren zentrale Effektorgene/-proteine identifiziert werden. Über funktionelle *in vitro* und *in vivo* Analysen soll die Bedeutung von Kandidatengenen in der Signalkaskade nach Strahlenschädigung in den verschiedenen Arbeitspaketen näher untersucht werden, dabei insbesondere bereits im Vorhaben 02NUK007C identifizierte Kandidatenproteine. Über zeitaufgelöste Perturbationsexperimente und die Erstellung mathematischer Modelle aus den gewonnenen Daten sollen involvierte Signalkaskaden und potentielle molekulare Angriffspunkte systembiologisch erfasst werden. Mit Hilfe von *in vitro* und *in vivo* (Maus-Xenograft) Experimenten wird dann verifiziert, ob und wie molekular zielgerichtete strahlensensibilisierende und -protektive Substanzen („small molecules“) diese Signalwege beeinflussen. Ziel ist, die molekularen Mechanismen der strahlensensitivitätsmodulierenden Netzwerke und die Wirkung dieser pharmakologischen Substanzen darauf aufzuklären.

Das Verbundprojekt besteht aus 5 Projektpartnern: Bundesamt für Strahlenschutz, AG-SG1.1, Koordination und AP1 (Dr. S. Hornhardt, Dr. M. Gomolka), Helmholtzzentrum München, Abteilung für Strahlenzytogenetik, AP2 (Prof. Dr. H. Zitzelsberger, Dr. V. Zangen), AP3 (Prof. Dr. H. Zitzelsberger, Dr. K. Unger), Charite Berlin, Institut für Pathologie, AP4 (Prof. Dr. Nils Blüthgen), Universitätsklinikum Essen, Institut für Zellbiologie, AP5 (Prof. Dr. V. Jendrossek), LMU München, Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, AP6 (Prof. Dr. K. Lauber).

In dem hier vorliegenden Bericht wird AP6 „Einfluss potenziell radiosensitiverender und radioprotektiver Substanzen“ beschrieben. Ziel ist die Generierung verschiedener radioresistenter HNSCC-Zellklone aus HPV-positiven und -negativen Ausgangszelllinien. Anschließend soll versucht werden, diese mit Hilfe von molekular zielgerichteten Substanzen, die die Signalwege der Strahlenresistenz adressieren, *in vitro* und *in vivo* zu radiosensibilisieren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Arbeitspaket 6: Einfluss potenziell radiosensitiverender und radioprotektiver Substanzen

AP6.1: Generierung von strahlenresistenten HNSCC-Zelllinien für AP1, AP2 und AP4 (HMGU/LMU)

AP6.2: *In vitro*-Analyse der Strahlenwirkung nach Modulation durch Substanzen, die zielgerichtet in Signalwege angreifen, die im Rahmen des Projektverbundes als potentielle Zielstrukturen für eine therapeutische Manipulation der Strahlenempfindlichkeit identifiziert wurden (LMU/CUB)

AP6.3: *In vivo*-Analyse der Strahlenwirkung nach Behandlung mit Substanzen, die unter AP6.2 strahlensensitivitätsmodulierende Wirkung gezeigt haben (LMU/IFZ)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Ad1.: In abschließenden Untersuchungen wurden von den generierten strahlenresistenten und strahlensensitiven Klonen Zeitreihen-Proben nach Bestrahlung gesammelt. Die Expression zentraler SASP-Komponenten wurde anhand von qRT-PCR-Untersuchungen gemessen und befindet sich im Rahmen des Folgeprojekts ZiSSTrans in Auswertung. An AP4 wurden zugehörige Zellkulturüberstände zur Sekretomanalyse weitergeleitet.

Ad2.: Eine Publikation zur zielgerichteten Radiosensibilisierung anhand eines SASP-Inhibitors befindet sich aktuell in Vorbereitung.

Ad3.: Von AP5 wurden Tumorigenität und Radiosensitivität der in 1.) generierten Zellklone untersucht. Explantierte Tumore wurden an uns zurückgesendet. Von diesem Material wurden qRT-PCR-Analysen zentraler SASP-Regulatoren durchgeführt. Die weitergehende Analyse findet im Rahmen des Folgeprojekts ZiSSTrans statt. Darüber hinaus wurde Tumormaterial an AP4 zur Sekretomanalyse weitergeleitet. Hier finden die entsprechenden Analysen ebenfalls im Rahmen des Folgeprojekts ZiSSTrans statt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wurde mit Feb 2017 abgeschlossen. Ein Folgeprojekt ZiSSTrans wurde zur Förderung empfohlen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publizierte Abstracts (Kongressbeiträge bei der DEGRO Jahrestagung 2017 in Berlin)

U. Schötz, M. Orth, M. Selmansberger, J. Schuster, B. Stegen, U. Ganswindt, C. Maihöfer, L. Schüttrumpf, J. Heß, K. Unger, H. Zitzelsberger, C. Belka, K. Lauber: Increased CD44v6 expression confers radioresistance in subsets of HNSCC. *Strahlenther Onkol* (2017) 193(Suppl 1): S85

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	Förderkennzeichen: 02 NUK 024D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und -resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2012 bis 28.02.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 28.02.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 518.964,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Jendrossek

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Verbundprojektes sollen molekulare Zielstrukturen und Signalnetzwerke identifiziert werden, die eine Strahlenüberempfindlichkeit bzw. -resistenz von Tumor- und Normalgewebszellen determinieren, um so neue Ansatzpunkte für die therapeutische Modulation der Strahlenempfindlichkeit zu erhalten. Hierzu werden humane Zelllinien mit definierter Strahlenempfindlichkeit auf verschiedenen molekularen Ebenen (Genom, Transcriptom, Epigenom, (Phospho)-Proteom) untersucht und die erhaltenen phänotypischen und molekularen Daten einer integrativen Datenanalyse unterzogen, um deregulierte Signalnetzwerke und zentrale Effektorgene/-proteine mit Bedeutung für die Strahlenempfindlichkeit zu identifizieren. Als *proof-of-concept* wird die Expression ausgewählter Kandidatengene in definierten Zellsystemen kontrolliert gesteigert bzw. gemindert, um die funktionellen Konsequenzen der veränderten Expression der Kandidatengene für die zelluläre Strahlenempfindlichkeit *in vitro* (Zellkultur) und *in vivo* (Xenograft-Mausmodell) zu verifizieren. Mithilfe zeitaufgelöster Perturbationsexperimente und mathematischer Modelle soll der Einfluss der veränderten Kandidatengen-Expression auf Signalnetzwerke modelliert und auf Basis dieser Modelle neue Angriffspunkte für potentielle radiosensibilisierende/radio-protective Substanzen vorhergesagt werden. Die Effektivität potentiell strahlensensitivitäts-modulierender Substanzen wird anschließend *in vitro* und *in vivo* überprüft.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist Teilprojekt eines Verbundes dessen 6 Arbeitspakete von 5 Projektpartnern in München (BfS, LMU, HMGU), Berlin (CUB) und Essen (IFZ) gemeinsam bearbeitet werden.

- AP1: Identifizierung und Validierung von Targetproteinen
- AP2: Identifizierung von Targetgenen mittels (epi)genomischer Charakterisierung
- AP3: Integrative Datenanalyse
- AP4: Systemanalyse von Kandidaten-Targets
- AP5: Verifizierung von neuen molekularen Zielstrukturen
- AP6: Einfluss potenziell radiosensitivierender und radioprotektiver Substanzen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeiten des IFZ in AP5.1 und 5.2: Entfällt, da nicht vorgesehen.

Arbeiten des IFZ in AP6.1 und 6.3:

Die Überprüfung der in vivo Strahlensensitivität der drei Varianten einer tumorigenen HNSCC Zell-linie mit veränderter Radiosensitivität wurde durchgeführt. Hierzu wurden Zellen der drei Klone subkutan in immunkompetente-NMRI Mäuse transplantiert und ein Teil der Tumore bestrahlt (Einzeitbestrahlung mit 10Gy). Dabei wurden zum einen die Untersuchungen in den Einzelgruppen mit einer Anzahl von Mäusen durchgeführt, die eine statistisch abgesicherte Aussage zur Wachstumsverzögerung erlaubt (Generierung der Wachstumskurven). Zum anderen wurden in einem zusätzlichen Versuch die Tumoren unmittelbar nach Therapieende zur Überprüfung der Signalwegs-modulation entnommen. Ein Teil der ex vivo Proben aus diesen Versuchen wurden für die Omics-Analysen an den Partner HMGU weitergegeben. Die Gewebe werden derzeit weiter aufgearbeitet. Die entsprechenden Proben und Analysen können für die im Rahmen des Folgeprojektes ZiSStrans beschriebenen Analysen der in ZiSS identifizierten Netzwerke/ Kandidaten genutzt werden.

Die Inhibitor-Experimente bzgl. eines zweiten Kandidatengens (Analysen zur Identifikation von Signalnetzwerken mit Bedeutung für die Normalgewebstoxizität; vgl. Zwischenbericht 2016/2) sind abgeschlossen. Hierbei wurde zusätzliche in vivo Experimente in einem Mausstamm mit Defizienz für dieses Kandidatengens durchgeführt. Diese Arbeiten werden zurzeit zusammengefasst und in eine Veröffentlichung eingearbeitet. Des Weiteren wurden Revisions- und Abschlussarbeiten für eine weitere Publikation durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten gemäß der Planung sind jetzt abgeschlossen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Es wurde eine Veröffentlichung publiziert sowie ein Manuskript zur Publikation angenommen.

Panic A, Kettler J, Reis H, Sak A, Herskind C, Maier P, Rübber H, Jendrossek V, Klein D.: Progression-related loss of stromal Caveolin 1 levels fosters the growth of human PC3 xenografts and mediates radiation resistance *Sci Rep* 2017 Jan 23;7:41138. doi: 10.1038/srep41138

De Leve S, Wirsdörfer F, Cappuccini F, Schütze A, Meyer AV, Röck K, Thompson LF, Fischer JW, Stuschke, M, Jendrossek V.: Loss of CD73 prevents accumulation of alternatively activated macrophages and the formation of pre-fibrotic macrophage clusters in irradiated lungs. Accepted for publication in *FASEB J*

Zuwendungsempfänger: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 024E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2012 bis 28.02.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 28.02.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 445.866,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Blüthgen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel ist die Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die der zellulären Strahlenüberempfindlichkeit und -resistenz von Tumor- und Normalgewebe zu Grunde liegen. 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) und der Abteilung für Strahlenzytogenetik des Helmholtz Zentrums München (HGMU).

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

CUB ist federführend verantwortlich für die systembiologischen Analysen im Konsortialprojekt, das folgende Arbeitspakete umfasst:

- AP4.1: Eingrenzung der zu untersuchenden Pathways/Zeitpunkte: Mit Hilfe von Luminex-Messungen sollen geeignete Pathways und Zeitpunkte identifiziert werden.
- AP4.2: Semi-quantitative Analyse der Signalnetzwerke in ausgewählten Zelllinien: In ausgewählten Zelllinien werden Modelle der Signalnetzwerke erstellt.
- AP4.3: Validierung der Ergebnisse in einem breiteren Panel von Zelllinien. Vorhersagen des Modells werden in verschiedenen Zelllinien getestet.
- AP4.4: Simulation von Perturbation. Basierend auf dem Modell werden unterschiedliche (evtl. Kombinationen) von kleinmolekularen Inhibitoren verwendet.
- AP4.5: Identifizierung transkriptioneller regulatorischer Netzwerke anhand von Genexpressionsdaten. Aus den Genexpressionsdaten werden regulatorische Netzwerke identifiziert mit Hilfe von mathematischen Modellen sowie Wissen aus Datenbanken.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Aufgrund von technischen Problemen sowie Lieferschwierigkeiten für Assays mussten die Messungen für die sekretierten Faktoren in Kooperation mit der AG Lauber in das Folgeprojekt verschoben.

Die verbleibenden 2 Monate wurden dazu genutzt, die Mess- und Modellierungsmethoden soweit zu optimieren, dass sie im Folgeprojekt in einem translationalen Kontext genutzt werden können (d. h. sie in Tumorproben nutzbar sind).

Ausserdem wurde an der Publikation der Modellungsverfahren gearbeitet, und die Modellierungsverfahren beispielhaft an publizierten Daten und Daten aus dem ZiSS-Projekt getestet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wurde im Februar 2017 abgeschlossen. Ein Folgeprojekt ZiSSTrans wurde zum März 2017 begonnen, in dem die Ergebnisse und Modelle aus ZiSS in translationale Fragestellungen überführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 030A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.11.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.582.482,00 EUR	Projektleiter: 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

- AP1.2: Die Ergebnisse aus den Laborexperimenten wurden auf die Bedingungen in situ auf der Zugspitze übertragen und Freisetzungen der über die Winter 2014/2015 und 2015/2016

akkumulierten Umweltradionuklide mit dem Schmelzwasser quantitativ und zeitlich abgeschätzt. So hat in beiden Frühjahren die Freisetzung von > 50 % der Radionuklide mit dem ersten Schmelzwasser in der ersten Maiwoche begonnen und abhängig von der Verteilung und Dauer der Schmelz- und Frostperioden 16 d (2015) bzw. nur 4 d (2016) gedauert. Die Laborexperimente mit Schneesäulen wurden weiter ausgewertet. Die Ergebnisse zeigen, dass Radionuklide, die an der Oberfläche verbleiben, schneller durch den Schnee transportiert werden als Nuklide, die von unkontaminiertem Schnee überdeckt werden.

- AP1.3: Die Ergebnisse des Projektes wurden zusammengefasst und zur Publikation in Scientific Reports eingereicht. Aktuell wird der Abschlussbericht verfasst.
- AP2.5: Alle Laborexperimente sind beendet, und die gewonnenen Ergebnisse konnten erfolgreich mit einem weiterentwickelten Modell simuliert werden. Momentan werden die Ergebnisse in einer Publikation zusammengefasst.
- AP3.1: Es wurde eine Software in C# entwickelt, die erlaubt, die Dosiskoeffizienten samt ihren Unsicherheiten für ausgewählte Lanthanoide zu berechnen. Dazu wurde eine statistische Methode zur Generierung von Samples (Latin-Hypercube-Sampling-Methode) sowie eine Methode zum Lösen von Differenzialgleichungen (Rosenbrock-Methode) implementiert. Zum Schluss wurden die berechneten Dosiskoeffizienten mit den in der Literatur von der ICRP veröffentlichten Werten verglichen. Die Variationskoeffizienten von Modellparametern und von den S-Faktoren liegen im Bereich zwischen 16 % und 32 % bzw. zwischen 0,16 % und 33 %. Die geometrische Standardabweichung variiert bei den S-Faktoren zwischen 1,03 und 14,03. Daraus resultierte ein Unsicherheitsfaktor für die Dosiskoeffizienten von Ce-141 und Ce-144 zwischen 1,02 und 11,67.
- AP4.2: Die in der Kooperation mit der Uni Bremen erstellten Abflussdaten wurden erweitert und zur Kalibrierung des Abwassermodells in ++Systems verwendet. Es stellte sich heraus, dass in Modellrechnungen keine nennenswerte Kontamination des Abwassers bei realistischen Werten für die Luftkontamination durch Radionuklide nach Nuklearunfällen zu erwarten ist. Die Ergebnisse der Modellrechnungen sollen in weiteren Szenarien verifiziert werden.
- AP5: Vom 4.-5.4.2017 fand in Lindau am Bodensee im Rahmen des Abschlussworkshops auch die TP5 Sommerschule statt. Die Nachwuchswissenschaftler/innen stellten die Ergebnisse ihrer Arbeitspakete vor. Zusätzlich hielt Dr. Jan-Wolfhard Kellmann, Leiter der Geschäftsstelle LOEWE-Zentrum "Synthetische Mikrobiologie" der Uni Marburg" einen Vortrag über "The Art of Grantsmanship", in dem er wertvolle Tipps und Tricks zur Drittmittelantragstellung gab. Zwei Wissenschaftlern wurde die Teilnahme an internationalen Konferenzen finanziert. Schließlich wurde der Aufenthalt von vier Studenten/Doktoranden an einem Partnerlabor von TransAqua unterstützt („Laboraustausch“).

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeitspakete werden Ende geführt und der Abschlussbericht verfasst.

Die Homepage (<http://transaqua.helmholtz-muenchen.de>) wird fortlaufend mit News, Terminen sowie neuen Publikationen aktualisiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 030B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.10.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 164.749,00 EUR	Projektleiter: 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

- Messungen zu Temperaturabhängigkeiten
- Aufbau einer Detektorkühlung zur Rauschreduzierung
- Validierungen der Simulationsergebnisse
- Weiterentwicklung des Auslese- und Analyseprogramms
- Programmierung einer softwarebasierten Koinzidenzmessung

4. Geplante Weiterarbeiten

- Weitere Arbeit an der Programmierung einer softwarebasierten Koinzidenzmessung
- Wasserausbreitungssimulationen zur Identifizierung bestmöglich geeigneter Einsatzorte
- Optimierung der Detektorkühlung zur Rauschreduzierung
- Das Auslese- und Analyseprogramm soll in seiner Handhabung und seinen Möglichkeiten den Anforderungen entsprechend weiterentwickelt werden
- Optimierung des Prototyps mit dazugehöriger Charakterisierung

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag DPG-Tagung Münster, März 2017

Vortrag TransAqua-Abschlussworkshop Lindau, April 2017

Vortrag 3. Projektstatusgespräch zur BMBF-geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung
Dresden, April 2017

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		Förderkennzeichen: 02 NUK 030C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 30.11.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 398.304,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Büchel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das hier vorgestellte 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: Ein relevantes Gebiet bei Heringen (Werra) wurde hydrochemisch kartiert und Salzquellen dokumentiert. Hydrochemische Untersuchungen an stark salzbelasteten Quellen im Randbereich der Rückstandshalde Hattorf (Phillipsthal) zeigten erhöhte Leitfähigkeiten und Radionuklid/Schwermetall-Konzentrationen. An diesen Quellen wurden mikrobiologische Analysen durchgeführt, deren Ergebnisse einen Einblick in Prozesse in diesem Gesteinstyp ermöglichen sollen.
- AP3: Für die Schwarzpelite wurden zusätzliche gammaspektrometrische Messungen unternommen. Aus Rückstellproben der Mikrokosmen-Versuche konnten die im Vorfeld analysierten ^{238}U -, ^{226}Ra - und ^{228}Ra -Aktivitäten bestätigt und somit der Prozess der Mobilisierung von ^{226}Ra untermauert werden. Die von den Bakterien produzierten Siderophore werden mittels ESI-MS untersucht. Die Ergebnisse sollen mit den vorhergehenden Analysen der Proben-Festphasenextrakte, bei denen Eisenkomplexe nachgewiesen worden, korreliert werden. Die räumlich aufgelöste Analyse der inokulierten Schwarzschieferplatten mittels LA-ICP-MS zeigte u. a. eine Akkumulation von Mn und Sr in der Biomasse von *Arthrobacter* sp. MB 109 sowie von Al bei *Mucor* sp. MF 83, *Arthrobacter* sp. MB 110/*Umbelopsis* sp. MF 110. Zur weiteren physiologischen Charakterisierung der Isolate wurden Temperatur- und Schwermetall-Toleranztests auf verschiedenen Medien durchgeführt. Erste Ergebnisse weisen auf erhöhte SM-Toleranzen bei den Isolaten *Mucor* sp. MF 83, *Arthrobacter* sp. MB 110/*Umbelopsis* sp. MF 110, *Mortierella* sp. MF 26 und *Conidiobolus* sp. MF 91 hin. In Kooperation mit dem HZDR wurden U-Sorptionstests mit ausgewählten Isolaten durchgeführt, welche anschließend unter Verwendung der Time-resolved Laser-induced fluorescence spectroscopy analysiert werden. Mit den Zygomyceten wurden zudem phylogenetische Analysen und Kreuzungstest durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die gewonnenen Isolate aus den salzbelasteten Quellen werden mittels Sequenzierung identifiziert. Physiologische Untersuchungen (z. B. Salztoleranztests, Schwermetalltests) werden durchgeführt.
- AP2: Die Gesteinsproben aus der Umgebung des Kreuznacher Rhyoliths werden gammaspektrometrisch (VKTA, Dresden) und geochemisch charakterisiert.
- AP3: Für einen weiteren Nachweis der Interaktion zwischen Schiefer und Mikroorganismus werden die zuvor inokulierten und kultivierten Schieferstückchen mittels Raman-Spektroskopie oder Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) untersucht. Zur Verifizierung der SM-Akkumulation, die durch LA-ICP-MS gefunden wurde, sollen Mikrowellenaufschlüsse der Trockenbiomasse durchgeführt und ausgewertet werden. Die Erstellung von Publikationen wird fortgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Burow, K., Grawunder, Erhardt R., A., Harpke, M., Schäfer, D., Bock, S., Dietrich, N., Merten, D., Kothe, E., Büchel, G. (2017): Microbially-induced release of elements/radionuclides. 6th International Conference on Microbial Communication for Young Scientists (MiCom), Jena.
- Hellwig, S. (2017): Hydrochemische Kartierung: Großensee (TK 10 5025-SO). Projektmodulbericht. Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Hellwig, S. (2017): Hydrochemische Kartierung und mikrobiologische Charakterisierung zweier salzbelasteter Quellen, Hattorf/Phillipsthal. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 030D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 317.916,00 EUR	Projektleiter: Dr. Riebe	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Freisetzung von Radionukliden aus kerntechnischen Anlagen im Rahmen zulässiger Emissionen führt zu einer diffusen Belastung von großräumigen Reservoirs wie der Atmosphäre, den Ozeanen und Binnengewässern und der Böden. Im Rahmen des Verbundprojektes „Strahlung und Umwelt III: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen (TransAqua)“ wird im vorliegenden Arbeitspaket die Sensitivität von Trinkwassergewinnungsgebieten – einem nicht überdeckten Grundwasserleiter und zweier Talsperren – gegenüber dem Eintrag von künstlichen Radionukliden untersucht. Basierend auf dem Förderkonzept "Grundlegende FuE-Arbeiten in der nuklearen Sicherheits- und Entsorgungsforschung zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses und zum Kompetenzerhalt" des BMBF bietet es die Möglichkeit zur Ausbildung qualifizierten Nachwuchses in der Radioökologie und eröffnet aufgrund der Relevanz für die Beurteilung von radioaktiven Altlasten und auch im Hinblick auf Fragen der Langzeitauswirkungen von Endlagern radioaktiver Abfälle Zukunftsperspektiven für Nachwuchswissenschaftler.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Zusammenstellung der Kenntnisse über Stoffkreisläufe (Stoffflüsse, Inventare, Austauschzeiten, Reaktionen)
- AP2: Organisation der Probenahme, Einrichtung der Messstellen
- AP3: Entnahme von Gewässer-, Sediment- und Bodenproben
- AP4: Vorbereitung der Proben für die Analyse (radiochemische Trennung etc.)
- AP5: Messungen (LSC/AMS/ICP-MS/Gammaspektrometrie), Auswertung der Ergebnisse
- AP6: Modellierung, Langzeitsicherheitsanalyse

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP3: Die Beprobung zweier Talsperren im Westharz (Söse- und Granetalsperre) wurde im Frühjahr nachgeholt. Die Entnahme der letzten Grundwasserproben aus den Multilevel-Messstellen der BGR und von weiteren Bodenproben auf den dazugehörigen Flächen wurde ebenfalls im Frühjahr durchgeführt.
- AP4: Die Herstellung von Gamma-Messpräparaten aus großvolumigen Wasserproben wurde fortgesetzt. Die Vorversuche für die gleichzeitige Abtrennung von ^{90}Sr und Plutonium-Isotopen aus solchen Probenmengen wurden erfolgreich beendet, so dass die Aufarbeitung der Grund- und Oberflächenwasserproben durchgeführt werden konnte.
- AP5: Die bisherigen ^{90}Sr -Messungen von Grund- und Oberflächenwasser ergaben für die meisten Proben Werte unterhalb der Nachweisgrenze. Für Grundwasser wurden lediglich für zwei Grundwassermessstellen (Fördertiefe 2,65 m und 4,20 m) 8 ± 1 und 9 ± 1 mBq L^{-1} gefunden. Mit der Fertigstellung der letzten Ergebnisse, insbesondere aus den AMS-Messungen für Plutonium, wird für September gerechnet. Auch bei der Bestimmung von ^{137}Cs im Grundwasser wurden nur für einige Messstellen in geringen Tiefen (Fördertiefen 2,65 m, 4,20 m, 4,50 m) ^{137}Cs -Mengen oberhalb der Nachweisgrenze ermittelt. Sie lagen bei $0,71 \pm 0,20$, $1,05 \pm 0,19$ bzw. $0,84 \pm 0,21$ mBq kg^{-1} . Auch die Ergebnisse für das Rohwasser und das Wasser der Sösetalsperre lagen in diesem Bereich, während die Oberflächengewässer aus dem Fuhrberger Feld Werte im Bereich von $2,9 \pm 0,3$ bis $3,9 \pm 0,3$ mBq kg^{-1} zeigten. Die mittels AMS für Grundwasserproben verschiedener Messpunkte aus jeweils 3 Tiefen (4, 10, 15 bzw. 17 m) gemessenen und normierten ^{14}C -Werte lagen im Bereich von 57 bis 89 PMC (percent modern carbon) bzw. $-28,2$ bis $-17,6$ ‰ für $\delta^{13}\text{C}$ und zeigten keine Tiefenabhängigkeit.

4. Geplante Weiterarbeiten

Erstellung des Abschlussberichts zum 30. November 2017.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 030E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 30.11.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 140.292,00 EUR	Projektleiter: 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

In diesem Zeitraum haben wir uns weiterhin auf die Entwicklung der Methoden zum höchstempfindlichen Nachweis von ^{93}Zr und ^{99}Tc konzentriert. Wegen der hohen Spaltausbeuten und ihrer langen Halbwertszeiten sind ^{93}Zr und ^{99}Tc sehr wichtige Nuklide bei der Sicherheitsbewertung in der Umwelt. Das größte Problem bei der massenspektrometrischen Bestimmung von ^{99}Tc ist das stabile Isobar ^{99}Ru und beim ^{93}Zr das stabile Isobar ^{93}Nb . Als Methode wurde wiederum unser GAMS System eingesetzt. Hier geschieht die Isobaren-Trennung mittels eines gasgefüllten Magneten plus einer Ionisationskammer mit 5 Anoden. Bei dem Verhältnis $^{93}\text{Zr}/\text{Zr}$ konnten wir uns nicht wesentlich verbessern, wir erreichen nun $3 \cdot 10^{-11}$ (bisher $5 \cdot 10^{-11}$). Momentan sehen wir keine Möglichkeit diesen extrem empfindlichen Wert weiter zu unterbieten.

Wie bereits berichtet ist ein wichtiger Punkt bei der Messung von ^{99}Tc die Verwendung eines anderen langelebigen Tc Isotopes als Spike bei der Chemie aber auch bei der AMS-Messung der Proben. Geeignet ist hierfür ^{97}Tc ($T_{1/2} = 4 \cdot 10^6 \text{a}$). Da dies nicht kommerziell erhältlich ist, mussten wir es uns selber herstellen. Dazu wurde hochangereichertes ^{96}Ru im Dezember 2016 mit thermischen Neutronen am FRM II in Garching bestrahlt und dabei das kurzlebige ^{97}Ru ($T_{1/2} = 2.9 \text{d}$) erzeugt. Dies zerfällt dann über Elektroneneinfang zum ^{97}Tc . Da jedoch noch Spuren von ^{102}Ru im angereicherten Material vorhanden sind, wurde gleichzeitig auch ^{103}Ru ($T_{1/2} = 39.35 \text{d}$) erzeugt. Nach zwei Halbwertszeiten Abklingzeit (einige kBq Restaktivität) haben wir erst gegen Ende Februar 2017 mit der Trennchemie Ru-Tc begonnen. Es stellt sich nun heraus, dass die Trennchemie Ru-Tc wesentlich schwieriger ist als angenommen. Hierzu müssen umfangreiche Vorversuche durchgeführt werden, die gegenwärtig noch andauern. Da wir nicht genau vorhersagen können, wann wir die Prozedur erfolgreich bei unserer bestrahlten Ru-Probe anwenden können, haben wir parallel, über eine Kernreaktion $^{93}\text{Nb}(^7\text{Li},3\text{n})^{97}\text{Ru}$ (hierbei wurde eine dünne ^{93}Nb -Folie mit $32 \text{MeV } ^7\text{Li}$ beschossen), das gewünschte ^{97}Tc (aus dem Zerfall vom ^{97}Ru) erzeugt. Die Trennchemie Nb-Tc ist bekannt und wesentlich einfacher durchzuführen. Leider hatten wir erst ab Mitte Juni die Möglichkeit die Nb-Probe an unserem Tandembeschleuniger in Garching zu bestrahlen. Nach chemischer Abtrennung hatten wir dann bereits bei einer Messung Anfang Juli das ^{97}Tc zur Verfügung. Es konnte nachgewiesen werden und damit wurde die Trennchemie erfolgreich bestätigt. Der gleichzeitig beobachtete relativ große Untergrund vom stabilen ^{97}Mn sollte sich durch einen weiteren Trennschritt signifikant reduzieren lassen. Ebenfalls bei der Messung Anfang Juli ist uns bereits erstmalig der qualitative Nachweis von ^{99}Tc auf sehr niedrigem Niveau gelungen. Der positive Bescheid zur kostenneutralen Verlängerung des Vorhabens wird uns nun erlauben, unter Verwendung dieses Spikes eine erste quantitative Messung von ^{99}Tc in einer Umweltprobe durchzuführen. Seit Anfang dieses Jahres beschäftigt sich ein Masterstudent mit dem Nachweis von ^{99}Tc . Dies erlaubt uns auch nach der Beendigung der Doktorandenstelle das Thema zügig zu bearbeiten und erfolgreich innerhalb der gewünschten Verlängerung zu beenden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeiten sind wie oben beschrieben, geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Frühjahrstagung der DPG, 6-10 März Mainz, Poster
Abschluss-Workshop, 4/5 April Konstanz, Vortrag

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 030F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 30.11.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 596.288,00 EUR	Projektleiter: 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 α -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: Als wichtige Bindungsstelle des Glycoproteins Mucin, ein wichtiges Schutzprotein des menschlichen Gastrointestinaltraktes, wurde die N-Acetylneuraminsäure (NANA) weiter untersucht. Dabei standen vor allem strukturelle Untersuchungen zum gebildeten Komplex Eu-NANA im Vordergrund. Hierzu wurden auch theoretische Berechnungen durchgeführt. Dabei wurden verschiedene Bindungsstellen und Komplexe in Betracht gezogen. Im energetisch niedrigsten berechneten Komplex wird Eu(III) über die Carboxylgruppe und terminalen OH-Gruppen der Glycerol-Seitenkette der NANA gebunden. Der Zucker weist durch die Komplexierung nicht mehr die zuckertypische Sessel-Konformation auf, sondern eine Boot-ähnliche Konfiguration. Diese Hypothese wird vor allem durch die NMR-Ergebnisse unterstützt. Aufgrund der Überlagerung der Schwingungsbanden der Amid- und der Carboxylgruppe kann mit Hilfe der IR-Spektren eine Beteiligung der Carboxylgruppe nur vermutet werden. Die ^{13}C -Spektren bei pH 4,5 und einem 1:1-Verhältnis von NANA zu Sm^{3+} zeigen eine Verschiebung des C1-Atoms der Carboxylgruppe, des benachbarten C2-Atoms sowie der C8- und C9-Atome der Glycerol-Seitenkette. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass mehrere verschiedene Komplexe nebeneinander vorliegen. Die Erhöhung des pH-Wertes auf 6 resultiert in stark verbreiterten (^1H) bzw. verrauschten (^{13}C) Banden, sodass eine Zuordnung nicht mehr erfolgen kann. Dieser Effekt wurde ebenfalls in den IR-Spektren beobachtet. Eine mögliche Ursache könnte eine geschwächte Komplexierung zwischen Sm^{3+} bzw. Eu^{3+} und NANA durch zum Beispiel Hydroxid-Ionen sein.

In Zusammenarbeit mit dem HMGU (Frau Dr. Höllriegl) wurden in den Blutplasma-Proben der HMGU, die aus biokinetischen Versuchen zur Ce(III)-Verteilung erhalten wurden, die Ce-Gehalte mit ICP-MS bestimmt.

AP4.3: Mit einer im Labor installierten Pilotanlage (Volumen ca. 100 L) wurden weiterführende Experimente zur U(VI)-Reduktion durchgeführt. In zwei Versuchsdurchführungen konnte nachgewiesen werden, dass eine mikrobiell induzierte Reduktion des U(VI) durch Zugabe von Glycerol auch im industriellen Großmaßstab möglich ist. Das Flutungswasser aus Königstein wurde zu Beginn des Experimentes mit N_2 begast und mit 10 mM Glycerin versetzt. Anschließend wurde die Anlage luftdicht verschlossen und bei Raumtemperatur für 4 - 6 Wochen inkubiert. Über den gesamten Zeitraum fand ein Monitoring des Redoxpotentials, des pHs und der Temperatur statt. Proben wurden regelmäßig für die Bestimmung des Uran-Gehaltes mittels ICP-MS sowie für die Überprüfung der U(VI)-Reduktion mittels TRLFS und UV-vis-Spektroskopie entnommen. Zur Bestimmung der mikrobiellen Diversität in der 100 L Pilotanlage wurde nach Beendigung des Experimentes zunächst die genomische DNA isoliert und PCR Fragmente mittels 16S rRNA Primern amplifiziert. Diese wurden anschließend kloniert und die klonierten DNA-Fragmente sequenziert. Es konnte gezeigt werden, dass in der 100 L Pilotanlage anaerobe, metallreduzierende Mikroorganismen durch Zugabe einer C-Quelle angereichert werden. Eine quantitative Aussage zur mikrobiellen Diversität steht noch aus.

In kinetischen Batchexperimenten wurde die Uran-Speziation im Gram-negativen Bakterienstamm *Acidovorax facilis* spektroskopisch untersucht. TRLFS Untersuchungen zeigten deutlich eine zeitabhängige Bindung des Urans an die Zellkomponenten. Uran wird in der ersten Stunde der Inkubation hauptsächlich an Phosphatgruppen der Lipopolysaccharide der äußeren Membran gebunden. Erst danach sind sowohl phosphorylische als auch carboxylische Bindungen des Urans an Lipidosacchariden und an Peptidoglycan der Zellmembran von *Acidovorax facilis* nachweisbar, wie es die Untersuchung nach 24 - 48 h Inkubation zeigte.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP3.2: Die Auswertungen zu den strukturellen Untersuchungen des Eu-NANA-Komplexes werden fortgesetzt und die Ergebnisse in eine Publikation zusammengefasst. Außerdem wird die Dissertation von Claudia Wilke verfasst und das Promotionsverfahren abgeschlossen.

AP4.3: Den Abschluss der Untersuchungen bilden die Experimente zur Uran-Immobilisierung des bereits isolierten Stammes KS1. Mittels TEM-Untersuchungen sollen Aussagen zur Lokalität des Urans möglich sein. Frau Ulrike Gerber wird die Ergebnisse in peer-reviewten Zeitschriften veröffentlichen und eine Dissertationsschrift erstellen.

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. (2017), under review

E. Krawczyk-Bärsch, U. Gerber, et al.: Multidisciplinary characterization of U(VI) sequestration by *Acidovorax facilis* for bioremediation purposes. J. Hazard. Mater. (2017), under review.

Konferenzbeiträge:

A. Barkleit, C. Wilke: Speciation of trivalent actinides and lanthanides in digestive media. International Conference on Environmental Radioactivity ENVIRA2017, 29.05.-02.06.2017, Vilnius, Litauen - VORTRAG

E. Krawczyk-Bärsch, U. Gerber et al.: Bioremediation of uranium contaminated sites by *Acidovorax facilis* - a microscopic and spectroscopic study. BioRemid2017, 9th-10th March 2017, Granada/Spain - VORTRAG.

U. Gerber, E. Krawczyk-Bärsch, T. Arnold et al.: Microbial reduction of uranium by anaerobic microorganisms isolated from a former uranium mine. BioRemid2017, 9th-10th March 2017, Granada/Spain - POSTER.

Zuwendungsempfänger: VKTA - Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 030G
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 30.11.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 326.236,00 EUR	Projektleiter: Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

^{226}Ra und ^{228}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}Ra , ^{228}Ra und ^{224}Ra mit Aktivitätskonzentrationen von einigen 10 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 Bohrkernkerne 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 Bohrkernkerne 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}Ra , ^{224}Ra , ^{223}Ra , ^{228}Ra und ^{222}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 Bohrkernkerne 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

Für Versuche mit Materialien aus Porenspeichern steht der Teil eines Bohrkerns aus einer geothermischen Bohrung im Norddeutschen Becken (Gt/Wa 1/81 Waren) zur Verfügung. Die Laborversuche zur Radium-Freisetzung – mit der Mischprobe der Sandstein- und Ton-Lagen – wurden analog zu den Versuchen mit Kaolin durchgeführt (Flüssigkeit/Feststoff-Verhältnis = 4, $\rho = 22 - 25$ °C, Versuchszeit: 19 d, Salzlösung: 110 g/L). Eine Trennung der Mischprobe in verschiedene Korngrößen war nicht möglich. Das eingesetzte Material hatte eine Korngröße < 63 μm . Die aus den Versuchen resultierenden $^{224}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ - und $^{228}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$ -Aktivitätsverhältnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Bei der Freisetzung von Radium aus dem Bohrkern in Lösung wurde wieder die Anreicherung von ^{224}Ra gegenüber ^{226}Ra und ^{228}Ra festgestellt, welche auf den α -Rückstoß zurückzuführen ist. Mit einem Anteil von 44 % elementspezifischen Prozessen und einem Anteil von 56 % nuklidspezifischem α -Rückstoß zeigen die Versuche vergleichbare Ergebnisse wie die Versuche mit Kaolin. Weiterhin wurde eine leichte Anreicherung von ^{228}Ra gegenüber ^{226}Ra ermittelt. Diese ist nicht auf den α -Rückstoß zurückzuführen. Es wird angenommen, dass das variierende Verhältnis der ^{238}U - bzw. ^{232}Th -Reihen in Sandstein und tonigen Phasen und das unterschiedliche Lösungsverhalten in diesen Phasen das $^{228}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$ -Verhältnis im Fluid ändert.

Erste Vergleiche von Laborversuchen und Simulationen wurden vorgenommen. Mittels Monte-Carlo-Simulationen wurden typische Freisetzungsraten von Radium durch α -Rückstoß ermittelt. Mit diesen, den spezifischen Aktivitäten, den spezifischen Oberflächen und den relativen Anteilen der einzelnen Gesteinskomponenten lassen sich Aktivitätskonzentrationen in Lösung abschätzen. Die Ergebnisse der Laborversuche für Kaolin, Bohrkern und der jeweiligen Simulation sind für ^{224}Ra in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Deutlich wird eine Überschätzung der Aktivitätskonzentration in der Simulation gegenüber den experimentellen Werten. Die Größenordnung der Aktivitätskonzentrationen aus Simulation und Versuchen stimmt allerdings in etwa überein. Als Ursache für die Überschätzung in der Simulation kommt eine unvollständige Benetzung der Oberflächen durch das Fluid in den Laborversuchen in Betracht. Die spezifische Oberfläche wurde mittels Gasmethode (BET) bestimmt, wodurch die für das Fluid zur Verfügung stehende benetzbare Oberfläche möglicherweise überschätzt wird.

Die Zusammenarbeit innerhalb des Teilprojektes 2 wurde fortgesetzt. Vor allem mit dem Teilprojekt 2.4 erfolgte ein verstärkter Austausch hinsichtlich weiterer Versuche, welche sowohl analytisch als auch durch Bewertung der radiologischen Untersuchungen unterstützt wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Durchführung von Experimenten wird fortgesetzt und beendet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Degering, D., Dietrich, N., Krüger, F., Köhler, M.: Ursprung der natürlichen Radionuklide in Thermalwässern; Sächsischer Geothermietag Spezial Bad Schlema 25.1.2017 (Vortrag)

Zuwendungsempfänger: Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 030H
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 391.716,00 EUR	Projektleiter: Dr. Fischer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel von AP1.1 ist die Entwicklung eines Modelles für Fließgewässer (tidenabhängiger Teil der Weser), welches basierend auf Messdaten natürlicher und künstlicher Radionuklide die Konzentrationsverläufe vom Einleiter über Wasser und Schwebstoffe bis zu den Flusssedimenten beschreibt. In AP4.1 soll ein Modell für die Partitionierung und Speziation von natürlichen und künstlichen Radionukliden in und außerhalb von Kläranlagen entwickelt werden. Zur Validierung und Verfeinerung des Modells sollen Aktivitätsmessungen in den einzelnen Anlagenkompartimenten vorgenommen werden.

Vorgesehenes Untersuchungsgebiet ist die Stadt Bremen mit der städtischen Kläranlage Seehausen bzw. dem Fluss Weser. Die Ergebnisse sind für die Prognose der Radionuklidausbreitung nach einem Eintrag im städtischen Bereich und möglicherweise auch für Emissionen aus kerntechnischen Anlagen anwendbar.

Die Ergebnisse aus AP1.1 liefern Radionuklidkonzentrationen, die als Berechnungsgrundlage für den Radionuklidtransfer in aquatischen Organismen, AP1.4 genutzt werden können. Aufgrund der im Projekt verwendeten Messmethode der Gammaskopie ergeben sich Vernetzungsmöglichkeiten mit Arbeitspaket 1.2 "Transport von Radionukliden von einem Schneefeld in Vorfluter". Die Ergebnisse der Speziations- bzw. Partitionierungsmodelle aus AP4.1 können als Inputparameter für weitere Projekte dienen. Beispielsweise kann die ermittelte Verteilung von Radionukliden in der Kläranlage für eine bessere Abschätzung von Dosiskonversionsfaktoren in diesem Kompartiment in AP4.2 hilfreich sein. Weiterhin kann der Output des Kläranlagenmodells mit dem Input für das fluviale Transportmodell aus AP1.1 bzw. für die Reservoirre aus AP2.2 gekoppelt werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1.1: Fließgewässer

Nach Vorarbeiten und Literaturrecherchen zum Stand der Wissenschaft für Transportmodelle von Fließgewässern und Recherchen zu Messmethodik von Flussproben sollen geeignete Messstellen im Verlauf der Weser identifiziert und dort Proben von Sedimenten, Wasser und Schwebstoffen genommen und gammaspektroskopisch untersucht werden. Parallel dazu wird ein fluviales Transportmodell für jedes ausgewählte Radioisotop entwickelt, wobei der Eintrag in das Gewässer, die Ausbreitung und Deposition des Nuklids im Flusssediment berücksichtigt wird. Die experimentellen Ergebnisse werden mit dem Modell verglichen und das Modell ggf. angepasst.

AP4.1: Kläranlage

Zunächst soll eine Literaturrecherche zur chem. Zusammensetzung der Wässer und Sedimente/Schlämme in den einzelnen Kläranlagenkompartimenten und zur Speziation der einzelnen Radionuklide unter den relevanten Bedingungen sowie zu Stoffflussprozessen in Kläranlagen durchgeführt werden. Anschließend wird für jedes Kompartiment mit Hilfe des geochemischen Speziationsprogramms PHREEQC ein Speziationsmodell für ^{131}I und ^{137}Cs (und ggf. für weitere Nuklide) erstellt. Mit Hilfe dieses Modells werden Verteilungskoeffizienten bzw. Retentionsfaktoren für das Stoffflussmodell berechnet. Im nächsten Schritt erfolgt die Messung des zeitlichen Verlaufs der Nuklidkonzentrationen (beispielsweise nach einem Eintrag von ^{131}I durch Schilddrüsenpatienten) und der Partitionierung in den einzelnen Kläranlagenkompartiments. Parallel dazu wird ein Stoffflussmodell für die Kläranlage entwickelt und in MATLAB bzw. C++ implementiert. Danach erfolgt ein Vergleich der experimentellen Daten mit dem Modell und ggf. eine Modifikation des Modells.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Es wurde ein zweidimensionales Modell zur Simulation der Dynamik von ^{131}I in Flusswasser und Sedimenten nach einem Eintrag aus einer Punktquelle entwickelt. Da die Simulationsergebnisse sich im Allgemeinen mit den gemessenen Werten decken, ist anzunehmen, dass das Modell in der Lage ist, realistische Aktivitätskonzentrationen im Wasser und in Ufersedimenten der Weser nach dem Eintrag aus der Kläranlage zu berechnen und möglicherweise im Ereignisfall sogar vorauszusagen. Es wurden abschließende Simulationen zur Validierung des Modells durchgeführt (AP1.1).
- Zurzeit wird eine Dissertation verfasst, welche die in diesem Projekt durchgeführten Arbeiten zum Thema hat. Die ersten Kapitel (Experimente, Ergebnisse, Modellbeschreibung) wurden bereits fertig gestellt (AP1.1).
- Es wurde untersucht, wie stark die Dynamik des ^{131}I in der Kläranlage von relativen Änderungen verschiedener Parameter abhängt. Dabei stellte sich heraus, dass die Konstante für den Übergang von anorganischem Iod in die mit Aluminiumchlorohydrat fällbare Phase eine bestimmende Größe ist (AP4.1).
- Es wurden im Algorithmus des Modells numerische Instabilitäten beseitigt, die unter bestimmten Bedingungen auftraten (AP4.1).

4. Geplante Weiterarbeiten

Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Studien im Projektbericht (AP1.1 und AP4.1)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Der Beitrag "Quantification of medical ^{131}I path from patient to river sediments" wurde für die Tagung "4th International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity" am 03. - 08.09.2017 in Berlin als Poster angenommen worden (AP1.1).

Es wurde der Entwurf eines Artikels mit dem Titel "Medical ^{131}I in River Water and Sediments - Case study of Weser River in NW Germany" fertig gestellt, der nach kleineren Korrekturen bei einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht werden soll (AP1.1).

Die Ergebnisse zur ^{131}I -Verteilung an verschiedenen Entnahmestellen in der Kläranlage und deren Interpretation wurden in einem Artikel zusammengefasst und beim Journal of Environmental Radioactivity veröffentlicht. Referenz: Hormann, V., Fischer H. W., The physicochemical distribution of ^{131}I in a municipal wastewater treatment plant, J. Env. Rad. 178-179, pp. 55-62 (2017). Ein weiterer Artikel über das Modell, die Simulationsergebnisse und den Vergleich mit den Probenkampagnen von 2008 und 2016 wird zurzeit bearbeitet (AP4.1).

Zuwendungsempfänger: Hochschule Ravensburg-Weingarten, Doggenriedstraße, 88250 Weingarten		Förderkennzeichen: 02 NUK 0301
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 139.260,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Klemt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Wie nukleare Katastrophen gezeigt haben, tragen im wesentlichen ^{131}I sowie $^{134,137}\text{Cs}$ zur Dosis für die Bevölkerung bei. ^{137}Cs mit einer Halbwertszeit von etwa 30 Jahren kann relativ lange einen Beitrag zur Dosis für den Menschen hervorrufen. In kleinen, flachen eutrophen Seen sowie in ihren Einzugsgebieten ist Cs zu einem großen Teil reversibel an organische Materie gebunden, wohingegen die Fixierung von Cs an Tonmineral-Partikel von geringerer Bedeutung ist.

Dies hat zur Folge, dass auch viele Jahre nach dem Cs-Fallout noch nennenswerte Mengen Cs aus dem Einzugsgebiet in den See transportiert werden. Die Aktivitätskonzentration im See- und Wasser und der Transfer in Wasserpflanzen und Fische sind relativ hoch. Der Vorsee, etwa 30 km nördlich des Bodensees, ist ein eutropher See, der intensiv zur Befischung genutzt wird. Im Sinne einer langfristigen Strahlenschutzvorsorge soll das Verhalten von Radiocäsium in diesem Seesystem untersucht werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Es soll das ^{137}Cs im Boden des Einzugsgebietes, die Aktivitätskonzentration im Wasser, in den Schwebstoffen des Sees, in Wasserpflanzen sowie in verschiedenen Arten von Fischen gemessen werden. Zusätzlich sollen ^{137}Cs im Sediment und die ^{137}Cs -Bindung an das Sediment untersucht werden.

Die Konzentration der Cs-Konkurrenzen K^+ und NH_4^+ sowie die O_2 -Konzentration, der pH-Wert und die Temperatur des Wassers sollen bestimmt werden. Die zeitabhängige Verteilung und der Transport des ^{137}Cs im Seesystem soll dann mit Hilfe von Compartment-Modellen bzw. mit Sedimentations-Diffusionsmodellen verstanden werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Einzugsgebiet des Vorsees wurden die ^{137}Cs Tiefenverteilung im Boden und das ^{137}Cs -Inventar bestimmt. Über eine Modellierung der Tiefenverteilung wurden die Diffusion und die Konvektionsgeschwindigkeit des ^{137}Cs im Boden bestimmt.

Im Vorsees selber wurden monatlich das gelöste ^{137}Cs im Wasser, das mit den Schwebstoffen assoziierte ^{137}Cs , die Konzentration der Konkurrenzionen und weitere Parameter gemessen. Ein Kompartiment-Modell beschreibt die Zusammenhänge. Die Tiefenverteilung von ^{137}Cs im Sediment wurde an mehreren Positionen gemessen und in Diffusions-Sedimentations-Modellen einschließlich Fixierung und Rücklösung beschrieben.

Die Zeitabhängigkeit der Aktivitätskonzentration von Fischen verschiedener Spezies wurde untersucht und die Parameter eines einfachen Kompartiment-Modells zur Beschreibung der Aktivität in den Fischen bestimmt.

Schließlich wurde die Aktivitätskonzentration von Wasserpflanzen bestimmt um eine Bilanzierung der ^{137}Cs -Verteilung in den verschiedenen Kompartiments des Vorsees durch zu führen.

Die ursprünglich geplanten Messungen wurden vollständig durchgeführt, die Verteilung von ^{137}Cs in den verschiedenen Kompartiments des Vorsees über bis zu 3 Jahrzehnte hinweg wurde mit mathematischen Modellen beschrieben, und so kann nun der Vorsee als flacher eutropher See, der intensiv zum Fischen genutzt wird, exemplarisch als Beispiel für das Langzeit-Verhalten von ^{137}Cs in einem solchen Ökosystems dienen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Laufzeit des Forschungsvorhabens endete am 31.05.2017.

An der Fertigstellung des fachlichen Abschlussberichtes wird gearbeitet.

Gleichzeitig wird eine Publikation für das „Journal of Environmental Radioactivity“ vorbereitet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Ries, T., Putyrskaya, V., Klemm, E., 2017: Accumulation of ^{137}Cs by fish and aquatic plants in a small eutrophic lake. Vortrag auf der International Conference on Environmental Radioactivity ENVIRA 2017, Vilnius, 29.05. - 02.06.2017

Ries, T., Putyrskaya, V., Klemm, E., 2017: Long term ^{137}Cs time dependences in water and different fish species of a small eutrophic lake. Accepted Poster Presentation für die 4th International Conference on Environmental Radioactivity: Radionuclides as Tracers of Environmental Processes (Berlin, 03. - 08. September 2017)

Zuwendungsempfänger: Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 031A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 851.064,00 EUR	Projektleiter: 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

Die zusätzliche Quadrupol Spule zur Korrektur des aktuell dominierenden Abbildungsfehlers erster Ordnung an SNAKE, die im vorherigen Berichtszeitraum installiert wurde, wurde in dem Berichtszeitraum in Betrieb genommen und ausgiebig getestet. Es konnte gezeigt werden, dass das rotational Misalignment nach Optimierung der Quadrupolstärke korrigiert werden kann. Somit sind keine Fehler erster Ordnung in der Abbildung mehr enthalten. Damit kann die Linsenapertur, und damit die zur Verfügung stehenden Ionenströme, etwa vervierfacht werden. Zur Korrektur der Linsenfehler zweiter Ordnung wurden erste explorative Tests unternommen (AP2).

Des Weiteren wurde ein Prototypendesign für eine Erneuerung der Scan-Einheit an SNAKE erstellt, mit dem es möglich ist, die derzeitigen zusätzlichen parasitären Abbildungsfehler von SNAKE, die durch die Scaneinheit, induziert werden, zu korrigieren (AP2).

In Zusammenarbeit mit Teilprojekt 2 wurden weitere Experimente zum Zellüberleben und zur Bestimmung von Chromosomenaberrationen mit abgezählten, auf sub-Mikrometer fokussierten Protonen und Kohlenstoffionen durchgeführt (AP4). Die Experimente zum Zellüberleben sind damit abgeschlossen. Eine Publikation, die alle Experimente des LET-abhängigen Zellüberlebens und auch der Abhängigkeiten zur lokalen Bestrahlungsgeometrie beinhaltet, und auch eine Modellierung der Ergebnisse mittels dem Program LEM IV beinhaltet, ist in Zusammenarbeit der TUM-Gruppe, der GSI Gruppe und der UNiBWM-Gruppe in Vorbereitung (AP5).

4. Geplante Weiterarbeiten

In der restlichen Projektlaufzeit sollen die Korrekturen höherer Ordnung analysiert werden und Strategien entwickelt werden, um diese Linsenfehler höherer Ordnung zu korrigieren. Die Korrektur von parasitärer Hexapolfelder sollen mittels der Bestromung von Korrekturspulen erreicht werden, die an den einzelnen Sektionen von SNAKE installiert wurden (AP2). Ziel ist die Erhöhung der Ionenströme um den Faktor 100, so dass Zeitabhängige Experimente im Sub Millisekunden Bereich möglich werden.

Durch die Verlängerung der Projektlaufzeit ist es möglich, auch die Experimente zu den Chromosomenaberrationen mittels PCC Methode durchzuführen, und so die Aberrationen nahezu unbeeinflusst von Zellzyklusarresten zu bestimmen, so dass ein systematischer Vergleich mit der Berechnung von Chromosomenaberrationen mittels PARTRAC ermöglicht wird.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Chromatin organization revealed by nanostructure of irradiation induced γ H2AX, 53BP1 and Rad51 foci. J. Reindl, S. Girst, D.W.M. Walsh, C. Greubel, B. Schwarz, C. Siebenwirth, G.A. Drexler, A.A. Friedl and G. Dollinger; Scientific Reports 7 (2017) 40616.

The influence of reference radiation photon energy on high-LET RBE: comparison of human peripheral lymphocytes and human--hamster hybrid AL cells. T.E. Schmid, C. Greubel, G. Dollinger and E. Schmid; Radiation and Environmental Biophysics (2017) 1-9.

Live cell imaging of mitochondria following targeted irradiation in situ reveals rapid and highly localized loss of membrane potential. D.W.M. Walsh, C. Siebenwirth, C. Greubel, K. Ilicic, J. Reindl, S. Girst, G. Muggiolu, M. Simon, P. Barberet, H. Seznec, H. Zischka, G. Multhoff, T.E. Schmid and G. Dollinger; Scientific Reports 7 (2017) 46684.

Zuwendungsempfänger: Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 031B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 333.636,00 EUR	Projektleiter: PD Dr. Schmid	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Projekts ist ein verbessertes grundlegendes Verständnis der erhöhten biologischen Wirksamkeit von dicht-ionisierender Strahlung mit Hilfe von neuartigen experimentellen Ansätzen. Als Read-out werden sowohl zytotoxische als auch genotoxische Effekte der unterschiedlichen Bestrahlungsarten in einzelnen Tumorzellen qualitativ und quantitativ bestimmt. Neben Protonen werden auch Experimente mit Deuteronen, Li-, B-, C- und O-Ionen durchgeführt, um die unterschiedliche relative biologische Wirksamkeit (RBW) als Folge von Fokussierung und LET zu charakterisieren. In enger Zusammenarbeit mit Teilprojekt A soll diese Bestrahlungsmethodik optimiert werden, um weitere 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: Etablierung eines modifizierten Zellüberlebens-tests für geringe Zellzahlen
- AP2: Messung dizentrischer Chromosomenaberrationen nach Ionenmatrixbestrahlungen im Vergleich zu homogener Bestrahlung
- AP3: Zellüberlebensexperimente nach Ionenmatrixbestrahlungen im Vergleich zu homogener Bestrahlung
- AP4: Untersuchung der DNS Reparaturkinetik nach Ionenmatrixbestrahlungen im Vergleich zu homogener Bestrahlung
- AP5: Untersuchung von Genexpressionsveränderungen mit Hilfe der Real-Time-PCR nach verschiedener Fokussierung
- AP6: Vergleichende Experimente mit Protonen, Deuteronen, Lithium-, Kohlenstoff und Sauerstoffionen, um die unterschiedliche relative biologische Wirksamkeit (RBW) als Folge von Fokussierung und LET zu charakterisieren

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Februar 2017 fand am MLL-Beschleuniger in Garching eine Strahlzeit mit 33 MeV Lithiumionen (mittlere LET) statt. In dieser Strahlzeit wurde der Einfluss der zufälligen Bestrahlung mit Lithiumionen im Vergleich zu der fokussierten Bestrahlung auf das Zellüberleben untersucht (AP3).

Die Ergebnisse der Zellbestrahlung mit Lithiumionen bestätigen die Ergebnisse der bisherigen Zellbestrahlungen mit Protonen- und Kohlenstoffionen, aus denen klar hervorgeht, dass die relative biologische Wirksamkeit (RBW) von der räumlichen Dosisverteilung stark abhängig ist (AP6).

In einer weiteren Strahlzeit mit Protonen (Niedrig-LET), welche im April 2017 stattgefunden hat, wurde zum ersten Mal in einem Experiment am SNAKE das Zellüberleben nach fokussierter und zufälliger Protonenbestrahlung mit einem variierenden Mikrostrahldurchmesser untersucht (AP3).

Die vorläufigen Ergebnisse dieser Strahlzeit zeigen, dass durch die Verkleinerung des Mikrostrahldurchmessers eine noch mehr erhöhte RBW in Hinsicht auf das Zellüberleben hervorgerufen werden kann.

Das Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen des dizentrischen Tests überein (AP2), mit dem gezeigt werden konnte, dass ein verkleinerter Mikrostrahldurchmesser eine erhöhte Ausbeute an dizentrischen Chromosomen zur Folge hat, wodurch eine gesteigerte Wirksamkeit für die Induktion von Chromosomen Aberrationen nachgewiesen werden konnte.

4. Geplante Weiterarbeiten

Der Förderzeitraum endete am 31.05.2017.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Eine gemeinsame Publikation (in der Zusammenarbeit mit dem Teilprojekt A) über den etablierten Zellüberlebenstest für geringe Zellzahlen wurde eingereicht und wird im August 2017 veröffentlicht.

Eine weitere gemeinsame Publikation (in Zusammenarbeit mit den Teilprojekten A und D) mit den gewonnenen Daten aus den Zellüberlebensversuchen (AP3) ist in Vorbereitung und soll in Kürze eingereicht werden.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 031C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 238.179,00 EUR	Projektleiter: Dr. Friedland	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Projekts ist ein verbessertes grundlegendes Verständnis der erhöhten biologischen Wirksamkeit von dicht-ionisierender Strahlung mit Hilfe von neuartigen experimentellen Ansätzen und weiterentwickelten theoretischen Modellen. Im vorliegenden Teilprojekt sollen das biophysikalische Simulationsprogrammpaket PARTRAC weiterentwickelt und die darin verwendeten Modelle und Ansätze validiert werden, um die Abschätzung von Strahlenrisiken nach Bestrahlung mit Ionen zu verbessern und um Ergebnisse der spurstrukturbasierten Modellrechnungen im Rahmen der therapeutischen Anwendung ionisierender Strahlen für deren Optimierung einsetzbar zu machen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Erweiterung von PARTRAC hinsichtlich der Modellierung von Bestrahlungen in Form einer Matrix einzelner Ionen und fokussierter Ionenbündel.
- AP2: Modellierung initialer DNA-Schäden und dizentrischer Chromosomenaberrationen nach Ionenmatrixbestrahlungen im Vergleich zu Literaturdaten.
- AP3: Konzeption, Entwicklung und Test eines Modells der Zellinaktivierung auf der Basis des DNA-Reparaturmodells in PARTRAC und Parameteroptimierung anhand von Literaturdaten.
- AP4: Vergleich von im Rahmen des Projekts neu gewonnenen experimentellen Daten für Ionenmatrixbestrahlungen mit Modellrechnungen für die betrachteten Endpunkte.
- AP5: Modellrechnungen zur Zellinaktivierung unter exemplarischen Bedingungen bei einer Ionen-Strahlentherapie.
- AP6: Vergleichende Modellrechnungen mit PARTRAC und LEM zu Dosisverteilungen, initialen DNA-Schäden und deren Auswirkungen unter verschiedenen Bestrahlungsbedingungen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Simulationsrechnungen zur Ausbeute dizentrischer CA nach Bestrahlung mit fokussierten Bündeln von Protonen, Li- und C-Ionen wurden abgeschlossen. Nach Parameteroptimierung stimmten die Modellrechnungen sowohl hinsichtlich Strahlenqualitätseinfluss als auch bezüglich Fokussierungswirkung des Strahlenbündels mit den experimentellen Daten weitgehend überein, jedoch konnte das unterschiedliche Verhalten von Li- und C-Ionen bei Vergrößerung der Bestrahlungsmatrix von 7,6 μm auf 10,6 μm nicht reproduziert werden.

Zum Testen des mit den neuen Parametern optimierten Modells sind Simulationsrechnungen für dizentrische CA nach Bestrahlung mit verschiedenen Photonenspektren berechnet und mit experimentellen Daten (Schmid et al. 2017) verglichen worden. Für 70 kV-Röntgenstrahlung ergab sich bis 4 Gy Dosis eine sehr gute Übereinstimmung; für ^{60}Co -Gammastrahlung lag die Simulation um den Faktor 2 über den Messungen mit A_L -Zellen bei 1 - 2 Gy Dosis, während sich hier für Lymphozyten gute Übereinstimmung mit Literaturdaten ergab. Damit konnte die Prognosefähigkeit des Modells deutlich erhöht werden (AP4).

Der auf dem Anteil von Zellen mit großen Austauschaberrationen basierende Ansatz zum Zellüberleben ist zur Bestimmung von Wirkungsquerschnitten für Zelltötung als Funktion von Ionentyp und dessen linearem Energietransfer verwendet worden; dieser weitere Test ergab gute Übereinstimmung im Vergleich mit Literaturdaten (AP3).

Die Bildung dizentrischer CA sowie das Zellüberleben sind für einen Referenzdatensatz berechnet worden, der mit C-Ionenenergien von 0,25 bis 256 MeV/u den radiotherapie-relevanten Bereich im Wesentlichen abdeckt. Für dizentrische CA pro Dosis in Abhängigkeit vom LET ergab sich ein Maximum bei 200 keV/ μm (8 MeV/u Energie). Bei diesem LET liegt die errechnete Überlebenswahrscheinlichkeit für einen Zellkern mit 10 μm Durchmesser (78,5 μm^2 Querschnitt), der von einer C-Ionentrajektorie getroffen wird, bei 20 % und verringert sich mit weiter zunehmendem LET bzw. abnehmender Energie auf ~15 % (AP5).

4. Geplante Weiterarbeiten

Nach Projektende wird die Erstellung und Publikation von Manuskripten über die Arbeiten im Rahmen des Projekts weiter vorangetrieben. Dazu bilden die verfeinerten Simulationsmodelle die Basis für weitere Modellentwicklungen und –verbesserungen, etwa zur Beschreibung des gesamten Spektrums an CA-Typen oder die Einbeziehung von Dosisrateneffekten in die Modellierung der DNA-Schadensantwort.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Eine umfangreiche Modellierungsstudie zu DNA-Schäden nach Ionenbestrahlung ist erschienen: W. Friedland, E. Schmitt, P. Kunderát, M. Dingfelder, G. Baiocco, S. Barbieri & A. Ottolenghi: Comprehensive track-structure based evaluation of DNA damage by light ions from radiotherapy-relevant energies down to stopping. *Scientific Reports* 7:45161 (2017).

Das Manuskript zu einem Buchbeitrag (W. Friedland & P. Kunderát: Stochastic multi-scale modelling of biological effects induced by ionizing radiation) mit Ergebnissen aus dem Projekt ist an den Editor der Publikation „A Guide to Outcome Modeling in Radiotherapy and Oncology: Listening to the Data“ geschickt worden.

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 031D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2013 bis 31.05.2017	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 31.05.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 264.450,00 EUR	Projektleiter: Dr. Friedrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Microbeams erlauben die gezielte Untersuchung der Interaktion von DNA Schäden verschiedener Teilchenspuren. Die wichtige Rolle geclusterter Schäden für den biologischen Effekt ist hinreichend belegt, die mikroskopische Beschreibung jedoch unklar. Das Local-Effect-Model (LEM) beinhaltet eine mechanistische Beschreibung der Schadensinteraktion und ihren Einfluss auf Zell- bzw. Gewebeschädigung. Ein Vergleich der Vorhersagen mit Zellüberlebensmessungen verspricht daher, Modellvorstellungen konkret prüfen zu können. Im Projekt sollen Modellvorstellungen präzisiert werden, die eine zuverlässige Beschreibung der RBW erlauben. Auch wird die Erweiterung auf andere biologische Endpunkte angestrebt.

Die durchzuführenden Arbeiten umfassen Erweiterungen des LEM im Hinblick auf die experimentellen Vorhaben an SNAKE. Darauf aufbauend sollen Simulationsrechnungen durchgeführt werden, um experimentelle Bedingungen auszuwählen, die besonders sensitiv auf die jeweiligen spezifischen Modellannahmen sind. Im Rahmen des Vergleichs mit dem PARTRAC-Modell sollen auch Sensitivitätsanalysen für eine Fehlerabschätzung durchgeführt werden. Die 2. Projekthälfte wird zur Modellentwicklung auf Grund gewonnener Daten verwendet.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Entwicklung von Zellüberlebensexperimenten mit fokussierten Ionenstrahlen (UniBwM/TUM)
- AP2: Verkleinerung des Strahldurchmessers und gezielte Variation des Strahldurchmessers (UniBwM)
- AP3: Fokussierte Protonen unterschiedlicher Energie, Deuteronen, Li-Ionen (UniBwM/TUM)
- AP4: Entwicklung von Assays zur Untersuchung anderer Endpunkte (TUM)
- AP5: Durchführung von strahlenbiologischen Experimenten mit fokussierten Ionenstrahlen am Rasterionenmikroskop SNAKE (UniBwM/TUM)
- AP6: Modellentwicklung und Validierung HMGU (HMGU)
- AP7: Modellentwicklung und Validierung GSI Darmstadt (GSI, Teilprojekt D)
- AP8: Auswertung und Bewertung der experimentellen und theoretischen Ergebnisse (alle beteiligten Gruppen)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nachdem im November 2016 die nominelle Förderlaufzeit des Teilprojektes beendet war, wurden Ideen zur Verallgemeinerung der Erkenntnisse aus dem LET Verbund zusammengetragen. Wie bereits im letzten Zwischenbericht erwähnt wurde darauf aufbauend eine neue Projektskizze formuliert, die sich einer raum-zeitlichen Betrachtung der DNA Schadenswechselwirkung widmet und somit nahtlos thematisch an den LET Verbund anschließt. Die zu Grunde liegenden Fragestellungen wurden nun im Berichtszeitraum weiterverfolgt und Situationen identifiziert, zu denen RBE Modelle klare Vorhersagen treffen, die experimentell überprüfbar sind.

Parallel dazu wurden die Ergebnisse des LET Verbunds genutzt, um gezielt Modellgrenzen von LEM und GLOBLE zu identifizieren und zu überprüfen. Während die Übereinstimmung zwischen theoretischer Vorhersage und den gemessenen Strahleneffekten im LET Verbund exzellent war, konnten für hochenergetische Ionen sowie für ultraweiche Röntgenstrahlung im Bereich einiger keV kleine systematische Abweichungen gefunden und quantifiziert werden. Eine Interpretation im Sinne von Modellgrenzen ist Gegenstand aktueller weiterer Untersuchungen. Die im LET Verbund gewonnenen Daten stellen hierbei eine notwendige Basis dar, die es ermöglicht, Gründe für die Modellgrenzen bewerten zu können. Dabei spielen vor Allem die statistischen Eigenschaften von strahleninduzierten Ionisationsclustern auf der Größenordnung einiger bp (nm) bei verschiedenen Strahlenqualitäten eine Rolle. Während nun klar ist, dass sowohl die nm- als auch die μm - Wechselwirkung von DNA Schäden einen Beitrag zum RBE liefern können, stellt sich die Frage nach der Natur komplexer Schädigung insofern neu, als dass sich Hinweise verdichten, dass es auf beiden Größenskalen verschiedene Stufen komplexer Schädigung gibt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Erneut liegt der Schwerpunkt auf der Ergebnisverwertung. Zum einen sollen weitere Publikationen eingereicht werden. Zum anderen sollen die Ergebnisse aus dem Projekt, wie schon begonnen, weiterhin genutzt werden um zu interpretieren, in welchem Maße verschiedene Formen komplexer Schädigung auf der nm und μm Ebene zur Effektivität der Strahlung beitragen. Diese spannende Frage könnte zu einer generell konsistenteren Beschreibung von DNA Schädigung führen als bisher, wobei die die Annahmen mehrerer Modelle miteinander vereint oder zumindest geeignet in Relation gesetzt werden können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

T. Buch et al.: Modeling radiation effects of ultrasoft X-rays on the basis of amorphous track structure, eingereicht zu Radiation Research (2016)

J. Renner et al.: Cluster analysis of ionization patterns after ionizing radiation, GSI Scientific Report 2016 (in press).

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 032
Vorhabensbezeichnung: DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.100.891,60 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rothkamm	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Alternatives Endjoining

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

AP2: Homologe Rekombination (HR) und Replikation

Ihre Interaktion und die Bedeutung der in vielen Brusttumoren eingeschränkten HR-Funktion als Ansatz für die selektive Tumoringaktivierung 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: Mit Hilfe frischer Tumorproben aus an der Martini-Klinik durchgeführten Prostatektomien wurden mittels ex vivo-Assay weitere Untersuchungen zur Identifikation von Reparaturdefekten und assoziierten Biomarkern in Prostatatumoren durchgeführt (M1.2 & M1.3). Auf Basis der gewonnenen Ergebnisse wird zurzeit ein Manuskript zur Veröffentlichung vorbereitet. Gleiches gilt für die Daten zur ERG-vermittelten Verschiebung zum alternativen Endjoining. Arbeiten zur Identifikation und Etablierung neuer Targets wurden begonnen.
- AP2: Untersuchungen zur Etablierung von Biomarkern zur Identifikation von HR-Defekten wurden abgeschlossen (M2.3). Neben geeigneten Messgrößen im DNA-Fiberassay, die auf die Analyse von proliferierenden Zellen (und somit frischem Tumormaterial) beschränkt sind, wurden auch immunhistologisch und immunocytochemisch nachweisbare Biomarker identifiziert.
- AP3: Die Arbeiten zur Identifikation und Verifikation der für das Therapieansprechen bei HNSCC und GBM relevanten Signalwege wurden abgeschlossen (M3.2). Ein daraus resultierendes Manuskript wurde zur Veröffentlichung eingereicht. Ein anderes ist in der Planungsphase. Untersuchungen zu assoziierten Biomarkern wurden weitergeführt.
- AP4: Die Untersuchungen zu Biomarkern der DNA-Schadensantwort und DSB-Reparatur machen Fortschritte (M4.3). Unser Manuskript zu Ansätzen zur gezielten Sensitivierung von HPV+-HNSCC durch pharmakologische Hemmung der G2-Zellzykluskontrolle ist jetzt veröffentlicht (Busch et al., 2017).
- AP5: Die kontinuierliche Aktualisierung und Forschungsvernetzung der strahlenbiologischen Lehrinhalte wurde fortgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Veröffentlichung der in M1.2 und M1.3 gewonnenen Ergebnisse. Weiterarbeit an M1.4.
- AP2: Etablierung von neuen Targets im Bereich von HR- und Replikationsstörungen (M2.4).
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zur Etablierung von Biomarkern für individualisierte Therapieansätze in HNSCC und GBM (M3.3).
- AP4: Identifikation von robusten Biomarkern für DDR und DSB-Reparatur in HPV-pos HNSCC (M4.3).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Busch CJ, Kröger MS, Jensen J, Kriegs M, Gatzemeier F, Petersen C, Münscher A, Rothkamm K, Rieckmann T (2017): G2-checkpoint targeting and radiosensitization of HPV/p16-positive HNSCC cells through the inhibition of Chk1 and Wee1. *Radiother Oncol* 122, 260-266.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.130.602,80 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: In diesem Halbjahr wurde wie geplant das Zellzyklus Checkpoint Verhalten von neuronalen Stammzellen (NSZs) mit denen von embryonalen Stammzellen (ESZs) und somatischen Zellen (SZs) verglichen. Für die strahleninduzierte Aktivierung des G1/S Checkpoints konnten unsere Untersuchungen zeigen, dass neuronale Stammzellen hier ein intermediäres Verhalten aufweisen: Generell führt Bestrahlung in allen Zelltypen zu einem verlangsamten Eintritt in die S-Phase. Dieses Phänomen kann jedoch erst zu späteren Zeitpunkten (4-6 Stunden) nach Bestrahlung beobachtet werden. Diese Verlangsamung fällt bei ESZs am schwächsten aus. NSZs zeigen einen langsameren Wiedereintritt in die S-Phase als ESZs. Sie sind dabei jedoch immer noch schneller als SZs.

Um die Aktivierung des G2/M Checkpoints zu messen wurde der mitotische Index der Zellpopulationen bestimmt. In NSZs führten Dosen zwischen 0,5 und 1 Gy zu einer Halbierung des mitotischen Index. Im Vergleich mit ESZs zeigten NSZs sich hierbei erneut weniger sensitiv, da in ESZs bereits Strahlendosen von 200-300 mGy ausreichend waren, um eine solche Halbierung herbeizuführen. Eine vollständige Induktion des G2/M Checkpoints in mehr als 90 % der Zellpopulation wurde bei ESZs mit einer Dosis von 1 Gy erreicht, während die dafür nötige Dosis bei NSZs bei über 1,5 Gy lag. Untersuchungen zur Aufrechterhaltung des G2/M-Checkpoints zeigten, dass ESZs länger arretieren als NSZs. Der anschließende Wiederanstieg des mitotischen Index ist dagegen in ESZs schneller als in NSZs. Zusammen-

fassend kann gesagt werden, dass sowohl die Induktion als auch die Aufrechterhaltung des strahleninduzierten G2/M Zellzyklus Checkpoints in NSZs weniger sensitiv gegenüber DNA-Schäden ist, als es in ESZs der Fall ist.

Parallel zu den Zellzyklus-Messungen wurden wie geplant weitere Versuche zur Resektion von DNA-Bruchenden bei der Reparatur von DNA-Schäden in G1-Phase-Zellen durchgeführt. Der dafür ausschlaggebende Befund war das Auftreten von pRPA-Foci in, sich in der G1-Phase befindenden, ESZs. pRPA-Foci sind ein direkter Marker für resektierte DNA-Enden an einem DNA-DSB. Die Inhibition der Resektion zeigte einen direkten Effekt auf die DSB-Reparatur: Die langsame Reparaturkomponente wurde fast vollständig inhibiert. Ein weiterer Befund war, dass die Resektion in der G1-Phase zur Bildung von DNA-RNA-Hybriden führt. Wird die Bildung dieser Hybride mittels Überexpression von RNase H1 verhindert, führt dies - genau wie die Inhibition der Resektion - zu einer Beeinträchtigung der langsamen DNA-Reparatur. In HeLa-Zellen konnte ebenfalls eine Resektion von DNA-Bruchenden in der G1-Phase nachgewiesen werden. In diesem Zelltyp zeigten jedoch weder die Inhibition der Resektion, noch die Auflösung der sich ebenfalls bildenden DNA-RNA-Hybride zu einer Beeinträchtigung der DNA-Reparatur.

Bezüglich der Resektion bei der DNA-Reparatur in Neuronen konnten wir in primären humanen Neuronen zeigen, dass auch hier DNA-RNA-Hybride an den DNA-DSBs auftreten. Die Versuche zur DNA-Reparatur nach Inhibition von Resektion in NSZs konnten aufgrund von Problemen mit diesen Zellen bislang noch nicht durchgeführt werden (siehe Punkt 9).

AP2: Im letzten Halbjahr sollten die Versuche zur Bestrahlung von embryonalen Rad54- bzw. Nck1-defizienten Mäusen, bei denen die DNA-Reparatur mittels homologer Rekombination (HR) nicht funktional (Rad54 Knockout) bzw. evtl. eingeschränkt ist (Nck1 Knockout), abgeschlossen werden. Der Fortschritt dieser Experimente verzögerte sich jedoch durch Probleme bei den Verpaarungen der Tiere: Gleich mehrere der angesetzten Verpaarungen resultierten nicht wie gewünscht in einer Schwangerschaft der Weibchen, weshalb die Bestrahlungen nicht wie geplant durchgeführt werden konnten (siehe Punkt 9). Einige der Verpaarungen verliefen jedoch erfolgreich, so dass mit der Auswertung der DNA-Reparatur in diesem Entwicklungsstadium zumindest begonnen werden konnte. Ein weiteres Problem zeigte sich bei der Auswertung der bereits abgeschlossenen Versuche zur Bestrahlung der postnatalen Mäuse. In diesem Jahr wurde erstmals ein neuer Rad51-Antikörper zur Färbung verwendet, um den Anteil der mittels HR reparierten DNA-DSBs zu quantifizieren. Im Vergleich zu den Färbungen mit dem bis dahin verwendeten Rad51-Antikörper zeigte sich, dass der bis dahin gemessene Anteil an HR-Ereignissen aufgrund einer deutlich schlechteren Färbung bislang unterschätzt wurde. Dementsprechend werden diese Versuche aktuell noch einmal neu ausgewertet.

Ein weiterer Punkt unserer Untersuchungen war die Bestimmung der Rolle von alternativem End Joining (alt-NHEJ) bei der DNA-Reparatur in 53BP1-defizienten Zellen. Wir konnten inzwischen zeigen, dass 53BP1-defiziente Mauszellen - im Gegensatz zu menschlichen Zellen - keine Parp1-abhängige DNA-Reparatur aufweisen. Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung dieser Mauszellen zeigten jedoch auch, dass sie im Vergleich zu Wildtyp-Zellen innerhalb der ersten 8 Stunden nach Bestrahlung keinen DNA-Reparaturdefekt aufweisen. In humanen 53BP1-Knockout-Zellen wird dagegen innerhalb dieses Zeitraums bereits ein Reparaturdefekt deutlich. Mit der Hilfe weiterer Experimente konnten wir diesen Reparaturdefekt in 53BP1-Knockout Zellen der Maus jedoch 24 Stunden nach Bestrahlung nachweisen. Dies weist auf eine unterschiedliche Regulation 53BP1-abhängiger DNA-Reparatur bzw. eine unterschiedliche Rolle von 53BP1 in der DNA-Reparatur von humanen Zellen und Mauszellen hin. Da wir im zentralen Nervensystem von Mäusen zahlreiche Zellen nachweisen konnten die kein 53BP1 exprimieren, wird diese Fragestellung weiterverfolgt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die langsame DNA-Reparatur in embryonalen Stammzellen von der Resektion der Bruchenden abhängig ist. Diese Abhängigkeit scheint in somatischen Zellen deutlich weniger vorhanden zu sein. Neuronale Stammzellen und Vorläuferzellen befinden sich im Hinblick auf ihre Differenzierung zwischen ESZs und SZs. Deshalb soll die Bedeutung der Resektion in diesen intermediären Zellen weiterhin genauer analysiert werden. Hierfür soll die Resektion mittels PLK3-Inhibitoren verhindert und die Ausbildung von DNA-RNA-Hybriden verhindert werden. Im Anschluss daran soll die Reparatur von DNA-DSBs mit der von Kontrollzellen verglichen werden. Durch Ausdifferenzierung von NSZs in Neurone und Astrozyten soll außerdem die Rolle der Resektion in diesen Zelltypen untersucht werden.

Im zweiten Arbeitspaket sollen die begonnenen Tierversuche mit embryonalen Mäusen abgeschlossen werden und die Auswertung der dadurch gewonnenen Daten im Hinblick auf die Bedeutung von homologer Rekombination für die DNA-Reparatur und das zelluläre Überleben fortgesetzt werden. Die Auswertung der Versuche mit postnatalen Mäusen soll ebenfalls zum Abschluss gebracht werden. Darüber hinaus werden wir im nächsten Halbjahr mit der Zucht von zwei weiteren Mauslinien beginnen, in denen das von uns untersuchte Rad54-Protein mittels Knock-In Mutationen gezielt verändert wurde. Durch Bestrahlung dieser Mäuse soll die Regulation des HR-Prozesses im sich entwickelnden zentralen Nervensystem weiter untersucht werden. Parallel dazu haben wir ESZs von diesen Mäusen erhalten, die im weiteren Verlauf des Projekts in NSZs differenziert werden sollen. Auf diese Weise soll die Regulation von HR-Prozessen in NSZs sowohl *in vivo* als auch parallel *in vitro* untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 899.352,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Laube	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP3: Ziel des Projekts ist die Erfassung der Auswirkungen geringer Strahlendosen auf die DNA-Reparaturkapazität und die physiologische Funktionalität ausdifferenzierter Astrozyten und Oligodendrozyten in vivo und in vitro.
- 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.
- 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: Die im letzten Bericht beschriebene Aufnahme der Reparaturkinetiken der undifferenzierten J1-Zelllinie und der jeweiligen Deszendenten ermöglichte nun einen direkten Vergleich. Dabei stellte sich heraus, dass nach einer Bestrahlungsdosis von 500 mGy die Neurone ein deutlich höheres 53BP1-Foci Aufkommen zeigen als die undifferenzierten Zellen und die Astrozyten. In weiteren Versuchen wurde nun die Wirkung des Neurotransmitters Glutamat auf die Schadensinduktion und -reparatur untersucht. Die Analyse der Reparaturkinetik ergab, dass in Gegenwart von Glutamat durch Strahlung induzierte Foci schneller und besser repariert werden. Die durchgeführten Experimente zeigen außerdem, dass Glutamat exklusiv in Neuronen Doppelstrangbrüche induziert. Diese DSBs entstehen allerdings nur, wenn Topoisomerase II beta aktiv ist, welche essentiell für die Transkription von Genen in postmitotischen Zellen ist. Vieles deutet also daraufhin, dass durch die Aktivierung von Glutamatrezeptoren, DSBs in Neuronen induziert werden, welche unerlässlich für die Transkription spezifischer Gene sind. Die Transkription dieser Gene wirkt wiederum positiv auf die Reparatur von strahleninduzierten Schäden der DNA. Zudem scheint ein ganz spezifischer Glutamatrezeptor, der NMDA Rezeptor mit der Untereinheit NR2B für die Regulierung dieses Signalweges verantwortlich zu sein, der exklusiv in Neuronen immunzytochemisch nachgewiesen werden konnte. Das bedeutet, dass Astrozyten grundsätzlich funktionale NMDARs ausbilden, aber an-

scheinend keine mit der UE NR2B. Dieser Unterschied in der Rezeptorzusammensetzung könnte eine Erklärung für die unterschiedliche Auswirkung von Glutamat auf die beiden Zelltypen sein.

AP4: Die bereits zu Beginn des Projektes beschriebene Beobachtung, dass ionisierende Strahlung bereits bei einer Dosis von 500 mGy zu einer Erhöhung des auswärtsgerichteten Kalium-Stroms führt, konnte vor allem mit der Zunahme dieser „*delayed rectifier*“ Leitfähigkeit in Zusammenhang gebracht werden. Darüber hinaus wurde anhand des Einsatzes spezifischer Blocker und genauerer Analyse der Stromkinetik die Zunahme der Leitfähigkeit dem Kv3.1 und K_{ATP} Kanal zugeordnet. Gleichzeitig konnte das Auftreten des Progenitormarkers Doublecortin 72 Stunden nach Bestrahlung nachgewiesen werden. Des Weiteren konnte ein Photonen-Bestrahlung initiiertes NO-Radikal Anstieg in den neuronalen Stammzellen beschrieben werden. Beides weist auf eine durch Niedrigdosis ausgelöste selbstinduzierte Differenzierung von neuronalen Stammzellen hin. Im vergangenen Projektabschnitt konnten diese Ergebnisse noch verstärkt werden. So wurde zum Abfangen der für die Aktivierung nötigen NO-Radikale der Radikalfänger TEMPOL während der Bestrahlung zugegeben, was zu einem Ausbleiben der Kanalaktivierung führte. Es konnte also ein direkter Zusammenhang von Kanalaktivierung und dem Auftreten von NO-Radikalen nach Bestrahlung hergestellt werden. Wir gehen davon aus, dass Röntgen-Strahlung und die damit einhergehende NO-Produktion die Anzahl der in der Membran vorhandenen Kanäle beeinflusst.

AP8: Wie im letzten Zwischenbericht dargelegt, wurden in der ersten experimentellen Phase C57BL/6 Mäuse 10 Tage nach der Geburt (P10) mit 500 mGy und 250 mGy bestrahlt und ihr Verhalten im Alter von 2 Monaten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe untersucht. Die Analyse des räumlichen Lernverhaltens zeigte, dass Bestrahlungen mit 500 mGy und 250 mGy während der postnatalen Hirnentwicklung (P10) zu langfristigen Effekten auf das Lernverhalten in bestrahlten Tieren gegenüber einer Kontrollgruppe führen. Hierzu zählen u. a. längere Schwimmpfade, erhöhte Latenzzeiten und eine prozentuale Abnahme der räumlichen Suchstrategien in bestrahlten Tieren. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die Aufenthaltszeiten im Zielquadranten während des Probe Tests in bestrahlten Tieren verringert und der Abstand zur ehemaligen Plattformposition erhöht waren. Diese Unterschiede sind auf ein verändertes Lernverhalten zurückzuführen und nicht etwa auf eine veränderte Motorkoordination oder ein verändertes Angst-/Explorationsverhalten, wie mittels Rotarod und Elevated Zero Maze gezeigt werden konnte. Da Stamm-/Vorläuferzellen essentiell für Plastizität und Lernvorgänge im Gehirn sind, gehen wir davon aus, dass Verhaltensdefizite direkt mit einem fehlerhaften DNA-Doppelstrangbruch Reparaturweg auf molekularer Ebene korrelieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im AP3 soll in weiteren Experimenten nun geklärt werden, ob die Inhibitoren MK801, Ifenprodil und Merbarone, den positiven Reparatureffekt von strahleninduzierten DNA DSBs in Neuronen aufheben. Zusätzlich sollen alle Behandlungen mit Agonisten (Glutamat, NMDA) und Antagonisten (MK801, Ifenprodil) auch bei neuronalen Stammzellen durchgeführt werden um die Exklusivität der Glutamat-induzierten Foci in adulten Neuronen zu überprüfen. Im AP4 sollen im weiteren Verlauf die beiden strahlensensitiven Kalium-Kanäle heterolog in HEK Zellen expremiert werden um zu überprüfen ob ein NO-Anstieg allein zu der Leitfähigkeitserhöhung führt. Mit Hilfe einer spektrophotometrischen Methode soll des Weiteren die Menge an durch Strahlung erzeugte Nitrit-Oxide nachgewiesen werden und auf weitere Niedrigdosen ausgeweitet werden. Außerdem wird die Anwesenheit und Blockierbarkeit der vermuteten Kanäle nach kontrolliert eingeleiteter Differenzierung überprüft um die These der strahleninduzierten Differenzierung zu untermauern. Im AP8 ist in der nächsten Phase geplant die histologischen Analysen mit Hirngewebe der oben untersuchten Tiere durchzuführen um mögliche Auswirkungen einer Niedrigdosisbestrahlung auf zellulärer Ebene festzustellen. Des Weiteren sollen die langfristigen Auswirkungen von Niedrigdosisbestrahlung im DNA-Reparatur-Defiziten Mausmodell Rad54^{-/-} untersucht werden. Wir vermuten, dass eine Deletion des Rad54 Gens zu einer erhöhten Strahlensensitivität in neuronalen Stamm-/Vorläuferzellen führt, da der Reparaturweg über homologe Rekombination beeinträchtigt ist.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Mehrere Poster-Beiträge zum BNA-Kongress im April 2017 in Birmingham

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 034C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 406.411,00 EUR	Projektleiter: Dr. Ritter	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die Studien zum Einfluss von Röntgenstrahlung (1 und 2 Gy) auf die Stammzeleigenschaften und die Differenzierungsfähigkeit von NSZ intensiviert. Zunächst wurde in mehreren Experimenten die Genexpression (qPCR-Analyse) der neuralen Stammzellmarker Nestin, SOX2 und PAX6 bis zu 14 Tage nach der Exposition untersucht ($N \geq 3$). Übereinstimmend mit vorangegangenen Experimenten wurden keine strahlenbedingten Veränderungen in der Expression von Nestin oder SOX2 gefunden. Für PAX6 ergab sich ein anderes Bild: Vom 1. bis zum 3. Tag nach Bestrahlung war die Expression von Pax6 in den bestrahlten Proben (1 und 2 Gy) vermindert, danach erreichte sie wieder den Kontrollwert. Weiterhin wurde die Expression von einem Marker für Glia-Vorläuferzellen (NR2F2) und von einem Marker für neuronale Vorläuferzellen (MAP2) in NSZ-Kulturen überprüft ($N = 2$). Die Exposition mit 1 Gy Röntgenbestrahlung führte im Untersuchungszeitraum (1-14 Tage) zu keinen Veränderungen in der Genexpression, während 1 und 3 Tage nach einer Exposition mit 2 Gy Röntgenstrahlen eine Hochregulierung der beiden Marker detektiert wurde. An den späteren Untersuchungszeitpunkten gab es keinen Unterschied zwischen 2 Gy bestrahlten und unbestrahlten Zellen. Insgesamt weisen die Versuche darauf hin, dass Röntgenstrahlung die Homöostase von neuralen Stammzellen in den ersten Tagen nach der Exposition beeinflusst. Inwieweit auch die Differenzierungsfähigkeit der NSZ verändert wird, muss in weitergehenden Studien geklärt werden (siehe Abschnitt 4).

Schließlich wurden die Studien zur genetischen Stabilität und strahleninduzierten Apoptose von NSZ fortgeführt und die Ergebnisse anhand von kommerziell erhältlichen NSZ verifiziert. Dies war notwendig, da wir eine unerwartet hohe Rate an Chromosomenschäden in NSZ detektiert haben. Die Untersuchungen sind bald abgeschlossen, so dass die Daten in Kürze publiziert werden können.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Messungen des Zellüberlebens und der Differenzierungsfähigkeit von NSZ mit Hilfe des Neurosphärenassays werden fortgesetzt. Zunächst sollen die Datensätze für Röntgenstrahlen komplettiert werden, d. h. mit Hilfe der PCR-Technik sollen weitere Genexpressionsstudien durchgeführt werden. Zur Verifikation der Ergebnisse sollen Gefrierdünnschnitte von Neurosphären hergestellt und mittels Immunfluoreszenz angefärbt werden. Außerdem soll Strahlzeit an Heidelberger Ionenstrahl-Therapiezentrum (HIT) beantragt werden, um weitere Vergleichsexperimente mit Ionenstrahlen (vor allem Kohlenstoffionen) durchführen zu können. Dies ist erforderlich, da die Vergabe von Strahlzeit am HIT derzeit neu geregelt wird.

Schließlich soll die Quantifizierung der Apoptoserate in NSZ nach Röntgenbestrahlung fortgesetzt werden, so dass Daten aus mindestens 3 unabhängigen Experimenten vorliegen und einen Zeitraum von 4 Stunden bis 4 Tage nach der Bestrahlung abdecken. Diese Messungen, die eine wichtige Ergänzung der zytogenetischen Studien darstellen, sollen in die geplante Publikation (siehe Abschnitt 3) einfließen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

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

Mayer M., Arrizabalaga O., Ritter S., Thielemann C.: Human embryonic stem cell derived neurospheres form functional networks on microelectrode arrays. GSI Report 2017-1 (im Druck)

Ney D.: Radiosensitivity of human neural stem cells. Masterarbeit, Studiengang Technische Biologie, Technische Universität Darmstadt (2017)

Riedl A., Schuster C., Wilkens D.: Effects of ionizing radiation on hNSCs. Praktikumsbericht (Mastermodul Strahlenbiophysik, Technische Universität Darmstadt (2017)

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 034D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 401.520,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Uder	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel dieses Projektes ist es, durch Kombination anatomischer und funktioneller Daten eine möglichst vollständige in vivo Struktur-Funktions-Charakterisierung des Mausgehirns nach Bestrahlung vorzunehmen. Wir nehmen hiermit eine nicht-invasive Risikoabschätzung strahleninduzierter neurologischer Spätfolgen am Mausmodell vor und zeigen unmittelbar eine translationale Perspektive für die Klinik auf. Die fMRT-Analyse soll funktionelle Veränderungen von Aktivitäten im Gehirn der in utero und postnatal zu unterschiedlichen Zeitpunkten und mit unterschiedlichen Dosen bestrahlten Mäuse liefern. Diese Ergebnisse werden direkt mit den Ergebnissen aus den Verhaltensstudien (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

Die in der ersten experimentellen Phase durchgeführten Untersuchungen wurden mit einer weiteren Kohorte Mäuse wiederholt (6 Mäuse P10 mit 500 mGray bestrahlt, 5 Kontrollmäuse ohne Bestrahlung). Zusätzlich wurden, ebenfalls in zwei Kohorten, einmal 6 und einmal 5 Mäuse P10 mit 250 mGray bestrahlt. Wiederum wurde im adulten Zustand sowohl ihr Verhalten (AG Laube) als auch Veränderungen in der zentralnervösen Prozessierung von Schmerz mittels BOLD fMRT und Verhalten (AG Hess)

untersucht. Hierzu wurden die Tiere im MR-Scanner mit 40 °C und 45 °C sowie nozizeptiven 50 °C und 55 °C Hitzeizen stimuliert. Anschließend wurde die mittels einer GLM determinierte stimulus-spezifische Gehirnaktivierung sowie die Konnektivität zwischen den aktivierten Regionen analysiert. Ausserdem wurden die Tiere eine „Resting-state“-Messung ohne Stimulation unterzogen und mit dem zuvor etablierte „MultiSeed“-Verfahren untersucht. Zusätzlich wurde sowohl das mechanische als auch das thermische Schmerzverhalten der Tiere über die Wegzug-Latenz der mit den jeweiligen Modalitäten gereizten Hinterpfote untersucht (Mechanisch: von Frey-Test, thermisch: Hargreaves-Test). Der Verhaltenstest auf thermische Schmerzstimulation ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontrolle und 500 mG Bestrahlung wohl aber für die mit 250 mG bestrahlten. Diese Tiere waren hitze-schmerzempfindlicher als die Kontrolltiere. Die mechanische Stimulation führte im Verhaltenstest für beide Strahlendosen zu einer signifikant erniedrigten Wegzugslatenz. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die bestrahlten Tiere eine niedrigere Schmerzschwelle haben als die Kontrolltiere. Hier fiel bei der thermischen Stimulation der Unterschied zwischen den Kohorten der bestrahlten Tiere auf. Für beide Strahlendosen zeigten die Tiere der jeweils zwei Kohorten signifikante Unterschiede in der Wegzugslatenz. Für die Kontrolltiere war dies nicht feststellbar.

Die Tendenz der Unterschiede zwischen mit 500 mG bestrahlten und nichtbestrahlten Tieren sowohl im „Resting-state“ als auch bei Schmerzprozessierung konnte mit den zusätzlichen Tieren bestätigt werden:

- Beeinträchtigung der Verbindungen zwischen kortikalen Strukturen und niedrigerer Small-world index im Resting State der bestrahlten Tiere beider Strahlendosen.
- Bei der Prozessierung thermischer Reize wurde bezogen auf das Gesamthirn für beide Strahlendosen gleichermaßen eine tendenzielle Reduktion des aktivierten Volumens für nicht schmerzhafte und ein Anstieg des aktivierten Volumens für schmerzhafte Stimulation beobachtet.
- In den Netzwerken der aktivierten Hirnregionen sowie den Aktivierungskarten wurden eine geringere Beteiligung der kortikalen Strukturen (vor allem Sensorischer Kortex) an der Prozessierung thermischer Reize und dafür eine verstärkte subkortikale Verarbeitung deutlich.

Allerdings waren die Unterschiede trotz der erhöhten Tierzahl weniger häufig signifikant als erwartet. Wir führen dies auf die bereits bei den thermischen Verhaltenstests aufgefallene hohe Variabilität der bestrahlten Tiere zwischen den zwei Kohorten zurück. Die nicht bestrahlten Tiere variieren deutlich weniger.

Am Ende der funktionellen fMRT Experimente wurden die Tiere perfundiert, hochaufgelöst im MRT anatomisch gescanned und abschließend zur histologischen Untersuchung nach Darmstadt gebracht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Publikation zu dem etablierten „Resting-state“-Analyseverfahren ist eingereicht. Im nächsten Schritt werden nun embryonal mit 500 mG bestrahlte Tiere untersucht. Als erste Kohorte sind bereits 6 E14.5 mit 500 mG bestrahlte und 5 Kontrolltiere aus Darmstadt eingetroffen und werden im September im Schmerzverhaltenstest und im MR (fMRT und hochaufgelöste Anatomie) gemessen. Im nächsten Schritt sollen die gleichen Bestrahlungen bei Rad54ko Mäusen durchgeführt und wiederum mittels Hargreaves/von-Frey Verhaltenstests und (f)MRT untersucht werden. Weiterhin befinden sich die hochaufgelösten anatomischen Daten in der VBM Prozessierungspipeline, was noch einige Zeit in Anspruch nehmen wird.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Die zusammengefassten Daten der ersten beiden Kohorten mit 500mG Bestrahlung wurden auf der ISMRM 2017 in Honolulu als Poster präsentiert.

Zuwendungsempfänger: Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken		Förderkennzeichen: 02 NUK 035A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 613.602,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rube	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

AP2: Akkumulation von RF nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung

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

AP4: Akkumulierte RF als Marker des Normalgeweberisikos

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP2: DNA Reparatur-profiziente und -defiziente Mäuse werden täglich bis zu 10 Wochen mit niedrigen Dosen (100 mGy bzw. 10 mGy) bestrahlt. Nach 2, 4, 6, 8 bzw. 10 Wochen werden in den verschiedenen 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: Am Linearbeschleuniger erfolgte die tägliche Niedrig-Dosis-Bestrahlung mit 100 mGy bei juvenilen und adulten C57BL6 Mäusen über einen Zeitraum von 4 Wochen. Nach 1, 2, 3 bzw. 4 Bestrahlungswochen wurden die Tiere 72 Stunden nach der letzten Strahlenexposition zur Organentnahme getötet. Um Langzeitschäden zu erfassen, wurden darüber hinaus Versuchstiere 1, 3, bzw. 6 Monate nach der letzten Bestrahlung (20x 100 mGy) getötet. In der Immunfluoreszenz-Mikroskopie konnten durch Stammzellmarker (DCX, SOX2) die unterschiedlichen neuronalen Stamm-/Vorläuferzellen in der Hypocampusregion des Gehirns identifiziert und quantifiziert werden. Zur Erfassung einer potentiellen Akkumulation von DNA Schäden erfolgte die Quantifizierung der RF in den Neuronen des Kortex und der Hypocampusregion im adulten und juvenilen Gehirn. Um den Einfluss einer fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung auf die hippocampale Neurogenese zu erfassen, wurden Proliferation und Apoptose durch Immunfluoreszenzfärbungen für Ki67 bzw. Caspase-3 erfasst. Die funktionelle Integration neu gebildeter Neurone im Dentate Gyrus wurde durch die Flächenmessung DCX-positiver Dendriten ermittelt. Um die Bedeutung der Mikroglia für eine potentielle Neuroinflammation im Rahmen der fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung zu untersuchen, wurden die Mikrogliazellen ausgezählt.
- AP4: Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren 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 entsprechendem 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 Ergebnisse werden zu einem Manuskript zusammengefasst.
- Bei einem Patientem mit Li-Fraumeni Syndrom (TP53 Mutation), der aufgrund eines spinal metastasierendem Hirntumors eine kraniospinale Bestrahlung erhielt, wurden die Foci in den Blutlymphozyten wöchentlich während sowie nach der Radiotherapie bestimmt. In den Blutlymphozyten war eine deutliche Akkumulation von DNA Schäden zu beobachten. TEM-Analysen der Blutlymphozyten zeigten zahlreiche unreparierte DNA Schäden. mFISH Untersuchungen ergaben zahlreiche, komplexe Chromosomen-Abberationen infolge der Radiotherapie, als Ausdruck einer genomischen Instabilität. Die Ergebnisse wurden in einem Publikationsmanuskript zusammengefasst und eingereicht.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Im Rahmen der Gehirnentwicklung soll der Einfluss einer fraktionierten 100 mGy-Bestrahlung auf die Anzahl der verschiedenen Stamm- und Vorläuferzellen sowie auf die neuronale Vernetzung untersucht werden. Mit dem Nukleotidanalogen 5-Bromo-2-Deoxyuridin (BrdU), welches den Versuchstieren systemisch injiziert wird, soll die Zellneubildung unter fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung mithilfe spezifischer BrdU-Antikörper immunhistochemisch nachgewiesen werden.
- AP4: Durch systematische in-vitro-Untersuchungen soll die Induktion und Reparatur von DNA Schäden vergleichend in Normalgewebs- und Tumorzellen nach Strahlenexposition durch die Foci-Quantifizierung mittels IFM und deren ultrastrukturelle Charakterisierung mittels TEM untersucht werden. In Kooperation mit der AG C. von Neubeck/M. Krause werden auch in FADU Xenograft-Tumoren die RF vor und nach Strahlenexposition in unterschiedlich oxygenierten bzw. proliferierenden Tumorregionen bestimmt und mittels TEM ultrastrukturell charakterisiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Histone variant H2A.J accumulates in senescent cells and promotes inflammatory gene expression. Contrepois K, Coudereau C, Benayoun BA, Schuler N, Roux PF, Bischof O, Courbeyrette R, Carvalho C, Thuret JY, Ma Z, Derbois C, Nevers MC, Volland H, Redon CE, Bonner WM, Deleuze JF, Wiel C, Bernard D, Snyder MP, Rube CE, Olaso R, Fenaille F, Mann C. Nat Commun. 2017 May 10;8:14995.

Increasing genomic instability during cancer therapy in a patient with Li-Fraumeni syndrome. Schuler N, Palm J, Schmitz S, Lorat Y, Rube CE. Clinical and Translational Radiation Oncology 2017, under review

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

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 035B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 820.920,00 EUR	Projektleiter: 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, V3.3 und V3.4:

Die Analyse von Reparaturfoci und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Tumorzell-Array sowie an frischem Tumorgewebe wurde weitergeführt. Longitudinalstudien mit frischen Tumorpräparaten wurden durchgeführt, um die Langzeitstabilität und Reproduzierbarkeit des ex vivo Systems zu bestimmen. Neben funktionellen Tests mit Hypoxie- und Proliferationsmarkern wurden die Proben auch histopathologisch untersucht. Ein diesbezügliches Manuskript ist in Vorbereitung.

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 ersten Daten und 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.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 035C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 213.756,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krause	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

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

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

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

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

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 sechs Tumormodelle beendet. Diese sechs Tumormodelle zeigen dosisabhängige Unterschiede in den RF. Die vorläufige Zwischenanalyse zeigt 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 zwei Tumormodelle durchgeführt und für zwei weitere Modelle begonnen. Für den Vergleich der biologischen Heterogenität von DNA-RF in drei Tumormodellen wurde ein statistisches Modell entwickelt und publiziert.

AP5.3: Entwicklung einer „High Throughput“ Methodik

Im Berichtszeitraum haben mehrere Treffen zwischen Medipan und dem UKD stattgefunden. Der Austausch von Bilddateien wurde fortgesetzt. Der Fokus der Weiterentwicklung lag auf der Erkennung von Gefäßstrukturen in Immunfluoreszenz gefärbten Tumorgewebeschnitten.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren

Die histologischen Untersuchungen werden fortgeführt. Nach vollständiger Analyse sollen die DNA-RF mit der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit nach in vivo Bestrahlung sowie weiteren bekannten Parametern dieser Tumormodelle korreliert 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.

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.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Konferenzen:

15th International Wolfsberg Meeting on Molecular Radiation Biology/Oncology, Wolfsberg Castle, Ermatingen, Switzerland, 2017:

Rassamegevanon et al., Translation of gamma H2AX foci assay for clinical application: study in human head and neck squamous cell carcinomas (hHNSCC), Poster

von Neubeck et al., Improving the γ H2AX foci assay – correlating patient characteristics with foci data, Poster

Gilbert H. Fletcher Society Meeting 2017, Dresden: von Neubeck et al., Radiobiology of Protons, Vortrag

Publikation: Tumor heterogeneity determined with a γ H2AX foci assay: A study in human head and neck squamous cell carcinoma (hHNSCC) models. Rassamegevanon T, Löck S, Range U, Krause M, Baumann M, von Neubeck C. *Radiother Oncol.* 2017 Jul 21. pii: S0167-8140(17)32447-7. doi: 10.1016/j.radonc.2017.06.027.

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 035D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 266.628,00 EUR	Projektleiter: Dr. Gomolka	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer chronischen Strahlenexposition

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- V1.1: Der Nachweis von verschiedenen RF mittels Immunfluoreszenz in hoch und niedrig exponierten Uran-Bergarbeitern erfordert eine Methodenetablierung. Dazu konnten die Proteine: γ H2AX, 53BP1, MDC1, MRE11, NBS1, 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 bereits in Doppelfärbung von zwei verschiedenen Proteinen an dem gleichen biologischen Material, um den Einsatz von Probanden-Material zu reduzieren. Im Folgenden muss die automatische Foci-Detektion und Auswertung mittels Fluoreszenzmikroskopie etabliert werden. Dies erfordert die Anpassung von verschiedenen Parametern zur optimalen automatischen Auswertung. Für weitere Proteine (Rad50, Artemis, BRCA1, XRCC4, RNF8, DNA-PK und RIF1) konnte kein entsprechender Assay etabliert werden. Für Rad50 und DNA-PK konnten keine Signale beobachtet werden, für Artemis und BRCA1 konnte nur in der untersuchten Zelllinie eine Foci-Bildung nach Bestrahlung beobachtet werden. Für RNF8 und XRCC4 zeigten sich strahlungsunabhängige Signale. Bei RIF1 wurde eine Foci-Bildung trotz hohem Hintergrund nach Bestrahlung beobachtet werden. Im Rahmen dieses Projektes und dem Projekt ZiSS/ZiSStrans wurde eine Bachelorarbeit (Antonia Lex) in Kooperation mit der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf mit dem Thema „Etablierung eines DNA-Reparaturfoci Assay für MCM7 in lymphoblastoiden Zelllinien“ erfolgreich abgeschlossen. Hierbei wurden Grundlagen der automatischen Intensitätsmessung von flächigen Signalen erarbeitet.
- 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 der AT-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe konnte abgeschlossen werden. Nach einer ersten statistischen Auswertung zeigt sich, dass AT-Patienten im Mittel einen signifikant höheren Anteil an dizentrischen Chromosomen, Chromosomenbrüchen ohne einen Austausch, einfachen Chromosomenaustauschen und komplexen Chromosomenaustauschen haben im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies trifft bei den schein-exponierten Proben und im stärkeren Maße für die mit 1 Gy in vitro bestrahlten Blutproben zu. In der mFISH Analyse wurden sechs dizentrische Chromosomen auf 1000 Zellen bereits in der unbestrahlten Kontrollgruppe nachgewiesen. Die Analyse von dizentrischen Chromosomen mittels Giemsa-Färbung gilt als „Gold-Standard“ in der biologischen Dosimetrie. Die mFISH Ergebnisse wurden daher mittels Giemsa gefärbter Präparate validiert. Hier wurden mittels einer automatischen Analyse im Durchschnitt über 1000 Zellen ausgewertet, in der mFISH-Auswertung um die 200 Zellen. Auch bei dieser Untersuchung wurde der signifikante Unterschied in der Anzahl der dizentrischen Chromosomen bestätigt, es zeigte sich jedoch eine 4fach niedrigere Rate in den Giemsa gefärbten Präparaten (1,5 pro 1000 Zellen).

Präsentation der Ergebnisse (Martin Bucher):

ATW2017 Ataxia-teleangiectasia Workshop 20.-23.03.2017, Mailand, Italien

Teilnahme an fachlichen Fortbildungen (Martin Bucher):

ADORE-Workshop (Application of cytogenetic and EPR/OSL techniques for biological dosimetry and physical retrospective dosimetry), 27.03.-07.04.2017, München, Deutschland

ConRad-Tagung (Nuclear Medical Defense Conference), 09.-11.05.2017, München, Deutschland

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterbeiträge:

M. Bucher, U. Roessler, D. Samaga, S. Hornhardt, U. Kulka, G. Dückers, P. Lankisch, A. Borkhardt, H.J. Kirlum, C.E. Rube, E. Meese, A. Kesminiene, M. Gomolka: Genome stability and DNA repair capacity after in vitro irradiation in young Ataxia telangiectasia patient. ATW2017 Ataxia-teleangiectasia Workshop 20.-23.03.2017, Mailand, Italien

Zuwendungsempfänger: Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz		Förderkennzeichen: 02 NUK 035E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 723.729,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Roggenbuck	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zusammen mit dem Projektpartner wurden mit dem NUK-System weitere Bilder aufgenommen. Dabei wurden verschiedene Zelllinien aufgenommen, die unterschiedlichen (Strahlen) Dosisleistungen ausgesetzt waren. Mit Hilfe der Messung soll die Wirksamkeit der Therapie auf den Tumor beobachtet werden. Die Bilddaten konnten daraufhin erfolgreich mit der sogenannten Demo-Version des NUK-Systems ausgewertet werden (es handelt sich um das NUK-System, das nur zur Auswertung benutzt werden kann, denn es ist nicht an ein Mikroskop angebunden).

Da der Technologiefortschritt vorangeht und die Geräte immer weiterentwickelt werden, wurde bei dem NUK-System ein Upgrade durchgeführt und es wurde eine andere Kamera eingebaut. Das Upgrade sorgt dafür, dass die Stabilität und die Geschwindigkeit optimiert werden (bei der Aufnahme eines Trägers ist die Belichtungszeit der größte Faktor, der die Gesamtdauer der Aufnahme beeinflusst). Durch dieses Upgrade konnten die Belichtungszeiten beim Fokussieren bis auf den Faktor 40 reduziert werden. Die Belichtungszeit während der Aufnahme von Bildern, die für die Analyse die entsprechende Qualität besitzen müssen, wurde um Faktor 2 reduziert.

Es wurde die Plattform weiterentwickelt, indem das Modul zur Gewebeschnittanalyse implementiert wurde. Dieses Modul ist in der Lage, in einem Fluoreszenzbild mit zwei Kanälen (DAPI für die Zellkernererkennung und FITC für den Doppelstrangbruch/ γ H2AX-Marker) ein Blutgefäß anhand von verschiedenen Merkmalen zu erkennen und mit einer Wahrscheinlichkeitsverteilung den Verlauf des Gefäßes zu definieren. Die Erkennung ist notwendig, um spezifisch sauerstoffreiche Zellen für die Zählung der Marker auszuwählen.

Weiterhin wurden Verbesserungen am Algorithmus zur Trennung von Zellen in einem Fluoreszenzbild vorgenommen. Bei diesen Verbesserungen handelt es sich um eine Erweiterung des Watershed-Algorithmus, bei dem „Keile“ zwischen den zusammengeschmolzenen Zellen geschlagen wird, um die Trennung bereits in die richtige Richtung zu treiben (der Watershed-Algorithmus ist kompromisslos bei seiner Trennung und bietet keine Parameter für die Optimierung/Einstellung).

Projekttreffen mit dem Projektpartner OncoRay in Dresden:

- 24.01.2017 Besprechung bezüglich der Demo-Version zur Analyse von aufgenommenen Bildern
- 15.03.2017 Vergleich der Ergebnisbilder mit einer manuellen Auswertung
- 31.03.2017 Besprechung zur Optimierung der Parameter zur Detektion von Foci
- 26.06.2017 Besprechung bezüglich der Änderungen für die Aufnahme der Bilder nach dem Kamerawechsel

4. Geplante Weiterarbeiten

Es soll ein Verfahren zur Aufnahme und Überlagerung von zwei Aufnahmen entwickelt werden, welche im Hellfeld und in der Fluoreszenzmikroskopie aufgenommen wurden. Im Hellfeld müssen sauerstoffreiche Bereiche identifiziert werden und diese Bereiche müssen dann im zweiten Schnitt wiedererkannt werden. Dafür müssen bestimmte Merkmale gefunden werden, welche in beiden Schnitten und mit unterschiedlichen Färbungen eindeutig zu erkennen sind, um Anhaltspunkte für die Überlagerung zu finden.

Zusätzlich ist eine Weiterentwicklung der Hardware des NUK-Systems angedacht. Es soll auf dem Probenstisch ein Deckel mit integrierter Beleuchtung angebaut werden, um die Hellfeldaufnahmen zu machen, ohne den Decken anheben zu müssen. Dafür muss eine geeignete Beleuchtung gefunden werden, welches wenig Platz beansprucht und genug Helligkeit aufweist, um die Proben in geeigneter Qualität aufnehmen zu können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Veröffentlichungen: Vorbereitung einer gemeinsamen Publikation

Posterpräsentation durch Cläre von Neubeck (OncoRay) auf dem “The 15th International Wolfberg Meeting on Molecular Radiation Biology/Oncology 2017“ ISBN 3-9808819-9-7, Vol. 12, Session 1, Poster 2

Zuwendungsempfänger: IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036AX
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 892.529,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Boukamp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Teilprojekt A werden folgende Arbeitspakete bearbeitet:

- 2.1) Führt chronische Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR zur tumorigenen Transformation der HaCaT Zellen? • genetisches Profil/Tumorbildung/Invasion
- 2.2) Welche Rolle spielt die Gewebeorganisation für das Schadensprofil durch eine Kombinationsbestrahlung? • Störungen von 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

- 2) • Für die Verifizierungsexperiment zur Rolle unterschiedlichen Seren auf die Geweberegulation in OTKs wurden funktionelle Analysen zur Proliferation und Differenzierung mittels Immunfluoreszenz durchgeführt. Diese bestätigten die histologischen Befunde und zeigten, dass die Proliferation nur durch FCS6 in

den NHEK nach 6 Wochen nicht mehr unterstützt wurde. Für die HaCaT Zellen waren alle Seren gleichermaßen proliferationsfördernd.

- Für eine verbesserte qualitative Unterscheidung wurden dann noch von HaCaT Epithelien mit zwei verschiedenen Seren Illumina RNA Expressionsanalysen durchgeführt. Hieraus wurde deutlich, dass 1. die Zahl der regulierten Gene unterschiedlich war, 2. die Differenzierungsgene in den beiden Seren unterschiedlich reguliert waren, d. h. nur in einem Serum wurde die Differenzierung sehr gut induziert, 3. und auch potenzielle Pathways differenziell reguliert waren. Damit ist unzweifelhaft bestätigt, dass Serum einen essenziellen Einfluss auf die „Güte“ der Kultur und damit auch auf das Resultat nach der UV-Bestrahlung hat. Die „optimale“ Serumcharge wurde in größerer Menge für den Verbund gekauft. Alle Gruppen werden zukünftig mit dem gleichen FCS arbeiten. Eine Publikation hierzu ist in Vorbereitung.
- Die KAU VIR Lampe wurde im Gewebekulturlabor installiert, die Spektren überprüft und zur Koordination nach Buxtehude geschickt. Ein erstes Kontrollexperiment zur Strahlensensitivität und Temperaturkontrolle wurde durchgeführt.

2.2) • Nachweis zur UV-bedingten „Dermis schädigung“: Weder die akute Dosis von UVA (24 J/cm^2) noch UVA+B ($24 \text{ J/cm}^2 + 48 \text{ J/cm}^2$) führten zu direkter (nach 1 h) Schädigung - Fibroblastenzahl, Basalmembran, Matrixdichte und -organisation in OTKs mit NHEK und HaCaT Zellen blieben unverändert.

Bei chronischer UVA Bestrahlung kam es ab 6 J/cm^2 (3 x/Woche für 4 Wochen) nicht nur zu massivem Verlust der Fibroblasten, auch die BM erschien weniger gut organisiert. Matrixdichte und Organisation zeigten keine Veränderungen. Bei chronische Bestrahlung mit UVA+B war erst ab 8 J/cm^2 // 17 mJ/cm^2 eine Reduktion der BM, Auflockerung der Collagenmatrix und Destruktion der Fibrillenstruktur nachweisbar; d. h. die „Dermis“ erwies sich auch bei chronischer Bestrahlung als äußerst stabil.

In OTKs mit HaCaT Zellen war das Kollagenfasernetzwerk generell weniger kompakt und langfaserig - d. h. man muss prinzipiell von einer anderen Epithel-Fibroblasten Interaktion ausgehen. Weder UVA noch UVA+B führten hier zur Fibroblastenschädigung und entsprechend gab es keine Veränderung an der BM oder Matrix. D. h. bei gleicher Strahlenqualität ist der Keratinozytentyp für die jeweilige Interaktion mit dem Stroma verantwortlich und bestimmt die Sensitivität des Stromas gegenüber UV.

2.3) • UV-Abhängigkeit bei der Alterung: Es wurde ein PCR-basiertes Analyseverfahren etabliert, mit dem alle zu verwendenden Fibroblasten- und Keratinozytenstämme auf ihre Reinheit (Virusfreiheit) untersucht werden. Dies ist für die Arbeit im S1 Bereich (Gewebekultur) erforderlich.

2.4) • Fortführung der Auswertung der RNA Mikroarrayanalysen speziell der UV-behandelten Kulturen in Kooperation mit Dr. Jörg Galle, Leipzig, bei dem Philipp Worst (Doktorand) während eines 2-wöchigen Aufenthaltes in die spezielle Art der Analytik eintrainiert wurde und die Analysen nun am IUF fortführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

2) • Fertigstellung der Daten und Fertigstellung der Publikation

2.2) • Damage Pathway Aktivierung (IIF von pATM, γ H2AX, PAR und 53BP1) und Analysen zum Mechanismus der Telomerlängenregulation nach akuter UV Bestrahlung.

2.3) • Erster Ansatz zur Alters-abhängigen UV Sensitivität: Ansatz von OTKs mit NHEK und unterschiedlich alten Fibroblasten - Bestrahlung mit der KAU VIR Lampe.

2.4) • Verifizierung der RNA Daten und Aufarbeitung eines Verifizierungsexperiments für die Mikroarrayanalyse.

5. Berichte, Veröffentlichungen

1. März 2017: Deutscher Krebspreis 2017: Kategorie Experimentelle Krebsforschung der Deutschen Krebsgesellschaft, AEK International Cancer Conference, Heidelberg

27. April 2017: KVSF Statustreffen: 3. Projektgespräch zur BMBF-geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung, Dresden

Zuwendungsempfänger: Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade		Förderkennzeichen: 02 NUK 036B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 891.400,00 EUR	Projektleiter: 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

AP2: Erweiterte Transkriptionsanalyse krebsrelevanter microRNAs in nativem Tumorgewebe und in den sieben SCC-Zelllinien.

Ergebnisse: Krebsrelevante miRNAs zeigen in nativem Tumorgewebe und in SCC Zelllinien veränderte Transkriptionsprofile (z. B. Hoch-regulation von miR-21-5p und miR-155-5p, beide Onco-miR). Es konnte bei der Transkription zwischen sonnenexponierter und nicht-exponierter Haut kein deutlicher Unterschied festgestellt werden. Allerdings weichen die Transkriptionsprofile in diesen beiden Hautarealen stark von denen im Tumorgewebe ab. Die Transkriptionsprofile in den Zelllinien weichen zum Teil von denen im nativen Gewebe ab.

AP4: Messung der Apoptose der Zellen durch „Annexin V“ Anfärbung nach einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung von humanen Keratinozyten Zelllinien HaCaT und HaSK-pw.

Ergebnisse: Die Beeinträchtigung der Viabilität (oder Induktion der Apoptose) der Zellen durch die UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung wurde durch „Annexin V“ Färbung im Guava Flußzytometer gemessen. Dabei wurden ein DNA-Farbstoff (Propidiumjodid) und ein Phosphatidylserin bindendes Protein (Annexin V) eingesetzt. Während frühapoptotische Zellen nur das Annexin Signal aufweisen, binden Spätapoptotische Zellen beide Farbstoffe. Die Signale können im Flußzytometer bestimmt werden. Achtundvierzig Stunden nach der Kombinationsbestrahlung (mit UVB: 870 J/m^2 + UVA: 13 kJ/m^2 + VIS + IR) wurde eine sehr große Anzahl von apoptotischen HaKS-pw Zellen ($83,8 \pm 4,4 \%$) detektiert. Eine ähnlich hohe Anzahl von apoptotischen HaKS-pw Zellen ($81,7 \pm 5,9 \%$) konnte ebenso bei der UV-Bestrahlung (mit UVB: 870 J/m^2 + UVA: 13 kJ/m^2) ohne VIS und IR beobachtet werden. Der Anteil der apoptotischen Zellen in den nicht bestrahlten Zellen liegt bei $26,7 \pm 6,2 \%$. Ein ähnlicher Prozentsatz konnte nach Einzelbestrahlung mit VIS ($34,1 \pm 5,4 \%$) und nach IR ($33,0 \pm 8,7 \%$) gemessen werden. Die Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass VIS und IR Einzelbestrahlung keine Apoptose induzieren und VIS + IR in der Kombinationsbestrahlung bei der verwendeten Dosis die Apoptose von HaSK-pw auch nicht beeinflussen. Ein ähnliches Bild für die Apoptose nach Einzelbestrahlung mit VIS und IR konnte auch bei den HaCaT Zellen gesehen werden (Apoptose: 26 – 33 %). Interessanterweise konnte eine kleine Reduzierung der Apoptose von HaCaT Zellen bei der Kombinationsbestrahlung detektiert werden (von $53,6 \pm 0,4 \%$ bei UV-Bestrahlung auf $40,6 \pm 4,6 \%$ bei Kombinationsbestrahlung). Weitere Wiederholungen sollten die hier beobachtete Wirkung von VIS + IR auf die Apoptose bei der Kombinationsbestrahlung verifizieren. Es wäre auch von großem Interesse zu erkunden, ob ein Dosis-Effekt besteht und welche Bedeutung der p53-Status hier hat. Durch Kombinationsbestrahlung induzierte DNA-Schäden (CPD) wurden auch in HaSK-pw untersucht. Die ersten Ergebnisse zeigten keinen Unterschied bei der CPD-Induktion zwischen Kombinations- und UV-Bestrahlung. Es konnten auch keine DNA-Schäden durch die Einzelbestrahlung mit VIS und IR bei der verwendeten Dosis festgestellt werden. Ein Dosis-Effekt auf die CPD-Induktion wird zurzeit untersucht. Dieser Versuch wird auch auf die HaCaT Zellen erweitert.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Messung der globalen DNA-Methylierung und Promoter-Methylierung und der Transkriptionsänderung von krebserlevanten Genen/microRNAs nach akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

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

AP4: Messung der Apoptose der Zellen und Bestimmung der Schadensinduktion nach der akuten Kombinationsbestrahlung (UV-VIS-IR) von humanen Keratinozyten Zelllinien.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 602.574,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krutmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Ergebnisse:

In den letzten Monaten verglichen wir die akute zelluläre Stressantwort in Keratinozyten nach sequentieller Bestrahlung (UVB>UVA und UVA>UVB) mit den zuvor durchgeführten Kombinations- (UVB+UVA) bzw. Einzelbestrahlungen (UVB; UVA).

In diesen Versuchen konnten wir erstmals zeigen, dass i) eine sequentielle Bestrahlung, unabhängig von der Bestrahlungsreihenfolge, im Vergleich zur Kombinationsbestrahlung zu einer erniedrigten Expression pro-inflammatorischer Zytokine führt und ii) eine sequentielle Bestrahlung gegenüber einer UVB- bzw. UVA-Einzelbestrahlung zu einer erhöhten Expression von klassischen kanonischen AhR-Zielgenen führt, die nach Kombinationsbestrahlung nicht beobachtet wurde.

Nach Installation der neuen Filter für die UVB- und die UVA-Lampe sind wir nun mehr in der Lage ein physiologisch relevantes Verhältnis von UVA und UVB zu erzeugen. Darüber hinaus können wir durch das Auswechseln einzelner Filter das UVA/UVB Verhältnis variieren, so dass jahreszeitliche, tageszeitliche und geographische Unterschiede simuliert werden können.

Arbeitspakete 3, 4 und 5:

Die für die in vivo Versuche vorgesehene Bestrahlungseinheit wurde im April 2017 ausgeliefert, allerdings ohne funktionsfähiges Dosimeter. Dies ist bereits zur Reparatur eingeschickt und wird in den nächsten Wochen eingebaut

4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1:

Im nächsten Schritt wird mittels Transkriptomanalyse das Expressionsmuster der Zellen nach sequentieller, Kombinationsbestrahlung und Einzelbestrahlung untersucht. Die oben beschriebenen Experimente zur akuten zellulären Stressantwort nach sequentieller, Einzel- und Kombinationsbestrahlung werden mit Hilfe AhR-defizienter Keratinozyten wiederholt. Parallel hierzu werden Experimente in primären humanen dermalen Fibroblasten durchgeführt.

Arbeitspakete 3, 4, und 5:

Nach Installation der Bestrahlungseinheit & Auswertung der in Arbeitspaket 1,2 durchgeführten Experimente werden wir mit der Planung und Durchführung der ersten in vivo Versuche beginnen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 036D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.024.872,00 EUR	Projektleiter: Dr. Rapp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die verbliebenen Bestrahlungsanlagen an die Partner ausgeliefert und installiert. Weitergehende kleine spektrale Anpassungen wurden durchgeführt. Ebenso wurden die Verhältnisse der spektralen Bänder in Ihrer Intensität einander angepasst, sodass eine bestmögliche Simulation der solaren Verhältnisse ermöglicht wird. Alle Bestrahlungsanlagen wurden spektrometrisch charakterisiert und die eingebauten Spektrometer kalibriert. Durch Transportschäden musste die Kalibrierung für zwei Spektrometer nochmals durchgeführt werden.

Einen Schwerpunkt der Forschungsarbeiten dieses Berichtszeitraumes nahm das Arbeitspaket 4 ein, bei dem die zentrale Frage lautet, ob sich das DNA Schadensprofile nach kombinierter Exposition im Vergleich zu den einzelnen spektralen Banden ändert. Dies wurde durch eine große Anzahl an Comet-assay Experimenten (mit und ohne Enzymsubstitution) und einer damit einhergehenden Immunfärbung gegen diverse DNA Schäden bewerkstelligt. Für UVB und UVA konnten bereits bekannte DNA Schäden reproduziert werden (UVB: CPDs, oxidative Produkte in geringer Menge, keine direkten DNA Doppelstrangbrüche (DSBs), Cross-links; UVA: CPDs, oxidative Produkte in größerer Menge, DSBs). Für den VIS und die IR Bereich konnten außer geringen Mengen an oxidativen Schäden keine direkten Schäden, nach akuter Exposition, detektiert werden. Dem entgegen zeigt die Kombinationsexposition (UVA/UVB/IR) im Comet-assay verstärkte DNA Fragmentierung, die aber wahrscheinlich nicht auf die Induktion der Schäden, sondern auf deren Prozessierung beruht. Diese Untersuchungen wurden nicht nur in einer Zelllinie, sondern in beiden im Konsortium verwendeten Zelllinien durchgeführt. Dabei zeigten beide Linien vergleichbare Resultate. Für die beiden Zelllinien wurden ebenfalls Migrations- und Scratch-Assays durchgeführt sowie mit der Entwicklung eines Lebendzellmarkers basierend auf dem RFP635-Protein begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die nächste Projektphase wird dazu verwendet, die experimentellen Befunde aus den Schadensprofilen zu bestätigen und potentielle Ursachen für den mehr als additiven Prozess zu finden. Dazu sollen Versuche mit knock-out Zellen und mit unterschiedlicher Temperatur zur Beeinflussung der gesamten oder spezifischer DNA Reparatur zu erreichen. Die Lebendzellbestrahlungsexperimente am Lebendzellmikroskop mit Hilfe der Lochmembran, sollen zusammen mit dem neu entwickelten RFP635 Marker verbessert werden, ohne einen Einfluss auf die photobiologischen Erkenntnisse zu verursachen. Die Migrations-, Scratch-Assays, die bereits durchgeführt wurden, werden ausgewertet werden, um einen direkten Vergleich zwischen den beiden Zelllinien zu ermöglichen. Dazu werden ebenfalls RNA Profile verwendet, die in der aktuellen Projektphase zusammen mit der AG Boukamp erstellt wurden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Natale, F., Rapp, A., Yu, W., Maiser, A., Harz, H., Scholl, A., Grulich, S., Anton, T., Horl, D., Chen, W., Durante, M., Taucher-Scholz, G., Leonhardt, H. and Cardoso, M.C. (2017): Identification of the elementary structural units of the DNA damage response. *Nat Commun* 8, 15760.

Muster, B., Rapp, A. and Cardoso, M.C. (2017): Systematic analysis of DNA damage induction and DNA repair pathway activation by continuous wave visible light laser micro-irradiation. *AIMS Genetics* 4(1), 47-68.

Masterarbeit Juliane Joswig „DNA damage profiling after solar radiation using enzyme modified comet assay“, 2017

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 037A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 992.585,00 EUR	Projektleiter: Dr. Jakob	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Erfassung und Identifizierung strahlungsinduzierter Interaktionspartner strukturbildender heterochromatischer Faktoren.

Bestimmung der Relevanz dieser Faktoren oder Interaktionen für die räumlich-zeitliche Organisation der DNA Reparatur und deren Ausgang.

Optimierung und Erweiterung von Methoden/Techniken zur Beobachtung und Quantifizierung strahlungsabhängiger Chromatindekondensation.

Geklärt werden soll auch die Größenverteilung der Schadensdomänen als Grundlage für die Weiterentwicklung des „Local Effect Models zur Übertragung experimenteller Daten aus Röntgenstrahlexperimenten auf die Effekte nach Teilchenbestrahlung“.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In murinen Fibroblasten wurde der Einfluss von Sirtuin auf die DNA-Reparatur nach Röntgen- und Alpha-bestrahlung untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Verzögerung der Reparatur nach Alphas zu späteren Zeitpunkten (≥ 8 h) nach Sirtuin Inhibition mittels Nicotinamid, die nicht in Röntgen bestrahlten Proben zu beobachten war. Veränderung der Chromatindichte unter Einfluss von Sirtuin Inhibition zeigte bei ersten FLIM Untersuchungen endogen ohne Bestrahlung keine signifikanten Veränderungen.

Bei den Studien zur Untersuchung des Einflusses von RNF138 auf die Resektion komplexer DSBs wurde damit begonnen eine stabile humane RNF138 ko-Zelllinie mittels CRISPR/Cas9 zu generieren. Es gelang zunächst einen heterozygoten RNF138 ko-Klon zu etablieren. Erste Analysen zeigten, dass ein heterozygoter Knock-Out nicht ausreicht, um einen signifikanten Einfluss auf die Rekrutierung von Rad51 zu bewirken. Deshalb wurde an der Herstellung eines homozygoten Knock-Outs weitergearbeitet. Parallel dazu wurde ein RNF138 ko in Hela-Fucci-Zellen begonnen. Diese 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.

In Rekrutierungsstudien konnte in transient transfizierten Zellen bereits eine Interaktion von RNF138 mit Ku80 und CtIP zellzyklusunabhängig nachgewiesen werden. Bei der zellzyklusabhängigen Untersuchung des Einflusses eines RNF8 kd auf die Resektion nach Alphabestrahlung konnten wir zeigen, dass eine RNF8-Depletion die Anzahl an Foci des Resektionsmarkers RPA nicht beeinflusst. Wir gehen daher davon aus, dass RNF8 nicht benötigt wird um Ku80 vom DSB-Bruchende zu lösen und so Resektion zu erlauben.

4. Geplante Weiterarbeiten

Da Sirtuine sowohl einen direkten Einfluss auf Reparaturprozesse nehmen können, als auch wichtige Funktion beim Chromatinremodelling zeigen, muss jetzt geklärt werden, über welche Funktion der beobachtete Effekt der Reparaturinhibition vermittelt wird. Für Rekrutierungsanalysen in der Sirtuin-Studie wird derzeit ein Pulldown-System für Proteine mit einem FLAG-Tag etabliert. Transiente Transfektionen sowie erste Versuche zur IP waren erfolgreich und werden nun nach Bestrahlung mit Röntgen oder Alpha zur Anwendung kommen. Parallel dazu werden RNF138-Plasmide (WT / Δ RING) generiert, bei denen der GFP-Tag durch einen FLAG-Tag ersetzt wird, um die Interaktion von RNF138 mit z. B. Ku80 zellzyklusabhängig in den Hela-Fucci nach Röntgen im Vergleich zu Alphabestrahlung untersuchen zu können. Die FLIM Experimente sollen fortgesetzt und Veränderungen der Chromatindichte durch ionisierende Strahlung unter Einfluss von Sirtuin Inhibitoren untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

B. Jakob and G. Taucher-Scholz (2017): Live Cell Imaging to Study Real-Time ATM-Mediated Recruitment of DNA Repair Complexes to Sites of Ionizing Radiation-Induced DNA Damage. *Methods Mol Biol.*;1599:287-302

A. Heselich, L. Pack, G. Taucher-Scholz and B. Jakob (2017): Influence of poly(ADP)ribosylation on Radiation-Induced Chromatin Decondensation, *GSI Scientific Report*. ID 185

E. Abdollahi, L. Pack, G. Taucher-Scholz and B. Jakob (2017): Inspection of counting loss and pile up effect on fluorescence lifetime recording of radiation-induced chromatin decompaction, *GSI Scientific Report*. ID 334

S.Tonnemacher, G.Becker, G. Taucher-Scholz, M. Eltsov, D. Grewe, A. Frangakis and B. Jakob (2017): Imaging chromatin under near native conditions using transmission electron microscopy, *GSI Scientific Report*. ID 335

C. Barent, L. Niederreiter, L. Pack, A. Heselich, B. Jakob, G. Taucher-Scholz and N. Aeverbeck (2017): RNF138 stimulates DNA-end resection upon heavy-ion-irradiation in human G1-phase cells, *GSI Scientific Report*. ID 243

M. Bolsa, D. Boscolo, E. Porcel, S. Lacombe, O. Sokol, J. Wiedemann, E. Scifoni, W. Tinganelli, B. Jakob, S. Roux G.J. Sanchez, M. Durante and M. Krämer (2017): Nanoparticles radio-enhancement of ion beams at different oxygenation conditions, *GSI Scientific Report*. ID 338

E. Janiel, G. Becker, G. Taucher-Scholz and B. Jakob (2017): Comparison of X-ray and ion irradiation dependent protein recruitment to DNA lesions using online microscopy, *GSI Scientific Report*. ID 326

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 037B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 752.328,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Seit vielen Jahren war die gängige Hypothese in der Strahlenbiologie, dass DSB Reparatur ausschließlich durch die Mechanismen des 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

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Modifizierung der Chromatinstruktur durch Veränderung der Tonizität eine Verschlechterung der DSB Reparatur vor allem auf dem Level der HRR und der Resektion (gemessen durch Rad51- und RPA-Foci) zufolge hatte, wurde die Anwendung der hypo- und hypertonen Medien auf die Untersuchung des G2-Checkpoints erweitert. Dieser wurde in humanen RPE-1 wt Zellen mittels der Durchflusszytometrie und des Indikators H3pS10 für mitotische Zellen gemessen. Die Behandlung mit hypotonen Medium sorgt bereits ohne Bestrahlung für eine Reduktion des Anteils an mitotischen Zellen, wobei hypertones Medium kaum Auswirkungen zeigt. Werden die Zellen zunächst bestrahlt und dann mit hypotonen Medium behandelt, zeigt sich ein augenscheinlich verstärkter G2-Checkpoint, wohingegen mit hypertonen Medium nur ein abgeschwächter G2-Checkpoint zu sehen ist.

Des Weiteren wurden Methyltransferase- bzw. HDAC-Inhibitoren verwendet, um eine Veränderung der Chromatinstruktur in einer spezifischeren Art und Weise hervorzurufen. Chaetocin (Methyltransferase-Inhibitor) sorgt für eine stärkere Kondensierung des Chromatins, was das Gegenteil von dem was erwartet wurde war, und hat zufolge, dass die Reparatur durch alt-EJ in serum-deprivierten HCT116 Lig4^{-/-} Zellen verbessert wird. Im Gegensatz dazu konnten die HDAC-Inhibitoren Trichostatin A und VPS (Valproinsäure), die eine Relaxierung des Chromatins zufolge haben, keine Veränderung der Reparatureffizienz durch alt-EJ in MEF Lig4^{-/-} Zellen zeigen.

Um die zugrundeliegenden Mechanismen besser zu verstehen, wurde der Einfluss von Schlüsselproteinen des alt-EJ wie CtIP (hauptverantwortlich für Resektion) untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die CtIP-Level in serum-deprivierten Zellen reduziert sind aber nach Behandlung mit Chaetocin wieder hochreguliert werden. Das könnte die verbesserte Reparatur nach Chaetocin Behandlung erklären. Da die Kinase ATM CtIP phosphoryliert und somit aktiviert, wurde untersucht welchen Einfluss die Inhibierung von ATM auf alt-EJ in G0-Zellen hat. Es wurde gezeigt, dass die Reparatureffizienz nach ATM Inhibierung, aber nicht nach ATR (verwandte Kinase von ATM) Inhibierung erheblich abnimmt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Der Einfluss von die Chromatinstruktur verändernden Inhibitoren (Chaetocin, Trichostatin A) soll ebenfalls im Hinblick auf die DSB Reparatur im Allgemeinen mittels der konfokalen Mikroskopie untersucht werden. Fokus liegt hier auf γ H2AX, 53BP1, pATM, RPA und Rad51.
- Um die Mechanismen des G2-Checkpoints unter hypo- und hypertonen Bedingungen besser zu verstehen, sollen Inhibitoren für die Checkpoint-Kinasen ATM, ATR und DNA-PK in verschiedenen Kombinationen genutzt werden.
- Hinsichtlich der Untersuchung des alt-EJ in G0-Zellen soll weiterhin der Fokus auf die Resektion und ihren Zusammenhang mit der Chromatinstruktur gelegt werden. Außerdem sollen verschiedene DNA-PK defiziente Zelllinien hinzugezogen werden, da in diesen Zellen zum einen eine Hyperresektion und zum anderen keine Inhibierung von alt-EJ in G0 gezeigt werden konnte.
- Die Überexpression bzw. Suppression von HP1 Proteinen soll in exponentiell wachsenden und Plateau-Phase Zellen mithilfe der RNA-Interferenz hinsichtlich der alt-EJ Aktivität untersucht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 037C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 719.412,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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 wurden weiterhin ATRX-Mutanten etabliert, in denen die spezifischen Proteindomänen für die DNA-Bindung, die ATPase-Aktivität bzw. die PCNA-Interaktion von ATRX so mutiert sind, dass sie unfunktional für die entsprechende Eigenschaft sind. Durch Zellüberlebensstudien mit ATRX-defizienten Zellen, welche mit den entsprechend mutierten ATRX-Varianten komplementiert wurden, konnte im vorherigen Berichtszeitraum bereits eine erhöhte Sensitivität dieser Zellen gegenüber Agenzien beobachtet werden, die DSBs erzeugen, welche HR-abhängig repariert werden. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass alle untersuchten Proteindomänen und die von ihnen vermittelten Funktionen für eine effiziente HR von Bedeutung sind. Diese Annahme konnte nun durch weitere Studien bekräftigt werden. So konnte durch Immunfluoreszenz-Analysen für jede der getesteten Mutanten ein DSB-Reparaturdefekt nachgewiesen werden, welcher genauso stark ausgeprägt war wie in ATRX-defizienten Zellen.

Ein Schwerpunkt der Arbeiten in diesem Berichtszeitraum lag auf der Charakterisierung der Funktion von ATRX während der HR. Die zuvor beschriebenen DSB-Reparaturdefekte und die beobachtete Interaktion von ATRX mit PCNA legten die Annahme nahe, dass ATRX für die PCNA-vermittelte DNA-Reparatursynthese während der HR von Bedeutung sein könnte. Um diese Annahme zu überprüfen, wurde ein neuer methodischer Ansatz etabliert, der eine Visualisierung der DNA-Reparatursynthese in der Immunfluoreszenz ermöglichte. Nach Induktion von DSBs konnten mit diesem Ansatz Reparatursynthese-Prozesse in Wildtyp-Zellen nachgewiesen werden, nicht aber in ATRX-defizienten Zellen oder den zuvor beschriebenen Deletionsmutanten. Dies verdeutlicht eine essentielle Funktion von ATRX für die DNA-Reparatursynthese während der HR.

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

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Im weiteren Verlauf des Projekts soll die Rolle von ATRX während der DNA-Reparatursynthese weiter charakterisiert werden. Hierbei soll der Faktor RFC in die Untersuchungen miteingeschlossen werden, welchem eine wichtige Funktion bei der Rekrutierung von PCNA zukommt. Dazu sollen das DSB-Reparaturverhalten sowie die Fähigkeit zur DNA-Reparatursynthese von RFC- und PCNA-defizienten Zellen untersucht und mit dem bereits bekannten Verhalten ATRX-defizienter Zellen verglichen werden. Darüberhinaus soll das Zusammenspiel von ATRX, PCNA und RFC bei der DNA-Reparatursynthese durch biochemische Analysen genauer untersucht werden.

AP2: Das zweite Arbeitspaket wurde bereits abgeschlossen. Um weiterhin kompetitiv im Feld der DNA-Reparaturforschung arbeiten zu können, wurde die gesamte Aufmerksamkeit auf das Arbeitspaket 1 gelenkt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 038A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 762.720,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Multhoff	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Langzeiteffekte (30 und 40 Wochen nach *in vivo* Herz-Bestrahlung bei 8, 16 Gy) wurden an primären Endothelzellen des Herzens und der Lunge untersucht. Endothelzellen des Herzens und der Lunge wurden phänotypisch charakterisiert. Neue Bestrahlungsssettings wurden für das CT-bildgestützte Hochpräzisionsbestrahlungsgerät „Small Animal Radiation Research Platform“ (SARRP) etabliert. Mit diesen Settings war es erstmals möglich, Gesamtherzbestrahlungen mit einer nur geringfügigen Bestrahlung der Lunge (< 20 %) durchzuführen. Diese Bestrahlungstechnik spiegelt wesentlich effizienter die humane Bestrahlungsplanung von Tumoren im Brustbereich wieder.

Mit Hilfe der neuen Bestrahlungstechnik konnte die Entstehung von Lungenfibrosen in den Mäusen weitgehend vermieden werden, so dass das Gesamtüberleben der Mäuse signifikant erhöht werden konnte. Aus diesem Grund können nunmehr Langzeitstrahleneffekte (wie Lungenfibrose) in Mäusen *in vivo* analysiert werden.

Erste Anzeichen einer Lungenfibrose, die in der Regel erst sehr spät nach einer Herz/Lungen-Bestrahlung auftreten, konnte erstmals mit Hilfe einer CT-gestützten Bildgebung in Mäusen, die ein signifikant erhöhte Lebenserwartung haben, nach Herzbestrahlung sichtbar gemacht werden. In einem nächsten Schritt soll untersucht werden, ob das Phasenkontrast-CT Gerät (Bruker) Lungenfibrosen bereits zu einem früheren Zeitpunkt nach Bestrahlung und mit einer höheren Auflösung identifizieren kann.

Nach einer Gesamt-Thoraxbestrahlung (Bestrahlung von Herz und Lunge bei 10 Gy) wurden primäre Endothelzellen aus dem Herzen und der Lunge isoliert und unter statischen und unter Flussbedingungen (IBIDI) untersucht. Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass sich die Fähigkeit der Ausrichtung von primären Endothelzellen entlang der Flussrichtung nach Bestrahlung signifikant verschlechtert. Endothelzellen aus bestrahlten Mäusen, die unter statischen und Flussbedingungen kultiviert wurden, konnten erfolgreich isoliert werden. Genom- und Proteom-Analysen dieser Zellen stehen noch aus. Zusätzlich dazu sollen lösliche Faktoren (Entzündungsfaktoren) im Medium von *in vivo* bestrahlten Endothelzellen, die unter Fluss- und unter statischen Bedingungen kultiviert wurden, vergleichend untersucht werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Der Schaden, der durch Teilbestrahlungen des Herzens/der Lunge entstehen, sollen mit Daten verglichen werden, die bei humanen Patienten entstehen, wenn es nach einer Bestrahlung von Brustkrebs (linksseitig) zu einer Teilherzbestrahlung kommt.

Die Effekte einer Gesamt- und Teil-Herz- bzw. Lungenbestrahlung auf primäre Endothelzellen sollen verglichen werden mit Effekten, die nach einem Herzinfarkt auftreten. Dazu soll ein Mauserzinfarktmodell etabliert werden.

Endothelzellen aus Tumoren (B16F0) nach *in vivo* Bestrahlung des Tumors sollen ebenfalls isoliert werden und hinsichtlich Genom- und Proteomanalysen und phänotypisch untersucht werden. Diese Analysen sollen dabei helfen, Unterschiede in der Strahlensensitivität von Tumor- und Normalendothelzellen zu identifizieren und besser zu verstehen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen könnten zu einer verbesserten Bestrahlungsplanung und Tumorkontrolle führen.

Des Weiteren soll in den Langzeitmausmodellen nach Herz- bzw. Lungenbestrahlung mit Hilfe des Phasenkontrast-CTs (Bruker) frühzeitiger als über CT Bildgebung eine Lungenfibrose diagnostiziert werden.

Die migratorische Kapazität primärer Endothelzellen soll nach Herz- bzw. Lungenteilbestrahlung untersucht werden und mit dem Expressionsmuster von Adhäsions-, Progenitor-, Fettstoffwechsel, Proliferation und Entzündungsparametern korreliert werden.

Die Interaktion von Leukozyten und Endothelzellen soll bildgebend mit Hilfe des IBIDI Systems untersucht werden. Vergleichende Proteom/Transkriptom Analysen von Blutlymphozyten aus Mäusen nach Herzbestrahlung sollen in Kooperation mit dem Labor von Frau Soile Tapio durchgeführt werden.

Es ist weiter geplant, die Ergebnisse der Analysen an primären Endothelzellen mit Hilfe mathematischer Modelle zu beschreiben, um biologische Mechanismen der strahlen-induzierten (niedrig- vs hoch-dosiert) Pathogenese zu beschreiben und strahlenbiologische Schäden am Normal- und Tumorendothel vorherzusagen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Juric MK, Shevtsov M, Mozes P, Ogonek J, Crossland RE, Dickinson AM, Greinix HT, Holler E, Weissinger EM, Multhoff G. B-cell-based and soluble biomarkers in body liquids for predicting acute/chronic Graft-versus-Host Disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol* 7: 660, 2017

Sage EK, Schmid TE, Geinitz H, Gehrman M, Sedelmayr M, Duma MN, Combs SE, Multhoff G.: Effects of definitive and salvage radiotherapy on the distribution of lymphocyte subpopulations in prostate cancer patients. *Strahlenther Onkol*: 2017, DOI 10.1007/s00066-017-1144-7

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 038B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.12.2019	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 367.263,00 EUR	Projektleiter: Dr. Tapio	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In den früheren Zwischenberichten ist die etablierte Proteomics Plattform schon beschrieben. Hieran wurde nichts weiter verändert. Zusätzlich zu den schon beschriebenen Analysen mit bestrahlten humanen Koronarendothelzellen, den sekretierten Proteinen (Sekretom) und die Auswirkungen letzterer auf nicht bestrahlten Empfängerzellen, wurde das Projekt mit einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe Claudia Fournier am GSI, Darmstadt, erweitert. In Darmstadt wurde die Detektion verschiedener Cytokine und Chemokine mittels der Luminex-Technologie durchgeführt. Die Betrachtung des Sekretoms und der Empfängerzellen erfolgte vor dem Hintergrund biologischer Signalmechanismen, die den sogenannten „Bystander“-Effekt induzieren. Hier galt es die Übertragung der Signale nachzuweisen und zugleich neue Erkenntnisse über die Signalmoleküle zu gewinnen, was zweifelsohne von großer Relevanz für die Strahlenimmunologie ist. Nach dieser Studie zeigten die bestrahlten Zellen, deren Sekretom und die nicht-bestrahlten Empfängerzellen Entzündungsreaktionen, die mittels Interferon-Typ-I-verbundenen Proteinen und STAT3 Aktivierung herbeigeführt wurden. Die Studie wurde zur Publikation im Journal of Proteome Research eingereicht.

4. Geplante Weiterarbeiten

Derzeit wird die Analyse von Proben vorbereitet, die die Auswirkungen der sogenannten Scherspannung auf primäre Mauserendothelzellen des Herzens mittels Proteomics untersucht. Hierzu werden lokal im Herz mit 10 Gy bestrahlte und scheinbestrahlte Mäuse eingesetzt. Bei der Bestrahlungsplattform handelt es sich um die sogenannte „small animal radiation research platform“ von XStrahl. Scheinbestrahlung bedeutet, dass die Maus ein CT erhalten hat. In bestrahlten Mäusen wird dies benötigt, um die lokale Bestrahlung des Herzens und der Lunge zu ermöglichen ohne weitere Organe größeren Strahlendosen auszusetzen. Hierzu wird auch der Strahlungseffekt auf die Lunge untersucht, allerdings ohne den Effekt der Scherspannung zu betrachten. Zusätzlich wird die Proteomanalyse von bestrahlten gegen nicht bestrahlten Tumoren am Modell des Melanoms durchgeführt. Diese Arbeiten laufen in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Multhoff teilweise am Klinikum rechts der Isar ab.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript (eingereicht 23.06.2017 in Journal of Proteome Research): Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Vikram Subramanian, Juliane Merl-Pham, Donna Lowe, Daniela Hladik, Nadine Erbedinger, Svetlana Ktitareva, Claudia Fournier, Michael J. Atkinson, Ken Raj, Soile Tapio: Radiation-induced Endothelial Inflammation is Transferred via the Secretome to Recipient Cells in a STAT-Mediated Process

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.095.956,00 EUR	Projektleiter: 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 Tumorereignis mit denen von Patienten von primären und sekundären Tumoren in Bezug auf das Genom und Genexpression vor und nach Bestrahlung verglichen (AP2). Die notwendigen statistischen und bioinformatischen Mittel werden in AP3 entwickelt. Strahlenbedingte epigenetische Veränderungen in der Genregulation werden in AP4 untersucht. Untersuchungen auf genomischer Ebene zur Erforschung spontaner und strahleninduzierter Veränderungen der Telomere (AP7a) und dosimetrische Untersuchungen zur Ganzkörperdosisbelastung durch strahlentherapeutische Behandlungen mittels strahleninduzierter genomischer Läsionen (AP7b) sind geplant.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Epidemiologische Auswertung von im DKKR erfassten Second-Tumor Ereignissen nach therapeutischer Exposition zu Strahlung (SCAR)
- AP2: Fall-Kontroll-Studie zu Krebserkrankungen im Kindesalter und molekularer Epidemiologie (KIKME) - Genomweite Analyse von Unterschieden in der strahlenassoziierten, genetischen Krebs susceptibility
- AP3: Statistische Techniken zur integrativen genomweiten Analyse
- AP4: Copy-Number-Variation und Methylierung vor und nach Bestrahlung
- AP7a: Genomische Stabilität bei 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: Eine Publikation der Kohortendaten wird eingereicht. Die Therapiedaten für die Fall-Kontroll-Studie werden z. Z. in 5 Kliniken und 5 Therapiestudien erhoben. Der Kooperationsvertrag mit der VIVE-Studie wurde finalisiert und der Datentransfer vorbereitet. Das positive Ethik-Votum zur Erhebung der Radioonkologiedaten liegt vor.
- AP2: Im letzten Halbjahr wurden weitere Patienten mit Sekundärneoplasie (SN) und die dazu gematchten Patienten mit Primärneoplasien (PN) sowie krebsfreie Kontrollpatienten (KO) rekrutiert. Die ersten fünf kultivierten Zellen gematchter Triplets (Patient mit SN, Patient mit nur einer PN, krebsfreier Kontrollproband) wurden ersten Bestrahlungsexperimenten unterzogen und DNA sowie RNA wurden extrahiert.
- AP3: Genexpressions- sowie Methylierungsrohdaten, die in den Vor- und Hauptversuchen von AP2 und AP4 neu anfielen, wurden prozessiert. Ein Vorversuch zur Bestimmung des Effektes von Bestrahlung auf die Genexpression, abhängig von der Zeit nach der Bestrahlung sowie der Intensität, wurde ausgewertet. Weiter wurde die Methodenentwicklung zur Auswertung der genomweiten SNP-Daten fortgeführt. Der

bereits beschriebene Deep Learning Ansatz zur Dimensionsreduktion der SNP Daten weiter optimiert. Hierbei kamen verschiedene Regularisierungstechniken zum Einsatz.

- AP4: Die Vorversuche mit drei SN-, und drei PN- Ziellinien mit (0, 2, 5, 8) Gy und nach 15 min, 2 h und 24 h und die Auswertung der RNA-Seq Analysen ist abgeschlossen und Ergebnisse wurden mit QPCR bestätigt. Die Analyse der Methylierungs-Daten des Vorversuchs wird durchgeführt. Ein bioinformatisches Modul für den Vergleich der Methylierungs- und RNA-Seq Daten wurde erstellt. Bisulfidsequenzierung auffälliger 1N Fälle für die Gene (RAD9a, p53, APC, p16) detektierte vollständig methylierte Allele. EBV-Transformierte Zelllinie (Tumortransformation) zeigt eine erhöhte Methylierung im RAD9A Locus. Kultivierung und Bestrahlung von 6 Zell-Triplets des Hauptversuchs ist 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 erfolgreich durchgeführt. Die Analysen von 27 Spendern zeigen keine Unterschiede in der zellulären oder chromosomalen. SN-Spender zeigten spontane chromosomale Instabilitäten. Aufgrund der replikativen Telomerverkürzung in Fibroblasten in vitro ist ein Vergleich der absoluten Telomerlängen in Fibroblasten und Speichelproben der GenkiK/ ISIMEP Phase II-Spender geplant.
- AP7b: Die Analyse von DNA Doppelstrangbrüchen in peripheren Leukozyten von 7 Patienten (4x Orthovoltgerät, 3x Linearbeschleuniger) zeigen bisher keine Unterschiede in der Dosisbelastung der Patienten zwischen den Bestrahlungstechniken.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Therapiedatenerhebung wird weiter fortgeführt. In den Kliniken Mainz und Heidelberg werden Daten erhoben, mit weiteren Kliniken wird die Datenerhebung vorbereitet. Des Weiteren wird die Prüfung und Auswertung der VIVE-Daten und die Dosimetrie vorbereitet.
- AP2: In den nächsten sechs Monaten werden weitere Probanden mit SN, PN und ohne Krebserkrankung rekrutiert. Weitere Bestrahlungsexperimente der Hauptversuche sowie anschließende RNA und DNA Extraktionen sollen durchgeführt werden.
- AP3: In Zusammenarbeit mit AP2 wird der statistische Auswertepan für AP2 finalisiert. Der Deep learning Ansatz zur Dimensionsreduktion der SNP Daten wird optimiert. Eitere anfallende Methylierungs- und Genexpressionsdaten aus AP2 und AP4 sowie genomische DNA-Seq Daten aus AP8 werden prozessiert.
- AP4: Die Methylierungsdatensätze des Vorversuchs werden ausgewertet und mittels des erarbeiteten Moduls korreliert. Es folgen Bestätigungsexperimente mit Pyrosequenzierung und Western-blots. Es wird die Kultivierung der übrigen Zelllinien des Hauptversuchs durchgeführt. Die CGH-Analysen der Kontrollen werden abgeschlossen und mit den der 2N und 1N Datensätzen korreliert.
- AP7a: Sukzessive Analysen der GenkiK/ KIKME I Fibroblasten
- AP7b: Fortlaufende Patientenrekrutierung und Analyse

5. Berichte, Veröffentlichungen

15. Intern. Wolfsberg Meeting 2017 “Cellular and molecular basis of cancer proneness in survivors of a first primary and second primary malignancy during childhood” Sebastian Zahnreich, Danuta Galetzka, Olesja Sinizyn, Anna Maierhofer, Julia Flunkert, Manuela Marron, Patricia Sadre Dadras, Iris Altebockwinkel, Maria Blettner, Harald Binder, Moritz Hess, Alexander Wichman, Peter Kaatsch, Claudia Spix, Dirk Proschek, Lukas Eckhard, Thomas Haaf, Thomas Hankeln, Heiko Karle, Steffen Rapp, Heinz Schmidberger
 HEC 2016 Muenchen Assessing the performance of deep belief networks in characterizing the landscape of DNA repair mutations Moritz Hess, Danuta Galetzka, Sebastian Zahnreich, Thomas Hankeln, Heinz Schmidberger; Evaluation of sample size estimation tools for differentially expressed RNA-seq Maria Blettner, Manuela Marron and Harald Binder

Zuwendungsempfänger: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz	Förderkennzeichen: 02 NUK 042B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 518.880,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hankeln

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Forschungsverbund ISIBELA verfolgt das übergeordnete Ziel, den Zusammenhang zwischen einer Strahlenexposition und der Entstehung von 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 im Förderzeitraum insgesamt 102 (54 + 48) RNA Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2 und AP4) 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 der von uns festgelegten Standards (beschrieben in Bericht 1/2016) überführt, gelagert und qualitativ begutachtet. Alle der 102 eingegangenen RNA-Proben erfüllten die Qualitätsanforderungen und wurden daher zur Konstruktion von Sequenzierbibliotheken verwendet. Die Sequenzierung wurde jeweils mit einer angestrebten Sequenziertiefe von ca. 20 Mio Reads pro Bibliothek gemäß den Standardprotokollen der Firma Illumina für „single read/high output“-Läufe auf einem HiSeq 2500-Sequencer durchgeführt. Die Daten wurden zu weiteren Auswertung per FTP an das IMBEI transferiert. Die Details der Abläufe sind im Bericht 1/2016 erläutert.

Nachdem das Auslesen der Demultiplexing-Statistiken verbessert und automatisiert wurde (Bericht 2/2016) konnte ein weiteres auf Perl basierendes Skript etabliert werden. Zur besseren Dokumentation und in Hinblick auf mögliche zukünftige Integration in ein Datenbanksystem werden hier unterschiedliche Daten aus verschiedenen Dateiformaten und Versuchsabschnitten (Messungen und Statistiken) ausgelesen, den Proben zugeordnet und zusammengefasst.

Dazu werden benötigt:

- Bioanalyser-Ausgabe (Komma-separiert)
- Sample-Info (Tab-separiert) mit z. B. QuBit-/Konzentrationsmessungen
- Sample Sheet (Komma-separiert)
- SAV-Tabelle mit Lauf QC-Parameter (Tab-separiert)

4. Geplante Weiterarbeiten

Nach Analyse der bisherigen Daten werden die Hauptversuche fortgeführt. Für das dritte Quartal 2017 werden weitere Proben erwartet. Diese werden voraussichtlich den Umfang eines kompletten „high output“-Sequenzierlaufs haben. Abhängig von der Probanden-Rekrutierung wäre ein zweiter Lauf im vierten Quartal möglich.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr.30, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 042C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 438.337,00 EUR	Projektleiter: Dr. Marron	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Strahlenexposition und Krebsentstehung im Kindesalter sowie der Entwicklung von Folgoneoplasien 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 Folgoneoplasie 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

In der vergangenen Förderperiode wurde zur Steigerung der Antwort- und Teilnehmerate ein zweites Erinnerungsschreiben für alle bis dahin angeschriebenen ehemaligen Kinderkrebspatienten (Fälle) mit Folgeneoplasie (SN) und ohne Folgeneoplasie (PN) eingeführt. Um das Studienkollektiv weiterhin zu vergrößern, wurden zudem die Einschlusskriterien für das Matching zwischen SN und PN in folgenden Abstufungen erweitert: [1] +/- 2 Jahre für dasselbe Alter und +/- 3 Jahre für dasselbe Diagnosejahr der ersten Kinderkrebskrankung, [2] +/- 3 Jahre für Alter und +/- 4 Jahre für Diagnosejahr, [3] +/- 4 Jahre für Alter und +/- 5 Jahre für Diagnosejahr. Auf Grundlage der neu definierten Einschlusskriterien erfolgte im Anschluss eine erweiterte Kohortenziehung potentiell anschreibbarer Probanden durch das Deutsche Kinderkrebsregister. Für Gruppe [1] konnten insgesamt 375 neue PN identifiziert werden, 141 von ihnen wurden jedoch bereits als Matchingpartner für einen anderen schon vorliegenden SN angeschrieben. In Gruppe [2] wurden 165 neue Fälle identifiziert, von denen 46 bereits kontaktiert waren. In Gruppe 3 beliefen sich die Zahlen auf 8 neue und 3 bereits angeschriebene Fälle. Somit konnten insgesamt 358 mögliche neue Teilnehmer ohne Folgeneoplasie identifiziert werden. In einem fortlaufenden Prozess wurde damit begonnen für jeden teilnehmenden SN auf Grundlage von Alter, Geschlecht, Diagnosejahr und Art der ersten Krebserkrankung eine Matchinggruppe zu bilden, welcher im Verhältnis 1:3:4 entsprechende PNs und krebsfreie Kontrollen zugeordnet wurden. Das Einpflegen von vorhandenen Informationen zu den Zelllinien, Speichel- und Blutproben der Probanden in die Probandendatenbank wurde fortgeführt. Darüber hinaus wurde die Programmierung der Studiendatenbank abgeschlossen und die ersten Informationen zu den Studienteilnehmern wurden zur Qualitätssicherung parallel doppelt in zwei Datenbanken eingegeben. Um die Bestrahlungsdosis für die Hauptversuche festlegen zu können, wurde ein Großteil der Vorversuchsdaten zu den vier verschiedenen Bestrahlungsdosen (0 Gy, 50 mGy, 100 mGy, 2000 mGy) statistisch ausgewertet. Daraus resultierend wurden die Bestrahlungsdosen 0 Gy, 50 mGy und 2000 mGy für die Hauptversuche festgelegt. Zusätzlich wurden weitere Vorversuche durchgeführt, um eine Beendigung des Experimentes nach vier Stunden zu evaluieren. Hierfür wurden von 15 Probanden jeweils drei Proben von gezählten und G0 synchronisierten Zelllinien genutzt, sodass für insgesamt 45 unterschiedliche Experimente Zelllinien vorlagen. Für jeden Probanden wurde jeweils eine Probe einer der drei verschiedenen Bestrahlungsdosen (0 Gy, 50 mGy, 2000 mGy) ausgesetzt. Jedes Experiment wurde nach vier Stunden beendet, die RNA extrahiert und die Quantität und Qualität gemessen. Ebenfalls wurde mit der Durchführung der ersten Hauptversuche begonnen. Hierzu wurden fünf im Verhältnis 1:1:1 gematchte Zelllinien-Triplets von SNs, PNs und Kontrollen mit den festgelegten Bestrahlungsdosen 0 Gy, 50 mGy und 2000 mGy bestrahlt und die Experimente zum festgelegten Zeitpunkt beendet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im Laufe der nächsten Förderperiode soll die Rekrutierung von Fällen und Kontrollen fortgeführt werden. Es wird eine Ausweitung der Kontroll-Rekrutierung in niedergelassenen Unfall- und Sportchirurgischen Praxen angestrebt. Diese könnte zur Steigerung der Teilnehmeraten ähnlich wie bei der Rekrutierung von Fällen in Wohnortnähe umgesetzt werden. Alle erfolgreich gewonnenen Studienteilnehmer (Fälle und Kontrollen) sollen weiterhin passenden Matchinggruppen zugeordnet werden. Die Daten der durchgeführten Vorversuche zur Beendigung der Experimente nach vier Stunden sollen statistisch ausgewertet werden. Des Weiteren sollen weitere Hauptversuche durchgeführt werden. Ein Analyseplan für die Untersuchung der in AP2 festgelegten Hauptfragestellungen zu Genstrahlen-Interaktionen soll erstellt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Marron, M. et al. (2017): Cancer in childhood and molecular epidemiology – The KIKME case-control study. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017; Apr 1-5; Washington, DC. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Research 2017; 77 (13 Suppl): Abstract nr 4261. doi:10.1158/1538-7445

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 042D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 805.884,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Im Rahmen des ISIMEP-Projekts wurden rund 40 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer sekundären Neoplasie nach einem Ersttumor im Kindesalter sowie Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer primären Neoplasie im Kindesalter ohne Folgeneoplasie 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 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 Zweittumor, wurden bei unserem Kooperationspartner in Mainz durch weitere 20 Zellkulturen von gesunden, gematchten Probanden ergänzt.

Es sollen nun sämtliche Zelllinien, einschließlich derer, die schon in der ersten Förderperiode analysiert wurden, auf ihre individuelle Reparaturkapazität nach niedrigen Strahlendosen hin untersucht werden. Dies ist notwendig, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aller 60 Zelllinien zu gewährleisten, da im Rahmen der vergangenen Berichtszeiträume die Analysemethoden sowie das automatische Auswertesystem optimiert wurden. Des Weiteren ermöglicht die erneute Auswertung eine Validierung der in der letzten Förderperiode ermittelten Analyseergebnisse. Inzwischen wurden die entsprechenden Experimente mit allen 60 Zelllinien durchgeführt sowie von 2/3 dieser Experimente halbautomatische Bildaufnahmen zur Auswertung angefertigt. Das letzte/fehlende Drittel der Experimente konnte aufgrund von aufgetretenen technischen Problemen mit dem halbautomatischen Scanningssystem erst mit einer Verzögerung von 2 Monaten begonnen werden und wird derzeit durchgeführt.

Die nachfolgende Auswertung der Bild-Dateien wurde für die ersten 23 Patientenproben durchgeführt. Hierbei handelt es sich um einen gemischten Probenatz, der sowohl Zelllinien von Patienten mit primärer oder sekundärer Neoplasie als auch Zelllinien von gesunden Probanden beinhaltet. Allgemein wiesen alle bislang analysierten Zelllinien im Vergleich zu den im Rahmen von ISIMEP zuvor untersuchten Zelllinien ein tendenziell niedrigeres Foci-Level auf, was wir jedoch auf die verbesserte Analysesoftware zurückführen, welche zur Quantifizierung der DNA-Doppelstrangbrüche eingesetzt wird. Die Analyse dieses Probenatzes zeigte des Weiteren, dass die spontan auftretenden DSBs der Zellen von gesunden Probanden eine vergleichbar große Variabilität zwischen den einzelnen Zelllinien wie die der Neoplasiepatienten aufweist. Darüber hinaus konnten wir die Resultate der in der letzten Förderperiode erhobenen Daten insofern validieren, als dass damals auffällige Zelllinien auch in der aktuellen Auswertung eine höhere Anzahl spontan auftretender DNA-Schäden bzw. nach Bestrahlung ein abweichendes Reparaturverhalten zeigten.

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 und die Sequenzen mit denen der Kontrollzelllinien verglichen. Für die geplante Exom-Sequenzierung wurden sukzessive die Zelllinien expandiert und die Zellpellets bis zur Sequenzierung kryokonserviert.

AP6: In Mainz liegen inzwischen 5 pseudonymisierte Triplets vor, welche nach Darmstadt gebracht, expandiert sowie danach kryokonserviert werden sollen. Da im Rahmen der KIKME-Studie II (AP2, Dr. Marron) mehrere hundert Zelllinien rekrutiert werden, die dann zukünftig in mehrfacher Ausführung auch hier in Darmstadt gelagert werden, kontaktierten wir unterschiedliche Anbieter von Kryotanks. Ein geeignetes Modell mit einem Fassungsvermögen von rund 2500 Kryoröhrchen wurde kürzlich bestellt und sollte zeitnah eintreffen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Reparatur-Kapazität: Die laufenden Experimente wurden auf alle 60 vorliegenden Zelllinien ausgedehnt, da inzwischen die Verfahren zur Kultivierung, Färbung und softwaregestützten Auswertung seit dem Ende des Vorgängerprojektes ISIMEP weiter verbessert wurden. Ein Drittel der Experimente wurde schon ausgewertet, die verbleibenden Experimente werden im aktuellen Berichtszeitraum analysiert. Das letzte Drittel der Zelllinien wird ebenfalls gescannt und danach ausgewertet.

Exom-Sequenzierung: Die Expansion der Zellen und deren Kryokonservierung werden fortgesetzt bis alle Proben der verschiedenen Zelllinien für die Sequenzierung vorliegen.

Mechanistische Studien: die im vergangenen Berichtszeitraum begonnenen Studien hinsichtlich des Niedrigdosis-Effektes und des Einflusses von Radikalen auf die Reparatur-Effizienz werden fortgeführt unter Hinzunahme des Radikalfängers N-Acetylcystein (in Ergänzung zu H_2O_2).

AP6: Die im Rahmen der KIKME-Studie Phase II rekrutierten Zelllinien werden nach erfolgter Pseudonymisierung nach Darmstadt gebracht, dort vervielfältigt, kryokonserviert und 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. Inzwischen liegen 5 Triplets zur Abholung in Mainz bereit. Nach erfolgter Expansion starten wir mit den entsprechenden Experimenten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 043A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 30.06.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 569.567,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kriehuber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

AP1: Wie unterscheidet sich die Reparatur von komplexen DSB die in heterochromatischen Bereichen lokalisiert sind im Vergleich zu euchromatisch lokalisierten DSB? Dazu soll in synchronisierten Jurkat, SCL-II und NIH 3T3 Zellen ein Puls-Labeling mit ^{125}I -UdR/ ^{123}I -UdR oder ^3H -UdR in früher bzw. später S-Phase durchgeführt werden, so dass exklusiv entweder eu- bzw. heterochromatische Bereiche der DNA gelabelt werden. Nachfolgend soll der Einfluss der Schäden in hetero- und euchromatischen Bereichen auf Zellzyklusverlauf, die DSB Reparatur und die Genexpression untersucht werden.

AP2: Wie unterscheidet sich die Qualität der Reparatur von DSBs unterschiedlicher Komplexität auf dem Level des einzelnen Bruches? Zu diesem Zweck soll ein Genreporterkonstrukt erstellt und stabil in das Genom von SCL-II Zellen integriert werden. Der verwendete Genreporter verfügt über TFO-Bindesequenzen, so dass mit Hilfe von ^{125}I und ^{131}I markierten TFOs sequenzspezifische Schäden, unterschiedlicher Komplexität erzeugt werden können. Nach Reparatur der induzierten DNA-Läsionen soll das Konstrukt mittels einer Pull-Down Reaktion aus der genomischen DNA der Zellen aufgereinigt und hinsichtlich Mutationsfrequenz, -typ und -lokation untersucht werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Synchronisierte Jurkat-Zellen wurden mit ^{125}IdU markiert, in der ersten G2/M- bzw. nachfolgenden G1-Zellzyklusphase zwecks Zerfallsakkumulation eingefroren und ihre RNA nach Auftauen für Genexpressions(Microarray)experimente in geeigneter Güte isoliert. Parallel durchgeführte Analysen zeigten eine 2- bzw. 3,4-fach erhöhte γH2AX -Fociinduktion in G1- gegenüber G2/M-Zellen und eine 3,7-fach erhöhte Apoptoseinduktion in G2/M- gegenüber G1-Zellen. Bei Untersuchungen in ^{125}IdU -exponierten SCL-II Zellen wurde mittels alkalischen und neutralen Comet-Assay ein SSB/DSB Verhältnis bestimmt, das gut mit theoretisch berechneten Werten übereinstimmt und auf ein hoch-LET-typisches Schadensmuster hindeutet.
- AP2: Die für den Genreporter spezifischen ^{125}I markierten TFO wurden in einen der neu erstellten RPE-1 Klone mittels Elektroporation eingebracht und dann zur Zerfallsakkumulation für mehrere Wochen gelagert. Nach der anschließenden Pull-Down basierten Aufreinigung des Genreporters wurden mittels Blue-White-Screening die Mutationsraten ermittelt. Dabei zeigt sich im Vergleich zur Kontrolle eine 1.1-fache Erhöhung der Mutationsrate.
- In weiteren Versuchen erfolgte die Triplex-Bildung zwischen ^{125}I markiertem TFO und Genreporter in vitro um ein Maximum an Target-Bindung sicherzustellen. Nach dem Einbringen des Genreporter- ^{125}I -TFO-Hybriden in SCL-II WT Zellen und anschließender Lagerung zur Zerfallsakkumulation konnte in diesen Proben in der Mutationsratenbestimmung eine annähernd 4-fache Erhöhung der Mutationsfrequenz im Vergleich zur Kontrolle ermittelt werden.
- In der Charakterisierung der Mutanten mittels PCR konnten 10 distinkte Bandenmuster definiert werden, die in den untersuchten Mutanten mit unterschiedlicher Häufigkeit detektiert wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Microarray-Experimente sollen im nächsten Berichtszeitraum zum Abschluss gebracht werden. Nach Puls-Labeling mit ^{125}IdU in der späten bzw. frühen S-Phase soll in Jurkat-Zellen der Zellzyklusverlauf in Abhängigkeit von der Zerfallsanzahl erfasst und die ^{125}I -Aufnahmeeffizienz bestimmt werden. In ^{125}IdU -pulsgelabelten synchronisierten Zellen soll, nach erfolgter Zerfallsakkumulation bei $-196\text{ }^\circ\text{C}$ in der G2- sowie im folgenden Zellzyklus in G1-, S- und G2-Phase, die Induktion bzw. Reparatur von ^{125}IdU -induzierten DSB anhand $\gamma\text{-H2AX/53BP1}$ Foci-Analysen charakterisiert, das SSB/DBS Verhältnis mittels Comet-Assay bestimmt und Mikrokern- und Chromosomen-Analysen durchgeführt werden.
- AP2: Bestimmung der Mutationstypen in den Mutanten mittels Isolation einzelner Banden, anschließendem TA-Klonieren und Sequenzieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	Förderkennzeichen: 02 NUK 043B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 30.06.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.526.088,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

UDE-1: Neu erzeugte humane Zelllinien, die das Modellsystem tragen, werden gegenwärtig auf die Anzahl von Integrationen pro Genom untersucht. Um die Bedeutung verschiedener Reparaturwege bei der Reparatur von DSB-Clustern zu untersuchen wird das Modellsystem in verschiedene bereits vorhandene reparatur-defiziente CHO Mutanten integriert. So in DNA-PKcs defizienten Zellen generierte Klone werden bereits in Überlebens- und Immunofluoreszenzversuchen weiter untersucht. Parallel wurde mit Hilfe der CRISPR/Cas9 Technologie unter Einsatz des neuen Zellsorters an der Generierung eines Panels von humanen K.O.-Zelllinien für zentrale Reparatur- und Signalproteine gearbeitet, in die im Weiteren das Modellsystem integriert werden soll. Erste erfolgreiche K.O.s konnten bestätigt werden.

UDE-2: In Zellen die zur Generierung stabiler Integrationen eines Konstrukts zur Expression des GCR-I-SceI-DD Fusionsproteins mit Antibiotika selektiert wurden konnte mit Hilfe eines Antikörpers gegen die Degradationsdomäne Proteinexpression nachgewiesen werden. Unerwarteter Weise führte die Stimulation mit dem GCR-Liganden in diesen Zellen jedoch nicht wie beabsichtigt zur Translokation des Proteins in den Nukleus-einer grundlegenden Voraussetzung für die Funktionalität des Systems.

UDE-3: Die Reparaturkinetik von Cisplatin (CP) induzierten DNA-Addukten (Pt-[GG]) wurde in NSCLC Zelllinien gemessen. Eine linear von der CP Konzentration abhängige Addukthäufung mit einem Maximum nach 18 h und anschließender Reparatur konnte gemessen werden. Die Bildung von Pt-[GG] war in CP-resistenten Zellen deutlich schlechter als in sensitiven Zellen. Kombinierte Behandlung mit CP und Bestrahlung führte zu reduzierter Bildung von Pt-[GG]. Erste Resultate zum Einfluss des SWI/SNF Komplexes zeigen eine deutliche Steigerung der CP und CP/IR Sensitivität, wenn die Expression des Brm Proteins in Brg1 defizienten Zellen, beides Komponenten des SWI/SNF Komplexes, reduziert wird. Metformin (MET) inhibiert signifikant die NSCLC-Zellproliferation. Die Kombination von MET/CP und IR zeigte im Vergleich zu alleinigen IR, CP/IR oder MET/IR die höchste antiproliferative Wirkung. Die radiosensibilisierende Wirkung von CP auf A549 (CP-resistent) und H460 (CP-empfindlich) wurde durch MET verstärkt. MET erhöhte die Pt-[GG]-Bildung um ca. 10 % bzw. 30 % in A549 bzw. H460 und hemmte die Expression des Reparaturproteins ERCC1. Die Kombination von MET/CP und IR ergab nach etwa 2 h im Vergleich zu IR alleine etwa 60 % mehr γ -H2AX-Foci. Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Verstärkung der CP- und Strahlensensitivität durch MET in NSCLC-Zellen vorteilhaft bei der Behandlung von IR und CP resistenten Tumoren sein könnte.

4. Geplante Weiterarbeiten

UDE-1: Analog zu Experimenten mit DNA-PKcs defizienten CHO Zellen, sollen Zelllinien zur Induktion von komplexen Brüchen in XRCC3 und Ku80 mutanten Hintergrund erzeugt werden. Der Einfluss von H₂O₂ auf die Entstehung von Chromosomenaberrationen und Zellüberleben nach Expression von I-SceI soll in den etablierten Zelllinien untersucht werden.

UDE-2: Wir nehmen an, dass die Selektion mit Antibiotika die Entstehung von Klonen mit defekten (evtl. trun-kierten) Fusionsproteinen begünstigt und so zu der Problematik von nicht funktionellen, regulierbaren I-SceI-Expressionssystemen beiträgt. Daher planen wir neu generierte DD-ISceI-GR-GFP Klonierungsvektoren einzusetzen, die es ermöglichen werden durch Zellsortierung am Astrios positive Klone zu selektieren und den Einsatz von Antibiotika zu umgehen.

UDE-3: Die Charakterisierung der NSCLC Linien bezüglich der Bildung und Reparatur von Pt-[GG] Addukten, der Einfluss der Chromatinstruktur auf die Cisplatineffekte wird fortgeführt. Es wird untersucht inwieweit CP-Addukte die Bildung von strahleninduzierten Reparaturfoci beeinflussen. 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

Schipler, A., Mladenova, V., Soni, A., Nikolov, V., Saha, J., Mladenov, E. and Iliakis, G.: Chromosome thripsis by DNA double strand break clusters causes enhanced cell lethality, chromosomal translocations and 53BP1-recruitment; *Nucleic acids research*, DOI: 10.1093/nar/gkw487

Riaz A. M., Sak A., Erol B. Y., Groneberg M., Melnikova M., Thomale J., Stuschke M.; Metformin potentiates radiosensitizing effect of cisplatin in NSCLC cells. *Strahlenther Onkol*, 2017 (Suppl) 193:S27

Zuwendungsempfänger: Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock		Förderkennzeichen: 02 NUK 043C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 30.06.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 237.438,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wolkenhauer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurde weiterhin nach zusätzlich nutzbaren Datensätzen innerhalb von öffentlich verfügbaren und geeigneten Genexpressionsdatenbanken recherchiert.
- AP2: Die Genexpressionsanalysen wurden basierend auf ionisationsstrahlungsrelevanten, öffentlich verfügbaren Mikroarray Datensätzen, die sich auf dem Gene Expression Omnibus (GEO) befinden, optimiert. Die kürzlich identifizierten Kandidaten für die ionisationsstrahlungsrelevanten Gene wurden mit Hilfe von „Weighted Gene Co-Expression Network Analyses“ (WGCNA), bezüglich ihrer Eigenschaft mit weiteren Genen co-exprimiert zu sein, untersucht. Die zuvor identifizierten Gene konnten mit dieser unabhängigen Methode klassifiziert und in eine gemeinsame Gruppe eingeordnet werden.
- AP4: Die innerhalb des Projektes entwickelte Mikroarray Datenanalysepipeline wurde mit Gensignaturen aus öffentlich verfügbaren Datensätzen von GEO verglichen.
- AP5: Die entwickelte Analysestrategie für die Identifizierung von strukturellen Veränderungen im Genom wurde für eine verbesserte Detektion von Doppelstrangbrüchen um neue Algorithmen geprüft und diesbezüglich erweitert. Es wurde begonnen den aktuellen Zustand des entwickelten Analyseworkflows als Docker Container auf der Plattform quay.io für eine verstärkte Wiederverwendung vorzubereiten. Es wurden Algorithmen für das Maschinelle Lernen getestet um strukturelle Variationen (SV) zu filtern. Weiterhin war die Arbeitsgruppe an einer Veröffentlichung über optimale Vorgehensweisen in der Datenanalyse von Sequenzierungsexperimenten beteiligt.

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. Um die Wiederverwendung der verwendeten Tools zu verstärken, werden Integrationsmöglichkeiten in weitere Workflowmanagementplattformen geprüft.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Gruening BA, Fallmann J, Yusuf D, Will S, Erxleben A, Eggenhofer F, Houwaart T, Batut B, Videm P, Bagnacani A, Wolfien M, Lott SC, Hoogstrate Y, Hess WR, Wolkenhauer O, Hoffmann S, Akalin A, Ohler U, Stadler PF, Backofen R. The RNA workbench: best practices for RNA and high-throughput sequencing bioinformatics in Galaxy. *Nucleic Acids Research*. doi.org/10.1093/nar/gkx409

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 045A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2018		Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017
Gesamtkosten des Vorhabens: 988.930,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Graw

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Ergebnisse des 1. Halbjahres 2017 wurden im Rahmen einer INSTRA-Vollversammlung am 22.6.2017 vorgetragen und diskutiert; hier erfolgt nur eine kurze Darstellung:

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Die Auswertung der Metabolit-Untersuchungen in der Linse zeigte einen deutlichen Alterseffekt, der bei den Proben aus dem Serum nicht nachgewiesen werden konnte. Eingebettete Augen wurden immunhistologisch (Ki67) untersucht; es gibt keinen Einfluss der Strahlung oder des Genotyps auf die Zahl der proliferierenden Linsenepithelzellen. Das Ergebnis soll mit einem weiteren Marker (PCNA) validiert werden.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Im Mittelpunkt der Verhaltensuntersuchungen stand die neue Kohorte, die 4 Monate nach der Bestrahlung untersucht wurde. Die früheren Daten, die das Open Field sowie die Vorimpulshemmungen (PPI) betreffen, wurden bestätigt. Die Gesamtauswertung mit einem linearen Modell bei wiederholten Messungen zeigt einen Einfluss des Alters und der Bestrahlung auf die Ausprägung bestimmter Verhaltensweisen.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die Untersuchung des Schilddrüsengewebes ergab keinen Einfluss der Bestrahlung (und des Genotyps und des Alters) auf die Häufigkeit von Entzündungen, wohl aber auf die Zahl der Hyper- und/oder der Neoplasien: diese kommen nur bei bestrahlten Gruppen vor. Für die vorgesehenen Transkriptomanalysen wurde die RNA in jeweils guter Qualität isoliert.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es wurden einige Zellkulturproben bestrahlt.

Z2: Pathologie (HMGU-PATHO; Frauke Neff)

Im Berichtszeitraum wurden keine weiteren Untersuchungen durchgeführt.

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

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

4. Geplante WeiterarbeitenAP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Jochen Graw)

Es sind immunhistologische Färbungen mit Antikörpern gegen PCNA geplant. Die neue 6-Monats-Kohorte wird histologisch und immunhistochemisch untersucht. Die Bestrahlungsversuche an Linsenorgankulturen und Linsenepithelkulturen werden ausgewertet. Metabolom-Analysen bestrahlter Linsen und/oder Linsenzellen werden vorbereitet.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Detailliertere Auswertung der Verhaltensexperimente der 0,5 Gy-Kohorte 4 Monate nach der Bestrahlung. Immunhistochemische Analyse des Hippocampus, bes. in den Gehirnen der neuen 4-Monatskohorte im Vergleich zu den Tieren 24 Monate nach Bestrahlung.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Schilddrüsengewebe der neuen 6-Monats-Kohorte wird histologisch untersucht. Aus histologisch auffälligem Schilddrüsengewebe wird RNA isoliert, um Transkripte zu messen. Transkriptomanalysen werden an den RNA-Proben durchgeführt.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

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

Z2: Pathologie (PATHO; Frauke Neff)

Frau Neff sieht sich nach ihrem Wechsel in das Städtische Klinikum nicht mehr in der Lage, bei INSTRA weiter mitzuarbeiten (siehe auch Punkte 9 und 13 dieses Berichts).

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Die Sammlung von Daten wird weitergeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 045B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 262.634,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kulka	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In der Frage niedriger Dosen ionisierender Strahlen besteht dringender Forschungsbedarf sowohl hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehungen als auch hinsichtlich der biologischen Mechanismen. Bereits vor Beginn des Projekts wurden die Mäuse einmalig im Alter von 10 Wochen mit Dosen zwischen 0 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

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 werden 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. Dazu wurde für einen Vorversuch ein 32plex Immunoassay zur Messung von strahlenantwort-relevanten Zytokinen/Chemokinen durchgeführt. Dabei wurden drei Fragestellungen verfolgt: (i) Reproduzierbarkeit der Messung im Blutplasma einer homogenen Gruppe unbestrahlter Mäuse (Probenzahl 6) nach 6 Monaten, (ii) Dosis-Wirkungsbeziehung 0-0,5 Gy, 4 h nach Bestrahlung in männlichen Wildtyp-Mäusen, (iii) Strahlenantwort von 0,5 Gy nach 4 Monaten in männlichen Wildtyp-Mäusen (9 Mäuse pro Gruppe, frische Plasmaproben). Es zeigte sich für einige Zytokine eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Messungen. Es gab zwar wenig signifikante Ergebnisse, aber einige interessante Trends konnten als Strahlenantwort ermittelt werden.

AP2: Untersuchungen an der Milz:

Die Untersuchung von Kandidatenproteinen in Milzextrakten wird mittels Westernblot-Methode durchgeführt. Es wurden erste Vorversuche mit Gewebeproben durchgeführt (Überprüfung von Signalen SOD2 und MCM7), um die Durchführbarkeit der Westernblot-Methode an Gewebeextrakten zu testen. Die systematische Herstellung von Milzextrakten wurde begonnen.

AP3: Untersuchungen an der Leber:

Die Expression von Proteinen in der Leber wird mit der 2D-DIGE-Methode (Proteomanalyse) untersucht. Mittels der Ergebnisse der Vorversuche wurde ein Protokoll erstellt. Eine spezielle Anreicherung zur Entfernung von Blutproteinen muss nicht angewandt werden, der Proteinextrakt wird aus tiefgefrorenen Pulver der gesamten Leber hergestellt. Die Proteomanalyse erfolgt mit 24 cm langen Fokussierungstreifen (pH3-11) und 13 % Polyacrylamid-Gelen mit der 2D-DIGE Technik. Erste Analysen wurden mit der höchsten Dosis von 0,5 Gy durchgeführt. Dabei wurde die Strahlenantwort im Wildtyp, heterozygoter Mutante, Weibchen und Männchen nach 24 h und 18 Monaten verglichen. Eine erste Analyse der Rohdaten zeigt einen ausgeprägten Geschlechtsunterschied in der Reaktion und eine geringe Strahlenantwort. Vorversuche zur Analyse des Phosphoproteoms mit der 2D-Technik wurden durchgeführt. Dazu wurden zwei Nachweismethoden für Phosphoproteine in der 2D-Proteingelanalyse getestet: (i) Färbung mit den Phosphoproteinfarbstoff ProQ (ii) Nachweis mit spezifischen Phosphoserin-Antikörpern nach Blotten des 2D-Gels. Im Prinzip sind beide Verfahren möglich, allerdings ist die technische Zuverlässigkeit noch zu überprüfen. Problematisch ist die Auswertung der Ergebnisse, da dafür bisher keine Software vorhanden ist.

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

Das erste Jahrestreffen 2017 des INSTRA-Verbundes fand am 22. Juni 2017 am Helmholtz-Zentrum München statt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 045C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 31.12.2018	Berichtszeitraum: 01.01.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 208.353,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Atkinson	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Analysen der Proben 18 Monate nach Bestrahlung zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Strahlendosen, abhängig von Geschlecht und Genotyp. Als zentraler Signalweg wurde der PI3K/AKT Signalweg anhand bioinformatischer Auswertungen identifiziert. Dieser spielt eine wichtige Rolle in der Erhaltung der normalen Funktionalität von Neuronen, indem die Apoptose-Induktion blockiert und die Proteinbiosynthese induziert werden. Zielmoleküle dieses Signalwegs wurden mit Immunoblot-Analysen validiert, wodurch die Relevanz dieses Signalwegs in der Strahlenantwort verifiziert werden konnte. Aufbauend darauf wurden nun auch die Proben 24 Monate nach Bestrahlung untersucht, um die Entwicklung der Effekte im Alterungsprozess nachzuverfolgen. Die Proteom-Analysen zeigen, verglichen mit den 18 Monats Proben, eine stärkere Separierung der bestrahlten Proben von den Kontrollen. Zudem wurden mehr Proteine als signifikant dereguliert identifiziert als bei 18 Monaten. Die Signalweganalyse brachte den CREB Signalweg als den am stärksten veränderten Signalweg hervor. Dieser spielt eine wichtige Rolle in vielen neurologischen Prozessen wie zum Beispiel der Bildung der Langzeiterinnerung. Die Strahlendosen von 0.063 und 0.125 Gy zeigten eine Aktivierung von CREB, was einen neuroprotektiven Effekt mit sich bringt, wogegen die höchste Dosis (0.5 Gy) eine Inaktivierung zeigte. Das Ergebnis könnte auf eine Beeinträchtigung der neurologischen Funktion hinweisen. Weitere Validierung der Daten ist geplant.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Validierung der massenspektrometrischen Daten der 24 Monats-Proben wird mit Immunoblotting durchgeführt. Zusätzlich wird die extrahierte RNA durch gezielte quantitative Transkriptom-Analyse untersucht. Aufgrund dieser Daten werden ausgewählte micro-RNAs unter Einsatz von Echtzeit-PCR (Taq-Man) gemessen. 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.

Die Herzproben werden parallel zu den Gehirnproben nach gleichem Ablauf bearbeitet. Die ausgewerteten LS-MS/MS Proteom-Daten werden wiederum Anhand von Transkriptom-Analysen und Immunoblot-Techniken validiert.

Für die Proteom-Analyse der mesenchymalen Stammzellen, die aus dem Knochenmark der zu untersuchenden Tiere isoliert wurden, werden diese 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

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.03.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 806.645,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Zitzelsberger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in vier Arbeitspakete (APs) unterteilt, die von den sechs Projektpartnern (HGMU, 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 wurden bioinformatisch zusammengefasst und für die Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort an CUB übergeben. Es wurde ein Open-Source Cloud System (Owncloud) auf einem Server der Abteilung Strahlenzytogenetik für effizienten und sicheren Dateiaustausch zwischen den Projektpartnern, eingerichtet.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Für die Analysen stehen retrospektive Patientenkollektive strahlentherapeutisch behandelter Kopf-Hals-Tumor (HNSCC) Patienten zur Verfügung, welche im Rahmen der klinischen Kooperationsgruppe „Personalisierte Radiotherapie bei Kopf-Hals-Tumoren“ (Abteilung Strahlenzytogenetik, HMGU und Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, LMU) aufgebaut werden. Alle HNSCC-Patienten erhielten eine adjuvante oder primär-definitive Strahlen(chemo)therapie in der Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der LMU.

Die retrospektiven Tumorkollektive mit klinischen Daten in der Datenbank wurden erfolgreich zusammengestellt. Derzeit werden die relevanten Gewebeblöcke in der Pathologie der LMU rausgesucht. Von den bereits erhaltenen Gewebe-Paraffinblöcken wurden Serienschritte auf Objektträgern angefertigt (10 µm für DNA/RNA Isolation; 3 µm für immunhistochemische Analysen). Um zu gewährleisten, dass die weiteren Analysen an Tumorgewebe erfolgen, wurden von jedem Fall zwei HE-gefärbte Schnitte von einem Pathologen beurteilt und für die Nukleinsäureextraktion makrodissektiert. Anschließend wurde simultan DNA und RNA aus den gekennzeichneten Tumorzellarealen 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.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die integrierten Datensätze werden mithilfe von Netzwerkgraphanalyse bezüglich zentraler Knoten und Module analysiert und die Ergebnisse an CUB übergeben.

Die Aufarbeitung der Gewebe-Paraffinblöcke des retrospektiven HNSCC-Kollektivs wird weitergeführt (Anfertigen von Serienschritten, HE-Färbung, histologische Beurteilung, DNA/RNA-Isolation). Im nächsten Schritt soll der HPV-Status der Tumorproben mittels immunhistochemischer Färbung von p16INK4a und PCR-Analysen zum Nachweis von HPV auf DNA-Ebene durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 047B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.03.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 516.332,00 EUR	Projektleiter: Dr. Hornhardt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

Schwerpunkt BfS: 1.3 Implementierung von Nachweismethoden

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

Schwerpunkt BfS: 2.4 Funktionelle Analyse und Validierung therapeutisch relevanter Netzwer-repräsentanten 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: Für die geplante Zusammenarbeit wurde eine Sichtung vorhandener Daten zur Netzwerkanalyse vorgenommen.
- AP2: In einer Bachelor-Arbeit der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf wurde mit fluoreszenzmikroskopischer Methode die Proteinexpression von Kandidatenprotein MCM7 in weiteren Zellkulturen insbesondere primären Lymphozyten untersucht. Mit Anwendung dieser Methode wurde eine Brücke zum BMBF-Projekt „Reparaturfoci“ 02NUK35D geschlagen.
- AP3: Die Asservierung von Patientenmaterial bei Partner Universitätsklinikum Freiburg wurde mit allen Verbundpartnern geplant.

Organisatorisches:

Bestandsaufnahme und erste Absprachen mit den Verbundpartnern wurden in einer Telefonkonferenz im Mai durchgeführt.

Der geforderte Kooperationsvertrag wurde abgeschlossen.

Die Postdoc-Stelle wurde ausgeschrieben und soll schnellst möglich besetzt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 047C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.03.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 688.212,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lauber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

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

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des Projektpartners LMU zu AP1-4 dargestellt. Im Vorgängerprojekt ZiSS wurden radioresistente und radiosensitive Subklone einer HNSCC-Zelllinie (Ca133) hergestellt und initial charakterisiert. Im Rahmen von ZiSStrans wird die Charakterisierung der Strahlenantwort dieser Zellen in ihrer zeitlichen Dynamik detailliert fortgesetzt. Hierzu wurden Zellkulturproben (Zellen und Zellkulturüberstände) von uns generiert und zur weiteren Analyse (Transkriptom und Sekretom) an die Projektpartner HMGU und CUB übergeben. Die Analysen befinden sich aktuell in der Auswertung. Darüber hinaus wurden die Zellklone an den Projektpartner IFZ übergeben und dort in heterotopen Xenotransplantationsexperimenten mit anschließender Bestrahlung untersucht. Explantierte Tumore sind an uns zurückgegeben worden und befinden sich aktuell in der qRT-PCR-Auswertung für verschiedene SASP-Faktoren. Analog wurden Teile des Tumormaterials von uns an den Projektpartner CUB für Sekretomanalysen der SASP-Faktoren gesendet. Ein im Rahmen des Vorgängerprojekts ZiSS identifizierter Signalweg, der mit Radioresistenz assoziiert zu sein scheint, ist der des Transmembranrezeptors CD44v6. Dieser wird im Rahmen von ZiSStrans weiter charakterisiert. Hierzu wurden Zeit- und Dosisabhängigkeit der DNA-Schadensantwort, der Induktion von Apoptose, Nekrose und Seneszenz sowie die Produktion von essentiellen SASP-Komponenten in HNSCC Zelllinien mit und ohne CD44v6-Knockdown untersucht. Zugehörige Zellkulturüberstände wurden an den Projektpartner CUB zur Sekretomanalyse weitergeleitet. Für die Evaluierung in der in-vivo-Situation wurde ein Tierversuchsantrag für die Bestrahlung von orthotopen HNSCC-Transplantaten mit und ohne CD44v6-Knockdown in immunkompromittierten Tieren vorbereitet und eingereicht. Er befindet sich aktuell im Begutachtungsverfahren beim Regierungspräsidium Oberbayern.

Die wissenschaftliche PostDoc-Mitarbeiterin, die bisher dieses Projekt bearbeitet hat, Frau Dr. Ulrike Schötz, 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 werden mit Frau Dr. Schötz in enger Kooperation verbunden bleiben und bemühen uns, die frei gewordene Position in ZiSStrans baldmöglichst neu zu besetzen, um Verzögerungen in der Bearbeitung des Projektplans zu vermeiden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Sobald ein wissenschaftlicher PostDoc-Mitarbeiter (m/w) gefunden ist, wird das Projekt wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publizierte Abstracts (Kongressbeiträge bei der DEGRO Jahrestagung 2017 in Berlin)
 U. Schötz, M. Orth, M. Selmansberger, J. Schuster, B. Stegen, U. Ganswindt, C. Maihöfer, L. Schüttrumpf, J. Heß, K. Unger, H. Zitzelsberger, C. Belka, K. Lauber: Increased CD44v6 expression confers radioresistance in subsets of HNSCC. *Strahlenther Onkol* (2017) 193(Suppl 1): S85

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 047D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.03.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 739.080,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Jendrossek	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (HMGU; Koordination), Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin (CUB), Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen (IFZ), Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-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 AP2, AP3 und AP4 vorgestellt. Um die im Vorgängerprojekt ZiSS identifizierten Strahlungs-induzierten SASP-Faktoren der untersuchten HNSCC-Tumorzellen bzgl. deren zeitabhängiger Expression im bestrahlten Normalgewebe zu untersuchen wurden murine Proben von Pneumonitis-Gewebe (Thoraxbestrahlung mit 15Gy) generiert und die RNA (Gesamtlungen-Homogenate) extrahiert. Die Quantifizierung der Expressionslevel mittels Real-Time PCR ist Gegenstand aktueller Untersuchungen. Um die Repräsentanten der untersuchten Netzwerke als potentielle therapeutische Zielstrukturen in präklinischen Modellen in vivo validieren und deren Einfluss auf die Effektivität der Strahlentherapie systematisch zu untersuchen, wurde außerdem ein neuer Antrag auf Genehmigung entsprechender Tierexperimente gestellt. Das Tierversuchsvorhaben zur „Radiosensibilisierung durch Modulation von Netzwerk-repräsentanten“ wurde Ende Juni 2017 genehmigt (Az. 84-02.04.2017.A164). Im Rahmen der beschriebenen Experimente soll untersucht werden, ob sich die in AP1 identifizierten und in AP2.1 in vitro validierten Netzwerkrepräsentanten als therapeutische Zielstrukturen durch Einsatz pharmakologischer Inhibitoren, blockierender Antikörper oder RNA-Interferenz-Strategien bzgl. der Strahlenwirkung beeinflussen lassen. Im Rahmen eines bestehenden Tierversuchsantrages wurden erste Versuchsserien zum Einfluss der Inhibition eines SASP Faktors mit immunmodulierenden Eigenschaften auf strahleninduzierte Lungenschäden durchgeführt. Die ersten histologischen Ergebnisse deuten auf einen radioprotektiven Effekt der Inhibitor-Behandlung im Lungengewebe hin. Mit Partner Freiburg wurden die Generierung und der Austausch erster Proben von humanem Normalgewebe abgestimmt.

Als Post-Doktorandin im Projekt wurde die Mitarbeiterin aus dem Vorläufer-Projekt ZiSS, Frau Dr. Simone de Leve, weiter beschäftigt. Als zukünftige naturwissenschaftliche Doktorandin (Arbeitsgruppen-übergreifende Doktorandenausbildung mit dem Partner LMU) konnte Frau Christine Hansel (MSc Medizinische Biologie) gewonnen werden. Voraussichtliches Eintrittsdatum von Frau Hansel ist der 01.10.2017.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge: 3. Projektstatusgespräch zur BMBF geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung (27/28.4.2017) in Dresden: Präsentation Vorläuferprojekt ZiSS und Planung ZiSStrans inkl. Nachwuchsförderung durch Diana Klein

Datenpräsentation auf dem OPERA Workshop, Budapest 7-9.3.2017 durch V. Jendrossek

Poster-Präsentationen:

de Leve S, Wirsdörfer F, Cappuccini F, Meyer AV, Thompson LF, Fischer JW, Stuschke M, Jendrossek V.: The immunoregulatory CD73/Adenosine system promotes radiation-induced pulmonary fibrosis by shaping a pro-fibrotic environment (Wolfsberg-Meeting Juni 2017)

Preise:

Frau Dr. Simone de Leve, Mitarbeiterin im Vorgänger-Projekt ZiSS und Post-Doc des Partners Essen im laufenden Projekt ZiSStrans erhielt auf dem 3. Projektstatusgespräch zur BMBF geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung (27/28.4.2017) in Dresden den KVSF Nachwuchspreis für den Bereich „Klinische Strahlenbiologie“

Zuwendungsempfänger: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 047E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.03.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 582.708,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Blüthgen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

CUB ist verantwortlich für die systembiologischen Analysen im Konsortialprojekt, die Arbeitsgruppe koordiniert das Arbeitspaket AP1 und alle Arbeiten der CUB werden in AP1 „Netzwerkanalyse und Systemmodellierung“ durchgeführt. Im Einzelnen gliedert sich das Arbeitsprogramm in folgende Punkte. Jeder dieser Punkte wird in enger Kooperation mit den Konsortialpartnern bearbeitet.

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In AP1.1 wurde begonnen, die Netzwerkmodelle aus ZiSS zusammenzuführen, und gut messbare Netzwerkknöten (als Vorarbeit zu AP1.2) zu identifizieren. Hier wurden insbesondere detaillierte Signalnetzwerke für das PI3K/AKT/mTOR-Signalling zusammengestellt und in der für die Darstellung mechanistischer Netzwerkmodelle geeigneten Dateiformat (SBGN) als Datei gespeichert. Dieses Dateiformat erlaubt es, einzelne Reaktionsschritte zu modellieren und eignet sich als Basis zur Datenvisualisierung und zur mechanistischen Modellierung. Es wurde dabei darauf geachtet, dass jeder einzelne Link im Netzwerk durch Literaturangaben belegt ist, diese sind in der Datei vermerkt. Modellsimulationen mit Monte-Carlo-Methoden sollen nun mögliche Dynamiken dieser Netzwerke erschließen. Hierzu werden detaillierte Literaturrecherchen insbesondere zu Rückkopplungsschleifen im Signalweg unternommen.

In AP1.3 wurden kommerziell erhältliche Assays (Beat-basierte ELISAS) zur Messung von Phosphorylierung getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass einige dieser Assays zuverlässig die Phosphorylierung ausgewählter Moleküle anzeigen und diese auch quantitativ auswertbar sind. Für andere ist dieses nicht der Fall. Daher sollen auch weitere Assays anderer Hersteller evaluiert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es wurden Assays zur Messung der SASP-Faktoren ausgewählt und bestellt, mit diesen sollen dann die Proben der bestrahlten Tumore aus der AG Lauber untersucht werden. Die Modelle aus AP1 werden durch weitergehende Literaturrecherchen komplettiert und weiterentwickelt, und es werden Perturbationsmessungen durchgeführt, um diese Modelle dann zu parametrisieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2017 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.04.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 611.208,00 EUR	Projektleiter: 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.

Arbeiten des UKF in AP4: Die Validierung vielversprechender Biomarker aus AP1-AP3 wird in einem breiten Patientenkollektiv prospektiv validiert. Ferner wurde für die Erfassung und Sammlung klinischer Daten und Proben ein klinisches Protokoll erstellt, als Grundlage für die Beurteilung durch unsere Ethikkommission.

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 werden, um für jeweilige Untersuchungen Protokolle zu erstellen und Proben aufzubereiten.

Bestimmung von Netzwerkrepräsentanten/-knoten mit Methoden und Erkenntnissen aus AP1, AP2 und AP3.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 048A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.05.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 819.068,00 EUR	Projektleiter: Dr. Wollschläger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018.

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

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

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Vorbereitende Aktivitäten (AP1-AP3):

- Abschluss eines Kooperationsvertrages zwischen der Universitätsmedizin Mainz und dem Universitätsklinikum Ulm
- Erstellung eines Studienprotokolls
- Erstellung eines Datenschutzkonzeptes
- Vorbereitung eines Antrages für die Ethik-Kommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz
- 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
- Entwicklung von SOPs zur Akquise elektronischer Daten zur Strahlentherapieplanung aus den Netzwerkkliniken in Absprache mit Ulmer Kooperationspartner
- Einstellung eines Medizinphysikers zum 15.10.2017

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 Mitte 2018.

AP2a: Erstellung eines Kurz-Fragebogens, einer Patientinnen-Information, einer Einwilligungserklärung.

AP2b: Erfassung von inzidenten Zweitmalignomen: technische Absprachen mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz. Sondierungsgespräche: Klinisches Krebsregister Baden-Württemberg, CCC Ulm.

AP3: Testläufe zur Validierung und Überarbeitung der SOPs zur Akquise der Therapieplanungsdaten in den Netzwerkkliniken. Akquise der Therapieplanungsdaten bereits bekannter Fallpersonen in Mainz und Ulm. Einarbeitung der Medizinphysikerin in die Planungssoftware und in die Konturierung auf Basis des PASSOS Herzatlas.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		Förderkennzeichen: 02 NUK 048B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.05.2017 bis 30.06.2017	
Gesamtkosten des Vorhabens: 270.727,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wiegel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Verwaltungsvorarbeiten nach Eingang des Förderbescheides. Abschluss des Kooperationsvertrages Ulm-Mainz. Stellenausschreibung für AP3/Ulm. Die Einstellung des Medizinphysikers erfolgt zum 16.07.2017.

4. Geplante Weiterarbeiten

Identifizierung einer ersten Gruppe von Patientinnen für die Dosimetrie. Anhand dieser Fälle erfolgt die Einarbeitung des Medizinphysikers in die Planungssoftware und die Archivmedien.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

3 Verzeichnis der Forschungsstellen

	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	172
	AREVA GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen	
02 NUK 041C	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfalls-wärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	30
	Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter	
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	120
02 NUK 045B	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt B	158
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	164
	Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin	
02 NUK 024E	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5	76
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	170
	Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade	
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	126
	Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich	
02 NUK 039D	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	42
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	150
	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen	
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	68
02 NUK 034D	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	112

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

- | | | |
|-------------|--|----|
| 02 NUK 030C | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C | 82 |
|-------------|--|----|

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

- | | | |
|-------------|--|-----|
| 02 NUK 017A | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A | 58 |
| 02 NUK 031D | Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D | 102 |
| 02 NUK 034C | Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C | 110 |
| 02 NUK 037A | Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A | 132 |

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

- | | | |
|-------------|---|----|
| 02 NUK 027C | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen | 16 |
| 02 NUK 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-Wirkungs-beziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B | 52 |

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

- | | | |
|-------------|---|-----|
| 02 NUK 024B | Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 2 | 70 |
| 02 NUK 030A | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C | 78 |
| 02 NUK 031C | Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A | 100 |
| 02 NUK 038B | Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B | 140 |

- 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  156
- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  162
- Hochschule Ravensburg-Weingarten, Doggenriedstr., 88250 Weingarten**
- 02 NUK 030I Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I  94
- 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**
- 02NUK 036AX Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  124
- 02 NUK 036C Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  128
- 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  66
- Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz**
- 02 NUK 042B Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B  144
- 02 NUK 044B Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt B  48
- Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München**
- 02 NUK 024C Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3  72
- 02 NUK 047C Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  166

Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München

02 NUK 031B Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B  98

02 NUK 038A Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A  138

Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr. 30, 28359 Bremen

02 NUK 042C Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C  146

Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover

02 NUK 030D Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D  84

02 NUK 044A Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur ortsaufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A  46

Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz

02 NUK 035E Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E  122

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg

02 NUK 039C Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C  40

Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen

02 NUK 030B Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B  80

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

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

02 NUK 041D Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen  32

Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt
--

- 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  60
- 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  62
- 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  64
- 02 NUK 034A Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A  106
- 02 NUK 034B Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B  108
- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  130
- 02 NUK 037C Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C  136
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  148

Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden
--

- 02 NUK 027A Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern  12
- 02 NUK 027B Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens  14
- 02 NUK 027E Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  20

- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  118
- 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  26
- 02 NUK 046A Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungs-beziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A  50

Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München
--

- 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  160

Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen

- 02 NUK 030H Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H  92

Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg
--

- 02 NUK 031A Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A  96

Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken
--

- 02 NUK 035A Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  114

Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig
--

- 02 NUK 046C Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungs-beziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C  54

Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock
--

- 02 NUK 043C Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C  154

Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart

- 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

Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenwaldring 32, 70569 Stuttgart

- 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

Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm

- 02 NUK 048B Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  176

Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen

- 02 NUK 024D Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4  74
- 02 NUK 037B Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B  134
- 02 NUK 043B Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  152
- 02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  168

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg

- 02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  104
- 02 NUK 035B Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  116

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

- 02 NUK 042A Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  142
- 02 NUK 048A Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  174

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