

**KIT**  
**Universität des Landes Baden-Württemberg**  
**und**  
**nationales Forschungszentrum**  
**in der Helmholtz-Gemeinschaft**

**PTE-N Nr. 12**

BMBF geförderte FuE zu  
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Juli - 31. Dezember 2015

Projektträger Karlsruhe  
Wassertechnologie und Entsorgung  
PTKA-WTE

**April 2016**

## **PTE-Berichte**

Der Projektträger Wassertechnologie und Entsorgung (PTKA-WTE) informiert mit Fortschrittsberichten über den aktuellen Stand der von ihm administrativ und fachlich betreuten FuE.

Die Fortschrittsberichtsreihen behandeln folgende Themenschwerpunkte:

- Entsorgung gefährlicher Abfälle in tiefen geologischen Formationen  
(PTE Nr. x seit 1991, fortlaufend)
- Stilllegung und Rückbau kerntechnischer Anlagen  
(PTE-S Nr. x seit 2001, fortlaufend)
- Nukleare Sicherheitsforschung  
(PTE-N Nr. x seit 2010, fortlaufend)

Die Fortschrittsberichtsreihen sind online verfügbar:

[www.ptka.kit.edu/wte/287.php](http://www.ptka.kit.edu/wte/287.php)

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

## Vorwort

Das KIT betreut im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) Referat 722 als Projektträger FuE-Vorhaben auf dem Gebiet „Nukleare Sicherheitsforschung“.

Die „Nukleare Sicherheitsforschung“ ist einer der Förderschwerpunkte des BMBF-Förderkonzeptes „Grundlagenforschung Energie 2020+“ und umfasst FuE-Aktivitäten zu den Themenbereichen Sicherheitsforschung für Kernreaktoren, Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung und Strahlenforschung.

Jeder Fortschrittsbericht stellt eine Sammlung von Einzelberichten über Zielsetzung, durchgeführte Arbeiten, erzielte Ergebnisse, geplante Weiterarbeiten etc. dar, die von den Forschungsstellen selbst als Dokumentation ihres Arbeitsfortschritts in einheitlicher Form erstellt werden.

Der Fortschrittsbericht wird vom Projektträger *halbjährlich* herausgegeben, um alle Beteiligten aktuell über die durchgeführten Arbeiten zu informieren.

Dem Bericht liegt folgendes Gliederungsprinzip zugrunde:

- Im Teil 1 sind die FuE-Vorhaben dem jeweiligen Themenbereich zugeordnet.
- Im Teil 2, dem Hauptteil, sind die „formalisierten Zwischenberichte“ der FuE-Vorhaben, geordnet nach Themenbereichen, aufgeführt.
- Im Teil 3 sind die Forschungsstellen alphabetisch aufgelistet.

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

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



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....</b>	<b>1</b>
1.1	<i>Sicherheitsforschung für Kernreaktoren .....</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung .....</i>	<i>5</i>
1.3	<i>Strahlenforschung .....</i>	<i>9</i>
<b>2</b>	<b>Formalisierte Zwischenberichte .....</b>	<b>15</b>
2.1	Sicherheitsforschung für Kernreaktoren .....	15
2.2	Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung.....	73
2.3	Strahlenforschung.....	121
<b>3</b>	<b>Verzeichnis der Forschungsstellen .....</b>	<b>243</b>



# 1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

## 1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

<b>02 NUK 018A</b>	Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt A: Einsatz von Soft Computing-Methoden für die Kernzustandsdiagnose	<b>Hochschule Zittau/Görlitz</b>	📖 16
<b>02 NUK 018B</b>	Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt B: Berechnung von Gammastrahlungsfeldern des Reaktorkerns zur nichtinvasiven Zustandsüberwachung	<b>TU Dresden</b>	📖 18
<b>02 NUK 022A</b>	Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt A: Qualifizierung innovativer Extinktionsphotometrie	<b>Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen</b>	📖 20
<b>02 NUK 022B</b>	Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt B: Extinktionsspektrometer zur Feuchtemessung in gemischtphasigen Systemen für die nukleare Sicherheitsforschung	<b>Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e. V., München</b>	📖 22
<b>02 NUK 022C</b>	Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt C: Entwicklung eines effizienten Auswertalgorithmus zur Mie-Inversion	<b>Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen</b>	📖 24
<b>02 NUK 022D</b>	Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt D: TDLAS basiertes In-situ-Hygrometer	<b>TU Darmstadt</b>	📖 26
<b>02 NUK 023A</b>	Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt A: Untersuchung der Wirbelbildung in Pumpenzulaufbecken und der Auswirkung von Gasmitriss auf nachfolgende Anlagenkomponenten	<b>TU Hamburg-Harburg</b>	📖 28

- 02 NUK 023B** Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt B: Untersuchung von Zweiphasenströmungen in einer Kreiselpumpe und in Armaturen mittels tomographischer Bildgebungsverfahren **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  30
- 02 NUK 023C** Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt C: Analytische Untersuchungen der Wirbelbildung in Pumpeneinläufen **TÜV NORD SysTec GmbH & Co. KG, Hamburg**  32
- 02 NUK 023D** Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt D: Experimentelle Qualifizierung von Armaturen unter Normal- und Störfallbedingungen zur Entwicklung verifizierter Methoden **KSB Aktiengesellschaft, Frankenthal (Pfalz)**  34
- 02 NUK 027A** Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern **TU Dresden**  36
- 02 NUK 027B** Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens **TU Dresden**  38
- 02 NUK 027C** Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  40
- 02 NUK 027D** Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten **Hochschule Zittau/Görlitz**  42

- |                    |   |  |      |
|--------------------|---|--|------|
| <b>02 NUK 027E</b> | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen | <b>TU Dresden</b>  | 📖 44 |
| <b>02 NUK 028A</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt A: Analyse von Containment-Phänomenen zur Optimierung von Störfallmaßnahmen  | <b>Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen</b>                         | 📖 46 |
| <b>02 NUK 028B</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt B: Druckwasserreaktor-Störfallanalysen unter Verwendung des Severe-Accident-Code ATHLET-CD   | <b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>                                  | 📖 48 |
| <b>02 NUK 028C</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt C: Analyse schwerer Störfälle in LWR zur Evaluierung und Optimierung von Severe-Accident-Maßnahmen   | <b>Universität Stuttgart</b>   | 📖 50 |
| <b>02 NUK 028D</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt D: Erweiterung und Validierung des COCOSYS Codes für die Analyse des passiven Containment-Kühlsystems  | <b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>                                   | 📖 52 |
| <b>02 NUK 028E</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt E: Verbesserung des Lower Head-Modelles für Melcor und Melcor-Rechnungen zu Fukushima  | <b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b> | 📖 54 |
| <b>02 NUK 028F</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt F: Beiträge zur Codevalidierung anhand von SWR-Daten und zur Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen   | <b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b> | 📖 56 |
| <b>02 NUK 028G</b> | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt G: Simulation des Unfalls in Fukushima-Daiichi zur Bewertung von ATHLET-CD (SUBA)  | <b>Ruhr-Universität Bochum</b>   | 📖 58 |

- 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 -**  60
- 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**  62
- 02 NUK 041A** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integralexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem **TU Dresden**  64
- 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.**  66
- 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**  68
- 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**  70

## 1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

<b>02 NUK 019A</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 74
<b>02 NUK 019B</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt B	<b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 76
<b>02 NUK 019C</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt C	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 78
<b>02 NUK 019D</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt D	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 80
<b>02 NUK 019E</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt E	<b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>	📖 82
<b>02 NUK 019F</b>	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt F	<b>Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn</b>	📖 84
<b>02 NUK 020A</b>	Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 86
<b>02 NUK 020B</b>	Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt B	<b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 88
<b>02 NUK 020C</b>	Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt C	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>	📖 90
<b>02 NUK 020D</b>	Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt D	<b>Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg</b>	📖 92

- 02 NUK 020E** Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt E **Forschungszentrum Jülich GmbH**  94
- 02 NUK 021A** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt A **Forschungszentrum Jülich GmbH**  96
- 02 NUK 021B** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  98
- 02 NUK 021CX** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt C **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.**  100
- 02 NUK 021D** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt D **Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen**  102
- 02 NUK 021E** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt E **Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen**  104
- 02 NUK 021F** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt F **Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main**  106
- 02 NUK 021G** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt G **Leibniz Universität Hannover**  108
- 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)**  110
- 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.**  112

- 02 NUK 039C** Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C **Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  114
- 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**  116
- 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**  118



### 1.3 Strahlenforschung

- |                    |  |  |       |
|--------------------|--|--|-------|
| <b>02 NUK 017A</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A | <b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b> | 📖 122 |
| <b>02 NUK 017B</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B | <b>TU Darmstadt</b>  | 📖 124 |
| <b>02 NUK 017C</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt C | <b>TU Darmstadt</b>  | 📖 126 |
| <b>02 NUK 017D</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D | <b>TU Darmstadt</b>  | 📖 128 |
| <b>02 NUK 017E</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E | <b>TU Darmstadt</b>  | 📖 130 |
| <b>02 NUK 017F</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F | <b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>          | 📖 132 |
| <b>02 NUK 017G</b> | Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G | <b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>             | 📖 134 |

<b>02 NUK 024A</b>	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 1	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter</b>	 136
<b>02 NUK 024B</b>	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 2	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	 138
<b>02 NUK 024C</b>	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3	<b>Klinikum der Universität München</b>	 140
<b>02 NUK 024D</b>	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	 142
<b>02 NUK 024E</b>	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin</b>	 144
<b>02 NUK 025A</b>	Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 1	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	 146
<b>02 NUK 025BX</b>	Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 2	<b>Hochschule Albstadt-Sigmaringen</b>	 148
<b>02 NUK 025C</b>	Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 3	<b>Hochschule für angewandte Wissenschaften - Fachhochschule Aschaffenburg</b>	 150
<b>02 NUK 026A</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	 152
<b>02 NUK 026B</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt B	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	 154
<b>02 NUK 026C</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt C	<b>Universität Ulm</b>	 156

<b>02 NUK 026D</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt D	<b>Universitätsmedizin Rostock</b>	📖 158
<b>02 NUK 026E</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt E	<b>Universität Leipzig</b>	📖 160
<b>02 NUK 026F</b>	Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt F	<b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München</b>	📖 162
<b>02 NUK 030A</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 164
<b>02 NUK 030B</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B	<b>Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 166
<b>02 NUK 030C</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C	<b>Friedrich-Schiller-Universität Jena</b>	📖 168
<b>02 NUK 030D</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D	<b>Leibniz Universität Hannover</b>	📖 170
<b>02 NUK 030E</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E	<b>TU München</b>	📖 172
<b>02 NUK 030F</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 174
<b>02 NUK 030G</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G	<b>VKTA – Strahlenschutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossendorf e. V. Rossendorf e. V.</b>	📖 176
<b>02 NUK 030H</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H	<b>Universität Bremen</b>	📖 178
<b>02 NUK 030I</b>	Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I	<b>Hochschule Ravensburg-Weingarten</b>	📖 180
<b>02 NUK 031A</b>	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A	<b>Universität der Bundeswehr München</b>	📖 182
<b>02 NUK 031B</b>	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B	<b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München</b>	📖 184

<b>02 NUK 031C</b>	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt C	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 186
<b>02 NUK 031D</b>	Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	📖 188
<b>02 NUK 032</b>	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 190
<b>02 NUK 034A</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A	<b>TU Darmstadt</b>	📖 192
<b>02 NUK 034B</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B	<b>TU Darmstadt</b>	📖 194
<b>02 NUK 034C</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	📖 196
<b>02 NUK 034D</b>	Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>	📖 198
<b>02 NUK 035A</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Universität des Saarlandes</b>	📖 200
<b>02 NUK 035B</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 202
<b>02 NUK 035C</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>TU Dresden</b>	📖 204
<b>02 NUK 035D</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter</b>	📖 206
<b>02 NUK 035E</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	<b>Medipan GmbH, Dahlewitz</b>	📖 208
<b>02 NUK 036AX</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A	<b>IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH</b>	📖 210
<b>02 NUK 036B</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	<b>Elbe Kliniken Stade-Buxtehude</b>	📖 212

<b>02 NUK 036C</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	<b>IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>	 214
<b>02 NUK 036D</b>	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	 216
<b>02 NUK 037A</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt</b>	 218
<b>02 NUK 037B</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	 220
<b>02 NUK 037C</b>	Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C	<b>TU Darmstadt</b>	 222
<b>02 NUK 038A</b>	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A	<b>Klinikum rechts der Isar der TU München</b>	 224
<b>02 NUK 038B</b>	Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	 226
<b>02 NUK 042A</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	 228
<b>02 NUK 042B</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	<b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	 230
<b>02 NUK 042C</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	<b>Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen</b>	 232
<b>02 NUK 042D</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	 234
<b>02 NUK 043A</b>	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	 236

- 02 NUK 043B** Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B **Universitätsklinikum Essen**  238
- 02 NUK 043C** Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C **Universität Rostock**  240

## **2 Formalisierte Zwischenberichte**

### **2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 018A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt A: Einsatz von Soft Computing-Methoden für die Kernzustandsdiagnose		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.10.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.10.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 649.368,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kratzsch	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Verbundprojektes ist die Entwicklung eines Messverfahrens zur Erkennung der Füllstandsabsenkung und des Einsetzens einer Kernschmelze bei schweren Störfällen in Leichtwasserreaktoren.

Die Ziele des Teilprojektes sind der Aufbau eines Kleinversuchsstandes sowie die Entwicklung von Methoden und Algorithmen zur Identifikation signifikanter Zustandsänderungen des Reaktorkerns. Mit Hilfe des Kleinversuchsstandes wird eine umfassende Daten- und Wissensbasis generiert und die Untersuchung unterschiedlicher Anordnungen von Strahlungsdetektoren um ein sich änderndes Gammastrahlungsfeld durchgeführt. Ausgehend von der erzeugten Daten- und Wissensbasis sind die Methoden und Algorithmen zur Zustandsüberwachung eines Reaktorkerns zu entwickeln und anzupassen. Hierbei liegt der Schwerpunkt in der Weiterentwicklung von Kriterien zur verbesserten physikalischen Verifikation von Algorithmen/Modellen auf Grundlage von Soft-Computing-Methoden. Die entwickelten Methoden und Algorithmen werden mit Hilfe des Kleinversuchsstandes und mittels ausgewählter Strahlungstransportrechnungen (Teilprojekt des Verbundpartners TU Dresden: 02NUK018B) analysiert und validiert.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1.1: Einarbeitung in die Problemstellung - Kernschmelze  
Recherchearbeiten zum Ablauf von Kernschmelzunfällen sowie zu vorhandenen Strahlungstransportrechnungen. Die Recherchearbeiten erfolgen in Kooperation mit dem Projektpartner und dienen dem Ableiten von Anforderungen an die durchzuführenden Strahlungstransportrechnungen beim Projektpartner sowie der Auslegung des Versuchsstandes.
- AP1.2: Einarbeitung in die Problemstellung – Signalverarbeitung/Messtechnik  
Recherchen zum Stand von Wissenschaft und Technik zu den Themen „Soft Computing“, „Signalverarbeitung“ und „Strahlungsmesstechnik“ sowie Analyse bisheriger Methoden zur physikalischen Verifikation von Modellen/Algorithmen des Soft Computing.
- AP1.3: Entwurf und Aufbau des Kleinversuchsstandes  
Durchführung von Auslegungsrechnungen und –simulationen für den Kleinversuchsstand sowie Einarbeitung in die Richtlinien des Strahlenschutzes. Des Weiteren Planung, Aufbau und Inbetriebnahme des Kleinversuchsstandes.
- AP1.4: Algorithmenentwicklung zur Zustandsüberwachung  
Analyse und Auswahl in Frage kommender Methoden des Soft Computing. Weiterhin Planung und Durchführung von Experimenten zum Aufbau einer Datenbasis und darauffolgend die Entwicklung von Algorithmen zur Zustandsbewertung von Reaktorkernen. Im Anschluss erfolgt die Entwicklung und Anpassung der Kriterien zur verbesserten physikalischen Verifikation von Soft-Computing-Algorithmen sowie der Nachweis der Funktion der entwickelten Algorithmen anhand experimenteller Daten und Strahlungstransportrechnungen.
- AP1.5: Dokumentation

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.4: In den Analysen der entwickelten Methoden zur Kernzustandsdiagnose mit realitätsnahen Kernzustandsmodellen (Monte-Carlo-Simulationsmodelle) sowie der daraus resultierenden realitätsnahen Datenbasis (Ausgangsdatenbasis zur Methodenentwicklung) mit Gammaflussverteilungen für einen vollständigen Kernschmelzablauf zeigte sich, dass die Identifikationsgenauigkeit der Methode III (Einsatz von Soft Computing Modellen) stark beeinträchtigt ist. Als eine erste Begründung für diesen Sachverhalt wurde angenommen, dass der Wertebereich der auftretenden Gammaflüsse in der Ausgangsdatenbasis zu groß ist. Um dem entgegenzuwirken, wurden Untersuchungen durchgeführt, in denen die Ausgangsdatenbasis in zwei Datenbasen (1. Datenbasis mit Absinken des Füllstands und teilweiser Kerndeformation, 2. Datenbasis mit vollständiger Kerndeformation und Verlagerung von Kernmaterial in die Bodenkalotte) unterteilt wurde. Im Ergebnis dieser Untersuchungen wurde deutlich, dass die Unterteilung der Ausgangsdatenbasis in zwei Datenbasen nicht zielführend ist.

In weiteren Untersuchungen zur Erhöhung der Identifikationsgenauigkeit der Methode III für die Kernzustandsdiagnose erfolgten die Anpassung der Kernzustandswerte von Gammaflussverteilungen der Ausgangsdatenbasis sowie die Überarbeitung der Trainings- und Testdatensätze, welche zur Erstellung der Soft Computing Modelle für die Methode III notwendig sind.

Bei der Anpassung der Kernzustandswerte wurde die verhältnismäßige Lage der Gammaflussverteilungen zueinander berücksichtigt (im vorangegangenen Projektverlauf wurden die Gammaflussverteilungen für die einzelnen Kernzustände gleichverteilt durchnummeriert).

Für die Überarbeitung der Trainings- und Testdatensätze wurde in einem ersten Schritt die Ausgangsdatenbasis zu der sog. Mittelwertdatenbasis umgeformt. Dazu wurden jeweils die Gammaflussverteilungen, welche sich denselben Kernzuständen zuordnen lassen, zu Mittelwertgammaflussverteilungen zusammengefasst und minimale und maximale Gammaflussverteilungen für die jeweiligen Kernzustände ermittelt. In einem zweiten Schritt wurde der Trainingsdatensatz aus den minimalen und maximalen Gammaflussverteilungen der Mittelwertdatenbasis und den Gammaflussverteilungen für die unterschiedlichen Kernzustände aus der Ausgangsdatenbasis zusammengesetzt. Die restlichen Gammaflussverteilungen der Ausgangsdatenbasis (minimale und maximale Standardabweichungen der Gammaflussverteilungen für die unterschiedlichen Kernzustände) bilden den Testdatensatz. Mit Hilfe der Anpassung der Kernzustandswerte sowie der Überarbeitung der Trainings- und Testdatensätze konnte die Identifikationsgenauigkeit der Methode III wesentlich erhöht und die Untersuchungen erfolgreich abgeschlossen werden.

Abschließend erfolgte die Validierung der erstellten Methoden zur Kernzustandsdiagnose mittels drei verschiedener Validierungsexperimente am Versuchsstand NiCoLe. Das erste Validierungsexperiment (Exp. 1 – Füllstandsänderungen) erfolgte unter der Maßgabe, einzelne Füllstände sowie das Fortschreiten von Füllstandsänderungen durch die Methoden zu detektieren. Das zweite Validierungsexperiment (Exp. 2 – Quellenbewegung) beinhaltete die Detektion von verschiedenen Quellenpositionen (Cs137-Quellen) am Versuchsstand. Im dritten Validierungsexperiment erfolgte die Kombination von Füllstandsänderungen und Quellenbewegung, um damit kernschmelzähnliche Gammaflussverteilungen am Versuchsstand zu erzeugen (Nachbildung der o. g. Ausgangsdatenbasis) und mittels der Methoden unterschiedliche Versuchsstandzustände zu detektieren. Mit Beendigung der drei Validierungsexperimente konnte die Funktionsweise der erstellten Methoden zur Kernzustandsdiagnose erfolgreich nachgewiesen werden.

AP1.5: Ein erster Entwurf des vollständigen Abschlussberichtes wurde erstellt. Im Wesentlichen wurden die Ergebnisse zu den Arbeitspunkten AP1.3 und AP1.4 in die Dokumentation eingearbeitet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Keine.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Schmidt, S.: Non-Invasive Nuclear Reactor State Monitoring during Severe Accidents – Results for the BMBF Cooperative Project NIZUK (part 2). Doktorandenseminar Kompetenzzentrum Ost für Kerntechnik 2015, Dresden-Rossendorf, 8. Dezember 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 018B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt B: Berechnung von Gammastrahlungsfeldern des Reaktorkerns zur nichtinvasiven Zustandsüberwachung		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.10.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.10.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 363.588,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist die Entwicklung eines Diagnosesystems, mit dem bei schweren Störfällen in Leichtwasserreaktoren mittels nichtinvasiver Messung der Gammastrahlungsverteilung außerhalb des RDB eine Absenkung des Kühlmittelstandes und das Einsetzen der Kernschmelze detektiert werden können.

Durch Monte-Carlo-Simulation der Gammastrahlungsverteilungen für einen intakten Kern mit verschiedenen Kühlmittelfüllständen einerseits und für einen in verschiedenen Maßen deformierten Kern andererseits, begleitet von einer Berechnung der Strahlung durch Spaltprodukte und Aktivierung der Komponenten, sollen eine geeignete Detektoranordnung für ein hypothetisches Messsystem sowie Kriterien zur Bewertung des Kernzustandes abgeleitet werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1.1: Einarbeitung in MCNP; Literaturstudien
- AP1.2: Implementierung hinreichend detaillierter und rechentechnisch realisierbarer geometrischer Modelle für Reaktorkern bzw. RDB; Modellierung von Zuständen eines deformierten bzw. (teil)geschmolzenen Kerns; Definition von Detektoren
- AP1.3: Monte-Carlo-Rechnungen und Sensitivitätsanalysen zur Erkennung einer Füllstandsabsenkung im Kern bzw. einer Kerndeformation
- AP1.4: Instrumentierungsvorschläge und inverses Problem: Ableitung optimaler Detektoranordnungen; Berechnung der Quellverteilung aus Detektormesswerten
- AP1.5: Abschlussbericht zur Dokumentation der Ergebnisse

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

AP1.3: Es wurden weitere Simulationen des Zittauer Kleinversuchsstands durchgeführt. Diese dienen dem Projektpartner als simulierte Vergleichsdaten bei der Methodenentwicklung.

AP1.5: Die Ergebnisse des Projekts wurden detailliert für den Abschlussbericht dokumentiert.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Erstellung des Abschlussberichts.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 022A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt A: Qualifizierung inno- vativer Extinktionsphotometrie		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 826.380,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Allelein	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Verbundprojektes ist die Verbesserung der messtechnischen Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und der Feuchtemessung unter den anspruchsvollen Randbedingungen bei Versuchen mit Bezug zur Reaktorsicherheit. Gleichzeitig wird durch die Verbundstruktur aus Hochschulen und anderen Forschungseinrichtungen durch die qualifizierte interdisziplinäre Ausbildung von Doktoranden/innen ein signifikanter Beitrag zum Kompetenzerhalt in Form einer praxisnahen Ausbildung von Nachwuchswissenschaftlern geleistet. Die ins Auge gefasste Entwicklung innovativer Messtechnik soll dazu beitragen, die in der Reaktorsicherheitsforschung mittelfristig vorgesehenen Versuche zum radiologischen Quellterm und zu komplexen Strömungen in der 3D-Geometrie eines LWR-Sicherheitsbehälters auch in Anwesenheit einer Wasserphase mit höherem Detaillierungsgrad zu analysieren, um so die entsprechenden Modelle weiterentwickeln zu können.

Im Rahmen dieses Teilprojektes werden neben der Gesamtkoordination Versuchseinrichtungen zur Qualifizierung der im Rahmen des Verbundprojektes entwickelten Messsysteme in unterschiedlichen Maßstäben geplant, errichtet und genutzt. Mit Hilfe der Experimente werden die entsprechenden Messdaten gewonnen, die es erlauben zu beurteilen, ob die in den anderen Teilprojekten entwickelten Messsysteme die jeweiligen Zielspezifikationen erfüllen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Verbundprojekt bearbeitet der LRST die folgenden Arbeitspakete:

- AP1: Konzeptionierung und Koordination
- AP2: Bereitstellung von Versuchseinrichtungen
- AP3: Durchführung kleinskaliger Versuche
- AP4: Durchführung großskaliger Versuche

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Der Antrag auf Verlängerung mit Aufstockung wurde gegen Ende des Berichtszeitraums genehmigt. Das Projekt endet am 31.12.2016. Ein Projekttreffen ist im ersten Quartal 2016 nach Qualifizierungsversuchen der Feuchtesensoren bei Becker Technologies geplant.
- AP2: Im Berichtszeitraum wurde der Kleinversuchsstand in Jülich fertiggestellt. Eine erste Inbetriebnahme des Versuchsstandes wurde begonnen. Diese musste abgebrochen werden, da die Dokumentation für die Elektrik des Versuchsstandes vom Arbeitsschutz im Forschungszentrum Jülich als nicht den neuen im Zentrum eingeführten Anforderungen entspräche. Mit der neu geforderten CE-Zertifizierung der Anlage und der zugehörigen Dokumentation wurde im Berichtszeitraum begonnen.
- AP3: Für die KW 48 war eine erste Qualifizierung der drei optischen Messgeräte im Kleinversuchsstand geplant. Aufgrund der Stilllegung des Versuchsstandes durch den Arbeitsschutz konnten diese Versuche nicht durchgeführt werden. Dies betrifft die Einzelaufgaben TPA-EA 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 und 3.6. Zur Vorbereitung auf die Qualifizierung wurden in enger Zusammenarbeit mit Becker Technologies Messungen am Strömungskanalversuchsstad in Eschborn durchgeführt. Diese beinhalteten Aerosolmessungen in Atmosphären mit einem Überdruck von 3 bar und Temperaturen von 150 °C. Da die bisherige konventionelle Messtechnik bisher nur für Umgebungsdrücke ausgelegt ist, musste die Probennahme so konditioniert werden, dass der Überdruck über eine kritische Düse abgebaut wird. Für das Projekt steht eine zweistufige Verdünnungsstufe mit einer kritischen Düse zur Verfügung. Im Zuge der Versuchsreihe in Eschborn wurde auch das neu beschaffte druckbeständige welas® eingesetzt. Im Nachgang zu den Versuchen gab es mit dem Hersteller des welas® einen Workshop bei dem Fragen zur Bedienung und Auswertung sowie Einschränkung in der Nutzung diskutiert wurden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Für den kommenden Berichtszeitraum ist die Fertigstellung der Dokumentation der Kleinversuchsanlage geplant. Danach schließt sich direkt die Inbetriebnahme der Gesamtanlage an. Geplant ist, dass Ende des dritten Quartals die ersten Qualifizierungsversuche für die drei optischen Messgeräte im Kleinversuch beginnen. Für das erste Quartal 2016 sind Qualifizierungsversuche für die optischen Messgeräte geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Anlässlich der NURETH-16 wurde ein Vortrag über die Qualifizierung des Pulverdispergierers mit Bürste zur Aerosolerzeugung gehalten.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e. V., Hansastr. 27c, 80686 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 022B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt B: Extinktionsspektrometer zur Feuchtemessung in gemischtphasigen Systemen für die nukleare Sicherheitsforschung		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 699.118,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Steiger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Verbundprojektes ist die Verbesserung der messtechnischen Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und der Feuchtemessung unter den anspruchsvollen Randbedingungen bei Versuchen mit Bezug zur Reaktorsicherheit. Gleichzeitig wird durch die Verbundstruktur aus Hochschulen und anderen Forschungseinrichtungen durch die qualifizierte interdisziplinäre Ausbildung von Doktoranden/innen ein signifikanter Beitrag zum Kompetenzerhalt in Form einer praxisnahen Ausbildung von Nachwuchswissenschaftlern geleistet. Die ins Auge gefasste Entwicklung innovativer Messtechnik soll dazu beitragen, die in der Reaktorsicherheitsforschung mittelfristig vorgesehenen Versuche zum radiologischen Quellterm und zu komplexen Strömungen in der 3D-Geometrie eines LWR-Sicherheitsbehälters auch in Anwesenheit einer Wasserphase mit höherem Detaillierungsgrad zu analysieren, um so die entsprechenden Modelle weiterentwickeln zu können.

Für das IPM besteht das Projektziel zum einen in der spektralen Erweiterung des bestehenden Aerosolspektrometers (FASP) und zum anderen im Aufbau und Inbetriebnahme eines Feuchtemessgerätes mit Mehrphasenmesskopf zur Messung der relativen Feuchte auf Basis der Extinktionsphotometrie.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Umfangreicher Testbetrieb SteamFASP unter realen Bedingungen:

Das in 2014 entwickelte Feuchtemesssystem SteamFASP soll in umfangreichen Tests seine Funktion unter Beweis stellen. Die gewonnenen Daten sollen zusätzlich zur Verbesserung des Messgerätes genutzt werden. Dazu gehört die stetige Verbesserung der Kalibrierung des Gerätes und die Erhöhung der Robustheit beim Betrieb des Gerätes unter aerosolbeladenen Bedingungen sowie erhöhten Temperaturen bis 200 °C und Drücken bis 6 bar (g) Überdruck. Zur Umsetzung der Ergebnisse wurde eine Verlängerung des Projektes beantragt.

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

Entwicklung eines Systems zur Feuchtemessung SteamFASP:

In der zweiten Jahreshälfte wurde an der Umsetzung eines neuen Auswertalgorithmus zur Bestimmung der relativen Feuchte gearbeitet. Dies war notwendig geworden, da sich bei der Auswertung der Versuche vom Februar 2015 (REKO-4) herausstellte, dass der bisher verwendete einfache Algorithmus nicht die geforderten Genauigkeiten von 1 % Wiederholbarkeit und 5 % absolute Genauigkeit liefert. Der neue Algorithmus basiert auf simulierten HITRAN Spektren. Diese werden für verschiedene Stellen im Parameterraum (Druck, Temperatur, Feuchte) errechnet. Durch Vergleich bestimmter simulierter Spektren mit gemessenen (Kalibrier-)Spektren erhält man einen Zusammenhang, mit dem man beliebige gemessene Spektren auf die Simulationsspektren zurückführen kann. Dadurch wird ein Rückschluss auf die tatsächliche Feuchte möglich. Für die Verbindung zwischen gemessenen Spektren und simulierten HITRAN-Spektren sind ein paar Messungen unter kontrollierten Bedingungen notwendig (Kalibration). Dafür wird eine druckfeste und beheizbare Kalibrierzelle benötigt. Die Konstruktion und Fertigung war ebenso Bestandteil des Arbeitszeitraumes.

Das bisherige Konzept sieht einen Messzweig mit Messkopf und Fasern sowie einen Referenzzweig vor. Der Referenzzweig bestand anfangs nur aus einer rückgekoppelten Faser. Das erwies sich als ungeeignet. Der Referenzzweig wird jetzt identisch (zweiter Messkopf, gleich lange Fasern) ausgeführt.

Im Zuge der Umrüstung stellten sich die verwendeten Fasern als unzuverlässig heraus. Daraufhin wurden Alternativfasern beschafft.

Ende September 2015 wurden die Arbeiten aufgrund der nicht vorhandenen Projektverlängerung eingefroren. Erst mit der Bewilligung Ende November 2015 wurden die Arbeiten wieder aufgenommen.

Der für November 2015 angesetzte Versuch mit Aerosolen wurde auf 2016 verschoben, da der INEX-Behälter in Jülich noch nicht freigegeben war.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Feuchtemesssystem SteamFASP:

Für das nächste Halbjahr ist geplant, die Kalibriermessungen für den neuen Algorithmus durchzuführen. Die Versuche vom November 2015 werden nach erfolgreicher Abnahme des INEX-Behälters in Jülich durchgeführt.

Parallel dazu werden verschiedene Methoden zur Erhöhung der Messverfügbarkeit des SteamFASP unter Anwesenheit von Aerosolen untersucht. Ziel ist es, den Messkopf vor den Einflüssen der Aerosolbeladung zu schützen (z. B. Zusetzen von Faserenden und optischen Komponenten). Dann wird eine geeignete Methode ausgewählt und das vorhandene SteamFASP Gerät entsprechend umgerüstet. Die Wirksamkeit soll durch weitere Tests nachgewiesen werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 022C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt C: Entwicklung eines ef- fizienten Auswertalgorithmus zur Mie-Inversion		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2016		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 350.280,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Frank

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Verbundprojektes ist die Verbesserung der messtechnischen Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und der Feuchtemessung unter den anspruchsvollen Randbedingungen bei Versuchen mit Bezug zur Reaktorsicherheit. Die ins Auge gefasste Entwicklung innovativer Messtechnik soll dazu beitragen, die in der Reaktorsicherheitsforschung mittelfristig vorgesehenen Versuche zum radiologischen Quellterm und zu komplexen Strömungen in der 3D-Geometrie eines LWR-Sicherheitsbehälters auch in Anwesenheit einer Wasserphase mit höherem Detaillierungsgrad zu analysieren, um so die entsprechenden Modelle weiterentwickeln zu können.

Thema des Teilvorhabens ist die Entwicklung einer verbesserten, innovativen Messtechnik auf Basis der Extinktionsphotometrie zur Analyse nicht-sphärischer Mehrkomponenten-Aerosole. Es sollen verbesserte Algorithmen für die Bestimmung von Materialeigenschaften aus gemessenen Spektren (Mie-Inversion) entwickelt und in Software umgesetzt werden. Als wesentliche Verbesserung gegenüber dem bisherigen Stand der Technik soll die Software ohne das Zutun eines geschulten Bedieners physikalisch korrekte Spektren ausgeben. Dazu werden allgemeine Vorgehensweisen aus der Theorie inverser Probleme angewendet.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In einem ersten Schritt soll die Stabilisierung vorhandener Inversions-Algorithmen untersucht werden. Zur Beantwortung dieser Frage gibt es allgemeine Vorgehensweisen aus der Theorie inverser Probleme, die hier angewendet werden sollen.

Weiterhin soll eine Erweiterung der Mie-Theorie auf andere Partikelformen untersucht werden. Das herkömmliche Verfahren der Mie-Inversion setzt sphärische Symmetrie voraus, die im vorliegenden Problem nicht für alle Aerosol-Bestandteile gegeben ist.

Zuletzt sollen bekannte Störeinflüsse gesondert in Inversionsalgorithmen betrachtet werden.

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

Die Arbeiten zur Mie-Inversion (AP2.4) wurden abgeschlossen. Es wurde eine Software in MATLAB mit graphischer Benutzeroberfläche erstellt und an den Projektpartner übergeben. Die Störeinflüsse auf das inverse Problem (AP3) wurden mit Hilfe der Bayes'schen Formulierung statistisch modelliert. Diese Formulierung erlaubt eine genauere Modellierung der statistischen Verteilung der Störeinflüsse, die über Standard-Normalverteilung hinausgeht. Die Mie-Inversion samt sämtlichen Einflussparametern wurde als Modellselektionsproblem formuliert.

Der Hauptteil der Arbeit bestand aus den theoretischen Untersuchungen zur Bestimmung von Aerosol-Brechungsindizes mittels des FASP-Geräts (AP4). Dazu planen die Partner, bekannte monodisperse Aerosole zu erzeugen. Deren Extinktionen werden im FASP-Gerät gemessen, was einen Rückschluss auf die komplexwertigen, wellenlängenabhängigen Brechungsindizes erlauben soll. Diese Experimente wurden am Computer simuliert, indem monodisperse Aerosole abgebildet und deren Extinktionsdaten verrauscht wurden. Dann wurde mit Hilfe eines Optimierungsalgorithmus versucht, die Brechungsindizes zu rekonstruieren. Insbesondere im niedrigen Wellenlängenbereich konnten so gute Übereinstimmungen erzielt werden.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die vorläufigen theoretischen Untersuchungen zur Rekonstruktion der Brechungsindizes werden beendet. Insbesondere werden Kriterien zur Auswahl der Radien der Aerosolpartikel hergeleitet. Die Algorithmen werden implementiert und anschließend auf die durchzuführenden Experimente angewandt. Bei Erfolg ist eine Veröffentlichung geplant.

Im letzten Schritt des Projekts wird die Mie-Inversionssoftware, zusammen mit den bestimmten Brechungsindizes, zur Rekonstruktion von Größenverteilungen in unbekanntem Aerosolen verwendet.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 022D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt D: TDLAS basiertes In-situ-Hygrometer		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 504.090,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Dreizler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die TU Darmstadt entwickelt ein laserbasiertes Absorptionsspektrometer zur Messung von gasförmigen Wasser während Störfallsimulation in der nuklearen Sicherheitsforschung. Das Konzept nutzt die sehr hohe spektrale Auflösung kontinuierlich abstimmbarer Diodenlaser und ermöglicht damit eine außergewöhnlich hohe chemische Selektivität mit sehr geringen Querempfindlichkeiten zu anderen möglicherweise im Messvolumen vorhandenen Gasspezies. Insbesondere in Mehrphasensystemen verspricht dies auf Grund der hohen Trennschärfe zwischen gasförmigem und flüssigem Wasser eine selbstkalibrierende Absolutmessung der H<sub>2</sub>O-g-Konzentration.

Die vorgesehenen Arbeiten zielen auf die Adaption der direkten Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (direkt-TDLAS) für die absolute Quantifizierung gasförmigen Wassers in gemischtphasigen Systemen bei Koexistenz gasförmigen und flüssigen Wassers. Die Messtechnik soll einen großen Dynamikumfang besitzen und sowohl bei niedrigen als auch hohen relativen Feuchten einsetzbar sein.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die externe Steuer- und Betriebseinheit sowie der interne Lasermesskopf werden von der TUD eigenständig entwickelt und aufgebaut. Die mechanisch-optischen Schnittstellen orientieren sich dabei an denen des von IPM betriebenen Photometers. Die Kopplung des TDL-Spektrometers erfolgt auf Basis der bereits bestehenden Erfahrungen des IPM und in Anlehnung an den aktuell in der Testphase befindenden FASP-Spektrometerkopfes.

Hiermit sollen in ersten Vergleichsmessungen an kleinskaligen Laborsystemen die unterschiedlichen technologischen Ansätze zur absoluten H<sub>2</sub>O-g-Bestimmung (d. h. Steam-FASP und TDLAS) qualitativ und quantitativ gegenübergestellt werden. Auch konventionelle Feuchtemesssysteme werden in Einzelfällen zu Vergleichszwecken eingesetzt. Die Robustheit der einzelnen Messsignale gegenüber Transienten und Störeinflüssen soll im direkten Vergleich bestimmt werden.

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

Im zweiten Halbjahr 2015 wurden alle Teile des finalen Sensorkopfes gefertigt und zusammengebaut. Die Reduzierung der Masse und die Kompaktheit des Messkopfes standen hierbei im Vordergrund. Alle wichtigen Funktionen des Messkopfes wurden getestet. Die Spülströmung des Spiegels und der Faserenden wurden mit Hilfe von PIV Messungen untersucht. Diese Daten liefern gute Ergebnisse für die Korrektur der Absorptionsstrecke. Mehrere Dauertests wurden an den Dummies des Spülkonzeptes durchgeführt. Es kam zu keiner Ablagerung von Partikeln in den Bereichen der optischen Komponenten.

Des Weiteren wurde eine Regelung für die Erwärmung des Sensorkopfes mittels Heizpatronen geschrieben und getestet. Die Faserdurchführungen wurden weiter optimiert und bei Drücken bis 10 bar und einer Temperatur bis 200 °C getestet. Das Konzept die Faserdurchführung von der Temperatur zu entkoppeln war erfolgreich. Der Lasermesskopf wurde mit dem Flansch an dem sich alle Durchführungen befinden verbunden. Die Funktionsfähigkeit des Hygrometers in Verbindung mit Softwaretests (Datenaufnahme und Regelung) wurde überprüft und bestätigt.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Der Bau einer Temperatur- und Hochdruckzelle für den Lasermesskopf soll in den nächsten Wochen stattfinden. In diesem Behältnis soll das Hygrometer nochmals ausführlich getestet werden, um mit einem vorab intensiv charakterisierten und optimierten System an dem 1 m<sup>3</sup>-Behälter messen zu können. Danach erfolgt die Auswertung der gewonnenen Messdaten.

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

Jan Köser, Andreas Dreizler, Björn Alexander Krupa, Steven Wagner, Volker Ebert: „Open-path TDL-hygrometer for nuclear safety simulation experiments“, Poster-Beitrag zur „FLAIR 2014 - Field Laser Applications in Industry and Research“, Internationale Konferenz, May 5-9, 2014 - Hotel Demidoff, Pratolino (FI), Italien,

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Hamburg-Harburg, Schwarzenbergstr. 95, 21073 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 023A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt A: Untersuchung der Wirbelbildung in Pumpenzulaufbecken und der Auswirkung von Gasmitriss auf nachfolgende Anlagenkomponenten		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.12.2012 bis 31.05.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 781.530,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schlüter	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Bereitstellung von verbesserten bzw. neuen Berechnungsgleichungen sowie von Auslegungsempfehlungen zur Vermeidung von Gasmitriss in Pumpenzuläufen. Da sich ein Gasmitriss nicht immer konstruktiv ausschließen lässt, erfolgt darüber hinaus die Beschreibung des Gasmitrisses in Pumpenzuläufen und des hieraus resultierenden Einflusses auf Kreiselpumpe und Armaturen. Dafür sollen theoretische Modelle entwickelt, experimentell an groß- und kleindimensionierten Anlagenkomponenten validiert und ggf. mit physikalisch begründeten Ansätzen (z. B. lokal unterschiedliche Turbulenzmodelle) an reale Prozesse angepasst werden. Neben technischen Zielen werden mit dem beantragten Projekt auch aktuelle gesellschaftspolitische Ziele verfolgt, da Nachwuchskräfte für den sicheren Betrieb kerntechnischer Anlagen ausgebildet werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Literaturrecherche
- AP2: Planung und Aufbau der Versuchsanlagen
- AP3: Experimentelle Versuche im TUHH-Technikum
- AP4: Experimentelle Versuche im HZDR-Labor
- AP5: Experimentelle Untersuchungen an Armaturen
- AP6: Modellbildung
- AP7: Numerische Simulation der Strömungsphänomene
- AP8: Ergebnisverwertung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Änderungen an den Versuchsanlagen:

DN200-Technikumsanlage

- Anfertigung von Strömungsbrechern aus PMMA und Edelstahl für die Untersuchung von wirbelbrechenden Maßnahmen

Durchgeführte experimentelle Arbeiten:

- DN200: Untersuchung wirbelbrechender Maßnahmen (stationär/dynamisch) im Bereich von  $Fr = 0.5 - 3.1$  mit Hilfe von Strömungsbrechern
- DN200: Untersuchung von Abhängigkeiten in der Oszillation der Luftkernlänge von der Förderleistung (Frequenz) der Pumpe

- DN15: Ermittlung der horizontalen Geschwindigkeitsfelder im Wirbelkern sowie der Strömungsstruktur mittels PIV unter Variation der Froude-Zahl bei Einlaufwinkeln von  $0^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $30^\circ$  und  $45^\circ$
- DN15: Bestimmung der Luftkernlängen unter Variation der Froude-Zahl bei Einlaufwinkeln von  $0^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $30^\circ$  und  $45^\circ$
- Bestimmung der Azimutal- und Radialgeschwindigkeiten aus den horizontalen Geschwindigkeitsfeldern in Abhängigkeit vom Einlaufimpuls
- DN15: Einfärbung des Wirbelkerns zum Vergleich der Wirbelkernstruktur mit den Simulationsergebnissen

#### Numerische Arbeiten:

- Vergleich der verwendeten Gitter von TÜV Nord und IMS: Um die Vergleichbarkeit der Simulationen der Projektpartner zu verbessern und die Auswirkungen des verwendeten Rechengitters auf die Ergebnisse zu untersuchen, wurden am IMS Simulationen auf einem vom Projektpartner TÜV Nord generiertem und eingesetztem Gitter durchgeführt
- Es wurde eine Variation des Einstrahlwinkels (von  $45^\circ$  auf  $0^\circ$ ) und somit des Impulseintrags bei sonst gleichen Bedingungen (insbesondere Überdeckungshöhe, Massenstrom und Froude-Zahl) untersucht
- Weitere Untersuchung der Eignung des stationären Solvers simpleFoam (Implementierung des SIMPLE-Algorithmus zur Lösung der Navier-Stokes-Gleichungen) und Vergleich mit den Ergebnissen des transienten Solvers pisoFoam (PISO-Algorithmus) wurden durchgeführt
- Bei den transienten Simulationen wurde die Auswirkung von Wirbelablösungen im Außenbereich des Vorlagebehälters auf den Wirbelkern untersucht
- Numerische Optimierung des verwendeten PISO-Algorithmus (Untersuchung der Auswirkung von verschiedenen Diskretisierungsmethoden)

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Gemäß den Angaben aus dem Balkenplan des Antrags werden im nächsten Berichtszeitraum folgende Arbeiten durchgeführt:

- DN200: Ermittlung der horizontalen Geschwindigkeitsfelder im Wirbelkern sowie der Strömungsstruktur mittels PIV unter Variation der Froude-Zahl bei Einlaufwinkeln von ( $0^\circ$ ,)  $15^\circ$ ,  $30^\circ$  und  $45^\circ$
- DN200: Bestimmung der Luftkernlängen unter Variation der Froude-Zahl bei Einlaufwinkeln von  $0^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $30^\circ$  und  $45^\circ$
- Untersuchung der Industriearmatur hinsichtlich Kavitation unter Variation der Fr-Zahl und des Öffnungswinkels
- Implementierung eines Modells zur Large-Eddy-Simulation
- Simulation der DN200-Anlage (mit geeignetem Turbulenzmodell)
- weitere Untersuchung der Auswirkung von Wirbelablösungen im Außenbereich auf den Wirbelkern
- Entwicklung und Implementierung eines Zweistufen-Modells um die Vorgänge im Wirbelkernbereich und im Außenbereich des Vorlagebehälters getrennt voneinander zu simulieren um massiv Rechenzeit einzusparen
- Untersuchung des Zusammenhangs von Zirkulation und eingetragenen Impuls, dies soll insbesondere durch die Variation des Einstrahlwinkels vorgenommen werden

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

N. Szeliga, S. Richter, D. Bezecny, M. Schlüter: „Bestimmung der tangentialen Geschwindigkeiten in freien Oberflächenwirbeln mittels Highspeed PIV-Messungen“, Bericht zur 23. Fachtagung „Lasermethoden in der Strömungsmesstechnik“ GALA e.V., 8. – 10. September 2015, Dresden, S.43-1 – 43-10  
 N. Szeliga, D. Bezecny, S. Richter, M. Hoffmann, M. Schlüter: Influence of angular momentum on the formation of air-core intake vortices in cylindrical water tanks, Vortrag auf der ICMF 2016 Florenz 23.05.-27.05.16 Eingereicht am 30. September 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 023B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt B: Untersuchung von Zweiphasenströmungen in einer Kreiselpumpe und in Armaturen mittels tomographischer Bildgebungsverfahren		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.12.2012 bis 31.05.2016		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 513.320,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Bereitstellung von verbesserten bzw. neuen Berechnungsgleichungen sowie von Auslegungsempfehlungen zur Vermeidung von Gasmitriss in Pumpenzuläufen. Da sich ein Gasmitriss nicht immer konstruktiv ausschließen lässt, erfolgt darüber hinaus die Beschreibung des Gasmitrisses in Pumpenzuläufen und des hieraus resultierenden Einflusses auf Kreiselpumpe und Armaturen. Dafür sollen theoretische Modelle entwickelt, experimentell an groß- und kleindimensionierten Anlagenkomponenten validiert und ggf. mit physikalisch begründeten Ansätzen (z. B. lokal unterschiedliche Turbulenzmodelle) an reale Prozesse angepasst werden. Neben technischen Zielen werden mit dem beantragten Projekt auch aktuelle gesellschaftspolitische Ziele verfolgt, da Nachwuchskräfte für den sicheren Betrieb kerntechnischer Anlagen ausgebildet werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Literaturrecherche
- AP2: Planung und Aufbau der Versuchsanlagen
- AP3: Experimentelle Versuche im TUHH-Technikum
- AP4: Experimentelle Versuche im HZDR-Labor
- AP5: Experimentelle Untersuchungen an Armaturen
- AP6: Modellbildung
- AP7: Numerische Simulation der Strömungsphänomene
- AP8: Ergebnisverwertung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP4, AP6 und AP8:

An der Originalarmatur wurden umfangreiche experimentelle Untersuchungen durchgeführt und abgeschlossen. Dabei wurden radiographische und tomographische Messungen an der Originalarmatur bei zweiphasiger Durchströmung und sehr geringer Ventilöffnungsweite durchgeführt. Für die Untersuchungen wurden zwei verschiedene Ventilstellungen gewählt und in der Zuströmung zur Armatur zwei verschiedene Strömungsregime (dispers/swirl) eingestellt und die jeweiligen Gasvolumenanteile variiert. Anschließend erfolgte die Aufbereitung und Auswertung der Messdaten. Dabei wurden das Verhalten der Zweiphasenströmung in der fast geschlossenen Armatur und die daraus resultierenden Phasenverteilungen visualisiert und charakteristische Phasenverteilungen identifiziert.

Die ausführlichen Auswertungen der Ergebnisse der gammatomographischen Messungen aus den experimentellen Untersuchungen an der Kreiselpumpe im industriellen Maßstab in veränderter Einbaulage wurden abgeschlossen. Dabei wurde unter Berücksichtigung der Einbaulage der Pumpe (Laufrausrichtung horizontal bzw. vertikal) der Einfluss der Pumpendrehzahl sowie des Gasgehaltes und des Dralls in der Zulaufströmung auf die Gasakkumulation und die Charakteristik der Pumpe untersucht. Nach Auswertung der Ergebnisse konnte bei dem Vergleich der beiden verschiedenen Einbaulagen u. a. gezeigt werden, dass es mit zunehmendem Gasanteil zum Rückgang der Förderleistung und abhängig von der Strömungsstruktur im Zulauf auch zu einem diskontinuierlichen Einbruch der Förderleistung bei ca. 3 Vol-% Gaseintrag kommt. Bei einem Gaseintrag durch drallfreie Flüssigkeitsströmung mit disperser Gasverteilung konnte sowohl für die horizontale als auch für die vertikale Laufrausrichtung ein kontinuierlicher Förderstromrückgang (kein Kennliniensprung) nachgewiesen werden, während bei Gaseintrag durch drallbehaftete Flüssigkeitsströmung mit zentral geformten Gas-schlauch ein diskontinuierlicher Förderstromrückgang (Kennliniensprung) für beide Laufrausrichtungen nachgewiesen werden konnte. Dieser diskontinuierliche Förderstromrückgang (Kennliniensprung) erfolgt jedoch bei horizontaler Laufrausrichtung bereits bei geringeren eingetragenen Gasgehalten auf, während bei vertikaler Laufrausrichtung der diskontinuierliche Förderstromrückgang (Kennliniensprung) etwas verzögert, erst bei etwas höheren eingetragenen Gasgehalten auftritt. Die erzielten Ergebnisse wurden bereits publiziert bzw. zur Publikation eingereicht.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP4: Im Rahmen einer kostenneutralen Verlängerung sind zeitlich hochaufgelöste Messungen mit ultraschneller Röntgentomographie an einem möglichst großen, vereinfachten Impellermodell zur Klärung der transienten Strömungsverhältnisse im Laufrad geplant. Dazu erfolgen zunächst der Entwurf und die Fertigung eines geeigneten Impellermodells und entsprechende Voruntersuchungen.

AP6 + AP8:

Weitere Auswertung und Analyse der Ergebnisse aus den bisher durchgeführten Untersuchungen, Modellbildung und Erarbeitung von Auslegungsempfehlungen sowie Publikation der Ergebnisse.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Schäfer, T.; Bieberle, A.; Neumann, M.; Hampel, U.: Application of gamma-ray computed tomography for the analysis of gas holdup distributions in centrifugal pumps, *Flow Measurement and Instrumentation*, Volume 46, pp. 262-267, doi: 10.1016/j.flowmeasinst.2015.06.001.

Bieberle, A.; Schäfer, T.; Neumann, M.; Hampel, U.: Validation of high-resolution gamma-ray computed tomography for quantitative gas holdup measurements in centrifugal pumps, *Measurement Science and Technology*, Volume 26, Number 9, pp.1-12, 2015, doi: 10.1088/0957-0233/26/9/095304

Schäfer, T.; Bieberle, A.; Hampel, U.: Investigations on centrifugal pumps under air entrainment conditions, Vortrag (Konferenzbeitrag) und Beitrag zu Proceedings, 16th International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermalhydraulics (NURETH-16), 30.08.-04.09.2015, Chicago, USA

Schäfer, T.; Neumann, M.; Bieberle, A.; Hampel, U.: Tomographic investigations on centrifugal pumps conveying gas-liquid two phase flow, Vortrag (Konferenzbeitrag) und Beitrag zu Proceedings, 7th International Symposium on Process Tomography (ISPT7), 01.-03.09.2015, Dresden, Deutschland

Schäfer, T.: Entstehung und Vermeidung von Gasmitriss bei Notkühlung – numerische und experimentelle Analysen, Eingeladener Vortrag (Konferenzbeitrag), 47. Kraftwerkstechnisches Kolloquium, 13.-14.10.2015, Dresden, Deutschland

<b>Zuwendungsempfänger:</b> TÜV NORD SysTec GmbH & Co. KG, Große Bahnstr. 31, 22525 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 023C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt C: Analytische Untersuchungen der Wirbelbildung in Pumpeneinläufen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.12.2012 bis 31.05.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 443.808,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Blömeling	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Bereitstellung von verbesserten bzw. neuen Berechnungsgleichungen sowie von Auslegungsempfehlungen zur Vermeidung von Gasmitriss in Pumpenzuläufen. Da sich ein Gasmitriss nicht immer konstruktiv ausschließen lässt, erfolgt darüber hinaus die Beschreibung des Gasmitrisses in Pumpenzuläufen und des hieraus resultierenden Einflusses auf Kreiselpumpe und Armaturen. Dafür sollen theoretische Modelle entwickelt, experimentell an groß- und kleindimensionierten Anlagenkomponenten validiert und ggf. mit physikalisch begründeten Ansätzen (z. B. lokal unterschiedliche Turbulenzmodelle) an reale Prozesse angepasst werden. Neben technischen Zielen werden mit dem beantragten Projekt auch aktuelle gesellschaftspolitische Ziele verfolgt, da Nachwuchskräfte für den sicheren Betrieb kerntechnischer Anlagen ausgebildet werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Literaturrecherche  
 AP2: Planung und Aufbau der Versuchsanlagen  
 AP3: Experimentelle Versuche im TUHH-Technikum  
 AP4: Experimentelle Versuche im HZDR-Labor  
 AP5: Experimentelle Untersuchungen an Armaturen  
 AP6: Modellbildung  
 AP7: Numerische Simulation der Strömungsphänomene  
 AP8: Ergebnisverwertung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP7: Die Auswertung der an der TUHH gesammelten PIV-Daten aus den Versuchen mit der Laboranlage wurde begonnen. Die ersten Vergleiche zeigen eine akzeptable Übereinstimmung der Simulationsergebnisse mit den gemessenen Tangentialgeschwindigkeiten außerhalb des Wirbelkerns. Aussagen über den Wirbelkernbereich sind allerdings erst möglich, wenn auch für diesen entsprechende experimentelle Daten vorliegen und ausgewertet wurden. Dies ist zum Berichtszeitpunkt jedoch noch nicht der Fall. Des Weiteren wurden im Berichtszeitraum verstärkt zweiphasige CFD-Analysen durchgeführt. Die diesbezüglichen Modelle und die Durchführung der CFD-Analysen wurden an neue Erkenntnisse angepasst. Beispielsweise werden nun transiente Analysen durchgeführt, bei denen sich die Wahl der Zeitschrittweiten an kleinen CFL-Zahlen orientiert. Diese neue Vorgehensweise führt jedoch zu sehr zeitaufwendigen Analysen, so dass aktuell an einer Beschleunigung der Analysen durch eine geschickte Wahl der Anfangsbedingungen gearbeitet wird. Darüber hinaus wurde auch ein CFD-Modell des gesamten Versuchsbehälters angefertigt. Für die damit durchgeführten ein- und zweiphasigen Simulationen wurden die von der Laboranlage bekannten Randbedin-

gungen nach oben skaliert. Die Ergebnisse der einphasigen Simulation wurden dann mit dem Burgers-Rott-Modell kombiniert, um die Eindellung der Wasseroberfläche zu bestimmen. Der Vergleich mit dem Experiment ergab eine gute Übereinstimmung, wobei die numerisch bestimmte Luftkernlänge jedoch etwas zu kurz war.

- AP8: Zunächst wurden bestehende Korrelationen zur Berechnung der kritischen Überdeckung von Pumpenansaugstutzen nochmals gesichtet und ihre Herleitungen verglichen. Anhand dieser Vorarbeit wurden Parameter identifiziert, die mit Hilfe der Experimente und CFD-Analysen präzisiert werden sollen. Insbesondere soll der Einfluss der Zirkulation auf die kritische Überdeckung wenn möglich in einer neuen Korrelation besser erfasst werden. Die hierfür nötigen Parameterstudien sollen nicht ausschließlich anhand von CFD-Simulationen, sondern auch mit Hilfe von Wirbelmodellen erfolgen. Zu diesem Zweck wurde ein Finite-Differenzen-Verfahren implementiert, mit dessen Hilfe die von Granger aufgestellten Gleichungen gelöst werden können. Mit dem sogenannten Modell 0. Ordnung wird zurzeit eine durch CFD-Analysen gestützte Parameterstudie durchgeführt mit dem Ziel, Gleichungen für die maßgeblichen Parameter aufzustellen. Als Strategie zur Steigerung der Effizienz der CFD-Analysen wird zurzeit eine Vereinfachung der Geometrie erprobt. Die Idee besteht darin, nur einen Ausschnitt um die zentrale Achse des Versuchsbehälters zu modellieren. Zum einen wird das Rechengebiet dadurch sehr viel kleiner, zum anderen lässt sich die Symmetrie des Experiments besser ausnutzen. Die erforderlichen Randbedingungen für ein solches, örtlich beschränktes Modell sollen aus größeren Analysen mit der vollen Geometrie bestimmt werden. Es wurden bereits zwei vereinfachte Modelle erstellt, ein 2D-Modell und ein 30°-Ausschnitt des großen Versuchsbehälters an der TUHH. Erste einphasige Vorstudien werden derzeit mit diesen neuen Modellen durchgeführt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Die TÜV NORD SysTec wird weiterhin die Ausarbeitung und Auswertung der Experimente unterstützen. Insbesondere die Auswertung der Messungen und der Vergleich mit den CFD-Simulationen geschieht im engen Austausch zwischen der TUHH und dem TÜV NORD.
- AP7: Derzeit werden Validierungsrechnungen für die Experimente im großen Becken durchgeführt, die planmäßig im kommenden Berichtszeitraum beendet werden sollen. Dafür fehlt noch die Auswertung der PIV-Messungen im großen Tank, um diese Daten mit den numerischen Ergebnissen vergleichen zu können. Geplant sind außerdem weitere Variationen der Gitter für die numerischen Simulationen, um Gittereinflüsse auf die Ergebnisse ausschließen zu können. Letztlich steht auch noch die Nachrechnung eines kritischen Betriebszustandes im großen Versuchsbehälter aus, weil sich die Simulationen bisher auf Wirbel mit kleineren Luftschläuchen konzentriert haben (Luftschläuche bis etwa zur Hälfte der Überdeckung).
- AP8: Um den Einfluss der Zirkulation auf die erforderliche Mindestüberdeckung von Pumpenansaugstutzen besser mit bestehenden bzw. neu zu entwickelnden Korrelationen berücksichtigen zu können, sind detaillierte numerische und experimentelle Studien dieses Einflusses notwendig. Aus diesem Grunde sind weitere Untersuchungen von maßgeblichen Strömungsparametern (z. B. des Saugparameters des Burgers-Rott-Modells) mittels CFD-Analysen, aber auch mit dem beim TÜV entwickelten Potenziellöser sowie dem Wirbelmodell von Granger geplant. Die beiden zuletzt genannten Ansätze ermöglichen umfangreiche Parameterstudien mit einem Bruchteil des Aufwandes für entsprechende CFD-Analysen. Darauf aufbauend sollen dann mit CFX zirkulationsbeladene Strömungen untersucht werden. Vorzugsweise soll hierfür das vereinfachte CFD-Modell eines Ausschnitts des Versuchsbehälters (s. Abschnitt 3) genutzt werden. Des Weiteren ist geplant, durch einen Vergleich der Simulationen für den großen Versuchsbehälter und die Laboranlage Maßstabeffekte zu analysieren. Darüber hinaus sollen weitere Erkenntnisse zur Ergebnisverwertung in Zusammenarbeit mit der TUHH aus den Versuchen herausgearbeitet werden (z. B. bzgl. wirbelbrechender Maßnahmen).

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Blömeling, F.: The Development of Surface Vortices in Strongly Rotating Flow in a Cylindrical Vessel: Numerical Simulation, International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics NURETH 16, 30.08. - 04.09.2015, Chicago, USA

<b>Zuwendungsempfänger:</b> KSB Aktiengesellschaft, Johann-Klein-Str. 9, 67227 Frankenthal (Pfalz)		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 023D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt D: Experimentelle Qualifizierung von Armaturen unter Normal- und Störfallbedingungen zur Entwicklung verifizierter Methoden		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.12.2012 bis 31.05.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.751.350,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Hamberger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Bereitstellung von verbesserten bzw. neuen Berechnungsgleichungen sowie von Auslegungsempfehlungen zur Vermeidung von Gasmitriss in Pumpenkreisläufen und des hieraus resultierenden Einflusses auf Kreiselpumpe und Armaturen. Dafür sollen theoretische Modelle entwickelt und experimentell an groß- und kleindimensionierten Anlagenkomponenten validiert und ggf. mit physikalisch begründeten Ansätzen (z. B. lokal unterschiedliche Turbulenzmodelle) an reale Prozesse angepasst werden. Der Projektverbund besteht aus den Projektpartnern TUHH, HZDR, TÜV NORD SysTec GmbH & Co. KG und der KSB Aktiengesellschaft.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Literaturrecherche zu Vergleichsdaten und Modellen
- AP2: Erarbeitung von Testmatrizen im Rahmen der Planung und dem Aufbau von Versuchsanlagen
- AP5: Experimentelle Untersuchung an Armaturen in verschiedenen Größenordnungen von typischen Industriearmaturen zur Untersuchung von unterschiedlichen Belastungsarten auf Schieber, Ventile und Rückschlagarmaturen
- AP8: Ergebnisverwertung

Im Rahmen des Arbeitspakets 5 werden Versuchsträger in vier verschiedenen Größenordnungen (Nennweiten) von typischen Armaturen für nukleare Kraftwerke zur Untersuchung von unterschiedlichen Belastungsarten auf Schieber, Ventile und Rückschlagarmaturen entwickelt.

Zum Nachweis der Funktionsfähigkeit von Armaturen werden folgende Belastungstests durchgeführt:

- Ermittlung der Eigenfrequenz
- Zyklustest (1000 mal öffnen und schließen)
- Rohrleitungslasten
- Rohrbruchttest
- Thermoschockverhalten

- Schmutzpartikeltest
- Seismische Belastung (statisch auf einem Rütteltest)

Aus den Ergebnissen werden Berechnungsmodelle und Auslegungsempfehlungen für Armaturen unter sicherheitstechnischen Aspekten abgeleitet.

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

Arbeitspaket 5: Experimentelle Untersuchungen an Armaturen:

- Wiederholung des 1000-Zyklustests mit repariertem Schieber DN 350
- Durchführung der Thermoschock-Versuche (plastische Verformung im Sitz bei Klappe DN 150 und Ventil DN 100 - Untersuchung auf Dichtheit daher nicht möglich)
- Konstruktive Überarbeitung für Klappe DN 150 und Ventil DN 100 um plastische Verformung durch thermische Effekte zu minimieren und Leckagekriterien im Sitz zu untersuchen
- Erfolgreiche Wiederholung des Rohrbruchttests für Ventil DN 25 mit Wechselsitz (alle geplanten Tests für diesen Versuchsträger hiermit abgeschlossen)
- Beginn der Seismischen Tests mit Schieber DN 150

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Nachstehend sind die nächsten Schritte zusammengefasst:

- Überarbeitung der Versuchsträger Klappe DN 150 und Ventil DN 100 gemäß neuem Design (Fertigung neuer Komponenten und bei Bedarf mechanische Bearbeitung bestehender Teile)
- Wiederholung der Thermoschock-Versuche mit optimierten Versuchsträgern (Klappe/Ventil)
- Durchführung der geplanten Rohrbruchttests für Klappe DN 150 und Ventil DN 100
- Abschluss der Seismik-Tests

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 574.986,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

AP1:

Die Instrumentierung der Heizpatronen und Kanaloberflächen wurde erfolgreich gemäß Arbeitsanweisung durch den Labor- und Versuchsfeldverbund Mollier-Bau der TU Dresden abgeschlossen.

Zur Errichtung der Versuchsanlage ALADIN wurden diverse Arbeitsschritte durchgeführt:

- Fundamentbau für die Versuchsanlage; Ausrichten des Lagergestells, auf dem die Anlage platziert wird; Aufsetzen des Fußteils der Versuchsanlage; Aufrichten der Kanäle (Innenkanal, Lagerbeckengestell, Außenkanal) und Platzierung auf dem Fußteil; Aufstellen und Verbinden der vier Mo-

dule zum Brennelementbündel und Einbau in die Anlage; Aufstellen der vier Rand- und Eckelemente und Einbau in die Anlage mit provisorischer Sicherung

- Aufbau des unteren Rohrsystems: Abflussventil, Anschluss Differenzdruckmesser, Anschluss für visuelle Erfassung des Füllstandes (Pegel-Schlauch)
- Anpassung/Umbau des Kondensators der Versuchsanlage ADELA-II, Anschweißen eines trichterförmigen Aufsatzes als Dampfsammler mit Durchführungen für die Thermoelemente und das Messsystem der TUD/ASP

Das Vorgehen für eine erfolgreiche Inbetriebnahme war wie folgt:

- Vorbereitung der Anlage auf den Dichtheitstest; Befüllen der Anlage; Überprüfen auf Leckage/Füllstandsänderung; Dichtheitstest erfolgreich bestanden
- Elektrischer Anschluss der Heizpatronen: Kabeltrassen; Einteilung in Heizgruppen; Aufbau eines Trägersystems für die Gehäuse der 13 Heizgruppen; Ergebnis: stufenlos regelbare Spannungsversorgung der Heizpatronen und Generierung eines variablen radialen Leistungsprofils
- Messwerterfassungsprogramm: Online-Darstellung; Sicherheitsoptimierte Steuerung, Herausstellen wichtiger Einflussfaktoren

AP2/3:

Hier erfolgt keine Beteiligung von TUD-WKET.

AP4:

Derzeitige „Analyse des Verhaltens von Brennelementen im Lagerbecken mit dem Systemcode ATHLET auf Basis der Versuchsanlage ALADIN“ mit Ausblick auf die Eignung von ATHLET (durchgeführte/betreute studentische Arbeit: Huon de Kermadec, G.; TU Dresden) Betreuung mit dem Ziel:

- Analyse der ATHLET-Arbeiten zu ADELA-II
- Modellierung des inneren SWR-Bündels, der umgebenden Elemente sowie der weiteren Umgebung, um Experimente voraus- und nachzurechnen
- Gegenüberstellung und Bewertung verschiedener Modellierungsoptionen
- Generierung erster Ergebnisse

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

AP1:

- Kalibrierung folgender Komponenten, um die Inbetriebnahmeversuche fortzusetzen und das allgemeine Betriebsverhalten der Anlage untersuchen zu können: Differenzdruckaufnehmer, Spartransformatoren durch Strom-/Spannungsabgleich der jeweiligen Heizgruppe, Nadelsonden (und Implementierung in das Messwerterfassungsprogramm)
- Einbindung der Leistungsmessung
- Isolierung der Anlagenoberflächen nach Abschluss der Vorversuche

AP4:

- Weiterführung der Analyse mit ATHLET
- Validierung des ATHLET-Moduls

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

Konferenzbeitrag/Poster NURETH-16 (August/September 2015):

Arlit, M.; Partmann, C.; Schleicher, E.; Hampel, U.: “Spatially-Resolved Measurement of Gas Phase Temperature and Velocity in the Subchannels of a Fuel Element during Dry-Out”.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 348.852,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Fröhlich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Gesamtvorhabens ist die Gewinnung gesicherter Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines teilweise bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens (BE-LB). Mittels Experimenten und Simulation erfolgt die Prognose unterschiedlicher Störfallszenarien. Im vorliegenden Teilprojekt werden CFD-Simulationen des experimentell untersuchten 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 zweiten Halbjahr 2015 wurden die inhaltliche Konzeption des Versuchsaufbaus zur Untersuchung der Strömung am Kopf des Brennelements (BE) und dessen Umsetzung an der HS Zittau-Görlitz unterstützt. Parallel wurde der Austausch mit HZDR zur Strömung oberhalb der im Lagerbecken angeordneten BE und mit TUD-ASP zur Applikation des thermoelektrischen Geschwindigkeits- und Temperatur-Gittersensors fortgeführt.

Arbeitsschwerpunkt im Teilprojekt war die schrittweise Modellentwicklung und -erprobung zur Analyse des gekoppelten Wärmetransports durch Konvektion und Strahlung am BE-Kopf unter Berücksichtigung der axialen Wärmeleitung in den Brennstäben sowie der Vermischung des austretenden Wasserdampfs mit der Atmosphäre im Containment. Diese Arbeiten sind sowohl den geplanten Arbeitspaketen für das Einzelexperiment im BE-Dummy (BED2, BED3) als auch im Integralexperiment (INT2-INT4) zuzuordnen. Die bisherigen eigenen Arbeiten im Projekt und die Arbeiten der Projektpartner, insbesondere HZDR, haben gezeigt, dass korrekte die Berechnung des Wärmetransports in diesem Bereich eine Schlüsselfunktion für die thermischen Verhältnisse in den BE im ausdampfenden Lagerbecken einnimmt.

Zur Vorbereitung der Untersuchungen mit instationären Randbedingungen (INT7) wurde damit begonnen, einzelne Aspekte mit vereinfachten Netzwerk-Modellen abzubilden. Ziel ist es, erste Informationen zum zeitlichen Ablauf der Wärmetransportprozesse unter diesen Bedingungen abzuleiten und damit die notwendige zeitliche Auflösung sowie den Parameterbereich und mögliche Modellvereinfachungen für die spätere Feldberechnung mittels CFD herauszuarbeiten. An den geschilderten Teilaufgaben ist aktuell ein Student beteiligt.

Die Arbeiten im Teilprojekt konnten im zweiten Halbjahr 2015 nur mit eingeschränkter Intensität fortgeführt werden, da die Bearbeiterin, Frau Dr. Liersch, in Mutterschutz und anschließend in Elternzeit ging. Der daraus resultierende Verzug soll durch die Einstellung eines neuen Mitarbeiters als Elternzeitvertretung ab Januar 2016 und die zeitweise parallele Beschäftigung beider Bearbeiter zur Jahresmitte 2016 kompensiert werden. Ziel ist, dass die Arbeiten im Teilprojekt spätestens Ende III/2016 wieder im Plan sind. Der Fortschritt der Arbeiten der anderen Projektpartner wurde von dieser Unterbrechung nicht beeinträchtigt. Die benötigten Zuarbeiten und Unterstützungsleistungen wurden durch den stellvertretenden Projektleiter, Herrn Dr. Rüdiger, erbracht.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im ersten Halbjahr 2016 werden die begonnenen Arbeiten zur Erstellung des numerischen Modells für die Untersuchung der Wärmeabfuhr am BE-Kopf fortgesetzt und abgeschlossen. Anschließend sind mit diesem Modell Variantenrechnungen geplant. In deren Ergebnis gilt es, Korrelationen für die Berechnung in den Integralcodes abzuleiten und die Publikation der Ergebnisse voranzutreiben. Mit den zu erwartenden experimentellen Daten aus den Untersuchungen am Integralexperiment und am BE-Dummy ist die Modellvalidierung geplant.

Insbesondere im Zusammenhang mit dem Einsatz der Messtechnik und der Unterstützung der Ergebnisinterpretation werden die Arbeiten zur Analyse instationärer Randbedingungen (INT7) fortgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2017		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 348.892,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Krepper

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

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

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

Für den Berichtszeitraum sieht der Arbeitsplan die Simulation der Strömung im Lagerbecken und der darüber liegenden Atmosphäre mit dem modellierten porösen Körper als Wärmequelle vor. Während sich die Wärmetransportprozesse innerhalb eines eingelagerten Brennelementes in Lumped Parameter Codes bereits ausreichend abbilden lassen, stellt die Strömung in der umgebenden Atmosphäre eine Unbekannte dar, wofür ohne weiteres keine belastbaren Annahmen getroffen werden können. Um die Ausbildung von charakteristischen Strömungspfaden zu untersuchen und die sich daraus ergebenden Randbedingungen an der Brennelementoberkante zu ermitteln, bietet sich die Durchführung einer dreidimensionalen numerischen Strömungssimulation (CFD) an. Für diesen Zweck wurde ein Modell entwickelt, welches im Berichtszeitraum erste Erkenntnisse über die zu erwartenden Strömungszustände in der Lagerbeckenatmosphäre lieferte. Das zugehörige Rechengebiet bezieht ein volles Reaktorgebäudevolumen mit ein. Da zum Vergleich keine Messergebnisse aus realen Anlagen zur Verfügung standen, wurde auf die in der Literatur breit publizierten Daten des Störfalls in Fukushima zurückgegriffen. Die konkrete Geometrie sowie die Leistungsverteilung im Lagerbecken orientierten sich zunächst an den Begebenheiten im Reaktorgebäude 4 unmittelbar nach dem Unfall. Außer der ausführlichen, öffentlich verfügbaren Dokumentation für diesen Testfall sind Daten aus Berechnungen mit Lumped Parameter Codes wie MELCOR und TRACE gewonnene Rechenergebnisse vorhanden, was die Überprüfung des CFD-Modells auf Plausibilität gestattete. Zudem konnten die Temperatur- und Strömungsrandbedingungen entlang der Reaktorgebäudehülle, welche durch die Explosion strukturell schwerwiegend beschädigt wurde, im zeitlichen Mittel als konstant angenommen werden. Dies ermöglichte eine quasi-stationäre Berechnung für verschiedene Wasserspiegel innerhalb der aktiven Zone der Brennelemente (Wasserschloss-Szenario). Die bisher durchgeführten Simulationen zeigen, dass der Kaltgaseinbruch im Lagerbeckenzentrum erfolgt. Die Oberkanten der mittig gelagerten Brennelemente werden horizontal überströmt und in den wandnahen Regionen ist die Strömung des Dampf/Luft-Gemisches aufwärtsgerichtet. Die beschriebenen Strömungspfade sind näherungsweise stationär mit, im Verhältnis zu den vorliegenden räumlichen Abmessungen, geringen Oszillationen. Neben der originalen Lagerbeckenbeladung wurden auch abweichende Leistungsverteilungen bei gleicher Gesamtleistung untersucht. Zu den denkbaren Konstellationen zählen die wandnahe, die mittige und die gleichverteilte Lagerung der Brennelemente mit der höchsten Zerfallswärmeleistung. Die Simulationen zeigten, dass die großskaligen Strömungspfade von der Leistungsverteilung im Lagerbecken nahezu unbeeinflusst sind. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass sich über die Lage eines Brennelementes im Lagerbecken direkt die thermischen Randbedingungen an dessen Oberkante bestimmen lassen. Mit Hilfe des entwickelten Modells können diese Bedingungen abgeschätzt und in geometrieaufgelöste Simulationen weiterverwertet werden.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Für den kommenden Berichtszeitraum konzentrieren sich die Arbeiten auf die Betrachtung einer geschlossenen Atmosphäre innerhalb eines generischen Reaktorgebäudemodells, wobei die Wärmeabgabe an Gebäudestrukturen ebenfalls zu berücksichtigen ist.

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

Im Rahmen der NURETH-16 Konferenz wurden die bisher durchgeführten Arbeiten präsentiert. Im zugehörigen Tagungsband ist hierzu der folgende Konferenzbeitrag zu finden:  
R. Oertel, E. Krepper, D. Lucas, „Application of CFD towards the thermo-hydraulic analysis of Spent Fuel Pool accidents“ International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics (NURETH-16), Chicago, 30. August - 4. September 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 434.394,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

Nach der Erstellung des Versuchskonzeptes für den Versuchsstand DVABEG (Dichtegetriebene Vertikale AustauschBEwegungen von Gasen) auf Basis der durch eigene Recherchen und mit den Projektpartnern in den Arbeitstreffen im ersten Halbjahr abgestimmten Randbedingungen wurden die Komponenten der Anlage (z. B. Überströmgehäuse, Gestell, Rohrleitungen, Reduzierungen, Statikmischer, Befeuchtungsstrecke, Radialventilator, Elektro-Heizregister, Befeuchtungsanlage, Abluftanlage und Messtechnik) erworben und im Labor als Versuchsanlage montiert bzw. errichtet. Die Montage der strömungsführenden Rohrleitungen und Gehäuse sowie die Einbindung der für die Konditionierung der Gase erforderlichen Komponenten sind erfolgt. Mit den Arbeiten zur elektrischen Versorgung und Ansteuerung sowie zur messtechnischen Erfassung der Versuchsdaten wurde begonnen.

Auf Basis einer studentischen Arbeit und eigener Recherchen wurden die Arbeiten zur mathematischen Modellierung der radialen und axialen Wärmestrahlung in Brennelementen und im Lagerbecken fortgeführt und weiterentwickelt. Schwerpunkt bildete dabei die Festlegung der geometrischen Parameter für das Ein- und Abstrahlungsverhalten mit analytischen Methoden.

Im Berichtszeitraum wurden Veröffentlichungsentwürfe für die Jahrestagung Kerntechnik AMNT16 in Hamburg und für die ICON16 in Charlott (USA) erstellt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Der elektrische Anschluss der Einzelkomponenten inkl. Verkabelung mit dem Steuerschrank, die Instrumentierung der Versuchsanlage DVABEG und die leit- und messtechnischen Software werden fertiggestellt. Es erfolgt die Inbetriebnahme der gesamten Anlage. Nach der Analyse und Plausibilisierung der Versuchsergebnisse (Reproduzierbarkeit, Unsicherheitsanalyse) werden die Messdaten an die Projektpartner übergeben.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen zwischen den Projektpartnern statt:

Arbeitstreffen am 28.04.2015 an der TU-Dresden (KET) zur Präsentation des Arbeitsstandes der Projektpartner

Arbeitstreffen am 21.09.2015 an der TU-Dresden (ISM) zur Präsentation des Arbeitsstandes der Projektpartner

Entsprechend der vereinbarten Publikationsstrategie der Projektpartner wurde eine internationale Veröffentlichung erstellt und als Vortrag präsentiert:

Chahi, H., Kästner, W., Alt, S.: "System analysis and isothermal separate effect experiments of the accident behavior in PWR spent fuel storage pools", International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics NURETH16, August 30-September 4, 2015, Chicago, IL, USA, USB-proceedings, pp. 1573-1586

Im Rahmen des 10. Doktorandenseminars für Doktoranden und Nachwuchswissenschaftler des Kompetenzzentrums Ost für Kerntechnik wurde ein Vortrag gehalten:

KompOst10, 08.12.15, HZDR, Dresden-Rossendorf

Chahi, H., Kästner, W., Alt, S.: "ISOTHERMAL SEPARATE EFFECT EXPERIMENTS OF THE ACCIDENT BEHAVIOR IN PWR SPENT FUEL STORAGE POOLS "

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 316.464,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Verbundprojekt besteht Zusammenarbeit mit folgenden Einrichtungen:

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Analyse ADELA-Experimente für spezielle Messtechnik, Literaturstudium

AP2: Selektion/Erprobung von Messverfahren

AP3: Entwicklung und Aufbau der Instrumentierung

AP4: Erprobung und Kalibrierung spezieller Instrumentierung an eigenem Strömungsversuchsstand

AP5: Unsicherheitsanalysen

AP6: Einsatz der Strömungsmessverfahren am Integralexperiment, Datenanalysen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP3: Verschiedene kommerzielle Beschichtungssysteme für Hochtemperaturanwendungen zur elektrischen Isolierung sowie als Korrosionsschutz wurden auf deren Eignung für den Einsatz in Heißdampf hin untersucht. Die Prototyp-Version der Elektronik wurde auf deren Betriebscharakteristik hin untersucht und optimiert.
- AP4: Die Randbedingungen für die Kalibrierung orientieren sich an den erwarteten Versuchsbedingungen. Da die Breite des Temperaturbereiches, bei dem zuverlässig gemessen werden soll, von 100 °C bis 500 °C reicht, ist es notwendig Kalibrierkurven auf verschiedenen Temperaturniveaus in überhitztem Dampf zu erstellen. Da dies experimentell sehr aufwändig ist, wurde eine neue Kalibriermethode entwickelt. Zunächst wird eine Kalibrierkurve an Luft bei Raumtemperatur erstellt und geometrieabhängige Parameter der Sensorcharakteristik bestimmt. Durch Extrapolation auf andere Temperaturen und Medien ergeben sich neue Kalibrierkurven. Zur Validierung der Methode wurde ein Versuchsstand entwickelt. Weiterhin wurde dieser Versuchsstand dahingehend modifizierbar ausgelegt, um den Sensor für den Einsatz in überhitzten Dampf zu testen.
- AP5: Messabweichungen können durch systematische Fehler sowie durch ungleiche Strömungsbedingungen bei der Kalibrierung und der Messung auftreten. Seitens des Messsystems wurden als Haupteinflussgröße thermisches Übersprechen in Form von Wärmeleitung über die Komponenten des mechanischen Aufbaus identifiziert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP4: Die entwickelte Methode soll am Versuchsstand experimentell validiert werden. Weiterhin werden Testmessungen in überhitztem Dampf mit dem Messsystem durchgeführt und für den Einsatz in der Integralversuchsanlage kalibriert.
- AP5: Die systematischen Messfehler werden nach etablierten Verfahren quantifiziert. Weiterhin soll der Einfluss der Strömungsbedingungen untersucht und ein Korrekturfaktor abgeleitet werden. Dies geschieht in Zusammenarbeit mit TUD-ISM.
- AP6: In Abstimmung mit dem Projektpartner TUD-WKET wird das Messsystem in die Integralversuchsanlage montiert und in Betrieb genommen sowie Temperatur- und Geschwindigkeitsverteilungen für die ersten Versuchsreihen gemessen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Arlit, C. Partmann, E. Schleicher, U. Hampel: „Spatially resolved measurement of gas phase temperature and velocity in the subchannels of a fuel element during dry-out“, CD-Proceedings. NURETH-16, Chicago / USA, 30.08.15 - 04.09.15.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 028A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt A: Analyse von Containment-Phänomenen zur Optimierung von Störfallmaßnahmen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 29.02.2016		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.034.532,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Allelein

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Durch eine adäquate Modellierung der Vorgänge im unteren Plenum eines Siedewasserreaktors bei einem schweren Unfall und der weitergehenden Modellierung der Phänomene der Gebäudekühlung im Containment eines Leichtwasserreaktors werden Bausteine bereitgestellt um den kompletten Störfallablauf von dem auslösenden Ereignis, über die Kernzerstörung, der Aerosolausbreitung im Containment bis hin zum Quellterm in die Umgebung verlässlicher simulieren zu können. Hierzu sollen vor allem die GRS-Codes ATHLET-CD und COCOSYS, die miteinander koppelbar sind, verwendet werden.

Im Rahmen dieses Teilprojektes wird der Code COCOSYS für die Analyse passiver Containment-Kühlsysteme erweitert und validiert sowie die Unsicherheit von mit COCOSYS durchgeführten Quelltermberechnungen für deutsche SWR-/KONVOI Anlagen quantifiziert. Des Weiteren soll ein Modell in ATHLET-CD für die Prozesse im unteren Plenum eines SWR bei einem schweren Störfall adaptiert und implementiert werden. Abschließend sollen Möglichkeiten für eine Rückhaltung einer Kernschmelze im Sicherheitsbehälter, aber auch weitere Accident Management Maßnahmen vergleichend betrachtet werden, um Handlungsalternativen für Notfallmaßnahmen aufzuzeigen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Koordination

AP2: Entwicklung SWR-Modell für das untere Plenum

AP3: Weiterentwicklung des COCOSYS-Moduls COMO (AP3.1): Modellverbesserung bzw. -erweiterung (AP3.1), Anbindung an COPOOL (AP3.2), Erhöhung der Rechenstabilität (AP3.3), Validierung von COMO (AP3.4), Anlagenrechnungen (AP3.5)

AP4: Anwender-Support: Datensatzbereitstellung (AP4.1), Programmunterstützung (AP4.2)

AP5: Unsicherheitsanalysen für Quelltermberechnungen: Überprüfung wichtiger Module für das Spaltprodukt- und Aktivierungsproduktverhalten (AP5.1), Anpassung und Optimierung von DWR- und SWR-Datensätzen für Untersuchungen des radiologischen Quellterms (AP5.2), Durchführung und Analyse der 'best-estimate'-Rechnungen (AP5.3)

AP6: Auswahl und Bewertung von AM-Maßnahmen (AP6.1+6.2) Auswirkungen für die Kühlung einer Kernschmelze im Sicherheitsbehälter, Beiträge zu Entscheidungsgrundlagen und Empfehlungen für Notfallmaßnahmen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden Arbeiten zu den Arbeitspaketen AP1 bis AP5 durchgeführt. Im AP1 fanden im Berichtszeitraum drei Fachgruppentreffen zwischen der GRS und einzelnen Partnern, die Simulation mit ATHLET durchführen, statt.

Die Arbeitspakete 2 und 4 werden durch den Unterauftragnehmer GRS durchgeführt. Die finale Dokumentation zu allen im letzten Berichtszeitraum abgeschlossenen Arbeiten am SWR-Modells (AP2) wurde übergeben. Weiterhin fand fortlaufend Anwendersupport (AP4) zur Datensatzerstellung sowie auftretenden Programmabbrüchen statt.

AP3: Die Arbeiten am Refactoring des COMO-Moduls wurden abgeschlossen, ebenso die Implementierung der Korrelationen für senkrechte Gebäudekondensatoren. Mit ersten Testläufen wurde begonnen.

AP5: Bei den DWR-Analysen zum 80-Zonen-Datensatz zeigte sich, dass dieser seitens der Aerosolablagerung und -konzentration im Containment im Vergleich zum Originaldatensatz der GRS unzureichende Ergebnisse liefert. Der Datensatz wurde auf 103 Zonen erweitert und für die Iodsimulation angepasst. Zudem wurden die Daten der Iodeinspeisung für den Datensatz ertüchtigt.

Mit den gemäß Änderungsantrag vom 28.07.2015 neu definierten SWR-bezogenen Arbeiten wurde begonnen. Dazu wurden erste Untersuchungen zur Spaltproduktrückhaltung in Wasservorlagen mit dem COCOSYS-Modul SPARC durchgeführt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Die Entwicklung eines SWR-Modells für das untere Plenum ist abgeschlossen und dokumentiert. Für den nächsten Berichtszeitraum können ggf. Arbeiten aufgrund des Informationsrückflusses durch Anwender notwendig werden.

AP3: Das verbesserte und erweiterte COMO-Modell soll abschließend intern getestet werden und dann an den COCOSYS-Entwickler übergeben werden. Weiterhin soll die Kopplung zwischen COCOSYS und CoPool mittels DEM umgesetzt und getestet werden.

AP5: Basierend auf der Best-Estimate-Rechnung soll eine SUSA durchgeführt werden, falls es gelingt, einen Input zu erstellen, der zu stabilen Rechnungen mit akzeptablen Rechenzeiten führt. Letzteres ist mit der neuen COCOSYS-Version der GRS derzeit recht problematisch. Bezüglich der SWR-Untersuchungen sollen auf Basis der ersten SPARC-Rechnungen zunächst die Hauptfaktoren für die Rückhaltung von Spaltprodukten in Wasservorlagen bestimmt werden, um anschließend eine Parameterstudie durchzuführen.

AP6: Mit der Auswahl und Bewertung von AM-Maßnahmen soll begonnen werden. Die Randbedingungen, wie z. B. die zu untersuchenden Szenarien werden beim Projekttreffen im Januar 2016 festgelegt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 028B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt B: Druckwasserreaktor-Störfallanalysen unter Verwendung des Severe-Accident-Code ATHLET-CD		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 31.08.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 203.674,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Kliem	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Teilprojekts werden sowohl die physikalischen Modelle und die Datenbasis des Störfallcodes ATHLET-CD an Hand der Ergebnisse von Störfallanalysen bewertet als auch das Verhalten der Reaktoranlage im Verlauf von schweren Störfällen analysiert. Zusätzlich werden die Wirksamkeit von Notfallmaßnahmen in der Früh- und Spätphase vor einem RDB-Versagen sowie die hierfür heranzuziehenden Einleitungskriterien für einen generischen deutschen Druckwasserreaktor untersucht und analysiert. Ein wichtiges Ziel ist die Ermittlung der maximalen Zeitspanne, die für Maßnahmen und Entscheidungen des Personals zur Verfügung steht, um die Störfallfolgen abzumildern. Dabei werden verschiedene Möglichkeiten für Gegenmaßnahmen vor einem RDB-Versagen analysiert.

Das Projekt wird im gemeinsamen Vorhaben mit der Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, der Universität Stuttgart - Institut für Kernenergetik und Energiesysteme (IKE), des Karlsruher Institut für Technologie mit den Instituten für Fusionstechnologie und Reaktortechnik (KIT-IFRT), Kern- und Energietechnik (KIT-IKET), Neutronenphysik und Reaktortechnik (KIT-INR), der Ruhr-Universität Bochum - Lehrstuhl Energiesysteme und Energiewirtschaft (RUB-LEE) und der RWTH Aachen - Lehrstuhl für Reaktorsicherheit und -technik (RWTH-LRST) durchgeführt und ist über einen Kooperationsvertrag mit den weiteren Teilvorhaben des Projektverbundes 02NUK028 verbunden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Rahmen des Verbundprojekts beteiligt sich HZDR an den Arbeitspaketen 3.2, 4.1 und 4.2.

Entsprechend dem Arbeitsplan für das Teilprojekt B sind die Arbeiten wie folgt unterteilt:

- TPB-API: Durchführung von Störfallanalysen
- TPB-AP2: Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen für DWR.

Das Untersuchungsprogramm beinhaltet die Auswahl geeigneter Störfallsequenzen und Notfallmaßnahmen, die Durchführung von Störfallanalysen für ausgewählte Szenarien, die Bewertung der Modellbasis bis zur Kernzerstörungsphase auf Basis der Ergebnisse sowie eine Bewertung und Optimierung von Notfallmaßnahmen bezüglich ihrer Wirksamkeit.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

**(TPB-AP1):** Die Inputdeck-Anpassungen betrafen im Wesentlichen die Kernzerstörungsmodule. Einige der in 2014 getroffenen Modellmodifikationen wurden wieder zurückgenommen, da sie sich als nachteilig für die Stabilität der Simulationsrechnung erwiesen haben. Die auftretenden Probleme (z. B. Programmabbrüche, Strömungssoszillationen im Kern) wurden sukzessive dem Code-Entwickler GRS berichtet und ebenfalls auf zwei Treffen diskutiert (Statustreffen am HZDR in Dresden im Juli 2015 sowie bei der GRS in München im August 2015). Durch das HZDR wurden etwa 200 Testrechnungen mit systematischer Variation der Modellparameter durchgeführt und ausgewertet. Die Änderungen am Simulationsmodell wurden im Meilensteinbericht M35 (derzeit in der Erstellung) dokumentiert. Unter dem Gesichtspunkt, die restlichen Arbeiten im Projektvorhaben durchführen zu können, wurde festgelegt, dass ATHLET-CD 3.0A für die weiteren Analysen zum Einsatz kommen wird. Es zeigte sich, dass für nahezu identische Eingabedatensätze die Simulationen mit ATHLET-CD 3.0A stabiler laufen als mit ATHLET-CD 3.0B. Mit dem ATHLET-CD-Datensatz wurden Störfallanalysen für ausgewählte Leckstörfälle und für den Station-Blackout durchgeführt, wobei die Analysen alle Kernzerstörungsphasen bis zur Verlagerung des Kernmaterials in das untere Plenum umfassen. Die Prozesse im unteren Plenum werden dabei durch das ATHLET-CD-Modul AIDA simuliert, welches vollständig in das vorliegende Modell eingekoppelt wurde. Simulationen mit Kernzerstörung wurden bis zum Zeitpunkt des RDB-Versagens ausgeweitet, um Aussagen über die Zeitdauer bis zum Austritt der Kernschmelze in die Reaktorgrube treffen zu können.

Gemeinsam mit KIT-IKET wurde ein Code-zu-Code-Vergleich zwischen MELCOR und ATHLET-CD durchgeführt. HZDR hat dazu zunächst ein Dokument mit einer detaillierten Beschreibung des ATHLET-CD-Inputdecks, einer tabellarischen Auflistung aller verwendeten Parameter sowie grafischer Darstellungen aller Thermohydraulikobjekte erstellt [1]. Auf Basis dieses Dokuments wurde von KIT-IKET ein MELCOR-Input für einen generischen KONVOI erstellt. Ein erster Vergleich der ermittelten Ergebnisse wurde zusammengestellt.

**(TPB-AP2):** Für das Station-Blackout-Szenario (SBO) wurde die Wirksamkeit der primärseitigen Druckentlastung (PDE) weiter untersucht sowie die Karenzzeiten bis zur Kernschmelze bestimmt. Ebenso wurde die zeitliche Verzögerung bis zum Versagenszeitpunkt des RDB nach Anwendung der PDE ermittelt. Für das Störfallszenario mit kleinem Leck (SBLOCA) wurde ebenfalls die Wirksamkeit einer PDE untersucht. Sowohl für SBO als auch SBLOCA wurden Simulationsrechnungen unter Einspeisung mittels mobiler Feuerlöschpumpen in den Primärkreis untersucht. Für ein SBO-Szenario mit PDE wurde mittels ATHLET-CD-Simulationen eine Unsicherheits- und Sensitivitätsanalyse durchgeführt. Es wurden die für das SBO-Szenario relevanten unsicheren Parameter identifiziert und unter Zuhilfenahme von Literaturdaten quantifiziert. Anschließend wurden mit dem GRS-Programm SUSA zufallsverteilte Inputdatenvektoren generiert und insgesamt 181 ATHLET-CD-Eingabedatensätze erstellt und mit ATHLET-CD gerechnet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

In den nächsten 6 Monaten sind folgende Arbeiten geplant:

- Auswertung der gerechneten Simulationen,
- Code-zu-Code-Vergleich zwischen ATHLET-CD und MELCOR. Auswertung,
- Dokumentation der Analysen und Erstellung des Abschlussberichtes.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Jobst, P. Wilhelm, 2015. WASA-BOSS: Generic KONVOI data base (2015)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 028C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt C: Analyse schwerer Störfälle in LWR zur Evaluierung und Optimierung von Severe-Accident-Maßnahmen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 31.08.2016		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 300.276,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Buck

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Verbundvorhabens ist es, vor dem Hintergrund der Ereignisse in Fukushima zum einen die Modellierung von Siedewasserreaktorcomponenten sowie der Gebäudekühlung weitergehend zu ertüchtigen, um somit die Leistungsfähigkeit von Schwerstörfallcodes weiter zu erhöhen und zum anderen, Notfallmaßnahmen anhand von Reaktorrechnungen zu bewerten und zu optimieren. Ziel des Teilvorhabens ist es, Störfallmaßnahmen zu untersuchen, die dazu beitragen können, das Fortschreiten schwerer Unfälle mit Kernschmelzen aufzuhalten oder zumindest deren Folgen abzumildern. Hierzu werden systematische Untersuchungen zum Unfallablauf mit dem Störfallcode ATHLET-CD sowie mit spezialisierten Rechenmodellen des Zuwendungsempfängers durchgeführt. Repräsentativ für die in Deutschland noch betriebenen Reaktoren (DWR-KONVOI und SWR) sollen anhand generischer Szenarien charakteristische Eckpunkte im Ablauf und Möglichkeiten der Kühlung und Rückhaltung durch Einspeisung von Wasser in den Kern sowie durch Kühlung von Kernschmelze im Sicherheitsbehälter durch Flutung der Reaktorgrube (bei SWR) herausgearbeitet werden. Hierdurch soll eine Grundlage für die Verbesserung von Accident-Management-Maßnahmen geschaffen werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Simulation postulierter Störfälle/Unfälle in deutschen Anlagen: Erstellung von ATHLET-CD-Eingabedatensätzen für DWR (1.1) und SWR (1.2), Definition zu untersuchender Störfallsequenzen (1.3), Rechnungen zu ausgewählten Störfallszenarien ohne AM-Eingriffe (1.4), Beitrag zur Bewertung der Modellierungsbasis (1.5).
- AP2: Zusammenstellung geeigneter Störfallmaßnahmen: Recherche (2.1), Selektion (2.2)
- AP3: Möglichkeiten der Kühlung eines geschädigten Kerns durch Einspeisung in den RDB: Abbildung/Modellierung zu untersuchender Szenarien und AM-Maßnahmen (3.1), Untersuchung zu Kühlung und Rückhaltung im Kern für DWR und SWR (3.2), Untersuchung zu Kühlung und Rückhaltung im unteren Plenum (3.3).
- AP4: Möglichkeiten der Kühlung und Rückhaltung von Kernschmelze im Sicherheitsbehälter.
- AP5: Entscheidungsgrundlagen und Empfehlungen für Notfallmaßnahmen: Auswertung von Störfallanalysen (5.1), Bewertung der Maßnahmen (5.2), Ausarbeitung von Empfehlungen (5.3).
- AP6: Dokumentation und Berichte

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.5: Basierend auf den im AP1.4 durchgeführten Rechnungen zu Störfallszenarien in DWR und SWR ohne Simulation von Eingriffen durch Störfallmaßnahmen wurde eine abschließende Analyse der Ergebnisse vorgenommen. Hierbei wurde vor allem auf eine kritische Beurteilung der Modellierungsbasis Wert gelegt. Es konnte festgestellt werden, dass mit dem Modellstand der im Projekt verwendeten Version 3.0B des Störfallanalysecodes ATHLET-CD alle wesentlichen Phänomene abgebildet und Rechnungen bis hin zum Behälterversagen durchgeführt werden können. Allerdings sind viele Teilaspekte insbesondere

für die späte Unfallphase, nur teilweise mechanistisch beschrieben, z. B. hinsichtlich der Verlagerung von Schmelze ins untere Plenum. Die Ergebnisse hängen dadurch stark von der Wahl von Eingabeparametern durch den Benutzer ab. Da hierdurch die Aussagefähigkeit der Simulationen deutlich beeinflusst wird, sollten die Basisrechnungen durch Parametervariations- und Sensitivitätsrechnungen ergänzt werden. Da dies nicht der ursprünglichen Zielsetzung des Vorhabens entsprach, konnten entsprechende Analysen nur eingeschränkt durchgeführt werden. Die Beiträge zur Bewertung der Modellierungsbasis werden in den Abschlussbericht einfließen.

- AP3.2: Die Simulationsrechnungen für DWR und SWR zur Bestimmung der Wirksamkeit von Notfallmaßnahmen mit später Wassereinspeisung in den RDB wurden abgeschlossen. Zum DWR Konvoi wurden die systematischen Untersuchungen zur späten Einspeisung zu verschiedenen Zeitpunkten (entsprechend unterschiedlich fortgeschrittenen Stadien der Kernzerstörung) mit Variation der Einspeisesysteme und Einspeisepunkte weiter vervollständigt, um einen besseren Gesamtüberblick zu erhalten. Generell zeigte sich, dass die Möglichkeit zum Quenchen des Kerns durch späte Einspeisung nach einer Auflösung von Blockaden durch Krusten und Verlagerung von Schmelze ins untere Plenum deutlich verbessert ist. Als schwierig erweist sich die Beurteilung der Kühlbarkeit von ins untere Plenum verlagertem Material. Zurzeit ist nur eine relativ einfache Modellierung mit dem Modul AIDA lauffähig, die einen kompakten Schmelzesee beschreibt. Diese Konfiguration würde nach den Rechenergebnissen auch bereits für geringe Schmelzmassen in der Größenordnung von 10 -15 t zu einem Behälterversagen führen. Dies ist jedoch aufgrund der vereinfachten Modellierung, die z. B. die Interaktion der Schmelze mit dem Restwasser im unteren Plenum während der Verlagerung nicht berücksichtigt, kritisch zu hinterfragen (siehe auch AP3.3). Zum SWR-72 wurden die Variationsrechnungen zu Möglichkeiten der Kühlung durch Einspeisung über Hochdruck- und Niederdrucksysteme in den RDB bei bereits fortgeschrittener Kernzerstörung (analog der Untersuchungen zum DWR-Konvoi) ebenfalls weiter ausgebaut.
- AP3.3: Mit Hilfe des am IKE entwickelten Modells MEWA wurden Rechnungen zu Schmelze-Verhalten und –Rückhaltung im unteren Plenum durchgeführt. Die Analysen basierten auf den im AP3.2 durchgeführten Rechnungen mit ATHLET-CD zum DWR-Konvoi, aus denen die Anfangs- und Randbedingungen für die Analysen mit MEWA (verlagerte Schmelzemasse, -Zusammensetzung, -Temperatur, Druck, Wasserstand und -Temperatur im unteren Plenum etc.) abgeleitet wurden. Es wurde die Kühlbarkeit für verschiedene Konfiguration mit unterschiedlichen Anteilen loser Schüttung und kompakter Schmelze untersucht. Nach den Ergebnissen der Rechnungen ergibt sich abhängig von Szenario (zeitlich abnehmende Nachzerfallsleistung), Systemdruck, verdichteten Anteilen etc., ein Spektrum von kühlbaren zu nicht-kühlbaren Konfigurationen. Die Grenze, bis zu der die Schüttbetten ohne verdichtete Anteile noch kühlbar sind, liegt danach bei ca. 30 t Gesamtmasse. Unter 10 t ist von Kühlbarkeit und damit Erhalt der Integrität des Druckbehälters auszugehen.
- AP5.1: Es wurde mit der abschließenden Auswertung der Ergebnisse der Störfallanalysen aus AP1, AP3 und AP4 begonnen. Diese werden als Grundlage für die Ausarbeitung von Entscheidungsgrundlagen und Empfehlungen für Notfallmaßnahmen herangezogen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP5.1: Die Auswertung der Ergebnisse der Störfallanalysen aus AP1, AP3 und AP4 ist abzuschließen und hinsichtlich der Erfolgsaussichten der untersuchten AM-Eingriffe zu bewerten. Hieraus sind Entscheidungsgrundlagen und Empfehlungen für Notfallmaßnahmen abzuleiten.
- AP6.2: Es ist ein Beitrag zum gemeinsamen Projektbericht „Ergebnisse Störfalluntersuchungen“ (M35) zu erstellen.
- AP6.3: Der gemeinsame Projektbericht "Entscheidungsgrundlagen und Empfehlungen für Notfallmaßnahmen“ (M43) ist unter Federführung des IKE zu erstellen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 028D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt D: Erweiterung und Validierung des COCOSYS Codes für die Analyse des passiven Containment-Kühlsystems		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 31.05.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 236.964,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Cheng	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Hauptzielsetzung dieses Teilvorhabens ist die Erweiterung des COCOSYS-Programms durch Berücksichtigung von Wärmeübertragungsprozessen außerhalb des Containments. Die Vorgehensweise lässt sich wie folgt darstellen:

- Weiterentwicklung geeigneter Modelle, welche die Wärmeübertragungsprozesse außerhalb des Containments beschreiben. Insbesondere werden die Wärmeübertragungsvorgänge von Naturkonvektion von Luft, Wärmestrahlung und Verdampfung des Wasserfilms berücksichtigt.
- Erweiterung des COCOSYS-Programms durch Implementierung neu entwickelter Modelle.
- Validierung und Anwendung des erweiterten COCOSYS Programms anhand der in AP2 bereitgestellten Daten sowie vorhandener experimenteller Daten aus der Literatur und den internationalen Projektpartnern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Passive Containment-Kühlsysteme (PCCS) werden sowohl in DWR als auch in SWR verwendet. Das Programm COCOSYS, das von der GRS entwickelt wird, deckt ein weites Spektrum von Vorgängen im Containment ab und findet breite Anwendungen.

Die jetzige Version des COCOSYS-Programms beschränkt sich im Wesentlichen auf Vorgänge innerhalb des Containments. Die Hauptzielsetzung dieses Teilvorhabens ist die Erweiterung des COCOSYS-Programms durch Berücksichtigung von Wärmeübertragungsprozessen außerhalb des Containments, z. B. Naturkonvektion von Luft, Wärmestrahlung und Verdampfung des Wasserfilms, die für einige fortgeschrittene Druckwasserreaktoren eine entscheidende Rolle spielen, um Nachwärme aus dem Containment abzuführen. Weiterhin soll auch die Modellierung sog. Kondensatoren erweitert und die Möglichkeit, mit solchen Systemen mögliche Unfallabläufe positiv zu beeinflussen, untersucht werden.

Das AP besteht aus folgenden Arbeitsschritten:

- Systematische Analyse des Wasserfilmverhaltens unter Berücksichtigung unterschiedlicher Bedingungen, wie Wärmezufuhr, Luftströmung und geometrische Orientierung. Diese Aufgabe wird mit Hilfe von Literaturrecherche und internationaler Zusammenarbeit – bspw. im Rahmen einer Zusammenarbeit zwischen KIT-IFRT und der Shanghai Jiao Tong

Universität (SJTU) bzgl. der Versuchsanlage WABREC (WATER Behavior in RECTangle Channel) – durchgeführt.

- Entwicklung und Validierung eines neuen Modells zur Simulation des Wasserfilmverhaltens. Die Vorgänge oder Parameter die im neuen Modell berücksichtigt werden, sind Wasserfilmdicke, Abbruch des Films und Struktur des Filmrinnens. Als Randbedingung wird auch die Schubspannung an der äußeren Oberfläche des Films herangezogen.
- Realisierung eines numerischen Verfahrens zur Simulation kombinierender Wärmeübertragungsprozesse außerhalb des Containments wie Luft-Naturkonvektion, Wärmestrahlung und Wasserfilmverdampfung, -Implementierung des numerischen Verfahrens in das COCOSYS Programm.
- Validierung und Anwendung des erweiterten COCOSYS Programms anhand der in AP2 neu bereitgestellten sowie vorhandener, experimenteller Daten des europäischen generischen Sicherheitsbehälters sowie des PCCS von AP1000.

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

Im Berichtszeitraum sind folgende Arbeiten durchgeführt:

- Anwendung des modifizierten COCOSYS Programms auf dem passiven Containmentkühl-system (PCCS) des AP1000 mit den Zielsetzungen, (a) den Effekt des neuen Modells auf das Verhalten des AP1000 PCCS zu überprüfen, und (b) Maßnahmen für die mögliche Verbesserung des PCCS Systems vorzuschlagen
- Veröffentlichung der Ergebnisse auf der NURETH-16 Konferenz
- Fertigstellung einer Dissertationsschrift

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

- Dokumentation der Implementierung des Modells und der Modifikation des COCOSYS Programms
- Fertigstellung des Abschlussberichts

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

Huang, X., Cheng, X., Klein-Hessling, W., 2015: Evaluation of Passive Containment Cooling with an Advanced Water Film Model in a Lumped Parameter Code, NURETH-16, August 31 – September 4, 2015, Chicago, USA

Huang, X., 2015: Study on Water Film Cooling for PWR's Passive Containment Cooling System, Dissertation, Mechanical Engineering, Karlsruhe Institute of Technology, October 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 028E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt E: Verbesserung des Lower Head-Modelles für Melcor und Melcor-Rechnungen zu Fukushima		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 29.02.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 368.530,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Miassoedov	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In MELCOR 1.8.6 soll das sehr einfache Modell zum Verhalten einer Kernschmelze im unteren Plenum durch realistischere Modelle ersetzt werden. Dies geschieht im Rahmen einer Promotion am KIT-IKET. Dies ist Teil der Ertüchtigung des MELCOR-Codes mit dem Ziel, zusammen mit anderen Projekt-Partnern die Notfallmaßnahmen während ausgewählter Störfallszenarien für deutsche noch ca. 10 Jahre zum Betrieb vorgesehene Anlagentypen zu bewerten und zu optimieren.

Weiterhin soll auf der Grundlage der von der Ruhr-Universität Bochum zusammengetragenen Anlage-Daten ein MELCOR-Datensatz des KKW Fukushima erstellt werden, mit dem dann der FUKUSHIMA-Unfall simuliert wird. Die erhaltenen Ergebnisse der Simulation liefern einen Beitrag zur Einschätzung des bisherigen Verständnisses des Unfall-Ablaufes. Der Datensatz wird über das Projekt-Ende hinaus genutzt, um neue Erkenntnisse zu diesem Unfall zu verarbeiten, indem z. B. bei Bedarf das Anlagen-Modell erweitert wird oder die bereits gerechneten Szenarien modifiziert werden. Die Erkenntnisse sollen dann in die Sicherheitsbewertung der deutschen noch in Betrieb befindlichen Kernkraftwerke einfließen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Verbesserung des Lower Head-Modells für den Störfall-Code MELCOR:

In diesem AP werden neue Modelle für das Verhalten einer Kernschmelze im unteren Plenum des Reaktordruckbehälters über eine Schnittstelle an MELCOR gekoppelt. Diese Modelle werden mit durchgeführten Experimenten validiert.

AP2: Simulation des Unfalls in Fukushima mit MELCOR:

In diesem AP wird im ersten Projekt-Jahr zum Unfall in Fukushima eine Datenbasis durch RUB erstellt. Mit diesen Daten erstellt KIT/IKET einen MELCOR-Datensatz der Anlage und führt Rechnungen durch mit dem Ziel, ein tieferes Verständnis über die Phänomene während des Unfallablaufes zu erlangen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurden mit der gekoppelten MELCOR-Version (Kopplung von MELCOR mit dem im Rahmen des Projektes entwickelten Modell für das Verhalten einer Schmelze im unteren Plenum des RDB) die LIVE-Versuche L-10 und L-11 nachgerechnet. Weiterhin wurde mit einem Datensatz eines generischen deutschen Druckwasserreaktors ein Störfall (50 cm<sup>2</sup>-Leck im kalten Leck mit Ausfall Speisewasser und Sumpfschaltung) sowohl ohne als auch mit dem neuen Modell gerechnet. Ab Oktober wurde schwerpunktmäßig die Dissertation erstellt, von der inzwischen eine erste Version vorliegt.
- AP2: Mit dem von KIT-IKET erstellten Datensatz für den Reaktor Fukushima 3 wurden weitere Rechnungen durchgeführt. Insbesondere wurde untersucht, wie die Schmelzmasse zum Zeitpunkt der Verlagerung vom Kern in das untere Plenum den weiteren Unfallablauf beeinflusst, wobei besonderes Augenmerk auf die Wasserstoffproduktion gelegt wird.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Abschluss des Promotionsverfahrens  
Fertigstellung des Milestone-Berichtes M24
- AP2: Mitarbeit bei Fertigstellung des Milestone-Berichtes M99

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

P. Dietrich, X. Gaus-Liu, A. Miassoedov, F. Kretschmar und A. Class, „LIVE Experiments on the In-Vessel Melt Pool Behaviour with external cooling Conditions and the Simulation Results with a coupled MELCOR-PECM Approach“, Proceedings of the 16th International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics, (NURETH-16), Chicago, USA, August 30 – September 4, 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 028F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt F: Beiträge zur Codevalidierung anhand von SWR-Daten und zur Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 29.02.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 395.320,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Sanchez Espinoza	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für die Simulation eines schweren Störfalls in einem Siedewasserreaktor soll die Validierungsbasis des Programms ATHLET-CD erweitert werden. Durch die Nachrechnung einzelner für Siedewasserreaktoren relevanter CORA und QUENCH Experimente werden insbesondere Strukturtemperaturen, Hüllrohroxidation, Wasserstofffreisetzung und Materialverlagerung untersucht. Mit Hilfe der Ergebnisse sollen entsprechende Programmverbesserungen vorgenommen werden. Durch Rechnungen für eine gesamte Anlage sollen Störfallmaßnahmen heraus gearbeitet werden, die im Falle eines schweren Unfalls mit Kernschmelze dazu beitragen können, das Fortschreiten des Unfalls aufzuhalten oder, falls dies nicht möglich ist, zumindest die Freisetzung von Radioaktivität außerhalb der Anlage abzumildern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Qualifizierung von ATHLET-CD für Siedewasserreaktoren

In diesem Arbeitspaket werden ausgewählte CORA-Versuche für Siedewasserreaktoren mit dem Programmsystem ATHLET-CD zu Validierungszwecken nachgerechnet. Hierfür ist es notwendig, die experimentellen Daten aufzubereiten und sich mit der Durchführung der Experimente zwecks der Modellbildung auseinanderzusetzen (AP1.1).

Darauf aufbauend sind die ausgewählten CORA-Experimente auf geeigneter Weise in ATHLET-CD zu repräsentieren (Inputdeck-Erstellung) und die geeigneten Modelle zur Beschreibung der physikalischen Phänomene auszuwählen (AP1.2).

Danach werden die ATHLET-CD Simulationen der SWR CORA-Experimente durchgeführt und systematisch ausgewertet, wobei der Vergleich der aufbereiteten Messdaten mit den gerechneten Daten ein wesentliches Element der Codevalidierung darstellt (AP1.3). Dabei werden Defizite in einzelnen Modellen identifiziert und Verbesserungen ausgearbeitet. *Dieses Arbeitspaket wurde abgeschlossen.*

AP2: Möglichkeiten der Kühlung eines geschädigten Kerns durch Einspeisung in den Reaktordruckbehälter

Ausgehend von einem ATHLET-Modell eines Siedewasserreaktors werden Modellanpassungen zur Nachbildung des Kerns mit ATHLET-CD-Komponenten anstatt von ATHLET-Komponenten vorgenommen. Der Inputdatensatz ist für die Analyse des Kernverhaltens, wenn ein freigelegter und aufgeheizter Kern mit kaltem Wasser wieder geflutet wird (Phänomene wie beim Kühlmittelverluststörfall) so zu erweitern, dass die Reaktorschutzaktionen zur Aktivierung der Sicherheitssysteme und die Sicherheitssysteme selbst im Datensatz berücksichtigt werden (AP2.1). Störfallsequenzen, die zu Kernschadenzuständen führen, wenn keine Wiederinbetriebnahme oder Reparatur eines Sicherheitssystems bzw. keine Störfallmanagement-Maßnahmen eingeleitet werden, sind mit ATHLET-CD zu simulieren. Dabei ist die Aufmerksamkeit auf die Untersuchung der Kühlbarkeit des teilgeschädigten Kerns durch die Kaltwasser-Einspeisung in den RDB zu richten und deren Konsequenzen für die Integrität des Reaktordruckbehälters und des Sicherheitsbehälters systematisch und umfassend zu diskutieren (AP2.2).

#### AP3: Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen

In diesem Arbeitspaket werden zuerst in enger Abstimmung mit dem Projektpartner (IKE Stuttgart) die für Siedewasserreaktoren geeigneten Störfallmaßnahmen ausgearbeitet und zusammengestellt (AP3.1), welche im AP2.2 bei den ATHLET-CD Simulationen zu berücksichtigen sind. Aufbauend auf den Erkenntnisgewinn durch die zahlreichen ATHLET-CD-Simulationen ausgewählter SWR-Störfallsequenzen werden zusammen mit den anderen Partnern Entscheidungshilfen und Empfehlungen für optimale Notfallmaßnahmen ausgearbeitet (AP3.2).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- Die Simulation für einen ausgewählten auslegungsüberschreitenden Referenzunfall mit einem kleinen Leck in der Frischdampfleitung für einen generischen deutschen Siedewasserreaktor wurde bis zum Druckbehälterversagen durchgeführt und ausgewertet.
- Aufbauend auf den Referenzfall wurden Simulationen unter Anwendung der Notfallmaßnahme „Fluten des überhitzten Kerns“ zu verschiedenen Zeitpunkten des Unfallverlaufs durchgeführt. Die zugrunde liegenden Parameter sind die Masse des geschmolzenen Kernmaterials und der Anteil des in das untere Plenum verlagerten Materials während des Zeitpunktes des Flutens.
- Aus den Ergebnissen lässt sich eine Strategie zum Fluten des Kerns als Notfallmaßnahme ableiten. Um das Versagen des Druckbehälters zu verhindern, sollte die Maßnahme einsetzen, solange kein oder nur möglichst wenig geschmolzenes Kernmaterial in das untere Plenum gelangt ist. Das Fluten ist grundsätzlich mit einer erheblichen Wasserstoffproduktion verbunden. Diese lässt sich im Wesentlichen nur durch frühes Fluten zum Beginn des Kernschmelzens reduzieren.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Abschließende Erstellung der notwendigen Berichte

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Severe accident analysis of a SB-LOCA scenario in a 72-type BWR Plant with ATHLET-CD, 21st QUENCH Workshop, 27.10. - 29.10.2015, Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, 44801 Bochum		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 028G
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt G: Simulation des Unfalls in Fukushima-Daiichi zur Bewertung von ATHLET-CD (SUBA)		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2013 bis 29.02.2016		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 321.384,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Koch

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Verbundvorhabens ist die weitergehende Modellierung der deutschen Codes ATHLET-CD und COCOSYS zur Simulation des kompletten Störfallablaufs von dem auslösenden Ereignis, über die Kernzerstörung, die Aerosolausbreitung im Containment bis hin zum Quellterm in die Umgebung. Validierungsrechnungen zu relevanten Experimenten sowie Gegenüberstellungen zu Simulationsergebnissen anderer Severe Accident Codes werden durchgeführt. Mithilfe der weiterentwickelten Störfallanalysecodes sollen die Notfallmaßnahmen während ausgewählter Störfallszenarien für deutsche Anlagen bewertet und optimiert werden. Die im Teilprojekt G (SUBA) geplanten Arbeiten unterstützen das Gesamtziel des Verbundprojekts, in dem gezielt Beiträge zur Erweiterung der Modellbasis des Codes ATHLET-CD hinsichtlich der Schmelzeverlagerung entwickelt werden sowie durch die Anwendung des Codes zur Simulation des Unfalls in Fukushima-Daiichi. Dazu wird zunächst eine Zusammenstellung und Harmonisierung der verfügbaren Analysen zu dem Unfallablauf als Grundlage zur Datensatzerstellung erarbeitet. Anhand der Analyse der Simulationsergebnisse wird die Fähigkeit des Codes zur Abbildung der Kernzerstörung überprüft und bewertet.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die von RUB durchgeführten Arbeiten im Rahmen des Teilprojekts G liefern Beiträge zum AP3.1 des Verbundprojekts WASA-BOSS und sind unterteilt in:

- AP1: Harmonisierung der Datenlage zu den Unfallabläufen in Fukushima-Daiichi.
- AP2: Datensatzerstellung und Plausibilitätsrechnungen.
- AP3: Analyse der Fukushima-Simulation.
- AP4: Bewertung der SWR-Modellbasis für Anlagenrechnungen und Weiterentwicklung der Spätphasenmodellierung.
- AP5: Erstellung des Abschlussberichts.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: Ausgewählte Simulationsergebnisse der Version ATHLET-CD 3.0A wurden in einem Beitrag zur Tagung „International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics“ veröffentlicht, in welchem die Simulationsergebnisse bzgl. der Thermohydraulik bewertet und im internationalen Teilnehmerkreis diskutiert wurde. Für die Version ATHLET-CD 3.0B wurde die GCSM-Signalstruktur des Datensatzes umfangreich gekürzt, um die Übersichtlichkeit zu erhöhen und die Handhabbarkeit zu verbessern sowie die Rechenzeit zu verkürzen. Ebenfalls wurden im Datensatz Anpassungen der Brennstoff- sowie Brennstabgeometrie in Bezug auf die Annäherung an den GE BWR 4-Reaktor durchgeführt. Um ein eventuelles Versagen des RDBs als Folge von Schmelzeverlagerung simulieren zu können, wurde der Datensatz mit dem Modell CREEPING im Bereich des unteren Plenums erweitert. Die Arbeiten in diesem Arbeitspaket wurden damit abgeschlossen und werden im Abschlussbericht dokumentiert.
- AP3: Das Anlagenverhalten wird nach der umfangreichen Kürzung des Datensatzes weiterhin konsistent und plausibel wiedergeben. Betreffend der Simulationsergebnisse des ursprünglichen Datensatzes lassen sich nur marginale Unterschiede feststellen. Mit der angenommenen Verlagerung der Schmelze in das untere Plenum beginnt sich die RDB-Wand, bedingt durch den Kontakt mit der Schmelze, aufzuheizen bis diese versagt. Es wurden verschiedene Variationsrechnungen mit den unterschiedlichen Versagenskriterien des Modells CREEPING durchgeführt um den Einfluss des Users auf den Versagenszeitpunkt zu untersuchen. Eine Variation der Einspeiseraten des Massenstroms der Feuerlöschpumpen zeigte diesbezüglich keine Auswirkung auf den Zeitpunkt des RDB-Versagens aufgrund der fehlenden Möglichkeit einen Kühlpalt im unteren Plenum abbilden zu können. Da weiterhin Unsicherheiten hinsichtlich der Einspeisesysteme vorliegen, wurde das Abschalten der HPCI-Einspeisung im Bereich von 29 h-36 h variiert. Die Simulationsergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied in Bezug auf den Zeitpunkt des RDB-Versagens, wobei in der 29 h Rechnung das Versagen im unteren Plenum zeitlich zuerst auftritt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP3: Die Simulationsergebnisse zum Verhalten der Schmelze im unteren Plenum sowie der Aufheizung und dem Versagen der Einbauten, wie den Steuerstabführungsrohren, werden analysiert.
- AP5: Erstellung des Abschlussberichts.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Bratfisch, C.; Hoffmann, M.; Koch, M.K.: First Results of the Simulation of the Fukushima-Daiichi Unit 3 Accident for an Assessment of the Applicability and Capability of the Code ATHLET-CD, Proceedings of the 16th International Topical Meeting on Nuclear Reactor Thermal Hydraulics, Chicago, Illinois, USA, August 2015.

Hoffmann, M.: Beitrag zur Modellerweiterung des Systemcodes ATHLET-CD zur Analyse des Einflusses der Kernschmelzeverlagerung auf ausgewählte Unfallszenarien, Dissertation, Fakultät für Maschinenbau, Ruhr-Universität Bochum, Selbstverlag des Lehrstuhls Energiesysteme und Energiewirtschaft, ISBN 978-3-934951-40-2, Bochum, Dezember 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenring 32, 70569 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 040A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt A: Mischnähte, Ausströmen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2014 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 541.890,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Schuler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP2: Ausströmverhalten aus einem Leck, im Einzelnen: Teststrecke und Versuchsdurchführung (AP.2.1), Messung der Leckströmung (AP2.2), Gekoppelte numerische Simulation (AP2.3), Bewertung der Messergebnisse (AP2.4)
- AP3: Berichtswesen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.1: Laborproben aus dem Bereich der Mischschweißverbindung wurden gefertigt. Das Prüfprogramm wurde planmäßig fortgesetzt.
- AP1.2: Umbaumaßnahmen an der Kreislaufführung zur Durchführung der Bauteilversuche mit Mischschweißnaht wurden durchgeführt. Die Mischschweißmodule wurden gefertigt und mit Thermoelementen instrumentiert und sind jetzt prüfbar.
- AP1.2.1: Tests an der umgebauten Kreislaufanlage wurden durchgeführt. Der angestrebte gesteigerte Kaltmassenstrom von 200 g/s konnte erreicht werden. Für den erforderlichen Dauerbetrieb haben die Tests allerdings die Notwendigkeit weiterer (unplanmäßiger) Umbaumaßnahmen gezeigt. Diese betreffen in erster Linie die Heizungsanlage.
- AP1.2.2: siehe IKE.
- AP1.2.3: noch nicht begonnen.
- AP2.1: Die Konstruktionspläne für das Leckmodul mit den variabel gestaltbaren Leckblenden wurden erstellt. Die Fertigung der benötigten Bauteile läuft und erste Teile stehen bereits zur Verfügung. Versuche mittels Laserschneiden definierte Spalte in die vorgesehenen Leckblenden einzubringen sind durchgeführt. Die angestrebten Spaltweiten können in Verbindung mit der vorgesehenen Wandstärke durch ein Laserverfahren nicht erreicht werden. Bauteile für einen Kleinversuchsstand für Voruntersuchungen zur Bewertung und Auswahl geeigneter Leckblenden sind in der Fertigung.
- AP2.2: siehe IKE.
- AP2.4: noch nicht begonnen.
- AP3: noch nicht begonnen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.1: Fortsetzung der Ermüdungsversuche gemäß Prüfplan.
- AP1.2: Umsetzung der unplanmäßigen Umbaumaßnahmen und Ertüchtigung des Versuchskreislaufs für den Dauerbetrieb. Durchführung von Bauteilermüdungsversuchen an Modulen mit Mischschweißnaht.
- AP2.1: Fertigung weiterer Varianten von Leckblenden und Voruntersuchungen zum Ausströmverhalten zur Festlegung geeigneter Blendengeometrien für das Leckmodul des FSI Versuchskreislaufs. Erstellung eines Konzepts zur Einbringung eines realen Risses (z. B. Ermüdungsriss) in einer Rissblende für das Leckagemodul. Fertigstellung des Kleinversuchsstands zur Durchführung der erforderlichen Vorversuche, einschließlich der hierfür erforderlichen Messeinrichtung zur Erfassung der Untersuchungsgrößen (Druck, Temperatur, Leckagemassenstrom).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Stuttgart, Keplerstr.7, 70174 Stuttgart		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 040B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt B: Numerische Simulation turbulenter Strömung		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2014 bis 30.09.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 840.216,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Laurien	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Des Weiteren sollen rissartige Lecköffnungen in die Rohrwand kontrolliert eingebracht und Leckströmungen sowie deren Umgebung bei unterschiedlichen Temperaturen, Drücken und Strömungsbedingungen vermessen werden.

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundprojekt ist in 2 Arbeitspakete (AP) unterteilt:

AP1: Untersuchungen Mischschweißnaht  
 AP1.2: Strömungstechnische Untersuchungen  
 AP1.3: Gekoppelte numerische Simulation

AP2: Untersuchungen zum Ausströmverhalten aus einem Leck  
 AP2.2: Messung der Leckströmung  
 AP2.3: Gekoppelte numerische Simulation  
 AP2.4: Bewertung der Messergebnisse

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Für die strömungstechnischen Untersuchungen des turbulenten Geschwindigkeitsfelds wird das PIV-Verfahren (PIV: Particle-Image Velocimetric) für Strömungen mit Temperaturfluktuationen bis zu 20 K optimiert. Der optische Zugang erfolgt über Sichtfenster, welche vertikal und horizontal an einer druckbeaufschlagten Kammer, die ein glasförmiges Segment des Versuchskreislaufs umschließt, angebracht sind (optische Module). Die von thermischen Fluktuationen im optischen Modul bzw. in der Mischzone hervorgerufenen optischen Störungen sollen durch ein digitales Kompensationsverfahren (BOS-Background-Oriented Schlieren) eliminiert werden, welches derzeit am IKE-Versuchsstand getestet wird. Bei dieser Methode werden die momentanen Verschiebungsvektoren aufgrund der optischen Störung zeitabhängig ermittelt und als Korrektur für das Geschwindigkeitsfeld verwendet.
- Zu Aufbrechen der Temperaturschichtung im Hauptstrang der FSI-Anlage in den strömungstechnischen Untersuchungen werden statische Mischer in der Rohrleitung eingebaut. Die Mischfähigkeiten der ausgewählten Mischer-Varianten sind am IKE isothermen Versuchsstand untersucht. Die Temperaturschichtung in der FSI-Anlage ist durch Zuckerrösung simuliert und mit Fluoreszenz-Farbstoff visualisiert. Der Druckverlust in der Rohrleitung wegen des Mixers ist aufgenommen. In dieser Untersuchung zeigt der Propeller-Mischer eine bessere Mischfähigkeit und einen niedrigeren Druckverlust. Nach diesem Ergebnis werden 4 Stücke von dem Propeller-Mischer in der Rohrleitung der FSI-Anlage an unterschiedlichen Stellen eingebaut.
- AP2: Die Teilebeschaffung für den IKE-Versuchsstand ist weitgehend abgeschlossen. Die Messstrecke wurde an das Konzept zur Messung des Leckmassenstroms an der FSI-Versuchsanlage angepasst, um an beiden Versuchsständen dieselben Leckplatten verwenden zu können. Die Konstruktion des Verschlusses der Leckstelle während der Aufheizphase wurde abgeschlossen. Mit Hilfe eines Schubstangenspanners wird ein Stempel, der mit einer Flachdichtung versehen ist, auf die Leckstelle gepresst. Das Messkonzept zur Bestimmung der Fluidbedingungen im Stagnationsvolumen wurde erstellt. Durch piezoresistive Druckaufnehmer und Thermoelemente werden Druck und Temperatur der Rohrströmung in einer Ebene sowohl stromauf als auch stromab der Leckstelle bestimmt, welche als Randbedingungen für die numerische Simulation dienen. Das Konzept des Versuchsstands erlaubt zusätzlich eine visuelle Betrachtung der Leckströmung auf der Innenseite der Leckplatte durch ein Endoskop und auf der Außenseite durch eine Hochgeschwindigkeits- und eine Wärmebildkamera.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Im nächsten Schritt werden die BOS- und PIV-Messungen an der FSI-Anlage zur Bestimmung der Einlaufbedingungen eingesetzt. Dafür benötigt man die beiden optischen Module zu reinigen und deren Dichtungen zu wechseln. Ein Mischschweißnahtmodul wird mit den Mikro-Thermoelementen auf 7 Messebenen instrumentiert. Die strömungstechnische Untersuchung auf Mischschweißnahtmodul wird an der FSI-Anlage durchgeführt.
- AP2: Nach Fertigung der Messstrecke wird diese in den IKE-Versuchsstand integriert und mit der Messtechnik versehen. Es werden sowohl einphasige Messungen zur Bestimmung des Strömungswiderstands im Leckkanal als auch zweiphasige Messungen in Abhängigkeit der Unterkühlung des Fluids durchgeführt. Das Messkonzept wird in modifizierter Form auf die FSI-Versuchsanlage übertragen. Die Messergebnisse werden als Randbedingungen für die numerische Simulation verwendet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.009.512,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hurtado	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, gesicherte Kenntnisse über das Verhalten und die Wärmetransportprozesse von passiven Systemen zu erhalten. Für experimentelle Untersuchungen ist an der TUD die Versuchsanlage GENEVA errichtet worden. Sie bildet ein passives Nachzerfallswärmeabfuhrsystem ab. An der Anlage werden die Wärmeübertragungsprozesse Kondensation an und Verdampfung in leicht geneigten Rohren messtechnisch vertieft untersucht. Anhand der erzielten Ergebnisse werden die im Systemcode ATHLET vorhandenen Modelle für passive Systeme validiert und gegebenenfalls ertüchtigt. Des Weiteren sind 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.

## 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)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Einarbeitung in die Thematik passiver Wärmetransportsysteme und die Erarbeitungen von Kenntnissen zur Zweiphasenströmung und Kondensation bei geneigten Rohren sowie von Kenntnissen zur Stabilität von Naturumlaufsystemen wurde begonnen. Darüber hinaus sind die Grundlagen und die Handhabung des Systemcodes ATHLET und der dort hinterlegten Modelle erarbeitet worden. Zugehörig zur Erarbeitung des aktuellen Kenntnisstands wurde begonnen, die bisherigen Experimente an der GENEVA zu analysieren.
- AP2: Im Hinblick auf die zu entwickelnden Modelle ist die Instrumentierung der GENEVA diskutiert worden. Darauf aufbauend ist ein Instrumentierungsplan unter Berücksichtigung der bereits vorhandenen Messsysteme festgelegt worden. Ausgehend von dem Instrumentierungsplan wurde begonnen, die erforderliche Instrumentierung für die geplanten Experimente zu beschaffen. Dazu zählen die Gasgehaltssonden, das optische Messsystem zur Ausmessung der Kondensattropfengröße/Kondensatfilmdicke und ein Mess- und Steuerrechner.
- AP3: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 07/2016 bis 03/2018)
- AP4: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 04/2016 bis 06/2018)
- AP5: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 10/2017 bis 12/2018)

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Literaturstudium und Festlegung von Szenarien
- Fortsetzung und Auswertung des Literaturstudiums zu Naturumlaufstabilitäten
  - Fortsetzung des Literaturstudiums zu Zweiphasenströmungen (Teilnahme am „Short Course on Multiphase Flow“ zur Vertiefung der Kenntnisse und zum Austausch aktueller Forschungsprojekte sowie neuer Erkenntnisse auf diesem Gebiet)
  - Fortsetzung der Analyse der bisherigen GENEVA-Experimente
  - Erarbeitung der Experimentiermatrix und Festlegung von Parametern und Szenarien (in Zusammenarbeit mit allen Projektpartnern)
- AP2: Instrumentierung der Versuchsanlage und Erprobungsphase
- Weiterführung der Beschaffung der Messtechnik
  - Umbau der GENEVA für die Erweiterung der Instrumentierung
  - Einbau und Erprobung der Erweiterung der Messtechnik
  - Entwicklung und Erprobung der Methode zur Kondensatmassebestimmung
- AP3: Durchführung von Experimenten und Auswertung der Daten
- Durchführung von Experimenten zum Wärmeübergang am Verdampferrohr (Einzelrohr)
- AP4: Modellentwicklung und Weiterentwicklung RAM/ROM
- Weiterentwicklung der RAM/ROM-Methode für Naturumlaufsysteme

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 787.100,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, **HZDR**, 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: Zur Intensivierung der thermohydraulischen Vorgänge im passiven Nachzerfallswärmeabfuhrkonzept des KERENA Siedewasserreaktors wurde ein umfangreiches Literaturstudium begonnen, welches über den gesamten Projektzeitraum weitergeführt werden wird. Zudem wurde die Versuchsanlage GENEVA des WKET, welche thermohydraulische Analysen am Gebäudekondensator (als Teil des passiven Wärmeabfuhrkonzepts) ermöglicht, durch Herrn Dr. Schuster (TU Dresden) vorgestellt.

Es wurde ein Literaturüberblick zur Modellierung der Vorgänge in passiven Systemen zur Nachzerfallswärmeabfuhr erstellt. Der bisherige Entwicklungsstand des CFD-GENTOP Konzeptes sowie des CFD-AIAD-Konzeptes wurde detailliert studiert. Eine adiabatische Variante wurde an die geometrischen Bedingungen der Kondensation in horizontalen Rohren angepasst. Für das horizontale Rohr wurde eine Simulation mit Sieden durchgeführt

- AP2: Für Bereitstellung von experimentellen Daten zur Kondensatfilmentwicklung im geneigten Rohr (Notkondensator als weiterer Teil des passiven Wärmeabfuhrkonzepts) wurden sowohl der thermohydraulische Versuchsstand COSMEA als auch die zum Einsatz kommenden Messsysteme kritisch geprüft und mit der Weiterentwicklung begonnen. Für den Betrieb der Versuchsanlage wird aktuell der benötigte Dampfkessel verbessert und die Instrumentierung der Anlage erweitert. Durch vier zusätzliche Temperaturmessstellen am Kühlwasseraustritt und zwei zusätzlichen Temperaturmessstellen am Austritt des Kondensats (Gerinne-Strömung) verbessert sich die Prozesskontrolle und es kann eine genauere Energiebilanzierung durchgeführt werden, welche unabdingbar für die Validierung vorhandener und neuer Simulationsmodelle ist. Weiterhin wurde das Datenaufnahmekonzept der konventionellen Röntgen-CT analysiert und Verbesserungen herausgearbeitet, welche eine Hardware-Rekonfiguration und Sensorzusatzinstallationen nötig machte. Diese Arbeiten dauern bis dato an. Für den Betrieb der ultraschnellen Röntgentomographie wurde zum einen ein Konzept für einen Mehrebenen-detektor entwickelt und zum anderen damit begonnen, ein Datenmanagement für externe Zugriffe (vor allem der Projektpartner, aber auch für zukünftige Validierungen) vorzubereiten. Da für die ultraschnelle Röntgentomographie das innenliegende Wärmeaustauschrohr aus einer maximal 1-2 mm dicken Titanwandstärke bestehen darf (Durchstrahlungsfähigkeit der Röntgenstrahlung), wird aktuell noch ein umsetzbares bzw. vertretbares Konzept (bzgl. Messunsicherheiten) zur Installation der Wärmestromsonden diskutiert.
- AP3: Für die Auswertung der in AP2 gewonnenen Messdaten wurden/werden Algorithmen auf Basis von Mehr-Kern CPUs und GPUs erstellt, so dass eine zeitnahe qualitative Einschätzung der Messdatengüte vorgenommen und so die zusätzlich gewonnene Messzeit für weitere Messpunkte genutzt werden kann.

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

- AP2: Die Machbarkeitsstudie zur Installation von Wärmestromsonden in der Titanrohrwand wird voraussichtlich bis Ende März 2016 abgeschlossen sein. Der Umbau der konventionellen Röntgentomographie wird ebenfalls Ende März 2016 abgeschlossen sein, so dass im 2. Quartal 2016 entsprechende Testmessungen durchgeführt werden können. Weiterhin wird in den kommenden 6 Monaten die Teststrecke (geneigtes Rohr) und der Dampfkessel wieder in Betrieb genommen werden, so dass die Messungen wie geplant im 2. Jahr des Projektes durchgeführt werden können.
- AP4: Die notwendigen CFD-Modellerweiterungen für die Einbeziehung von Wärme- und Stoffübergang werden identifiziert und in den CFD-Code CFX implementiert.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> AREVA GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 320.607,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Walther

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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**

In dieser ersten Projektphase ist die Abstimmung zwischen den Verbundpartnern ein wichtiger Bestandteil.

AREVA bringt die aus der Entwicklung passiver Systeme und den durchgeführten Experimenten gewonnenen Erfahrungen sowie das Know-how in Bezug auf Störfallszenarien für Kernkraftwerke ein, und steht hier in engem Kontakt mit den Verbundpartnern.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

AREVA wird bei der Festlegung von Szenarien, der Erarbeitung der messtechnischen Verfahren, der notwendigen Teststandmodifikationen und des Instrumentierungskonzeptes mitarbeiten, um eine entsprechende spätere Validierung zu gewährleisten. AREVA steht hier in erster Linie den Verbundpartnern unterstützend zur Verfügung.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Hochschule Deggendorf, Edlmairstr. 6+8, 94469 Deggendorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und Dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 308.568,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Leyer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Rahmen des PANAS Teilprojektes D werden statische und transiente Wärmeübertragungsvorgänge zwischen den beiden Phasen einer Zweiphasen-Wasser-Dampf-Strömung sowie zwischen den beiden Phasen und den Wärmeüberträger-Strukturen untersucht. 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 Fluidodynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

- AP1: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen
- AP2: Theoretische Ableitung von Zeitkonstanten aus kinetischen Theorien
- AP3: Auswertung der Messergebnisse im Hinblick auf Zweiphasenströmungs-Instabilitäten und transienten Zeitkonstanten. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch statischer und thermisch dynamischer Kopplungen
- AP4: Entwicklung von Modellen zur Beschreibung dynamischer thermischer Kopplungen
- AP5: Beurteilung der Implementierbarkeit von zeitabhängigen Wärmeübergangs-Mechanismen in bestehende Programm-Strukturen

Zum jetzigen Zeitpunkt sollte das AP1 (Literaturstudie) abgeschlossen sein und die Arbeiten des AP2 (Zeitkonstante) begonnen worden sein.

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

Wie unter Punkt 9 genauer beschrieben konnte die Promotion- Stelle des Projektes erst zum 15.02.2016 besetzt werden. Daher sind nur geringe Fortschritte im Projekt erzielt worden. Dazu gehören Abstimmungsgespräche des fachlichen Betreuers des Projektes, Herrn Prof. Leyer von der Universität Luxemburg, mit den Verantwortlichen der Teststände an der Technischen Universität Dresden und dem Forschungszentrum Dresden-Rossendorf. Dabei wurden die Randbedingungen der zu fahrenden Versuche erörtert und die Instrumentierung der Teststände diskutiert. Weitere Abstimmungs-Gespräche mit den Teststand-Verantwortlichen sind für die 2. Februarhälfte 2016 geplant. Gemäß Terminplan sind für die ersten Monate im Wesentlichen Literaturrecherchen zu Kondensations- und Verdampfungs-Phänomenen geplant. Diese Arbeiten wurden von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Herrn Leyer begonnen um den Doktorranden einen möglichst schnellen Einstieg in das Projekt zu ermöglichen. Durch diese Maßnahmen wird der bisher akkumulierte Zeitverzug im Projekt auf ca. 5 Monate geschätzt.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Nachdem der Kandidat seine Arbeit aufgenommen hat wird er die begonnene Literaturstudie vervollständigen. Im Rahmen von Meetings mit den Teststands-Verantwortlichen der Technischen Universität Dresden und dem Forschungszentrum Dresden-Rossendorf wird die Versuchsplanung und Instrumentierung der Teststände im Hinblick auf die Randbedingungen des Teilprojektes D angepasst. Zeitnah ist auch ein ATHLET-Einführungskurs für den Kandidaten geplant.

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

Keine.



## **2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 30.09.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 30.09.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 572.947,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schäfer	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es einen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls zu leisten. In diesem Kontext wollen wir ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der Wechselwirkung von Actiniden und Spaltprodukten mit endlagerrelevanten Mineralen bzw. Mineraloberflächen erlangen, um so Retentionsmechanismen auf langen Zeitskalen zu verstehen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Innerhalb des Gesamtprojekts sind folgende Arbeitspakete vorgesehen:

- APA: Dreiwertige Actinide Pu, Am, Cm (Einbau in und Wechselwirkung mit Phosphaten, Carbonaten, Eisen(hydr)oxiden)
- APB: Vierwertige Actiniden Th, U, Np, Pu (Einbau in und Wechselwirkung mit Silicaten, Sulfaten, Carbonaten, Phosphaten, Sulfiden, Eisen(hydr)oxiden, LDH-Phasen)
- APC: Radium und Spaltprodukte Se(IV), Se(VI), Tc (Einbau in und Wechselwirkung mit Sulfaten, Sulfiden, LDH Phasen, Carbonaten)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Arbeiten zum Teilprojekt werden im Wesentlichen von drei Personen durchgeführt.

- 1) Herr Sascha Hofmann hat seine Doktorarbeit am 1. Juni 2012 am KIT-INE angefangen und zum 21. Oktober 2015 erfolgreich verteidigt.
- 2) Frau Rodríguez Galán hat ihre PhD- Stelle am 15.07.2012 angetreten, delegiert an die Universität Oviedo.
- 3) Frau Dr. Rojo Sanz hat ihre Postdoc Stelle am 1.08.2012 angetreten und wurde an das PSI-LES delegiert.

Durch die verspäteten Eintrittsdaten der Mitarbeiterinnen verzögerten sich die Arbeiten um ca. 6 Monate.

APA: Status: Experimentelle Arbeiten (TRLFS, AFM, CTR & RAXR) abgeschlossen, Ergebnisse ausgewertet. Veröffentlichung zur Y-Sorption an Calcit in An- und Abwesenheit von  $\text{NaNO}_3$  bei Angew. Chem. eingereicht und die Dissertation am 21.10.2015 erfolgreich verteidigt.

APB: Status: Thermodynamische Testrechnungen ergaben, dass ein Einbau vierwertiger Actiniden in Calcit nicht zu erwarten ist. Daher wurden die Arbeiten zu An(IV) in Calcit zugunsten vertiefter Arbeiten im An(III) Calcit System eingestellt.

APC: Status:

Die Blei Sorption aus wässriger Lösung an Baryt und Celestin und  $(\text{Ba,Sr})\text{SO}_4$  Solid Solutions verschiedener Zusammensetzung wurde untersucht. Eine Veröffentlichung zu den experimentellen Arbeiten ist in Arbeit.

Die Arbeiten zur Rückhaltung von Selen an C-S-H Phasen unter oxidierenden und reduzierenden Bedingungen sind abgeschlossen. Zwei Publikationen zur Se(IV)- und Se(-II)- Sorption sind kurz vor der Einreichung bei peer-review Journalen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

APA & B: Veröffentlichungen der experimentellen Daten.

APC: Publikation des thermodynamisches Modell für die ternäre  $(\text{Pb, Ba, Sr})\text{SO}_4$  Solid Solution.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Der Abschlussbericht wird zurzeit verfasst und folgende Publikationen sind im 2. Halbjahr 2015 hinzugekommen bzw. geplant.

Peer-reviewed publiziert bzw. eingereicht:

Arroyo-de Dompablo, M. E.; Fernandez-Gonzalez, M. A.; Fernandez-Diaz, L., Computational investigation of the influence of tetrahedral oxoanions (sulphate, selenate and chromate) on the stability of calcium carbonate polymorphs. RSC Advances 2015, 5, (74), 59845-59852.

Jimenez, A.; Prieto, M., Thermal Stability of Ettringite Exposed to Atmosphere: Implications for the Uptake of Harmful Ions by Cement. Environ. Sci. Technol. 2015, 49, (13), 7957-7964.

Hofmann, S. et al. (submitted) Y-Sorption on calcite in presence and absence of  $\text{NaNO}_3$  Angew. Chem.

Peer-reviewed geplant:

A. L. Letellier, Á. Fernández-González, A. Jiménez “Influencia del Se (IV) en el polimorfismo de  $\text{CaCO}_3$ ” Macla 19 (in prep.).

R.M. Rodríguez-Galán, J. Carneiro and M. Prieto. “Uptake of  $\text{Pb}^{2+}(\text{aq})$  by baryte-celestine solid-solution crystals: implications for the uptake of  $\text{Ra}^{2+}$ ” (in prep.)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 30.09.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 30.09.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 263.424,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Neumann	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des ImmoRad-Vorhabens ist es, einen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls zu leisten. In diesem Kontext wollen wir ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der Wechselwirkung von Actiniden und Spaltprodukten mit endlagerrelevanten Mineralen bzw. Mineraloberflächen erlangen, um so Retentionsmechanismen auf langen Zeitskalen zu verstehen. Konkret sollen die strukturellen, physikalischen und thermodynamischen Eigenschaften von endlagerrelevanten Verbindungen experimentell charakterisiert werden. Diese Arbeiten sind zwingend notwendig, um dann thermodynamische Modellrechnungen durchführen zu können, die wiederum die unverzichtbare Grundlage für eine Vorhersage des Langzeitretentionsverhaltens für Radionuklide bilden.

Das Ziel dieses Teilprojektes ist es, die Rolle von Eisensulfiden bei der Immobilisierung des Radionuklids Selen zu charakterisieren. Im Speziellen soll die Stabilität von Se-dotierten Eisensulfiden unter variablen Eh/pH-Bedingungen untersucht werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst die Synthese der Selen-dotierten Eisensulfide in Abhängigkeit unterschiedlicher Bildungsmechanismen (spontane Präzipitation, Kristallwachstum). Die Konzentration und Speziation von Se in den Eisensulfiden wird mit Synchrotronmethoden untersucht. In einer elektrochemischen Zelle werden die Sulfide variablen Eh/pH-Bedingungen ausgesetzt, die realistischen Szenarien bei der Migration aus anoxischen Porenwässern des Opalinustons in oxische Grundwässer widerspiegeln.

Aus dem Vergleich der Konzentration und Speziation von Selen in den Sulfiden vor und nach dem Experiment und in neugebildeten oxidierten Eisenphasen (Oxide/Hydroxide) können Erkenntnisse über die Stabilität in den Eisensulfiden gewonnen werden. Insgesamt werden die Untersuchungen ein besseres Verständnis über das Retentionsvermögen von Eisenphasen gegenüber radiogenem Selen im Bereich von Endlagern ermöglichen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zweiten Halbjahr 2015 wurden die Ergebnisse aller Kalorimetrie-Messungen gesammelt und ausgewertet. Mit Hilfe dieser Untersuchungen erlangt man Informationen über die Unterschiede

der Wärmekapazitäten von oxidationsfreien Proben zu Proben, die einer Oxidation unterzogen wurden. Nach Auswertung der Messungen sind minimal erhöhte Wärmekapazitäten der oxidierten Proben festgestellt worden, sowohl bei den synthetisch hergestellten Pyriten als auch bei den synthetischen Selen-dotierten Pyriten.

Die Proben des Pyrit-Synthese-Versuchs wurden auch Struktur-Verfeinerungen anhand bereits aufgenommener Diffraktogramme unterzogen. Durch die Veränderung des Gitterparameters ist ein deutlicher Trend aufgrund der Menge des eingebauten Selen auszumachen. Jede Erhöhung dieser Menge bewirkte eine Vergrößerung des Gitterparameters und bestätigt weiterhin den erfolgreichen Einbau in die Gitterstruktur des Pyrits.

Des Weiteren wurde die aus den bisherigen Studien abgeleiteten Modelle zur Wechselwirkung zwischen Se-Oxyanionen und Eisenoxid-Mineralen (Hämatit und Magnetit) durch zusätzliche Untersuchungen überprüft und ergänzt, die größtenteils im Rahmen eines Forschungs-aufenthalts an der Universität Manchester durchgeführt wurden. Dabei handelte es sich einerseits um eine Untersuchung zur Stabilität der Se-Retention während des Okklusionsvorgangs in die Hämatit-Struktur sowie um eine detaillierte Analyse der im Se-Magnetit-System auftretenden Redoxprozesse mittels Transmissionselektronenmikroskop (TEM). Die Ergebnisse konnten die bisherigen Annahmen bestätigen, wonach sich der Retentionsmechanismus von Se-Oxyanionen in einem aquatischen Fe-O-Se-System in Abhängigkeit zu den vorherrschenden Redox-Bedingungen ausbildet. Während die Immobilisierung von Se unter oxischen Bedingungen ausschließlich über Adsorptions- und Okklusionsprozesse erfolgt, findet unter initial anoxischen Bedingungen eine reduktions-induzierte Präzipitation von Se-Mineralphasen (FeSe oder Se<sup>0</sup>) statt, die eine dauerhafte Retention von Selen ermöglicht.

Im August 2015 wurden die Themen auf der Goldschmidt Konferenz 2015 in Prag, Tschechien, einem internationalen Fachpublikum präsentiert.

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

Die Ergebnisse der Arbeiten werden zusammengetragen und anschließend veröffentlicht und bilden die Grundlage für die Dissertationsschriften von Herrn Börsig und Herrn Potsch.

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

BÖRSIG, N., POTSCHE, S., DIENER, A., NEUMANN, T. (2012) Incorporation and stability of Se doted iron minerals (Poster). Selen Workshop 2012, KIT-IMG

POTSCHE, S., BÖRSIG, N., NEUMANN, T. (2013) Selenium incorporation in pyrite and hematite (Poster). DMG, Joint Annual Meeting, Tübingen

BÖRSIG, N., NEUMANN, T. (2014) Selenium Fixation by Adsorption and Co-precipitation during the Formation of Hematite (Presentation). Goldschmidt Conference 2014

POTSCHE, S., NEUMANN, T. (2014) Incorporation of Dissolved Selenium during Fast Precipitation of Pyrite: Efficiency and Morphological Features (Presentation). Goldschmidt Conference 2014

POTSCHE, S., NEUMANN, T. (2014) Efficiency of the selenium retention by incorporation in pyrite during fast precipitation (Presentation). Selen Workshop 2014, KIT-IMG

BÖRSIG, N., NEUMANN, T. (2014) Retention of selenium by hematite and magnetite during the mineral formation (Presentation). Selen Workshop 2014, KIT-IMG

POTSCHE, S., NEUMANN, T. (2015) Stability of selenium-doted pyrite under variable hydrochemical conditions (Poster). Goldschmidt Conference 2015

BÖRSIG, N., NEUMANN, T. (2015) Retention of selenite and selenate during the formation of magnetite (Poster). Goldschmidt Conference 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 30.09.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 30.09.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 243.568,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Bosbach	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, einen Beitrag zur sicheren Endlagerung von hochradioaktivem Abfall zu leisten. Ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der Wechselwirkung von Actiniden und Spaltprodukten mit endlagerrelevanten Mineralen bzw. Mineraloberflächen soll erarbeitet werden. Schwerpunktmäßig wird dabei untersucht, in wie weit vierwertige Actinide und zweiwertiges Radium durch Mischkristallbildung ihr Mobilitätsverhalten verändern. Durch die Verknüpfung der experimentell gewonnenen Daten mit atomistischen Modellrechnungen sollen dann thermodynamische Modelle entwickelt werden, mit denen das Verhalten dieser Radionuklide für sehr lange Zeiträume vorhergesagt werden können.

Folgende Teilziele wurden definiert:

- Quantenmechanische Berechnungen zur Substitution von zwei  $\text{Ca}^{2+}$  Ionen durch  $\text{Na}^+$  und  $\text{Eu}^{3+}$  in Carbonat, als auch in Phosphatverbindungen.
- Synthese, Charakterisierung und thermodynamische Beschreibung von phosphat- und silikathaltigen Mischkristallreihen mit tetravalenten Actiniden und dem homologen tetravalenten Element Zr.
- Synthese, Charakterisierung und thermodynamische Beschreibung von Sr/Ba/Ra-Sulfat Mischkristallreihen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Literaturstudie zu den angesprochenen Mischkristallreihen  
 AP2: Synthese der Mischkristallreihen  
 AP3, 4, 5: Charakterisierung, Strukturaufklärung und kalorimetrische Messungen  
 AP6: Modellierungen  
 AP7: Ergebnisdokumentation

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP2: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP3, 4, 5: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP6: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP7: Erstellen des Abschlussberichtes.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP2: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP3, 4, 5: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP6: Arbeiten sind abgeschlossen.
- AP7: Erstellen des Abschlussberichtes.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

In Vorbereitung:

ANIONS DEPENDENT STRUCTURAL EVOLUTION IN  $A_2Th(B^V O_4)_2$  (A= Li, Na, K, Rb, Cs; B = P and As) FAMILY

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 30.09.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 30.09.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 400.943,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Scheinost	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im vorliegenden Verbundprojekt wird ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der Wechselwirkung von Actiniden und Spaltprodukten mit endlagerrelevanten Mineralen bzw. Mineraloberflächen erlangt, um so Retentionsmechanismen auf langen Zeitskalen zu verstehen und einen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls zu leisten.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- A) Mögliche Inkorporation von Pu(III) in Magnetit und ein Fe-Carbonat (Siderit oder Chukanovit), basierend auf der langfristigen Equilibrierung (2 Jahre) von Pu(III) und Pu(V) mit diesen Mineralen, im Vergleich zu frisch gefällten Pu(III)/Fe(II)/Fe(III)/Carbonat Kopräzipitaten. Die Struktur und Oxidationsstufe der mit der Festphase assoziierten Pu-Spezies wird spektroskopisch (XAFS) untersucht und die Lösungsbedingungen (Eh, pH, gelöste Ionen) werden erfasst, um Stabilitätskonstanten der Pu(III)-Sorptionskomplexe und Festphasen zu bestimmen. Zwei entsprechende Proben, die seit Anfang 2010 equilibriert werden, ermöglichen auch Zeitskalen jenseits von 2 Jahren.
- B) Reduktive Reaktion von Np(V) mit Mackinawit (FeS) und Magnetit. Die Reaktionsprodukte werden mit Np(IV)/Fe(II)/S(-II) und Np(IV)/Fe(II)/Fe(III)/O(-II) Kopräzipitaten verglichen. Durch die Reaktion mit Mackinawit kann auch die bisher vorwiegend bei tieferen Redoxstufen beobachtete Sulfidkoordination von Np(IV) verifiziert werden. Untersuchung der möglichen Inkorporation von Np(IV) durch die Fe(II)-Carbonate Siderit oder Chukanovit, sowohl im Langzeit-Sorptionsexperiment (2 Jahre) als auch an Actinid/Fe(II)/Karbonat Kopräzipitaten. Wie oben werden die Struktur und Oxidationsstufe der mit der Festphase assoziierten Np-Spezies spektroskopisch (XAFS, eventuell auch XPS) untersucht und die Lösungsbedingungen (Eh, pH, gelöste Ionen) werden sorgfältig erfasst, um Stabilitätskonstanten der Sorptionskomplexe und Festphasen zu bestimmen.
- C) Das IRE wird die von PSI-LEG hergestellten „solid solutions“ zwischen Se(IV/VI) und LDH und Tc(VII) und LDH sowie die von KIT-IMG hergestellten „solid solutions“ zwischen Se und Eisensulfiden mittels der eigenen XAFS-Beamline ROBL auf Oxidationsstufen und Nahordnung untersuchen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Bearbeitung des Programmpaketes B-3 (Np-Siderit-System, Np-Magnetit-System + Np-Mackinawit-System)

Np/Siderit-System:

Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der Np-Siderite-Suspension verifizierten die vermutete Bildung von Np-Partikeln. Die Aufnahmen zeigten deutlich, dass es sich dabei um Nanopartikel handelt, die nicht mit der Feststoffoberfläche des Siderits assoziiert sind. Die Größe der Nanopartikel liegt im Bereich zwischen 2 und 10 nm, wie es bereits für typische Np-Nanopartikel in der Literatur beschrieben wurde. Eine anschließende Elektronenbeugungsmessung ergab durch einen Vergleich mit dem Beugungsmuster aus Datenbank, dass es sich eindeutig um eine reine nanopartikuläre  $\text{NpO}_2$ -Phase handelt, deren Kristallisationsgrad noch unvollständig ist.

Np/Magnetit-System:

Die Analyse der infrarotspektroskopischen Messungen zeigte, dass es im ersten Interaktionsschritt (der Np(V)-Sorption an Magnetite) zur Ausbildung eines innersphärischen Np(V)-Oberflächenkomplexes kommt. Dieser wurde bereits für andere Fe-Mineralphasen beschrieben. Die neuauftretenden Oberflächenspezies bei pH-Werten von größer als 10, resultiert aus der Veränderung der aquatischen Np(V)-Speziation. Bei diesen pH-Werten bilden sich verschiedenste Np(V)-Hydroxo-Spezies, welche sicherlich die Ausbildung anders strukturierter Oberflächenkomplexe zur Folge hat. Auch dies wurde bereits in anderen Fe-Mineralssystemen festgestellt, aber eine strukturelle Untersuchung mittels Röntgenabsorptionsspektroskopie ist noch nicht erfolgt.

Bearbeitung des Programmpaketes C

Die Messungen sind abgeschlossen, ebenso die Auswertung der XAFS-Daten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Programmpaket A:

- Erarbeitung einer Publikation der Pu-Magnetit-Kopräzipitationsdaten

Programmpaket B:

- Erarbeitung von Publikationen zu den betrachteten Np-Mineralphasen-Systemen

Programmpaket C:

- Eine Publikation zum Se(-II)-AFm-System ist kurz vor dem Einreichen. Die Publikation zum Se(IV)-AFm-System ist in Arbeit.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Biogeochemical Redox Processes and Radiocontaminants, A. C. Scheinost (HZDR), M. Zavarin (LLNL), K. Morris (Univ. Manchester), M. Marques Fernandes (PSI), Organisation und Leitung der Session 13e bei Goldschmidt 2015, 16.-21.08.2015, Prag, Tschechische Republik, mit 10 Vorträgen und 12 Postern

Neptunium Redox Reactions at the Iron Mineral – Water Interface, R. Steudtner, R. Hübner, K. Müller, S. Weiss, A. C. Scheinost, Vortrag bei Goldschmidt 2015, 16.-21.08.2015, Prag, Tschechische Republik

Redox transformations and the disposal of radioactive waste: Influence on Se immobilization, E. Wieland, H. Rojo, A.C. Scheinost, B. Lothenbach, J. Tits, Eingeladener Vortrag bei Goldschmidt 2015, 16.-21.08.2015, Prag, Tschechische Republik

Neptunium Reactions at the Iron Mineral – Water Interface, R. Steudtner, K. Müller, R. Hübner, N. Huittinen, F. Bok, A. Rossberg, S. Weiss, A. C. Scheinost, Vortrag bei GDCh-Wissenschaftsforum 2015, Jahrestagung Fachgruppe Nuklearchemie, 30.08. – 02.09.2015, Dresden, Germany

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Grüneburgplatz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 30.09.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 30.09.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 268.598,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Winkler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, einen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls zu leisten. In diesem Kontext soll ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der Wechselwirkung von Actiniden und Spaltprodukten mit endlagerrelevanten Mineralen bzw. Mineraloberflächen erlangt werden, um so Retentionsmechanismen auf langen Zeitskalen zu verstehen. Das Frankfurter Teilprojekt trägt zum Gesamtziel bei in dem (a) thermodynamische Modellrechnungen auf Basis von DFT-Rechnungen durchgeführt werden sollen, (b) thermodynamische Größen von Mischkristallen mit Mikrokolorimetrie experimentell bestimmt werden sollen und (c) die experimentelle Bestimmung von Gitterschwingungen mit Mikro-Ramanspektroskopie genutzt werden soll, um die atomistischen Modellrechnungen zu validieren.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Zum Themenbereich A (Dreiwertige Actinide: Einbau von Pu, Am und Cm in Phosphate, Carbonate und Eisen(hydr)oxide) sollen in dem hier beantragten Teilprojekt theoretischen Untersuchungen zum Einbau von Cm(III) in Calcit durchgeführt werden.

Zum Themenbereich B (Vierwertige Actinide: Einbau von Th, U, Np und Pu in Silikate, Sulfate, Carbonate, Phosphate, Sulfide, Eisen(hydr)oxide und LDH-Phasen) sollen in dem hier beschriebenen Teilprojekt thermodynamische Größen durch mikrokolorimetrische Bestimmungen der Wärmekapazität und Raman-aktive Gitterschwingungen durch Mikro-Ramanspektroskopie experimentell bestimmt werden.

Die zum Themenbereich C (Radium und Spaltprodukte: Einbau von Se(IV), Se(VI) und Tc in Sulfate, Sulfide, LDH Phasen und Carbonate) geplanten Arbeiten sind wiederum theoretisch und sollen die im Institut für Mineralogie und Geochemie des KIT durchgeführten experimentellen Untersuchungen zur Stabilität von Selen-dotierten Fe-Sulfiden ergänzen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen der Zusammenarbeit mit dem Projektpartner KIT-AWG (Se-dotierte Eisenoxide und -sulfide) wurden einige der Ergebnisse zur Untersuchung von Pyrit ( $\text{FeS}_2$ ) im Rahmen der Goldschmidtkonferenz 2015 als Posterbeitrag vorgestellt.

Der Kooperationspartner FZJ IEK-6 hatte uns im letzten Berichtszeitraum zirkoniumhaltige LDH Phasen zur Untersuchung mit dem Mikrokalorimeter übergeben. Die ersten Messungen an einer dieser Proben zeigten einen anomalen sehr starken Abfall der Wärmekapazität zu Beginn der Messung. Zusätzlich wurde nach der Messung ein hoher Massenverlust ( $>10\%$ ) der Probe festgestellt. Dieser Wert entspricht etwa dem Massenanteil des in der Struktur eingelagerten Wassers. Dies lässt darauf schließen, dass die für die Messung verwendeten Aluminium Tiegel nicht ausreichend dicht versiegelt werden können. Für Proben, bei denen leicht flüchtige Komponenten unter Vakuum abgespalten werden können, muss weitere Entwicklungsarbeit bezüglich der Versiegelung der Tiegel investiert werden. Weitere Messungen wurden durch einen Defekt am PPMS Kalorimeter verzögert.

Zum Mischungsverhalten des ternären Systems  $(\text{Ba,Sr,Ra})\text{SO}_4$  wurde ein Vortrag auf der Goldschmidtkonferenz 2015 präsentiert.

Zur Extrapolation der thermodynamischen Eigenschaften von  $\text{RaSO}_4$  aus experimentellen Untersuchungen der Eigenschaften der isostrukturellen Sulfate von Ba, Sr und Pb wurde ein Vortrag auf der Jahrestagung der Deutschen Kristallographischen Gesellschaft eingereicht. Aus den Messungen der Wärmekapazitäten von Ba, Sr und Pb Sulfat wurde die Standardentropie von  $\text{RaSO}_4$  interpoliert, der errechnete Wert liegt ca. 10 % über dem bisherigen Literaturwert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Es werden keine weiteren experimentellen Arbeiten mehr durchgeführt. Weitere Veröffentlichungen von Ergebnissen oder Konferenzbeiträge nach Abschluss der Projektlaufzeit sind geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

V.L. Vinograd, F. Brand, M. Klinkenberg, J. Weber, K. Rozov, D.A. Kulik, B. Winkler, D. Bosbach: Phase equilibria in the system  $(\text{Ba,Sr,Ra})\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ , Vortrag bei der Goldschmidtkonferenz August 2015, Prag

S. Potsch, A.C. Scheinost, D. Schild, J.D. Bauer, T. Neumann: Stability of Selenium-Doped Pyrite Under Variable Hydrochemical Conditions. Poster bei der Goldschmidtkonferenz August 2015, Prag

L. Bayarjargal, V. L. Vinograd, J.D. Bauer, B. Winkler, M. Luchitskaia, C. M. Pina, and K. Refson: Thermodynamic properties of Ra sulfate estimated from calorimetric data on isostructural crystals. Eingereicht als Vortrag bei der Jahrestagung der Deutschen Kristallographischen Gesellschaft März 2016

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Regina-Pacis-Weg 3, 53113 Bonn		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 019F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.04.2013 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 284.148,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Geisler-Wierwille	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In Ergänzung und Erweiterung zu den bisherigen und geplanten Arbeiten des Verbundprojekts, soll das Korrosionsverhalten von Borosilikatgläsern, dem Standardmaterial für die Immobilisierung von hochradioaktiven Abfällen, in wässrigen Lösungen untersucht werden. Es soll experimentell die Hypothese getestet werden, ob – entgegen derzeit etablierter Modelle – Borosilikatgläser in wässrigen Lösungen kongruent aufgelöst werden und nach Sättigung der Lösung mit amorpher Kieselerde diese an einer nach innen wandernden Grenzfläche aus der Lösung ausfällt (gekoppelter Lösungs-Fällungsprozess). Hierbei wird das Glas schrittweise durch Kieselerde verdrängt. Unbekannt ist in wieweit die zuvor im Glas eingebetteten Radionuklide in die Kieselerde-Sekundärphase eingebaut werden. Abhängig von physiko-chemischen Bedingungen und Glaszusammensetzung können weitere Korrosionsprodukte (Phyllosilikate, Zeolithe, Karbonate) an der Oberfläche oder innerhalb der Kieselerde präzipitieren, die ebenfalls Radionuklide binden können. Ferner sollen diese Ergebnisse mit Befunden an korrodierten archäologischen Gläsern abgeglichen werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- (A) Synthese und chemische/strukturelle Charakterisierung von Borosilikatgläser.
- (B) Batchexperimente mit synthetisierten Gläsern und archäologischen U-Gläsern unterschiedlicher Zusammensetzung (Kompositionelle Serie) und Untersuchung/Analyse der experimentellen Produkte. Das Verhalten von U bei der Korrosion der U-führenden Gläser ist hier von besonderer Bedeutung.
- (C) Batchexperimente mit repräsentativen Gläsern zur Bestimmung der Korrosionskinetik (Kinetische Serie) und Untersuchung/Analyse der experimentellen Produkte.
- (D) Isotopentracerexperimente mit repräsentativen Gläsern und Untersuchung der Verteilung der Tracer in den Korrosionszonen.
- (E) Durchflusseperimente mit verschiedenen Lösungen (pH-Wert, Salinität, Si- Konzentration) und Analyse der experimentellen Lösung zur Bestimmung der Vorwärtsauflösungsrate.
- (F) Untersuchung der Korrosionserscheinungen und Nachweis von  $^{226}\text{Ra}$  an Glasabdeckungen von Instrumenten aus einem aus der Ostsee geborgenen Militärflugzeug des Typs Ju88.
- (G) Entwicklung eines neuen mathematischen Modells zur Modellierung der Glaskorrosion auf der Basis eines gekoppelten Lösungs-Fällungsprozesses.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- (A) Synthese abgeschlossen.
- (B) Batchexperimente laufend.
- (C) Laufen parallel zu Batchexperimente (B).
- (D) Werden im Verlauf von/aufbauend auf Batchexperimente (B) durchgeführt.
- (E) Technischer Defekt an Pumpenanlage, reservierte Ofenplätze für weitere Experimente aus (D) nun in Benutzung.
- (F) Keine weiteren Ergebnisse bisher.
- (G) Keine weiteren Ergebnisse bisher.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- (A) Abgeschlossen.
- (B) Fortsetzung und Weiterführung bisheriger Batchexperimente; In-situ-Echtzeitexperimente bei weiteren Bedingungen (ICP-OES, EMP, SAXS, LA-ICP-MS, Raman).
- (C) Fortsetzung und anschließende Analyse und Auswertung (ICP-OES, EMP).
- (D) Analyse und Auswertung (EMP, NanoSIMS und Raman).
- (E) Weiterführung der bisherigen Durchflusseexperimente sobald Ofenplätze wieder frei (April), um den Übergang im Lösungsverhalten von reinem Wasser zu niedrigen und hohen Salzkonzentrationen zu ermitteln, Lösungsanalyse, Charakterisierung der angelösten Glasoberflächen und eventueller Alterationsprodukte.
- (F) Analysephase und Auswertung.
- (G) In Weiterentwicklung.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Domen, L. (2013): Musterbildung in Korrosionszonen von U-führenden, archäologischen Silikatgläsern. Unveröffentlichte Diplomarbeit, Universität Bonn
- Dohmen L., Lenting C., Fonseca R.O.C., Nagel T., Heuser A. and Geisler T. (2013): Pattern formation in silicate glass corrosion zones. *Int. J. Appl. Glass Sci.*, 4, 357-370
- Lenting C. and Geisler T. (2014): A real-time, in situ Raman spectroscopic study on borosilicate glass corrosion. 92. Jahrestagung der Deutschen Mineralogischen Gesellschaft, Jena, Kurzfassungen, S. 297.
- Gref, E. (2014): Bestimmung der Vorwärtsauflösungsraten von Borosilikatgläsern mithilfe von Durchflusseexperimenten. Unveröffentlichte M.Sc.-Arbeit, Universität Bonn.
- Dohmen L., Nagel T., and Geisler T. (2014): Pattern formation during the alteration of glasses: Insights from experimental studies and modelling. 92. Jahrestagung der Deutschen Mineralogischen Gesellschaft, Jena, Kurzfassungen, S. 297.
- Geisler, T., Lenting, C. and Dohmen, L. (2015): Silicate Glass Corrosion Mechanism revisited. EGU Meeting 2015, Vienna.
- Lenting, C., Dohmen, L., Gref, E., and Geisler, T. (2015): The formation of silica corrosion zones in silicate glasses in silica undersaturated solution. *Goldschmidt Abstracts*, 1823

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 020A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 550.191,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Geist	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Durch Bündelung der Forschungsaktivitäten und Expertisen der Verbundpartner wird im Hinblick auf die Optimierung von technisch realisierbaren Extraktionsverfahren zur Abtrennung der Actiniden von den in ihrem chemischen Verhalten ähnlichen Lanthaniden ein fundiertes Verständnis des Extraktionsmechanismus auf molekularer Basis gewonnen. Dazu werden systematische synthetische Ansätze verfolgt und innovative spektroskopische und röntgenographische Techniken eingesetzt, um Informationen über die Metall-Ligand-Bindungsverhältnisse zu erhalten. Thermodynamische und kinetische Daten sowie vergleichende Studien der Actiniden- und Lanthaniden-Komplexe ermöglichen es, die Triebkräfte der Selektivität effizienter komplexbildender Liganden zu verstehen. Diese Information kann gezielt angewendet werden, um verbesserte Extraktionsmittel zu entwickeln. In Arbeiten zur Konditionierung für die Endlagerung wird untersucht, inwieweit die von den Trennprozessen generierten Actinidenprodukte für eine Weiterverarbeitung geeignet sind.

Diese Information wird zur Synthese maßgeschneiderter Extraktionsmittel und zur Entwicklung optimierter Prozessbedingungen verwendet. Im Rahmen dieser Arbeiten wird Kompetenz auf dem Gebiet der Actiniden- und Radiochemie sowie der sicheren Nuklearen Entsorgung geschaffen und erhalten.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

APA: Synthese und Charakterisierung neuer Extraktionsliganden für die Actiniden/Lanthanidentrennung – „Synthese und Screening-Tests“

APB: Aufklärung der Selektivität ausgewählter Extraktionsmittel zwischen dreiwertigen Actinid- und Lanthanidionen durch Synthese und Charakterisierung von Metallkomplexen mit den neuen Liganden und ausgedehnte spektroskopische Untersuchungen in Lösung – „Synthese und Spektroskopische Untersuchungen“

APC: Studien in Hinblick auf eine Einbindung in Konditionierungsprozesse – „Prozessstudien“

APD: „Nachwuchsförderung“

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

APA: Die Arbeiten zur Etablierung einer Syntheseroute zur Darstellung der vollständig (d. h. auch am Pyridinring)  $^{15}\text{N}$ -isotopenmarkierter Liganden wurden im Berichtszeitraum fortgesetzt. Nicht erfolgreich war die am Pyridinring benötigte 2,6-Disubstitution mit kurzkettigen aliphatischen Seitenketten.

APB: Die Dissertationsschrift von Ch. Adam wurde fertiggestellt und in Heidelberg eingereicht. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass Kovalenz einen signifikanten Beitrag in der Bindung zwischen Am(III)-Ionen und Liganden besitzt. Eine Auftrennung und Quantifizierung in kovalente und dipolare Beiträge ist mit temperaturabhängigen, modellfreien Methoden nicht möglich. Es besteht weitergehender Entwicklungsbedarf für NMR-theoretische und quantenchemische Methoden.

APC: ---.

APD: ---.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

APA: Im kommenden Berichtszeitraum ist die Synthese von BTP-Liganden, die nur einen aliphatischen Substituenten an den Triazinringen tragen, geplant. Dieses Vorhaben baut auf Voraussagen zur Selektivität aus der Quantenchemie (Michael Trumm) auf. Weiterhin ist geplant, im Rahmen eines Forschungspraktikums (Carsten Trefzger, Uni Karlsruhe) einen modifizierten „PyTriDiol“-Liganden herzustellen.

APB: Die Synthese und Charakterisierung von Pu-239-Komplexen mit nPr-BTP und C5-BPP wird im kommenden Berichtszeitraum durchgeführt werden. NMR-Untersuchungen mit Monoalkyl-BTPs werden bei erfolgreicher Synthese angestrebt. Ausstehende Publikationen werden verfasst werden.

APC: ---.

APD: ---.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Adam, Ch.: Charakterisierung von partitioningrelevanten Lanthaniden- und Actinidenkomplexen mittels NMR-Spektroskopie. Dissertationsschrift, Uni Heidelberg.

Trumm, M.; Schimmelpfennig, B.; Geist, A.: Structure and separation quality of various N- and O-donor ligands from quantum-chemical calculations. *Nukleonika* 2015, 60 (4), 847–851.

Wilden, A.; Modolo, G.; Kaufholz, P.; Sadowski, F.; Lange, S.; Munzel, D.; Geist, A.: Process development and laboratory-scale demonstration of a regular-SANEX process using C5-BPP (2,6-bis(5-(2,2-dimethylpropyl)-1H-pyrazol-3-yl)pyridine). *Separ. Sci. Technol.* 2015, 50 (16), 2467–2475.

Kiefer, C.; Wagner, A. T.; Beele, B. B.; Geist, A.; Panak, P. J.; Roesky, P. W.: A complexation study of 2,6-bis(1-(p-tolyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)pyridine using single-crystal X-ray diffraction and TRLFS. *Inorg. Chem.* 2015, 54 (15), 7301–7308.

Wilden, A.; Modolo, G.; Lange, S.; Sadowski, F.; Kardhashi, D.; Li, Y.; Kowalski, P.; Beele, B. B.; Skerencak-Frech, A.; Panak, P. J.; Geist, A.; Rothe, J.; Dardenne, K.; Schäfer, S.; Wagner, A. T.; Roesky, P. W.; Verboom, W.: Complex structure of An and Ln complexes with modified diglycolamides in solution and solid state using different speciation techniques. In *Proc. Internat. Conf. GLOBAL 2015 (Nuclear Fuel Cycle for a Low-carbon Future)*, Paris, France, 20–24 September, 2015; pp 1632–1636.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 020B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 838.422,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Roesky	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt „Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen (f-Kom)“ hat zum Ziel, die Separierung von langlebigen Radionukliden aus nuklearem Abfall auf fundamentalem Niveau zu erforschen und zu verstehen. Ein Besonderer Schwerpunkt liegt in diesem Projekt auf der Aus- und Weiterbildung junger Wissenschaftler in projektrelevanten Forschungsfeldern sowie deren Vernetzung in der europäischen Forschungslandschaft.

Zum Verständnis der Abtrennungsmechanismen von Actiniden durch Flüssig-Flüssig Extraktion auf molekularer Ebene werden innovative und anspruchsvolle spektroskopische sowie röntgenographische Methoden genutzt. Die Charakterisierung der elektronischen und molekularen Strukturen der extrahierten Komplexe mit diesen Methoden gibt Auskunft über die Metall-Ligand-Bindungsverhältnisse. Zusätzlich werden thermodynamische und kinetische Daten bestimmt. Vergleichende Studien der Actiniden- und Lanthaniden-Komplexe ermöglichen es, die Triebkräfte der Selektivität effizienter komplexbildender Liganden zu verstehen. Dieses Verständnis ist für die Entwicklung neuer Extraktionsmittel essentiell.

Die im Berichtszeitraum erzielten Ergebnisse wurden in direkter Kooperation mit Uni HD (P. Panak), der Uni ER (K. Meyer) und dem KIT-INE (H. Geckeis, A. Geist) erhalten; siehe die entsprechenden Halbjahresberichte

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- Abschluss der experimentellen Arbeiten
- Etablierung eines Struktur-Wirkungsprinzips

Die Untersuchungen erfolgten in den Bereichen:

- WP1: „Synthese und Screening-Tests“
- WP2: „Synthese und spektroskopische Untersuchungen“
- WP4: „Nachwuchsförderung“

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Mit dem Auslaufen des Projektes konnten die Arbeiten an den synthetisierten Ligandensystemen abgeschlossen werden.

*Die Arbeiten am Liganden Tetrazol-5-yl-4,4'-di-*t*-butyl-2,2'-bipyridin (tBu-HN4bipy) wurde abgeschlossen. Es konnten sowohl das Nitratsalz des Liganden als auch der Neutralligand dargestellt werden. Die Verbindungen wurden standardanalytisch charakterisiert. Es gelang auch, mit Sm(III) einen Komplex zu isolieren, dessen Festkörperstruktur mittels Röntgenstrukturanalyse untersucht wurde. In Kooperation mit M. Sc. Martin Maiwald wurden TRLFS-Titrations durchgeföhrt. Dabei konnte zwar eine gegenüber dem Derivat ohne *tert*-Butyl-Gruppe erhöhte Löslichkeit festgestellt werden, jedoch ein wesentlich geringeres Bestreben zur Komplexierung von Lanthanoiden und Actiniden. Zudem wurden quantenchemische Rechnungen an dem Liganden durchgeföhrt.*

Die Studien an der Ligandenfamilie  $SP[N(Me)N=C(H)Ar]_3$  (Ar = Heteroaromat) wurden abgeschlossen; eine Publikation mit der Uni ER wurde eingereicht und weitere Publikationen sind geplant.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt ist mit diesem Bericht abgeschlossen. Es sollten die vorhandenen Daten publiziert werden und gegebenenfalls die Projektpartner mit Material und Analysen unterstützt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

P. W. Roesky: Polynuclear Lanthanide Complexes. 9th International Conference on f-Elements, Oxford, 2015.

P. W. Roesky: Main group molecules in 4f-metal chemistry. Abstract of Papers, Pacificchem 2015, Honolulu, HI, 2015, INORG 123.

P. W. Roesky: Activation of SO<sub>2</sub> with di- and trivalent lanthanide. Abstract of Papers, Pacificchem 2015, Honolulu, HI, 2015, INORG 1794.

Poster:

A. Wagner, D. Thielemann, Y. Lan, P. Oña-Burgos, I. Fernandez, E. Rösch, D. Kölmel, A. Powell, S. Bräse, and P. Roesky: Peptoid-ligated Pentadecanuclear Yttrium and Dysprosium Clusters, 9th International Conference on f-Elements, Oxford, 2015.

Abschlussarbeiten:

S. Hohnstein, Doktorarbeit: „Vergleichende Studien zum Koordinationsverhalten tripodaler Liganden gegenüber f-Elementen sowie Synthese und Reaktivitätsstudien von neuartigen P,N-Hybridliganden“ KIT, Oktober 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 020C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 31.12.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 442.080,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Meyer	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des beantragten Projekts „Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen (f-Kom)“ ist es, ein fundamentales Verständnis hinsichtlich der Abtrennung von langlebigen Radionukliden aus nuklearem Abfall zu erlangen. Das beantragte Projekt beinhaltet eine starke Komponente der Aus- und Weiterbildung junger Wissenschaftler in Forschungsthemen zur nuklearen Entsorgung sowie ihre Vernetzung in der europäischen Forschungslandschaft. Neben der Synthese neuer Liganden und Selektivitäts-„Screening-Tests“, Charakterisierung von Ln/An-Ligandkomplexen sowie Extraktionsversuche unter prozessrelevanten Bedingungen von N-Donorliganden, sollen vier weitere Aspekte realisiert werden: Intensivierung der Zusammenarbeit mit europäischen Forschungsinstitutionen, Weiterverarbeitung der abgetrennten Actinoidenprodukte zu geeigneten Vorstufen für deren Immobilisierung, Erweiterung der Forschungsaktivitäten bzgl. zusätzlicher Liganden-Typen als Extraktionsmittel und die Anwendung modernster spektroskopischer Methoden zur Charakterisierung der Actinoiden- und Lanthanoidenkomplexe hinsichtlich ihrer Koordinationsumgebung und elektronischen Struktur.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Aktivitäten zur Synthese neuer N- und S-Donor-Extraktionsmittel und deren Charakterisierung mit „state-of-the-art“ experimentellen Methoden (z. B. NMR, XRD, HRXES, TRLFS) sowie mit theoretischen Ansätze teilen sich in vier Arbeitspakete AP) auf:

- AP1: Synthese und Charakterisierung neuer Extraktionsliganden für die Actinoiden/Lanthanoidentrennung – „Synthese und Screening-Tests“
- AP2: Aufklärung der Selektivität ausgewählter Extraktionsmittel zwischen dreiwertigen Actinoid- und Lanthanoiden durch Synthese und Charakterisierung von Metallkomplexen mit den neuen Liganden und ausgedehnte spektroskopische Untersuchungen in Lösung – „Synthese und Spektroskopische Untersuchungen“
- AP3: Studien in Hinblick auf eine Einbindung in Konditionierungsprozesse – „Prozessstudien“
- AP4: Besondere Förderung talentierter Nachwuchswissenschaftler – „Nachwuchsförderung“

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen des BMBF-Projektes wurden bisher in der AG Meyer unterschiedliche O-, N,O- und N,N-Liganden synthetisiert, die verschiedene Ankersysteme (N, tacn, mes, py etc.) tragen. Durch eine entsprechend angepasste Auswahl an *ortho*- und *para*-Substituenten konnten im Anschluss die elektronischen und magnetischen Eigenschaften sowie die Reaktivitäten und Löslichkeiten der daraus hervorgegangenen Urankomplexe maßgeschneidert werden.

In diesem Zusammenhang berichteten wir kürzlich über die Synthese und vollständige Charakterisierung der beiden zwei- bzw. dreiwertigen mesityl-geankerten Uranmonoarenkomplexe [K(2.2.2-crypt)] [{{(<sup>Ad,Me</sup>ArO)<sub>3</sub>mes}U<sup>II</sup>}] und [{{(<sup>Ad,Me</sup>ArO)<sub>3</sub>mes}U<sup>III</sup>}] (*Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7282–7285 und *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7286–7290). In einer weiterführenden Studie wurde die Reaktivität des Komplexes [{{(<sup>Ad,Me</sup>ArO)<sub>3</sub>mes}U<sup>III</sup>}] gegenüber Halogenverbindungen (AgF, Dichlormethan, 1,2-Dibromethan, I<sub>2</sub>) getestet,

wobei isostrukturelle  $C_3$ -symmetrische Uran(IV)-Halogenidkomplexe [ $((^{Ad,Me}ArO)_3mes)U(X)$ ] ( $X = F, Cl, Br,$  und  $I$ ) unter Oxidation der Uran(III)-Spezies erhalten wurden (*Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 8418–8424).

Für die Reduktion von Wasser zu elementarem Wasserstoff sind niedervalente Urankomplexe vielversprechende Verbindungen. Sie sind aber gleichzeitig auch bekannt dafür, dass die Reaktion meist heftig und unkontrollierbar zu sehr stabilen verbrückenden Oxo- oder Uranylspezies unter stöchiometrischen Bedingungen abläuft. Die katalytische  $H_2$ -Herstellung erfordert jedoch eine reduktive Rückgewinnung des Katalysators, die nur gelingt, wenn der aus dem Wasser stammende Sauerstoffligand von dem oxophilen Uranzentrum wieder abgespalten werden kann. In einem kürzlich angenommenen Beitrag (*Nature* **2016**, *accepted article*, doi: 10.1038/nature16530) berichteten wir über die elektrokatalytische Wasserreduktion mit Hilfe des Uran(III)-Komplexes [ $((^{Ad,Me}ArO)_3mes)U$ ] unter homogenen Reaktionsbedingungen. Der Katalysezyklus involviert neben dem Uran(III)-Ausgangskomplex seltene terminale U(IV)–OH- und U(V)=O-Spezies, die separat synthetisiert und ausführlich charakterisiert wurden. Durch detaillierte Studien konnte im Anschluss deren Mitwirkung an dem Katalysezyklus eindeutig nachgewiesen werden. Die Wiederentdeckung von Uranverbindungen als potential nützliche Katalysatoren verspricht neue Anwendungsgebiete solcher leichter Actinoide.

In einem weiteren wissenschaftlichen Beitrag (*Chem. Commun.* **2015**, *51*, 16671–16674) stellten wir die Synthese und ausführliche Charakterisierung von Uran(VI)-Mono(imido)komplexen vor, die durch Oxidation der entsprechenden Uran(V)-Spezies erhalten wurden. Diese so generierten experimentellen Ergebnisse erlauben, in Kombination mit DFT-Rechnungen, den genauen Vergleich der elektronischen Struktur von Uran(VI)-Mono(oxo)- und -Mono(imido)komplexen innerhalb eines identischen Ligandensystems. So konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Grundzustandsstabilisierung, hervorgerufen durch den *inverse trans-influence* (ITI), maßgeblich durch die relative Ladungslokalisation an dem mehrfachgebundenen Atom oder Gruppe gesteuert wird.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Ende der Förderphase des 02NUK020C erreicht.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

##### Vorträge:

Vorträge mit den Titeln *From Nuclear Fuels to CO<sub>2</sub> Activation at Uranium Complexes – Chemistry Between Phobia & Enthusiasm* bzw. *Uranium-Mediated Small Molecule Activation & a New Oxidation State in Uranium Chemistry* wurden von Prof. Karsten Meyer zu GDCh-, Plenar- und Konferenzvorträgen sowie in Anorganisch-Chemischen-Kolloquien gegeben: 16.–21.08.2015, Indaba 8, Skukuza, Kruger National Park, ZA; 20.–21.09.2015, The 2<sup>nd</sup> Japan-Germany Joint Symposium on Coordination Chemistry, Nara Women's University, Nara, JP; 25.09.2015, Kyushu University, Fukuoka, JP; 28.09.2015, Tokyo Institute of Technology, Ookayama, JP; 29.09.2015, Tokyo Institute of Technology, Suzukake, JP; 01.10.2015, Nagoya Institute of Technology, Nagoya, JP; 12.11.2015, Universität Bayreuth, Bayreuth, DE.

Folgende Vorträge wurden von einem Mitarbeiter gegeben:

Michael W. Rosenzweig, Titel: *Molecular and electronic structures of reduced uranium bipyridine complexes as stable synthons for U(II)*, 1<sup>st</sup> ICCE Conference, 02.–04.08.2015, Erlangen, DE.

Christopher J. Hörger, Titel: *Small Molecule Reactivity with Uranium Coordination Complexes of a Sterically Demanding Aryloxy Ligand*, DFG-ANR-Kooperationstreffen, 31.10.–01.11.2015, Hofgut Hohenkarpfen, Hausen ob Verena, DE.

Michael W. Rosenzweig, Titel: *Advances in Uranium-mediated Chalcogen Activation*, DFG-ANR-Kooperationstreffen, 31.10.–01.11.2015, Hofgut Hohenkarpfen, Hausen ob Verena, DE.

##### Veröffentlichungen:

*Charge control of the inverse trans-influence*, H. S. La Pierre, M. Rosenzweig, B. Kosog, C. Hauser, F. W. Heinemann, S. T. Liddle, K. Meyer, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 16671–16674.

*Uranium-mediated electrocatalytic dihydrogen production from water*, D. P. Halter, F. W. Heinemann, J. Bachmann, K. Meyer, *Nature* **2016**, *accepted article*, doi:10.1038/nature16530.

##### Poster:

D. P. Halter, J. Hümmer, H. S. La Pierre, F. W. Heinemann, K. Meyer, Titel: *Uranium-Mediated Electrocatalytic H<sub>2</sub> Production from Water*, 4<sup>th</sup> BHC Symposium, 28.–29.07.2015, Kloster Waldsassen, DE.

C. J. Hörger, H. S. La Pierre, L. Maurent, F. W. Heinemann, K. Meyer, Titel: *Synthesis of Terminal Uranium-Oxo Complexes with Sterically Demanding Aryloxy Ligands*, 1<sup>st</sup> ICCE Conference, 02.–04.08.2015, Erlangen, DE.

D. P. Halter, J. Hümmer, H. S. La Pierre, F. W. Heinemann, K. Meyer, Titel: *Uranium-Mediated Electrocatalytic H<sub>2</sub> Production from Water*, 1<sup>st</sup> ICCE Conference, 02.–04.08.2015, Erlangen, DE.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 020D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 353.376,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Panak	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen dieses Verbundprojekts werden grundlegende Untersuchungen zur selektiven Komplexierung von Lanthaniden/Actiniden durchgeführt, mit dem Ziel, ein fundamentales Verständnis hinsichtlich der Abtrennung von langlebigen Radionukliden aus nuklearen Abfällen zu erlangen. Die Aufklärung von Komplexierungs- und Extraktionsmechanismen auf molekularer Basis soll dabei wichtige Erkenntnisse bezüglich der Selektivität verschiedener Ligandensysteme liefern, welche die Basis für ein zukünftiges Ligandendesign als auch die Optimierung von Trennprozessen darstellen.

Diese Ergebnisse liefern somit einen wichtigen Beitrag für eine sichere Endlagerung nuklearer Abfälle. Aufgrund des fundamentalen Charakters dieser Untersuchungen werden darüber hinaus grundlegende Erkenntnisse bezüglich des Komplexierungsverhaltens der trivalenten Actiniden und Lanthaniden erhalten, die auch in anderen wissenschaftlichen Bereichen von großer Bedeutung sein können.

Die in diesem Berichtszeitraum durchgeführten Arbeiten der Universität Heidelberg erfolgten in direkter Kooperation mit dem KIT-INE, dem KIT-AC, dem Forschungszentrum Jülich und der Universität Erlangen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

WP1: Synthese und Charakterisierung neuer Extraktionsliganden für die Actiniden/Lanthanidentrennung – „Synthese und Screening-Tests“

WP2: Aufklärung der Selektivität ausgewählter Extraktionsmittel zwischen dreiwertigen Actinid- und Lanthanidionen durch Synthese und Charakterisierung von Metallkomplexen mit den neuen Liganden und ausgedehnte spektroskopische Untersuchungen in Lösung – „Synthese und Spektroskopische Untersuchungen“

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Wissenschaftliche Ergebnisse zu den Arbeitszielen WP1 und WP2:

Die Untersuchungen zur Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit dem im Arbeitskreis von Prof. Dr. P. W. Roesky (KIT-AC) entwickelten Liganden 4,4'-Di-tert-butyl-6-(1H-tetrazol-5-yl)-2,2'-bipyridin ( $\text{HN}_4^1\text{Bubipy}$ ) in unterschiedlichen Alkohol/Wassergemischen wurden weitergeführt und abgeschlossen. Als Lösungsmittel wurden Methanol, Ethanol und 2-Propanol mit jeweils 4,4 bzw. 50 Vol. %  $\text{H}_2\text{O}$  verwendet. Da der Ligand nur in deprotonierter Form an die Metallzentren koordiniert, war für eine Quantifizierung der Komplexierungsreaktionen die Bestimmung der pKs-Werte in den verschiedenen Lösungsmitteln erforderlich. Diese erfolgte mittels UV/Vis-Spektroskopie. Die mit Hilfe der TRLFS durchgeführten Speziationsuntersuchungen zeigten, dass für Cm(III) die Komplexspezies  $[\text{Cm}(\text{N}_4^1\text{Bubipy})_n]^{3-n}$  mit  $n = 1 - 3$  und für Eu(III) die Komplexspezies  $[\text{Eu}(\text{N}_4^1\text{Bubipy})_n]^{3-n}$  mit  $n =$

2, 3 gebildet werden. Der Nachweis der verschiedenen Komplexspezies erfolgte anhand von Steigungsanalysen. Die Ermittlung der Stabilitätskonstanten zeigt eindeutig, dass mit abnehmendem Wassergehalt die Stabilitätskonstanten um ca. 0.4 Größenordnungen zunehmen, was auf die stärkere Solvataion der Metallionen mit H<sub>2</sub>O im Vergleich zu den Alkoholmolekülen zurückzuführen ist. Gleichzeitig erfolgt eine Abnahme der Stabilitätskonstanten mit steigender Lipophilie der untersuchten Alkohole. Der Vergleich der Cm(III)- und Eu(III)-Stabilitätskonstanten der für die Extraktion relevanten 1:3-Komplexe zeigt keine Unterschiede, was bedeutet, dass dieser Ligand keine Selektivität für die trivalenten Actiniden im Vergleich zu den Lanthaniden besitzt. Dies steht im Gegensatz zu den N-Donor-Liganden der BTP- und BTBP-Klassen, die hohe Separationsfaktoren  $SF_{\text{Cm(III)/Eu(III)}} = 100 - 1000$  aufweisen. Neben den Komplexierungseigenschaften wurde auch das Extraktionsverhalten dieses Liganden im Zweiphasensystem untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass unter Prozessbedingungen (Extraktion aus salpetersauren Lösungen) keine Extraktion der An(III) und Ln(III) erfolgt, was aus der geringen Löslichkeit in lipophilen Lösungsmitteln und der Tatsache, dass der Ligand nur in deprotonierter Form komplexiert, resultiert. In Ergänzung zu den spektroskopischen und thermodynamischen Untersuchungen wurden quantenchemische Rechnungen zur Bestimmung von Bindungsenergien und der Gleichgewichtskonstante zwischen den jeweiligen Cm(III) und Gd(III)-Komplexen durchgeführt. Die Ergebnisse der Berechnungen zeigen eine gute Übereinstimmung der Bindungsenergien für die Ln(III)- und An(III)-Komplexe. Im Hinblick auf die Gleichgewichtslage ergibt sich eine geringe Präferenz für die Gd(III)-Komplexe, was in sehr guter Übereinstimmung mit den experimentell ermittelten Stabilitätskonstanten steht. Auch diese Ergebnisse bestätigen, dass HN<sub>4</sub><sup>1</sup>Bubipy trotz seiner hervorragenden Komplexierungseigenschaften gegenüber Ln(III) und An(III) keine Selektivität für die trivalenten Actiniden besitzt. Unabhängig davon liefern die Ergebnisse dieser Arbeit sehr wertvolle Informationen über die Komplexierungs- und Extraktionseigenschaften von N-Donorliganden. Durch den direkten Vergleich zwischen den als Referenzliganden diskutierten BTPs und dem hier untersuchten HN<sub>4</sub><sup>1</sup>Bubipy, der veränderte Strukturmerkmale aufweist, konnten wichtige Erkenntnisse hinsichtlich der molekularen Ursachen für die Selektivität dieser Extraktionsliganden erhalten werden, die von großer Bedeutung für eine zukünftige Ligandenentwicklung sowie Prozessoptimierung sein können.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Publikation der oben stehenden Ergebnisse: Maiwald, M., Wagner, A. T., Skerencak-Frech, A., Trumm, M., Geist, A., Roesky, P. W., Panak, P. J., 4,4'-Di-tert-butyl-6-(1H-tetrazol-5-yl)-2,2'-bipyridine: Modification of a Highly Selective N-Donor Ligand for the Separation of trivalent Actinides from Lanthanides in the SANEX-Process. Geometry effects on stability of f-element complexes, in Vorbereitung.
- Untersuchung der Komplexierung von Cm(III) mit TEDGA, Me-TEDGA und Me<sub>2</sub>-TEDGA in 1 mM HClO<sub>4</sub>. Hierbei sollen die gebildeten Komplexe identifiziert und die jeweiligen Stabilitätskonstanten bestimmt werden, um die Auswirkung der Methylgruppen auf die Stabilität der gebildeten Komplexe zu quantifizieren (Kooperation mit FZ Jülich).

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Masterarbeit:

Maiwald, M.: Untersuchung der Komplexierungs- und Extraktionseigenschaften von Eu(III) und Cm(III) mit 4,4'-Di-tert-butyl-6-(1H-tetrazol-5-yl)-2,2'-bipyridin. Eine TRLFS und quantenmechanische Studie. Universität Heidelberg, 09.11.2015.

Promotion:

Adam, C.: Charakterisierung von partitioningrelevanten Lanthaniden- und Actinidenkomplexen mittels NMR-Spektroskopie. Universität Heidelberg, 15.01.2016.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 020E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 529.746,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Modolo	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des beantragten Projekts „Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen (f-Kom)“ ist es, ein fundamentales Verständnis hinsichtlich der Abtrennung von langlebigen Radionukliden aus nuklearem Abfall zu erlangen. Das beantragte Projekt beinhaltet eine starke Komponente der Aus- und Weiterbildung junger Wissenschaftler in Forschungsthemen zur nuklearen Entsorgung sowie ihre Vernetzung in der europäischen Forschungslandschaft. Dies wird entscheidend zu einem sicheren Umgang mit radioaktiven Abfällen und zum Erhalt der hierzu notwendigen Kompetenz beitragen. Um dieses Ziel zu erreichen, werden die beteiligten Verbundpartner (die Universitäten Heidelberg (Uni HD) und Erlangen (Uni ER), das Karlsruher Institut für Technologie (KIT-INE, KIT-CS) sowie das Institut für Energie- und Klimaforschung am Forschungszentrum Jülich (FZJ-IEK-6)) ihre Expertise und Aktivitäten in Synthese, Spektroskopie, Technologie und Theorie bündeln, um zu einem tieferen Verständnis der auf Flüssig-Flüssig-Extraktion basierten Abtrennprozesse für Actiniden auf molekularer Größenskala zu gelangen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese und Charakterisierung neuer Extraktionsliganden für die Actiniden/Lanthanidentrennung – „Synthese und Screening-Tests“
- AP2: Aufklärung der Selektivität ausgewählter Extraktionsmittel zwischen dreiwertigen Actinid- und Lanthanidionen durch Synthese und Charakterisierung von Metallkomplexen mit den neuen Liganden und ausgedehnte spektroskopische Untersuchungen in Lösung – „Synthese und Spektroskopische Untersuchungen“
- AP3: Studien in Hinblick auf eine Einbindung in Konditionierungsprozesse „Prozessstudien“
- AP4: Besondere Förderung talentierter Nachwuchswissenschaftler – „Nachwuchsförderung“

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1/4: Herr Benjamin Kraus hat eine Masterarbeit zur selektiven Abtrennung von Am(III) aus PUREX Raffinaten mittels einer Kombination von lipophilen Diglycolamiden mit einem hydrophilen Komplexbildner angefertigt.  
Im Rahmen eines Forschungspraktikums von Larissa Klaß wurden einige wasserlösliche Diglycolamide untersucht. Dabei wurde gefunden, dass in einem System mit DMDOHEMA/HDEHP die methylierten Derivate von TEDGA eine erhöhte Am/Cm Selektivität hervorrufen.
- AP2/3: Weitere Extraktionsstudien zur temperaturabhängigen Extraktion von dreiwertigen Lanthaniden und Actiniden mit Diglycolamiden wurden durchgeführt um auch die temperaturabhängige Ko-Extraktion von Salpetersäure zu studieren.  
Weitere Kristallisationsversuche zur Strukturaufklärung von Lanthanidenkomplexen mit modifizierten hydrophilen Diglycolamiden wurden angesetzt.  
Die Radiolysestabilität von hydrophilen Diglycolamiden wird weiter untersucht.  
Wesentliche Ergebnisse aus dem Projekt wurden auf dem Radical Behavior Workshop in Idaho Falls, dem GDCh Wissenschaftsforum Chemie in Dresden, der GLOBAL Konferenz in Paris und der Pacificchem in Honolulu vorgestellt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Strukturaufklärung von Lanthanidenkomplexen mit modifizierten hydrophilen Diglycolamiden wird im Rahmen einer Masterarbeit von Larissa Klaß fortgesetzt. Dazu werden TRLFS Messungen am KIT-INE durchgeführt.  
Nach atomaufsichtlicher Genehmigung wird die Handschuhbox in Betrieb genommen. Erste Versuche werden dann in der Handschuhbox durchgeführt.  
Die aufgenommenen EXAFS Daten werden weiter ausgewertet und mit theoretischen Modellen verglichen. Weitere EXAFS Messungen sind geplant, ein entsprechender Antrag wurde an der KIT-ANKA eingereicht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- A. Wilden et al., Separ. Sci. Technol., 2015, 50 (16), 2467-2475  
 A. Wilden et al., Solvent Extr. Ion Exch., 2015, DOI:10.1080/07366299.2015.1115694  
 H. Galán et al., Dalton Trans., 2015, (44), 18049-18056  
 S. Lange et al., Solvent Extr. Ion Exch., in Vorbereitung  
 A. Wilden et al., Radical Behavior Workshop, Idaho National Lab, Idaho Falls, Idaho, USA, 20-22 July 2015, Vortrag  
 H. Schmidt et al., Radical Behavior Workshop, Idaho National Lab, Idaho Falls, Idaho, USA, 20-22 July 2015, Vortrag  
 A. Wilden et al., GDCh Wissenschaftsforum Chemie, Dresden, Germany, 30 August - 2 September 2015, Vortrag  
 A. Wilden et al., GLOBAL2015 Nuclear Fuel Cycle for a Low-Carbon Future, Paris, France, 21 - 24 September 2015, Vortrag  
 G. Modolo et al., Pacificchem 2015, Honolulu, Hawaii, USA, 15 – 20 December 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 919.706,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Neumeier	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des Projektes ist es, einen Beitrag zur Aufrechterhaltung und Weiterentwicklung des Kenntnisstandes auf dem Gebiet der Entsorgung radioaktiver Abfälle zu leisten. Die Forschungsaktivitäten der Forschungszentren Jülich, Institut für Energie- und Klimaforschung (FZJ-IEK6), Karlsruhe, Institut für Nukleare Entsorgung (KIT-INE), dem Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Ressourcenökologie (HZDR-IRO) und den Universitäten Aachen, Institut für Kristallografie (RWTH-IFK), Institut für Gesteinshüttenkunde (RWTH-GHI), Hannover, Institut für Radioökologie und Strahlenschutz (LUH-IRS), Frankfurt, Institut für Geowissenschaften (GUF-IFG) und der Brenk Systemplanung GmbH (BS) sollen im Rahmen des Verbundprojektes „Conditioning“ gebündelt werden, um ein Verständnis des Langzeitverhaltens von Radionukliden in keramischen Endlagerungsmatrizes unter endlagerrelevanten Bedingungen abzuleiten. Dies soll durch die Entwicklung thermodynamischer Modelle auf der Basis von experimentellen Daten und atomistischen Modellrechnungen erreicht werden. Eine Quantifizierung der chemischen Prozesse und insbesondere die Extrapolation auf endlagerrelevante Zeiträume und Szenarien sind nur mit Hilfe belastbarer thermodynamischer Modelle möglich.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese der Immobilisierungsmatrizes
- AP2: Strukturelle Charakterisierung
- AP3: Strahlenschäden
- AP4: Thermodynamik und physikalische Eigenschaften
- AP5: Korrosionsbeständigkeit unter Endlagerbedingungen
- AP6: Abschlussbericht, Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurden Actiniden-haltige (Pu, Cm) Phosphate synthetisiert. LaPO<sub>4</sub>-Pellets wurden mit SPS-Technik für Untersuchungen der Mikrostruktur und der mechanischen Eigenschaften gesintert.
- AP2: Es wurden Synchrotron XRD-Daten (HZDR-IRO) und Pulverneutronendiffraktometrie-Daten verschiedener Rhabdophan-Verbindungen in Zusammenarbeit mit dem RWTH-IFK simultan mit der Rietveld-Methode ausgewertet. Die (La,Pu)PO<sub>4</sub>-Mischkristallreihe wurden mittels XRD und REM/EDX eindeutig charakterisiert. Anhand von TRLFS-Messungen (HZDR-IRO) an Cm-dotierten Proben konnte der Cm-Einbau in Monazitkeramiken eindeutig nachgewiesen werden.

- AP3: In-situ Bestrahlungsexperimente mit schweren Ionen zeigen eine Amorphisierung von Monazitproben in Abhängigkeit vom Ionenfluss und der Temperatur. Die Brenk Systemplanung GmbH (BS) hat mittels der Software SRIM/TRIM-2011 unterstützend diverse Parameter, z. B. Eindringtiefen im Vorfeld ermittelt. Ergänzend zu den Experimenten sind über Simulationsrechnungen die Schwellenwerte der Verschiebungsenergien und -wahrscheinlichkeiten für verschiedene Atome ermittelt worden.
- AP4: Es wurde der Einfluss der Mikrostruktur und Textur auf die mechanischen Eigenschaften an heißgepressten Phosphat-Pellets sowie Einkristallen untersucht. Kalorimetrische Daten (Koope-ration mit UC Davis, USA) von Mischkristallreihen zeigen elementspezifisch unterschiedliche Mischungsenthalpien, die ergänzend für unterschiedliche Phosphate über Simulationsrechnungen und die Elastizitätsmodule ab initio ermittelt wurden.
- AP5: Anhand dynamischer Auflösungsexperimente an  $\text{LaPO}_4$ -Pulvern (pH 2;  $T = 50 - 130 \text{ }^\circ\text{C}$ ) konnten zwei unterschiedliche Auflösungsmechanismen bei  $T < \text{und } > 90 \text{ }^\circ\text{C}$  postuliert werden. Ergänzend hat BS geochemische Modellrechnungen Spezieskonzentrationen und Löslichkeiten von Monaziten mit Daten von Grundwässern aus potentiellen Wirtsgesteinsformationen ermittelt.
- AP6: s. Kap. 5.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Es werden keine weiteren Synthesen im Rahmen des Projektes durchgeführt.
- AP2: Die Charakterisierung der Pu- und Cm-dotierten Phosphate mittels XRD, EELS, EXAFS und TRLFS sind noch im Projekt vorgesehen. Darüber hinaus werden Textureffekte der SPS-gesinterter Pellets untersucht.
- AP3: An der University of Tennessee sind bis zum Projektende weitere Bestrahlungsexperimente geplant, um Rekrystallisationsprozesse aufzuklären. Begleitend zu den Experimenten sollen die Ergebnisse mit Simulationsrechnungen und Kalkulationen aus SRIM und MD-Rechnungen verglichen werden.
- AP4: Es sind abschließende Untersuchungen zu mechanischen Eigenschaften an SPS-gesinterter Proben in Abhängigkeit vom Strukturierungsgrad geplant.
- AP5: Es werden in der Projektlaufzeit keine weiteren Auflösungsexperimente durchgeführt.
- AP6: Die Ergebnisse werden gemeinsam mit den Projektpartnern zur Veröffentlichung eingereicht und mit der Erstellung des Abschlussberichtes begonnen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Die Ergebnisse wurden in mehreren Artikeln veröffentlicht oder sind zur Veröffentlichung eingereicht. Des Weiteren wurden die Ergebnisse auf nationalen und internationalen Konferenzen (Goldschmidt, Int. Conference on f-elements, Migration, MRS (BMBF-Conditioning Session), MS&T, PSI-k Conference, RACIRI Sommerschule) in 13 Vorträgen (davon 4 eingeladen) und 10 Postern vorgestellt.

##### Zeitschriftenbeiträge:

- Kowalski et al.: J. Nucl. Mater., 2015, 464, 147–154  
 Li et al.: Scripta Materialia, 2015, 107, 18-21  
 Thust et al.: J. Am. Cer. Soc. 2015, 98(12), 4016-4021  
 Beridze et al.: Prog. Nucl. Energy, submitted  
 Huittinen et al.: Phys Chem. Chem. Phys., submitted  
 Kowalski & Li, J. Eur. Cer. Soc, submitted  
 Kowalski et al.: Ceram. Trans., in press  
 Li et al.: Ceram. Trans., in press

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 394.874,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Scheinost	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im vorliegenden Verbundprojekt wird ein auf atomarer Skala basierendes Prozessverständnis der strukturellen Stabilität strahlenresistenter Keramiken (Phosphate mit Monazitstruktur und Zirconate mit Pyrochlorstruktur) erlangt, um so Retentionsmechanismen auf langen Zeitskalen zu verstehen und einen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls zu leisten.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP2: Strukturelle Charakterisierung

An der IRE-eigenen ROBL-Beamline werden alle röntgenabsorptionsspektroskopischen Strukturuntersuchungen (XANES und EXAFS) durchgeführt. Der Vorteil dieser Methoden ist ihre Elementselektivität. Dadurch kann sowohl die Oxidationsstufe als auch die Nahordnung ausgewählter Elemente selektiv beprobt werden. XANES und EXAFS werden daher im Rahmen des Verbundprojektes eingesetzt, (1) den Einbau von Actiniden in Keramiken, (2) den Effekt von Strahlenschäden (AP3) auf die Struktur, (3) im Rahmen der Auflösungsexperimente (AP5) Leaching-, Resorptions- und Repräzipitationsprozesse zu untersuchen.

Das ROBL-Team wird dafür seine mehr als 10-jährige Expertise bei Probenvorbereitung, beim Probentransport einschließlich aller dafür notwendigen Genehmigungen und bei der Messung zur Verfügung stellen. Proben mit einer Aktivität bis zu 185 MBq können gemessen werden. Dies ist ausreichend selbst für reines  $^{241}\text{Am}_2\text{Zr}_2\text{O}_7$ , das verwendet wurde, um interne Strahlenschäden bis zu  $10^{19}$   $\alpha$ -decayevents/g bzw. 0.80 dpa zu untersuchen. Die EXAFS-Auswertung wird nicht nur mit Standardmethoden (FEFF/shellfitting) durchgeführt, sondern auch mit einer Reihe neuester Methoden (Monte-Carlo, Landweber Iteration, ITFA).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Bearbeitung des Programmpaketes AP2 (Strukturelle Charakterisierung mit XAS):

- XAFS-Messungen im Monazit-Solid-Solution-System  $\text{La}_{1-x}\text{Gd}_x\text{PO}_4$  mit 500 ppm Eu (8.-13.07.2015). Die Messungen an den La- und Gd-Kanten zeigen keinen Einfluss der Eu-Substitution. Die Abstände von den La-Kationen-Zentren werden kürzer, die Abstände von den Gd-Zentren aus werden länger mit zunehmendem x. Messungen an der Eu-Kante waren erfolglos wegen der geringen Eu-Konzentration.
- XAFS-Messungen an Tc-sorbierten Layered Double Hydroxides (9.-13.09.2015). TcVII wird wie erwartet nicht reduziert und sorbiert als Anion in den Zwischenschichten, höchst wahrscheinlich als Outersphere-Complex, da nur die erste Tc-O-Schale sichtbar ist.
- XAFS-Messungen im Solid-Solution-System  $\text{Ca}_{x/2}\text{Eu}_{1-x}\text{Th}_{x/2}\text{PO}_4$  (3.-8.12.2015).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Bearbeitung des Programmpaketes AP2 (Strukturelle Charakterisierung mit XAS):

- Auswertung der XAFS-Messungen in der Zweiten Jahreshälfte 2015.
- XAFS-Messungen Cm-gedopten Monaziten (24.-26.02.2016) und Datenauswertung.
- Einreichen von 2 Publikationen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Lozano-Rodriguez, M. J.; Arinicheva, Y.; Holthausen, J.; Neumeier, S.; Scheinost, A.: Structural stability study of the mixed  $\text{La}_{0.7-x}\text{Lu}_x\text{Eu}_{0.3}\text{PO}_4$  solid solutions by Extended X-ray Absorption Spectroscopy, Scientific Basis for Nuclear Waste Management XXXIX, 02.-06.11.2015, Montpellier, France.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021CX</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt CX		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2014 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 322.755,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Stumpf	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Ziel des Projektes ist es, einen Beitrag zur Aufrechterhaltung und Weiterentwicklung des Kenntnisstandes auf dem Gebiet der Entsorgung radioaktiver Abfälle zu leisten. Es sollen neue Möglichkeiten aufgezeigt werden, die die sichere Entsorgung radioaktiver Abfälle verbessern und ein hohes Sicherheitsniveau auf diesem Gebiet gewährleisten können. Darüber hinaus wird ein Kompetenzverbund entstehen, der in der Lage sein wird, internationale Entwicklungen zu innovativen Entsorgungsstrategien mit dem Schwerpunkt auf „Conditioning“ beurteilen und bewerten zu können.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Innerhalb des Gesamtprojekts sind folgende Arbeitspakete vorgesehen:

- AP1: Synthese der Immobilisierungsmatrices
- AP2: Strukturelle Charakterisierung
- AP3: Strahlenschäden
- AP4: Thermodynamik und physikalische Eigenschaften
- AP5: Korrosionsbeständigkeit unter Endlagerbedingungen
- AP6: Abschlussbericht, Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Bearbeitung des Programmpaketes AP2 (Strukturelle Charakterisierung mit TRLFS)

Die CCD-Kamera für Detektion von Cm-dotierte Lanthanidphosphaten ( $\text{LnPO}_4$ ) wurde eingerichtet. Damit wurden die ersten actiniddotierten Monazitproben gemessen. Die gemessenen Proben zeigen, dass  $\text{Cm}^{3+}$  in Monazit Phasen eingebaut wird, genauso wie  $\text{Eu}^{3+}$ , unabhängig von der Größe des „host“ Lanthanidions. Die  $\text{Cm}^{3+}$  dotierte  $(\text{La,Gd})\text{PO}_4$  monazit solid solutions zeigen eine leichte Verzerrung der lokalen Struktur des  $\text{Cm}^{3+}$ -Gastions, wenn die strukturelle Zusammensetzung von den reinen Endphasen  $\text{LaPO}_4$  und  $\text{GdPO}_4$  zu einer  $\text{La}_{0,5}\text{Gd}_{0,5}\text{PO}_4$ -Zusammensetzung verschoben wird. Die Verzerrung äußert sich in einer spektralen Verbreiterung und dem Verlust der Aufspaltungsfeinstruktur. Die Cm-dotierten Proben werden demnächst mit EXAFS gemessen um den Einfluss der Cm-Substitution an der Monazitstruktur weiter zu untersuchen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

$\text{Eu}^{3+}$  dotierte Monazitpellets sind mit Schwerionen beschossen worden um Strahlenschäden zu untersuchen. Zwei von den Pellets werden demnächst mit TRLFS charakterisiert, um den Einfluss der induzierten Strahlenschäden auf den Einbauprozess zu untersuchen.

Die XRD Spektren von den  $\text{Eu}^{3+}$  dotierten Xenotimproben werden ausgewertet. Um eine bessere  $\text{Eu}^{3+}$ -Einbau ins Xenotim-Kristallgitter zu bekommen werden die bereits gemessenen Xenotimproben neu gesintert und mit XRD und TRLFS neu untersucht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

N. Huittinen, Y. Arinicheva, M. Schmidt, S. Neumeier, T. Stumpf: Using  $\text{Eu}^{3+}$  as an atomic probe to investigate the local environment in  $\text{LaPO}_4$ - $\text{GdPO}_4$  monazite end-members, *Eingereicht*

N. Huittinen, Y. Arinicheva, P. M. Kowalski, V. L. Vinograd, S. Neumeier, D. Bosbach: Structural incorporation of  $\text{Eu}^{3+}$  in  $\text{La}_{1-x}\text{Gd}_x\text{PO}_4$  monazite solid solutions: A combined spectroscopic and computational study, *Eingereicht*

N. Huittinen, Y. Arinicheva, J. Holthausen, M. Schmidt, S. Neumeier, T. Stumpf: „Curium(III) and europium(III) incorporation in lanthanide phosphate ceramics for conditioning of radioactive wastes“ Vortrag auf der Migration 2015, Santa Fe, USA, September 13-18, 2015.

N. Huittinen, Y. Arinicheva, J. Holthausen, S. Neumeier, T. Stumpf: “Incorporation of  $\text{Cm}^{3+}$  and  $\text{Eu}^{3+}$  in  $\text{LnPO}_4$  ceramics – a site-selective TRLFS study“ Vortrag auf dem MRS Scientific Basis for Nuclear Waste Management XXXIX, Montpellier, Frankreich, November 2-6, 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langle- biger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 336.612,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Telle	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundprojekt dient der Aufrechterhaltung und Weiterentwicklung des Kenntnisstandes auf dem Gebiet der Entsorgung radioaktiver Abfälle. Ziele sind dabei sowohl die Erweiterung des derzeitigen Wissenstandes als auch der Kompetenzerhalt sowie die Nachwuchsförderung. Durch das Bündeln und Vernetzen der Expertisen und Forschungsaktivitäten der Verbundpartner sollen neue Möglichkeiten zur Verbesserung der sicheren Entsorgung radioaktiver Abfälle aufgezeigt werden. Die zu erwartenden wissenschaftlichen Ergebnisse werden den grundlegenden Kenntnisstand auf dem Gebiet „Immobilisierung von Actiniden in keramischen Materialien“ deutlich erweitern und zur Bewertung innovativer Entsorgungsstrategien mit dem Schwerpunkt auf „Conditioning“ beitragen.

Ziel der Arbeiten ist es, das Verhalten der Radionuklide während und nach der Immobilisierung in keramischen Materialien grundlegend und systematisch zu untersuchen. Das Teilprojekt des RWTH-GHI behandelt dabei die Thermodynamik und physikalischen Eigenschaften von nicht radioaktiven Surrogaten der Actiniden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Folgende Arbeitspakete werden von RWTH-GHI im Rahmen des Verbundprojektes durchgeführt:

- AP4: Thermodynamik und physikalische Eigenschaften
  - 4.1: Druckloser Sinterprozess
  - 4.2: Sintern mit Dotierungsstoffen
  - 4.3: Optimierte Temperatur-Zeit-Zyklen
  - 4.4: Erstellung von Sinterkarten
  - 4.5: Rate-controlled sintering
  - 4.6: Gefügecharakterisierung
  - 4.7: Aggregatsynthese
  - 4.8: Mechanische Prüfung
  - 4.9: Stäbe für Einkristallzucht
- AP6: Abschlussbericht, Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Ziel der letzten Sinterversuche war die Steigerung der Dichtewerte in den Systemen  $\text{CePO}_4$  und  $\text{PrPO}_4$ . Da die  $\text{LaPO}_4$ -Proben die besten Ergebnisse zeigten, wurden dazu für beide Systeme ebenfalls Pulver am FZJ-IEK6 mittels Präzipitation synthetisiert und bei den folgenden Sinterversuchen eingesetzt sowie deren Dichten archimedisch bestimmt.

Im Vergleich zu den verhältnismäßig niedrigen Dichtewerten der Alfa Aesar- $\text{CePO}_4$ -Proben, ließen sich aus dem  $\text{CePO}_4$ -Pulver vom FZJ-IEK6 Proben mit Dichten bis zu 97 %TD erzielen. Ein ähnliches Ergebnis lieferten die äquivalenten Proben aus  $\text{PrPO}_4$  mit Werten von 94 %TD. Im Hinblick auf ein gewisses Maß an notwendiger Restkavität im Gefüge, welche als vorteilhaft erachtet wird um auftretenden Spannungen durch Helium-Gasbildung entgegenzuwirken, bilden diese Ergebnisse bereits eine vielversprechende Basis für Untersuchungen mit radioaktiven Actiniden.

Um die gewünschten Enddichten noch gezielter einstellen zu können, wurden Versuche zum sog. Raten-kontrollierten-Sintern durchgeführt. Die Software des Dilatometers (Linseis RCS) ermöglicht dabei die Ermittlung des notwendigen Sinterprofils für eine definierte Längenänderung bzw. Dichtewert. Die Analyse der Versuchsdiagramme an  $\text{PrPO}_4$ -Proben zeigte, dass die Werte der Soll- und Ist-Dichte ab ca. 90 % auseinander divergieren, d. h. im Bereich zwischen 1200 °C und 1300 °C. Hier finden aktuell weitere Versuche statt, um diesen Abschnitt im Sinterverlauf noch genauer zu untersuchen und Sinterparameter noch feinstufiger anzupassen.

Parallel zu den Sinterversuchen wurden mechanische Kennwerte an Proben aus den neu synthetisierten Pulvern ermittelt. Gemäß DIN-Norm wurden an allen drei Materialsystemen Vickershärten  $\text{HV}_{0,2}$  von ~150MPa ( $\text{LaPO}_4$ ), ~260MPa ( $\text{CePO}_4$ ) und ~300MPa ( $\text{PrPO}_4$ ) gemessen. Ferner wurde damit begonnen die E-Module über die sog. Resonanz-Frequenz-Dämpfungsanalyse (RFDA) zu bestimmen. Bei dieser zerstörungsfreien Messmethode wird die Probe über einen leichten mechanischen Impuls angeregt. Das erzeugte akustische Signal wird über ein Mikrofon aufgezeichnet und gemäß der detektierten Frequenz und Abklingrate verarbeitet. Aus der isolierten Biegefrequenz wird anschließend der E-Modul ermittelt. Da für diesen Versuchsaufbau stäbchenförmige Proben benötigt werden, wurden die Pulver geometriebedingt uniaxial und daher mit wesentlich niedrigeren Drücken von ca. 10 kN verpresst (im Vergleich dazu liegen die Pressdrücke bei den herkömmlich isostatisch verpressten Proben bei 350kN). Derart hergestellte  $\text{PrPO}_4$ -Proben mit ~90 %TD zeigten E-Modul-Werte von maximal 155GPa. Die Messungen für  $\text{LaPO}_4$  und  $\text{CePO}_4$ -Proben befinden sich noch in der Durchführung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Weitere Dilatometersversuche mittels Raten-kontrolliertem Sintern werden an  $\text{CePO}_4$  und  $\text{LaPO}_4$  – Proben durchgeführt.

Um stäbchenförmige Proben mit höherer Enddichte für die E-Modul-Messung herzustellen, sollen uniaxial gepresste Proben isostatisch nachverdichtet werden.

Ferner steht noch die Ermittlung der Bruchfestigkeit sowie des Bruchwiderstand (über Ball-on-three-Ball-Test) aus.

Das Abschluss-Projekttreffen findet im Februar 2016 in Aachen statt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Der angekündigte Vortrag auf der Konferenz MRS Scientific Basis for Nuclear Waste Management in Montpellier wurde präsentiert.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langle- biger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 223.380,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Roth	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Projektes ist die Weiterentwicklung des Kenntnisstandes auf dem Gebiet der Entsorgung radioaktiver Abfälle. So sollen neue Möglichkeiten für die Verbesserung der sicheren Entsorgung radioaktiver Abfälle aufgezeigt werden.

Durch Kooperation der Forschungszentren Jülich, Karlsruhe und Dresden sowie der Arbeitsgruppen der Universitäten Aachen, Hannover und Frankfurt sollen neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Immobilisierung von Actiniden in keramischen Materialien gewonnen werden. Hierzu zählen Untersuchungen an synthetischen Phosphaten mit Monazitstruktur und Zirkonaten mit Pyrochlorstruktur hinsichtlich der Mechanismen der reversiblen Phasentransformation kristallin ↔ amorph sowie der chemischen und thermodynamischen Stabilität der Phasen.

Am Institut für Kristallographie der RWTH Aachen sollen im Rahmen des Projektes vordergründig Einkristalle der Lanthanoidmonazite hergestellt und untersucht werden. Dies wird in Kooperation vor allem mit dem Forschungszentrum Jülich (Teilprojekt A), dem RWTH-GHI (Teilprojekt D) sowie der Goethe-Universität Frankfurt am Main (Teilprojekt F) erfolgen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese der Immobilisierungsmatrices
- AP2: Strukturelle Charakterisierung
- AP3: Strahlenschäden
- AP4: Thermodynamik und physikalische Eigenschaften
- AP5: Korrosionsbeständigkeit unter Endlagerbedingungen
- AP6: Abschlussbericht, Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Um die Dilatometrie-Untersuchungen an den Sinterkörpern abzuschließen, wurde eine letzte Probe für das Frankfurter Teilprojekt hergestellt. Eine Veröffentlichung hierzu befindet sich in der Korrektur durch die Coautoren. An Einkristallen der Mischreihe  $(\text{La,Pr})\text{PO}_4$  wurden in Frankfurt (Teilprojekt F) Mikrokalorimetriemessungen vorgenommen. An den zwei Mischreihen  $(\text{Nd,Sm})\text{PO}_4$  und  $(\text{Pr,Sm})\text{PO}_4$  wurde Raman-spektroskopische Messungen in Frankfurt durchgeführt.

Ergänzend zur Hochtemperaturlösungskalorimetrie (UC Davis, CA, USA) wurden nachträgliche DSC-Messungen an  $(\text{La,Pr})\text{PO}_4$  vorgenommen.

Die röntgenographische Untersuchung der Einkristalle  $(\text{La,Pr})\text{PO}_4$  wurde fortgesetzt. Weiterhin wurden erfolgreich mehrere Einkristalle der Mischreihen  $(\text{Pr,Nd})\text{PO}_4$  und  $(\text{Nd,Sm})\text{PO}_4$  synthetisiert.

Im September nahm die durch das Projekt finanzierte Doktorandin am „JCNS Laboratory Course - Neutron Scattering“ in Jülich und Garching teil, im November folgte die MRS-Tagung in Montpellier, Frankreich, bei der sowohl die bisherigen Ergebnisse während eines Vortrags präsentiert wurden als auch das halbjährliche BMBF-Verbundtreffen stattfand.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Publikation zum Thema  $(\text{La,Pr})\text{PO}_4$  soll fertiggestellt werden, nachdem die letzten Kalorimetriemessungen erfolgt sind. Des Weiteren soll die zweite Publikation in Kooperation mit Frankfurt (Teilprojekt F) über die Ergebnisse der Hochtemperaturdiffraktometrie- und Dilatometrie-Versuche veröffentlicht werden. Eine Publikation über Hochdruckphasenumwandlungen an  $\text{LaPO}_4$  ist in Arbeit.

Eine vergleichende Studie der vier Mischreihen  $(\text{La,Pr})\text{PO}_4$ ,  $(\text{Nd,Sm})\text{PO}_4$ ,  $(\text{Pr,Nd})\text{PO}_4$  und  $(\text{Pr,Sm})\text{PO}_4$  ist in Planung.

Die Doktorandinnen der Arbeitsgruppen des Teilprojektes D und E organisieren das Verbundtreffen im Februar 2016 zum Abschluss des BMBF Projektes Conditioning. Dort sollen die Ergebnisse der Einzelprojekte zusammengefasst und Perspektiven und Aufgaben für zukünftige Endlagerungsforschung besprochen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Eine Vollveröffentlichung eingereicht bei Chemistry Physics Letters (Januar, 2016)  
Coautor bei zwei Abstracts für DGK Stuttgart, März 2016

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Grüneburgplatz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 021F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 238.092,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Winkler	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Vorhabens ist es, ein Verständnis des Langzeitverhaltens von Radionukliden in keramischen Endlagermatrices unter endlagerrelevanten Bedingungen abzuleiten. Im Frankfurter Teilprojekt sollen strukturelle und physikalische Charakterisierungen von Keramiken und Kristallen vorgenommen werden.

Dazu sollen verschiedene experimentelle Techniken zum Einsatz kommen:

(a) Bestimmung von elastischen Eigenschaften bei Temperaturen bis 1600 K durch resonante Ultraschallspektroskopie (RUS), (b) Messung thermodynamischer Größen durch Mikrokalorimetrie, (c) Bestimmung der thermischen Ausdehnung durch Dilatometrie im Temperaturbereich von 100 K bis 1700 K, (d) In-situ-RUS-Messungen während der Bestrahlung mit relativistischen Schwerionen an der GSI (Darmstadt), (e) strukturelle Charakterisierungen mit Röntgen- und Neutronendiffraktionsmessungen an Großforschungseinrichtungen (PETRA III, ESRF, APS, LANSCE). Die Experimente sollen durch atomistische Modellrechnungen auf DFT-Basis ergänzt werden, um ein besseres Verständnis der Struktur-Eigenschaftsbeziehungen zu erhalten.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Themenbereich 2 (Strukturelle Charakterisierung) sollen durch Neutronen- und Synchrotrondiffraktionsexperimente sowie Messung von Paarverteilungsfunktionen bei schlechtkristallinen Verbindungen durchgeführt werden. Diese Experimente werden durch theoretische Modellrechnungen (DFT) sowie Messungen von elastischen Eigenschaften und der thermischen Ausdehnung ergänzt.

Im Themenbereich 3 (Strahlenschäden) sollen die Änderungen der elastischen Eigenschaften der untersuchten Proben durch Strahlenschäden untersucht werden. Dazu werden Ultraschallmessungen (RUS) während der Bestrahlung mit Schwerionen durchgeführt. Thermodynamische Eigenschaften der bestrahlten und ausgeheilten Proben werden durch Messungen mit einem Mikrokalorimeter bestimmt.

Im Themenbereich 4 (Thermodynamik und physikalische Eigenschaften) ist die Bestimmung thermodynamischer Größen durch Mikrokalorimetrie geplant.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum ist die Vertragslaufzeit von Frau Dr. Anja Thust zum 31. Juli 2015 ausgelaufen. Die Charakterisierung der Keramiken wurde bis Ende Juli weitgehend abgeschlossen. Die Veröffentlichung in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Jülich wurde im Berichtszeitraum akzeptiert und in der Zeitschrift – Journal of the American Ceramic Society – veröffentlicht.

In Zusammenarbeit mit den Projektpartnern der RWTH-Aachen, Arbeitsgruppe Prof. G. Roth wurden die experimentellen Arbeiten im Juli größtenteils abgeschlossen. Die in Aachen hergestellten (La,Pr)PO<sub>4</sub> Keramiken werden nun hinsichtlich ihres Sinterverhaltens, thermischen Ausdehnung und der Ausbildung ihrer Mikrostruktur ausgewertet. Dabei wurde deutlich, dass der gewählte Herstellungsprozess dieser Keramiken zu sehr homogenen Proben mit einer hohen Dichte führt. Die Veröffentlichung zu diesen Proben befindet sich in Arbeit.

Im November 2015 hat Frau Thust an der EMRS in Montpellier, Frankreich einen Vortrag gehalten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Es werden zur Fertigstellung noch einige wenige Messungen benötigt, diese werden in den letzten drei Monaten der Projektlaufzeit abgeschlossen. Mit den Ergebnissen dieser Messungen kann die Veröffentlichung in Zusammenarbeit mit der RWTH-Aachen abgeschlossen und eingereicht werden. Ebenfalls sind weitere Arbeiten unter hohen Drücken und zur Photolumineszenz an den entsprechenden Einkristallen geplant. Die entsprechenden Veröffentlichungen werden dann in enger Kooperation mit den jeweiligen Projektpartnern fertiggestellt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Thust et al.: Physical properties of La<sub>1-x</sub>Eu<sub>x</sub>PO<sub>4</sub>, 0 ≤ x ≤ 1, monazite-type ceramics. Journal of the American Ceramic Society, (eingereicht, Journal of the American Ceramic Society)

Thust et al.: Microstructural properties of monazite-type ceramics. EMRS, Montpellier, November 2015 (Abstract, Vortrag).

Thust et al.: Influence of defects and Eu-content on the microstructure of La<sub>1-x</sub>Eu<sub>x</sub>PO<sub>4</sub> solid solutions, Journal of Applied Physics. In Vorbereitung.

Alencar et al.: On the degradation of monazite ceramic pellets with high energy heavy ions, Scripta Materialia. In Vorbereitung.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 021G
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt G		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2012 bis 31.03.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 231.108,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Walther	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Als Matrizen für Endlagerung radioaktiver Abfälle kommen zurzeit hauptsächlich Borosilikatgläser zum Einsatz. Seit Jahrzehnten werden allerdings Alternativen diskutiert, zum Beispiel keramische Materialien, die aufgrund ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften als erfolgversprechend gelten. Im Rahmen des vorliegenden Projekts werden sowohl Keramiken (hauptsächlich für kationische Radionuklide) als auch Alternativen für Anionenrückhaltung genauer untersucht werden. Das IRS wird in Zusammenarbeit mit dem IEK6 Apatit und Hydrotalcit auf ihre Eignung zum Einbau von Iod, Cs und Tc aus separierten Abfallströmen untersuchen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese der Immobilisierungsmatrizes
- AP2: Strukturelle Charakterisierung
- AP3: Strahlenschäden
- AP4: Thermodynamik und physikalische Eigenschaften
- AP5: Korrosionsbeständigkeit unter Endlagerbedingungen
- AP6: Abschlussbericht, Publikationen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Immobilisierung von Tc(VII) an Apatit (Calcium Hydroxylapatit), Goethit ( $\alpha$ -FeOOH) und LDH (Hydrotalcit and Pyroaurit) untersucht. Im Fall der LDH Phase wurde auch die Auswirkung von CO<sub>2</sub> auf die Tc(VII) Aufnahme bestimmt. Die Stabilität von Tc-LDH und Tc-FeOOH wurde in Auslaugungsexperimenten unter Standardbedingungen und unter N<sub>2</sub> Atmosphäre gemessen. Der Oxidationszustand des Tc sowie dessen chemische Umgebung wurde mittels Röntgen Absorptions Spektroskopie (XAS) bestimmt. Die Abhängigkeit der Auslaugung der Tc-LDH and Tc-FeOOH Phasen von pH und Ionenstärke sowie der Effekt von CO<sub>2</sub> wurde in weiteren Experimenten untersucht.

Der Einbau von Tc in Apatit ist mit 15.4 µg/g recht gering. In Anwesenheit von Fe(II) erfolgte Reduktion des Tc(VII) zu Tc(IV) und infolgedessen eine Immobilisierung auf dem Goethit. Die maximal eingebaute Menge Tc betrug 2.88mg/g. Mittels XAS wurde eine teilweise Reoxidation des Tc(IV) im Tc-FeOOH nach 10 Monaten Lagerung unter Standardbe-

dingungen beobachtet (keine Untersuchung der Kinetik). Experimente an bei 450°C vorbehandeltem LDH zeigten eine starke Abhängigkeit von der verwendeten umgebenden Atmosphäre. Bei beiden LDHs (HTC-450 und PyA-450) ist die Aufnahme in reinem N<sub>2</sub> maximal und sinkt bei Anwesenheit von CO<sub>2</sub>. Da in diesem Fall keine Redox Reaktionen zu erwarten sind, ist dieser Effekt wohl auf Konkurrenz von CO<sub>2</sub> (oder CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) mit TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> um Bindungsplätze an den LDH Phasen zu interpretieren.

In Tc-HTC and Tc-PyA liegt Technetium gemäß XANES Untersuchungen anionisch vor (Tc(VII)O<sub>4</sub><sup>-</sup>) und wird daher von CO<sub>2</sub> nicht beeinflusst. Aus den EXAFS Spektren wurde der Tc-O Abstand identifiziert, der Tc-Metall Abstand konnte aufgrund des limitierten K-Raums der XAS-Messungen nicht bestimmt zu werden. Die Tc(VII)-Bindung an die LDH Phasen haben ionischen Charakter. Die Sorptionskapazität für Tc(VII) an synthetisiertem LDH wurde mittels Sorptionsisothermen gemessen. Diese folgen der Langmuir Gleichung: Die maximale Kapazität des PyA ist mit 0.259 mol/kg doppelt so hoch wie der entsprechende Wert für HTC (0.116 mol/kg). Hingegen ist die Adsorptionskonstante höher für HTC ( $1.72 \cdot 10^5$  mol/L) als für PyA ( $4.83 \cdot 10^4$  mol/L) – ein klares Zeichen, dass die Adsorption des Tc(VII) auf HTC schneller erfolgt als an PyA. Die Stabilität von Tc-LDH und Tc-FeOOH wurde in entionisiertem Wasser (pH 10.5), TRIS-Puffer (pH 8.1) und hoch salinärer Lösung (Q-Lauge, MgCl<sub>2</sub> dominiert) untersucht. Auch der Einfluss des pH und konkurrierender Ionen in der Lösung wurde bestimmt. Parallele Tests in N<sub>2</sub> und Luft wurden durchgeführt. Auf die Freisetzung von Tc(VII) aus LDH hatte der pH keinen Einfluss. Unter Luft einfluss ist die Tc Freisetzung etwas höher, bleibt aber innerhalb von 3 Monaten unterhalb von 0.1 %. Im Gegensatz zu entionisiertem Wasser und zum TRIS Puffer erfolgt in Q-Lauge eine quantitative Freisetzung innerhalb von 3 Monaten. Aufgrund der Befunde früherer Arbeiten lässt sich die schnelle Tc(VII) Substitution auf die höhere Affinität des LDH zu Cl<sup>-</sup> Anion als zu TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> zurückführen.

Ähnlich den LDH Phasen, verursachen TRIS und basische Lösungen keine signifikante Freisetzung von Tc aus Tc-FeOOH, i.e über 99.98 wt% des Tc verbleibt nach 3 Monaten Kontakt mit der Lösung in der Festphase. Q-Lauge ist auch für Tc-FeOOH sehr korrosiv: Innerhalb von nur 2 Tagen werden ca. 14 wt% freigesetzt. Dies unterstreicht die geringe Stabilität von Tc-FeOOH. Obwohl Tc vierwertig an α-FeOOH gebunden wird, wird es sehr schnell freigesetzt. Eine mögliche Erklärung ist die Komplexierung des Tc durch Cl<sup>-</sup> Anionen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Auswertung der EXAFS Spektren von Tc-FeOOH Proben hinsichtlich des Verhältnisses der Redoxzustände Tc(IV)/Tc(VII) sowie der Ordnung im Nahfeld.
- Veröffentlichung zu den Tc-LDH Wechselwirkungen fertigstellen.
- Abschlussbericht erstellen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Die Ergebnisse der Tc-LDH Wechselwirkung wurden auf der Goldschmidt-2015 Konferenz in Prag vorgestellt. Elektronisch verfügbar

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 28.02.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.324.928,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Altmaier	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP1: Initialisierungsarbeiten

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei erhöhten Temperaturen

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

AP5: Bewertung von Schätzmethode.

AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen des Berichtszeitraums wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- Projektmanagement. Projekttreffen, Kommunikation von ThermAc an externe Gruppen.
- Abschluss des nicht erfolgreichen Bewerbungsverfahrens für die Doktorandenstelle. Antrag auf Umwidmung in Post-Doc Stelle (ab 3-2016 besetzt mit Dr. Jun-Yeop Lee).
- Abschluss der Literaturstudie über Temperatureinflüsse auf wässrige Actinidenchemie.
- Initiierung der Autoklavexperimente mit Np(V) und Nd(III) Festphasen in NaCl, MgCl<sub>2</sub> und CaCl<sub>2</sub> Systemen.
- Löslichkeitsexperimente mit Nd(III) zu Bewertung von T-Einflüssen auf Löslichkeit.
- Experimente mit Na<sub>2</sub>U<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O(cr). => thermodyn. Daten und Vergleich mit Schätzmethode.
- Darstellung und Alterung von weiteren UO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O(cr) und Na<sub>2</sub>U<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O(cr) Phasen für spätere Löslichkeitsexperimente.

Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS

- Schwerpunkt der Arbeiten lag bei der Herstellung und Reinigung von Natrium- und Magnesiumhexacyanoferraten. Neuentwicklung einer optimierten Syntheseroute für Natriumhexacyanoferrat(III) notwendig, da Literaturmethoden nicht erfolgreich.

Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos<sup>21</sup>

- Identifizierung relevanter Datenlücken und kritische Analyse vorhandener Entropie und Enthalpie Daten. => Zusammenfassende Excel-Tabelle. Bewertung von Schätzmethode.

Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES

- Abschluss der Literaturstudie zur isocoulombischen/iselektrischen Schätzmethode. Arbeit an C++-Klassenstruktur von PMATCHC und Definition der zukünftigen graphenbasierten Datenbankstruktur von PMATCH++.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Für das erste Halbjahr 2016 sind von KIT-INE folgende Aktivitäten geplant:

- Planung der Experimente im System Ca/Mg-U(VI)-CO<sub>3</sub> und Festphasensynthesen.
- Weiterführung der o. g. Autoklavexperimente und Identifikation relevanter An-Festphasen.
- Beginn weiterer Autoklavexperimente mit U(VI) in MgCl<sub>2</sub> und CaCl<sub>2</sub> Systemen.
- Löslichkeitsexperimente bei T = 50 und 80 °C mit UO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O(cr) und Na<sub>2</sub>U<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O(cr). Experimente bei höheren T mit Nd(OH)<sub>3</sub>(s) und Nd(OH)<sub>2</sub>Cl(s).

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS

- Beginn isopiesterischer Messungen an Hexacyanoferraten und der Redoxmessungen in Natriumchloridlösungen.

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos<sup>21</sup>

- Identifizierung von Datenlücken in zusätzlichen U(VI)-Sulfat, Cm-Fluorit, Ra-Sulfat Systemen. Abschluss der Bewertung von Schätzmethode und erste Anwendung auf U(VI) System. Literatursichtung zur Bewertung höherer Temp. auf SIT Parameter.

Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES

- Entwicklung eines Algorithmus für Analyse isocoul./isoel. Reaktionen. Entwicklung der C++-Bibliothek TcorrPT. Konversion der Datenbankstruktur von PMATCHC zu einer JSON-basierten Graphdatenbank für PMATCH++. Postdoktorand G. Dan Miron wird seine Arbeit am 01.04.2016 aufnehmen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

ThermAc - a joint project on aquatic actinide chemistry and thermodynamics at elevated temperature conditions.

Altmaier, M., et al.: Book of Abstracts, pp. 290-291, 15th International Conference on the Chemistry and Migration Behaviour of Actinides and Fission Products in the Geosphere, Migration 2015, September 13 – 18, 2015, Santa Fe, USA.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 28.02.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 576.619,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Brendler	

## 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

AP1:

Ausgehend von der Literatursuche wurde eine Tabelle erstellt, in der neben den thermodynamischen Kenngrößen, Komplexbildungskonstanten, Enthalpie, Entropie und freie Enthalpie auch alle nötigen experimentellen Parameter zusammengefasst wurden. Diese wurde in eine analog von AMPHOS21 erstellte Tabelle integriert. Die resultierende Tabelle mit allen für ThermAc relevanten Elemente und Liganden steht jedem Projektpartner zur Verfügung.

AP2:

Es wurden verschiedene Schätzverfahren (van't Hoff, DQUANT und Ryzhenko-Bryzgalin) für die Temperatur-Extrapolation bezüglich folgender Systeme angewendet und untereinander verglichen:  $\text{UO}_2^{2+}-\text{SO}_4^{2-}$ ;  $\text{UO}_2^{2+}-\text{CO}_3^{2-}$ ;  $\text{UO}_2^{2+}-\text{OH}^-$ ). Die Schätzverfahren zeigen im Sulfat- und Hydroxo-System übereinstimmende Temperaturverläufe, dies gilt jedoch nicht für die einzelnen Carbonatspezies.

AP3:

Ein neuangeschaffter Titrator mit Temperatursteuerung wurde mittels temperaturstabilem Interface direkt vor die entsprechenden Messgeräte (TRLFS und UV/Vis) installiert und getestet, so dass nun Probenvorbereitung und –messung für spektroskopische Titrations teilautomatisiert und temperaturstabil erfolgen können.

Das System  $\text{UO}_2^{2+}-\text{SO}_4^{2-}$  wurde bei verschiedenen Uran-Ligand Verhältnissen, pH-Werten und Temperaturen mittels TRLFS, UV-Vis und Raman untersucht. Dabei wurden für die thermodynamisch relevanten 1:1 und 1:2-Komplexe die individuellen Spektren bestimmt und die Komplexbildungskonstanten bei pH 2.5 erhalten.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1:

Die Literatur-Gesamttabelle soll von allen Projektpartnern weitergeführt werden.

AP2:

Das Helgeson-Kirkham-Flowers-Modell soll als weitere Schätzmethode auf die verschiedenen Systeme angewendet werden. Die berechneten Temperaturverläufe sollen punktuell mit spektroskopischen Techniken überprüft werden.

AP3:

Die thermodynamische Betrachtung des Uransulfatsystems soll auf höhere pH-Werte ausgeweitet werden. Zur Validierung werden auch UV/Vis und Raman-Spektroskopie eingesetzt, bei letzterem wird die Methode SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) angewendet werden, um höhere Empfindlichkeiten im Uran-Sulfat-, Uran-Carbonat und Uran-Hydroxid-System zu erlangen.

Mittels ATR-FT-IR Spektroskopie wird das Uran-Carbonat-System bei höheren Temperaturen untersucht und Gleichgewichtskonstanten der Spezies ermittelt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 28.02.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 479.748,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Panak	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

WP1:

Aufbauend auf den bisherigen Ergebnissen zur Komplexbildung von Cm(III) mit Chlorid in LiCl-Lösung wurden die Arbeiten auf verdünnte bis gesättigte NaCl-, CaCl<sub>2</sub>- und MgCl<sub>2</sub>-Lösungen ausgeweitet. Mit steigender Chloridkonzentration und Temperatur ist die Ausbil-

derung von vier Cm(III)-Chloro-Spezies zu beobachten. Die Ergebnisse zeigen, dass auch in anderen Elektrolytlösungen eine bevorzugte Bildung des  $[\text{Cm}(\text{Cl})_2]^+$  Komplexes mit steigender Temperatur erfolgt. Die  $\log \beta^0_2(T)$  Werte stehen dabei in guter Übereinstimmung. Im Mittel zeigt der  $\log \beta^0_2(75\text{ °C}) = 0.42 \pm 0.40$  einen starken Anstieg um mehr als 2 logarithmische Einheiten im Temperaturbereich bis 200 °C. Die Temperaturabhängigkeit des gesamten Datensatzes für  $\log \beta^0_2(T)$  konnte mittels der erweiterten Van't Hoff Gleichung unter Berücksichtigung einer geringen Wärmekapazität beschrieben werden. Hierbei zeigte sich, dass die Anpassung einen  $\log \beta^0_2(25\text{ °C}) = -1.2 \pm 0.3$  erforderte und nicht mit dem von der NEA-TDB empfohlenen Wert ( $\log \beta^0_2(25\text{ °C}) = -0.74$ ) möglich war. Die so bestimmten thermodynamischen Funktionen für die Bildung des  $[\text{Cm}(\text{Cl})_2]^+$  Komplexes zeigen eine endotherme Reaktion welche stark entropiegetrieben ist ( $\Delta_r H^0_{m,2} = 57.4 \pm 4.0$  kJ/mol;  $\Delta_r S^0_{m,2} = 172.5 \pm 2.6$  J/mol·K;  $\Delta_r C^0_{p,m,2} = 10.0 \pm 3.0$  J/mol·K).

WP2:

Die Arbeiten zum experimentellen Aufbau für Untersuchungen der Hydrolyse von Cm(III) und Eu(III) wurden fortgeführt. Das experimentelle Setup wurde um einen temperierbaren Mehrfachküvettenhalter sowie eine Micro-pH-Elektrode erweitert und die Quarzfaser für die Laseranregung in die Inertgasbox eingebracht. Eine definierte  $\text{Eu}(\text{OH})_3$ -Festphase wurde synthetisiert und mittels XRD charakterisiert.

WP3:

Das experimentelle Setup für die Untersuchungen der Komplexbildung von Np(V) wurde aufgebaut. Hierbei wurde ein maßgefertigter, temperierbarer Küvettenhalter in ein Absorptionsspektrometer (Cary 5G) eingebaut und mit einem Thermostaten gekoppelt. Die Untersuchungen zur Komplexbildung von Np(V) mit Fluorid im Temperaturbereich von 20 – 90 °C wurden begonnen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Fertigstellung des experimentellen Aufbaus für Untersuchungen der Hydrolyse von Cm(III) und Eu(III) sowie Installation einer Neutronenabschirmung. Synthese und Charakterisierung einer  $\text{Cm}(\text{OH})_3$ -Festphase. Beginn der Untersuchungen zur Hydrolyse von Eu(III) und Cm(III).

Installation eines experimentellen Setups zu absorptionsspektroskopischen Untersuchungen von Np(V) bei  $T > 100$  °C. Untersuchungen mit weiteren anorganischen Liganden ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) und  $T \leq 200$  °C.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: Komplexbildung von trivalenten Actiniden mit Chlorid in Alkali- und Erdalkalilösungen im Temperaturbereich von  $T = 20 - 200$  °C, Poster, GDCh Wissenschaftsforum `15, Dresden, Germany., August 30 - September 2, 2015.

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: The thermodynamics of the complexation of Cm(III) with chloride in alkaline and earth-alkaline solutions at elevated temperatures, Poster, Migration 2015, Santa Fe (NM), USA, September 13-18, 2015.

Koke, C., Skerencak-Frech, A., Panak, P.J.: The complexation and thermodynamics of Cm(III) with chloride in diluted to saturated NaCl, LiCl,  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{MgCl}_2$  solutions studied by time resolved laser fluorescence spectroscopy, in preparation.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 28.02.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 422.181,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Brandt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gesamtziel des Projekts ist die Erweiterung der thermodynamischen Datenbasis für Actiniden, langlebige Spaltprodukte und Matrixelemente mit Relevanz für die Endlagerung hochradioaktiver wärmeproduzierender Abfälle. Der Fokus liegt auf dem Verhalten in aquatischen Systemen bei erhöhten Temperaturen bis 90 °C und niedrigen bis mittleren Ionenstärken - unter Nutzung von Abschätzalgorithmen, neuen experimentellen Untersuchungen und quantenchemisch gestützten Strukturinformationen. Um dieses Ziel zu erreichen, werden die beteiligten Verbundpartner aus Universitäten und nationale Forschungseinrichtungen ihre Expertise und Aktivitäten in Synthese, Charakterisierung, und Theorie bündeln, um zu einen tieferen Verständnis der Thermodynamik der ausgewählten Systeme zu gelangen. Durch die das Projekt im Wesentlichen tragenden Doktoranden und Post-Doc Stellen und die verbesserte Vernetzung der beteiligten Institutionen wird ein wichtiger Beitrag zur Nachwuchsförderung mit dem Ziel des Erhalts und der Erweiterung von radiochemischer und kerntechnischer Kompetenz in Deutschland geleistet.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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 endlagerrelevanten 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*

Das IEK-6 nimmt an den *kursiv* gedruckten Arbeitspaketen (AP) teil.

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

- AP1 Die Literaturrecherche und Ermittlung verfügbarer thermodynamischer Daten für die beiden zu untersuchenden Systeme wurden abgeschlossen.
- AP3 Die Experimente zur Synthese und Charakterisierung von Zr-haltigen LDH laufen und erste Produkte wurden charakterisiert. Rekristallisationsexperimente von Baryt in Gegenwart von Radium laufen nun bei insgesamt vier unterschiedlichen Temperaturen. Erste Ergebnisse über die Rekristallisation von Baryt bei 70 und 90 °C wurden auf der Tagung „Migration“ in Santa Fe, USA vorgestellt und mit einem Posterpreis ausgezeichnet.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

- AP3 Die Experimente werden wie geplant fortgesetzt. Erste Ergebnisse zum Radium-Bariumsulfat liegen vor und werden weiter ausgewertet, mit Schwerpunkt auf der geochemischen Modellierung und Ableitung thermodynamischer Daten. Bei den Zr-LDH wurden erste erfolgreiche Synthesen durchgeführt, die nun umfassend charakterisiert werden.
- AP5 Die Arbeiten zu AP5 werden nach Vorliegen erster experimenteller Daten im ersten Halbjahr 2016 gestartet.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 28.02.2018		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 394.116,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Krüger

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziele:

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

Bezug zu anderen Vorhaben: Teilprojekt im Verbund ThermAc.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst folgende Arbeitspakete:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Methodenevaluierung; AP2: Einkernige Neptunium(V)-Komplexe; AP3: Einkernige Np(VI)-Komplexe

Arbeiten zur Evaluierung verschiedener Dichtefunktionalmethoden (AP1) wurden fortgesetzt. Daten zu Aquaionen der Actinyle An(V/VI) konnten für Np(V) vervollständigt werden. Für das Ion  $\text{NpO}_2^+$  bestätigte sich die Koordinationszahl 4 für GGA-Funktionale durch Berechnung der Energien der Bindung von Wasserliganden, was auch mit Ergebnissen zur Geometrie der Aquakomplexe verträglich ist. Mit M06L erhält man die Koordinationszahlen 4 und 5 im Gleichgewicht und für das Hybridfunktional PBE0 wird die Koordinationszahl 5 bevorzugt. Rechnungen zu symmetrischen und asymmetrischen Actinylschwingungsfrequenzen der Aquakomplexe zeigen gute Übereinstimmung mit dem Experiment für Np(V), fallen allerdings für U(VI) zu tief aus. PBE0 liefert in allen Fällen zu hohe Schwingungsfrequenzen der Actinyle. Diese Untersuchungen werden derzeit durch Rechnungen zu Np(VI) abgerundet. Untersuchungen zu einkernigen Np-Komplexen wurden mit der Modellierung von Carbonatspezies (AP2 und 3) begonnen. Als Modelle wurden hierbei die Spezies  $\text{An}(\text{CO}_3)(\text{H}_2\text{O})_3^{0/-}$ ,  $\text{An}(\text{CO}_3)_2\text{H}_2\text{O}^{2-/3-}$  und  $\text{An}(\text{CO}_3)^{4-/5-}$  verwendet. Komplexbildungsenergien, die von den Modellkomplexen überschätzt werden, geben den Trend gemessener Komplexierungskonstanten  $U(\text{VI}) > \text{Np}(\text{VI}) \gg \text{Np}(\text{V})$  jedoch richtig wieder. Relative Komplexbildungsenergien passen gut zu experimentellen Daten, mit der Ausnahme von Np(V)-Tricarbonat. Hier wird eine größere relative Komplexierungsenergie erhalten als in der NEA-TDB verzeichnet, die jedoch gut mit älteren Daten übereinstimmt. Berechnete geometrische Parameter der Tricarbonat bestätigen gemessene, lediglich die Länge der Actinylbindung wird im Modell überschätzt. Auch für Np(V)-Dicarbonat besteht gute Übereinstimmung mit EXAFS-Resultaten, während für Np(V)-Monocarbonat Abweichungen vorliegen. Hier ist zu klären, ob im Experiment eventuell weitere vorhandene Spezies zum gemittelten Resultat beitragen. Derzeit werden die genannten Modellierungen um Komplexe mit abweichender Koordinationszahl ergänzt, um eventuell mögliche Isomere zu identifizieren. Da Bicarbonat  $\text{HCO}_3^-$  die häufigste Spezies des Carbonatgleichgewichts im pH-Bereich 6-10 ist, wurden auch Komplexe  $\text{AnHCO}_3(\text{H}_2\text{O})_3^{-/0}$  untersucht. Bisherige Ergebnisse legen nahe, dass Monobicarbonatkomplexe im Vergleich zu Monocarbonatkomplexen im basischen Bereich instabil, jedoch im sauren Bereich thermodynamisch bevorzugt sind. Analog deuten vorläufige Resultate in Übereinstimmung mit einer QM/MM-Simulation darauf hin, dass, falls Protonen verfügbar sind,  $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2\text{HCO}_3^{3-}$  stabiler ist als das entsprechende Tricarbonat, so dass mit einem entsprechenden Ergebnis für Np(VI) zu rechnen ist.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Methodenevaluierung; AP2: Einkernige Neptunium(V)-Komplexe; AP3: Einkernige Np(VI)-Komplexe; AP5: Temperaturabhängigkeit der Komplexierung

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.



### **2.3 Strahlenforschung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.823.301,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Fournier	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer, physikalische Dosimetrie für die Bestrahlungsexperimente.
- AP2: Biologische Dosimetrie, Schadensinduktion durch Radon in Zellkulturen und Gewebe.
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen.
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen und im Knochen.
- AP5: Intrazelluläre Signaltransduktion (insbesondere NF $\kappa$ B), Regulation von Adhäsionsmolekülen.
- AP6: Untersuchung entzündungshemmender Reaktionen durch cholinerge Mechanismen.
- AP7: Inhibition der Schmerzentstehung durch Veränderung der Aktivität von Ionenkanälen.
- AP8: Diskontinuierliche Dosis-Effekt-Beziehung (DNA-Reparatur, Stressantwort, ROS).
- AP9: Untersuchung immunologischer Gefahrensignale und entzündlicher Reaktionen im Tiermodell.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Am neuen Gammadetektor wurde mit der umfangreichen Inbetriebnahme begonnen und erste Testmessungen durchgeführt. Das Auswertemodell zur direkten Messung der Radondiffusion wurde weiter verbessert und durch Simulationen ergänzt. Die Inbetriebnahme und Dosimetrie einer Apparatur

zur Bestrahlung von Zellproben mit einer Alphaquelle wurde erfolgreich abgeschlossen und die Anlage für Zellexperimente freigegeben.

- AP3: Erste mFISH Analysen von 2 Radontherapiepatienten haben gezeigt, dass 0.1 % bzw. 0.3 % der Lymphozyten beider Spender Translokationen aufweisen, die auf einem Bruchpunkt im Bereich eines T-Zell-Rezeptorgens basieren. Um ein größeres Patientenkollektiv untersuchen zu können, wurde eine zeit- und kostengünstigere Interphase-FISH Technik eingesetzt, d. h. die Genregion des wiederkehrenden Bruchpunktes wurde mit einer „break apart-Sonde“ markiert. Die umfangreiche Validierung des neuen Testverfahrens nach klinischen Kriterien zeigte jedoch, dass die analytische Sensitivität dieses Assays zu gering ist. Diese Versuchsserie wurde daher abgebrochen. In weiteren Untersuchungen sollen Aberrationen wieder in Metaphasezellen mit der aufwändigen mFISH Technik ausgewertet werden. Im Berichtszeitraum wurden weiterhin die Datensätze über Chromosomenschäden in Lymphozyten gesunder Spender komplettiert.
- AP4: (a) Es wurden weitere Experimente mit der FlowChamber durchgeführt, die den Einfluss des LETs bei Bestrahlung beschleunigten Ionen (C und He) näher charakterisieren. Zu diesem Thema sind zwei Publikationen in Arbeit.  
(b) Mechanistische Untersuchungen zur Inaktivierung von Osteoklasten wurden fortgeführt. Es wurde die Expression der RANK und DC-STAMP Rezeptoren nach Bestrahlung sowie der pro- und anti-apoptotischen p53 und BCL-2 Proteine in Osteoklasten untersucht. Der Adipokinlevel im Serum der Radon-behandelten Patienten hat Veränderungen gezeigt, die auch nach Medikamenteneinnahme berichtet werden. Die Bestrahlung von synovialen Fibroblasten führte zu einer deutlichen Abnahme von adipokininduzierten Faktoren (IL-6, MMP-1). Zwei Publikationen werden vorbereitet.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Der Experimentier-Betrieb kann am alten Standort bis auf weiteres fortgeführt werden. Die Messungen zum Diffusionsverhalten von Radon sollen fortgeführt werden. Mit dem neuen Gammadetektor sollen Messungen zur Radonverteilung in unterschiedlichen Geweben durchgeführt und die bisherigen Messungen ergänzt werden. Messungen an Patienten sollen vorbereitet werden.
- AP3: Es ist geplant, Chromosomenschäden in Lymphozyten von weiteren Radontherapiepatienten (vor Therapiebeginn sowie zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung) zu analysieren. Außerdem sollen Chromosomenschäden in Knochenmarkszellen von Wildtyp und polyarthritischen Mäusen, die in vivo mit Alphateilchen oder Röntgenstrahlen bestrahlt wurden, quantifiziert werden.
- AP4: (a) Zur Vervollständigung der Datensätze werden Ergänzungsexperimente mit Röntgenbestrahlung sowie weitere Bestrahlungen mit beschleunigten Ionen durchgeführt.  
(b) Die Bestrahlung von Vorläufer-Osteoklasten mit  $\alpha$ -Teilchen zur Untersuchung von Differenzierung und Aktivität ist geplant. Die Freisetzung von Adipokinen im Serum der Röntgen-behandelten Patienten soll gemessen werden. Weiterhin soll die Auswirkung von Bestrahlung auf adipokininduzierte Freisetzung von proentzündlichen Faktoren durch synoviale Fibroblasten untersucht werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Maier A., van Beek P., Hellmund J., Durante M., Schardt D., Kraft G., Fournier C.: Experimental setup for radon exposure and first diffusion studies using gamma spectroscopy. Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B, 362 :187-193 (2015)

Kraft D., Rall M., Volcic M., Metzler E., Groo A., Stahl A., Bauer L., Nasonova E., Salles D., Taucher-Scholz G., Bönig H., Fournier C., Wiesmüller L.: NF- $\kappa$ B-dependent DNA damage-signaling differentially regulates DNA double-strand break repair mechanisms in immature and mature human hematopoietic cells. Leukemia, 29:1543-1554 (2015)

Kraft D., Ritter S., Durante M., Seifried E., Fournier C. und Tonn T.: Transmission of clonal chromosomal abnormalities in human hematopoietic stem and progenitor cells surviving radiation exposure. Mutat. Res., 777:43-51 (2015)

Rall M., Kraft D., Volcic M., Cucu A., Nasonova E., Taucher-Scholz G., Bönig H., Wiesmüller L., Fournier C.: Impact of Charged Particle Exposure on Homologous DNA Double-Strand Break Repair in Human Blood-Derived Cells. Front. Oncol., 5:250 (2015)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2015		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.07.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 324.660,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Thiel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der vergangenen Förderperiode wurden die Experimente über den Einfluss von Strahlung auf Lymphozyten konsequent fortgeführt. Die vorherigen Untersuchungen hatten gezeigt, dass eine Bestrahlung schon mit niedrigen Dosen zu einer morphologischen Veränderung von T-Lymphozyten führt. Die darauf folgenden Studien haben gezeigt, dass die Behandlung mit ionisierenden Strahlen in der Tat bei diesen Zellen die gleichen funktionsrelevanten Eigenschaften hervorruft, die auch bei einer Immunstimulation durch Mitogene detektierbar sind. Unsere Arbeiten mit mehreren spezifischen Antikörpern zeigen, dass die bestrahlten Zellen sowohl die typische Expression von Ionenkanälen wie auch von Rezeptoren aufweist. Detaillierte Messungen zeigen, dass bei den untersuchten T-Lymphozyten nur etwa die Hälfte der Zellen nach Bestrahlung mit einer erhöhten Plasmamembranexpression eines typischen Kv-Kanals reagiert. Die fluoreszenzoptischen Messungen, die ein Vorhandensein des Kanals in der Membran widerspiegeln werden durch elektrophysiologische Daten unterstützt, die zeigen, dass in einer Population von T-Lymphozyten auch etwa nur jede zweite Zelle einen erhöhten Strom aufweist, der auf die Aktivität eines solchen Kanals hinweist. Bisher haben wir noch nicht verstanden warum in einer vermeintlich homogenen Zellpopulation die Hälfte der Zellen auf Strahlung reagiert und die andere nicht.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Wir haben das System der Strahleninduzierten Immuninduktion von T-Lymphozyten inzwischen so gut etabliert und quantifiziert um jetzt die gleichen Versuche auch mit einer Radonquelle oder in der Radonkammer durchführen zu können. Im Verlauf dieser Arbeiten werden wir dann auch untersuchen, ob dieses Phänomen auf Jurkat Zellen beschränkt ist oder auch bei nativen humanen T-Lymphozyten beobachtet werden kann.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikation:

C. Gibhardt, B. Roth, I. Schroeder, S. Fuck, P. Becker, B. Jakob, C. Fournier, A. Moroni, G. Thiel: „X-ray irradiation activates  $K^+$  channels via ROS signaling”, Science Reports 2015, Sep 9;5:13861. doi: 10.1038/srep13861.

P. Voos, M. Yazar, A. Moroni, G. Thiel: “The small neurotoxin apamin blocks not only small conductance  $Ca^{2+}$  activated  $K^+$  channels (SK type) but also the voltage dependent Kv1.3 channel”, (in revision)

Vortrag:

Patrick Voos: „Ionizing radiation leads to changes in morphology as well as in the plasma membrane`s ion channel composition of lymphocytes”, Grewis Verbundtreffen Sept. 2015

Abschlussarbeiten:

Dominique Tandl (Bachelorarbeit): „Auswirkungen ionisierender Strahlung auf die Aktivierung der Jurkat Zelllinie“, Dez. 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.01.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 213.924,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Layer	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Projekt 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. Chromosomenaberrationen in peripheren Lymphozyten und hämatopoetischen Stammzellen der Maus sollen als genetische Indikatoren analysiert und mit menschlichen Daten aus der Tumor- und Rheumatherapie verglichen werden. In Zell- und Tierversuchen soll die entzündungshemmende Wirkung von Radon mit molekularbiologischen Mitteln untersucht und mit Therapie-Daten verglichen werden (siehe Antrag).

Im vorliegenden *Teilprojekt C (AP6)* soll der Einfluss des so genannten *cholinergic anti-inflammatory pathway (CAIP)* auf das Entzündungsgeschehen nach Radonbehandlung an Zell- und Tiersystemen, die auch in AP5 zum Einsatz kommen, untersucht werden. Die Befunde müssen eng mit denjenigen aus den anderen Teilprojekten, insbesondere TP4, 5 und 9 verglichen und ausgewertet werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Konstruktion einer Radonkammer sowie physikalische Dosimetrie für die Bestrahlungsexperimente (GSI)
- AP2: Biologische Dosimetrie, Untersuchung der Schadensinduktion durch Radon in Zellkulturen und Gewebe (TUD)
- AP3: Abschätzung des Strahlenrisikos durch Untersuchung chromosomaler Aberrationen (GSI)
- AP4: Untersuchung von zellulären und molekularen Interaktionen in Blutgefäßen und im Knochen (GSI)
- AP5: Intrazelluläre Signaltransduktion im Zusammenhang mit NF- $\kappa$ B und der Regulation von Adhäsionsmolekülen (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 (DNA-Reparatur, Stressantwort, ROS) (GUF)
- AP9: Untersuchung immunologischer Gefahrensignale und entzündlicher Reaktionen im Tiermodell (UKER)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Hiermit möchte ich alle bisherigen Resultate zusammenfassen. Als Teil des GREWIS-Projekts waren wir im AP6 mit der Analyse des cholinergen Systems bei Entwicklungsprozessen und Krankheiten befaßt, insbesondere mit der Rolle des anti-inflammatorischen Signalwegs (CAIP). Der CAIP ist ein viel diskutierter Topos in der Ursachenforschung von vielen immunrelevanten Krankheiten, um daraus schlussendlich Therapien herleiten zu können. Die rheumatoide Arthritis (RA) ist eine Krankheit, die mit einer (Zer)Störung von Knorpel und Knochen einhergeht. Das GREWIS-Projekt beschäftigt sich mit der heilenden Rolle von Radonstrahlung, die u. a. mit Bestrahlungen (Alpha- und Röntgen-Strahlung) eines arthritischen Mausmodells untersucht wird. Um die Rolle des cholinergen Systems bei Knorpel- und Knochenbildung sowie deren Regulation zu analysieren, haben wir dreidimensionale Hochdichte-Micromass-Zellkultursysteme etabliert, mit welchen wir die Bildung von Knorpel und Knochen *in vitro* nachvollziehen können, wobei wir jeweils von embryonalen Gliedanlagen der Maus oder dem Huhn ausgingen. Für die vorliegenden Studien gingen wir von mesenchymalen Stammzellen von 11.5 Tage (E11.5) alten Gliedmaßen der Maus aus. Diese Kulturen wurden zu Osteoblasten differenziert, um sodann die Wirkungen von Röntgenbestrahlungen sowie cholinerge Regulation zu analysieren.

Röntgenstrahlung als mögliche Therapiequelle

Bei einem Projekttreffen an der GSI wurden die Befunde von Niedrigdosisbestrahlung (0.5 Gy Röntgen) auf transgene TNF $\alpha$ -Mäuse diskutiert. Dabei zeigte sich, daß Röntgenstrahlung effektiv zur Behandlung von rheumatoider Arthritis eingesetzt werden könnte. Unsere Befunde aus der Bestrahlung von Micromass-Kulturen mit 2 Gy, aber nicht mit 0.5 Gy, deuteten in dieselbe Richtung (s. unten). Dabei wurde die AChE-Aktivität nach Bestrahlung von TNF $\alpha$ -behandelten Kulturen leicht

erhöht, was auf eine Beteiligung des cholinergen Systems bei der Bestrahlungsreaktion hinweist. Es ist bemerkenswert, dass bei Bestrahlung von Kontroll-Micromass-Kulturen (ohne TNF $\alpha$ ) mit 2 Gy Röntgen die Kulturen schon eine beschleunigte Differenzierung zeigten, was anhand der frühen Knötchenbildung sowie erhöhter AChE- und ALP-Aktivitäten zu erkennen war. Diese Befunde zeigen, dass die Bestrahlung alleine einen direkten Effekt auf die Skelettbildung *in vitro* hat. Auch wenn die zugrunde liegenden Mechanismen der Bestrahlungs-, wie auch der TNF $\alpha$ -Effekte noch weiter geklärt werden müssen, lassen unsere bisherigen Befunde klar auf eine Beteiligung des cholinergen anti-inflammatorischen Signalwegs (CAIP) bei Entzündungsreaktionen schließen.

#### Einfluss der Bestrahlung auf die Knochenbildung

Die besagten Micromass-Kulturen wurden 0.5 und 2 Gy Röntgenstrahlung ausgesetzt. Während wir bei 0.5 Gy keine Effekte nachweisen konnten, war nach 2 Gy Bestrahlung die Bildung von Knorpel-Zellknötchen ("nodules") deutlich gegenüber den Kontrollen beschleunigt. Ferner waren dabei die Acetylcholinesterase (AChE)-, sowie die alkalische Phosphatase (ALP)-Aktivitäten deutlich erhöht, was mit einer verfrühten Mineralisierung einherging. Dies deutet an, dass die Röntgenstrahlung die Knochenbildung beschleunigen kann.

#### Wirkung von TNF $\alpha$ auf die Differenzierung von Osteoblasten

Nun wurden die Kulturen mit TNF $\alpha$  behandelt, um eine Entzündungsreaktion *in vitro* zu simulieren. Dabei sollte die Reaktion der AChE entweder nach alleiniger TNF $\alpha$ -Behandlung oder nach Ko-Behandlung mit TNF $\alpha$  zusammen mit Bestrahlung untersucht werden. Die Behandlung mit TNF $\alpha$  alleine beeinflusste die Osteoblasten-Differenzierung, wie mit der Alizarinrot- und der ALP-Färbung gezeigt wurde. Die AChE-Aktivität war dabei auch reduziert, was eine Beteiligung des cholinergen Systems bei diesem Entzündungsmodell nahelegt. Nachdem die TNF $\alpha$ -behandelten Proben 2 Gy Röntgenstrahlung ausgesetzt worden waren, war der Einfluss von TNF $\alpha$  nicht mehr nachweisbar. Dies legt nahe, daß die Bestrahlung den TNF $\alpha$ -Effekten entgegenwirkte. Die AChE-Aktivität wurde hierbei leicht erhöht.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

(ii) kostenneutrale Verlängerung von AP6 in den Monaten 37-42:

- Analyse der Expressionsmuster cholinergischer Komponenten im transgenen Arthritis-Mausmodell.
- Analyse der Expression cholinergischer Komponenten nach Bestrahlung der transgenen arthritischen Mäuse.

Am 08.07.2015 habe ich eine kostenneutrale Laufzeitverlängerung für AP6 um 6 Monate beim Kostenträger beantragt. Begründung: die Arbeiten, die auf der experimentellen Seite von Dr. Thangaraj und einem Diplomanden getragen wurden, wurden leider durch folgende Gründe immer wieder und ohne unser eigenes Verschulden verzögert und somit noch nicht abgeschlossen: 1. Wir hatten wenige Bestrahlzeiten, wodurch die Erhebung statistisch verlässlicher Daten schwierig ist. 2. Die Kryostatschnitte, die wir von Erlangen erhielten, schwammen immer wieder vom Objektträger ab. Trotz mehrfacher Reklamation von unserer Seite ließ sich dieses Problem nur leidlich regeln. 3. Auch haben sich bei der Durchführung der Micromass-Kulturen aus der Maus erhebliche Probleme gezeigt, weil die Übertragung vom Hühnchen (was bei uns bestens etabliert war) auf die Maus immer wieder schwierig war. 4. Hinzu kamen dabei große Lieferschwierigkeiten von Mausembryonen, was durch unsere Tierhaltung bedingt war. So sind wir derzeit in einer Situation, wo wir zwar hoffnungsvolle Resultate im Projekt haben, diese aber noch nicht in einem Vollmanuskript publizieren können (ein Poster bei einer "cholinergen" Tagung in Alicante im September 2015 wird einen der bisherigen Resultate beschreiben). Herr Dr. Thangaraj soll nun auf einer Halbtagesstelle vom FB10 der TUD für weitere sechs Monate finanziert. Mit noch vorhandenen Restgeldern (Sachmittel) wird Herr Dr. Thangaraj noch ausstehende Experimente durchführen, was uns die Möglichkeit bietet, einen publikationsfähigen Status in diesem Teilprojekt noch erreichen zu können.

Dies war der Stand, wie ich ihn in meinem letzten Bericht projektiert hatte. Die Verlängerung wurde vom Projektträger dankenswerterweise genehmigt. Wie oben ausgeführt, sollte Dr. Thangaraj in diesen 6 Monaten ausstehende Experimente fertigstellen und zur Publikation bringen. Dies war leider nur teilweise möglich, weil Dr. Thangaraj am 21.10.2015 Deutschland verlassen und in seinem Heimatland Indien eine neue Stellung als Ass. Professor angenommen hat. Er hatte sich zu diesem verfrühten Abschied entschlossen, weil seine Finanzierung wie auch seine Visum-Situation für ihn nicht mehr tragbar waren. Ich habe dann mit der Hilfe noch verbliebener Mitarbeiter einige Arbeiten vollenden können (meine AG wurde mit dem Beginn meiner Nachfolgerin Prof. U. Nuber Ende 2015 aufgelöst). Erfreulich ist, dass wir im September ein Poster auf der Intern. Cholinesterase-Tagung in Elche/Spanien ausstellen konnten. Ferner konnten wir die wesentlichen Ergebnisse aus diesem Teilprojekt als Publikation bei Biol.-Chem. Interactions einreichen, welche demnächst "in press" sein dürfte.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Präsentationen an der GSI durch Dr. Thangaraj: siehe frühere Berichte

Thangaraj G, Manakov V and Layer PG (2015). Radiation treatments and cholinergic actions in rheumatoid arthritis: effects of TNF-alpha are masked by AChE inhibition in mouse micromass cultures. Poster Abstract at Int. Conference on ChEs in Elche/Spain (Poster SO6P-10).

Gopenath Thangaraj, Vadim Manakov, Aljona Cucu, Claudia Fournier and Paul G. Layer (2016). Inflammatory effects of TNF $\alpha$  are counteracted by X-ray irradiation and AChE inhibition in mouse micromass cultures. Biol. Chem. Interact., in revision.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2015		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.07.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 832.129,20 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Cardoso

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Verbundprojekt Grewis sollen die genetische und die entzündungshemmende Wirkung von dicht ionisierender Strahlung - insbesondere von Radon - untersucht werden. Neben Röntgen- und Alpha-Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radon Kammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes sowie in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt. Chromosomenaberrationen in peripheren Lymphozyten und hämatopoetischen Stammzellen der Maus sollen als genetische Indikatoren analysiert und mit menschlichen Daten aus der Tumor- und Rheuma-Therapie verglichen werden. In Zell- und Tier-Versuchen soll die entzündungshemmende Wirkung von Radon mit molekularbiologischen Mitteln untersucht werden und mit Therapie Daten verglichen werden (siehe Antrag).

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### *Meilenstein AP5:*

#### I. (Monate 1-6)

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

## II. (Monate 6-24)

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

## III. (Monate 25-36)

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

## IV. (Monate 18-24)

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Wir analysierten die Wirkung von Röntgenstrahlung auf die Verteilung von NF- $\kappa$ B Transkriptionsfaktoren p65, p50 und p100 während der Monozytendifferenzierung zu Osteoklasten.

Im Falle von p100 (nicht-kanonischer NF- $\kappa$ B Signalweg) konnte eine Stunde nach Bestrahlung keine TNF alpha- oder bestrahlungsabhängige Aktivierung gemessen werden. Nach Monozytendifferenzierung zu Osteoklasten beobachteten wir eine TNF-alpha abhängige Aktivierung von p100, die möglicherweise auf Sekundäreffekte („Feedforward“ Effekt) des kanonischen NF- $\kappa$ B Signalweges zurückzuführen ist.

Im Falle von p65 und p50 (kanonischer NF- $\kappa$ B Signalweg) deuten unsere Ergebnisse eine Stunde nach Bestrahlung auf eine strahlungsabhängige Aktivierung des kanonischer NF- $\kappa$ B Signalweg hin. In bestrahlten Proben wird der TNF-alpha abhängige Stimulationseffekt auf den kanonischer NF- $\kappa$ B Signalweg abgeschwächt. Nach Monozytendifferenzierung zu Osteoklasten beobachteten wir ebenfalls eine TNF-alpha abhängige Aktivierung des kanonischer NF- $\kappa$ B Signalwegs.

Nach zweiwöchiger Differenzierung fiel die morphologische Heterogenität der differenzierten Proben im Vergleich zu undifferenzierten Proben auf. Diese morphologischen Unterschiede verlangen eine Modifizierung der bisherigen Analyseverfahren. Im speziellen sollten die beobachteten Subpopulationen getrennt ausgewertet und analysiert werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im Laufe der nächsten sechs Monate planen wir:

- (i) die statistischen Auswertung der Endothelzelleexperimente abzuschließen;
- (ii) Fortsetzung und Wiederholung der Osteoklastenexperimente;
- (iii) Etablierung angemessener Bildanalyseverfahren zur Auswertung der Osteoklastensubpopulation.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

A. Becker, P. Zhang, L. Allmann, D. Meilinger, B. Bertulat, D. Eck, M. Hofstaetter, G. Bartolomei, M. Hottinger, V. Schreiber, H. Leonhardt, M. C. Cardoso (2016): J Biol. Chem. PMID: 26772194

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.07.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.007.984,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWIS sollen die genetische und die entzündungshemmende Wirkung von dicht ionisierender Strahlung, insbesondere von Radon untersucht werden. Die hier vorgeschlagene interaktive Forschungsarbeit wird zu einem besseren Verständnis der Wirkung von Radon beitragen und die Auseinandersetzung von jungen Wissenschaftlern mit den vielseitigen Aspekten der Radon-Problematik fördern. Wir erwarten wichtige Erkenntnisse für den Strahlenschutz von langlebigen radioaktiven Isotopen und Verbesserungen in der therapeutischen Anwendung von Radon und der niedrig-dosierten Strahlentherapie nicht maligner Erkrankungen gewinnen zu können. Neben Röntgen- und  $\alpha$ -Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radonkammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes und in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt. In Zell- und Tier-Versuchen soll die Entzündungs-hemmende Wirkung von Radon mit molekular-biologischen Mitteln untersucht werden und mit Therapie-Daten verglichen werden. GREWIS verfolgt einen neuen Ansatz: wissenschaftliche Techniken und Kenntnisse verschiedener Institute, auch von Fachleuten, die bis jetzt keine Strahlenbiologie betreiben, zusammen zu bringen und zu verknüpfen.

Das Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GSI durchgeführt.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Schwerpunkte des Forschungsvorhabens der AG Löbrich an der TUD sind folgende Untersuchungen:

- Bestrahlung von Zellkulturen mit einer  $^{241}\text{Am}$ -Quelle
- Bestimmung von  $\alpha$ -Teilchenspuren in zellulären Monolayern, lateral und in Bestrahlungsrichtung (mit und ohne Kollimator)
- Bestimmung von  $\alpha$ -Teilchenspuren in zellulären Multilayern; Ausdehnung und Reichweite der Spuren
- Etablierung von Auswerte-Algorithmen/Methoden/Konzepten zur Analyse konfokaler/dekonvulierter Spurstrukturen
- Etablierung von Immunfluoreszenzfärbungen zum biosimetrischen Nachweis von  $\alpha$ -Teilchen
- Empfindlichkeitsbestimmung: Schadenshintergrund im Gewebe (Foci pro Zelle), untere Nachweisgrenze (Foci pro Zelle)
- Charakterisierung/Zelltypisierung der jeweiligen Organe
- Erstellung von Eichkurven mit Röntgenstrahlen (zur Bestimmung von Äquivalenzdosen)
- Exposition von Mäusen mit Radongas
- Exposition mit unphysiologisch hohen Dosen zur Etablierung des Mausmodells zur Biosimetrie
- 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 Radongas sich im Körper verteilt und ob eine Anreicherung in bestimmten Organen zu beobachten ist. Dazu werden die durch Radonzerfälle bzw. durch Zerfälle der Tochternuklide induzierten DNA-Doppel-Strangbrüche (DSBs) über den hochsensitiven  $\gamma$ H2AX-53BP1-Foci Assay nachgewiesen und quantifiziert.

Es wird angenommen, dass Radon über die Haut und die Lunge in den Organismus gelangen kann und sich in diesem durch freie Diffusion verteilt. Zusätzlich zur freien Diffusion von Radon können sich Tochternuklide, welche in der Luft entstanden sind, an Staubpartikel anheften und eingeatmet werden. Innerhalb der Atemwege bzw. der Lunge, wo sich die Staubpartikel anheften, können dann weitere Zerfälle der Tochternuklide stattfinden. Aufgrund dessen wurde in der Lunge eine im Vergleich zu den anderen Organen höhere DSB-Anzahl erwartet, welche experimentell bestätigt werden konnte. Die Analyse der Radon-exponierten Mäuse wurde von einer zweiten unabhängigen Person wiederholt und so die bisherigen Ergebnisse validiert. Die Absolutzahlen der auswertenden Personen weichen geringfügig voneinander ab, dies war jedoch zu erwarten und ist auf die individuelle Beurteilung der Fluoreszenzsignale beim Nachweis von  $\gamma$ H2AX bzw. 53BP1 zurück zu führen.

Um das Ergebnis der erhöhten DSB-Anzahl in der Lunge und die damit assoziierte Rolle der Staubpartikel in der Luft besser zu verstehen und zu validieren, war es notwendig andere Bereiche der Atemwege, wie die Luftröhre, zu untersuchen. Wie die Luftröhre am besten präpariert wird und ob DSBs als  $\gamma$ H2AX-53BP1-Foci nachgewiesen werden können, war jedoch unklar. Diese Fragestellung wurde im Rahmen eines Forschungspraktikums untersucht. Diese Arbeit zeigte, dass aufgrund der geringen Abmessungen der Luftröhre deren Präparation sowie die Herstellung der Gewebeschnitte sehr viel Sorgfalt und Präzision erfordert. Nach Abschluss der Etablierungsarbeiten können nun auch DSBs in der Luftröhre über den  $\gamma$ H2AX-53BP1-Foci Assay nachgewiesen und quantifiziert werden.

Parallel dazu wurde die biodosimetrische Analyse weitergeführt. Hier wurde jeweils ein weiteres Tier in die Analyse eingeschlossen, um die Aussagekraft der bisher erhaltenen Ergebnisse zu stärken. Zusätzlich wurden die  $\gamma$ H2AX-53BP1-Foci für weitere Zeitpunkte (1 h, 24 h) nach der Radonexposition quantifiziert. Da Tochternuklide, die sich im Körper befinden, auch nach Beendigung der Radonexposition weiter zerfallen, ermöglichen diese Zeitpunkte zum einen die Analyse der Ausbildung von neuen Schäden (1 h), und zum anderen die Analyse der Reparaturprozesse (1 h, 24 h).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die biodosimetrische Analyse weiterer Tiere bzw. weiterer Zeitpunkte (nach Beendigung der Radonexposition) soll fortgeführt werden. Zusätzlich sollen zu jedem Zeitpunkt auch die Gewebe von mit Röntgenstrahlung bestrahlten Mäusen als Referenz untersucht werden.

Um von der Anzahl der  $\gamma$ H2AX-Foci Rückschlüsse auf die applizierte Dosis ziehen zu können, sind weiterführende Versuche mit der Röntgenröhre und der  $\alpha$ -Quelle in der Zellkultur geplant. Bei der Dosisermittlung muss berücksichtigt werden, dass DNA-Schäden nach einem  $\alpha$ -Zerfall komplexer sind und ein  $\gamma$ H2AX-Focus daher mehrere DSBs repräsentieren kann, was nach einer Röntgenbestrahlung lediglich ein zu vernachlässigendes Ereignis ist. Aufgrund dessen soll ein Korrekturfaktor für die Quantifizierung von  $\gamma$ H2AX-Foci bei gleicher Dosis nach Bestrahlung mit der Röntgenröhre bzw. der  $\alpha$ -Quelle definiert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

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

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

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Grüneburgplatz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2015		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.07.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 483.408,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rödel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Für die anti-inflammatorische Wirkung einer niedrig dosierten Strahlentherapie (LD-RT: Low Dose Radiation Therapy) konnten in den vergangenen Jahren eine Reihe zugrunde liegender 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 zugrunde liegenden molekularen Mechanismen existieren, untersucht werden. Dazu werden als mögliche übergeordnete Regulationsmechanismen die Rolle der DNA-Reparatur, der zellulären Stressantwort und der Aktivität von reaktiven Sauerstoffradikalen bzw. antioxidativen Systemen in der Modulation von Entzündungsprozessen evaluiert. Diese Untersuchungen bilden zudem eine Grundlage für ein vertieftes Verständnis der Modulation von Adhäsionsprozessen (TP Fournier), der NF- $\kappa$ B-Aktivierung (TP Cardoso), des cholinergen System (TP Layer) und von Ionenkanälen (TP Thiel) nach Bestrahlung.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Unsere vorangegangenen Untersuchungen nach Bestrahlung von Endothelzellen mit Röntgenstrahlung zeigten eine diskontinuierliche Expression und Aktivität des Transkriptionsfaktors Nrf2, verbunden mit einer verminderten Expression und Aktivität von wesentlichen Komponenten des antioxidativen Systems.

Diese wiederum resultierten in einer erhöhten intrazellulären Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die in kausalem Zusammenhang mit einer diskontinuierlichen Modulation der Leukozyten-Adhäsion an Endothelzellen mit einem lokalen Minimum bei einer Strahlendosis von 0,5 Gy (Photonen) stand. Bisher ungeklärt ist jedoch die Frage, welche Effekte unterschiedliche Strahlenqualitäten und -energien auf die Dosis-Wirkungsbeziehung des antioxidativen Systems von Endothelzellen im Bereich niedriger Dosen haben. Im Berichtszeitraum wurde deshalb in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Fournier (TP Fournier) der Frage nachgegangen, welchen Einfluss Bestrahlungen mit Kohlenstoff (C)- und Helium (He)-Ionen im Vergleich mit Photonen auf die ROS-Produktion und die Expression und Aktivität des Enzyms Superoxid-Dismutase (SOD) in TNF $\alpha$ -stimulierten, primären humanen dermalen mikrovaskulären Endothelzellen (HMVEC) und der endothelialen Hybridzelllinie Ea.hy926 haben. Hierbei konnte gezeigt werden, dass eine Bestrahlung mit Kohlenstoff (C)-Ionen mit einem LET von 325 keV/ $\mu$ m in Wasser zu einer erhöhten intrazellulären ROS-Konzentration bei 0,1 Gy führt, während eine Helium (He)-Ionenbestrahlung (LET: 76 keV/ $\mu$ m) ähnlich wie bei Röntgenstrahlung ein lokales ROS-Maximum bei 0,5 Gy aufwies. Die Expression und Aktivität von SOD wurde durch Schwerionenbestrahlung jedoch kaum moduliert. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu einer geringeren SOD-Expression und -Aktivität nach 0,5 Gy Photonen. Bei allen Untersuchungen waren die Effekte bei Ea.hy926 Zellen stärker ausgeprägt als bei primären Endothelzellen. Insgesamt konnten wir aus unseren Daten schlussfolgern, dass die diskontinuierliche Expression und Aktivität von Komponenten des antioxidativen Systems und die intrazelluläre ROS-Produktion nicht alleine von der Dosis abhängig ist, sondern vielmehr auch von der Strahlenqualität und -energie. Diese Effekte könnten zudem zu einer abweichenden Modulation der Leukozyten-Adhäsion an Endothelzellen nach C-Ionenbestrahlung, wie sie von der AG Fournier berichtet wurden, beitragen. Das Wissen um eine unterschiedliche Modulation der anti-inflammatorischen Wirkung niedrig dosierter Strahlung in Abhängigkeit der Strahlenqualität ist für die Strahlentherapie benigner Erkrankungen von entscheidender Bedeutung.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im Rahmen des AP1 werden DNA-Reparaturwege in Leukozyten untersucht, während die Bedeutung von High-mobility group box 1 protein (HMGB1) für das Danger Signaling von Endothelzellen und Leukozyten nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen in AP2 weiter analysiert wird. In unseren bisherigen Studien konnte der Transkriptionsfaktor Nrf2 als Schlüsselprotein für die Modulation der Expression wesentlicher Komponenten des antioxidativen Systems und des Adhäsionsprozesses im Niedrigdosisbereich identifiziert werden. In weiteren Studien im AP3 werden diese Mechanismen auch nach Schwerionenbestrahlung weiter untersucht sowie die Bedeutung von miRNAs für die diskontinuierliche Regulation von Nrf2 nach Bestrahlung analysiert. Im Rahmen von AP4 erfolgt die Untersuchung von Gewebeproben hTNF $\alpha$  transgener Mäuse nach Bestrahlung (Photonen, Radon) hinsichtlich einer potentiellen Modulation der Expression antioxidativer Schlüsselenzyme, die zu einer anti-inflammatorischen Wirkung in vivo beitragen könnten.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Large M, Hehlhans S, Reichert S, Gaipf US, Fournier C, Rödel C, Weiss C, Rödel F. Study of the anti-inflammatory effects of low-dose radiation : The contribution of biphasic regulation of the antioxidative system in endothelial cells. *Strahlenther Onkol.* 2015; 191: 742-749.

Frey B, Hehlhans S, Rödel F\*, Gaipf US\*. Modulation of inflammation by low and high doses of ionizing radiation – implications for benign and malign diseases. *Cancer Lett* 2015; 368: 230-237, \* beide Autoren haben gleichermaßen zur Publikation beigetragen.

Hehlhans S, Oppermann J, Reichert S, Fulda S, Rödel C, Rödel F: The SMAC mimetic BV6 sensitizes colorectal cancer cells to ionizing radiation by interfering with DNA repair processes and enhancing apoptosis. *Radiat Oncol* 2015, 10: 198

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 017G</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.02.2012 bis 31.07.2015	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 636.516,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> PD Dr. Gaipf	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Bestimmung des spezifischen Immunstatus von Patienten vor, während und nach der Behandlung mit Röntgenstrahlung oder Radon Exposition.
- AP2: Funktionelle *ex vivo* Analysen von Monozyten/Makrophagen und weiteren Immunzellen von Patienten nach Behandlung mit LDRT oder Radon.
- AP3: Untersuchung des Krankheitsverlaufes der chronischen Polyarthrit an hTNF- $\alpha$  transgenen Mäusen nach Exposition mit X-rays oder Radon.
- AP4: Analyse von immunmodulierend wirkenden Gefahrensignalen im Serum der Mäuse vor, während und nach Exposition mit X-rays oder Radon.
- AP5: Untersuchung von Inflammationsgewebe, Osteoklasteninfiltration und Knorpeldestruktion in Gelenken der hTNF- $\alpha$  transgenen Mäuse vor und nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Strahlenqualitäten und -dosen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Daten aus der RAD-ON01 Studie wurden für zwei Publikationen zusammengestellt. Diese stehen kurz vor der Fertigstellung und sollen im Frühjahr 2016 eingereicht werden. Außerdem wurden die Analysen der Serumproben größtenteils abgeschlossen und werden nun im Vergleich zu individuellen Schmerzparametern und zum Immunstatus ausgewertet. Ebenfalls wurde mit der Verfassung der Dissertationsschrift, welche sich mit der Wirkung ionisierender Strahlung auf das humane Immunsystem befasst, begonnen und diese steht kurz vor der Fertigstellung. Die Immunphänotypisierung (IPT), welche für die detaillierte Bestimmung des Immunsystems in der RAD-ON01 Studie entwickelt wurde, konnte für die in 2016 geplanten Studien IMMO-LDRT01 und RAD-ON02 weiter entwickelt werden. Dabei wurden die Analysen auf die Immunzellen fokussiert, welche in der RAD-ON01 Studie moduliert waren. Das reduziert Kosten und Arbeitsaufwand und ermöglicht die Verarbeitung von mehr Proben am selben Tag. Die RAD-ON02 ist eine direkte Folgestudie inklusive einer Placebo-Gruppe, um direkte Radon-Effekte abschätzen und bestätigen zu können. Die IMMO-LDRT01 ist eine parallele Vergleichsstudie zur immunologischen Wirkung von lokal applizierten niedrigdosierte Röntgenstrahlen. Für beide Studien wurden alle benötigten Anträge geschrieben und die positiven Ethikvoten liegen nun vor (IMMO-LDRT0 (NCT02653079): 12.11.2015, 289\_15B (Ethikkommission FAU) und RAD-ON02: 19.01.2016, 15113 (BLÄK)). Parallel dazu wurden die immunologischen Untersuchungen auf Tumorpatienten welche eine Hochdosis-Strahlentherapie erhalten weiter ausgeweitet. In zwei dieser Studien wurden Zwischenauswertungen durchgeführt und die Daten hierzu sollen bis Q2 2016 publiziert werden.

Der eingereichte Abstract „The Osteoimmunological Mechanistic Basis of Low-Dose Radiotherapy in TNF Driven Arthritis“ zum Jahreskongress des ACR wurde angenommen und im November 2015 in Form einer geleiteten Posterbegehung in San Francisco präsentiert. Auf europäischer Ebene wurde ein Abstract beim 36. *European Workshop for Rheumatology Research* eingereicht. Der Beitrag wurde in Form einer Posterpräsentation angenommen und in *Annals of the Rheumatic Diseases* veröffentlicht. Zusätzlich wurde der Beitrag mit einem *Bursary*/Stipendium der *European League Against Rheumatism* (EULAR) ausgezeichnet. Die Untersuchungen mit murinen *fibroblast like synoviocytes* (FLS) sind weitestgehend abgeschlossen. Es zeigte sich, dass im Fall der hTNF $\alpha$  tg FLS ein signifikanter Anstieg der Zelltodesrate ab einer Dosis von 0,5Gy einhergehend mit einer Reduktion der Freisetzung entzündlicher Zytokine vorliegt. Dies ist im Einklang mit der Beobachtung in den Pfoten bestrahlter Mäuse, bei denen die entzündlichen Areale nach einer Dosis von 0,5Gy ebenfalls signifikant abnehmen. Die Auswertungen des Scratch-Assays dauern noch an. Im Rahmen der Untersuchungen zur Knochenhomöostase wurden nun auch Untersuchungen zur Mineralisierungsfähigkeit von Osteoblasten durchgeführt. Zwei hTNF $\alpha$  tg Osteoblasten-Linien wurden bereits untersucht, ein Wiederholungsversuch läuft gerade. Es zeigt sich bisher, dass die Mineralisierungsfähigkeit durch niedrig dosierte Röntgenstrahlung positiv beeinflussbar ist. Um ein ganzheitliches Bild zum Knochenstoffwechsel zu erhalten, werden die Tibien von *in vivo* bestrahlten Tieren ebenfalls auf die Anzahl und Verteilung von Osteoblasten hin untersucht. Die dazu gehörigen Färbungen wurden abgeschlossen, die Auszählung wird im Februar 2016 abgeschlossen werden. Die Tierversuchsanträge für die LD-RT und Radonversuche wurden von den Regierungen genehmigt (13.11.2015: AZ: 55.2-DMS-2532-2-114; 10.12.2015: AZ: V54-19C20/15-DA17/ANZ.1001).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Fertigstellung der Dissertation ist bis März 2016 geplant. Im Anschluss sollen alle genannten weiteren Publikationen fertiggestellt werden. Der Ablauf der RAD-ON02 und IMMO-LDRT01 Studien inklusive des Proben-austausches zwischen den einzelnen Arbeitspaketen wird ausgearbeitet. Die IMMO-LDRT01 soll im Frühling starten und die RAD-ON02 im Herbst 2016 beginnen. Zur RAD-ON02 ist außerdem wieder eine öffentliche Probanden-Informationsveranstaltung angesetzt. Die Ergebnisse der murinen osteoimmunologischen Untersuchungen werden zur Publikation vorbereitet und abschließende Experimente durchgeführt. Eine Masterarbeit, welche sich weiterhin mit den osteoimmunologischen Modulationen durch niedrige Strahlendosen beschäftigen wird, startet im Q2 2016. Zu diesem Zweck sollen auch neue Methoden wie ein Matrigel Fibroblast-Invasion-Assay etabliert werden. Die Etablierung und Qualitätskontrolle der Primer zur Vermessung von humanen und murinen FLS, Osteoblasten und Osteoklasten wurde abgeschlossen; die Vermessung dauert noch an. Die Versuche in der Radonkammer an der GSI werden im Q2 2016 starten. Partner des AP4 werden Ende Februar 2016 nach Erlangen kommen, um für die Versuche notwendige Protokolle einzumessen. Die Zuchten der Mäuse wurden für die anstehenden Versuche aufgestockt, erste Experimente sind für März 2016 geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ott et al., *Strahlenther Onkol.* 2015 Dec;191(12):979-984. (b) Derer et al., *Cancer Immunol Immunother.* 2015 Nov 21. [Epub ahead of print] (c) Derer et al., *Front Immunol.* 2015 Oct 8;6:505 (d) Candeias et al., *Anticancer Agents Med Chem.* 2015;16(1):101-7.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 024A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 1		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 375.472,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Hornhardt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Verbundprojekt sollen in humanen Zelllinien mit genau charakterisierter Strahlenempfindlichkeit veränderte Gene bzw. Proteine erfasst werden. Durch eine 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 Kandidatengen 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 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. Prof. Dr. K. Lauber).

In dem hier vorliegenden Bericht wird AP1 „Identifizierung und Validierung von Targetproteinen“ beschrieben. Ziel ist, strahlenregulierte Proteine in strahlenempfindlichen und strahlenresistenten Zellen zu identifizieren. Diese veränderte Expression der Proteine nach Bestrahlung wird durch Proteomanalyse erkannt und sollte sich in unterschiedlich strahlenempfindlichen Zellen unterscheiden. Dazu sollen sowohl bereits charakterisierte humane Zellen (02NUK007C), als auch an Kandidatengen regulierte Zelllinien und strahlenresistente Zelllinien der Verbundpartner eingesetzt werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Arbeitspaket 1: Identifizierung und Validierung von Targetproteinen

- AP1: Proteom-Profile von Zellkulturmodellen strahlenüberempfindlicher normaler Zellen und strahlenresistenter HNSCC-Zellen (BfS/HMGU/LMU)
- AP2: Validierung regulierter Proteine in Proteinextrakten aus den verschiedenen Zelllinien und zusätzlich in Proteinextrakten aus stimulierten/nicht-stimulierten Lymphozyten (BfS)
- AP3: Proteom-Profile von Modellzelllinien mit verminderter oder verstärkter Genexpression von Targets (BfS/HMGU/LMU)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Ergebnisse der Proteomprofile von Zellkulturmodellen strahlenüberempfindlicher und normaler Zellen mit Hilfe der 2D-DIGE-Analyse sind abgeschlossen. Die Ergebnisse der Proteomanalyse wurden mit mikroRNA-Daten aus AP2 zusammengeführt. In Kooperation mit AP5 wurden Proteomprofile von Lungengewebe der Maus (unbestrahlt/ bestrahlt/ bestrahlt+Therapie) mit der 2D DIGE Methode erstellt und die deregulierten Proteine massenspektrometrisch identifiziert. Die Ergebnisse wurden zur Validierung und Pathway-Analyse an AP5 weitergegeben.
- AP2: Das Testen der bisherigen Kandidatenproteine (CCT6A, CDC6/7/45, CLIC1, EEF2, hnRNP H/L, HSP70, HSP90, LMNA, MCM2/3/4/5/6/7/10, MSH2, P53, PSME1, RAD50, Reptin, RUVB1/2, TIP49B, RNF20, Sept11, SerpinB9, SIRT1, SIRT2, SND1, SOD2, Thrombospondin 1, TIP49A, VAT1, VCL, VCP, Vdac und VIM) im Westernblot ist in den lymphoblastoiden Zelllinien abgeschlossen. Kandidatenproteine werden mit aktueller Literatur verglichen. Die Daten zur Proteomanalyse werden für eine Publikation vorbereitet. Die MCM7 und p53 Expression nach Bestrahlung wurde 24h nach Bestrahlung mit 2 Gy in primären Lymphozyten (2 weibliche, 2 männliche Spender) überprüft. MCM7 und p53 sind nach Bestrahlung nicht reguliert.
- Um die strahleninduzierten Effekte auf die Expression von MCM7 weiter zu validieren, wurden Westernblots mit den MCM-Komplexpартnern durchgeführt. Die Quantifizierung zeigte bei den Komplex-Partnern den gleichen Verlauf nach Bestrahlung wie MCM7 bei den verschiedenen strahlenempfindlichen Zelllinien. Weiterhin wurden mittels Kopräzipitation die Komplexpartner nachgewiesen. Dazu wurde mit SureBeads™ Protein G Magnetic Beads der MCM-Komplex aus dem Proteinextrakt abgetrennt, dann die Fraktionen mit einer Elektrophorese aufgetrennt und die Proteinbanden per Massenspektrometrie identifiziert. Auch hier konnten die Komplex-Partner MCM3, 4, 6 und 7 nachgewiesen werden.
- AP3: Die Zelllinien mit verminderter oder verstärkter Genexpression werden von AP2 generiert. Ein Zellgemisch mit überexprimiertem MCM7 zeigte bereits einen Einfluss auf Strahlenempfindlichkeit bzw. das Zellüberleben. Mit einem charakterisierten Klon aus diesem Gemisch soll eine Proteomanalyse (2D DIGE) durchgeführt werden.

Das zweite Jahrestreffen 2015 des ZiSS-Verbundes fand am 23./24. November 2015 beim Verbundpartner Institut für Pathologie an der Charite Berlin statt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Eine Publikation ist in Vorbereitung zur Proteomanalyse unterschiedlich strahlenempfindlicher Zelllinien ist in Vorbereitung.

A. Dietz, M. Hauptmann, S. Pautz, U. Kulka, A.A. Friedl, M. Gomolka, S. Hornhardt: Radiation-induced proteomic changes in three lymphoblastoid cell lines revealed a significantly higher inter-individual variation in contrast to the intra-individual variation. Poster GBS-Tagung 5.-7.10.2016 in Dresden

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 024B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 2		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 377.780,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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. 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 mit Doxycyclin-induzierbarer Expression beider Kandidatengene generiert. Die Kinetik der induzierbaren Expression wurde analysiert, die transduzierten Zellgemische anschließend subkloniert. Die stabilen Subklone wurden an AP5 für die in vivo Analysen übergeben. Sowohl in vitro als auch in vivo konnte eine sehr gute Doxycyclin-induzierbare Expression beider Kandidatengene gezeigt werden. Für FancA konnte bislang weder in vitro noch in vivo eine signifikante Steigerung der Strahlenresistenz in Cal33 Zellen nachgewiesen werden. Da es sich per se um eine sehr resistente HNSCC-Zelllinie handelt, wird derzeit der Einfluss von FancA in weiteren Koloniebildungstests nach gamma-Bestrahlung in Kombination mit Cisplatin untersucht. Für das Kandidatengen MCM7 konnte in vitro bereits eine erhöhte Radiosensitivität nach gamma-Bestrahlung im Koloniebildungstest gezeigt werden. Auch in vivo führte die MCM7-Induktion zu einer tendenziellen Steigerung der Strahlenresistenz dieser Zellen. Derzeit werden die Untersuchungen an den MCM7-induzierbaren Subklonen fortgeführt und weitere Endpunkte (Viabilität, Zellzyklus, Apoptose, Seneszenz) nach gamma-Bestrahlung analysiert (laufende Experimente).

Von AP6 wurden drei HNSCC-Zellklone mit unterschiedlicher Radiosensitivität erhalten und zytogenetisch mittels SKY und Array-CGH charakterisiert. Zwei der drei Klone wurden für weitere Transkriptomanalysen ausgewählt (siehe unten AP3).

AP3 „Integrative Datenanalyse“

Das miRNA-mRNA Interaktionsnetzwerk (Korrelation) der normal- und überempfindlichen LUCY Zellen wurde analysiert und mithilfe von qRT-PCR auf Validität überprüft, wobei ein Großteil der identifizierten Verbindungen bestätigt werden konnte. Insgesamt ergab sich nach Bestrahlung mit 10 Gy für die strahlenempfindliche LUCY Zelllinie ein wesentlich größeres Netzwerk (112 miRNA-mRNA Paare) im Vergleich zu den normalempfindlichen Zellen (51 miRNA-mRNA Paare). Nach Bestrahlung mit 1 Gy konnte für die strahlenempfindlichen LUCY Zellen 1 und für die normalempfindlichen Zellen kein mRNA-miRNA Identifikationspaar identifiziert werden.

Von einer HNSCC-Zelllinie werden derzeit ein besonders strahlenempfindlicher und ein besonders strahlenresistenter Klon zusammen mit nichtveränderten parental Zellen einer zeitaufgelösten Transkriptom-Microarray-Analyse unterzogen, um die Genregulatorischen Netzwerke zu rekonstruieren.

Das 2. Halbjahres-Meeting 2015 des ZiSS-Verbundes fand am 23./24. November 2015 an der Charité in Berlin statt. Teilnehmer für AP2/3 waren Julia Heß, Horst Zitzelsberger und Kristian Unger.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Erstellung eines Manuskripts: FANCA overexpression confers radioresistance to cells of head and neck squamous cell carcinoma. Julia Hess, Verena Zangen, Kristian Unger, Ludwig Hieber, Herbert Braselmann, Igor Gimenez-Aznar, Agata Michna, Guido Drexler, Anna Friedl, Horst Zitzelsberger, Kirsten Lauber. Geplante Einreichung: Februar 2016

Erstellung eines Manuskripts: Gene regulatory networks in cell culture models of non-tumour tissue normal- and hypersensitive to ionising radiation. Agata Michna, Anne Cremer, Sabine Hornhardt, Maria Gomolka, Julia Heß, Horst Zitzelsberger and Kristian Unger, Geplante Einreichung: Februar 2016

Entwicklung und Einreichung des Softwarepaketes „splineTCDiffExpr“ für die zeitaufgelöste differentielle Expressionsanalyse von omics Expressionsdaten und der Rekonstruktion von genregulatorischen Netzwerken. (<https://master.bioconductor.org/packages/3.3/bioc/html/splineTCDiffExpr.html>)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 024C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 402.720,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Ziel-

strukturen 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

Ad 1.: Die Generierung von strahlenresistenten/strahlensensitiven HNSCC-Zelllinien-Klonen konnte erfolgreich abgeschlossen werden. Die erhöhte Radioresistenz/Radiosensitivität der erhaltenen Klone wurde *in vitro* überprüft. Die Zell-Klone und davon abgeleitete Proben nach *in vitro* Bestrahlung wurden zur OMICs-Charakterisierung an AP2/AP3 übergeben. Erste *in vivo* Untersuchungen von Tumorigenität und Radioresistenz/Radiosensitivität wurden von AP5 durchgeführt und werden im Folgenden fortgesetzt.

Ad 2.: Im Rahmen der Charakterisierung der Radioresistenz der parentalen HNSCC-Zelllinien konnten die strahlungsinduzierte Seneszenz und die Ausbildung des Seneszenz-assoziierten sekretorischen Phänotyps (SASP) als zentrale Mechanismen der inhärenten Radioresistenz identifiziert werden. Es wurde damit begonnen, die Produktion individueller SASP-Faktoren und ihr Beitrag zur Radioresistenz auf mRNA-Ebene und auf Sekretom-Ebene (in Zusammenarbeit mit AP4) im Detail zu untersuchen. In den radioresistenten HNSCC-Zelllinien wurde eine deutlich verstärkte Produktion individueller SASP-Faktoren sowohl auf mRNA- als auch auf Sekretom-Ebene beobachtet.

Parallel wurden *in vitro* Kombinations-Therapie-Ansätze mit SASP-Inhibitoren durchgeführt, um zu evaluieren, ob durch SASP-Blockade eine Durchbrechung der Radioresistenz möglich ist. *In vitro* konnte eine signifikante Reduktion der Freisetzung individueller SASP-Komponenten durch die SASP-Inhibitoren beobachtet werden, begleitet von einem reduzierten klonogenen Überleben. Erste *in vivo*-Versuche in Kooperation mit (AP5) haben diese Beobachtungen bestätigt. Aktuell wird eine detaillierte Analyse der Therapie-Choreographie durchgeführt (siehe Ad 3.).

Ad 3.: Die radiosensibilisierende Wirkung eines SASP-Inhibitors wird in Kollaboration mit AP5 *in vivo* untersucht. Nach ersten erfolgsversprechenden Pilot-Studien liegt der aktuelle Fokus auf einer Optimierung der Therapie-Choreographie. Hierzu werden verschiedene Fraktionierungs-Regime in Kombination mit verschiedenen Inhibitor-Applikations-Regimen getestet. Die histologischen und molekularbiologischen Untersuchungen der aufgearbeiteten Gewebe sind ebenfalls Gegenstand aktueller Arbeiten.

Das 3. Meeting 2015 des Verbundes wurde am 23./24. November 2015 im CBU in Berlin abgehalten. Für AP6 haben Ulrike Schötz und Kirsten Lauber teilgenommen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das formulierte Arbeitsprogramm für AP6 wird wie geplant weiter bearbeitet.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Unkel S., Belka C., Lauber K.: On the analysis of clonogenic survival data: Statistical alternatives to the linear-quadratic model. *Radiat Oncol* (2016) 11(1):11. doi: 10.1186/s13014-016-0584-z.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 024D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 30.06.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 485.556,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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, Epi-genom, (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/ radioprotektive Substanzen vorher gesagt werden. Die Effektivität potentiell strahlensensitivitätsmodulierender 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 radiosensitiverender und radioprotektiver Substanzen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeiten des IFZ in AP5.1 und 5.2:

Kandidatengen in einer tumorigenen HNSCC Zelllinie mittels eines Doxycyclin-induzierbaren Systems nach erfolgter klonaler Expansion sowohl in vitro als auch in vivo sehr gut über Doxycyclin induzierbar war (vgl. Zwischenbericht 2015/1), konnte weder in vitro noch in vivo eine signifikante Steigerung der Strahlenresistenz nachgewiesen werden. Die transiente Expression eines weiteren potentiell Radiosensitivitäts-modulierenden Kandidaten-Gens welches ebenfalls erfolgreich mittels eines Doxycyclin-induzierbaren Systems stabil in die gleiche tumorigene HNSCC Zelllinie eingebracht werden konnte, führte zu einer tendenziellen Steigerung der Strahlenresistenz dieser Zellen in vitro und auch in vivo. Auch diese Zellen wurden klonal expandiert. Aktuell werden die Induzierbarkeit dieses Gens durch Doxycyclin-Behandlung in vitro und in vivo verifiziert und der Einfluss des Genproduktes auf die Radiosensitivität dieser Zellen in vivo überprüft (laufende Experimente).

Arbeiten des IFZ in AP6.1 und 6.3:

Es wurden drei Varianten einer tumorigenen HNSCC Zelllinien mit veränderter Radiosensitivität nach in vitro Selektion vom Partner LMU erhalten und expandiert (vgl. Zwischenbericht 2015/1). Die Überprüfung der in vivo Strahlensensitivität ist für Anfang des Jahres 2016 geplant. Die Proben von Gesamtlungengewebe für Proteomanalysen (Analysen zur Identifikation von Signalnetzwerken mit Bedeutung für die Radiosensitivität) wurden erfolgreich generiert und die Proben vom Partner BfS mittels 2D-Gelelektrophorese analysiert sowie einzelne Proteine mittels Massenspektrometrie identifiziert. Die Verifikation einzelner Kandidatengene auf mRNA und auch auf Proteinebene ist Gegenstand aktueller Untersuchungen. Darüber hinaus wurde der Effekt einer Kombinationstherapie aus Einzelbestrahlung und der Gabe eines small molecule-Inhibitors (Substanz 2) mit den Effekten der Einzeltherapien und einer Lösungsmittelkontrolle im Xenograftmodell verglichen. Aus der ersten Versuchsreihe war eine Tendenz zur Radiosensibilisierung in vivo ersichtlich (vgl. Zwischenbericht 2015/1). Die Bestrahlungsschemata wurden angepasst (fraktionierter Bestrahlung) und außerdem zur Absicherung der Effekte eine weitere tumorigene HNSCC Zelllinie getestet. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde eine Radiosensitivierung sichtbar; in aktuellen Experimenten wird eine größere Anzahl von Mäusen untersucht, um das positive Ergebnis statistisch abzusichern. Die Aufarbeitung der Gewebe (histologischen Untersuchungen sowie RNA und Protein-Gewinnung) sind Gegenstand aktueller Arbeiten und werden voraussichtlich Ende Januar abgeschlossen sein. Eine weitere Anpassung des Bestrahlungsschemas für eine der beiden Zelllinien ist erforderlich und wird Anfang des Jahres 2016 durchgeführt.

Das 2. Halbjahres-Meeting des Verbundes wurde am 23.-24. November 2015 im CBU in Berlin statt. Für das AP5 haben Verena Jendrossek und Diana Klein teilgenommen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge zum Thema "Signaling of radiation-induced lung fibrosis":

- European Cancer Conference ECCO, September 2015, Wien. Österreich
- Third Oxford Institute for Radiation Oncology Symposium, September 2015. Oxford UK
- Keystone Symposium Purinergic signaling & cancer immunotherapy, Vancouver, Canada, Januar 2016

Neue publizierte Abstracts:

- Wirsdörfer F., et al.: Strahlenther. Onkol. 2015;191:14 (V-04-01)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 024E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 31.07.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 375.564,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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**

AP4.4:

Das Ziel ist, die Unterschiede zwischen Zelllinien, die Strahlenresistent und Strahlensensitiv sind, zu modellieren. Hier sollen z. B. Modelle benutzt werden, die an Daten von Zelllinien trainiert werden, die sich nur durch wenige Veränderungen unterscheiden. Ursprünglich war vorgesehen, hier eine induzierbare Zelllinie des HMGU zu nutzen, bei denen ein einzelner Marker induziert werden kann. Da sich jedoch herausstellte, dass die Strahlenempfindlichkeit dieser Zelllinien nur unwesentlich durch diesen Marker bestimmt wird, ist nun geplant, dieses an Strahlensensitiven und –resistenten Klonen durchzuführen.

In der Berichtsperiode haben wir zur Vorbereitung Simulationen durchgeführt, um unsere Modellierungspipeline für dieses Szenario zu testen. Dabei hat sich herausgestellt, dass die Parametrisierung von Modellen für Zelllinien, die sich nur wenig unterscheiden, durch separate Parameterschätzung von zwei Modellen nicht sehr robust ist und verbessert werden kann. Wir haben deswegen eine neue Parametrisierungsansatz etabliert, wo zunächst alle Parameter an allen Datensätzen gemeinsam geschätzt werden und dann für jeden Parameter evaluiert wird, ob dieser sich zwischen den Datensätzen unterscheidet. Ein wesentlicher Vorteil dieses Verfahrens ist es, dass sich dadurch auch statistisch fundierte Aussagen über die genauen Unterschiede zwischen den Zelllinien treffen lassen. Diese Pipeline ist nun etabliert und kann auf die Daten angewendet werden.

Weiterhin wurden Regressionsmodelle für die Schätzung der parakrinen und autokrinen Faktoren erstellt und die Konzentrationen der Faktoren dadurch quantitativ bestimmt.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Es sollen zusammen mit dem HMGU Klone mit unterschiedlicher Strahlensensitivität mit Hilfe eines Perturbationsscreens untersucht und Unterschiede in den Signaltransduktionsnetzwerken modelliert werden. Auf diesen Modellen werden Modellsimulationen durchgeführt, um mögliche kombinatorische Behandlungen vorherzusagen, welche die Strahlensensitivität beeinflussen (AP4.4).

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 025A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 1		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 419.760,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Ritter	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das vorrangige wissenschaftliche Anliegen des Projektes ist es, zu einem besseren Verständnis der zytotoxischen und genotoxischen Wirkung ionisierender Strahlung während der pränatalen Entwicklung des Menschen beizutragen. Als In-vitro-Modell werden humane embryonale Stammzellen (hES-Zellen) verwendet. Im Forschungsvorhaben soll dabei die Wirkung von dünn ionisierender Röntgenstrahlung und dicht ionisierender Teilchenstrahlung in Abhängigkeit von der Dosis untersucht werden. Dicht ionisierende Strahlung hat bei gleicher Energiedosis eine höhere biologische Effektivität als dünn ionisierende Strahlung. Dies führte dazu, dass für  $\alpha$ -Teilchen und schwere Ionen ein Qualitätsfaktor von 20 festgelegt wurde. Detaillierte Messungen an den weltweit einmaligen Beschleunigeranlagen des GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung bieten die einzigartige Möglichkeit, die strahlenbiologische Wirkung dicht ionisierender Strahlen in dem gesamten für den Strahlenschutz relevanten Bereich zu präzisieren.

Weiterhin kann das Projekt zu neuen Erkenntnissen im Bereich der Grundlagenforschung führen. Es ist vor allem von hoher Relevanz für das Verständnis der DNA-Reparaturmechanismen von hES-Zellen. Bisher ist nur wenig über die Reparatur von DNA-Schäden in pluripotenten hES-Zellen oder ihren differenzierten Abkömmlingen bekannt. In vorangegangenen Studien wurde bislang nur die Wirkung von dünn ionisierenden  $\gamma$ - oder Röntgenstrahlen im Ansatz untersucht, jedoch fehlen weitergehende Kenntnisse über die Genauigkeit der Reparaturprozesse in Abhängigkeit von der Dosis und der Strahlenqualität. 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 in der Strahlenforschung und in Fortbildungsveranstaltungen wird um potenziellen wissenschaftlichen Nachwuchs geworben.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Untersuchung der Wirkung von Röntgen- und Ionenstrahlen auf pluripotente und differenzierte hES-Zellen (GSI Helmholtzzentrum, Dr. S. Ritter).
- AP2: Bewertung des Einflusses dünn und dicht ionisierender Strahlung auf die neuronale Entwicklung (Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Dr. S. Kadereit).
- AP3: Elektrophysiologische Untersuchung kardialer und neuraler Zellen nach Strahleneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die Arbeiten zur kardialen Differenzierung nach Röntgenbestrahlung fortgeführt. Es zeigte sich eine Inhibierung der Bildung kontrahierender Kardiomyozyten nach Röntgenbestrahlung in unterschiedlichem Ausmaß. Im überwiegenden Fall wurde die Bildung von Kardiomyozyten durch Röntgenstrahlen komplett verhindert, während es in weniger schwerwiegenden Fällen zu einer Verzögerung kam. Die verzögerte Differenzierung führte zu weniger rhythmisch kontrahierenden Clustern und einer verringerten Vernetzung (Synchronisierung) untereinander. Diese Beobachtungen wurden durch intensive mRNA Expressionsanalysen aller kardialen Entwicklungsstadien bestätigt, welche Unterschiede in der Stärke der Expression und dem zeitlichen Verlauf aufzeigten. Zur besseren Beurteilung der strahleninduzierten Veränderungen in der Differenzierungskapazität der embryonalen Stammzellen wurde die Analyse von mikroRNAs vertieft, so dass nun eine umfassende Charakterisierung der Strahleneffekte auf molekularbiologischer Ebene vorliegt.

Weiterentwickelt wurde auch die Video-basierte Analyse der Schlagfrequenz zur Funktionalität der generierten Kardiomyozyten. Die starke Temperaturabhängigkeit der Schlagfrequenz erschwerte die Auswertung von strahleninduzierten Veränderungen. Durch den Einsatz eines Mikroskop/Inkubatorsystems, das die Kontrolle von Temperatur und CO<sub>2</sub>-Gehalt erlaubt, konnte dieses Problem jedoch gelöst und die Schlagfrequenz kardialer Cluster über einen längeren Zeitraum analysiert werden. Die beobachteten Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben korrelierte mit der veränderten mRNA und mikroRNA Expression. Durch die Kopplung von Mikroskop und Inkubatorsystem waren auch erste Versuche zur Modulation der Schlagfrequenz möglich. Sie zeigten, dass die generierten Kardiomyozyten auf Stimuli wie dem adrenalinähnlichen Isoproterenol reagieren können und somit funktional sind.

Expressionsanalysen von DNA-Reparatur-Markern zeigten strahleninduzierte Veränderungen in embryonalen Stammzellen, die mit der Regulierung des Zellwachstums/Zellzyklusarrests und der Apoptose zusammenhängen. Diese Ergebnisse müssen allerdings noch vertieft und mittels quantitativer PCR verifiziert werden.

Für die Publikation der Ergebnisse bezüglich der Strahlenwirkung auf die entodermale Differenzierung wurden die Analysen zur Expression von spezifischen mikroRNAs abgeschlossen. Die Untersuchungen zur chromosomalen Stabilität strahlenexponierter embryonaler Stammzellen wurden fortgeführt. Eine Publikation wird derzeit vorbereitet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Wirkung von Kohlenstoffionen auf die entodermale und kardiale Entwicklung soll untersucht werden. Geplant ist außerdem eine Vertiefung der Analyse von DNA-Reparaturmechanismen in hES-Zellen nach Bestrahlung und deren Verifikation mittels quantitativer PCR. Weiterhin sollen die funktionalen Analysen, welche per Videoanalyse erstellt wurden, in Kooperation mit der FH Aschaffenburg (AP3) mit MEA Daten von kommerziell erhältlichen Kardiomyozyten verglichen werden. Die Ergebnisse der FH Aschaffenburg zeigen, dass die alleinige Bestrahlung von primären Kardiomyozyten keine signifikanten Änderungen der Schlagfrequenz zur Folge hat, eine Kombination von chemischen Stimuli und Bestrahlung jedoch sehr wohl zu Veränderungen der Funktionalität führt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Helm A, Arrizabalaga O, Pignalosa D, Schroeder IS, Durante M, Ritter S, Ionizing Radiation Impacts on Cardiac Differentiation of Mouse Embryonic Stem Cells, *Stem Cells Dev.* 25, 178-188 (2016).

Springer A, Charakterisierung von embryonalen Mausstammzellen ES-D3, Forschungspraktikum, TUD, Fachbereich Biologie, 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Anton-Günther-Str. 1, 72488 Sigmaringen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 025BX</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 2		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 267.744,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Kadereit	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Anliegen dieses Teilprojektes ist es, genauer zu untersuchen, wie sich dünn ionisierende Röntgenstrahlung und dicht ionisierende Teilchenstrahlung auf die Entwicklung des menschlichen Nervensystems auswirken, um zu vergleichen, ob in den Auswirkungen der beiden Strahlungsarten Unterschiede bestehen. Von Mausstudien und Versuchen mit Zelllinien ist bekannt, dass geringe Bestrahlung bereits zu Veränderungen in Genexpressionsmustern in Nervenzellen führen. Es soll nun anhand von hES-Zellen und abgeleiteten *in vitro* Nervensystem-Entwicklungsmodellen genau untersucht werden, inwieweit sich Bestrahlung auf die Entwicklung des menschlichen Gehirns auswirkt und welche Effekte man auf die verschiedenen Entwicklungsstadien (Entstehung der ZNS Vorläuferzellen, NEPs, Entstehung von neuralen Vorläuferzellen, Entstehung von Neuronenvorläuferzellen und deren Reifung zu funktionellen Neuronen) beobachten kann. Besonders die Bestrahlung mit dicht ionisierender Teilchenstrahlung wird in Darmstadt in Zusammenarbeit mit AP1 ausgeführt werden. Des Weiteren wird auch, in enger Zusammenarbeit mit AP3, aus hES-Zellen differenzierte Neuronen auf Funktionalität (elektrophysiologische Messungen auf MEAs) nach Strahlungsexposition untersucht.

Dieses Forschungsvorhaben leistet einen erheblichen Beitrag zur Kompetenzbildung und -erhaltung in der Strahlenforschung in Deutschland und fördert aktiv Nachwuchs mit interdisziplinärer Kompetenz in Strahlenforschung, Gehirnforschung, Zellbiologie und Molekularbiologie/Biochemie. Die Ergebnisse werden auf internationalen Kongressen vorgestellt und in hochrangigen Fachzeitschriften veröffentlicht.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Untersuchung der Wirkung von Röntgen- und Ionenstrahlen auf pluripotente und differenzierte hES-Zellen (GSI Helmholtzzentrum, Dr. S. Ritter)
- AP2: *Bewertung des Einflusses dünn und dicht ionisierender Strahlung auf die neuronale Entwicklung (Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Dr. S. Kadereit).*
- AP3: Elektrophysiologische Untersuchung kardialer und neuraler Zellen nach Strahleneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der Berichterstattungsperiode sind die geplanten Arbeiten weiter voran geschritten. In einer Masterarbeit wurde der Single-Cell Neurosphären-Assay (SC-NS-Assay) weiterentwickelt und als funktionellen Endpunkt etabliert und in 8 Röntgenexperimenten untersucht. Der SC-NS-Assay eignet sich als Methode um funktionelle Schäden in Stammzellen zu erfassen. Ein weiterer, funktioneller Endpunkt zur Erfassung von Strahlenschäden der seit der letzten Berichtsperiode weiter entwickelt wurde, ist der Migrations-Assay. Hier werden Neurosphären auf Substrat gesetzt wo sie innerhalb weniger Stunden anwachsen. Innerhalb von 24 Stunden fangen neuronale Vorläuferzellen an aus der sich abflachenden Neurosphäre auszuwandern und differenzieren sich weiter zu Neuronen. Es wurden bereits 6 Röntgenexperimente durchgeführt und auf Einfluss auf die Migration untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass diese Methode in der Lage ist Strahlenschäden zu detektieren. Eine detaillierte quantitative Erfassung der Schäden muss aber noch ausgearbeitet werden.

Es wurde auch ein weiteres Schwerionexperiment durchgeführt, bei dem die Zellen zum Beschleuniger in Heidelberg gebracht wurden (in Darmstadt finden derzeit keine Experimente statt). Leider erwies sich die weite Fahrt zuzüglich der Bestrahlung als zu stressig für die Zellen und sie starben eine Woche nach der Bestrahlung. Da sich die Situation in Darmstadt in 2016 nicht verbessern wird, ist entschieden worden dass keine weiteren Schwerionen-Experimente in AP2 stattfinden werden. Stattdessen wird Impedanzmessung nach Migration ausgearbeitete werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Es wird ein quantitativer Read-Out für den Migrations-Assay entwickelt werden. Dafür werden die Zellen immunozytochemisch untersucht werden, um die morphologischen Unterschiede die nach Bestrahlung zu beobachten sind, qualitativ sowie quantitativ zu erfassen. Eine weitere Methode die weiterentwickelt werden soll ist die Impedanzmessung nach der Migration. Diese sehr sensitive Methode ermöglicht es subtile Unterschiede in Zellverhalten zu erfassen.

Auch werden bereits durchgeführte Röntgenexperimente wiederholt um eine aussagekräftige Versuchszahl für eine Publikation zu generieren. Laufende Röntgenexperimente (Proteinbestimmung, Genexpressionanalyse, Migrations-Assay) werden weitergeführt und ausgewertet. Es werden im ersten Quartal 2016 eine neue Masterarbeit (Impedanzmessungen) und 2 neue Bachelorarbeiten starten, die die Röntgenexperimente unterstützen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Nachtrag zum Zwischenbericht für das 2. Halbjahr 2014:

B. Müller, J. Bergemann, I. Schröder, S. Ritter, S. Kadereit, Benedikt Müller: 'A human embryonic stem cell-derived model of early human fetal brain development to assess radiation-induced damage'. Posterpräsentation GBS-Tagung 2014. Poster wurde mit einem Reisestipendium prämiert.

B. Müller, S. Ritter, S. Kadereit: 'Influence of ionizing radiation on human brain development'. GSI Report

B. Mueller, S. Kadereit: 'Stem Cells'. In 'Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays', 4th edition by Franz. J. Hock (Editor), pages Pages 4201-4219, Springer Verlag (2016)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 025C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 3		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2012 bis 31.01.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 186.606,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Thielemann	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das vorrangige wissenschaftliche Anliegen des Projektes ist es, zu einem besseren Verständnis der zytotoxischen und gentoxischen Wirkung ionisierender Strahlung während der pränatalen Entwicklung des Menschen beizutragen. Als In-vitro-Modell werden humane embryonale Stammzellen (hES-Zellen) verwendet. Im Forschungsvorhaben soll dabei die Wirkung von dünn ionisierender Röntgenstrahlung und dicht ionisierender Teilchenstrahlung in Abhängigkeit von der Dosis untersucht werden. Dicht ionisierende Strahlung hat bei gleicher Energiedosis eine höhere biologische Effektivität als dünn ionisierende Strahlung. Dies führte dazu, dass für  $\alpha$ -Teilchen und schwere Ionen ein Qualitätsfaktor von 20 festgelegt wurde. Detaillierte Messungen an den weltweit einmaligen Beschleunigeranlagen des GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung bieten die einzigartige Möglichkeit, die strahlenbiologische Wirkung dicht ionisierender Strahlen in dem gesamten für den Strahlenschutz relevanten Bereich zu präzisieren.

Weiterhin kann das Projekt zu neuen Erkenntnissen im Bereich der Grundlagenforschung führen. Es ist vor allem von hoher Relevanz für das Verständnis der DNA-Reparatur-mechanismen von hES-Zellen. Bisher ist nur wenig über die Reparatur von DNA-Schäden in pluripotenten hES-Zellen oder ihren differenzierten Abkömmlingen bekannt. In vorangegangenen Studien wurde bislang nur die Wirkung von dünn ionisierenden  $\gamma$ - oder Röntgenstrahlen im Ansatz untersucht, jedoch fehlen weitergehende Kenntnisse über die Genauigkeit der Reparaturprozesse in Abhängigkeit von der Dosis und der Strahlenqualität. 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 in der Strahlenforschung und in Fortbildungsveranstaltungen wird um potenziellen wissenschaftlichen Nachwuchs geworben.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Untersuchung der Wirkung von Röntgen- und Ionenstrahlen auf pluripotente und differenzierte hES-Zellen (GSI Helmholtzzentrum, Dr. S. Ritter)
- AP2: Bewertung des Einflusses dünn und dicht ionisierender Strahlung auf die neuronale Entwicklung (Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Dr. S. Kadereit).
- AP3: *Elektrophysiologische Untersuchung kardialer und neuraler Zellen nach Strahleneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).*

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Fokus der im Berichtszeitraum durchgeführten Experimente standen die aus humanen embryonalen Stammzellen (hESC) differenzierten Neurosphären (NS). Durch einige Optimierungen des Protokolls zur Herstellung der NS (Jahreszwischenbericht I/2015) konnten diese nun reproduzierbar hergestellt und auf den MEA Chips elektrophysiologisch charakterisiert werden. Die ersten elektrophysiologischen Signale

konnten innerhalb der ersten Woche detektiert werden. In den nachfolgenden Tagen kam es zu einer deutlichen Zunahme der elektrischen Aktivität, die sich in einer erhöhten Anzahl aktiver Elektroden sowie einer gesteigerten Spike- und Burstrate manifestierte. Weitere Parameter, wie beispielsweise die Höhe der Signalamplitude sowie die Dauer der Bursts und ihre durchschnittliche Spikeanzahl, blieben im Laufe der Netzwerkentwicklung konstant.

Nachdem die NS elektrophysiologisch mithilfe des MEA Systems charakterisiert wurden, konnte die Wirkung von Bicucullin auf die neuronale Netzwerkaktivität erfolgreich untersucht werden. Bei Bicucullin handelt es sich um einen selektiven und kompetitiven GABAA-Rezeptor-Antagonisten, dessen Bindung die Entstehung hyperpolarisierender Potenziale inhibiert und somit erregend auf das Nervensystem wirkt. Dieser Effekt konnte in unserem Modellsystem bestätigt werden. Infolge der Applikation von Bicucullin (10  $\mu$ M) kam es bei den NS zu einer deutlichen Zunahme der Spike- und Burstrate. Des Weiteren wurden die Bursts synchron von verschiedenen Elektronen abgeleitet. Die Wirkung dieser Substanz konnte bereits in diversen zwei- und dreidimensionalen neuronalen Modellsystemen bestätigt werden [M. Jungblut et al., *Biomed Microdevices*, 2009, 11:1269-1278; A.W. Daus, Dissertation TU Darmstadt, 2013; Heikkilä et al., *Experimental Neurology*, 2009, 218, 109-116]. Die in unserem Projekt verwendeten NS stellen jedoch das einzige dreidimensionale, auf humanen embryonalen Stammzellen basierende System dar, bei dem dieser Effekt beobachtet werden konnte. Vergleichbare Modellsysteme zeigen keine Reaktion auf Bicucullin [I. Smith et al., *J Tissue Eng Regen Med*, 2015].

Des Weiteren konnten Bestrahlungsexperimente durchgeführt werden. Dabei wurden hESC mit 1 Gy Röntgenstrahlen exponiert und als Grundlage für die weitere Differenzierung zu Neuronen verwendet. Die daraus resultierenden NS wurden auf MEA Chips positioniert und über einen Zeitraum von drei Wochen elektrophysiologisch untersucht. Erste Ergebnisse deuten darauf hin, dass die aus bestrahlten hESC differenzierten NS eine verringerte elektrische Aktivität aufweisen. Dies betrifft sowohl die Spike-, als auch die Burstrate. Weitere Experimente sind notwendig, um diesen Effekt zu bestätigen und erklären zu können. Ferner wurden neurale Stammzellen einer Exposition mit 1 Gy Röntgenstrahlung sowie mit 0,25Gy und 0,5Gy Kohlenstoff-Ionen ausgesetzt. Die daraus resultierenden NS werden in Kürze auf die MEA Chips gebracht.

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

Im Fokus der nächsten geplanten Experimente stehen weiterhin die aus hESC differenzierten NS. Nach Beendigung des derzeit laufenden Bestrahlungsexperimentes, bei dem neurale Stammzellen mit 1 Gy Röntgen sowie mit 0,25 Gy und 0,5 Gy Kohlenstoff-Ionen bestrahlt wurden, sollen die daraus gewonnenen Erkenntnisse durch Wiederholungen des Experimentes validiert werden. Des Weiteren sollen hESC mit Kohlenstoff-Ionen am Heidelberger Ionenstrahl-Therapiezentrum bestrahlt werden, um die Wirkung von Schwerionen auf die Entwicklung neuronaler Netzwerke mit der von Röntgenstrahlen vergleichen zu können. Neben den Bestrahlungsexperimenten sind weitere Versuche mit dem GABAA-Rezeptor-Antagonisten Bicucullin geplant. Dabei sollen unterschiedliche Konzentrationen der Substanz zum Einsatz kommen, um eine Dosis-Wirkungskurve erstellen zu können. Besonders interessant wäre es in diesem Zusammenhang auch NS aus bestrahlten hESC oder NSC mit Bicucullin zu behandeln um zu überprüfen, ob auch in diesem Fall eine Erhöhung der elektrischen Aktivität beobachtet werden kann.

Von besonders hoher Priorität ist weiterhin die immunhistochemische Charakterisierung der NS. Hierbei sollen neue Protokolle zur spezifischen Färbung zum Einsatz kommen.

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

M. Mayer, B. Müller, S. Ritter, S. Kadereit, C. Thielemann, Human neurospheres on microelectrode arrays: a model to investigate ionizing radiation effects on neuronal network communication, GSI Report 2014.

M. Mayer, O. Arrizabalaga De Mingo, S. Sadeghi, S. Kadereit and C. Thielemann: Human embryonic stem cell derived neurospheres: a powerful model to investigate ionizing radiation effects on neuronal differentiation, GBS 2015, Dresden.

O. Arrizabalaga, M. Mayer, S. Sadeghi, S. Kadereit, S. Ritter and C. Thielemann: Human embryonic stem cell-derived neural stem cells: a powerful model to investigate the regenerative capacity of the brain after an insult, ISSCR/CRTD 2016, Dresden

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 026A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.059.340,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Jacob	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziele von PASSOS sind die Modellierung von Gesundheitsrisiken nach Exposition mit ionisierender Strahlung unter Berücksichtigung individueller Risikofaktoren und die Anwendung der Modelle auf Verfahren der Brustkrebstherapie und der Diagnose von Herzerkrankungen. In AP2 und AP3 (HMGU-AMSD) wird die Bestimmung der Dosisverteilung im Körper für unterschiedliche Verfahren der Therapie von Brustkrebs und der Diagnose von Herzerkrankungen für verschiedene Patientengruppen vorgenommen. In AP4 (HMGU-ISS) werden die relativen und absoluten Risiken für Krebs und Herz-Kreislaufkrankungen abgeschätzt. AP5 (HMGU-ISS) erstellt zwei Softwarepakete zur Abschätzung des Risikos von Krebs und Herz-Kreislaufkrankungen nach Strahlenexposition, zum einen beim Vorliegen einer definierten Organdosis und zum anderen zur Unterstützung der personalisierten Auswahl einer Brustkrebstherapie oder einer Herzuntersuchung.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Für die Dosisverteilung im ganzen Körper nach Anwendung von Therapieverfahren gegen Brustkrebs (AP2) sollen die Partner bei der Erstellung der Patientenmodelle beraten werden.

Die Bestimmung der Ganzkörper-Dosisverteilung bei verschiedenen Untersuchungsverfahren des Herzens (AP3) soll patientenspezifisch durchgeführt werden. Dazu sind individuelle biokinetische Modelle zu erstellen, mittels derer die zeitliche und räumliche Verteilung der PET- und SPECT-Tracer in den Organen bestimmt werden kann. Außerdem sind aus den CT-Datensätzen der jeweiligen Patienten individuelle virtuelle Modelle zu erzeugen, um durch Kombination mit Monte-Carlo-Transport-Rechnungen die Dosen in jedem Organ relativ zur Aktivität berechnen zu können (SAFs). Durch Kombination der biokinetischen Modelle mit den SAFs lässt sich sowohl der zeitliche Dosisverlauf jedes Organs des Patienten bestimmen, wie auch dessen gesamte Strahlendosis.

Für die Risikomodelle (AP4) werden sowohl empirische Modelle des relativen und absoluten Risikos, wie auch mechanistische Modelle der Pathogenese unter Berücksichtigung individueller Risikofaktoren entwickelt. Es werden Risiken für Herz-Kreislaufkrankungen, für Leukämie und für solide Tumoren in Darm, Lunge, Magen, Schilddrüse, Speiseröhre und weiblicher Brust modelliert.

AP5 implementiert die Ergebnisse von AP1-4 in numerisch effizienter Weise als zwei Anwendungen mit graphischer Benutzeroberfläche. Dabei werden neben den Risikowerten auch die entsprechenden Unsicherheitsintervalle berechnet.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die in AP2 geplanten Arbeiten für das 2. Halbjahr 2015 wurden auf 2016 verschoben, um der Mitarbeiterin eine Einarbeitung in Monte-Carlo-Simulationen zu ermöglichen, ohne Projektgelder dafür verwenden zu müssen.

In AP3 wurde das männliche polygonbasierte Referenzmodell so skaliert, damit es in zwei, von außen leicht messbaren Dimensionen einem bestehenden großen und einem kleinen Voxelmodell gleicht. Die neu-dimensionierten Polygonmodelle wurden mit einer Voxelgröße von 1 mm<sup>3</sup> voxelisiert, und damit die spezifischen absorbierten Anteile (SAF) für interne Photonen- und Elektronenquellen berechnet. Durch Kombination

der verschiedenen SAFs mit individuellen biokinetischen Modellen des Radiopharmazeutikums  $^{18}\text{F}$ -FDG wird der Einfluss der Ungenauigkeit in Statur und ermittelter kumulativer Aktivitäten auf die Patientendosis untersucht. Erste Auswertungen mittels Unsicherheits- und Sensitivitätsanalysen wurden bereits durchgeführt. In AP4 (Risikomodelle) wurden die weiteren Modelle für Leukämien und Lymphome an die LSS Daten ( $<4$  Gy) angepasst. Für diese Endpunkte wurden 4 Gruppen von Modellen entwickelt, akute und chronische lymphatische Leukämie (inklusive Lymphomen), und akute und chronische myeloische Leukämie. In der LSS wurde kein Strahlenrisiko für Multiples Myelom gefunden. Für jede Gruppe wurde ein Satz von Modellen verschiedener Dosisabhängigkeiten gefunden, die mit der Methode der Multi-Modell-Inferenz kombiniert wurden. Die neuen Modelle basieren auf den aktuellen Inzidenzdaten der LSS (Follow-up 1958-1998). Von den klinischen Partnern von AP2 (Rostock, Leipzig) wurden Datensätze von ca. 150 Brustkrebspatientinnen für bis zu 5 verschiedene Therapiearten zur Verfügung gestellt mit detaillierter Verteilung der Organdosen (Dosis-Volumen-Histogramme, DVH). Diese Daten werden zusammen mit AP2 analysiert. Die Dosisverteilungen in ipsilateraler Lunge, Herz, kontralateraler Brust und Knochenmark besitzen extrem starke Dosisgradienten, die Dosisverteilungen können von mGy bis mehreren 10 Gy innerhalb des Organs reichen. Da keine epidemiologischen Daten für solch inhomogene Dosen vorliegen, soll in dem vorliegenden Projekt eine lineare Interpolation zwischen Niedrig-Dosis-Modellen und Hoch-Dosis Risikoeffizienten vorgenommen werden. Andere Organe, deren Dosen ebenfalls bis in den Therapiebereich reichen können sind Magen, Leber, Bauchspeicheldrüse, Gallenblase und Speiseröhre. In AP5 (Software) wurde das Programm weiterentwickelt. Krebsregister- und Bevölkerungsdaten vom ZfKD/RKI und vom Statistischen Bundesamt wurden aktualisiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

In AP2 (AMSD) soll ein Vergleich zwischen Dosen aus dem Bestrahlungsplan und mittels Monte-Carlo-Transportrechnungen an einem exemplarischen Patientendatensatz durchgeführt werden. Da eine Segmentierung eines aktuellen klinischen Datensatzes – was für Monte-Carlo-Rechnungen unumgänglich ist – zeitlich zu aufwendig ist, ist ein im HMGU bestehender Datensatz in ein Format umzuwandeln, das von der Bestrahlungsplanung verarbeitet werden kann. Für diesen Datensatz wird dann ein hypothetischer Bestrahlungsplan erstellt, der dann auch mittels Monte-Carlo-Simulationen reproduziert wird. Da die genauen Bestrahlungsparameter bei äußerer Bestrahlung stark herstellerabhängig, und teilweise proprietär sind, wird eine brachytherapeutische Behandlung simuliert.

In AP3 werden die vorläufigen Ergebnisse der Unsicherheits- und Sensitivitätsanalyse noch verifiziert, und zu einem Abschluss gebracht.

Die in AP2 nach Brustkrebstherapie erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass für kritische Organe ein signifikanter Teil des Volumens Dosen in der Größe von mehreren 10 Gy erhalten kann, abhängig vom Therapieplan und der Anatomie des Patienten. Wie bei der Durchführung für AP4 beschrieben, sollen lineare Interpolationen zwischen Risikomodelle vorgenommen werden. Die Zusammenarbeit mit AP2 und AP3 soll weiter intensiv fortgeführt werden. Insbesondere müssen Kriterien entwickelt werden, die eine Stratifizierung der Patientinnen nach unterschiedlichen Dosisverteilungen und Lebenszeitriskien erlauben. Die Stratifizierung nach Brustkrebstherapie ist besonders herausfordernd. Auf Basis der standardmäßig durchgeführten CT Scans wurden von AP2 anatomische Parameter vorgeschlagen, die auf Anordnungen der Organe beruhen, die zur Stratifizierung verwendet werden können. Dies soll weiter untersucht werden. Für AP5 soll ein funktionierender Prototyp der Software fertiggestellt werden. Die Modelle und Risikoabschätzungen sollen getestet, und das Programm auf Benutzerfreundlichkeit und Performance evaluiert werden. Die Ergebnisse von AP1 und von AP4 aus dem Hochdosisbereich müssen integriert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

M. Eidemüller, E. Holmberg, P. Jacob, M. Lundell und P. Karlsson: Breast cancer risk and possible mechanisms of radiation-induced genomic instability in the Swedish hemangioma cohort after reanalyzed dosimetry, *Mutation Research* 775 (2015) 1-9.

C. Simonetto, T.V. Azizova, Z. Barjaktarovic, J. Bauersachs, P. Jacob, J.C. Kaiser, R. Meckbach, H. Schöllnberger, M. Eidemüller: A Mechanistic Model for Atherosclerosis and its Application to the Cohort of Mayak Workers, under Review.

Zvereva, A.; Petoussi-Henss, N.; Li, W. B.; Schlattl, H.; Oeh, U.; Zankl, M.; Graner, F. P.; Hoeschen, C.; Nekolla, S. G.; Parodi, K., Schwaiger, M.: Blood as a Distinct Source Region and its Effects on Compartmental Biokinetic Modelling and Internal Dosimetry, *Journal of Nuclear Medicine*, revised version submitted.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 026B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 795.048,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Blettner	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Vorhaben Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin (PASSOS) thematisiert die Frage wie Risiken von Krebs und Herz-Kreislaufkrankungen nach Strahlenexposition von individuellen Faktoren abhängen. Gegenwärtige Abschätzungen von Gesundheitsrisiken, z. B. durch UNSCEAR oder BEIR VII, beschränken sich in der Individualisierung der Risiken auf Geschlecht, Alter bei Exposition und Alter bei Diagnose einer Erkrankung. PASSOS wird, soweit entsprechende epidemiologische und strahlenbiologische Daten vorliegen, weitere Faktoren wie Lebensgewohnheiten, genetische Faktoren, reproduktive Faktoren oder den Gesundheitszustand in der Modellierung des Strahlenrisikos berücksichtigen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Epidemiologische Studie von Herz-Kreislaufisrisiken nach Brustkrebstherapie:

Die sog. PASSOS-Herzstudie ist eine retrospektive Kohortenstudie, die den Zusammenhang zwischen der Strahlentherapie und dem langfristigen Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko durch kardiovaskuläre Herzerkrankungen unter Berücksichtigung individueller Risikofaktoren bei Brustkrebspatientinnen untersucht. Eingeschlossen werden zum einen ca. 11.000 Patientinnen, die im Rahmen der sog. BRENDA-Kohorte (Quality of Breast Cancer Care Under Evidence-based Guidelines, BMBF 01ZP0505) in Ulm bereits rekrutiert worden sind. Am Standort Mainz muss eine Kohorte neu aufgebaut werden. Die gemeinsame Kohorte berücksichtigt Brustkrebspatientinnen mit guter Prognose. Einschlusskriterien: primäres Mammakarzinom, Erstdiagnose 1998 – 2008, keine Metastasen. Phasen der PASSOS-Herzstudie:

- Rekrutierung der Kohorte am Standort Mainz und Erhebung klinischer Daten mittels Krankenakten-Recherche.
- Durchführung eines Mortalitäts-Follow up (Todesursachenrecherche) mit Beobachtungsende zum 31.12.2013.
- Befragung zur kardialen Morbidität und zu individuellen kardiovaskulären Risikofaktoren.
- Dosimetrie (Klinik und Poliklinik für Radioonkologie und Strahlentherapie/Prof. Schmidberger): Bestimmung der Herzdosis (Organdosis) nach Strahlentherapie für eine Stichprobe, Extrapolation für die gesamte Kohorte und Dosis-Wirkungs-Analyse.
- Statistische Analyse und Publikationen.

AP4: Personalisierte Risiken für Spätfolgen nach Strahlenexposition:

Ziel ist die Erarbeitung von Risikomodellen, aus denen nach einer Strahlenexposition die zusätzlichen relativen und absoluten Risiken bei vorgegebenen Zeiten nach Exposition sowie die Lebenszeitrisiken bestimmt werden können. Dabei sollen die Risiken sowohl für die wichtigsten (Sekundär-)Tumoren als auch für Herz-Kreislaufkrankungen bestimmt werden. Individuelle Risikofaktoren sollen, soweit Daten in ausreichender Qualität vorhanden sind, in den Modellen berücksichtigt werden. Die Modellierung wird für zwei Dosisbereiche durchgeführt: < 4 Gy (Umsetzung Helmholtz Zentrum, Institut für Strahlenschutz) und > 4 Gy für therapeutische Strahlenanwendungen (Umsetzung IMBEI, Mainz).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Aufbau einer Kohorte am Standort Mainz: Status abgeschlossen, N=1.518 Patientinnen. Mortalitäts-Follow up:

Recherchen zum Vitalstatus (Einwohnermeldeämter) und zu Todesursachen (Gesundheitsämter) für Mainzer Patientinnen sind abgeschlossen. Insgesamt 381 Verstorbene zum Beobachtungsende 31.12.2013. Die angefragten Gesundheitsämter konnten 20 % der Anfragen nicht beantworten. Daher Abgleich mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz zur Ermittlung von Krebstodesfällen bei nicht vorliegendem Leichenschauschein. Status abgeschlossen. Codierung der Todesursachen nach ICD10: Status abgeschlossen. Befragung noch lebender Patientinnen zur kardialen Morbidität: Status abgeschlossen, Responserate 56 %, Eingabe der Fragebögen abgeschlossen. Validierung der (Selbst-) Angaben zur kardialen Morbidität bei niedergelassenen Ärzten: Rücklauf der angefragten Ärzte: 85 % bezogen auf eine Grundgesamtheit von 449 Patientinnen die (a) den Fragebogen zurückgeschickt haben und (b) der Arztbefragung zugestimmt haben. Status „abgeschlossen“. Durchführung von Plausibilitätsprüfungen der klinischen Daten Mainz und Ulm sowie der Fragebogendaten Mainz und Ulm. Status „abgeschlossen“.

Dosimetrie (Mainz/Ulm): Exakte Dosimetrie von 393 + 398 Patientinnen aus Mainz + Ulm für 7 Herz-Strukturen. Ermittlung der technischen Behandlungsdaten aus der Radioonkologie für 1019 Mainzer Patientinnen mit Strahlentherapie. Zusammenführung, Ergänzung und Korrektur der klinischen Akten mit diesen Daten. Detaillierte Dosisanalyse für exakt dosimetrierte Stichprobe nach aktueller SOP für mehrere Herzstrukturen und DVH-Metriken. Untersuchungen zur Genauigkeit der retrospektiven Dosisanalyse. Entwicklung von Vorhersagemodellen für drei Dosis-Metriken in allen Herz-Strukturen mit Quantifizierung des Vorhersagefehlers.

AP4: Auswertung der systematischen Literaturrecherche zu Risikomodellen für Herz-/Kreislaufervents nach Strahlentherapie (Exposition > 4 Gy):

Ca. 1200 Treffer bei PubMed Recherche/Reference Tracking, davon 344 Abstracts relevant. Identifikation der 50 relevanten Publikationen mit Aussage zur Dosis-Wirkungs-Beziehung. Extraktion der quantitativen Angaben zur Dosis-Wirkungsbeziehung aus 12 Artikeln. Synthese der Risikoschätzer zu einem gemeinsamen ERR/Gy Schätzer nach fixed-effects Modell. Systematische Literaturrecherche zu Schilddrüsentumoren als Zweitmalignom nach Strahlentherapie im Kindesalter.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1:

- Abgleich der PASSOS-Kohorte mit den Daten der Gutenberg Herzstudie (GHS, [www.Gutenberg-Gesundheitsstudie.de](http://www.Gutenberg-Gesundheitsstudie.de)). Die GHS erforscht die Ursachen von Herz-Kreislaufkrankungen. Es werden bei Personen aus dem Raum Mainz-Bingen epidemiologische und umfangreiche medizinische Untersuchungsdaten erhoben. Für PASSOS sind folgende Aspekte von Interesse: (1) wie viele Frauen der PASSOS-Kohorte haben das GHS-Untersuchungsprogramm durchlaufen? (2) Gibt es bei diesen Frauen Hinweise auf subklinische kardiale Veränderungen? (3) Auswertung der im Rahmen der GHS gemachten Selbstangaben zur Krebserkrankung. Für den Abgleich beider Kohorten (PASSOS und GHS) ist ein separates Datenschutzkonzept zu entwickeln.
- Statistische Analyse.

AP4:

- Zusammenstellung der wesentlichen Studien für zerebrovaskuläre Endpunkte und Extraktion der Risikoschätzer.
- Sichtung der wesentlichen Studien für weitere Zweitmalignome und Extraktion der Risikoschätzer.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript abgelehnt von Radiation Oncology: Wollschläger, Karle, Stockinger, Blettner, Schmidberger. DVHmetrics: Software for Large-Scale Analysis of Dose-Volume Histograms and Constraint Checks. Vorbereitung zur erneuten Einreichung.

Manuskript unter Review in Radiotherapy and Oncology: Radiation dose distribution in functional heart regions from tangential breast cancer radiotherapy.

Manuskript in Vorbereitung: Predicting mean heart dose in breast cancer patients who received radiotherapy.

Poster MELODI 2015 München: Predicting mean heart dose in breast cancer patients who received radiotherapy.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 026C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 283.332,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wiegel	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das PASSOS (Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin) Projekt, das die potentielle kardiale Langzeittoxizität nach adjuvanter Strahlentherapie des Mammakarzinoms untersucht, soll in Baden-Württemberg und Bayern im Rahmen des BRENDA Netzwerkes erhoben werden. PASSOS wird, soweit entsprechende epidemiologische und strahlenbiologische Daten vorliegen, weitere Faktoren wie Lebensgewohnheiten, genetische Faktoren, reproduktive Faktoren oder den Gesundheitszustand in der Modellierung des Strahlenrisikos berücksichtigen. Das BRENDA Netzwerk besteht aus 17 zertifizierten Brustkrebszentren in denen eine Kohorte mit ca. 13.300 Brustkrebspatientinnen zusammengetragen wurde. Es liegen exakte Daten zu Patienten-, Tumor-, Therapie- und Outcome-bezogene Variablen vor.

Zusätzlich zur BRENDA Abfrage sollen nun die für PASSOS noch notwendigen Daten an der BRENDA Kohorte erhoben werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die PASSOS-Herzstudie ist eine retrospektive Kohortenstudie, die den Zusammenhang zwischen der Strahlentherapie und dem langfristigen Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko durch kardiovaskuläre Herzerkrankungen unter Berücksichtigung individueller Risikofaktoren bei Brustkrebspatientinnen untersucht. In Ulm werden ausschließlich Patientinnen aus dem BRENDA Kollektiv eingeschlossen. Einschlusskriterien sind Patientinnen, die zwischen 1998 und 2008 eingeschlossen wurden und M0 sind.

Phasen der PASSOS-Herzstudie am Standort Ulm sind:

- Durchführung eines Mortalitäts-Follow up (Todesursachenrecherche) für PASSOS und BRENDA mit Beobachtungsende zum 31.12.2008.
- Befragung zur kardialen Morbidität und zu individuellen kardiovaskulären Risikofaktoren.
- Abfrage der Todesursachen bei den Gesundheitsämtern.
- Ausgewählte Telefoninterviews zu kardiovaskulären Erkrankungen und Anschreiben der Hausärzte.
- Dosimetrie: Bestimmung der Herzdosis (Organdosis) nach Strahlentherapie für eine Stichprobe, Extrapolation für die gesamte Kohorte und Dosis-Wirkungs-Analyse.
- Statistische Analyse und Publikationen.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der aktuellen Berichtszeit wurden in Ulm und den Netzwerkkliniken das Anschreiben der Patientinnen und die Dokumentation des Rücklaufs beendet. Es wurden ca. 8500 lebende Patientinnen angeschrieben. Die Rücklaufquote liegt bei 57 %, davon haben sich 42 % bereit erklärt an der Studie teilzunehmen und den Fragebogen auszufüllen, 15 % haben den Nicht-Teilnahmebogen zurückgesendet.

Alle Anfragen an die Gesundheitsämter wurden für Ulm und die Netzwerkklinken versendet, um die Todesursache der ca. 2600 Verstorbenen zu erheben. Inzwischen liegen die Antworten aller Gesundheitsämter vor. Lediglich bei 1 % der Verstorbenen war bei den Gesundheitsämtern keine Todesbescheinigung auffindbar. Im Rahmen der Anschreiben hatte sich das Problem ergeben, dass in drei Gesundheitsämtern eine Gebühr erhoben wurde, welche im Rahmen der Planung nicht antizipiert war. Zur multikausalen Codierung der Todesursache wurden alle Todesbescheinigungen nach Mainz weitergeleitet.

Die Dokumentation der Komorbiditäten und des Charlson Score wurde für das Zentrum Ulm vollständig nacherhoben. In den Netzwerkkliniken wurde auf die Nacherhebung der Komorbiditäten auf Grund des immensen Aufwands verzichtet.

Im Rahmen der Patientenanschriften hatten ca. 900 Ulmer Patientinnen ihre Einwilligung erteilt, dass ihr behandelnder Haus- oder Facharzt befragt werden darf. Darauf wurden 450 Ärzte angeschrieben und gebeten Auskunft über bekannte Herz-Kreislaufkrankungen ihrer jeweiligen Patientinnen zu geben. Hier waren mehrere telefonische Rückfragen und Erinnerungen bei den Arztpraxen erforderlich. Für 85 % der angefragten Patientinnen wurde der Fragebogen ausgefüllt, 14 % der Arztpraxen wollten nicht an der Befragung teilnehmen. Die Auskunft wurde pro Patient honoriert, die Abrechnung erfolgte über Mainz.

Auf Grund der anfallenden Kosten und dem fraglichen zusätzlichen wissenschaftlichen Nutzen wurde auf die Durchführung des geplanten Telefon-Interviews verzichtet.

In Kooperation mit Mainz wurden Plausibilitätsprüfungen an den klinischen Daten und den organisatorischen Datenbanken durchgeführt. Zum Teil mussten nachträglich noch Patientinnen aus der Studie ausgeschlossen werden. Des Weiteren erfolgte ein Abgleich der Patientenbefragung mit den bekannten klinischen Daten bzgl. Therapien und dem Auftreten von Rezidiven und/oder Metastasen.

Alle epidemiologischen Abfragen konnten im geplanten Zeitraum abgeschlossen werden.

Für 400 aus der BRENDA-Datenbank randomisierte Ulmer Brustkrebspatientinnen des Behandlungszeitraums 1998 bis 2008 wurde mit der aktuellen Therapie-Planungssoftware Eclipse die Strahlenbelastung am Herzen rekonstruiert. Behandlungspläne älterer Fälle (74 %) mussten zum Import nach Eclipse zunächst mit der Software Vodca-RT aus dem proprietären Cadplan-Format in DICOM transformiert werden. Boost-Bestrahlungen mit Elektronen wurden anhand der Patientenakten nachsimuliert. Anhand einer projektintern entwickelten SOP zur Konturierung wurden für sechs geometrisch-funktional definierte Teilstrukturen des Herzens und für das Gesamtorgan Dosis-Volumen-Histogramme (DVH) erstellt. Die DVH und relevante Begleitinformationen wurden zur epidemiologischen Analyse und zur Bestimmung der Dosiswirkungsbeziehung an den Projektpartner in Mainz weitergeleitet.

Um exemplarisch eine Aussage zur Vergleichbarkeit der kardialen Belastung in BRENDA Netzwerkkliniken zu erhalten, wurden für zehn Testpatientinnen der Strahlentherapie Memmingen die Herzdosen nach SOP bestimmt. Untersuchungen zu Unsicherheitsfaktoren bei der retrospektiven Dosimetrie zeigten systematische Einflüsse des Behandlungszentrums und der dort genutzten Planungssoftware-Algorithmen, des konturierenden Operators (mit trainiertem Personal minimiert) und der Organbewegung.

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

Projektlaufzeit am Standort Ulm Frauenklinik und Strahlentherapie abgeschlossen.

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

Abstracts eingereicht:

Epidemiologische Studie zu kardialen Spätschäden nach Brustkrebstherapie – PASSOS Herzstudie (Merzenich et al., GMDS Tagung Sept. 2015)

Predicting mean heart dose in breast cancer patients who received radiotherapy (Wollschläger et al., MELODI Workshop Nov. 2015)

Radiation dose distribution in functional heart regions from tangential breast cancer radiotherapy (Wollschläger et al., eingereicht)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin Rostock, Schillingallee 35, 18057 Rostock		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 026D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 372.000,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hildebrandt	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In den S3 Leitlinien für die Behandlung von Brustkrebspatientinnen werden in Abhängigkeit vom Risikofaktorenprofil eine oder mehrere Strahlenanwendungen unterschiedlicher Komplexität empfohlen. Es ist allerdings in verschiedenen Studien gezeigt worden, dass sowohl Krebs als auch Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems nach Strahlenexposition erhöht auftreten. Aktuelle Untersuchungen zeigen zum Teil deutliche Unterschiede der Dosisverteilung bei Bestrahlungsvolumen-nahen Organen, jedoch ist weniger bekannt, wie sich diese unterschiedlichen Techniken hinsichtlich der Dosisverteilung in weiter entfernten Organen unterscheiden. Komplexe Therapieverfahren werden in der Hoffnung eingesetzt, bessere Therapieerfolge bei weniger Nebenwirkungen zu erzielen. Zur Bewertung der Langzeitfolgen ist eine genaue Abschätzung der Dosisverteilung notwendig.

Ziel von AP2, das neben der berichtenden Einrichtung vom Universitätsklinikum Leipzig und Helmholtz Zentrum München bearbeitet wird, ist der Vergleich von Dosisverteilungen im Körper durch unterschiedliche Bestrahlungstechniken bei Brustkrebspatientinnen mit guter Prognose unter Berücksichtigung patientenspezifischer und gerätetechnischer Parameter. Dazu sollen (1) Phantome, die wesentliche Parameter der Anatomie einzelner Patientengruppen widerspiegeln, erarbeitet werden; und (2) Bestrahlungsplanungsstudien von (a) 3D-konformalen Bestrahlungstechniken, (b) interstitieller Brachytherapie und (c) intraoperativer Strahlentherapie mittels gängiger Planungssysteme für die Umgebung des Planungsvolumens sowie Dosisvergleichsanalysen mittels Berechnung und Messung an Phantomen für weiter entfernt liegende Organe und Gewebe durchgeführt werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Aufbau Datenbank mit anonymisierten klinischen und dosimetrischen Daten: Die primäre Datenbank (Excel-Format) kann ins ASCII Format konvertiert und somit zum Datenaustausch mit den Projektpartnern entsprechend formatiert werden.
- Konturierung und dosimetrische Erfassung von Risikoorganen: Die Patientendatenbank enthält inzwischen 81 Patienten. Diese sind vollständig konturiert und bzgl. verschiedener in PASSOS vereinbarter Techniken dosimetrisch erfasst (3D-CRT fertig, IMRT 15 Patienten fertig).
- Bewertung der Bestrahlungsplanungs-Techniken/Algorithmen: Wie bereits im vergangenen Zwischenbericht erwähnt, wurde erfolgreich an einem Programm zur Extrahierung der Dosis-Volumen Beziehungen an der Universität Rostock gearbeitet. Dieses Programm wird zur endgültigen Datenübertragung aller Patientendaten an die Epidemiologen verwendet. Erste Daten wurden an das Helmholtz Zentrum München bereits übermittelt.
- Phantommessungen für Dosisabschätzung: Bisher keine neuen Ergebnisse

- Dosisberechnung bei Brachytherapie: Inzwischen wurde erfolgreich an einem Programm gearbeitet, welches die Dosismatrix des Brachytherapie-CTs in den CT Datensatz der PASSOS-Konturierung integriert. Erste dosimetrische Daten wurden auf dem vergangenen Projekttreffen in Leipzig bereits vorgestellt.
- Dosisverteilung in entfernt gelegenen Risikoorganen anhand der Konturierung eines Ganzkörper-CTs: Mit Hilfe eines Ganzkörper CTs einer anonymisierten Patientin konnten an der Universität Rostock die kompletten Knochenstrukturen sowie z. B. auch der Uterus konturiert und erstmals Dosisbelastungen des Knochenmarks bei der Behandlung des Mammakarzinoms bei Anwendung verschiedener Techniken abgeschätzt werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Seit dem letzten Zwischenbericht wurden weitere Patienten retrospektiv mit der IMRT step-and-shoot Technik nachgeplant. Hier hat sich gezeigt, dass selbst bei einer Optimierung auf ein einzelnes Risikoorgan die mittlere Dosis des Risikoorganes nur in Ausnahmefällen geringer ausfällt als bei der 3D konformalen Bestrahlungstechnik. Nur bei rund einem Drittel der Patienten konnte mit Hilfe der IMRT Technik das Hochdosisvolumen von z. B. der Lunge oder des Herzens reduziert werden. In den meisten Fällen ist jedoch die 3D-CRT Technik der IMRT Technik überlegen. Teilweise lässt sich z. B. im Myocard der Anteil des Hochdosisvolumens zwar reduzieren, anteilig steigt dann jedoch das Volumen im unteren Dosisbereich so stark an, dass sich die mittlere Dosis trotz Optimierung noch signifikant erhöht.

Die Unvorhersagbarkeit der potentiellen Schonungsmöglichkeiten der IMRT-Technik gegenüber der 3D konformalen Technik sind Folge der sehr komplizierten individuellen geometrischen Verhältnisse – also der Lagebeziehungen der Organe untereinander.

Vergleicht man verschiedene IMRT Pläne miteinander, wobei bei Plan1 möglichst alle Risikoorgane (kontral. Mamma, ipsilat. Lunge, Herz) gleichermaßen geschont werden und bei Plan2 der Fokus lediglich auf maximaler Herzschonung liegt, ergibt sich im Mittel eine Reduktion der mittleren Herzdosis um 0.2 Gy während gleichermaßen die mittlere Dosis der ipsilateralen Lunge um 2 Gy erhöht wird. Die Ursachen liegen in erster Linie im tangentialen ‚Umstrahlen‘ des Herzens zu Kosten der Lunge sowie einem höheren Anteil an Streustrahlung durch eine rund 15 prozentiger Erhöhung der abgestrahlten MonitorUnits am Beschleuniger (mehr Segmente für Plan mit Herzoptimierung). Zudem erhöht sich die mittlere Dosis entfernt gelegener Risikoorgane wie z. B. der Schilddrüse oder des Oesophagus um rund 5-10 % bei Verwendung der IMRT Technik im Vergleich zur 3D konformalen Technik. Die zum Zielvolumen geometrisch meist ungünstig gelegene kontralaterale Mamma, bekommt durch die IMRT Technik eine um den Faktor 3-4 erhöhte Gesamtdosis. Die mittlere Dosis im Axilla-Level1+2 wird durch die IMRT Technik um rund 20 % reduziert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Der Hauptfokus der kommenden Monate liegt auf der Fertigstellung weiterer Bestrahlungspläne mit der step-and-shoot IMRT Technik sowie der Dosisberechnung bei Anwendung der Brachytherapie. Die Daten sollen nun zeitnah den Epidemiologen zur Verfügung gestellt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 026E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 317.424,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wolf	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In den S3 Leitlinien für die Behandlung von Brustkrebspatientinnen werden in Abhängigkeit vom Risikofaktorenprofil eine oder mehrere Strahlenanwendungen unterschiedlicher Komplexität empfohlen. Es ist allerdings in verschiedenen Studien gezeigt worden, dass sowohl Krebs als auch Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems nach Strahlenexposition erhöht auftreten. Aktuelle Untersuchungen zeigen zum Teil deutliche Unterschiede der Dosisverteilung bei bestrahlungsvolumennahen Organen, jedoch ist weniger bekannt, wie sich diese unterschiedlichen Techniken hinsichtlich der Dosisverteilung in weiter entfernten Organen unterscheiden. Komplexe Therapieverfahren werden in der Hoffnung eingesetzt bessere Therapieerfolge bei weniger Nebenwirkungen zu erzielen. Zur Bewertung der Langzeitfolgen ist eine genaue Abschätzung der Dosisverteilung notwendig.

Ziel von AP2 ist der Vergleich von Dosisverteilungen im Körper von unterschiedlichen Bestrahlungstechniken bei Brustkrebspatientinnen mit guter Prognose unter Berücksichtigung patientenspezifischer und gerätetechnischer Parameter. Dazu sollen (1) Phantome, die wesentliche Parameter der Anatomie einzelner Patientengruppen widerspiegeln, erarbeitet werden; und (2) Bestrahlungsplanungsstudien von (a) 3D-konformalen Bestrahlungstechniken, (b) interstitieller Brachytherapie und (c) intraoperativer Strahlentherapie mittels gängiger Planungssysteme für die Umgebung des Planungsvolumens sowie Dosisvergleichsanalysen mittels Berechnung und Messung an Phantomen für weiter entfernt liegende Organe und Gewebe durchgeführt werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- I. Selektion und Gruppierung der Patienten:
  - Festlegung der zu erfassenden Patientenparameter
  - Richtlinien zu Auswahl und Segmentierung der einzelnen Organe
- II. Auswahl Bestrahlungstechnik und Dosisberechnung:
  - Analyse und Auswahl der Dosisberechnungsverfahren für die zu untersuchenden Bestrahlungstechniken
  - Messtechnische Evaluation der Präzision des implementierten Dosisberechnungsverfahrens (Collapsed Cone) für die Ermittlung der Organdosen im Bereich der Primärstrahlung
  - Erarbeitung und Evaluierung eines Verfahrens zur Ermittlung von Organdosen bei der interstitiellen Brachytherapie (Monte-Carlo) einschl. messtechnischer Verifikation an geeigneten Phantomen
  - Erarbeitung und Parametrisierung einer Methodik zur Abschätzung des Doseintrags der Streu- und Durchlassstrahlung einschl. messtechnische Verifikation
- III. Patienten-Datenbank:
  - Erstellen einer Patientendatenbank der erfassten Parameter

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### I.:

- Die Konturierung der Risikoorgane wurde abgeschlossen. Bis Ende Juli 2015 wurden 78 Patientinnen rekrutiert (linksseitig: 45, rechtsseitig: 33). Alle Patientinnen erhielten eine Ganzbrustbestrahlung mit einer 3DCRT und eine Boostbestrahlung (als Brachy- oder Teletherapie). Eine Boostbestrahlung mit Brachytherapie (iBT) erhielten 68 Patientinnen. Zusammen mit 10 Patientinnen, die selbst keine iBT erhielten, konnten für 78 Patientinnen retrospektiv Pläne mit den nachfolgend genannten Techniken erstellt werden.

#### II.:

- Bestrahlungstechniken: 3DCRT-Tangente mit und ohne Keilfilterkompensation 6 MV bzw. 10 MV, Hybrid-IMRT-Tangente mit Ausgleichsfilter (FF) und ohne (FFF), Simultan-integrierter Boost (SIB), Perkutaner Boost, Interstitieller Boost (insgesamt 519 Pläne)
- Die Auswertung von 78 Patienten ergab, dass ca. 59 % der Patientinnen eine Tumorlokalisation im oberen Quadranten der Brust aufweisen.
- Für die Herzstrukturen liefert die Hybrid-IMRT (FFF) die geringsten Dosiswerte.
- Die 3DCRT ohne Keilfilter liefert die inhomogensten Dosisverteilungen und die Hybrid-IMRT Dosisverteilungen mit der höchsten Konformität.
- Im Vergleich zur Standardtechnik (3DCRT mit Keilfiltern) verursacht die Hybrid-IMRT FFF die niedrigsten peripheren Dosiswerte (Verhältnis = 0.59 zur Standardtechnik).
- Ein Vergleich der relativen Dosisbelastung der Risikoorgane bei perkutanem und interstitiellem Boost (Ma-Ca li) ergab, dass die iBT außer bei der Schilddrüse, geringere Dosiswerte als die perkutane Boostbestrahlung liefert.
- Kommissionierung des Linac Primus im Planungssystem RayStation ist abgeschlossen. Der Linac Artist benötigt noch Finetuning.
- Für Untersuchungen zur Brachytherapie wurde Messungen und Berechnungen (Oncentra Brachy, Monte-Carlo) mit einem Plexiglasphantom durchgeführt. Das Phantom konnte in EGSnrc implementiert werden. Dabei konnte für das Herzsurogat im Phantom eine maximale lokale Dosisunterschätzung von 11.4 % durch das konventionelle Planungssystem ermittelt werden.

#### III.:

- Die Grundstruktur der Datenbank wurde in Abstimmung mit der Uni Rostock definiert.
- Ein Excel-Template zur einheitlichen Datenerfassung wurde generiert.
- Daten von 60 Patientinnen wurde an das HZM weitergeleitet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

#### I.:

- Kategorisierungen nach spezifischen geometrischen Parametern (u. a. Thoraxkrümmung, PTV-Volumen, PTV-Dicke- und Ausdehnung, Herz-Thorax-Parameter...) werden weiterhin untersucht.

#### II.:

- Abschluss der Kommissionierung des TPS Raystation.
- Untersuchungen zur Möglichkeit eines Konzeptes zur Korrektur der Abweichungen .
- Verifikation der bisherigen Ergebnisse mittels Phantommessungen für verschiedene Geometrien und Techniken, Robustheitstests durch Simulation von Lageabweichungen.
- Abschätzung der Unsicherheiten der dosimetrischen Daten für die Tele- und Brachytherapie.

#### III.:

- Auswertung klinischer und dosimetrischer Daten.
- Weitergabe und Aufarbeitung dosimetrischer Daten an nachfolgende Arbeitspakete.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 026F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2013 bis 31.12.2016	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 329.328,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schwaiger	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Diagnose der koronaren Herzerkrankung ist heute durch den Einsatz ionisierender Strahlung geprägt – durch die Myokard-Szintigraphie, die CT-gestützte Koronarangiographie oder die interventionelle Koronarangiographie mittels Röntgenstrahlung. Für die Zukunft werden darüber hinaus auch multimodale Konzepte (SPECT/CT oder PET/CT) diskutiert. Bei derartigen Untersuchungen werden die Patienten zum Teil erheblichen Strahlenexpositionen ausgesetzt. In diesem Projekt sollen die resultierenden Organdosen zur Abschätzung von Spätfolgen und der personalisierten Optimierung der Untersuchungsverfahren bestimmt werden. Insbesondere der Vergleich der Dosisverteilung für PET-Verfahren wird von Interesse sein, da die kurzlebigen Isotope der PET-Radiopharmazeutika die Strahlenexposition verringern können. Existierende Methoden (z. B. Koronarangiographie) und in der Entwicklung stehende (PET/CT, PET/MR, Herz-CTA) sollen hinsichtlich der Strahlenexposition und der entsprechenden diagnostischen Aussagekraft vergleichend untersucht werden.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Auflistung Untersuchungsverfahren, Zuordnung zu Patienten und Fragestellungen, Festlegung Startparameter, Optimierung von Datenaufnahmeparameter und der klinischen Integration
- Anpassung der Untersuchungsprotokolle für neue Ethikanträge und Ergänzungen bereits gestellter Anträge
- Patientenuntersuchungen und Qualitätskontrolle der Bilddaten
- Validierung biokinetischer Modelle, Möglichkeiten der Modellvereinfachung, Parameter-Festlegung, Biokinetik, Erstellung personalisierter Modelle
- klinische Evaluation, diagnostische Aussagefähigkeit verschiedener Verfahren
- Berechnung Organdosisverteilungen, Zuordnung klinische Evaluation, statistische Auswertung Aufnahmeparameter
- Direkter Nachweis der potentiellen Schäden im Herzmuskel nach Bestrahlung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurde ein Ethikantrag in zwei Iterationen erstellt, der die MRT-Untersuchung von Patientinnen ca. fünf Jahre nach Bestrahlung von Mammatumoren zum Inhalt hat. Bei diesen The-

rapien wurden Teile des Herzmuskels bestrahlt. Wir werden mittels einer funktionellen MR-Untersuchung, die ja ohne den Einsatz ionisierender Strahlung auskommt und damit eine sehr hohe Akzeptanz bei den Patientinnen hat, regionale Effekte hinsichtlich struktureller und funktioneller Veränderung nachweisen. Für diese Untersuchungen wurden schnelle MRT-Herzsequenzen weiter optimiert und dabei die räumliche Auflösung weiter gesteigert. Somit wurde die Wahrscheinlichkeit, auch kleine Schäden zu entdecken, verbessert. Die erneute Begutachtung ergab allerdings noch weitere Wünsche der Ethikkommission hinsichtlich der Verständlichkeit der Patientenaufklärung. Der Antrag wurde deswegen weiter modifiziert und wurde im Januar 2016 erneut eingereicht.

Insbesondere die PET/MR- und PET/CT-Messmethoden wurden hinsichtlich des bevorstehenden Einsatzes neuer, herzspezifischer PET-Tracer weiter optimiert. Deswegen wurde auch der Ethik-Antrag für Ganzkörpermessungen angepasst und deckt alle Untersuchungen (SPECT-CT, PET-CT, PET-MR-Aufnahmen) und das Auswerten von Urin- und Blutproben ab. Die Erstellung des Antrages hat sich wegen der geplanten neuen PET-Tracer wieder verzögert und wird im ersten Quartal 2016 eingereicht.

Für die bereits vorliegenden Daten aus früheren Studien (TIM-1, TIM-2, Bombesin) wurde an einer Publikation mit Helmholtz-Zentrum München mitgearbeitet, das nach einem ersten Versuch vom European Journal for Nuclear Medicine abgelehnt wurde, dann am Journal of Nuclear Medicine submittiert wurde und dort positiv begutachtet wurde („Major revision“). Die überarbeitete Version wurde nun gerade eingereicht.

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

Nachdem der mehrfach modifizierte Ethikantrag zur MR- Bildgebung zum Nachweis eventueller Schädigungen des Herzmuskels durch Brustbestrahlung endgültig genehmigt ist, beginnen die Untersuchungen nun im März 2016. Hierzu werden in den verbleibenden drei Quartalen bei 45 Patientinnen die MRT-Perfusionsuntersuchungen durchgeführt.

Ab dem 2. Halbjahr 2016 werden nun im zweiten und dritten Quartal folgende neue Tracer evaluiert:  $^{68}\text{Ga}$ -CXCR4 und  $^{68}\text{Ga}$ -RGD werden zur Bestimmung inflammatorischer Prozesse nach Herzinfarkt und in der Diagnostik der Halsgefäße und  $^{18}\text{F}$ -LMI1195 zur Bestimmung der sympathischen Innervation des Herzens zur Verfügung stehen. Damit werden nun dynamische PET-Ganzkörperaufnahmen erstellt. Um die medizinische Logistik der zeitaufwendigen Patientenuntersuchungen (20 Patienten mit je drei PET Scans zur Dosimetrieberechnung) zu sichern, ist für das zweite Halbjahr 2016 eine  $\frac{1}{2}$  Arztstelle geplant, die den methodisch verantwortlichen Wissenschaftler (3/4 Doktorand) und die  $\frac{1}{2}$  MTRA bei der Rekrutierung, Betreuung und Auswertung unterstützt.

Außerdem werden die noch erforderlichen Ethik-Anträge angepasst sowie die Auswertung der bereits vorhandenen kinetischen Daten abgeschlossen und die neuen Daten dem Helmholtzzentrum zur Verfügung gestellt.

Aufgrund der komplexen regulatorischen Prozesse bei der Einführung neuer Radiopharmazeutika wurde das Projektzeitfenster bis zum Ende der Laufzeit von PASSOS ausgedehnt. Da die Erstellung der kinetischen Modelle und der personalisierten Dosisabschätzung aber bereits vorhanden sein wird, ist die schnelle Verarbeitung der hier generierten Daten gesichert und wird die Aussagekraft des Projektes weit über den der konventionellen Blutflussmarker hin zur molekularen Charakterisierung von Herzgewebe erhöhen.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 030A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.582.482,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Tschiersch	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.2: Für die Laborexperimente wurden Schneesäulen und Hauben für die trockene Deposition der Radionuklide mittels Aerosolgenerator entwickelt und getestet. Im Labor wurden die Bedingungen, wie sie auf der Zugspitze zurzeit der Schneeschmelze vorherrschen im Kühlraum nachgestellt (Temperatur, Einstrahlung, Schmelzrate) und erste Schmelzexperimente mit

Schnee durchgeführt. Aus den Monatsschneeproben wurden Gesamtdepositionen von Be-7, Pb-210 und Cs-137 für den Winter 2014/2015 berechnet und für das gesamte Einzugsgebiet des Zugspitzplatts interpoliert.

- AP1.3: An Referenzmaterialien (CRM-137) und Altschneeproben (je ca. 20 l) wurden erste Testmessungen mittels AMS am Maier-Leibniz-Labor in Garching durchgeführt. Die Anzahl an Pu- und Am-Atomen in den Schneeproben lagen im Bereich der Blankwerte mit hohen Unsicherheiten. Aus diesem Grund wurde beschlossen größere Schneemengen (je ca. 100 kg) zu sammeln. Seit April erfolgten die AMS-Messungen am Labor für Ionenstrahlphysik der ETH Zürich aufgrund der Schließung des Labors in Garching. Die Analyse von Schnee- und Regenproben von 2015 ergab für die Gehalte an Pu und Am Werte über dem Blanklevel mit geringen Unsicherheiten.
- AP2.5: Es wurden konservative (Bromid, Deuterium) und reaktive (Cs) Transportexperimente in homogenen und heterogenen Sedimentsäulen bei konstanter Fließgeschwindigkeit durchgeführt. Der Transport von Cs in heterogenen Sedimenten war im Vergleich zu homogenen deutlich verzögert. Diese Retardation ist einerseits durch die Adsorption von Radionukliden am Ton verursacht, andererseits muss in heterogenen Sedimenten zusätzlich noch Diffusion als entscheidender Transportprozess berücksichtigt werden. Momentan werden diese Prozesse durch mathematische Modellierung quantifiziert. Im nächsten Schritt werden Versuche bei unterschiedlicher Fließgeschwindigkeit durchgeführt, um zu untersuchen wie variable Fließbedingungen den Transport verändern und der Einfluss des Cs auf natürliche mikrobiologische Gemeinschaften untersucht.
- AP3.1: Basierend auf dem Biokinetikmodell von Taylor wurden die Unsicherheiten und die Verteilungsfunktion der zusammengestellten Modellparameter bestimmt. Basierend auf den SAF-Werten, die aus den Monte-Carlo-Simulationen an den verschiedenen Voxel-Phantomen gewonnen werden können, werden momentan die Unsicherheiten und die Verteilungsfunktionen von S-Werten bestimmt. Parallel dazu wird an der Entwicklung einer Software gearbeitet, die erlaubt die Dosiskoeffizienten und ihre Unsicherheiten zu berechnen.
- AP4.2: Die Messungen von Be-7 im Abwassersystem der Bremer Altstadt in Kooperation von HMGU, Uni Bremen und hanseWasser Bremen GmbH werden fortgeführt. Die Modellberechnungen zur Verbreitung von Radionukliden in Trinkwasserver- und Entsorgungssystemen wurden abgeschlossen und sollen im weiteren Projektverlauf mit den Dosisabschätzungen für die Bevölkerung und der Verifizierung der Modelle mit nach dem Fukushima Unfall gemessenen Kontaminationsdaten zusammengefasst werden.
- AP5: An der WE-Heraeus Physikschule „Ionising Radiation and the Protection of Man“ (03.-14.08.2015 in Bad Honnef) beteiligten sich zwei Nachwuchswissenschaftler/innen von TransAqua. Am 16.-17.11.2015 wurde in Jena der zweite Workshop, dieses Mal zum Thema „Verhalten von Radionukliden im Wasserpfad“, durchgeführt. Die Teilnahme einer Nachwuchswissenschaftlerin aus TransAqua an einer internationalen Konferenz wurde unterstützt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeitspakete werden entsprechend des jeweiligen Balkenplans abgearbeitet.

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

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 164.749,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Breustedt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Arbeitspaket 2.1 ist in drei Teilschritte unterteilt:

- *Design des Detektors:* Test und Auswahl verschiedener Detektormaterialien. Ein modernes akkreditiertes Messlabor zur Analytik von Radionukliden kann dabei in vollem Umfang genutzt werden. Endgültiges Design und Optimierung für das Detektormaterial und die Messgeometrie erfolgen durch die Simulation des Strahlungs- und Lichttransports im Detektor.
- *Aufbau eines Prototypen:* 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**

- Weitere Monte-Carlo-Simulationen
- Anschaffung und Inbetriebnahme eines 3D-Druckers
- Herstellung und Tests eines Detektorgehäuses
- Prototypmessungen mit  $^{137}\text{Cs}$ -haltigem Wasser

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

- Validierungen der Simulationsergebnisse
- Das Auslese- und Analyseprogramm soll in seiner Handhabung und seinen Möglichkeiten den Anforderungen entsprechend weiterentwickelt werden.
- Die Detektorsensitivität soll durch bauliche Maßnahmen verbessert werden.
- Prototypmessungen mit verschiedenen Radionukliden

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

Vortrag TransAqua-Workshop Jena, November 2015

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 030C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 398.304,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Urangelhalte ( $> 10 \mu\text{g/L}$ ).

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+2:

Die mikrobiologischen Arbeiten sind weitestgehend abgeschlossen.

AP3:

Die abschließende mikrobiologische Charakterisierung beider Lokationen zeigte, dass insgesamt 64 Isolate aus der Tiefen Sohle und 37 Isolate von der Märchengrotte kultiviert werden konnten, wobei nahezu ausschließlich Pilzisolat und lediglich ein Bakterienstamm (*Arthrobacter* sp.) gewonnen werden konnten. Ebenso wurden aus den Präzipitaten ausschließlich Pilze isoliert. Die folgende Literaturrecherche zeigte, dass u. a. *Candida* sp., *Mucor* sp. und auch *Arthrobacter* sp. in der Lage sind, Uran bzw. Thorium zu akkumulieren. Neben der Aufnahme von Radionukliden sind einige Isolate auch bekannt für die Akkumulation von Schwermetallen (z. B. Cu, Cd, Cs). Die Isolate wurden auf ihre Fähigkeit zur Produktion von Biofilmen getestet. Diese Ansammlung von Mikroorganismen an festen Grenzflächen bewirkt u. a. die Akkumulation von Radionukliden. Es konnte eine verstärkte Biofilmproduktion der Pilzisolat (z. B. *Trichosporon* sp.) nachgewiesen werden.

Zusätzlich zu den bisherigen Arbeiten wurde die Geochemie des Laacher Sees der letzten 150 Jahre untersucht. Dazu wurden Seesedimente herangezogen und diese in Zusammenarbeit mit einer weiteren Gruppe aus TransAqua analysiert. In Kooperation mit Herrn Prof. Eckerhard Klemm von der Hochschule Ravensberg-Weingarten wurden Sedimente des Laacher Sees mittels radiogener Isotope in ein unabhängiges Altersmodell überführt. Mit Unterstützung durch Herrn Dr. Siebert, Umweltforschungszentrum Halle-Leipzig, konnte ein 90 cm langer Kern gezogen und von diesem 66 Proben entnommen werden. In Weingarten wurden <sup>7</sup>Be (atmosphär. Eintrag, kosmische Strahlung), <sup>40</sup>K (natürliche Gesteinsstrahlung, Glimmer, Tone), <sup>137</sup>Cs (Bomben-Fallout), <sup>210</sup>Pb (natürl. Gesteinsstrahlung, Uranzerfallsreihe) und weitere Isotope gemessen. Begleitend wurden detaillierte mikroskopische Analysen und magnetische Suszeptibilitäten aufgenommen, die bis zum Sommer mit weiterem Kernmaterial verglichen werden. Damit können Änderungen der Umwelt innerhalb der letzten 150 Jahre präzise gefasst werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Die an den Bohrkernproben lokal auftretende, erhöhte Th- und U-Konzentrationen werden derzeit in Kooperation mit dem VKTA Dresden gamma-spektrometrisch näher untersucht.

AP2: Die im letzten Zwischenbericht geplante, weiterführende hydrochemische/(mikrobiologische) Kartierung des Untersuchungsgebietes konnte während Mutterschutz/Elternzeit im aktuellen Berichtszeitraum noch nicht umgesetzt werden. Die Versuche werden im nächsten Berichtszeitraum durchgeführt.

AP3: Die im letzten Zwischenbericht beschriebenen, geplanten Toleranztests (z. B. U, Th) sowie Batch-Tests werden zeitnah umgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Harpke, M. (2015): Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus dem ehemaligen Alaunschieferbergwerk „Morassina“. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Schäfer, D. (2015): Mikrobiomanalyse von Eisenpräzipitaten und saurer Grundwässer des ehemaligen Alaunschieferbergwerkes „Morassina“. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Schöneck, C. (2016): Anfertigung und halbquantitative Auswertung von Smear Slides aus Sedimentkernen des Laacher See. Bericht zum Vertiefungsmodul II. Friedrich-Schiller-Universität Jena.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 317.916,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

- AP1: Die theoretischen Vorarbeiten zu den Stoffkreisläufen der Elemente H, C, Cl, Sr, I, Pu und der Einordnung der Radionuklide  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{129}\text{I}$ ,  $^{239}\text{Pu}/^{240}\text{Pu}$  in diese Kreisläufe wurden fortgesetzt.
- AP2: Mit Ausnahme der Waldstandorte ist für alle geplanten Probenahmestandorte eine Betretungserlaubnis eingeholt worden. Zwei Bodenprobenahmen im Wald sind für das Frühjahr 2016 vorgesehen.

- AP3: Alle geplanten Probenahmestellen für Wasserproben wurden festgelegt und inzwischen mindestens einmal beprobt. Weiterhin wurden die ersten zwei Bodenmischproben von Ackerlandflächen genommen. Der auf dem Gelände des Wasserwerkes Fuhrberg aufgestellte Regensammler wurde bis Mitte Dezember regelmäßig alle 14 Tage beprobt. Die Probenahme wurde mit dem einsetzenden Winter abgeschlossen und der Sammler zurückgebaut.
- AP4: Versuche zur Anreicherung von Sr-90 aus großvolumigen Wasserproben im Rahmen eines Forschungspraktikums haben gezeigt, dass weiterer Optimierungsbedarf besteht. Die Versuche zur C-14 –Bestimmung zeigen leider noch nicht gewünschte Reproduzierbarkeit in den Ausbeuten. Zu Vergleichszwecken und Qualitätskontrolle werden parallel auch C-14–Bestimmungen mittels AMS vorbereitet. Orientierende Messungen zu Cs-137 haben gezeigt, dass die Bestimmung des Nuklids mit dem ausgewählten Anreicherungsverfahren erreicht werden kann. Die Herstellung entsprechender Gamma-Messpräparate wird durchgeführt.
- AP5: Die Messungen für Tritium sind praktisch abgeschlossen. Die mittleren Tritiumaktivitäten im Regenwasser zeigen mit  $8,8 \pm 3,4$  TU (Tritium Unit) für den norddeutschen Raum übliche Werte. Die Ergebnisse für Fließgewässer mit  $10,1 \pm 3,3$  TU und stehende Gewässer mit  $10,5 \pm 3,4$  TU weichen nicht wesentlich davon ab. Die Tritiumwerte der Grundwasserproben fielen unerwartet aus und lassen sich zwei Gruppen zuordnen: eine Gruppe weist Werte von durchschnittlich 11,5 TU auf, die andere Gruppe liegt im Bereich von durchschnittlich 28 TU. Die Gründe für diese Verteilung müssen noch geklärt werden.
- Auch die Iod-Bestimmungen sind weitgehend abgeschlossen. Die Ergebnisse für die Oberflächengewässer lagen hinsichtlich ihrer I-129-Gehalte und ihrer Isotopenverhältnisse im gleichen Bereich wie die von niedersächsischen Oberflächengewässern aus anderen Regionen. Die untersuchten Grundwasserproben zeigten mit Werten von  $2,1 \cdot 10^{-14} \pm 9,2 \cdot 10^{-16}$  bis  $8,0 \cdot 10^{-14} \pm 1,7 \cdot 10^{-15}$  g/kg I-129-Gehalte, die um eine Größenordnung über denen von Vergleichsproben aus Niedersachsen lagen und die damit teilweise im Konzentrationsbereich der Oberflächenwasserproben fielen. Das Gleiche trifft auf das I-129/I-127-Isotopenverhältnis zu, da Unterschiede hier im Wesentlichen vom I-129-Gehalt bestimmt werden.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Weiterführung der theoretischen Vorarbeiten zu den Stoffkreisläufen der Elemente H, C, Sr, Cs, I, Pu, und der Einordnung der Radionuklide  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{129}\text{I}$ ,  $^{239}\text{Pu}/^{240}\text{Pu}$ .
- Organisation der letzten Probenahme für Bodenproben an Waldstandorten im Fuhrberger Feld
- Weiterführung der Probenahmen für Wasserproben im Fuhrberger Feld entsprechend der verfügbaren Laborkapazitäten
- Verbesserung der Verfahren zur C-14 –Bestimmung
- Optimierung der Anreicherungsverfahren zur Bestimmung von Sr-90 und Plutonium

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 140.292,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Schönert	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel ist es eine Methode zu entwickeln die es erlaubt, anthropogene, langlebige Spaltprodukte und zusätzlich Plutoniumisotope in derselben Probe in aquatischen Ökosystemen nachzuweisen und ihre Ausbreitung zu verfolgen. An den verschiedenen Messplätzen der Beschleuniger-Massenspektrometrie am Münchner Tandem Beschleuniger sollen dazu dedizierte Tests durchgeführt werden, die durch numerische Simulationen begleitet werden sollen. Als Anwendung sollen in Schneeeproben 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 Schneeeproben durchgeführt.

Geeignete Schneeeproben 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

Eine unerwartete Brand-/Bauschutzmaßnahme im späten Frühjahr 2015 hat dazu geführt, dass wir nur beschränkten Zugang bzw. keinen Zugang zu unseren Laboren hatten. Der Wiederbetrieb war gegen Ende August vorgesehen. Nachdem wir jedoch vorher erfolgreich Messungen durchgeführt hatten, wollten wir diese Zeit vorwiegend zur Datenanalyse und Probenvorbereitung nutzen. Bedauerlicherweise stellte sich dann heraus, dass der Stopp sich bis Anfang Dezember verzögerte. Auf Grund dessen kam es zu einer Kündigung bei der TransAqua Stelle. Um unser Projekt nicht zu gefährden konnte ein frisch promovierter Postdoc gewonnen werden; dieser widmet jetzt 50 % (entsprechend der Bezahlung) seiner Arbeitszeit TransAqua.

Um unsere bereits präparierten Proben zu messen, haben sich unsere Kollegen von der AMS Anlage in Wien bereit erklärt uns zu helfen, solange wir keinen Zugang zu unserem Gebäude haben. Für diese Messungen in Wien hatte sich Frau Hain (Doktorandin auf einem verwandten Forschungsgebiet) zur Verfügung gestellt um dies mit unseren Kollegen in Wien durchzuführen. Gemessen wurden  $^{239/240/241}\text{Pu}$  sowie  $^{237}\text{Np}$ , da dies mit der kleinen Maschine in Wien mit genügender Genauigkeit möglich ist. Die genauere Bestimmung der Ergebnisse wird gegenwärtig noch durchgeführt.

Die Entwicklung der Methode zum höchstempfindlichen Nachweis von  $^{93}\text{Zr}$  ( $T_{1/2} = 1.53 \cdot 10^6 \text{a}$ ) wurde fortgesetzt. Um die Nachweisgrenzen zu bestimmen sind unter anderen zum Vergleich Standards nötig. Eichstandards von  $^{93}\text{Zr}$  sind kommerziell nicht erhältlich. Es wurde deshalb in Zusammenarbeit mit dem CEA in Cadarache ein  $^{93}\text{Zr}$  Kalibrierstandard hergestellt. Zur Herstellung wurde angereichertes  $^{92}\text{Zr}$  (stabil) am OSIRIS Reaktor in Saclay mit Neutronen bestrahlt;  $^{92}\text{Zr}(n,\gamma)^{93}\text{Zr}$ . Detaillierte Rechnungen unserer Kollegen vom CEA ergaben dann die entsprechenden Werte für das Verhältnis  $^{93}\text{Zr}/^{92}\text{Zr}$ . Anfang Dezember konnten wir dann wieder Messungen, unter Verwendung dieser Kalibrierstandards, in Garching durchführen. Hier wurden zwei Methoden verwendet: Zuerst mehrere (SiN) Folien um die unterschiedlichen Energieverluste von  $^{93}\text{Zr}$  und dem störenden stabilen Isobar  $^{93}\text{Nb}$  auszunutzen. Zusätzlich zur Energiemessung gab es noch bei den Messungen eine vorgehende Flugzeitbestimmung. Als zweite Methode wurde unser GAMS System eingesetzt. Hier geschieht die Isobarentrennung mittels eines gasgefüllten Magneten plus einer Ionisationskammer mit 5 Anoden. Die erzielten Empfindlichkeiten der Verhältnisse lagen bei beiden Methoden bei etwa  $^{93}\text{Zr}/\text{Zr} \approx 2 \cdot 10^{-10}$ . Bei Abschätzung in Bq entspricht dies etwa  $\approx 0.2 \text{mBq}$ . Damit wird es erstmals möglich sein  $^{93}\text{Zr}$  auch bei extrem niedrigen Konzentrationen bzw. sehr kleinen Probenmengen nachzuweisen und in der Umwelt zu verfolgen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Entsprechend des Antrages sind die Weiterarbeiten geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

K. Hain et al.: NVIRA2015 (Thessaloniki), 21.-25.09.2015, Search for Pu and Np in Sea Water with regard to the Fukushima Accident using AMS

K. Gückel et al.: Migration2015 (Santa Fee), 13-18.10.15, Determination of plutonium and americium in snow and rain from Mt. Zugspitze and Neuherberg

Master Arbeit:

B. Deneva: Development of accelerator mass spectrometry for  $^{93}\text{Zr}$

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. v., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 596.288,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Arnold	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

### AP3.2:

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

### AP4.3:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3.2: Die Untersuchungen zur Komplexierung von Eu(III) und Cm(III) mit dem Protein  $\alpha$ -Amylase, dem wichtigsten Verdauungsenzym im Speichel, welches als ein bedeutender Bindungspartner für Ln(III)/An(III) im Speichel identifiziert wurde, wurden abgeschlossen. Sorptionsexperimente, potentiometrische und spektroskopische Titrations zeigten eine schnelle und starke Wechselwirkung von Eu(III) und Cm(III) mit  $\alpha$ -Amylase. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Eu(III) das Protein-gebundene Calcium verdrängt und dessen Platz im Protein einnimmt. Jeweils 2 unterschiedliche Metall-Protein-Komplexe konnten identifiziert werden. Komplexstabilitätskonstanten wurden für die Bindung an jeweils 1 bzw. 3 Carboxylgruppen der Aminosäureeinheiten Asparaginsäure (Asp) und Glutaminsäure (Glu) des Proteins bestimmt (für Eu(III):  $\log \beta_{11} = 4.7 \pm 0.2$ ,  $\log \beta_{13} = 12.0 \pm 0.4$ ; für Cm(III):  $\log \beta_{11} = 4.8 \pm 0.1$ ,  $\log \beta_{13} = 12.1 \pm 0.1$ ). Untersuchungen zur Enzymaktivität von  $\alpha$ -Amylase in Gegenwart von Eu(III) zeigten, dass Eu(III) die Enzymaktivität stark abschwächt. In Gegenwart eines Ca-Überschusses (der der durchschnittlichen Ca-Menge im Speichel entspricht) hat das Eu(III) keinen Einfluss auf die Enzymaktivität.

Aus TRLFS-Untersuchungen zur Speziation von Eu(III) und Cm(III) im Gastrointestinaltrakt wurden das Glycoprotein Mucin und die N-Acetylneuraminsäure (NANA), ein Zuckermolekül des Mucins, als wichtige Bindungspartner für Eu(III) identifiziert. Aus konzentrations- und pH-abhängigen TRLFS-Messreihen von Eu(III) und Cm(III) mit NANA wurden Komplexstabilitätskonstanten ( $\log \beta_{11} = 3.2 \pm 0.1$  für Eu-NANA und  $3.3 \pm 0.1$  für Cm-NANA) ermittelt. Mit steigendem pH-Wert kann eine erhöhte Komplexbildung beobachtet werden, die jedoch im stark Basischen wieder rückgängig verläuft. Zudem wurde ein Carbonateinfluss auf die Komplexbildung zwischen NANA und Eu(III) beobachtet.

AP4.3: UV-Vis-, TRLFS- und XANES-Untersuchungen wurden am Flutungswasser der Uranmine Königstein nach Zugabe von Glycerol unter anaeroben Bedingungen durchgeführt. Hierbei wurde durch UV-Vis und XANES an 3 Wochen alten Proben eine Reduktion des U(VI) zu U(IV) bei gleichzeitiger Abnahme des Redoxpotentials nachgewiesen. Bei Anwendung der Iterative Target-Factor Analysis (ITFA) zeigte sich hier eine 100 %-ige Reduktion des U(VI), die vermutlich auf die Stoffwechselaktivität der anaerob vorkommenden Mikroorganismen im Flutungswasser in Anwesenheit von Glycerol zurückzuführen ist. Weitere EXAFS-Untersuchungen wurden am *Acidovorax facilis* Stamm sowie an Hefezellen nach U-Sorptionsexperimenten durchgeführt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP3.2: Der Carbonateinfluss auf die Komplexierung zwischen NANA und Eu(III) soll weitergehend untersucht werden. Des Weiteren sind Untersuchungen zur Struktur der Bindungspartner Mucin und NANA und deren Komplexe mit Eu(III) mittels IR- und NMR-Spektroskopie geplant. Für ein besseres Verständnis von Ln(III)/An(III)-Protein-Komplexen sollen spektroskopische Untersuchungen von Eu(III) und Cm(III) mit Dipeptiden aus Asparagin- und Glutaminsäure (Asp-Asp, Glu-Glu, Asp-Glu, Glu-Asp) durchgeführt werden. Neben TRLFS sollen auch IR- und NMR-Spektroskopie eingesetzt werden. TRLFS-Untersuchungen zur Speziation von Eu(III) bzw. Cm(III) in Blutserum sind ebenfalls geplant. Die spektroskopische Untersuchung der Komplexe von Eu(III) und Cm(III) mit Albumin, dem Hauptbindungspartner im Blut, soll fortgeführt werden.

AP4.3: Mit Hilfe von molekulargenetischen Analysen sollen die im Flutungswasser der Uranmine Königstein anaerob vorkommenden Mikroorganismen identifiziert werden. Des Weiteren werden kinetische Untersuchungen am Flutungswasser in Anwesenheit von Glycerol durchgeführt. Zur Bestimmung der Oxidationsstufe des Urans im Flutungswasser sind XANES-Untersuchungen an der Beam-Line in Grenoble geplant. Die Auswertung der Daten der EXAFS-Untersuchungen am *Acidovorax facilis* Stamm sowie an den Hefezellen sollen noch erfolgen. Des Weiteren werden die Bakterien und die Hefezellen nach dem U-Sorptionsexperimenten mittels TEM/EELS untersucht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

A. Barkleit, et al.: Interaction of europium and curium with alpha-amylase. Dalton Trans. 2016, accepted, DOI: 10.1039/C5DT04790K.

U. Gerber, et al.: Comparative studies on the interactions of the natural isolate KS5 and one reference strain (DSM 10134) with uranium(VI). HZDR, Institute of Resource Ecology, *Annual Report 2015*, p.??.

Krawczyk-Bärsch, E., et al.: Proof of U(VI) sorption on *Acidovorax facilis* by TRLFS and EF-TEM/EELS. HZDR, Institute of Resource Ecology, *Annual Report 2015*, p.??.

A. Barkleit, et al.: Interaction of europium and curium with alpha-amylase. HZDR, Institute of Resource Ecology, *Annual Report 2015*, p.??.

C. Wilke, et al.: A spectroscopic screening of the complexation of europium(III) in gastrointestinal tract: the intestine. HZDR, Institute of Resource Ecology, *Annual Report 2015*, p.??.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030G</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 326.236,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Walther	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben umfasst folgende Teilaufgaben:

- Nach intensiver Recherche und Studium einschlägiger Literatur auf hydrogeologischem, kernphysikalischem und radiochemischem Gebiet sind von dem Doktoranden geeignete Experimente zur Beobachtung des Radiumtransfers aus Gesteinen ins Wasser zu konzipieren.
- Zur Durchführung von Versuchen unter Variation von Druck und Temperatur ist eine Druckzelle oder ein Autoklavensystem aufzubauen und hinsichtlich konstanter Versuchsbedingungen zu testen.
- Um die experimentellen Daten auf reale hydrogeologische Aquifergestein-Fluid-Systeme übertragen zu können, sind reale Bohrkerne 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

In bisherigen Untersuchungen zur Radium-Freisetzung wurde beim Übergang von Radium aus Kaolin in Salzlösung (Na-Ca-Cl-Typ,  $c(\text{Salz}) = 110 \text{ g/L}$ ) eine Anreicherung von  $^{224}\text{Ra}$  gegenüber  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  festgestellt, welche auf den  $\alpha$ -Rückstoß zurückzuführen ist und gut mit der Zerfalls-/Bildungsfunktion von  $^{224}\text{Ra}$  korreliert. Da die analytische Unsicherheit für das kurzlebige  $^{224}\text{Ra}$  bis zu 50 % betrug, wurde die Versuchsdurchführung um eine Anreicherung mittels Rotationsverdampfer erweitert. Eine Wiederholung der zeitaufgelösten Freisetzung der Radiumnuklide bestätigt die bisher gewonnenen Ergebnisse, bei auf  $\leq 25 \%$  reduzierten analytischen Unsicherheiten für  $^{224}\text{Ra}$ .

In weiteren Versuchen wurde die Radium-Freisetzung aus Kaolin in Abhängigkeit vom Salzgehalt (bei gleichen Ionenverhältnissen) der Lösung untersucht. Für eine Salzkonzentration von 0,1 g/L wurde kein gelöstes Radium bestimmt ( $c_i < 0,15 \text{ Bq/L}$ ). Oberhalb von 0,1 g/L nehmen die Ra- Aktivitätskonzentrationen in den Lösungen bis zu einer Salzkonzentration von 50 g/L zu und bleiben oberhalb dieser annähernd unverändert. Eine Abschätzung der entstehenden Ra-Spezies in Lösung kann mit Hilfe von Komplexbildungsgleichgewichten erfolgen. Unter der Annahme, dass lediglich  $\text{Ra}^{2+}(\text{aq})$ ,  $\text{RaCl}^+(\text{aq})$ ,  $\text{RaCl}_2^0(\text{aq})$  und  $\text{RaSO}_4^0(\text{aq})$  als Spezies in Betracht kommen (eingesetzte Salze), wurde die Spezies-Verteilung in Abhängigkeit der Salzkonzentration berechnet (Abb. 1 rechts). Deutlich wird die Dominanz der freien  $\text{Ra}^{2+}$ -Ionen bis zu einer Salzkonzentration von 10 g/L. Als Ion mit dem größten Radius der Erdalkalimetalle hat  $\text{Ra}^{2+}$  eine große Neigung zur Sorption und zum Kationenaustausch, was die niedrigen Konzentrationen in diesen Lösungen erklärt. Mit zunehmendem Salzgehalt nimmt der Anteil an Komplexen zu, welche das aus dem Kaolin freigesetzte Radium in Lösung stabilisieren. Bei einem Salzgehalt von 50 g/L stehen genug Liganden zur Verfügung um das freigesetzte Radium in Lösung zu halten. Eine Erhöhung der Salzkonzentration über 50 g/L erzeugt zwar eine Verringerung des Anteils von  $\text{Ra}^{2+}$  zugunsten des Anteils von  $\text{RaCl}_2^0(\text{aq})$ , ein weiterer Anstieg der Aktivitätskonzentrationen konnte dagegen nicht festgestellt werden. In diesen Versuchen wurde in den Lösungen ebenfalls eine Anreicherung von  $^{224}\text{Ra}$  gegenüber  $^{226}\text{Ra}$  und  $^{228}\text{Ra}$  festgestellt. Analog zu den Aktivitätskonzentrationen stiegen das  $^{224}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ - und das  $^{224}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$ -Verhältnis bis zu einem Salzgehalt von 50 g/L an und blieben oberhalb dieser Salzkonzentration annähernd stabil.

Der Einfluss der Korngröße, und damit der spezifischen Oberfläche, des Feststoffes auf den Übergang von Radium in Lösung soll anhand des Gesteins Rhyolith untersucht werden. Erste Versuche (Flüssigkeit/Feststoff-Verhältnis = 4,  $\vartheta = 22 - 25 \text{ °C}$ , Versuchszeit: 19 d) mit verschiedenen Korngrößen des Rhyoliths ( $< 63 \mu\text{m}$  ( $6 \text{ m}^2/\text{g}$ ),  $63 < x < 125 \mu\text{m}$  ( $4 \text{ m}^2/\text{g}$ ),  $> 2000 \mu\text{m}$  ( $2 \text{ m}^2/\text{g}$ )) und Salzlösung ((Na-Ca-Cl-Typ,  $c(\text{Salz}) = 110 \text{ g L}^{-1}$ ) wurden durchgeführt und werden zurzeit ausgewertet.

Die Zusammenarbeit innerhalb des Teilprojektes 2 wurde unter anderem durch die Übernahme von radioanalytischen Bestimmungen fortgesetzt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Durchführung von Experimenten wird fortgesetzt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Degering, D., Dietrich, N., Krüger, F., Köhler, M.: A model for the release of Radium isotopes into saline deepwaters, Goldschmidt Abstracts, 2015, 690 (Goldschmidt Conference, 16 - 21 August 2015, Prague)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030H</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 391.716,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Reservoirs 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 Speziationspro-

gramms PHREEQC ein Speziationsmodell für  $^{131}\text{I}$  und  $^{137}\text{Cs}$  (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  $^{131}\text{I}$  durch Schilddrüsenpatienten) und der Partitionierung in den einzelnen Kläranlagenkompartments. 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

- Für verschiedene Zeitpunkte innerhalb der Tidenperiode wurde an mehreren Positionen flussauf- und -abwärts relativ zum Kläranlagenablauf I-131-Profil erstellt. Die Probeentnahmen erfolgten jeweils an 5 verschiedenen äquidistanten Orten quer zur Flussrichtung. Zusätzlich wurden auch Oberflächenproben vom linken Flussufer (flussabwärts) genommen. (AP1.1)
- Weitere Versuche der Entnahme von Bodensedimentproben an mehr als 20 Orten waren nicht erfolgreich. (AP1.1)
- Für die Entwicklung eines Transportmodells erfolgte eine Einarbeitung in die Methode der finiten Elemente und in die Programmiersprache C++. (AP1.1)
- Es wurde in mehreren Probenkampagnen Schlamm- und Wasserproben entnommen und mit Hilfe der entwickelten Extraktionsmethode fraktioniert und analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass in den Rücklaufschlämmen und in den Zuläufen der Nachklärung beider Anlagenteile die Iodfraktionierungen vollkommen unterschiedlich zu denen der Zuläufe ist (ca. 80 % der I-131 Aktivität im fällbaren Schwebstoffanteil). Dies Ergebnis wurde in den Parametern Matlab/Simulink-Modell berücksichtigt. (AP4.1)
- Das Matlab/Simulink-Modell für die zeitliche Entwicklung der I-131-Aktivität in der Kläranlage wurde hinsichtlich der Sedimentationsbecken modifiziert und hinsichtlich der experimentellen Befunde neu parametrisiert. Das Modell wurde hinsichtlich des Wasserzuflusses dynamisiert und anhand von Messwerten aus 2008 getestet. Die Simulationsergebnisse im Kläranlagenablauf entsprechen im Wesentlichen dem im entsprechenden Zeitraum gemessenen Aktivitätsverlauf (AP4.1)

Kooperationen mit anderen Arbeitspaketen:

Im Rahmen einer Masterarbeit wurde für einen Detektor eine aktive Abschirmung ähnlich der in AP1.2 verwendeten erstellt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Entwicklung eines Transportmodells für I-131 in der Weser, Vergleich von Simulationsergebnissen mit den vorher gewonnenen Messdaten (AP1.1)
- Im Frühjahr ist eine tägliche Probenentnahme an Ab- bzw. Zulauf des Klärwerks über einen Zeitraum von etwa 2-3 Wochen geplant. Das Matlab/Simulink-Modell soll mit Hilfe der Messergebnisse validiert und wenn nötig, modifiziert werden (AP4.1)

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

ENVIRA-Tagung in Thessaloniki 2015:

Poster mit dem Titel „Medical I-131 in River Water and Sediments: Case study of Weser River in NW Germany” (M. Souti)

Vortrag mit dem Titel “Medical I-131 in German Rivers” (H.W.Fischer et al.)

Vortrag mit dem Titel: „Modelling Distribution and Transport of Medical 131I in a Wastewater Treatment Plant” (V. Hormann)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Ravensburg-Weingarten, Doggenriedstraße, 88250 Weingarten		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 030I</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 139.260,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Klemt	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Wie nukleare Katastrophen gezeigt haben, tragen im wesentlichen  $^{131}\text{I}$  sowie  $^{134,137}\text{Cs}$  zur Dosis für die Bevölkerung bei.  $^{137}\text{Cs}$  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 der Transfer in Wasserpflanzen und Fische sind relativ hoch. Der Vorsees, 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  $^{137}\text{Cs}$  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  $^{137}\text{Cs}$  im Sediment und die  $^{137}\text{Cs}$ -Bindung an das Sediment untersucht werden.

Die Konzentration der Cs-Konkurrenzen  $\text{K}^+$  und  $\text{NH}_4^+$  sowie die  $\text{O}_2$ -Konzentration, der pH-Wert und die Temperatur des Wassers sollen bestimmt werden. Die zeitabhängige Verteilung und der Transport des  $^{137}\text{Cs}$  im Seesystem soll dann mit Hilfe von Compartment-Modellen bzw. mit Sedimentations-Diffusionsmodellen verstanden werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurden weiterhin monatliche Messungen der  $^{137}\text{Cs}$  Aktivitätskonzentration von Wasser und Schwebstoffen des Vorsees durchgeführt. Im Wasser des Vorsees war die  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration im Vergleich zu den letzten beiden Jahren relativ niedrig (3 bis  $9 \text{ Bq/m}^3$ ). Der mittlere  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration in Schwebstoffen betrug  $900 \text{ Bq/kg}$ . Der

$K_d^{\text{tot}}$ -Messwert variierte zwischen  $40 \cdot 10^3$  L/kg und  $400 \cdot 10^3$  L/kg. Die saisonale Variation des  $K_d^{\text{tot}}$  ist deutlich größer als in den vorangegangenen Jahren.

Die Konzentration des Konkurrenz-Ions  $K^+$  im Vorseewasser variierte zwischen 0,3 und 0,8 mg/L. Die Verteilung der spezifischen  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivität im Wasser ist mit der  $K^+$ -Verteilung korreliert ( $R^2=0,62$  über die bisherige Laufzeit des Projektes). Die maximale  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration war mit 0,2 mg/L deutlich geringer als die entsprechende  $K^+$ -Konzentration. Der zeitliche Verlauf der Konkurrenzionen-Konzentrationen ist in Übereinstimmung mit dem der vorangegangenen Jahre.

Dem Vorseewasser wurden 5 weitere Sediment-Kerne entnommen, an denen die  $^{137}\text{Cs}$ -Tiefenverteilung sowie die  $^{137}\text{Cs}$ -Bindung an das Sediment untersucht wurde. Mit einem umgebauten Sedimentstecher wurden längere Sedimentkerne von bis zu 80 cm entnommen. Die Maxima der  $^{137}\text{Cs}$  Aktivitätskonzentration von 1500 bis 2300 Bq/kg (Trockengewicht) liegen in einer Tiefe von 20 bis 40 cm. Das dominierende Cs-Konkurrenzion im Porenwasser ist  $\text{NH}_4^+$ ; mit zunehmender Tiefe des Sediments steigt seine Konzentration bis auf 60 mg/L an. Der  $\text{NH}_4^+$ -Gehalt überwiegt den  $K^+$ -Gehalt bis um das 10-fache und kann eine Rücklösung von  $^{137}\text{Cs}$  aus dem Sediment begünstigen. Die  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration im Porenwasser nimmt mit der Tiefe bis  $4000 \text{ Bq/m}^3$  zu und beträgt damit das 200-fache der  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration des Seewassers.  $^{137}\text{Cs}$  Extraktionsexperimente an den Sedimenten haben gezeigt, dass der Anteil des austauschbaren Cs von etwa 2 % an der Oberfläche bis zu 20 % in der Tiefe von 60 cm zunimmt.

Proben der Makrophyten Tausendblatt (*Myriophyllum spicatum*) und Weiße Seerose (*Nymphaea alba*) wurden entnommen und gammaspektrometrisch untersucht. Die  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration (TG) variierte in verschiedenen Pflanzenteilen zwischen 40 und 220 Bq/kg.

Die Untersuchung der  $^{137}\text{Cs}$ -Aktivitätskonzentration in Fischproben wurde weiter fortgeführt. Die Modellierung der Aufnahme von  $^{137}\text{Cs}$  in das Sediment und der Tiefenverteilung im Sediment wurde unter Berücksichtigung von Sedimentation, retardierter Diffusion, Fixierungs- und Rücklösungsprozessen, radioaktivem Zerfall und Bioturbation in MatLab implementiert. Der Einfluss verschiedener Parameter auf die Ergebnisse des Modells wurde für konkrete Tiefenverteilungen aus dem Vorseewasser analysiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

In der ganzen Projektlaufzeit werden monatlich die  $^{137}\text{Cs}$  Aktivitätskonzentration in Wasser und Schwebstoffen, die Konzentration der Cs-Konkurrenzionen  $K^+$  und  $\text{NH}_4^+$  sowie  $\text{O}_2$ -Konzentration, pH-Wert und Temperatur des Wassers bestimmt.

Proben diverser Fischarten werden weiterhin entnommen und gamma-spektrometrisch untersucht werden.

Die Analyse und Anwendung der mathematischen Modelle hinsichtlich der verschiedenen Kompartments des Vorseewassers sowie die Optimierung der freien Parameter wird fortgesetzt.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 031A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 851.064,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Dollinger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Der Berichtszeitraum wurde im Wesentlichen zur Charakterisierung des im Projekt zentral verwendeten Ionenmikrostrahl SNAKE benutzt. Ziel war es die abbildungslimitierenden Faktoren zu identifizieren und Möglichkeiten zu eruieren diese zu beheben. In einer Strahlzeit wurden systematisch Abhängigkeiten der Strahlfleckgröße vom akzeptierten Phasenraum gemessen. (AP2)

Als limitierender Faktor konnte eine lineare Abhängigkeit der Strahlflekhöhe,  $y$ , von der Divergenz senkrecht dazu ( $x$ -Richtung),  $\vartheta$ , ausgemacht werden. Der Aberrationskoeffizient  $\langle y|\vartheta \rangle$ , der diese Abhängigkeit beschreibt, wurde zu etwa  $60 \mu\text{m}/\text{mrad}$  gemessen. Aus Symmetriegründen kann eine solche Aberration erster Ordnung nur durch eine nicht perfekte Ausrichtung der drei verwendeten Quadrupole bezüglich einer Rotation um die optische Achse, einem sogenannten rotational misalignment, verursacht werden. Eine durchgeführte erste Ordnungsrechnung der an SNAKE verwendeten Linsenkonfiguration mit dem Strahltransport Program transport zeigt, dass eine Rotation der Quadrupole um lediglich etwa  $0.25 \text{ mrad}$  hierfür notwendig ist. Konstruktionsbedingt ist eine Ausrichtung insbesondere eine Rotation der Quadrupole untereinander nicht möglich. Als nächste Korrekturmöglichkeit wurde untersucht, einen zusätzlichen Quadrupol einen Meter vor der Linse, welcher rotiert werden kann, zu montieren. Rechnungen für einen  $55 \text{ MeV}$  Kohlenstoffstrahl zeigen, dass dieser Quadrupol so zu dimensionieren ist, dass das Produkt aus Magnetfeldgradient des Quadrupols,  $G$ , dessen Länge,  $l$ , und dem Sinus des halben Rotationswinkels,  $\rho$ , gleich  $1.45 \text{ mT}$  ist:  $1 \text{ G} \sin(\rho/2) = 1.45 \text{ mT}$ . (AP2)

Zudem konnte gezeigt werden, dass diese erste Ordnungsaberration,  $\langle y|\vartheta \rangle$ , beim Scannen des Strahlflecks unterschiedlich groß ist. Dies deutet auf fokussierende Wirkung der benutzen Scaneinrichtung hin, die weiter zu analysieren ist. (AP2)

Im Dezember des Berichtszeitraums wurde eine Strahlzeit von einer Woche durchgeführt und in Kollaboration mit Teilbereich B Experimente/Bestrahlungen mit  $55 \text{ MeV}$  Kohlenstoffionen durchgeführt. (AP4)

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum soll eine Korrekturspule designt, gebaut und vor SNAKE installiert werden um das rotational misalignment zu korrigieren.

Zudem ist geplant, die Aberrationen beim Scannen des Mikrostrahls präzise zu vermessen. Das Scansystem soll im Hinblick auf mögliche fokussierende Wirkungen analysiert werden, um die beobachteten Aberrationen beim Scann zu verstehen und Anhaltspunkte zur Reduzierung zu finden.

Ende Januar und Ende Februar sind zwei weitere Strahlzeiten geplant in denen Messungen/Bestrahlungen in Kollaboration mit Teilprojekt B mit fokussierten  $55 \text{ MeV}$  Kohlenstoffionen,  $45 \text{ MeV}$  Lithiumionen und  $20 \text{ MeV}$  Protonen durchgeführt werden sollen. (AP4)

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Sub-micrometer  $20 \text{ MeV}$  protons or  $45 \text{ MeV}$  lithium spot irradiation enhances yields of dicentric chromosomes due to clustering of DNA double-strand breaks; T.E. Schmid, W. Friedland, C. Greubel, S. Girst, J. Reindl, C. Siebenwirth, K. Ilicic, E. Schmid, G. Multhoff, E. Schmitt, P. Kundrát, G. Dollinger; Mutation Research 793 (2015) 30

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 031B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 333.636,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Zellüberlebenstest 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

In einer während des Berichtszeitraumes durchgeführten Strahlzeit wurden Mikrobestrahlungen mit 55 MeV Kohlenstoffionen am Strahlplatz SNAKE in Garching durchgeführt. Zur Bestimmung der RBW wurden Chromosomenaberrationen (AP2), das Zellüberleben (AP3) und Genexpressions-veränderungen (AP5) untersucht. In dieser experimentellen Arbeit konnten wir zeigen, dass die RBW für die Induktion von Chromosomenaberrationen und für das klonogene Zellüberleben durch fokussierte Protonen in Matrixbestrahlung signifikant erhöht ist und zudem eine Korrelation mit der Anzahl der fokussierter Teilchen pro Punkt vorliegt. Erste Ergebnisse mit fokussierten Kohlenstoffionen zeigen im klonogenen Zellüberleben eine signifikante Verringerung der RBE, was man auch als „overkill effect“ bezeichnet. Diese Ergebnisse sind besonders für die Teilprojekte C und D wichtig, da sie der Validierung und Weiterentwicklung von Computermodellen dienen. Die Ergebnisse der Genexpression von an der Apoptose (programmierter Zelltod) beteiligter Gene bestätigten unsere Ergebnisse aus dem klonogenen Zellüberleben.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

In drei weiteren für 2016 geplanten Strahlzeiten am MLL-Beschleuniger in Garching sollen weitere strahlenbiologische Experimente mit dem fokussierten Protonen-, Lithiumionen- und Kohlenstoffionenstrahl durchgeführt werden. Dazu werden weitere Zellüberlebensexperimente (AP3) durchgeführt und die Anzahl der Chromosomen-aberrationen, insbesondere der dicentrischen Chromosomen aber auch anderer zusätzlicher Aberrationstypen mit Hilfe der mFISH (AP2) quantitativ bestimmt. Da die LET von Lithium zwischen der von Protonen und Kohlenstoffionen liegt, sind diese Versuche von großer Bedeutung für die Teilprojekte C und D. Weiterhin sind Untersuchungen der DNS Reparaturkinetik nach Ionenmatrixbestrahlungen im Vergleich zu homogener Bestrahlung geplant (AP4), um den Einfluss der hochfokussierten Teilchen auf die beiden Hauptreparaturwege von DNS Doppelstrangbrüchen zu analysieren.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Eine Publikation ist in gedruckter Form innerhalb des Berichtszeitraumes erschienen:

Schmid TE, Friedland W, Greubel C, Girst S, Reindl J, Siebenwirth C, Ilicic K, Schmid E, Multhoff G, Schmitt E, Kunderát P, Dollinger G, 2015: Sub-micrometer 20 MeV protons or 45 MeV lithium spot irradiation enhances yields of dicentric chromosomes due to clustering of DNA double-strand breaks, *Mutat Res* 793:30-40.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 031C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 238.179,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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 Chromosomen nach Bestrahlung mit fokussierten Bündeln von Protonen, Li- und C-Ionen wurden fortgesetzt. Die früheren Diskrepanzen zwischen Experimenten und Modellrechnungen in Form einer Überschätzung des Fokussierungseffekts für Protonen, der Ausbeute für einzelne Li-Ionen im Vergleich zu den anderen Ionen sowie abnehmender Trend für fokussierte Li-Ionen anstelle der gemessenen Zunahme konnten im Rahmen umfangreicher Parameterstudien reduziert werden. Jedoch stellte sich heraus, dass es für die Ermittlung einen optimalen Parametersatzes hilfreich wäre, eine bessere Statistik als basierend auf den 200 modellierten Zellen zu haben. Dafür wurden neue Simulationen von initialen DNA Schäden mit je 1000 bestrahlten Zellen für die insgesamt 11 Matrixbestrahlungen mit H-, Li- und C-Ionen durchgeführt, bei denen auch frühere Diskrepanzen bei den LET-Werten beseitigt waren. Deren Ergebnisse wurden weiteren Parameterstudien zur Bildung dizentrischer Chromosomen zu Grunde gelegt, die im Berichtszeitraum noch nicht abgeschlossen werden konnten (AP4).

Zur Charakterisierung von DNA Doppelstrangbrüchen (DSB) ist ein neues Schema aus DSB-Sites, DSB-Clustern und DSB-Multiplicity entwickelt worden; diese Größen hängen in unterschiedlicher Weise vom LET und dem Teilchentyp ab (AP2). Auf dieser Basis sind vergleichende Untersuchungen zwischen PARTRAC und dem Local Effect Model (LEM) hinsichtlich ihrer Konzepte und Modellergebnisse begonnen worden (AP6).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Modelloptimierung auf der Grundlage der getesteten Hypothesen zum Ursprung von DNA-Fehlverbindungen und zur Mobilität von DNA-Enden soll im nächsten Halbjahr zum Abschluss gebracht werden (AP4). Auf dieser Grundlage soll ein spurstrukturbasiertes Modell der Zellinaktivierung entworfen und getestet werden (AP3). Modellrechnungen zu weiteren Experimenten aus den Teilprojekten A und B sollen zur Optimierung und Validierung der Modellansätze und Parameter dienen. Die vergleichenden Untersuchungen zu PARTRAC und LEM sollen unter Einbeziehung weiterer Größen wie radialer Verteilung von DNA Schäden intensiviert fortgeführt werden (AP6)

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Poster beim GBS (Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung) 2015 Annual Meeting, 5.-7. Oktober 2015, Dresden, Vorträge beim MELODI-Workshop ‚Next Generation Radiation Research‘, 9.-11. Nov. 2015, Neuherberg, und beim DOREMI-Workshop ‚LD-RadStats‘, 26.-28. Okt. 2015, Barcelona

Zwei Publikationen sind in gedruckter Form erschienen:

Friedland W, Kunderát P, Schmitt E, 2015: Modelling proton bunches focused to submicrometre scales: low-LET radiation damage in high-LET-like spatial structure, *Radiat Prot Dosim* 166:34-37

Schmid TE, Friedland W, Greubel C, Girst S, Reindl J, Siebenwirth C, Ilicic K, Schmid E, Multhoff G, Schmitt E, Kunderát P, Dollinger G, 2015: Sub-micrometer 20 MeV protons or 45 MeV lithium spot irradiation enhances yields of dicentric chromosomes due to clustering of DNA double-strand breaks, *Mutat Res* 793:30-40

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 031D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.06.2013 bis 31.05.2017	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 264.450,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> 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

Die experimentellen Arbeitsgruppen im Projekt haben die Photonen-Referenzkurve für CHO Zellen unter gleichen Bedingungen wie bei Mikrostrahlexperimenten vermessen. Diese neuen Daten dienen nun als Grundlage für Berechnungen mit LEM. Die bisherige Beobachtung, dass das Modell die erhöhte Wirksamkeit fokussierter Ionenstrahlen mit guter Präzision vorhersagt, wurde durch die neuen Simulationen bestätigt. Um diese Befunde zu untermauern wurde die Robustheit der Modellvorhersagen untermauert. Hierzu wurden die Parameter des Modells im Rahmen ihrer experimentellen Genauigkeit variiert. Es zeigte sich, dass die Modellvorhersagen hinreichend stabil gegenüber Parametervariationen sind. Hiermit wurde die Evidenz erbracht, dass sowohl die Schadensanhäufung auf der nm- wie auch auf  $\mu\text{m}$ -Skala zu einer Effekterhöhung führt, die sich im Rahmen des LEM konsistent interpretieren lässt.

Angeregt von diesen Beobachtungen wurden erste Schritte zu einer generalisierten Modellbildung der Effekterhöhung auf Grund von räumlichen Schadensakkumulationen unternommen: Grundgedanke dabei ist, dass Modifikationen der Ionisierungsdichteverteilung auf verschiedenen räumlichen Skalen Änderungen in der biologischen Wirksamkeit verursachen. Die biologische Wirksamkeit kann somit in Beiträge der verschiedenen Skalen unterteilt werden. Derzeit werden Implikationen und Darstellungen dieser Idee diskutiert.

Weiterhin wurden im Berichtszeitraum weitgehende Vergleiche der Modellvorhersagen von LEM und PARTRAC durchgeführt. Die Systematik von Doppelstrangbrüchen und komplexeren Schäden für verschiedene Energien und Teilchensorten ist in beiden Modellen qualitativ vergleichbar, quantitativ zeigen sich jedoch systematische Unterschiede, die es zu interpretieren gilt.

Es wurde begonnen, Arbeiten zur erhöhten Wirksamkeit ultraweicher Röntgenstrahlung mit den bisher im Projekt gewonnenen Erkenntnissen zu interpretieren. Publierte experimentelle Daten aus diesem Themenfeld erlauben, die Vorhersagen von LEM und PARTRAC zur Wirkung einer Schadensclusterung auf der nm-Skala unabhängig zu verifizieren.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Es soll der Einfluss einer im Bestrahlungsfeld variierenden Spotgröße des Mikrostrahls untersucht werden. Dies ist notwendig, zumal an den Rändern der Bestralungsgeometrie die Spotgrößen etwas größer sind als im Zentrum.

Die generalisierte Vorstellung der biologischen Effektivität als Produkt aus mehreren Beiträgen, die je einer räumlichen Skala entsprechen, soll weiter untersucht und ausgebaut werden. Dabei erscheint besonders interessant, dass es der Simulation nach unter bestimmten Bedingungen auch zur Effektschwächung durch Schadensclusterung kommen kann.

Die Vergleiche zwischen LEM und PARTRAC sollen fortgeführt werden, wobei die zu Grunde liegenden Konzepte zur Simulation der Schadensinduktion im Fokus stehen sollen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Friedrich et al., Experimental and theoretical study on the impact of micro- and nanoscopic dose distributions on the biologic effect, Postervortrag bei der Jahrestagung der Radiation Research Society, Weston, Fl. USA (2015).

Kolloquiumsvortrag im Kolloquium der Abteilung „Ionisierende Strahlung“ der Physikalisch-technischen Bundesanstalt, Braunschweig (2015).

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 032</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.100.891,60 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rothkamm	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

#### AP1: Alternatives Endjoining

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

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

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

#### AP3: EGFR und ERK-Signalwege

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

#### AP4: HPV-Infektion

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

#### AP5: Lehre in Strahlenbiologie & Experimenteller Radioonkologie

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Im Sinne des Arbeitspaketes soll geklärt werden, ob sich bestimmte definierte Subgruppen von Prostatakarzinomen in der DSB-Reparatur und da vor allem im alternativen Endjoining unterscheiden. Die durch die in vielen Prostatatumoren auftretende Überexpression des ETS-Transkriptionsfaktors ERG vermittelte Sensitivierung von Prostatakarzinomzellen gegenüber einer Kombinationsbehandlung mit PARP-Inhibitor und Strahlentherapie wurde näher untersucht und die bereits vermutete Verschiebung der DSB-Reparaturmechanismen vom klassischen zum alternativen, PARP-abhängigen, Endjoining hin bestätigt (M1.1).
- AP2: Es wurden Untersuchungen zur Effizienz der Initiierung und des Ablaufs von DNA-Replikationsprozessen in Brustkrebszelllinien durchgeführt (M2.2). Dazu kamen der Chromatinfiberassay sowie der antikörpervermittelte Nachweis der Phosphorylierung ausgewählter Zielproteine zum Einsatz.
- AP3: Untersuchungen zur Bedeutung der EGFR- und ERK-Signalwege für die DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren (M3.1) wurden fortgesetzt. Insbesondere konnten wir zeigen, dass PARP1 als Vermittler der EGFR/MEK-abhängigen Regulation der Reparatur fungiert (Myllynen et al, 2015).
- AP4: Die Untersuchungen der DNA-Schadensantwort in HPV-positiven im Vergleich zu HPV-negativen Kopf-Halstumorzellen (M4.1) wurden weitergeführt. Dazu wurde auch die Wirkung von ionisierender Strahlung mit der von Cisplatin verglichen, da diese Kombination die Standardtherapie für Kopf-Halstumoren darstellt.
- AP5: Lehrkonzepte für Strahlenbiologie im Grundstudium Medizin, Zahnmedizin, im 2nd Track Onkologie/Tumorbiologie sowie im Studienfach Molecular Life Sciences wurden unter Berücksichtigung des Feedbacks der Studierenden verfeinert. Die Entwicklung von Konzepten für die Fächer Physik und Strahlentherapie wurde fortgesetzt (M5.5/M5.6).

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weitere Untersuchung der ERG-vermittelten Verschiebung zum alternativen Endjoining.
- AP2: Detaillierte Charakterisierung der Replikation in Brusttumoren.
- AP3: Untersuchungen der strahlensensibilisierenden Wirkung der Hemmung von EGFR-/ERK-Signalwegen.
- AP4: Untersuchungen der DSB-Reparatur sowie des Zusammenhangs zwischen DNA-Schadensantwort und Replikationsstress in HPV-positiven Tumoren.
- AP5: Iterative Revision der erstellten Lehrkonzepte; Fertigstellung der Konzepte für Physik und Strahlentherapie.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Myllynen L, Kwiatkowski M, Gleißner L, Riepen B, Hoffer K, Wurlitzer M, Petersen C, Dikomey E, Rothkamm K, Schlüter H, Kriegs M.: Quantitative proteomics unveiled: Regulation of DNA double strand break repair by EGFR involves PARP1. *Radiother Oncol.* 2015 Sep;116(3):423-30.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.130.602,80 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Dieses Arbeitspaket untersucht die relative Bedeutung der unterschiedlichen Reparaturwege für, durch Strahlung induzierte, DNA Doppelstrangbrüche (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: Im bisherigen Verlauf des Projekts wurden erfolgreich Versuche durchgeführt, in denen Neurone und Astrozyten aus frisch isolierten Stammzellen der Subventrikulärzone adulter Mäuse differenziert wurden. Die DNA-DSB Reparatur dieser Zellen wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Differenzierung mittels Immunfluoreszenzfärbungen gegen die DNA-Reparaturmarker  $\gamma$ H2AX und 53BP1 analysiert. Diese in vitro Experimente haben gezeigt, dass - unabhängig von der Dauer des Differenzierungsvorganges - sowohl Neurone als auch Astrozyten DNA-Schäden über einen 53BP1- und  $\gamma$ H2AX- abhängigen Mechanismen reparieren. Diese Ergebnisse stehen denen aus der Literatur, die mit Hilfe von in vivo Experimenten ge-

wonnen wurden, diametral gegenüber: In vivo zeigen Astrozyten eine 53BP1-unabhängige DNA-Schadensantwort (s. auch AP2). Deshalb wurde im letzten Halbjahr eine weitere Methode zur Differenzierung von Neuronen und Astrozyten in vitro etabliert. Hierfür wurden neuronale Vorläuferzellen des Vorderhirns von embryonalen Mäusen (E13,5) isoliert und anschließend in vitro differenziert. Anhand von zelltypspezifischen Markerfärbungen konnten GFAP-positive Zellen nachgewiesen werden, die jedoch noch den Vorläufermarker Nestin exprimieren. Die Differenzierung bedarf also weiterer Optimierung, bevor im nächsten Schritt die DNA-Reparatur dieser Zellen mit den bereits im letzten Jahr etablierten Protokollen charakterisiert werden kann.

AP2: Die für das letzte Halbjahr geplanten in vivo Versuche konnten aufgrund vom Regierungspräsidium geforderten Nachbesserungen bei den Tierversuchsanträgen noch nicht wie geplant durchgeführt werden. Darüber hinaus kam es bei einer der Knockout-Linien zu langfristigen gesundheitlichen Problemen, durch die sich die für die Versuche notwendige Expansion dieser Zuchtlinie verzögerte. Trotz dieser Verzögerungen konnten die Untersuchungen zur DNA-Reparatur in vivo mittels der Auswertung von bereits durchgeführten Experimenten erfolgreich fortgeführt werden. Die vorläufigen Ergebnisse aus dem AP1 haben gezeigt, dass die in vitro differenzierten Astrozyten aus den Stammzellen der Subventrikulärzone eine 53BP1-abhängige Schadensantwort besitzen. Da sich diese Ergebnisse nicht mit den Daten aus der Literatur decken, wurde diese 53BP1-Abhängigkeit in Astrozyten des Gehirns unterschiedlich alter Mäuse nochmals untersucht. Hierbei konnte in keinem der untersuchten Entwicklungsstadien eine solche 53BP1-Abhängigkeit nachgewiesen werden. Dies gilt sowohl für die Subventrikuläre Zone, den Hippocampus als auch den rostral migratorischen Strom. Neben der 53BP1-Abhängigkeit wurden darüber hinaus zusätzliche Versuche zur PARP-Abhängigkeit der DNA-Reparatur dieser Zellen durchgeführt. Diese Versuche geben Auskunft über die Verwendung des sogenannten alternativen Nicht-homologen End-Joinings (alt-NHEJ), welches neben dem klassischen nicht-homologen End-Joining (NHEJ) und der homologen Rekombination (HR) eine dritte Form der DNA-Reparatur darstellt. Bereits durchgeführte in vitro Versuche mittels organotypischer Gewebeexplantate zeigten eine PARP-abhängige DNA-Reparatur in bestimmten neuronalen Zelltypen, was auf die Verwendung des alt-NHEJ-Mechanismus zur Reparatur von DNA-DSBs schließen lässt. Da dieser DNA-Reparaturmechanismus eine hohe Fehlerquote aufweist und den Verlust genomischer Sequenzen begünstigt, ist dieser Befund von großer Bedeutung und bedarf genauerer Untersuchungen. Erste in vivo Bestrahlungen von adulten Mäusen nach vorheriger PARP-Inhibition wurden durchgeführt und werden ausgewertet. Bei klaren Hinweisen auf die Verwendung von alt-NHEJ im adulten neuronalen System können weitere Untersuchungen am sich entwickelnden Gehirn durchgeführt werden.

Neben den durchgeführten Untersuchungen der bereits vorliegenden in vivo Experimente wurden aufgrund der oben genannten Verzögerungen die freigewordenen Kapazitäten in eine verstärkte Kooperation mit dem AP1 investiert. Hierbei ging es darum, die Entwicklung eines Systems zur Analyse der DNA-Reparatur in vitro aus Stammzellen differenzierten Neuronen und Astrozyten voranzutreiben (s. AP1).

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

Im ersten Arbeitspaket soll nun die Differenzierung der Stammzellen aus den embryonalen (E13,5) Mäusen weiter optimiert werden, so dass die Differenzierung erfolgreich ist. Anschließend daran, soll dann auch hier überprüft werden ob die Astrozyten Doppelstrangbrüche über einen 53BP1 unabhängigen Reparaturmechanismus reparieren. Wenn ein in vitro System gefunden ist, indem sich die in vivo Situation widerspiegelt, soll dann die Beteiligung unterschiedlicher DNA-Reparaturproteine an den jeweiligen Reparaturwegen in Abhängigkeit des Differenzierungsstatus aufgeklärt werden.

Im AP2 sollen nun die ersten Tierversuche mit niedrigen Bestrahlungsdosen durchgeführt, und die gewonnenen Ergebnisse mit den bereits gewonnenen Daten aus den Bestrahlungen mit höheren Dosen verglichen werden. Neben den Untersuchungen bezüglich der Verwendung von NHEJ und HR in den verschiedenen Zelltypen soll außerdem der Aufklärung der Rolle des alt-NHEJs eine verstärkte Bedeutung zugemessen werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 899.352,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Laube	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP3: Ziel des Projekts ist die Erfassung der Auswirkungen geringer Strahlendosen auf die DNA-Reparaturkapazität und die physiologische Funktionalität ausdifferenzierter Astrozyten und Oligodendrozyten in vivo und in vitro.
- 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 Stelle für dieses Arbeitsprojekt ist seit dem 01.08.2015 mit Frau Katja Häupl besetzt. In einem ersten Schritt wurde die Zelllinie J1-NSC (J1-neural stem cell) mit niedrigdosierter Strahlung behandelt und die Reparaturkinetik der induzierten DNA-Doppelstrangbrüche untersucht. Die Zelllinie J1-NSC wird aus pluripotenten embryonalen Stammzellen generiert. Dieses in vitro Modellsystem ermöglicht den Zellen eine homogene, adhärenz- und Nischen-unabhängige Proliferation und Differenzierung. Um die Effekte niedrigdosierter Strahlung auf die DNA-Reparatur von neuronalen Stammzellen zu untersuchen, wurde die J1-NSC Zellen mit 100 mGy, 500 mGy und 1 Gy bestrahlt und nach 0,5 h, 2 h, 4 h, 6 h und 8 h fixiert. Um DNA-Doppelstrangbrüche zu detektieren, wurden die Zellen mit einem Immunfluoreszenzmarker auf 53BP1 gefärbt und anschließend am CLSM (confocal laser scanning microscope) die Anzahl der 53BP1 foci (Doppelstrangbrüche) ausgezählt.

AP4: Aus pluripotenten embryonalen Stammzellen der Maus (J1 Zellen) erhaltene neuronale Stammzellen (NSC) werden in Neurone und Gliazellen differenziert (s. AP3) und während ihrer Differenzierung elektrophysiologisch sowie immunhistologisch untersucht. Ziel ist es eine elektrophysiologische Charakterisierung für die verschiedenen Stufen der Neurogenese zu entwickeln, um so Rückschlüsse auf etwaige Einflüsse von ionisierender Strahlung auf die Funktion neuronaler Zellen zu erhalten.

Wie in dem vorangegangenen Bericht bereits erwähnt, konnte die Hauptleitfähigkeit in proliferierenden J1-NSCs auswärtsgerichteten, spannungsabhängigen Kalium Kanälen (Kv) zugeordnet werden. Hierbei konnte sowohl ein schnell-inaktivierender Strom (A-Typ) als auch ein langsam aktivierender Strom (delayed rectifier: DR) gefunden werden. Während der ersten 5 Tage der Differenzierung nimmt die Leitfähigkeit kontinuierlich bis auf das Dreifache des Ursprungwertes zu. Ein Kandidat der auswärtsgerichteten Leitfähigkeit ist der Kaliumkanal

Kv1.1, welcher bereits immunhistologisch nachgewiesen werden konnte. Auffällig ist hierbei, dass sich die Lokalisation des Kv1.1 während der Differenzierung verändert. So ist der Kanal in den proliferierenden Zellen noch diffus in der Zellmembran verteilt, zeigt jedoch während der ersten 5 Tage der Differenzierung eine Akkumulation in Zellausläufern. Mit Hilfe des selektiven Kv1.1 Blockers Dendrotoxin-K konnte gezeigt werden, dass der Anteil des Kv1.1 am Gesamtstrom in proliferierenden Zellen sehr gering ist, jedoch sich in den darauffolgenden Differenzierungsschritten erheblich erhöht. Man muss somit davon ausgehen, dass die Zunahme der Leitfähigkeit während der Differenzierung durch den Kv1.1 verursacht wird. Eine Erhöhung im Kalium-Auswärtsstrom und eine damit verbundene Hyperpolarisation der Zelle wird im Zusammenhang mit einer fortschreitenden Differenzierung von Vorläuferzellen gesehen, während die Blockade dieser auswärtsgerichteten Kaliumkanäle die Proliferation begünstigen würde. Neben diesen auswärtsgerichteten Leitfähigkeiten konnte außerdem eine einwärtsgerichtete Leitfähigkeit beobachtet werden. Dieser durch Barium-blockierbare, ATP-abhängige Ionenfluss ist auf einen einwärtsgerichteten Kalium Kanal Kir (inwardly rectifying) zurückzuführen. Als möglicher Kandidat kommt dabei der Kir4.1 in Frage. Bei der Charakterisierung im Verlauf der Differenzierung konnte eine Abnahme der Leitfähigkeit dieses Kanaltyps festgestellt werden.

Ebenfalls wurde in dem vorangegangenen Projekt-Report der Einfluss von ionisierender Strahlung auf die elektrophysiologischen Eigenschaften der J1-NSC Zellen beschrieben. Dafür wurden die Zellen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Bestrahlung vermessen und eine deutliche Erhöhung der auswärtsgerichteten Leitfähigkeit 6 Stunden nach Bestrahlung gefunden. Dieser Anstieg der Leitfähigkeit konnte sowohl bei einer Dosis von 2 Gy als auch bei einer Niedrig-Dosis von 0,5 Gy beobachtet werden. Zusätzlich wurden nun elektrophysiologische Messungen von unbestrahlten Zellen 5 und 9 Tage nach Start der Differenzierung durchgeführt. Interessanterweise zeigten sich hierbei ähnliche Effekte auf die auswärtsgerichtete Leitfähigkeit wie bei proliferierenden Zellen 6 Stunden nach Bestrahlung.

AP8: Seit dem letzten Zwischenbericht wurden folgende Fortschritte erzielt: Im letzten Halbjahr wurden die ersten Testläufe mit dem Verhaltensequipment und der erworbenen Video Tracking Software Ethovision XT von der Firma Noldus durchgeführt. Dabei wurden detaillierte Ablaufprotokolle für die einzelnen Verhaltenstests erstellt und Mustervorlagen/templates für die verschiedenen Arenen (Water Maze, Elevated Zero Maze und Barnes Maze), in welchen die Tests durchgeführt werden, in der Software hinterlegt, sodass diese bei Beginn der Verhaltensexperimente zur Verfügung stehen. Die vorgefertigten templates können nach Erstellen der Videodateien mittels Video Tracking Software noch weiter modifiziert werden und auch an die Datenerhebung angepasst werden. Nach Genehmigung des Tierversuchsantrages wurden im November die Verpaarungen von C57bl/6 Mäusen angesetzt. Ein Wurf von Anfang Dezember, bestehend aus 10 Tieren, wurde im Alter von 10 Tagen für die erste Bestrahlung verwendet. Dabei wurden 5 Tiere des Wurfs bestrahlt und 5 Tiere zu Kontrollzwecken nicht bestrahlt. Diese 10 Tiere werden im Alter von 2 Monaten mittels der geplanten Tests zur Motorik, zum Explorations-/Angstverhalten und räumlichen Lernverhalten untersucht. Neben den verhaltensbiologischen Ansätzen, wurden verschiedene Antikörper für die geplanten immunohistochemischen Färbungen getestet. Dazu wurden Cryostatanschnitte mit dem neu erworbenen Cryostaten von Mäusehirnen angefertigt, an welchen die Qualität der Antikörper und deren optimaler Konzentration-/Arbeitsbereich getestet wurde. Hierbei wurden Antikörper ausgewählt, die durch Kombination untereinander eine Einteilung in verschiedene Zellentwicklungsstadien, von neuronalen Stamm-/Vorläuferzellen über Zwischenstufen, bis hin zu reifen Neuronen erlauben. Dadurch wird die Zellzusammensetzung nach Bestrahlung im Hippocampus, einer wichtigen Hirnstruktur im Zusammenhang mit Lernverhalten und der Bildung neuer Nervenzellen, charakterisiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im AP3 wird nach Abschluss der Etablierung der Differenzierungsprotokolle für die primären NSZs in ausdifferenzierte Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten mit der Analyse der funktionellen elektrophysiologischen Eigenschaften nach Bestrahlungen der unterschiedlichen differenzierten Zelltypen weiter gearbeitet. Die erzielten Ergebnisse dienen als Grundlage für die Analyse der in vivo Bestrahlungen des AP2.

Im AP4 werden aus Mäusen isolierte neuronale Stamm- und Vorläuferzellen nun ebenfalls elektrophysiologisch analysiert und der Einfluss einer in utero Bestrahlung auf die funktionellen Eigenschaften überprüft werden. Um eine Aussage über eine veränderte Synaptogenese und neuronale Aktivität treffen zu können werden die Experimente nach Etablierung der Multi Elektroden Arrays (MEAs) begonnen. Darüber hinaus sollen die Effekte durch erhöhte ROS-Konzentrationen auf die Selbst-Erneuerung sowie die Differenzierung mit Hilfe von immunfluoreszenz Techniken sowie elektrophysiologischen Techniken genauer untersucht werden.

Im AP8 wird nun nach Genehmigung des Tierversuchsantrags und der Bestrahlung postnataler Stadien auch mit den in utero Bestrahlungen embryonaler Stadien und den ersten Verhaltensversuchen der Mäuse begonnen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 406.411,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Ritter	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die wissenschaftliche 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 wurde das Protokoll zur Generierung und Expansion von humanen NSZ modifiziert, um die Qualität der Zellen (Markerexpression, genetische Stabilität) zu verbessern sowie in einem angemessenen Zeitraum genügend Zellen für strahlenbiologische Experimente bereit stellen zu können. Weiterhin wurde im Rahmen einer Masterarbeit untersucht, ob ein langdauernder Probentransport (zum Beispiel zum Heidelberger Ionenstrahl-Therapiezentrum HIT) die Zellproliferation, die Stammzeleigenschaften und die Expression von Referenzgenen von NSZ beeinflusst. Aufbauend auf den gewonnen Erkenntnissen wurden die Transportmethode (z. B. Verwendung einer temperaturkontrollierten Klimabox anstelle eines einfachen Isolierbehälters) und der Experimentablauf optimiert und bei der Durchführung der ersten Bestrahlungsexperimente mit Kohlenstoffionen am HIT berücksichtigt.

Im Berichtszeitraum wurden außerdem NSZ mit 1 oder 2 Gy Röntgenstrahlen bestrahlt und die Zellzyklusprogression und die Apoptoserate (jeweils 3 Experimente) sowie die Induktion von Chromosomenschäden und die Expression von Markergenen (jeweils ein Experiment) zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Exposition gemessen. Die Versuche zeigten, dass durch die Bestrahlung ein ausgeprägter (bis zu 15 stündiger) Zellzyklusarrest in der G2-Phase induziert wird. In der Kontrollpopulation betrug die Apoptoserate 2 % und stieg nach Bestrahlung mit 1 oder 2 Gy Röntgenstrahlen auf 10 bzw. 20 % an. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen wurde mit einem Array die Hochregulierung von Genen detektiert, die den Zellzyklus kontrollieren sowie die Apoptose fördern. Die Untersuchung von Chromosomenschäden 20 Stunden nach Bestrahlung zeigte einen dosisabhängigen Anstieg in der Aberrationsrate. Weiterhin wurden NSZ zum ersten Mal mit 0.25 und 0.5 Gy Kohlenstoffionen (ausgedehnten Bragg Peak) am HIT bestrahlt und Chromosomenpräparate hergestellt. Die Proben werden gerade ausgewertet.

Die Experimente zur Differenzierung von NSZ im dreidimensionalen Modell (d. h. als Neurosphären) wurden fortgesetzt. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag hierbei auf der Standardisierung der Versuchsbedingungen sowie der Charakterisierung der elektrophysiologischen Eigenschaften der Neurosphären in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Thielemann.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Analyse von Chromosomenschäden in NSZ nach einer Exposition mit Röntgenstrahlen und Kohlenstoffionen wird fortgesetzt. Pro Dosis und Zeitpunkt sollen etwa 200 Metaphasen mit der mFISH Technik ausgewertet werden. Die Untersuchung des Einflusses von Röntgenstrahlung auf die Expression von Markergenen (z. B. Stammzellmarker, Gene die den Zellzyklus oder die Apoptose kontrollieren oder an der DNA Reparatur beteiligt sind) wird fortgeführt. Weiterhin ist geplant, NSZ und/oder Neurosphären mit Kohlenstoffionen am HIT zu bestrahlen, und die Zellzyklusprogression, Apoptoseinduktion und Markerexpression zu bestimmen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Mayer M., Arrizabalaga O., Sadeghi S, Kadereit S., Ritter S., Thielemann C.: Human embryonic stem cell derived neurospheres: a powerful model to investigate ionizing radiation effects on neuronal differentiation, 18th Annual Meeting of the Society for Biological Radiation Research, 5th -7th October 2015, Dresden, Program and Abstract Book, p76.

Munoz Rizzo L.: Effects of ionizing radiation on mammalian cells, Praktikumsbericht (2015).

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 034D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 401.520,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Uder	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Mit adulten Kontrolltieren sowie von Nek1 Mutanten 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. Hiermit erheben wir den funktionellen Basisdatensatz pro Versuchstier. Andere Tierkohorten werden nach Manganapplikation und Durchführung der Verhaltenstests (AP8) mit besonderem Fokus auf den Hippocampus hochaufgelöst vermessen. Die Daten werden quantitativ, mit besonderem Fokus auf der Graphtheorie, ausgewertet und entsprechend visualisiert. Auf Ebene der Gruppenstatistik erfolgt synergetisch die Zusammenführung der Ergebnisse aus den anderen APs, insbesondere die zellulären in vivo Daten aus AP2, die Standardhistologie aus AP6 und die Verhaltensdaten aus AP8.

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

In diesem Projektabschnitt lag der Schwerpunkt der Arbeiten auf der Etablierung der Auswertung hochaufgelöster Anatomischer MRT Aufnahmen. Nachdem zuvor die Perfusionsprotokolle für die Mausgehirn optimiert wurden, konnte ein erster Datensatz von 15 Mausgehirnen mit hochaufgelöster Anatomie ( $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ ) in unserem MRT aufgenommen werden. Für die Voxel Basierten Morphometrischen (VBM) Analysen wurden Routinen für die Homogenitätskorrektur, die Gehirn-Segmentierung sowie eine diffeomorphe Registrierung (ANTS) in unseren Analyseworkflow integriert. Die etablierte Registrierung wurde sowohl für funktionelle als auch für anatomische Daten in den Allen Brain Atlas als Referenz realisiert; somit stehen uns zukünftig alle Konnektivitäts- und Genexpressionsdaten des ABA für die Interpretation unserer Daten zur Verfügung. Eine Publikation hierzu wird in Kürze eingereicht.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Als nächstes müssen für die VBM Analysen Methoden der Raum-statistischen Analyse auf Basis der Deformationsfelder, die während der Registrierung entstehen, in unseren Workflow integriert werden. Erste Befunde zur Dynamik im Mausgehirn (Methodik) sollen schnellstmöglich publiziert werden. An der TU-Darmstadt wurden die ersten Tiere bestrahlt und werden Anfang März nach Erlangen zur funktionellen MRT Messung gebracht. Sie werden dann von uns sowohl funktionell wie auch anatomisch untersucht werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken	<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 613.602,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rube

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: 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 (5x Fraktionen), 2 (10x), 3 (15x) bzw. 4 (20x) Bestrahlungswochen wurden die Tiere 72 Stunden nach der letzten Strahlenexposition zur Organentnahme getötet. Um auch Langzeitschäden zu erfassen, wurden darüber hinaus Versuchstiere 1, 3, bzw. 6 Monate nach der Bestrahlung (20x 100 mGy) zur Organentnahme getötet. Durch die Etablierung der Immunfluoreszenz-Färbungen für verschiedene Stammzellmarker (DCX, SOX2) können die unterschiedlichen neuronalen Stamm-/Vorläuferzellen in der Hypocampusregion des Gehirns identifiziert und quantifiziert werden. Zur Erfassung einer potentiellen Akkumulation von DNA Schäden erfolgt derzeit die Quantifizierung der RF in den Neuronen des Kortex und der Hypocampusregion im adulten und juvenilen Gehirn. Weiterhin erfolgte die molekulare Charakterisierung der akkumulierten RF durch TEM. Um den Einfluss einer fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung auf die hippocampale Neurogenese in der Subgranularzone des Dentate Gyrus zu erfassen, werden Proliferation und Apoptose durch Immunfluoreszenzfärbungen für Ki67 bzw. Caspase-3 erfasst. Die synaptische Verschaltung und damit die funktionelle Integration der neu gebildeten Neurone im Dentate Gyrus werden durch die Flächenmessung DCX-positiver Dendriten mit entsprechender Software ermittelt. Unsere ersten Ergebnisse zeigen bereits, dass selbst niedrige Strahlendosen (100 mGy) insbesondere beim juvenilen Gehirn ausgeprägte Auswirkungen auf die Neurogenese besitzen.
- AP4: Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurden vor und während der Radiotherapie Blutproben gewonnen, um RF in den in vitro bzw. in vivo bestrahlten Blutlymphozyten zu quantifizieren. In Kooperation mit der HNO wurden Schleimhaut- und Tumorproben im Rahmen der Tumorreaktion gewonnen und hinsichtlich strahleninduzierte Foci untersucht. In Kooperation mit der Firma MEDIPAN wurde die automatisierte Foci-Analyse bei Blutlymphozyten mit Hilfe des AKLIDES System etabliert. Zurzeit werden vergleichende Untersuchungen zur direkten Auszählung der Foci am Mikroskop und der automatisierte Foci-Analyse durchgeführt. Zusätzlich wurde bei einem Patienten mit Li-Fraumeni Syndrom (TP53 Mutation), der aufgrund eines spinal metastasiertem Hirntumors eine kraniospinale Bestrahlung mit 36 Gy erhielt, die Foci in den Blutlymphozyten wöchentlich während der Radiotherapie bestimmt, um eine potentielle Akkumulation von DNA Schäden erfassen. TEM-Analysen der Blutlymphozyten ergaben zahlreiche unreparierte DNA Schäden. In Kooperation mit dem Forschungszentrum Jülich werden mFISH Untersuchungen durchgeführt, um strahleninduzierten Chromosomenaberrationen zu detektieren.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: In verschiedenen Organen sollen potentielle Gewebeveränderungen nach fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung durch histomorphologische sowie verschiedene immunhistochemisch- bzw. immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen analysiert werden. Insbesondere soll im Rahmen der Gehirnentwicklung der Einfluss einer fraktionierten 100 mGy-Bestrahlung auf die Anzahl der verschiedenen Stamm- und Vorläuferzellen sowie auf die neuronale Vernetzung untersucht werden. In weiteren Untersuchungen soll die Bedeutung der Mikroglia für eine potentiell chronische Neuroinflammation im Rahmen der fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung untersucht werden.
- AP4: In Rahmen der klinischen Studie sollen bei den Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren die ermittelten Foci-Werte mit der applizierten Bestrahlungsdosis, dem entsprechendem Bestrahlungsvolumen, den individuell aufgetretenen Nebenwirkungen sowie der applizierten Chemotherapie korreliert werden. Darüber hinaus soll durch systematische In-vitro-Untersuchungen 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.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Persistent DNA damage in spermatogonial stem cells after fractionated low-dose irradiation of testicular tissue. Grewenig A, Schuler N, Rube CE. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 92 (5): 1123-1131  
 Ultrastructural insights into the biological significance of persisting DNA damage foci after low doses of ionizing radiation. Yvonne Lorat, Stefanie Schanz, Claudia E. Rube. *Clin Cancer Res* 2016, submitted

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 820.920,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rothkamm	

### 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, V3.1:

Im Sinne des Arbeitspaketes sollen für Tumorzellen und da insbesondere Prostatazelllinien (LNCaP, PC-3, Du145) sowie den Linien (HeLa, H1299, A549) neben den  $\gamma$ H2AX-Foci weitere Reparaturfoci etabliert werden. Die Etablierung ist nun für alle geplanten Marker abgeschlossen. Die automatisierte Mikroskopie und Auswertung verschiedener Reparaturfoci wurde in Zusammenarbeit mit Medipan weiter überarbeitet und verbessert. Allerdings stehen der vollautomatisierten Analyse ohne Benutzereingriff immer noch einige Hindernisse im Wege, an deren Lösung noch gearbeitet wird.

AP3, V3.2:

Untersuchungen der Verschiebung der DSB-Reparatur zum PARP-abhängigen Endjoining in einem Panel gut charakterisierter Tumorzelllinien verschiedener Entitäten wurden abgeschlossen. Dabei zeigte sich, dass Tumorzellen auf Grund verschiedener genetischer und epigenetischer Prozesse häufig auf alternatives Endjoining zurückgreifen und somit durch

PARP-Inhibition sensitiviert werden können. Ein einziger universell einsetzbarer molekularer Marker konnte nicht identifiziert werden. Stattdessen muss entweder eine Reihe von molekularen Markern getestet werden oder die Wirksamkeit der PARPi-Behandlung durch Nachweis einer eingeschränkten DSB-Reparaturfunktion nachgewiesen werden.

AP3, V3.3 und V3.4:

Erste Vorergebnisse zur Analyse von Reparaturfoci und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Array aus 30 Tumorzelllinien und an Tumorbiopsien liegen vor.

AP6, V6.1:

Im Sinne des Arbeitspaketes sollten für verschiedene Tumorzellen und hier insbesondere für Mamma- und HNSCC-Zelllinien und –Tumorproben Marker für die genomische Instabilität etabliert werden. Die Effektivität der homologen Rekombination in 10 Mamma- und 10 HNSCC-Zelllinien, gemessen mittels Reporterplasmid, ist sowohl in Linien mit niedriger als auch in solchen mit hoher Expression von RAD51 eingeschränkt, was sich auch negativ auf DNA-Replikationsprozesse in diesen Zelllinien auswirkt. Somit kann allgemein eine abnormal niedrige oder hohe Expression von RAD51 als ein Marker für die genomische Instabilität auf Grund eingeschränkter homologer Rekombination in Betracht gezogen werden, der auch in Mamma- und HNSCC-Tumorgewebearrays getestet worden ist.

AP6, V6.2:

Weitere Lymphozytenproben sind gesammelt und RF-Färbungen in unbestrahlten Zellen sowie nach Bestrahlung durchgeführt worden, um diesen Teil von AP6 zum Abschluss zu bringen.

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

AP3, V3.3:

Fortführung der Analyse von RF und Charakterisierung der DSB-Reparatur am Array aus 30 Tumorzelllinien.

AP3, V3.4:

Weiterentwicklung funktioneller Tests an aus frischen Tumorbiopsien gewonnenen Proben. Marker für Proliferation, Hypoxie und Reparaturfoci in ex vivo-Proben werden z. Zt. verglichen und erste Experimente mit Reparaturinhibitoren sind geplant.

AP6, V6.3:

Planung und erste Vorversuche zur Bestimmung der zellulären Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Tumorzelllinien.

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

Bakr A, Köcher S, Volquardsen J, Reimer R, Borgmann K, Dikomey E, Rothkamm K, Mansour WY.: Functional crosstalk between DNA damage response proteins 53BP1 and BRCA1 regulates double strand break repair choice. *Radiother Oncol.* 2015 Nov 23. pii: S0167-8140(15)00592-7. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.001.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 213.756,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Baumann	

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

### 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 semiautomatisierter 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 tierexperimentellen Arbeiten sind abgeschlossen (Aktenzeichen 24-9168.11-1/2013-12).

Die Tumoren von vier Tumormodellen sind vollständig und von einem weiteren zur Hälfte immunhistochemisch und Immunfluoreszenz gefärbt. Die gefärbten Proben wurden eingescannt bzw. Stack-Aufnahmen erstellt. Die randomisierte und verbildetet RF-Auswertung wurde für drei Tumormodelle begonnen.

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

Die tierexperimentellen Arbeiten unter dem Aktenzeichen 24-9168.11-1/2012-51 sind abgeschlossen. Die tierexperimentellen Arbeiten unter dem Aktenzeichen 24-5131/338/11, TVV2015/11 sind für drei von sieben Linien abgeschlossen. Die verbleibenden vier Modelle befinden sich in der Vorbereitung. Zur Untersuchung der Dosis- und der Zeit-abhängigen DNA-Reparatur mittels RF wurden die Gewebeprobe von drei Tumormodellen immunhistologisch und Immunfluoreszenz gefärbt. Die gefärbten Proben wurden eingescannt bzw. Stack-Aufnahmen erstellt. Die randomisierte und verbildetet RF-Auswertung wurde für alle begonnen.

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

Im Berichtszeitraum haben mehrere Telefonkonferenzen zwischen Medipan und dem UKD stattgefunden. Der Austausch von Bilddateien wurde fortgesetzt.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

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

Die histologischen Untersuchungen werden fortgeführt. Nach vollständiger Analyse aller Proben erfolgten die Entblindung und die Korrelation der Ergebnisse mit Daten zur Tumorkontrollwahrscheinlichkeit.

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

Die tierexperimentellen Arbeiten sowie die histologischen Untersuchungen werden fortgeführt. Nach vollständiger Analyse aller Proben erfolgten die Entblindung und der Vergleich mit ex vivo gewonnene Daten mit in vivo Experimenten.

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

Die regelmäßige Frequenz an Projektbesprechungen sowie der Austausch von Bilddateien soll beibehalten werden. Die automatisierten Ergebnisse der entwickelten Software sollen manuell durch mehrere auswertende Personen überprüft werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 266.628,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Gomolka	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer chronischen Strahlenexposition

Es ist zu klären, ob eine chronische Strahlenexposition zu einer Akkumulation von spezifischen RF führt und außerdem die Induktion von DSB und deren Reparatur verändert. Als Untersuchungskollektiv stehen kryokonservierte Lymphozytenproben von nach Alter und Rauchen angeglichenen 300 hoch (Working Level Month > 750) und 100 niedrig (WLM < 50) exponierten Bergarbeitern zur Verfügung. Die Strahlenexposition wurde durch eine Job-Exposure Matrix abgeschätzt. 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, RAD51.

- 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

Für die sichere Analyse und Auswertung von chromosomalen Schäden hatte Hr. Bucher im September einen einwöchigen Schulungsaufenthalt an der Universität Aut3noma de Barcelona.

Am 7.10.2015 fand im Anschluss an die GBS in Dresden ein RF Projekttreffen statt. Bei diesem stellten Frau Dr. Gomolka und Herr Bucher die bislang erzielten Ergebnisse vor.

V1.1:

Der Nachweis von verschiedenen RF mittels Immunfluoreszenz in hoch und niedrig exponierten Uran-Bergarbeitern erfordert eine Methodenetablierung, mit der begonnen wurde. Dazu wurden erste Versuche mit den gut beschriebenen Proteinen  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 in kryokonservierten Lymphozyten durchgeföhrt, in denen sowohl die Akkumulation nach akuter Strahlenexposition als auch die Ko-Lokalisierung untersucht wurde. Dabei zeigte sich jeweils ein Anstieg der RF von  $\gamma$ -H2AX und 53BP1 nach Bestrahlung. Derzeit wird die softwarebasierte und automatisierte Auswertung der RF angepasst werden, um optimale und verlässliche Ergebnisse gerade im Bereich der Ko-Lokalisierungsstudien zu erhalten. Nach einer intensiven Literaturrecherche zu weiteren möglichen Kandidaten werden demnächst zusätzlich MDC1, MRE11, Rad50, NBS1, pATM, RNF8, Artemis, XRCC4, BRCA1 und RAP80 untersucht und Reparatur-Kinetik bzw. Dosis-Effektkurven erstellt.

V1.2:

Von 66 der 75 Wismut Probanden konnten valide Ergebnisse in der mFISH Analyse erzielt werden. Durchschnittlich wurden pro Proband 261 Zellen (135-1229) ausgewertet. Bei einem Probanden zeigten 20 % der Zellen chromosomale Veränderungen. Anhand des vorhandenen Fragebogens stellte sich heraus, dass der Proband aufgrund eines Prostata Tumors vor einigen Jahren eine Strahlentherapie erhalten hatte. Signifikante positive Korrelation in Abhängigkeit von der erhaltenen beruflichen Strahlendosis zeigten sich für die Parameter: „geschädigte Zellen“ und „Brüche pro analysierter Zelle“. Die Korrelation wurde stärker, wenn anstatt der erhaltenen Lungendosis [WLM], die erhaltene Dosis des roten Knochenmarks berücksichtigt wurde. Die Korrelation mit der beruflichen Strahlendosis war ebenfalls positiv aber nicht signifikant, wenn als Schädigungsparameter „Häufigkeit der Translokationen“ oder „Auftreten von komplexen Schädigungen“ berücksichtigt wurden. Um weitere Probanden mit dieser Technik analysieren zu können, wurde eine Methode etabliert, kryokonservierte Lymphozyten zu stimulieren und zu analysieren. Dazu wurden kryokonservierte Lymphozyten von gesunden Spendern wiederholt stimuliert und der prozentuale Anteil der Metaphasen (Mitoseindex) bestimmt. Dabei zeigte sich, dass etwa 50 bis 80 % der kryokonservierten Lymphozyten nach dem Auftauen noch vital sind. Der Mitoseindex liegt bei 8 bis 20 %. In weiteren Versuchen wird derzeit untersucht, in wie weit sich der Mitoseindex von kryokonservierten Lymphozyten im Vergleich zu dem Mitoseindex von Vollblut von gesunden Spendern unterscheidet. Dabei zeigt sich in ersten Untersuchungen, dass der Mitoseindex von Vollblut zwischen 19 und 24 % liegt und damit der prozentuale Anteil der Metaphasen von Lymphozyten in Vollblut – wie erwartet – höher ist.

In einem weiteren Kollektiv wird die Aussagekraft zur Strahlenempfindlichkeit des RF Assay an Lymphozyten von strahlenempfindlichen Kindern untersucht. Als Probandenkollektiv stehen neun strahlenempfindliche Kinder (ATM Mutation mit klinischer Auffälligkeit aus der Universität Düsseldorf) und acht gesunde Kinder im Alter von drei bis 20 Jahren zur Verfügung. Von den strahlenempfindlichen Kindern wurden die Proben bereits gesammelt und die Präparate für die mFISH Analyse angefertigt. Hierzu wurden frische Heparin-Blutproben mit 1 Gy in einer Cs-137 Quelle exponiert und mit einer Sham exponierten Probe verglichen. Von dem verbliebenen Blut wurden Lymphozyten kryokonserviert, die demnächst im RF-Assay und Comet Assay untersucht werden. Als Vergleichsgruppe werden zurzeit Blutproben von gesunden Kindern gesammelt. Von den strahlenempfindlichen Kindern wurden bereits 450 Zellen von vier Kindern ausgewertet. Hierbei wurden auf 100 Zellen 25 bis 32 dizentrische Chromosomen beobachtet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit erfolgt nach dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Posterbeitrag: “DNA damage as a marker for chronic exposure of ionizing radiation”, M. Bucher, U. Roessler, U. Kulka, S. Hornhardt, M. Gomolka, GBS-Abstract Book, Seite 34, I-1-3.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Medipan GmbH, Ludwig-Erhard-Ring 3, 15827 Dahlewitz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 035E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 723.729,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Roggenbuck	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

Um ein qualitativ hochwertiges Analyseergebnis zu erhalten, ist eine entsprechende Möglichkeit zur Definition der Messparameter innerhalb des Programms durch den Anwender nötig. Die Software wurde deswegen um verschiedene Parameter (u. a. Anzahl und Abstand der z-Ebenen die gemessen werden sollen) erweitert und die Zweckmäßigkeit ausgetestet. Suchkriterien wurden spezifiziert und anhand von Lymphozytenmessungen ausgewertet. Auch wurde die Datei-Ausgabe der Ergebnisse verbessert. Dies umfasst eine Ausgabe als PDF-Dokument, indem man nur die Resultate von ausgewählten Wells ausgeben lassen kann. Des Weiteren werden neben den Rohdaten der aufgenommenen Bilder verschiedene analysierte Bilder gespeichert, zum Beispiel mit Markierungen welche Zellkerne ausgewählt wurden und den entsprechenden Beschriftungen. Selbiges wurde ebenso für die analysierten Foci programmiert. Zur Überprüfung von kolokalisierten RF (gammaH2AX und 53BP1) wurde die Möglichkeit implementiert, gleichzeitig einen zweiten Marker zu messen. Dies ermöglicht auch eine deutlich schnellere Analysezeit im Vergleich zu zwei separaten Messungen.

Mit den Projektpartnern Universitätsklinikum Saarland (UKS) und dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) wurden Informationen ausgetauscht. Für die Einarbeitung in die dort aufgestellten AKLIDES®-Systeme gab es auch nach den Schulungen regelmäßigen Kontakt mit den entsprechenden Mitarbeitern. Für die verschiedenen Zelllinien- und Lymphozytenmessungen wurden in Kooperation die Parameter jeweils angepasst und verbessert.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Zur weiteren Verbesserung sollen noch zusätzliche Parameter hinzugefügt werden, u. a. eine minimal zu analysierende Zellkernanzahl bzw. Bildanzahl. Auch sind weitere Anpassungen der internen Algorithmen der Software geplant, um die Spezifikationen genauer zu implementieren und Vorschläge der Projektpartner besser zu berücksichtigen. So soll z. B. der für die Fokussierung verwendete Marker nicht mehr statisch gesetzt sein, sondern eine Auswahl verschiedener Marker für den Anwender zur Verfügung stehen.

Um die Analyseergebnisse des AKLIDES®-Systems für den Anwender überschaubarer und nachvollziehbarer zu gestalten, werden weitere Bildausgaben implementiert. Diese beinhalten dann Informationen zu den aufgenommenen Bildern und wie das Programm diese auswertet.

Durch die zusätzlichen Erweiterungen des Programms müssen einige Algorithmen umprogrammiert oder neu definiert werden, um mögliche, teils neu hinzugekommene Fehlerquellen zu reduzieren. Die Neuentwicklung der Software zur automatisierten Untersuchung von RF in Gewebe wird weiter vorangetrieben.

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

Projekttreffen:

2 Verbundtreffen, Präsentation des Arbeitsprogramms AP7: Automatisierung der RF-Detektion, Dorian Sartorius, 07.10.2015, Dresden, Vortrag

<b>Zuwendungsempfänger:</b> IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036AX</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 892.529,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Boukamp	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Dafür wird eine kombinierte und bezüglich UVA und –B Strahlenintensität variable Strahlenquelle für alle AGs entwickelt. Die Forschungsschwerpunkte der Verbundpartner sind: Gewebe- und Telomer-längenregulation (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.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

*Zu 2:* Eigene Erfahrung hat gezeigt, dass unterschiedliche FCS Chargen sehr unterschiedlich auf die Zellen wirken können. Um diesbezügliche Varianzen auszuschließen, sollte für eine Vereinheitlichung der Versuchsbedingung gesorgt und für alle Zellkulturarbeiten in allen Standorten das gleiche FCS verwendet werden. Hierzu soll eine große Charge FCS geordert werden, die dann auf die verschiedenen Standorte verteilt wird. Für die Qualitätsprüfung standen uns 8 FCS Proben von unterschiedlichen Herstellern zur Verfügung. In einem ersten Schritt wurden NHEK, NDF, HaCaT und HaSK Zellen in konventionellen 2D Kulturen bezüglich ihrer Klonierungseffizienz überprüft. Aus diesem Ansatz wurden 3 Seren ausgewählt, in denen alle verschiedenen Zellen ein gutes Wachstum zeigten. Diese 3 Seren wurden dann auch im OTK Ansatz überprüft. Dies war erforderlich, da sich zuvor gezeigt hatte, dass es zu großen Unterschieden im 3D Wachstum kommen kann. Hierfür wurden dann sowohl scaOTKs als auch fdmOTKs mit NHEK, HaCaT und HaSK Zellen mit dem jeweiligen Serum angesetzt und die Histologie als Qualitätskriterium nach 3 und 6 Wochen Kultivierungsdauer, erstellt. Obwohl sehr langwierig, so erlaubte uns diese Analyse nun doch, eine FCS Charge zu ermitteln, die sowohl in 2D Kulturen als auch in den 3D OTKs die Epidermiszellen sehr gut unterstützt und somit für die zukünftige Anwendung in den verschiedenen Labors bestens geeignet sein sollte.

Gleichermaßen konnten bei diesen Studien auch eine HaSK Charge ermittelt werden, die nun sowohl in 2D als auch bezüglich ihres Wachstums in OTKs sehr gut charakterisiert ist. Diese wird jetzt für alle 4 Arbeitsgruppen bereitgestellt.

Die Lampe wurde inzwischen nach Karlsruhe gebracht, um dort vermessen zu werden. Die endgültige Beschreibung steht noch aus - siehe hierzu den Zwischenbericht von Darmstadt.

*Zu 2.2:* Durchführung eines Wiederholungsexperiments zur Fibroblastentoxizität durch Bestrahlung mit unterschiedlichen UVA Dosen (Kontrolle für die Komplettbestrahlung). Hierbei wurden nur CDMs (ohne Epidermiszellen) der chronischen Bestrahlung (3x/Woche für 4 Wochen) ausgesetzt. Auswertung dieses und des Erstexperiments: Untersuchungen zur Schadensinduktion, gemessen an CpDs, Damage Foci (gH2AX/P53BP1), pATM (Damage-induzierter

Pathway) wurde durchgeführt und sind z. T. noch in der Auswertung. Gleiches gilt für die Telomerlängenanalyse. Als UV-induzierte Matrixveränderungen wurden Fibronectin und Thrombospondin 1(TSP1) untersucht und für TSP1 in beiden Experimenten ab 2J/cm<sup>2</sup> eine klare Induktion ermittelt. Picro-Siriusrot Färbung zum Nachweis von Kollagenveränderungen wurden durchgeführt und sind noch in der Auswertung.

Bezüglich der Rolle von UV im Hautäquivalent (CDM mit Keratinozyten) wurde ein Bestrahlungsexperiment (UVA: 2J/cm<sup>2</sup>, 4J/cm<sup>2</sup>, 6J/cm<sup>2</sup>, 8J/cm<sup>2</sup>, 10J/cm<sup>2</sup>, 12J/cm<sup>2</sup> 3x/Woche für 4 Wochen und UVA+B bestrahlt, 2J/cm<sup>2</sup>+4mJ/cm<sup>2</sup>, 4J/cm<sup>2</sup>+8mJ/cm<sup>2</sup>, 6J/cm<sup>2</sup>+12mJ/cm<sup>2</sup>, 8J/cm<sup>2</sup>+17mJ/cm<sup>2</sup>, 10J/cm<sup>2</sup>+21mJ/cm<sup>2</sup>, 12J/cm<sup>2</sup>+25mJ/cm<sup>2</sup>; 3x/Woche für 4 Wochen) erfolgreich durchgeführt. Mit der molekularen Auswertung wurde begonnen.

Zu 2.4: 1. Um die Konsequenz von Cyclosporin A (CsA) auf die genomische Stabilität der Zellen zu testen, wurden HaCaT Zellen mit Cyclosporin A behandelt (9 Wochen) und die Mitosen mittels multi-Color-FISH (M-FISH) ausgewertet (Koop. Anna Jauch, Humangenetik Heidelberg). Die Auswertung des Wiederholungsexperimentes ist noch nicht abgeschlossen und wird derzeit noch zu Ende geführt.

2. Um die molekulare Veränderungen der CsA Behandlung zu erfassen, wurden HaCaT OTKs mit CsA (250 ng/ml) für 4 Wochen behandelt, das Epithel isoliert und vom Epithel eine RNA Expressionsanalyse (Illumina, Core Facility DKFZ) durchgeführt. Die Auswertung der Daten und Verifizierung speziell der durch CsA induzierten Verstärkung der Differenzierung ist derzeit noch in Bearbeitung.

3. Immunsuppression durch die Behandlung mit CsA führt zur „Carcinomatous Catastrophe“ mit oft einer Vielzahl von Hautcarcinomen in UV-exponierten Hautbereichen. Deshalb könnte UV Strahlung für die Tumorentstehung eine wichtige Rolle spielen. In einem ersten Ansatz wurde überprüft, welche Konsequenz eine zusätzliche UV (UVA plus B: 5 J/cm<sup>2</sup>//6.25 mJ/cm<sup>2</sup> 3x/Woche für 3 Wochen) Bestrahlung (in OTKs) auf CsA [10 µg/ml] -behandelten Kulturen von NHEK, HaCaT Zellen bzw. HaCaT-ras A-5 Zellen hat. Dieser Ansatz wurde weiter charakterisiert. Da es nicht zu drastischen Veränderungen kam, wurde auch von diesen Epithelien RNA isoliert und eine RNA Expressionsanalyse (Illumina, Core Facility DKFZ) durchgeführt. Die Array Daten liegen jetzt vor und werden derzeit ausgewertet. Damit sollte eine exzellente Basis für die neuen Bestrahlungsexperiment (KAUVIR Lampe) gegeben sein.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Zu 2: Auswertung der Serumtest OTK Experimente mit NHEK, HaCaT und HaSK Zellen zum Nachweis der exogen induzierten Variabilität als Grundlage für den Nachweis der Qualität der „Bestahlungs-Schädigung“. Austausch von OTK Material mit Buxtehude für den Nachweis epigenetischer Regulation und Bereitstellung neuer gut definierter HaSK Zellen für alle Arbeitsgruppen.

Wenn möglich erste Evaluation des Prototyps der KAU VIR Lampe. Materialaustausch (2D Kulturen) mit Buxtehude.

Zu 2.2: Weitere Auswertung der Bestrahlungsexperimente der OTKs mit UVA versus UVA+B zur Analyse der Fibroblastentoxizität und Telomerlängenregulation in der „Dermis“ durch Bestrahlung.

Weiter Auswertung der UV Schädigung an den chronisch bestrahlten Hautäquivalenten bezüglich Proliferation, Differenzierung, Damage-Response, Apoptose und Telomerlänge in der Epidermis versus Dermis.

Zu 2.4: Finalisierung der genetischen (M-FISH) Analysen zur Rolle von CsA als Induktor chromosomaler Instabilität.

Neuer (Verifizierung) Ansatz von chronischer Behandlung von CsA mit HaCaT und HaCaT-ras A5 Zellen zur Verifizierung der Induktion von Langlebigkeit bzw. Invasivität durch CsA.

Fortführung der Auswertung der Expressionsanalyse und funktionelle Studien zur Rolle der deregulierten Gene im Epithel.

Auswertung der RNA Mikroarray Analyse des dermalen Kompartiments der CsA-behandelten Kulturen (Illumina, Core Facility DKFZ) zum Nachweis der Rolle des Stromas.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

##### Vortragseinladungen:

September 2015: Deutscher Hautkrebskongress München, „Telomere/Telomerase: Telomerlängenregulation in Hauttumoren“

November 2015: Seminarvortrag, Internationale Jakobs Universität Bremen, „From epidermal stem cell to skin cancer: Where do they meet?“

November 2015: Einweihung des Forschungs- und Studienzentrums der Elbe Kliniken Buxtehude, „Von der epidermalen Stammzelle zur molekularen Diagnostik – Möglichkeiten der translationalen Forschung“

##### Veröffentlichungen:

Sobel K, Tham M, Stark HJ, Stammer H, Prätzel-Wunder S, Bickenbach JR, Boukamp P. Wnt-3a-activated human fibroblasts promote human keratinocyte proliferation and matrix destruction. *Int J Cancer*. 2015 Jun 15;136(12):2786-98.

Piredda P, Berning M, Boukamp P, Volkmer A. Subcellular Raman Microspectroscopy Imaging of Nucleic Acids and Tryptophan for Distinction of Normal Human Skin Cells and Tumorigenic Keratinocytes. *Anal Chem*. 2015 Jul 7;87(13):6778-85.

Fertigstellung der Publikation: „Bauer S, Stark H-J, Kollar J, Busch H, Börries M, Weber S, Leufke C, Pavez Lorie E, Bickenbach JR, and Boukamp P. TGFβ-dependent fibroblast transdifferentiation links a chondrogenic profile to photoaging (external skin aging)“.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 811.400,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Greinert	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Untersuchung der epigenetischen Veränderungen (z. B. globale DNA-Methylierung, Promotor-Methylierung oder Histonmodifikationen) und der Expressionsänderungen von microRNAs nach chronischer oder akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

AP2: Charakterisierung der epigenetischen Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial.

AP3: Untersuchung welche Faktoren und Mediatoren nach UV-VIS-IR auftretende epigenetische Modifikationen bewirken.

AP4: Messung von Reparaturkinetiken nach Kombinationsbestrahlung.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Momentan in Arbeit.

AP2: Messung der globalen Methylierung und Bestimmung der Promotermethylierung von microRNAs sowie Transkriptionsanalyse von epigenetischen Mediatoren und microRNAs in nativem Tumormaterial.

Ergebnisse:

In vorigen Berichten (2014-2 und 2015-1) konnten wir abweichende epigenetische Modifikationen (z. B. globale Hypomethylierung und Promoterhypermethylierung an miR-124-3p) und Transkriptionsänderungen bei epigenetischen Mediatoren (z. B. DNMT3b) in SCC-Linien nachweisen. In diesem Berichtszeitraum wurden die Untersuchungen auf natives Tumormaterial ausgeweitet. Hierfür wurden 6 SCC-Tumore und je 6 Proben aus sonnenexponierten und sonnengeschützten Arealen normaler Haut verwendet. Bei 5 von den 6 SCC-Tumoren (außer Tumor-#1/4) wurde eine starke globale Hypomethylierung beobachtet. Der Methylierungsgrad lag zwischen 22 % und 44 %, während die normalen Hautproben aus sonnenexponierten und sonnengeschützten Arealen einen Methylierungsgrad von 60 % – 65 % zeigten. Die 3 DNA Methyltransferasen: DNMT1, DNMT3a, DNMT3b sind wichtige epigenetische Mediatoren bei der Modulierung der DNA-Methylierung (inklusive globaler Methylierung) in menschlichen Zellen. Eine Reduzierung der Transkription von DNMT1 um das ~3fache konnte mit der globalen Hypomethylierung in 3 SCC-Tumoren korreliert werden. Bei den anderen 2 Tumorproben waren die Transkriptionsergebnisse nicht auswertbar. Die Transkription von DNMT3a und DNMT3b in SCC-Tumoren wich nicht deutlich von der in den normalen Hautproben ab. Diese Ergebnisse deuten auf eine wichtige Rolle von DNMT1 bei der Regulation globaler Methylierung in SCC hin. Um die möglichen Mechanismen, die zur Herunterregulierung der DNMT1 Transkription in SCC führen, näher zu untersuchen, wurde zuerst die Promotermethylierung analysiert. Ein sehr niedriger Methylierungsgrad (von etwa 4 %) konnte sowohl in SCC-Tumoren als auch in normalen Hautproben gemessen werden. Dies weist darauf hin, dass andere Mechanismen (z. B. die Regulation durch microRNAs oder die Regulierung der Enzymaktivität) die DNMT1 Transkription abschwächen. Auch für den Promotermethylierungsgrad von DNMT3a und DNMT3b wurde kein Unterschied zwischen den SCC-Tumoren und normalen Hautproben gefunden. Bei der ersten microRNA Transkriptionsanalyse zeigten krebsrelevante microRNAs, z. B. miR-21-5p und miR-203a-3p, welche eine veränderte Transkription in SCC-Linien aufwiesen, eine entsprechend erhöhte (OncomiR, miR-21-5p) bzw. erniedrigte (miR-203a-3p) Transkription in Tumoren. Die Transkription von miR-124-3p konnte wegen der sehr geringen Menge noch nicht bestimmt werden. Welche Rolle die Promotermethylierung bei der Regulation der Transkription von miR-21-5p und miR-203a-3p spielt, muss noch weiter geklärt werden.

AP3: Momentan in Arbeit.

AP4: Momentan in Arbeit.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Untersuchung der epigenetischen Veränderungen (z. B. globale DNA-Methylierung, Promotermethylierung) und der Expressionsänderungen von microRNAs nach akuter Bestrahlung mit einer UV-VIS-IR Kombinationsbestrahlung.

AP3: Die bisherigen Ergebnisse zur DNMT-Aktivität sollen durch Untersuchungen mit zusätzlichen Mess-Zeitpunkten bis nach 72 h ergänzt werden. Darüber hinaus sollen geringere Strahlendosen UVB (z. B. 300 J/m<sup>2</sup> und 600 J/m<sup>2</sup>) eingesetzt werden, um deren Auswirkung auf die Aktivität der DNMTs zu messen. Die DNMT-Aktivität soll auch in anderen Keratinozyten und in SCC-Linien bestimmt werden.

AP4: Messung der Viabilität der Zellen nach der Kombinationsbestrahlung mit humanen Keratinozyten. Messung der Schadensinduktion und Reparaturkinetiken nach der Kombinationsbestrahlung in humanen Keratinozyten.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 602.574,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Krutmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das solare Spektrum der Sonne enthält unterschiedliche spektrale Komponenten: UVA, UVB, sichtbares Licht (VIS) und Infrarot (IR), die jeweils ein sehr 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, 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 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**

AP1:

Es erfolgte die erforderliche Etablierung von Methoden zur Analyse mitochondrialer Funktionen in bestrahlten Fibroblasten. Zudem wurde ein erstes Modell entwickelt, das es erlaubt die Kombination aus UV-induzierter und IRA-induzierter Schädigung der mitochondrialen Integrität zu untersuchen. Dieses Modell ermöglicht gezielt die Auswirkungen von UVA-induzierbaren mtDNS-Deletionen, wie sie verstärkt in lichtgealterter Haut auftreten, in unbestrahlten oder aber zusätzlich mit anderen Spektralbereichen bestrahlten Fibroblasten, zu untersuchen.

AP2:

Die ersten Untersuchungen werden nach Installation der Bestrahlungsquelle durchgeführt.

AP3, 4 und 5:

Der Tierversuchsantrag liegt der Behörde vor.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

AP1:

Nach Abschluss der Intensitätsmessungen der Bestrahlungseinheit werden erste in vitro Versuche an immortalisierten Keratinozyten und primären Fibroblasten durchgeführt.

AP3, 4, und 5:

Nach Bewilligung, des sich noch im Begutachtungsverfahren der Behörde befindlichen Tierversuchsantrages, wird mit den ersten Studien zu diesen Arbeitspaketen begonnen werden.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 036D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 875.430,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Rapp	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die kombinierte Strahlungsquelle zur simultanen Bestrahlung mit UVB, UVA, VIS und IR wurde im vorherigen Berichtszeitraum als Prototyp fertiggestellt. Im aktuellen Berichtszeitraum wurde die spektrale Charakterisierung und Vermessung sowie die Dosimetrie durchgeführt. Dabei wurde auf eine externe Spezialfirma mit Erfahrung in der Charakterisierung von Strahlungsquellen zurückgegriffen. Während des im Berichtszeitraum stattfindenden Projekttreffens in Düsseldorf wurden weitere Details zur Fertigstellung der Lampe mit den Projektpartnern erörtert und es wurde festgelegt, dass jede Bestrahlungsanlage ein integriertes Spektrophotometer bekommen soll, so dass während jeder Bestrahlung die akkurate Dosis im Bereich von 200-1100nm gemessen und aufgezeichnet werden kann. Dies ermöglicht eine maximale Reproduzierbarkeit der experimentellen Bedingungen zwischen den Versuchen als auch innerhalb des Projektverbundes. Darüber hinaus wurde beschlossen, dass die Probenkammer mit einer kontrollierbaren Heiz/Kühleinheit versehen wird, um thermische Effekte der Bestrahlung gezielt zu unterdrücken bzw. biologischen Prozesse durch Kühlung zu minimiert. Mit der Planung und Realisation der Temperiereinheit wurde begonnen.

Die Kulturbedingungen der einheitlich verwendeten Zelllinie HaSKpw wurden weitergehend mit den anderen Projektpartnern abgestimmt und ein einheitliches Serum für das gesamte Verbundprojekt gewählt. Für diese Zelllinie sowie für die HaCaT Zelllinie im Vergleich, wurden die Wachstumskurven und Dosis-Response Kurven erstellt und mit den existierenden Daten der Projektpartner verglichen.

In den HaSKpw Zellen wurden Dosis-Response Kurven unter Berücksichtigung von thermischen Effekten und im Vergleich zu rein thermischen Effekten für die Infrarotbestrahlung erstellt und mittels Koloniebildungsassays ausgewertet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Aktuell wird die Bestrahlungsanlage für alle Projektpartner gebaut sowie eine integrierte computergesteuerte Regeltechnik für die Bestrahlungsanlage entwickelt. Gleichzeitig werden mit dem Prototypen Kombinationsbestrahlungsexperimente durchgeführt und die im Arbeitsplan aufgeführten Kombinationen und Endpunkte untersucht. Dem zugrundeliegend werden die in den früheren Projektphasen etablierten Assays zu Koloniebildung, Gesamtschadensmenge (Strangbrüche), CPD-Induktion und Zellzyklusmessung eingesetzt und die HaSKpw weiterhin mit den HaCaT Zellen verglichen. Die ersten Messungen zu isolierten Spektralqualitäten werden abgeschlossen und mit den Projektpartnern beim nächsten Treffen abgeglichen sowie mit anderen isolierten Strahlenquellen verglichen, um geeignete Dosisbereiche für Kombinationsbestrahlung zu ermitteln. Ebenfalls wird eine Partnerübergreifende Datensammlung zu den Keratinozytenmodellen durchgeführt, um dieses Modellsystem übergreifend in möglichst vielen Richtungen zu charakterisieren.

Die Einkopplung der Kombinationsstrahlung in das Lebendzellmikroskop (Arbeitspaket 1 und 2) mittels Lichtleiter soll abgeschlossen werden und die Probenhalterung für die Zellen im Lebendzellmikroskop hergestellt werden. Ansätze bezüglich der Mikrodosimetrie im Probenraum innerhalb der Lebendzellkammer werden untersucht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Lengert L, Lengert N, Drossel B, Cardoso MC, Muster B, Nowak D, Rapp A. 2015 Biophys J. 2015 109(8):1551-64. Discrimination of Kinetic Models by a Combination of Microirradiation and Fluorescence Photobleaching.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 992.585,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Jakob	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Teilprojekt (AP1: Einfluss der Chromatinstruktur und strukturbildender Faktoren auf die frühen Ereignisse von Reparaturprozessen nach Bestrahlung) der GSI liegt der Schwerpunkt der 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 Röntgenstrahllexperimenten auf die Effekte nach Teilchenbestrahlung“.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Zeitraum Juli bis November 2015 konnten verschiedene Experimente mit Ionenstrahlen am UNILAC der GSI durchgeführt werden (2x Kohlenstoff LET 325 kEV/ $\mu\text{m}$ , 1x Helium LET 76 kEV/ $\mu\text{m}$ ; 3x Microbeam Gold Au 12300 kEV/ $\mu\text{m}$ ). Die Microbeamstrahlzeit wurde genutzt um gezielt heterochromatische Bereiche im Kern (Chromocentern in NIH/3T3 Zellen) zu bestrahlen. Mittels siRNA vermitteltem knock-down (kd) wurde die Beteiligung verschiedener Proteinfaktoren an der strahlungsabhängigen Chromatindekondensation und der anschließenden Relokalisierung der Doppelstrangbrüche untersucht. Neben dem Schwerpunkt HP1 wurden auch andere potentielle Kandidaten adressiert. Dazu zählen Ubiquitinierungsfaktoren (RNF8, RNF20) sowie Chromatinremodeller (ACF1/SNF2H, CHD4). Ergänzend wurden dazu in den Broadbeamstrahlzeiten das zelluläre Überleben und Reparaturkinetiken gemessen.

Im Gegensatz zu ersten kd Ansätzen gelang es für HP1 $\alpha$  und HP1 $\beta$  stabile knockout Zelllinien zu etablieren und so die Qualität der Proteindepletion sicherzustellen. Die Auswertung der experimentellen Daten zur Relokalisation heterochromatischer Schäden wurde begonnen. Leider wurde aufgrund technischer Probleme bei den ersten beiden Mikrobeamstrahlzeiten in vielen Proben nicht die gewohnte Treffergenauigkeit erzielt um die Fragestellung nach dem Einfluss verschiedener Faktoren abschließend zu beantworten. Die geringe Anzahl getroffener Chromocenter erlaubte keine statistisch valide Aussagen, so dass speziell die Experimente zur HP1 abhängigen Relokalisierung im November wiederholt wurden. Die Analyse dieser 3. Goldstrahlzeit ist im Gange. Während parallel durchgeführte Röntgenexperimente einen Einfluss von HP1 auf das zelluläre Überleben nach Bestrahlung belegen, zeigte sich interessanterweise aus den bislang erhaltenen Auswertungen kein signifikanter Einfluss von HP1 auf die Reparaturkinetik von ioneninduzierten Doppelstrangbrüchen sowie dem Zellüberleben nach Kohlenstoffbestrahlung. Nach RNF8 bzw. ACF1/SNF2H knock down hingegen zeigten sich in ersten Analysen nach Kohlenstoffbestrahlung Hinweise auf eine tendenziell verzögerte Reparatur, die im Falle von ACF1/SNF2H knockdown auch mit einem leicht verminderten Überleben der Zellen einherging. Zum Absichern wurde ein weiteres Experiment mit He-Bestrahlung durchgeführt. Die Auswertung steht noch aus.

Während es aus älteren Experimenten Anhaltspunkte für eine verminderte Chromatindekondensation nach Röntgenbestrahlung in RNF8 knockdown Zellen gab, wiesen mit Goldionen bestrahlte Chromocenter keinen RNF8 abhängigen Unterschied auf. Insgesamt war die Dekondensation nach Ionenbestrahlung wesentlich deutlicher ausgeprägt. Möglicherweise ist die lokale Schadensdichte nach Goldbestrahlung so hoch, dass der regulatorische Einfluss von RNF8 durch alternative Mechanismen überdeckt wird.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Neben den noch offenen Analysen der Strahlzeitexperimente aus 2015 sollen verstärkt Experimente zum Auffinden anderer Kandidaten, die einen Einfluss auf die Relokalisation bzw. Dekondensation haben können, durchgeführt werden.

Voraussichtlich können bis Juni 2016 mehrere UNILAC Strahlzeiten mit verschiedenen Ionen (Kohlenstoff, Sauerstoff, Helium, Gold) durchgeführt werden. In diesen sollen bisherige Ergebnisse validiert sowie neu identifizierte Faktoren untersucht werden. Für RNF8 kd Zellen ist eine Wiederholung der strahlungsabhängigen Dekondensationsmessung bei geringerem LET (He, C) sowie Röntgenstrahlung geplant. Sollte sich eine Auswirkung des HP1 ko auf die Schadensrelokalisierung manifestieren, sind Experimente zur Untersuchung einer potentiellen Verminderung von Resektionsereignissen geplant, die als potentieller Motor für die Relokalisation heterochromatischer Schäden dienen könnten.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Burkhard Jakob und Gisela Taucher-Scholz (2015): How to study real-time ATM-mediated recruitment of DNA repair complexes to sites of ionizing radiation-induced damage, *Meth Mol Biol*, submitted.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B	
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 752.328,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Iliakis

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der Anfangsphase des Projektes wurde der Einfluss von Hypotonie und Hypertonie auf den alt-EJ mittels PFGE untersucht. Die Ergebnisse aus vorangegangenen Experimenten konnten nur teilweise reproduziert werden, so dass der Fokus im weiteren Verlauf auf konkretere Behandlungsmöglichkeiten, die die Chromatinstruktur verändern sollen, gelegt wurde. Dafür wurden zunächst optimale Behandlungsbedingungen für einen Histon-Methyltransferase Inhibitor (Chaetocin), der zu einer Chromatin-Kondensierung führt, für humane Zelllinien untersucht und festgelegt. Des Weiteren wurden die Bedingungen für G0-Zellen (entweder durch Serumentzug oder durch Wachstum in die Plateau-Phase) verbessert und mittels der Ki67-Färbung eine Methode zur Quantifizierung etabliert. In einem Teilprojekt wurde die Vergleichbarkeit des Xlf/Xrcc4-Filaments zur Chromatinstruktur hinsichtlich der unterstützenden Wirkung auf die DSB-Reparatur durch Endverknüpfung untersucht. Auch hier wurden abweichende Ergebnisse in Dna-Pkcs defizienten Zellen, im Vergleich zu anderen C-NHEJ defizienten Zelllinien, erzielt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2: Der Einfluss der Kondensierung des Chromatins durch Behandlung mit hypertonischen oder hypotonischen Medien soll mit verbesserten Kulturbedingungen für G0-Zellen erneut auf die Fähigkeit der Zellen mit alt-EJ zu reparieren untersucht werden. Diese Arbeit soll vor allem in C-NHEJ defizienten Mauszellen durchgeführt werden, bevor zur Überprüfung ebenfalls humane Zelllinien eingesetzt werden.
- AP3: Der Einfluss der DNA Methylierung auf die Chromatinstruktur soll in den drei Zellsystemen standardisiert und als Ansatz für Versuche auf die DNA Reparatur eingesetzt werden. Eine Methode für die Erfassung des Methylierungszustands der Zellen soll gefunden und optimiert werden, um anschließend standardmäßig zum Einsatz kommen zu können.
- AP5: Das CRISPR/Cas9 System soll genutzt werden, um gezielt Doppelstrangbrüche in Bereichen mit bekanntem Methylierungsstatus zu induzieren. Die Reparatur des DSBs in diesen Bereichen soll mithilfe der Immunofluoreszenz-Mikroskopie untersucht werden. Mit diesem System sollen Unterschiede in der Reparatur nach Behandlung mit verschiedenen miRNAs, die die Expression von DNMT1 regulieren, aufgezeigt werden.
- AP6: 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.  
Des Weiteren soll mithilfe der Immunofluoreszenz-Mikroskopie die stabilisierende Wirkung des Xlf/Xrcc4-Filaments auch in Hinblick auf die unterschiedliche Reparatureffizienz in verschiedenen Wachstumsstadien weiter verfolgt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

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

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 037C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 719.412,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Schwerpunkt des Projekts liegt auf der Untersuchung der Chromatindynamik während der Homologen Rekombination (HR) in der G2-Phase und der Mitose. Mit der Erforschung dieses wissenschaftlichen Feldes soll ein Beitrag zum besseren Verständnis zur Entstehung von Chromosomenaberrationen und chromosomalen Instabilitäten geleistet werden. Dies umfasst die Untersuchung von HR-assoziierten Vorgängen in der Mitose. Hierbei stellt sich die Frage, welche HR-Intermediate die Mitose durchlaufen und welches Schicksal die Zellen im darauf folgenden 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: Es wurden erfolgreich ATRX Knock-down- bzw. Knock-out-Zelllinien mittels shRNA- bzw. CRISPR/Cas9-Technologie generiert. Die Effizienz des Knock-downs sowie der Knock-out von ATRX wurden bislang mittels Western-Blot überprüft und bestätigt. Weiterhin wurden erste funktionale Studien, wie z. B. Überlebensexperimente und DSB-Reparaturstudien mit den neu-generierten Zelllinien durchgeführt, um die genaue Rolle von ATRX bei der Reparatur von DSBs zu erörtern. Es zeigte sich hierbei, dass ATRX-defiziente Zellen im Vergleich zu Kontrollzellen eine erhöhte Sensitivität nach MitomycinC- oder Methylmethansulfonat-Behandlung bei Überlebensexperimenten aufweisen. Im Einklang mit diesen Ergebnissen weisen ATRX Knock-out- bzw. Knock-down-Zellen einen DSB-Reparaturdefekt in der G2- aber nicht in der G1-Phase auf, was auf eine Beteiligung von ATRX bei der Homologen Rekombination hindeutet.
- AP2: Es wurden bereits transgene Zelllinien hergestellt, welche GFP-Rad54, GFP-Mus81 und GFP-Rad52 stabil exprimieren. Die physiologische Expression dieser GFP-Proteine und die Fähigkeit zur Ausbildung von Strahlen-induzierten Foci in der G2-Phase wurden mittels Western-Blot bzw. Immunfluoreszenzmikroskopie überprüft und bestätigt. Aus bereits veröffentlichten Studien ist bekannt, dass die Nuklease Mus81 in der Mitose Foci ausbilden kann und in dieser Zellzyklusphase nukleolytisch aktiv ist. Es sollte nun weiterführend überprüft werden, welche weiteren HR-assoziierten Proteine in der Lage sind in der Mitose Foci auszubilden. Diese Fragestellung sollte Aufschluss darüber geben, welche HR-Strukturen vorliegen, wenn Zellen mit unreparierten DSBs von der G2-Phase in die Mitose eintreten. Hier konnte gezeigt werden, dass neben Mus81- auch GFP-Rad52-Foci in der Mitose zu detektieren sind, aber keine Rad51- oder GFP-Rad54-Foci. Dies deutet darauf hin, dass Zellen in die Mitose eintreten, bei welchen sich unreparierten DSBs bereits in einem späten Stadium der HR befinden. Des Weiteren wird momentan die effiziente Herunterregulierung von Rad52 und Mus81 mittels siRNA etabliert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Um eine möglich Beteiligung von ATRX bei der HR zu untermauern, sollen HR- und NHEJ-Reportersysteme angewandt werden. Mit solchen Reporterzellsystemen kann eine Beteiligung von ATRX an der DSB-Reparatur über NHEJ oder HR direkt überprüft werden. Um die genaue Funktion von ATRX bei der HR detaillierter untersuchen zu können, soll ein ATRX-GFP-Plasmid so mutiert werden, dass das resultierende ATRX-Protein in unterschiedlichen Domänen inaktiv bzw. unfunktional ist. Dies ermöglicht bereits bekannte Funktionen von ATRX bezüglich deren Beteiligung bei der DSB-Reparatur zu überprüfen. Es sollen hierfür Mutationen in DNA-Bindedomänen, in Interaktionsdomänen mit Partnerproteinen und in ATPase-Domänen hergestellt werden. Ebenfalls soll GFP-ATRX-wt- sowie mutiertes ATRX-Protein aufgereinigt werden, um dessen Chromatin-Remodeling-Aktivität in vitro erforschen zu können.
- AP2: Es soll weiterhin die Herunterregulierung von Rad52 und Mus81 mittels siRNA etabliert werden, um in funktionellen Assays die Auswirkung der Rad52- und/oder Mus81-Depletion auf die DSB-Reparatur während der Mitose und den darauffolgenden Zellzyklus zu analysieren.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 038A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 762.720,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Multhoff	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

**Ad 1.** Primäre vitale Endothelzellen (ECs) wurden nach Bestrahlung aus Herz und Lunge mit einer Reinheit von 97 % isoliert.

**Ad 2.** Diese primären ECs wurden mit unterschiedlichen Markern, die gegen Adhäsionsmoleküle, Progenitormarker (Mucosalin), Proliferation (HCAM, Integrin  $\beta 3$ , Endoglin, VE-cadherin, VEGFR-2), und Entzündung (PECAM-1, ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) gerichtet sind durchflusszytometrisch untersucht. Die Untersuchungen zeigten signifikante Unterschiede in der Expressionsdichte der unterschiedlichen Marker auf Herz- und Lungenendothelzellen. Die Inflammationsmarker ICAM-1, ICAM-2, und VCAM-1 blieben auch 20 Wochen nach Bestrahlung auf Herz- und Lungen-Endothelzellen noch signifikant erhöht. Diese langfristige Erhöhung von Inflammationsmarkern auf Herz und Lungenendothelzellen konnten Langzeitstrahlenschäden erklären (Sievert et al. 2015).

**Ad 3.** Die migratorische Kapazität der primären Endothelzellen wurde bislang noch nicht untersucht, Die Methode zur Charakterisierung der Migration von Endothelzellen wurde im Labor an Modellzelllinien etabliert.

**Ad 4.** Die Interaktion von Leukozyten und Endothelzellen wurde bislang noch nicht untersucht. Ein System der Firma IBIDI ist im Labor installiert.

**Ad 5-7.** Eine vergleichende Proteom/Transkriptom Analyse von primären Endothelzellen aus dem Herzen und der Lunge wurden in Kooperation mit Frau Soile Tapio durchgeführt. Es konnten bereits erste Daten zur Proteom- und Transkriptions-Analyse, die von beiden beteiligten Partnern in Kooperation durchgeführt wurden publiziert werden (Azimzadeh et al. J Proteom Res 2013,2015).

**Ad 8.** Es sollen noch mathematische Modelle entwickelt werden, um biologische Mechanismen der strahlen-induzierter Pathogenese zu beschreiben und die Vorhersagen treffen können, über potentielle strahlenbiologische Schäden am Normalendothel.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

**Ad 1.** Zukünftig sollen neben niedrigen auch hohe Strahlendosen untersucht werden, um lethale Effekte zu erzielen. Die bestrahlten Mäuse sollen ebenfalls nach 15 und 20 Wochen getötet und die Endothelzellen aus Herz und Lunge wie beschrieben vital isoliert werden. Vergleichende Genexpressionsanalysen der primären Endothelzellen unter statischen und unter Flussbedingungen im IBIDI System, vor und nach Bestrahlung sowie weitere Zeitpunkte nach Bestrahlung sollen getestet werden.

**Ad 2.** Es ist geplant, zusätzliche Marker wie z. B. E-Selectin und den Scavenger Receptor CD36 (Fatty acid translocase) auf Endothelzellen in die Untersuchungen mit aufzunehmen.

**Ad 3.** Die migratorische Kapazität soll von primären Endothelzellen untersucht werden, die ein unterschiedliches Expressionsmuster der Adhäsions, Progenitor, Proliferation und Entzündungsmuster aufweisen.

**Ad 4.** Die Interaktion von Leukozyten und Endothelzellen soll mit Hilfe des IBIDI Systems untersucht werden.

**Ad 5-7.** Weitere vergleichende Proteom/Transkriptom Analysen von primären Endothelzellen sollen im Labor von Frau Soile Tapio durchgeführt werden.

**Ad 8.** Mathematische Modelle sollen entwickelt werden, um biologische Mechanismen der strahlen-induzierter Pathogenese zu beschreiben und die Vorhersagen treffen zu können über potentielle strahlenbiologische Schäden am Normalendothel.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Sievert W, Trott KR, Azimzadeh O, Tapio S, Zitzelsberger H, Multhoff G.: Late proliferating and inflammatory effects on murine microvascular heart and lung endothelial cells after irradiation. *Radiother Oncol*: S0167-8140(15)00383-7. doi: 10.1016/j.radonc.2015.07.029, 2015.

Schwarzer J, Multhoff G.: Commentary to: 'A comparison of two commercially available ELISA methods for the quantification of human plasma heat shock protein 70 during rest and exercise stress' by Lee et al. 2015. *Cell Stress Chaperones*. doi: 10.1007/s12192-015-0626-8, 2015.

Isernhagen A, Schilling D, Monecke S, Shah P, Elsner L, Walter L, Multhoff G, Dressel R.: The MICA-129Met/Val dimorphism affects plasma membrane expression and shedding of the NKG2D ligand MICA. *Immunogenetics*. doi: 10.1007/s00251-015-0884-8, 2015.

Pockley AG, Foulds GA, Oughton JA, Kerkvliet NI, Multhoff G.: Immune cell phenotyping using flow cytometry. *Curr Protoc Toxicol* 66:18.8.1-18.8.34. doi: 10.1002/0471140856.tx1808s66, 2015.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 038B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 367.263,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Tapio	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die gravierendste Einschränkung für dieses Projekt besteht in der begrenzten Menge an Endothelzellen, die aus Geweben gewonnen werden können. In einer Pilotstudie ist es uns gelungen, sowohl Proteine als auch RNA aus humanen Endothelzellen aus der Koronararterie (Human Coronary Artery Endothelial Cells (HCAEC)) zu gewinnen. Dabei verwendeten wir das „mirVana™ PARIS™ RNA and Native Protein Purification Kit“ (#AM1556; Life Technology). Um die Qualität und Kompatibilität der Proteinextraktionsverfahren zu prüfen, verglichen wir mit Hilfe von markierungsfreien Proteinquantifizierungsmethoden Proteinlysate von bestrahlten Zellen (14 Tage nach einer Bestrahlung mit 10 Gy) mit scheinbestrahlten Kontrollen. Vor der LC-MS/MS-Analyse wurde eine minimale Menge Proteinlysate (~10 µg) unter Verwendung eines modifizierten filter-gestützten Probenvorbereitung (FASP)-Protokolls reduziert, alkyliert und verdaut. Um die Proteine, wie zuvor beschrieben, zu identifizieren und zu quantifizieren, wurden die MS/MS-Dateien mit der Progenesis-QI-Software analysiert.

Die Proteomanalysen identifizierten mehr als 1800 Proteine in den Kontroll- und bestrahlten Gruppen, wobei 985 Proteine durch mindestens 2 einzigartige Peptide reproduzierbar und mit einer guten Proteom-Sequenzabdeckung identifiziert wurden. Nach einer Bestrahlung mit 10 Gy, waren 451 (55 %) der quantifizierten Proteine signifikant verändert (+1.3-fold; Anova- $p < 0.05$ ). Mit der IPA-Software (<http://www.INGENUITY.com>) wurde eine detaillierte Analyse der funktionellen Wechselwirkungen und biologischen Signalwege durchgeführt. Diese Ergebnisse stimmen mit unseren früheren Daten überein, die Hinweise dafür lieferten, dass das Proteom-Profil nach Bestrahlung eine signifikante Veränderung der Struktur und Funktion der Endothelzellen aufzeigen kann. Bei Analyse der funktionalen Zusammenhänge der differentiell exprimierten Proteine mit Gen-Ontologie-(GO)-Kategorien zeigte sich, dass diejenigen biologischen Hauptsignalwege, die durch die Bestrahlung verändert wurden, Zelltod, Zellproliferation und Zellbewegung waren. Außerdem wurden die Signalwege für die Phagozytose und den Membrantransport sowie das Cytoskelett und die Aktinfilamente signifikant beeinflusst. Die Analyse der bestrahlten Zellen sagte einerseits die Aktivierung der Rho-GTPasen, Integrine und Leukodiapedese-Signalwege und andererseits die Hemmung der RNA-Helikase-eIF2- und RhoGDI-Signalwege voraus.

Darüber hinaus haben wir die Qualität und die Menge der extrahierten RNA untersucht. Das Expressionsniveau der Haushaltsgene und miRNAs wurde unter Verwendung von echtzeit-PCR-basierter RNA-Detektion in Zelllysaten von Kontroll- und bestrahlten Proben gemessen. Dieses Versuchsvorhaben zeigte, dass mRNA und miRNA in guter Qualität und messbaren Größen mit dieser Methode isoliert werden kann.

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

Diese Pilotstudie zeigt, dass das Protein-Extraktions-Verfahren mit der nachfolgenden Proteomanalyse kompatibel ist. Die vorliegende Analyse ermöglicht uns die Optimierung des experimentellen Arbeitsablaufs und der Menge der benötigten Zellen für die Untersuchung der Proben vom Klinikum rechts der Isar, Arbeitsgruppe Multhoff (scheinbestrahlte und bestrahlte Endothelzellen aus verschiedenen Mausgeweben). Das Proteom der Endothelzellen wird durch LC-MS/MS mit markierungsfreier quantitativer Proteomik analysiert werden. Mit Hilfe von Bioinformatik-Software-Tools wie u. a. Ingenuity Pathway Analysis und STRING, werden die Proteomik-Daten weiter profiliert werden. Die Veränderungen der ausgewählten Proteine in den betroffenen Signalwegen wird mit Immunblotting und ELISA-Analysen validiert werden. Die extrahierte RNA wird durch eine gezielt quantitative Transkriptom-Analyse untersucht werden. Als nächstes werden dann ausgewählte miRNAs, die laut der Proteomik- und Transkriptom-Daten eine Schlüsselrolle in der Endothel-Antwort auf Bestrahlung spielen, unter Einsatz von echtzeit-PCR-basiertem miRNA-Nachweis (Taq-Man) gemessen werden.

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

Azimzadeh O, Sievert W, Sarioglu H, Merl-Pham J, Yentrapalli R, et al. (2015): Integrative proteomics and targeted transcriptomics analyses in cardiac endothelial cells unravel mechanisms of long-term radiation-induced vascular dysfunction. *J Proteome Res* 14: 1203-1219.

Yentrapalli R, Azimzadeh O, Barjaktarovic Z, Sarioglu H, Wojcik A, et al. (2013): Quantitative proteomic analysis reveals induction of premature senescence in human umbilical vein endothelial cells exposed to chronic low-dose rate gamma radiation. *Proteomics* 13: 1096-1107.

Yentrapalli R, Azimzadeh O, Sriharshan A, Malinowsky K, Merl J, et al. (2013): The PI3K/Akt/mTOR Pathway Is Implicated in the Premature Senescence of Primary Human Endothelial Cells Exposed to Chronic Radiation. *PLoS One* 8: e70024.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.095.956,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Blettner	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die am DKKR vorliegenden Kohortendaten wurden deskriptiv ausgewertet und ihre Verwendungsmöglichkeiten geprüft. Die genauen Kriterien für die Fälle und die Matching-Variablen sind definiert und das Ziehungsprogramm entwickelt. Zum Januar 2016 sind im DKKR ca. 1300 Folgeneoplasiefälle registriert. Der Ethikantrag ist in Vorbereitung, die Datenschutzfragen konnten geklärt werden. Ein Update der Folgeneoplasie-meldungen durch andere laufende Studien wurde vorgenommen. AP2: Die Einrichtung der Studienzentren in der Klinik und Poliklinik für Radioonkologie und Strahlenmedizin, im Deutschen Kinderkrebsregister (DKKR) sowie im Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Mainz wurde angefangen. Das Gerät zur Bestrahlung der Zelllinien wurde installiert und kalibriert. Des Weiteren wurde vom DKKR auf Grundlage des KIKME Studienprotokolls ein Matching-Programm zur Rekrutierung der Fälle erstellt.
- AP3: Die zum AP korrespondierende Stelle eines Statistikers/Bioinformatikers konnte erst zum 01.01.2016 besetzt werden. Entsprechend konnten über inhaltlichen Austausch mit den Projektpartnern hinaus noch keine Arbeiten durchgeführt werden.

- AP4: Es wurden einige Vorversuche durchgeführt: Aus einer Testzelllinie wurde nach Bestrahlung (0, 2, 5, 8) Gy und der Abernte (nach 15 min, 2 h und 24 h), die RNA und DNA isoliert. Nach einigen Kalibrierung-Vorversuchen wurden die Zellen für das FISH-Experiment mit (0, 2, 5, 8) Gy bestrahlt, fixiert und hybridisiert. Des Weiteren wurde in Zusammenarbeit mit AP7 eine Liste mit 650 DNA Reparaturgenen und 64 Genen, die für die Stabilität der Telomere verantwortlich sind, erstellt und an AP3 übermittelt.
- AP7a: Erste Fluoreszenz In-situ-Hybridisierungen zur Quantifizierung von Telomerlängen in humanen Fibroblasten mittels Durchflusszytometrie (Flow-FISH) wurden mit einer Referenzzelllinie normaler humaner Fibroblasten sowie humanen Leukozyten erfolgreich durchgeführt. Für zytogenetische Analysen humaner Fibroblasten wurden das G0/1-Assay sowie das G2-Assay etabliert und die entsprechenden Testdosen auf 3 Gy (2 Aberrationen/ Zelle) und 0.5 Gy (1 Aberration/Zelle) festgelegt.
- AP7b: Ein Ethikantrag wurde bei der Ethikkommission Rheinland-Pfalz eingereicht und positiv beschieden. Es wurde eine Voranfrage zur Notwendigkeit einer Genehmigung nach § 23 und 24 der Strahlenschutzverordnung zur Anwendung ionisierender Strahlen an Menschen in der medizinischen Forschung beim Expertengremium der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie e.V. (DEGRO) gestellt, dessen Bescheid noch aussteht.
- AP Koordination: Es wurden 2 Gesamtverbundtreffen sowie 3 Untergruppentreffen (nur AP1, AP2 und AP3) organisiert. Der Abschluss des Kooperationsvertrages wurde vorgenommen sowie die Erstellung einer Publikationsvereinbarung initiiert.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Der statistische Auswertepan wird fertiggestellt und die Auswertungen für den ersten Projektteil (Kohortenstudie) vorgenommen. Für die Projektteile 2 (Fall-Kontroll-Studie) und 3 (Dosimetrie) wird der Ethik-Antrag eingereicht sowie die statistischen Methoden gemeinsam mit AP3 entwickelt. AP2: Für den weiteren Verlauf ist die zeitnahe Besetzung der MTA Stelle und die Einrichtung der beantragten Geräte geplant. Des Weiteren soll mit der Rekrutierung der Kontrollen und Fälle begonnen sowie die Vorversuche umgesetzt werden.
- AP3: Verschiedene multivariable statistische und bioinformatische Techniken sollen in Bezug auf ihre Eignung für das Projekt evaluiert werden. Kandidaten dafür sind Boosting-Techniken und Ansätze des "Deep Learning". Die Evaluation erfolgt anhand der 1000-Genomes-Datensätzen, mit Fokus auf eine mit den Projektpartnern abgestimmte Genliste. Parallel werden erste Daten aus Vorversuchen ausgewertet werden.
- AP4: Um die DNA Ausbeute zu erhöhen, wird der Testlinien-Versuch inklusive DNA, RNA Extraktion mit einem anderem DNA Extraktionskit wiederholt. Die 3D FISH-Experimente sowie die Hybridisierung der übrigen Objektträger der 3D-FISH Versuchsreihe werden ausgewertet. Anschließend werden die Ergebnisse für die Untersuchung der GenKIK/ KIKME Fibroblasten angewendet.
- AP7a: Für die Messung der Telomerverkürzungsrates in humanen Fibroblasten wird zur Festlegung von Strahlendosen, die 24 Stunden nach der Exposition zu keinem Zellzyklusarrest führen und damit dem Proliferationsverhalten von nicht bestrahlten Kontrollen entsprechen, Zellzyklusanalysen mittels EdU-Markierung in Bestrahlungsexperimenten mit einer Referenzzelllinie durchgeführt. Für das G2-Assay wird zusätzlich die frühzeitige Chromosomenkondensation und damit die Möglichkeit eines früheren Untersuchungszeitpunktes und Exposition mit höheren Strahlendosen untersucht. Hierfür wurden erste Reparaturkinetiken (0 – 4 Stunden) und Dosiswirkungsbeziehungen (0 – 2 Gy) aufgenommen.
- AP7b: Es werden Dosiswirkungsbeziehungen der Induktion von gamma-H2AX Foci in humanen Leukozyten nach der ex vivo Bestrahlung von Blutproben gesunder Probanden zwischen den zu vergleichenden Bestrahlungsgeräten (Orthovoltgerät versus Linearbeschleuniger) verglichen, um einen Einfluss der Strahlenqualität auf den biologischen Endpunkt zu untersuchen. Parallel dazu wird nach dem Erhalt des positiven Votums der DEGRO mit der Patientenrekrutierung begonnen.
- AP Koordination: Für das Jahr 2016 sind weitere Gesamtverbundtreffen sowie regelmäßige Treffen der KIKME-Organisation geplant. Weiter wird ein einwöchiger Workshop Strahlenforschung durchgeführt.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 518.880,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hankeln	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Forschungsverbund ISIBELA verfolgt das übergeordnete Ziel, den Zusammenhang zwischen einer Strahlenexposition und der Entstehung von Folgeerkrankungen 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**

In der betreffenden Förderperiode wurden im Rahmen von Arbeitstreffen, Telefonkonferenzen und bilateralen Kontakten die Abläufe der Probenverarbeitung für die Arbeitspakete 2 (RNA-Sequenzierung) und 3 (Genomsequenzierung) diskutiert und definiert. Demnach erhält unsere Core Unit Nucleic Acids Analysis (CUNA) das entsprechende Probenmaterial für die Herstellung von RNA- und DNA-Sequenzierbibliotheken zentral von der AG Prof. Schmidtberger, bei der die Ausgangsproben auch zentral gelagert werden. Als technische Vorarbeit haben wir RNA- und DNA-Extraktionskits von zwei namhaften Herstellern vergleichend getestet und die erhaltenen Nucleinsäuren durch Qubit- und Bioanalyzer-Analytik auf Qualität und Ausbeute bewertet. In Absprache mit parallel durchgeführten Experimenten der anderen Projektpartner haben wir uns auf die Verwendung von Kits eines der beiden Hersteller verständigt. Diese Vereinheitlichung ist für die Reproduzierbarkeit der RNASeq-Genexpressionsmessungen von Bedeutung. Es wurde zudem vereinbart, idealerweise für die Nucleinsäure-Extraktion auf einheitliche Chargen des Herstellers zurückzugreifen. Um Batch-Effekte zu vermeiden, sollen direkt zu vergleichende Proben (z. B. Zelllinien-RNA eines Probanden mit und ohne Bestrahlung) bei der Probengewinnung und der NGS-Sequenzierung immer parallel prozessiert werden.

Im Rahmen der geplanten Vorversuche haben wir uns mit den Projektpartnern darauf geeinigt, dass Zelllinien von drei verschiedenen Kontrollprobanden mit jeweils neun Proben für die RNA-Seq generiert werden sollen. Insgesamt erwarten wir in Kürze zunächst 27 Zelllinien-Proben (je dreimal 0 mGy unbestrahlt, 50 mGy Einmalstrahlendosis, 2000 mGy Einmalstrahlendosis). Für alle drei Bestrahlungsintensitäten soll je ein Experiment nach 15 Minuten, nach 2 Stunden und nach 24 Stunden beendet und die RNA extrahiert werden.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Im ersten Quartal 2016 erwarten wir die Proben für die RNA-Seq der Vorversuche, bei denen getestet werden soll, welche Strahlendosis und welche Behandlungszeit die maximalen Effekte in der Änderung der Genexpression erzeugen.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr.30, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 042C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 438.337,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Marron	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Strahlenexposition und Krebsentstehung im Kindesalter sowie der Entwicklung von 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 wurden zunächst das Studienzentrum am Standort Bremen eingerichtet, Personal eingestellt und weitere Studienzentren beim Aufbau unterstützt. Hierzu zählten unter anderem die Abstimmung der ersten Material- und Gerätebestellungen und die Personaleinstellungen in den verschiedenen Zentren. Im Hauptfokus der ersten vier Monate standen erstens die Planung der Vorversuche zur Bestrahlung von Fibroblastenzelllinien, zweitens wurden die Rekrutierungsunterlagen mit den Ergebnissen der KIKME Pilotstudie (2010-2014 BMBF ISIMEP Verbund) überarbeitet und drittens mit der Umprogrammierung der verschiedenen Studiendatenbanken an die Gegebenheiten der Hauptstudie angefangen. Des Weiteren wurde eine Wege-Unfall-Aufenthalt-Versicherung für die Probanden abgeschlossen.

Bei der Planung der Vorversuche wurden statistische und biologische Hintergründe zur Anzahl der Zelllinienversuche mit verschiedenen Bestrahlungsdosen und Messzeitpunkten evaluiert. Mit dem Ergebnis, dass bei den Vorversuchen Zelllinien von drei verschiedenen Kontrollprobanden mit jeweils neun Proben von gezählten und G0 synchronisierten Zelllinien pro Proband hochgezogen werden sollen, so dass insgesamt 27 Proben mit Zelllinien erhalten werden. Für jeden Probanden sollen 3 Proben nicht bestrahlt werden (0 mGy), 3 Proben eine Einmalstrahlendosis von 50 mGy und 3 Proben eine Einmalstrahlendosis von 2000 mGy erhalten. Bei allen 3 Bestrahlungsintensitäten (0 mGy, 50 mGy, 2000 mGy) soll je ein Experiment nach 15 Minuten, nach 2 Stunden und nach 24 Stunden beendet und die RNA extrahiert werden. Die 27 verschiedenen RNA Proben sollen dann nach quantitativen und qualitativen Kontrollen zur RNA Sequenzierung und Auswertung weitergeleitet werden.

Aus der Pilotierung der KIKME Studie ergab sich, dass etwa die Hälfte aller ehemaligen Kinderkrebspatienten eine Knochenmarkstransplantation erhalten hat und somit deren Blutproben nur die genetische Prädisposition der Spender widerspiegeln würden. Um die Identifikation genetischer Mosaik zu gewährleisten, wurde für die Hauptstudie die Entnahme von Speichelproben implementiert. Hierfür wurden Oragene DNA-Kits angeschafft und eine detaillierte und standardisierte Anleitung zur sicheren Entnahme von Speichelproben entwickelt.

Ein weiterer Arbeitsschritt war, alle im Laufe der KIKME Pilotstudie entnommenen Proben in der Biobank mehrfach zu pseudonymisieren, damit erste Teilproben mit unterschiedlichen Identifikationsnummern für die verschiedenen Versuche innerhalb des ISIBELA Verbundes an die verschiedenen Kooperationspartner verschickt werden können.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Anfang 2016 ist geplant die Kliniken, in denen Krebspatienten behandelt werden, über das Studienvorhaben zu informieren, um Sie auf eventuelle Rückfragen der ehemaligen Krebspatienten vorzubereiten. Des Weiteren muss für die überarbeiteten Studienunterlagen, insbesondere die neu hinzugekommene Speichelprobe, ein Amendement zum Ethikantrag gestellt werden. Im Laufe der nächsten sechs Monate sollen dann die ersten Rekrutierungsmappen an die Studienzentren versendet werden, um sowohl Fälle mit und ohne Folgoneoplasie als auch Kontrollen zu rekrutieren. Die geplanten Vorversuche bei Hoch- und Niedrigdosis sollen ebenfalls abgeschlossen und in Zusammenarbeit mit den Verbundpartnern sequenziert und ausgewertet werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Marron M, Blettner M, Binder H, Hoffmann I, Kaatsch P, Disque-Kaiser U, Zahnreich S, Schmidberger H, Proschek D, Deckbar D, Naumann S, Weimer RN, Löbrich M, Galetzka D, Spix C.: Cancer in childhood and molecular epidemiology - The CICME nested case-control study. 10. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie (DGEpi), 30. September-2. Oktober 2015, Potsdam

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.09.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 805.884,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens liegt in der Erforschung des Zusammenhangs zwischen einer genetischen Prädisposition und der Entstehung von Krebs im Kindesalter. Die Rekrutierung der Probanden, Etablierung der Zelllinien, molekulare/zelluläre Untersuchungen werden von verschiedenen Arbeitsgruppen durchgeführt, die eng verzahnt arbeiten. Schwerpunkt der von der Arbeitsgruppe Prof. Löbrich durchgeführten Arbeitspakete 5 und 6 ist es, zelluläre Untersuchungen mit molekularen Analysen zu komplementieren, um einen tieferen Einblick in die einer Tumorentstehung zugrunde liegenden molekulargenetischen Ursachen zu erlangen. Dabei wird untersucht, inwieweit sich Checkpoint- und Reparaturkapazität im Hinblick auf für die Krebsentstehung vorbelasteter 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

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

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

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 halbautomatischem 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: Mit Ablauf der Projektlaufzeit des ISIMEP-Projekts wurden von 20 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit Zweitumor nach Ersttumor im Kindesalter und von 20 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit Ersttumor im Kindesalter ohne Zweitumor (GenKIK-Zelllinien) die G2/M-Checkpoint-Sensitivität und DSB-Reparaturkapazität nach hohen und nach niedrigen Dosen Röntgenstrahlung gemessen. Darüber hinaus wurden gegen Ende der ersten Förderperiode 20 gesunde, gematchte Probanden rekrutiert, von denen ebenfalls Zelllinien etabliert wurden. Diese Kontrollzelllinien sollen nun analog zu den GenKIK-Zelllinien ebenfalls auf ihre Reparatur-Kapazität und Checkpoint-Sensitivität untersucht und die Ergebnisse mit den bisherigen Daten aus der GenKIK-Studie verglichen werden. Von diesen Zelllinien wurde im aktuellen Berichtszeitraum ein vollständiger Satz nach Darmstadt transferiert und kryokonserviert. Aus Vorarbeiten der AG Galetzka liegen von den GenKIK-Zelllinien 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. Im Rahmen dieses Arbeitspaketes sollen diese molekularbiologischen Analysen durch genomische Untersuchungen komplementiert werden. Dazu wird das gesamte Exom aller GenKIK-Zelllinien sequenziert und die Sequenzen mit denen der als Kontrollzelllinien rekrutierten gesunden Probanden verglichen werden. Da die Exom-Sequenzierung von insgesamt 60 Zelllinien einen enormen Arbeits- und Materialaufwand darstellt, wird vorab eine einzelne Pilotprobe zur Sequenzierung aufbereitet und verschickt. Damit ist es möglich, die Logistik im kleineren Maßstab zu überprüfen und den gesamten Arbeitsablauf effizient zu strukturieren. Die entsprechende Zelllinie wird aktuell aufbereitet und wird, sobald eine ausreichende Menge an Zellmaterial zur Verfügung steht, zur Sequenzierung verschickt.
- AP6: Im Rahmen dieses Projekts soll untersucht werden, inwieweit sich die Checkpoint-Sensitivität und die DSB-Reparaturkapazität von genetisch im Hinblick auf die Krebsentstehung vorbelasteten Personen von denen gesunder Personen unterscheidet. Im Rahmen der ersten Förderperiode (Projekt ISIMEP) wurden mikroskopische Methoden etabliert, welche die hochstandardisierte, teilautomatisierte Messung der G2/M-Checkpoint-Effizienz und der DSB-Reparaturkapazität einer hohen Anzahl an Zelllinien ermöglichen. Anhand dieser Methoden wurden Zelllinien der GenKIK-Studie auf die entsprechenden Endpunkte untersucht. Im Rahmen von AP6 soll nun die Fallzahl der Probanden anhand der Zelllinien aus der KIK-ME-Studie Phase II deutlich erhöht werden. Um die gesteigerte Anzahl von Zelllinien effektiv und einheitlich auf ihr Checkpoint- und Reparaturverhalten zu untersuchen, wurde im aktuellen Berichtszeitraum die Standardisierung der teilautomatisierten Messung der DSB-Reparaturkapazität erheblich verbessert, indem, wie für die Checkpointanalysen, entsprechende 24-well-Glasplatten statt einzelner Deckgläser verwendet wurden. Hierdurch konnten Kultivierungs- und Färbeprozesse einheitlicher und mit weniger Zeitaufwand durchgeführt werden. Parallel dazu wird derzeit eine Software getestet, welche die automatische Zählung der einzelnen DSBs pro Zellkern ermöglichen soll.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP5: Nach erfolgter Sequenzierung der Pilotprobe werden die entsprechenden Sequenzdaten in Zusammenarbeit mit den Kooperationspartnern Prof. Binder (AP3) und Dr. Galetzka (AP4) aus Mainz analysiert und ausgewertet. Des Weiteren sollen die nach Darmstadt transferierten und kryokonservierten Kontrollzelllinien vervielfältigt werden. Da zwischenzeitlich die Methode der Kultivierung, Färbung und mikroskopischen Messung seit dem Ende des Vorgängerprojektes ISIMEP weiter verbessert wurden, ist es geplant, nicht nur die im Rahmen von KIKME-Studie Phase I rekrutierten Kontrollzelllinien zu untersuchen, sondern parallel dazu ein weiteres Mal die Zelllinien der beiden Patientengruppen (GenKIK-Zelllinien).
- AP6: Die im Rahmen der KIKME-Studie Phase II rekrutierten Zelllinien werden nach erfolgter Pseudonymisierung nach Darmstadt verbracht, dort vervielfältigt, kryokonserviert und ebenfalls auf ihre Reparaturkapazität und Checkpoint-Sensitivität untersucht. Die Ergebnisse sollen mit den bisherigen Daten aus der GenKIK-Studie verglichen werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str. , 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 043A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 569.567,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Kriehuber	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zentrales Ziel des Vorhabens ist die Charakterisierung der zellzyklusabhängigen zellulären DNA-Schadensantwort nach Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB) unterschiedlicher Komplexität in Abhängigkeit der Lokalisation des Schadens im Chromatin. Hierbei soll im Besonderen aufgeklärt werden, welche Faktoren die Auswahl der involvierten Reparaturprozesse bestimmen und inwieweit die unterschiedliche Komplexität der DNA-Läsionen die Güte (Fehlerhaftigkeit) der Reparatur beeinflussen und wie dies sich in der zyto- und gentoxischen Schädigung der Zellen widerspiegelt. Hierzu sollen über geeignete Auger Elektronen Emitter (AEE) unterschiedlicher Halbwertszeiten, Energien und durchschnittlich emittierten Elektronen pro Zerfall und über diverse  $\beta$ -Emitter DNA-Läsionen von unterschiedlicher Komplexität in die DNA eingeführt werden. Aufgrund der kurzen Reichweite von Auger Elektronen soll durch gezielte Positionierung der AEE über AEE-markiertem-UdR und AEE-markierten DNA Triplex-bildenden Oligonukleotiden exklusiv Bereiche des Eu- bzw. Heterochromatins geschädigt werden und die Qualität der Schadensprozessierung in Relation zur Lokalisation und Komplexität des induzierten DSB zellzyklusabhängig untersucht werden. Über gezielte Schädigung von eingeführten DNA-Konstrukten soll des Weiteren die molekulare Signatur von Mutationsereignissen charakterisiert werden. Die genexpressionsbasierte Analyse von Signalwegen soll Hinweise darauf geben, welche zellulären Prozesse die Auswahl der involvierten Reparaturmechanismen steuern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

- AP1: Wie unterscheidet sich die Reparatur von komplexen DSB die in heterochromatischen Bereichen lokalisiert sind im Vergleich zu euchromatisch lokalisierten DSB? Dazu soll in synchronisierten Jurkat, SCL-II und NIH 3T3 Zellen ein Puls-Labeling mit  $^{125}\text{I}$ -UdR/  $^{123}\text{I}$ -UdR oder  $^3\text{H}$ -UdR in früher bzw. später S-Phase durchgeführt werden, so dass exklusiv entweder eu- bzw. heterochromatische Bereiche der DNA gelabelt werden. Nachfolgend soll der Einfluss der Schäden in hetero- und 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  $^{125}\text{I}$  und  $^{131}\text{I}$  markierten TFOs sequenzspezifische Schäden, unterschiedlicher Komplexität erzeugt werden können. Nach Reparatur der induzierten DNA-Läsionen soll das Konstrukt mittels einer Pull-Down Reaktion aus der genomischen DNA der Zellen aufgereinigt und hinsichtlich Mutationsfrequenz, -typ und -lokation untersucht werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Für die spezifische UDR-Markierung von früh- und spät-replizierender DNA wurden Synchronisationsexperimente durchgeführt. Mittels zentrifugaler Elutriation konnten effektiv G1- Phase Zellen und, mit minderer Güte, S- und G2/M-Phase Zellen aus Suspensionskulturen isoliert werden. Die chemikalienbasierte Synchronisation von Jurkat- und NIH/3T3 Zellen konnte mittels Aphidicholin und Lovastatin ebenfalls mit guter Effizienz und geringer Zytotoxizität etabliert werden. Die Visualisierung und Diskriminierung von Eu- und Heterochromatin wurden in NIH/3T3-, SCL-II- und Jurkat-Zellen über DNA-Farbstoffe und geeignete Hetero- bzw. Euchromatinmarker erreicht. Dabei zeigte sich, dass in NIH/3T3-Zellen mittels DAPI- bzw. Antikörper-Färbung eine gute Diskriminierung zwischen Hetero- und Euchromatin möglich ist. Weiterhin wurden Doppelstrang-Reparaturkinetiken nach AEE-Inkorporation und anschließender Kryokonservierung mit Hilfe zeitabhängiger  $\gamma$ -H2AX-Foci Analysen durchgeführt. Die durchflusszytometrische Analyse zeigte, dass die  $\gamma$ -H2AX Signalintensität nach Exposition mit  $^{125}\text{I}$ -UDR mit einer ähnlichen Kinetik wie nach Hoch-LET-Exposition ansteigt.
- AP2: Das eingesetzte Genreporterkonstrukt konnte mittels Transformation in *E. coli* vervielfältigt und in ausreichender Menge gewonnen werden. Die Etablierung stabiler SCL-II Zell-Klone wurde mittels Elektroporation erzielt und bisher insgesamt 13 Klone generiert. Die Menge der integrierten Konstrukt kopien bewegte sich dabei zwischen  $\sim 2$  bis mehrere hundert Kopien je Genom. Die zur TFO-Bindesequenz komplementären TFO wurden mittels EMSA auf ihre Target-bindenden Eigenschaften hin untersucht und die spezifische Bindung bestätigt. Die Pull-Down Reaktion wurde weiterentwickelt; dabei konnte das Genkonstrukt aus genomischer DNA erfolgreich isoliert und mittels PCR amplifiziert werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Methode der zentrifugalen Elutriation soll optimiert werden. Nach Puls-Labeling mit EdU in der späten bzw. frühen S-Phase soll in Zellen nachfolgend überprüft werden, ob EdU mit Hetero- bzw. Euchromatin kolokalisiert. Es sollen Zellzyklusanalysen nach Puls-Labeling mit  $^{125}\text{I}$ -UDR in der frühen und späten S-Phase durchgeführt werden, um die geeigneten einzusetzenden Aktivitäten zu ermitteln.
- AP2: Das verwendete Pull-Down System soll zur Erhöhung der Isolationseffizienz der DNA Konstrukte weiter optimiert werden. Die Markierungseffizienz der TFO mit  $^{125}\text{I}$  und  $^{131}\text{I}$  soll gesteigert und die spezifische Triplex-Bildung in genomischer DNA verifiziert werden. Erste TFO-Transfektionsexperimente mit den erstellten SCL-II Zell-Klonen sollen durchgeführt und die Zellen bei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  zur Zerfallsakkumulation für weiterführende Experimente gelagert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 043B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.167.912,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Iliakis	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

2.1 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.

2.2 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.

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

3.1 UDE-1: Die bereits vorhandenen CHO-Zelllinien mit Integrationen des Konstrukts zur Induktion von DSB-Clustern wurden um weitere Klone ergänzt. Das Überleben nach Induktion von DSB in diesen Zellen wurde untersucht. Dabei zeigt sich, dass das Zellüberleben mit zunehmender Komplexität der DSB-Cluster abnahm. So zeigten Zelllinien, die Konstrukte mit nur einfachen DSB trugen, hohe Überlebensraten, während in Zellen mit Integrationen eines Konstrukts mit zwei gekoppelten DSB das Überleben stark reduziert war. Die bei weitem stärksten toxischen Effekte traten in Zelllinien auf, in denen Expression von I-SceI zur Ausbildung eines Clusters von 4 DSB führte. Die Entstehung von Chromosomenaberrationen nach DSB Induktion wurde untersucht und ergab in Übereinstimmung mit den Resultaten der Überlebensversuche, dass die Wahrscheinlichkeit für die Entstehung von Chromosomenaberrationen mit der Komplexität der DSB Cluster ansteigt. Interessanterweise konnte beobachtet werden, dass ein aus zwei DSB bestehendes Cluster toxischer war, wenn die Distanz zwischen den Brüchen in etwa der Länge eines Nukleosoms entsprach, während ein Konstrukt mit zwei enger beieinanderliegenden DSB geringere toxische Effekte zeigte.

3.2 UDE-2: Die Funktionalität der Konstrukte zur Expression von induzier- sowie degradierbarer I-SceI wurde zunächst nach transienter Transfektion getestet. Die benötigten Konzentrationen des zur Induktion benötigten Glucocorticoids sowie des protektiven, der durch die DD vermittelten Degradation entgegenwirkenden Reagenz Shield wurden ermittelt. Erste CHO Zelllinien, die sowohl Integrationen des Systems zur Induktion von DSB-Clustern, als auch stabil integrierte Expressionskonstrukte der induzier- und regulierbaren I-SceI enthalten, wurden erzeugt. In ersten funktionellen Tests konnte bestätigt werden, dass die Zugabe von Glucocorticoid zur Induktion von DSB führt. Weiterhin konnte mit Hilfe von Lebend-Zell-Mikroskopie gezeigt werden, dass das Auftreten von DSB bei dem induzierbaren I-SceI System deutlich früher zu beobachten ist, als nach transienter Transfektion. Zudem konnte beobachtet werden, dass nach Abbruch der Induktion, DSB innerhalb weniger Stunden verschwinden, während nach transienter Transfektion eines I-SceI Plasmids, DSB Induktion für wenigstens 24h zu beobachten ist. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass die angestrebte Verbesserung der zeitlichen Kontrolle der DSB Induktion durch das verwendete genetische System gewährleistet werden kann.

3.3 UDE-3: Bisher wurden sieben nicht-kleinzellige Lungenkarzinomlinien (NSCLC) mit unterschiedlichem EGFR (Epithelial Growth Faktor Receptor) Status bezüglich ihrer Cisplatinsensitivität nach unterschiedlichen Einwirkzeiten (1 h, 24 h und 48 h) im WST-1-Assay (WST, water soluble tetrazolium) die Zellviabilität charakterisiert, und die effektive Dosis (ED), welche zur 50 %-igen Reduktion der zellulären Vitalität (ED50) führt, bestimmt. Die Zellen zeigen deutliche Unterschiede in ihrer Cisplatinsensitivität im WST-1-Assay mit aufsteigender Cisplatinresistenz nach einer 48 stündigen Cisplatininkubation (A431<H820< H460< H838< HCC827< H1975< H1299).

Zusätzlich wurde der Einfluss von Cisplatin auf die Aktivierung der Reparatursignalwege (NHEJ und HR) nach Bestrahlung mittels fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen die Bildung von  $\gamma$ H2AX und Rad51 Reparaturfoci in zwei NSCLC Zelllinien (H460 und A549) untersucht. Die bisherigen Daten zeigen, dass eine einstündige Vorbehandlung der beider Tumorlinien mit 20  $\mu$ g/ml Cisplatin vor der Bestrahlung zu einer deutlichen Reduktion der initialen Bildung von strahleninduzierten  $\gamma$ H2AX und Rad51 Reparaturfoci führt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

4.1 UDE-1: Die begonnenen Experimente zum Zellüberleben und Chromosomenaberrationen werden fortgeführt, um den Zusammenhang mit der Schadens-Komplexität zu untersuchen.

4.2 UDE-2: Erste Experimente zum Überleben und zur Bildung von Chromosomenaberrationen in Zelllinien mit regulierbarer I-SceI Expression sollen begonnen werden.

4.3 UDE-3: Die Cisplatinsensitivität mit und ohne kombinierte Bestrahlung der Zelllinien wird im weiteren Vor gehen mittels Kolonieassay und Plaque-Monolayer-Assay untersucht. Die Untersuchungen zum Einfluss von Cisplatin auf die Reparatur von DSB mittels Foci Assays werden weiter intensiviert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 043C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 30.06.2018	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2015	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 237.438,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wolkenhauer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Es wurden Microarray Datensätze aus öffentlichen Datenbanken, insbesondere „Gene Expression Omnibus“ (GEO) herausgesucht, die sich auf Studien mit transkriptionellen Antworten zu DNA Schädigungen beschäftigen. Darüber hinaus wurden die Datensätze mit der erweiterten Suche nach zusätzlichen experimentellen und in silico Daten zu DNA Schäden vervollständigt. Im speziellen beinhaltete dies die Erfassung von Daten zu nicht kodierenden RNAs, Proteinen, dem Metabolom und dem Epigenom aus verschiedenen Datenbanken.
- AP2: Basierend auf den ausgewählten, öffentlichen Microarray Datensätzen (s. AP1) wurde ein halbautomatischer Arbeitsablauf für die Datenvorverarbeitung, der Sicherstellung der Qualität der Daten und die Analyse der Genexpressionen erstellt und implementiert. Die Genexpression wurde mit Hilfe von statistischen Tests und funktionalen Annotationsanalysen validiert. Visualisierungsmöglichkeiten der erhaltenen Daten wurden erprobt.
- AP5: Die Bewertung der verschiedenen mathematischen Algorithmen und bioinformatischen Tools zur Analyse von genomischen Veränderungen wurde anhand einer umfassenden Literaturrecherche gelöst. Die benötigten Tools, die zurzeit die vielversprechendsten Ergebnisse liefern, wurden in unser System integriert und auf Funktionalität überprüft. Es wurde ein Workflow erarbeitet, der sowohl „Paired-End-Reads“ als auch „Mate-Paired-End-Reads“ als Eingabe benutzen kann, um potentielle genomische Veränderungen zwischen 0,03 bp – 50.000 bp identifizieren zu können. Damit die Wiederverwendung des zu erarbeitenden Workflows sichergestellt werden kann, wurden Strategien zur Implementierung in verschiedenen Workflow Management Systemen erarbeitet. Weiterhin wurden Möglichkeiten für die Visualisierung von globalen und lokalen genomischen Veränderungen getestet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Anhand der ausgewählten Tools für die Identifizierung von strukturellen DNA Variationen wird mit Hilfe von Testdaten, die durch die Projektpartner bereit gestellt werden, der generierte Workflow evaluiert und etabliert. Die Integration der Tools in ein Workflow Management System wird begonnen, damit die Wiederverwendung des Workflows durch andere Arbeitsgruppen in einem hohen Maß verbessert wird.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Für die weiterführende Verstärkung der Interaktionen innerhalb des Konsortiums, wurde im Januar ein erstes Projekttreffen aller beteiligten Partner im Universitätsklinikum Essen abgehalten.

Wolfien, Rimbach, Schmitz, Jung, Krebs, Steinhoff, David, Wolkenhauer: TRAPLINE: a standardized and automated pipeline for RNA sequencing data analysis, evaluation and annotation, doi: 10.1186/s12859-015-0873-9, BMC Bioinformatics 2016



### 3 Verzeichnis der Forschungsstellen

	<b>AREVA GmbH, Paul-Gossen-Str. 100, 91052 Erlangen</b>	
02 NUK 041C	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt C: Übertragung auf industrielle Anwendungen von neuen Modellen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Naturumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	📖 68
	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter</b>	
02 NUK 024A	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 1	📖 136
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	📖 206
	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin</b>	
02 NUK 024E	Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 5	📖 144
	<b>Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade</b>	
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	📖 212
	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich</b>	
02 NUK 019C	Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt C	📖 78
02 NUK 020E	Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt E	📖 94
02 NUK 021A	Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt A	📖 96
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	📖 116
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A	📖 236
	<b>Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung angewandter Forschung e. V., Hansastr. 27 c, 80686 München</b>	
02 NUK 022B	Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt B: Extinktionsspektrometer zur Feuchtemessung in gemischtphasigen Systemen für die nukleare Sicherheitsforschung	📖 22

<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen</b>
--

- 02 NUK 017G Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt G  134
- 02 NUK 020C Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt C  90
- 02 NUK 034D Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt D  198

<b>Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena</b>
---

- 02 NUK 030C Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C  168

<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt</b>
--

- 02 NUK 017A Verbundprojekt GREWIS: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender Strahlung: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Radon in Zell- und Tier-Modellen und in Radon-Patienten; Teilprojekt A  122
- 02 NUK 025A Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 1  146
- 02 NUK 031D Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt D  188
- 02 NUK 034C Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt C  196
- 02 NUK 037A Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A  218

<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden</b>
---

- 02 NUK 019D Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt D  80
- 02 NUK 021B Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt B  98
- 02 NUK 023B Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt B: Untersuchung von Zweiphasenströmungen in einer Kreiselpumpe und in Armaturen mittels tomographischer Bildgebungsverfahren  30

- 02 NUK 028B** Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt B: Druckwasserreaktor-Störfallanalysen unter Verwendung des Severe-Accident-Code ATHLET-CD  48
- 02 NUK 030F** Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt F  174
- 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  40
- 02 NUK 021CX** Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt CX  100
- 02 NUK 041B** Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  66

**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  138
- 02 NUK 026A** Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt A  152
- 02 NUK 030A** Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt C  164
- 02 NUK 031C** Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A  186
- 02 NUK 038B** Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B  226
- 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  112

**Hochschule Albstadt-Sigmaringen, Anton-Günther-Str. 51, 72488 Sigmaringen**

- 02 NUK 025BX** Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 2  148

- |   |  |
|---|--|
| <b>Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg</b>                                 |  |
| 02 NUK 025C   | Verbundprojekt Pränatale Entwicklung: In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von dicht und dünn ionisierender Strahlung auf die pränatale Entwicklung; Teilprojekt 3  150  |
| <b>Hochschule Ravensburg-Weingarten, Doggenriedstr., 88250 Weingarten</b>   |  |
| 02 NUK 030I   | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt I  180   |
| <b>Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau</b>   |  |
| 02 NUK 018A   | Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt A: Einsatz von Soft Computing-Methoden für die Kernzustandsdiagnose  16                                  |
| 02 NUK 027D   | Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten  42 |
| <b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz</b>   |  |
| 02 NUK 042B   | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B  230  |
| <b>IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf</b> |  |
| 02NUK 036AX   | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  210   |
| 02 NUK 036C   | Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  214   |
| <b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Grüneburgplatz 1, 60323 Frankfurt am Main</b>  |  |
| 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  132                             |
| 02 NUK 019E   | Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt E  82  |
| 02 NUK 021F   | Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt F  106   |
| <b>Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe</b>  |  |
| 02 NUK 019B   | Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt B  76  |

02 NUK 020B Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt B  88

02 NUK 028D Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt D: Erweiterung und Validierung des COCOSYS Codes für die Analyse des passiven Containment-Kühlsystems  52

**Klinikum der Universität München, Lindwurmstr. 2a, 80333 München**

02 NUK 024C Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 3  140

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

02 NUK 026F Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt F  162

02 NUK 031B Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt B  184

02 NUK 038A Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A  224

**KSB Aktiengesellschaft, Johann-Klein-Str. 9, 67227 Frankenthal (Pfalz)**

02 NUK 023D Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt D: Experimentelle Qualifizierung von Armaturen unter Normal- und Störfallbedingungen zur Entwicklung verifizierter Methoden  34

**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  232

**Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover**

02 NUK 021G Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt G  108

02 NUK 030D Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt D  170

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

02 NUK 035E Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E  208

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

- 02 NUK 021D Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt D  102
- 02 NUK 021E Verbundprojekt Conditioning: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken; Teilprojekt E  104
- 02 NUK 022A Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt A: Qualifizierung innovativer Extinktionsphotometrie  20
- 02 NUK 022C Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt C: Entwicklung eines effizienten Auswertalgorithmus zur Mie-Inversion  24
- 02 NUK 028A Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt A: Analyse von Containment-Phänomenen zur Optimierung von Störfallmaßnahmen  46

<b>Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Regina-Pacis-Weg 3, 53113 Bonn</b>
---

- 02 NUK 019F Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt F  84

<b>Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, 44801 Bochum</b>
--

- 02 NUK 028G Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt G: Simulation des Unfalls in Fukushima-Daiichi zur Bewertung von ATHLET-CD (SUBA)  58

<b>Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg</b>
---

- 02 NUK 020D Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt D  92
- 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  114

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

- 02 NUK 019A Verbundprojekt ImmoRad: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide durch die Wechselwirkung mit endlagerrelevanten Sekundärphasen; Teilprojekt A  74
- 02 NUK 020A Verbundprojekt f-Kom: Untersuchungen zum grundlegenden Verständnis der selektiven Komplexierung von f-Elementen; Teilprojekt A  86

- 02 NUK 028E Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt E: Verbesserung des Lower Head-Modelles für Melcor und Melcor-Rechnungen zu Fukushima  54
- 02 NUK 028F Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt F: Beiträge zur Codevalidierung anhand von SWR-Daten und zur Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen  56
- 02 NUK 030B Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt B  166
- 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  110
- Technische Hochschule Deggendorf, Edlmairstr. 6+8, 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  70
- 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  124
- 02 NUK 017C 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 C  126
- 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  128
- 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  130
- 02 NUK 022D Verbundprojekt In-Ex: Innovative Extinktionsphotometrie zur Charakterisierung eines Mehrkomponenten-Aerosols und zur Feuchtemessung; Teilprojekt D: TDLAS basiertes In-situ-Hygrometer  26
- 02 NUK 034A Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt A  192
- 02 NUK 034B Verbundprojekt NeuroRad: Ein Ansatz zur Bewertung neurologischer Strahlenschäden, Teilprojekt B  194

- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  216
- 02 NUK 037C Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt C  222
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  234

<b>Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden</b>
--

- 02 NUK 018B Verbundprojekt NIZUK: Nichtinvasive Zustandsüberwachung von Kernreaktoren zur Detektion von Füllstandänderungen und der Deformation des Kerns; Teilprojekt B: Berechnung von Gammastrahlungsfeldern des Reaktorkerns zur nichtinvasiven Zustandsüberwachung  18
- 02 NUK 027A Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern  36
- 02 NUK 027B Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens  38
- 02 NUK 027E Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Dodes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  44
- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  204
- 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  64

<b>Technische Universität Hamburg-Harburg, Schwarzenbergstr. 95, 21073 Hamburg</b>
--

- 02 NUK 023A Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt A: Untersuchung der Wirbelbildung in Pumpenzulaufbecken und der Auswirkung von Gasmitriss auf nachfolgende Anlagenkomponenten  28

- |  |   |
|--|---|
| <b>Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München</b>                   |   |
| 02 NUK 030E  | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt E <span style="float: right;">📖 172</span>   |
| 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 <span style="float: right;">📖 118</span>  |
| <b>TÜV NORD SysTec GmbH &amp; Co. KG, Große Bahnstr. 31, 22525 Hamburg</b>           |   |
| 02 NUK 023C  | Verbundprojekt SAVE: Sicherheitsrelevante Analyse des Verhaltens von Armaturen, Kreiselpumpen und Einlaufgeometrien unter Berücksichtigung störfallbedingter Belastungen; Teilprojekt C: Analytische Untersuchungen der Wirbelbildung in Pumpeneinläufen <span style="float: right;">📖 32</span>              |
| <b>Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen</b>                            |   |
| 02 NUK 030H  | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt H <span style="float: right;">📖 178</span>   |
| <b>Universität der Bundeswehr München, Werner-Heisenberg-Weg 39, 85579 Neubiberg</b> |   |
| 02 NUK 031A  | Verbundprojekt LET: Simulation von Hoch-LET-Effekten mittels fokussierter Niedrig-LET-Strahlung; Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 182</span>   |
| <b>Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken</b>                         |   |
| 02 NUK 035A  | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 200</span>  |
| <b>Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig</b>                             |   |
| 02 NUK 026E  | Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt E <span style="float: right;">📖 160</span>   |
| <b>Universität Rostock, Universitätsplatz 1, 18055 Rostock</b>                       |   |
| 02 NUK 043C  | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 240</span>   |
| <b>Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart</b>                          |   |
| 02 NUK 028C  | Verbundprojekt WASA-BOSS: Weiterentwicklung und Anwendung von Severe Accident Codes – Bewertung und Optimierung von Störfallmaßnahmen; Teilprojekt C: Analyse schwerer Störfälle in LWR zur Evaluierung und Optimierung von Severe-Accident-Maßnahmen <span style="float: right;">📖 50</span>                 |
| 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 <span style="float: right;">📖 62</span> |

- |  |  |
|--|--|
| <b>Universität Stuttgart – Otto-Graf-Institut – Materialprüfanstalt, Pfaffenring 32, 70569 Stuttgart</b>       |  |
| 02 NUK 040A  | Verbundprojekt UNSCHRO: Experimentelle Untersuchungen und theoretische Beschreibung der Schädigung metallischer Rohrleitungen bei turbulenter Durchströmung im Bereich hoher Drücke und hoher Temperaturen, Teilprojekt A: Mischnähte, Ausströmen  60 |
| <b>Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm</b>  |  |
| 02 NUK 026C  | Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt C  156   |
| <b>Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen</b>  |  |
| 02 NUK 024D  | Verbundprojekt ZiSS: Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die Strahlenüberempfindlichkeit und –resistenz beeinflussen; Teilprojekt 4  142   |
| 02 NUK 037B  | Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt B  220  |
| 02 NUK 043B  | Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  238   |
| <b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg</b>                                   |  |
| 02 NUK 032   | DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  190   |
| 02 NUK 035B  | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  202  |
| <b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz</b>             |  |
| 02 NUK 026B  | Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt B  154   |
| 02 NUK 042A  | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  228  |
| <b>Universitätsmedizin Rostock, Schillingallee 35, 18057 Rostock</b>   |  |
| 02 NUK 026D  | Verbundprojekt PASSOS: Personalisierte Abschätzung von Spätfolgen nach Strahlenexposition und Orientierungshilfe für Strahlenanwendungen in der Medizin; Teilprojekt D  158   |
| <b>VKTA – Strahlenschutz, Analytik &amp; Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 128, 01328 Dresden</b> |  |
| 02 NUK 030G  | Verbundprojekt TransAqua: Transfer von Radionukliden in aquatischen Ökosystemen; Teilprojekt G  176   |