

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

**PTE-N Nr. 20**

BMBF geförderte FuE zu  
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Juli - 31. Dezember 2019

Projekträger Karlsruhe (PTKA)  
Entsorgung

**April 2020**

## PTE-Berichte

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

Die Fortschrittsberichtsreihen behandeln folgende Themenschwerpunkte:

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

Die Fortschrittsberichtsreihen sind online verfügbar:

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

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

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

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

## Vorwort

Das KIT betreut im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) Referat 723\* 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.

\* neue Referatsbezeichnung (bis Oktober 2018 Referat 722)



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....</b>	<b>1</b>
1.1	<i>Sicherheitsforschung für Kernreaktoren.....</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung .....</i>	<i>3</i>
1.3	<i>Strahlenforschung .....</i>	<i>7</i>
2.1	SICHERHEITSFORSCHUNG FÜR KERNREAKTOREN.....	11
2.2	SICHERHEITSFORSCHUNG ZUR NUKLEAREN ENTSORGUNG .....	29
2.3	STRAHLENFORSCHUNG.....	71
<b>3</b>	<b>Verzeichnis der Forschungsstellen .....</b>	<b>143</b>



# 1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

## 1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

<b>02 NUK 027A</b>	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern	<b>TU Dresden</b>	📖 12
<b>02 NUK 027B</b>	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens	<b>TU Dresden</b>	📖 14
<b>02 NUK 027C</b>	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 16
<b>02 NUK 027D</b>	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten	<b>Hochschule Zittau/Görlitz</b>	📖 18
<b>02 NUK 027E</b>	Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen	<b>TU Dresden</b>	📖 20
<b>02 NUK 041A</b>	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integralexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	<b>TU Dresden</b>	📖 22

- 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.**  24
- 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**  26

## 1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

<b>02 NUK 039A</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	<b>Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)</b>	📖 30
<b>02 NUK 039B</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt A	<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.</b>	📖 32
<b>02 NUK 039C</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C	<b>Ruprecht-Karls- Universität Heidel- berg</b>	📖 34
<b>02 NUK 039D</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH</b>	📖 36
<b>02 NUK 039E</b>	Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E	<b>TU München</b>	📖 38
<b>02 NUK 044A</b>	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A	<b>Leibniz Universität Hannover</b>	📖 40
<b>02 NUK 044B</b>	Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt B	<b>Johannes Gutenberg- Universität Mainz</b>	📖 42
<b>02 NUK 046A</b>	Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A	<b>TU Dresden</b>	📖 44

- 02 NUK 046B** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.** 46
- 02 NUK 046C** Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C **Universität Leipzig** 48
- 02 NUK 051A** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A **Universität Hannover** 50
- 02 NUK 051B** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.** 52
- 02 NUK 051C** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C **Universität Jena** 54
- 02 NUK 051D** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D **Universität Bremen** 56
- 02 NUK 051E** Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E **Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V.** 58
- 02 NUK 053A** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A **Forschungszentrum Jülich GmbH** 60
- 02 NUK 053B** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.** 62
- 02 NUK 053C** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C **Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)** 64

- 02 NUK 053D** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D **Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ**  66
- 02 NUK 053E** Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E **Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ**  68



### 1.3 Strahlenforschung

<b>02 NUK 032</b>	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 72
<b>02 NUK 035A</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Universität des Saarlandes</b>	📖 74
<b>02 NUK 035B</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf</b>	📖 76
<b>02 NUK 035C</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>TU Dresden</b>	📖 78
<b>02 NUK 035D</b>	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter</b>	📖 80
<b>02 NUK 036AX</b>	Verbundprojekt KAU VIR: 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>	📖 82
<b>02 NUK 036B</b>	Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	<b>Elbe Kliniken Stade-Buxtehude</b>	📖 84
<b>02 NUK 036C</b>	Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	<b>IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH</b>	📖 86
<b>02 NUK 036D</b>	Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	📖 88
<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>	📖 90
<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>	📖 92

<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>	📖 94
<b>02 NUK 042A</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	📖 96
<b>02 NUK 042B</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	<b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	📖 98
<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>	📖 100
<b>02 NUK 042D</b>	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	<b>TU Darmstadt</b>	📖 102
<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>	📖 104
<b>02 NUK 043B</b>	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 106
<b>02 NUK 045A</b>	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 108
<b>02 NUK 045C</b>	Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C	<b>TU München</b>	📖 110
<b>02 NUK 047A</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	<b>Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Neuherberg</b>	📖 112
<b>02 NUK 047B</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	<b>Bundesamt für Strahlenschutz</b>	📖 114
<b>02 NUK 047C</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	<b>Klinikum der Universität München</b>	📖 116
<b>02 NUK 047D</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	<b>Universitätsklinikum Essen</b>	📖 118
<b>02 NUK 047E</b>	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin</b>	📖 120

<b>02 NUK 047F</b>	Verbundprojekt ZiSStans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg</b>	 122
<b>02 NUK 048A</b>	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	<b>Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz</b>	 124
<b>02 NUK 048B</b>	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	<b>Universität Ulm</b>	 126
<b>02 NUK 049A</b>	Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH</b>	 128
<b>02 NUK 049B</b>	Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B	<b>Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg</b>	 130
<b>02 NUK 050A</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A	<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH</b>	 132
<b>02 NUK 050B</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B	<b>TU Darmstadt</b>	 134
<b>02 NUK 050C</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C	<b>TU Darmstadt</b>	 136
<b>02 NUK 050D</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D	<b>Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main</b>	 138
<b>02 NUK 050E</b>	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg</b>	 140



## **2 Formalisierte Zwischenberichte**

### **2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt A: Experimentelle und theoretische Untersuchung der Nachwärmeabfuhr von Brennelementen in ausdampfenden Nasslagern		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.09.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 637.525,92 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr.-Ing. Lippmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Projekt soll gesicherte Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines langsam ausdampfenden bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens sowohl innerhalb der Brennstab-bündel 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)

Beginnend mit dem Zeitraum der Projektaufstockung gliedern sich die Arbeitspakete wie folgt:

- AP0\*: Analyse des erreichten Standes in SINABEL, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Simulationen (TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)
- AP1\*: Vorbereitung, Aufbau und Inbetriebnahme der Experimentiereinrichtungen, Durchführung und Bewertung der Experimente TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)
- AP2\*: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE TUD-ISM, HZDR)
- AP3\*: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS TUD-WKET, TUD-ISM, HZDR, HSZG)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1\*: Die experimentellen Untersuchungen mit Überströmkanal sind final abgeschlossen. Untersucht wurden die Szenarien „Ausdampfendes Lagerbecken“, „Luftkühlung mit Wasserblockade“ und „Luftkühlung ohne Wasserblockade“. Variiert wurden Stabileistungen im Bereich von 10 W bis 50 W und Überströmgeschwindigkeiten bis zu 1,5 m/s. Ein Einfluss der Überströmgeschwindigkeit auf die maximale Staboberflächentemperatur ist anhand der durchgeführten Experimente für Einzelstabileistungen  $\geq 20$  W nicht nachweisbar. Im Bereich des Kopfes des Brennelementmodells sind hingegen teilweise deutliche Temperaturunterschiede feststellbar. Versuche im Szenario „Ausdampfendes Lagerbecken“ bei einer Stabileistung von 50W erwiesen sich mit der vorhandenen Anlagenkonfiguration auch mit Überströmkanal bislang als nicht reproduzierbar. Ohne bisher erkennbaren Grund tritt bei einer Teilmenge der Versuche eine Wiederbenetzung bereits freigelegter Brennstababschnitte infolge von Geysering auf, was zu einer signifikanten lokalen Temperaturabsenkung führt. Bei scheinbar äquivalenten Versuchen tritt dieses Phänomen teilweise in deutlich abgeschwächter Ausprägung auf oder bleibt fast gänzlich aus. Daraus ergeben sich deutlich unterschiedliche Entwicklungen des Temperaturprofils.

Zur Visualisierung des Strömungsprofils im Bereich des Brennelementkopfes wird ein Rauchgenerator genutzt. Um den Einfluss mehrerer BE-Griffe entlang des Strömungspfades auf das Strömungsprofil untersuchen zu können, ist eine Erweiterung der Anlage um zwei weitere Griffe, zusätzlich zum vorhandenen Dummy, erfolgt. Diese befinden sich stromab und stromauf des Zentralelements. Ein Einfluss der BE-Griffe oder aufsteigender Luft bzw. Dampf auf das Strömungsprofil konnte mittels optischer Messverfahren nicht nachgewiesen werden.

Das aktive Spraykühlungssystem an der Versuchsanlage ALADIN wurde in den Überströmkanal integriert und in Betrieb genommen. Versuchsreihen sind in den Szenarien für die postulierten Störfälle „Ausdampfendes Lagerbecken“ und „Luftkühlung ohne Wasserblockade“ erfolgt. Im Szenario Luftkühlung konnte auf allen Messebenen eine signifikante Temperaturverringern im Vergleich zu einem Versuch mit gleichen Anfangs- und Randbedingungen, jedoch ohne Spraykühlung, nachgewiesen werden, wobei der Einfluss des Spraykühlungssystems auf die Staboberflächentemperatur von oben nach unten Prinzip bedingt sinkt. Dies gilt für Stabileistungen bis zu 50 W und bei einem Volumenstrom von 14 l/h. Im Szenario „Ausdampfendes Lagerbecken“ konnte in einem Beispielversuch mit einer Einzelstabileistung von 20W bei Einsatz des Spraykühlungssystems eine Kühlung der freigelegten Ebenen und Anstieg des Füllstandes bewirkt werden.

AP2\*: Bereitstellung von Konstruktionsdaten der Versuchsanlage ALADIN mit Zusatzkomponenten.

Bereitstellung von Messdaten aus den experimentellen Untersuchungen an der Versuchsanlage ALADIN mit Überströmkanal für die CFD-Simulation.

AP3\*: Das bestehende Modul für den Systemcode ATHLET zur Simulation der ALADIN-Versuche wurde um eine Spraykühlung erweitert. Diese wird realisiert indem äquivalent zum Experiment das Kühlmedium in das zentrale Brennstabmodell zugeführt wird.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Schreiben des Abschlussberichtes und Zusammenstellung weiterer benötigter Unterlagen zum erfolgreichen Abschluss des Projektes.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

P. Zedler, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado: Experimental study of the influence of cross-overflow on the decay heat removal from spent fuel pools; Journal: Experimental and computational multiphase flow, 2019

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt B: Simulation von Strömung und Wärmetransport unter den Bedingungen eines Lagerbeckens		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.09.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 489.910,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Fröhlich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Gesamtvorhabens ist die Gewinnung gesicherter Kenntnisse über die Wärmetransportprozesse für den Fall eines teilweise bzw. vollständig ausgedampften Brennelement-Lagerbeckens (BE-LB). Mittels Experimenten und Simulation erfolgt die Prognose unterschiedlicher Störfallszenarien. Im vorliegenden Teilprojekt werden CFD-Simulationen des experimentell untersuchten Brennstabbündels 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

Der Zuwendungsempfänger ist an folgenden Arbeitspaketen im Forschungsvorhaben beteiligt:

- AP0: Festlegung von Randbedingungen für erweiterte Experimente und Simulationen
- AP1: CFD-Simulationen zur Bewertung der erweiterten Experimente
- AP2: Anwendung von CFD-Codes; Erweiterung auf Instationarität und mesoskalige Effekte
- AP3: Konsequenzen aus erweiterten CFD-Berechnungen für Module für ATHLET und COCOSYS

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zweiten Halbjahr 2019 wurden die Untersuchungen zu den Erweiterungen im Integralexperiment bei TUD-WKET abgeschlossen (AP1). Hierzu wurden Varianten-rechnungen mit stationären Randbedingungen für ausgewählte Parameterkombinationen aus Füllstand, Geschwindigkeit und Heizleistung im Überströmkanal durchgeführt. Es zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Temperatur und Zusammensetzung der Gasatmosphäre von der Position in der Versuchsanlage. Aufgrund der unterschiedlichen Spaltweiten dringt die kalte Luft in Rand- und Eckelemente schwerer ein als ins Zentralbündel. Bei moderater Stabileistung (20 W) führt eine Erhöhung der Geschwindigkeit der Querüberströmung zu einer signifikanten Zunahme der Temperatur im Zentralbündel. Dieses Ergebnis deckt sich mit den bisherigen Erkenntnissen in diesem Teilprojekt. Bei höherer Heizleistung wird dieser Effekt abgeschwächt. Es dringt deutlich weniger Luft in das Heizpatronenbündel ein, da mehr Dampf produziert wird und dieser einem Eindringen entgegenwirkt. Weiterhin wurde die Analyse mesoskaliger Effekte an SWR-Brennelementen abgeschlossen (AP2). Es wurden zwei Ansätze zur Modellierung der Prozesse im Kopfbereich der Brennelemente untersucht. Zum einen wurde die Genauigkeit der Modellierung des Queraustauschs in einem Brennelement als anisotroper poröser Körper untersucht. Zum anderen wurde ein Modell entwickelt, das die Umlenkung der Strömung durch den Transportbügel durch eine Impulsquelle abbildet. Die Simulationen konnten zeigen, dass die Abbildung des Kopfbereichs mit vereinfachten Modellen keine zufriedenstellenden Ergebnisse im Vergleich zur aufgelösten Simulation liefert. Daher muss der Kopfbereich zwingend geometrisch aufgelöst werden (AP3). Anhand der Simulation einer 3x3-Brennelement-Anordnung konnte exemplarisch die Anwendbarkeit der Methodik gezeigt werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Keine.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

T. Hanisch, F. Rüdiger, J. Fröhlich: Flow and heat transfer in a fuel assembly mock-up with horizontal overflow. Vortrag beim ERCOFTAC Autumn Festival, Magdeburg, 2019

<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 30.09.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.09.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 434.844,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Krepper	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Zur Berechnung der axialen und radialen Stabtemperaturprofile bei unterschiedlichen Störfallszenarien sowie zur Beurteilung der Kühleffektivität unterschiedlicher Mechanismen im Brennelement-Lagerbecken (Zirkulationsströmungen, Verdampfung, Dampfaufstieg, Kaltgas-einbruch, 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**

Im betreffenden Berichtszeitraum erfolgte eine Aufarbeitung der Ergebnisse des Vorhabens für eine abschließende Präsentation vor den Projektpartnern. Mit der Erstellung des fachlichen Abschlussberichtes wurde begonnen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Fertigstellung des Abschlussberichtes sowie Zuarbeit zu einer zusammenfassenden Journalpublikation zum Verbundprojekt SINABEL.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegetriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.09.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 712.104,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kästner	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

- AP-A0: Analyse des erreichten Standes in SINABEL, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Simulationen (TUD-WKET, TUD-ISM, TUD-ASP, HZDR, HSZG)

Der AP-A0 enthält für die Untersuchungen an der HSZG Parameteranalysen für Bedingungen nach Ausdampfen von DWR-BE-LB in geschlossener SHB-Atmosphäre

- AP-A1: Vorbereitung, Aufbau und Inbetriebnahme der Experimentiereinrichtungen, Durchführung und Bewertung der Experimente

Der AP-A1 enthält für die HSZG:

- Planung, Errichtung und Inbetriebnahme der Zusatzausrüstung am DVABEG-VS
- Durchführung und Bewertung von Experimenten zur Modellierung
- Einsatz des Gittersensors im BE-Dummy
- Unsicherheitsanalyse
- AP-A2: Anwendung von CFD-Codes; 3-D-Modellierung von BE im BE-LB und der Atmosphäre über den BE  
 Im AP-A2 ist keine direkte Beteiligung der HSZG vorgesehen. Ergebnisse dieses AP werden durch Nutzung von übergebenen Simulationsdaten der Projektpartner für die Anpassung von Versuchsspezifikationen genutzt. Von der HSZG werden Validierungsdaten aus AP1 bereitgestellt
- AP-A3: Anwendung von Integralcodes; Entwicklung spezieller Module für ATHLET und COCOSYS  
 Im AP-A3 werden Integralcodes angewandt. Für die Untersuchungen zum Verhalten bei ausdampfenden DWR-BE-LB soll insbesondere das TH-Modul von COCOSYS für Simulationen im meso- bis großskaligen Bereich eingesetzt werden. Diese Simulationen ordnen sich gut zwischen die Einzel-BE-Analysen mittels CFD bzw. ATHLET und die großskaligen CFD-Analysen ein.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Experimentelle Untersuchungen zur Vermischung von horizontalen und vertikal aufsteigenden Strömungen unter den Bedingungen eines BE-Nasslagers wurden mit einer 3×1 BE-Dummy-Konfiguration am Versuchsstand ZiBrA weitergeführt. Die Arbeiten enthielten weitere Experimente bei isothermen Verhältnissen. Es wurden Experimente mit Luft/Luft ohne Dichteunterschiede sowie mit Modellgas/Luft mit Dichteunterschieden realisiert. Bei den Versuchen mit Modellgas/Luft wurde durch den Einsatz des Modellgases Argon für die horizontale Strömung ein Dichteverhältnis von ca. 1,6 zwischen den beiden Strömungspfaden (horizontal/vertikal) erzielt. Reale geometrische Randbedingungen eines Druckwasserreaktors (DWR)-Lagerbeckens wurden berücksichtigt. Jedes BE steht im Nasslager separat in einem Absorberschacht mit einem freien Spalt zwischen BE und Absorberschacht.

Weitere Luft-Luft-Experimente bestätigten, dass unter diesen Randbedingungen eine signifikante Strömungsverlagerung der Vertikalströmung durch den höheren Strömungswiderstand der Einbauten im BE (BE-Fuß, AH und BE-Kopf) vom Inneren des BE aus den Kühlkanälen in den freien Spalt erfolgte. Dadurch dominierte die Strömung im Spalt zwischen dem BE und dem Absorberschacht die vertikale aufsteigende Strömung.

Bei den Versuchen mit Luft/Luft bildeten sich nach dem Einschalten der horizontalen Strömung und je nach dem Impulsstromverhältnis der horizontalen und der vertikalen Strömung charakteristische Scherschichten aus. Bei höherer Geschwindigkeit der horizontalen Strömung wurde die Scherschicht flacher. Für das BE bedeutet eine flache Scherschicht eine Erhöhung des Druckes im BE-Kopf und stellt eine Blockade für die vertikale Strömung dar, welche zur Abnahme der Strömungsgeschwindigkeit im BE und zur Verschlechterung des Wärmetransportes aus dem BE führt.

Die Versuche mit dem Modellgas Argon als strömendes Medium für die horizontale Strömung und Luft als strömendes Medium für die 3 BE wiesen durch den Dichteunterschied ein zusätzliches Phänomen auf. Durch den seitlichen Aufstieg der Luft im Spalt zwischen dem BE und dem Absorberschacht und die Querströmung der horizontalen Strömung fand eine starke Wirbelbildung im Kopfbereich des BE statt und das entstandene Gas-Gemisch sank im BE tiefer ein, als bei Experimenten mit Luft/Luft ohne Dichteunterschiede.

Im AP-A3 wurden die Berechnungen mit dem TH-Modul COCOSYS im Hinblick auf die Originalbedingungen im BE-LB abgeschlossen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Fertigstellung des Abschlussberichts.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Im Berichtszeitraum fanden im Rahmen des Projektes folgende Arbeitstreffen statt:

Abschlusstreffen SINABEL am 23.09.2019 an der TU-Dresden mit der Gesamtübersicht zu den Arbeiten und Ergebnissen in allen Teilprojekten

Es wurde ein Poster auf dem Doktorandenseminar des Kompetenzzentrums Ost für Kerntechnik am VKTA Dresden am 05.12.19 vorgestellt:

Chahi, H., Kästner, W., Alt, S.: Experimental thermal-hydraulic analysis of the accident behaviour with original geometry of an overlapping fuel assembly configuration in compact storage racks of PWR spent fuel storage pools, KompOst 2019, Dresden-Rossendorf

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 027E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt E: Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.10.2013 bis 30.09.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.09.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 449.159,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Im Verbundprojekt besteht Zusammenarbeit mit folgenden Einrichtungen:

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Analyse ADELA-Experimente für spezielle Messtechnik, Literaturstudium

AP2: Selektion/Erprobung von Messverfahren

AP3: Entwicklung und Aufbau der Instrumentierung

AP4: Erprobung und Kalibrierung spezieller Instrumentierung an eigenem Strömungsversuchsstand

AP5: Unsicherheitsanalysen

AP6: Einsatz der Strömungsmessverfahren am Integralexperiment, Datenanalysen

Aufstockung AP0: Analyse bisheriger Versuche und Messtechnologierecherche

Aufstockung AP1: Optimierung, technologische Umsetzung und Experimente

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

Aufstockungsphase:

Die Voruntersuchungen zu den bereits beschriebenen technischen Umsetzungen zur bidirektionalen Geschwindigkeitsmessung wurden abgeschlossen. Dabei konnte zwar der generelle Funktionsnachweis der bidirektionalen Geschwindigkeitsbestimmung erbracht werden, allerdings konnte keine für den Einsatz am Integralversuchsstand ALADIN geeignete Umsetzung gefunden werden.

Der Abschlussbericht zum Teilprojekt E: „Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen“ des Verbundprojektes SINABEL wurde angefertigt. Dabei wurden die zu dem 10. Projekttreffen (20.06.2017) und 15. Projekttreffen (24.01.2019) diskutierten Hinweise beachtet und umgesetzt. Der 60-seitige Abschlussbericht umfasst 47 Abbildungen, 11 Tabellen und 35 Literaturstellen.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Keine. Projekt endete am 30.09.2019.

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

Abschlussbericht: „Ortsaufgelöste Temperatur- und Gasphasengeschwindigkeitsmessung zur Analyse der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen“

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 041A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.817.155,95 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr.-Ing. Lippmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

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

Beginnend mit dem Zeitraum der Projektaufstockung gliedern sich die Arbeitspakete wie folgt:

- AP1\*: Literaturstudium, Festlegung von Randbedingungen für Experimente und Modellbildung, Arbeiten zur Vorbereitung der Experimente und Simulationen (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP2\*: Vorbereitung und Durchführung der Experimente (TUD-WKET, THD, HZDR)
- AP3\*: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes, Weiterentwicklung RAM/ROM, Durchführung von Simulationen (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP4\*: Validierung der Modelle und Methoden (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)
- AP5\*: Abschlussbericht (TUD-WKET, THD, HZDR, GRS)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1\*: abgeschlossen

AP2\*: Die Integraleexperimente zur Naturumlaufstabilität mit geänderten Steigrohrgeometrien zeigen, dass bei zwei parallel verlaufenden Steigrohren eine deutliche Reduktion der durch Kondensationsschläge hervorgerufenen Druckstöße erzielt werden kann. Eine Phasenverschiebung in der Temperatur- und Volumendampfgehaltsverteilung ist feststellbar, jedoch nicht quantitativ beschreibbar. Die verlängerte Steigrohrgeometrie mit nahezu horizontalem Einlauf in die Wärmesenke und gleichbleibendem geodätischen Höhenpotential weist hingegen keinen Einfluss auf das Stabilitätsverhalten auf.

Die notwendige Messtechnik laut Instrumentierungsplan und zusätzliche sicherheitstechnisch erforderliche Komponenten zur Untersuchung des Einflusses nicht kondensierbarer Gase auf die Kondensation wurden beschafft, kalibriert, installiert und in Betrieb genommen.

AP3\*: Vergleichsrechnungen zwischen ATHLET mit einem an das Naturumlauf-ROM angelehnten Datensatz (Abweichungen zu den geometrischen Abmessungen der GENEVA) für stationäre einphasige Betriebspunkte ergeben relative Abweichungen von maximal 9 % in der Kondensationsrohr-Eintrittsgeschwindigkeit zu den GENEVA-Versuchsdaten.

AP4\*: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 04/2020 - 09/2020)

AP5\*: noch nicht begonnen (geplanter Zeitraum: 10/2020 - 12/2020)

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP2\*: ab 01/2020: Durchführung von Kondensationsexperimenten

AP3\*: bis 03/2020: Validierung des vereinfachten Naturumlauf-ATHLET-Modells anhand der GENEVA-Integraleexperimente

ab 03/2019: Weiterentwicklung des Niedrigdruck-Naturumlauf-ROMs und Durchführung nicht-linearen Stabilitätsuntersuchung

ab 03/2020: Überprüfung der ATHLET-Modelle zu nicht kondensierbaren Gasen anhand der Ergebnisse der Kondensationsexperimente

AP4\*: ab 03/2020: Überprüfung der RAM-ROM-Methode anhand der Integraleexperimente

ab 05/2020: Weiterentwicklung und Validierung von Kondensationsmodellen bei Anwesenheit von nicht kondensierbaren Gasen

AP5\*: ab 09/2020: Erstellen des Abschlussberichts

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Zweiphasenströmungsinstabilitäten in einem passiven Sicherheitssystem wie dem Gebäude-kondensator; R. Manthey, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; Kraftwerkstechnisches Kolloquium, Dresden, Deutschland, Oktober 2019

Two-phase flow instabilities in an open natural circulation system such as the containment cooling condenser; R. Manthey, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; KompOST Doktorandenseminar, Dresden-Rossendorf, Deutschland, Oktober 2019

Effect of throttling on the two-phase flow stability in an open natural circulation system; R. Manthey, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; Heat and Mass Transfer, Vol. 56, S. 37-52, Juli 2019 (doi: 10.1007/s00231-019-02679-x)

Advanced natural circulation reduced order model with inclined channel for low pressure conditions; R. Manthey, A. Knospe, C. Lange, C. Schuster, A. Hurtado; ASME Journal of Nuclear Engineering and Radiation Science, September 2019 (doi: 10.1115/1.4044846)

Experimental and theoretical investigation of the boiling heat transfer in a low-pressure natural circulation system; F. Viereckl, E. Schleicher, C. Schuster, W. Lippmann, A. Hurtado; Experimental and computational multiphase flow, Vol. 1, S. 286-299, Juli 2019 (doi: 10.1007/s42757-019-0023-0)

Modelling of passive heat removal systems: A review with reference to the Framatome BWR reactor KE-RENA: Part II; R. Manthey, F. Viereckl, A. Moonesi, Y. Zhang, W. Ding, D. Lucas, C. Schuster, S. Leyer, A. Hurtado, U. Hampel; Energies, Dezember 2019 (doi: 10.3390/en13010109)

<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 31.12.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.134.305,95 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Hampel

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Literaturstudium zum Einfluss von Einbauten auf das Kondensationsverhalten, Update zu neuen Kondensationsmodellen.
- AP2: Planung, Abstimmung und Umbau der COSMEA-Sekundärseite, Abstimmung der Testmatrix. Anpassung Automatisierungstechnik und Messdatenerfassung sowie Inbetriebnahme der Stützdampfleitung.
- AP3: Der GENTOP-Ansatz wurde weiterentwickelt, erste ATHLET-Modellentwicklungen begonnen und eine vergleichende Untersuchung mit CFD-Simulationen vorgenommen.
- AP4: Weitere numerische Untersuchungen zur Wirkung von Einbauten zur Erhöhung des Wärmestroms und der Kondensationsrate in der Rohrleitung. Die entwickelten CFD-Modelle wurden zur Simulation eines GENEVA-Experiments zur Kondensation auf der Außenseite des Gebäudekondensators angewendet.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1:** Das CFD-Modell wurde für die gemessenen Wanddicken der COSMEA-Anlage aktualisiert. Es wurde eine Literaturstudie über die Auswirkungen von Einbauten auf die Verbesserung der Wärmeübertragung während des Kondensationsprozesses durchgeführt. Es wurde eine Literaturstudie über die Auswirkungen von Einbauten auf die Verbesserung der Wärmeübertragung während des Kondensationsprozesses durchgeführt. Zusammen mit drei weiteren Doktoranden des PANAS-Projekts wurde ein Übersichtsartikel über passive Wärmeabfuhrsysteme erarbeitet. Aufgrund des großen Umfangs an Rechercheergebnissen wurde beschlossen, den Inhalt auf zwei Zeitschriftenpublikationen aufzuteilen. Beide Teile wurden überarbeitet und schließlich in der internationalen Zeitschrift "Energies" veröffentlicht. Die Dissertation des HZDR-Doktoranden (Herr Moonesi) liegt im Entwurf vor und wird demnächst eingereicht.
- AP2: Der neue Aufbau der COSMEA-Anlage ist definiert und wurde mit den anderen Projektpartnern diskutiert. Die wichtigste Änderung ist die Verwendung eines Strömungsgleichrichters. Die neue Konstruktion reduziert die Drallströmung deutlich. Des Weiteren wurde eine Technologie zur Fertigung der 24 Thermolanzen erarbeitet, eine Referenzlanze gefertigt und deren Funktion geprüft. Außerdem wurde entsprechend des Arbeitsplanes ein Vorschlag für die Versuchsmatrix erarbeitet und innerhalb des HZDR abgestimmt. Die kompletten Fertigungsunterlagen der Sekundärseite des COSMEA-Versuchsstandes sind verfügbar. Der aktuelle Stand bei der COSMEA Anlage ist: Versuchsstand ist zerlegt; Bestellungen sind soweit getätigt, die Lieferungen sind teilweise erfolgt.
- AP3: Das entwickelte CFD-Kondensationsmodell berücksichtigt nur zwei kontinuierliche Phasen. Zur Modellierung für Kondensationsvorgänge bei Strömungen mit geringem Dampfanteil (Pfropfen- und Blasenströmung) sollte dem entwickelten Kondensationsmodell eine dispergierte Phase hinzugefügt werden. Daher wird das Zweifluid-GENTOP-Konzept des HZDR verwendet. GENTOP ist die Verbindung des AIAD-Modells mit dem inhomogenen MUSIG-

Modell durch Hinzufügen einer kontinuierlichen Gasphase, deren Phasengrenze im Rechengitter aufgelöst werden soll. Durch Einbinden geeigneter Modelle sind somit Übergänge zwischen polydispersen und kontinuierlichen Gasphasen möglich, einschließlich dem möglichen Erscheinen und Verschwinden einer Phase.

Im Berichtszeitraum wurde mit der Erstellung des ATHLET-Integralmodells begonnen und es wurden erste Testrechnungen für einen hypothetischen Leckstörfall (Füllstandstransiente) durchgeführt. Die Simulationen wurden ausgewertet und auf Plausibilität der Ergebnisse geprüft. Aufgrund personeller Veränderungen und der notwendigen Neubesetzung der Projektstelle konnten die Arbeiten nicht wie geplant durchgeführt werden. Hierdurch ergeben sich zeitliche Verzögerungen und ein Teil der für 2019 geplanten Arbeiten wird in 2020 abgeschlossen werden.

AP4: In diesem Arbeitspaket haben wir ein neu vorgeschlagenes Verfahren zur Erhöhung des Wärmeübergangs bei der Kondensation angewandt. Bei dieser Methode wird der Flüssigkeitsfilm in Wandnähe durch Einbauten gestört oder vollständig von der Wand abgelenkt. Wir untersuchen den Einfluss der Einbauten auf den Wärmeübergang und den Druckabfall. Darüber hinaus werden einige wichtige Parameter wie Form, Länge und Anzahl der Einbauten untersucht. Dieses Arbeitspaket ist bereits abgeschlossen und die Ergebnisse werden im Jahresbericht vorgestellt. Um den Modellierungsprozess zu erleichtern, haben wir versucht, drei verschiedene Schritte durchzuführen:

- Prüfung des entwickelten Kondensationsmodells auf Tropfenkondensation (konstante Wandtemperatur für die Wand der Primärseite). Die vorläufigen Simulationsergebnisse zeigen, dass das entwickelte Kondensationsmodell in der Lage ist, die tropfenweise Kondensation in der GENEVA-Testanlage zu modellieren.
- Prüfung des Modells auf die genauen Randbedingungen der GENEVA-Experimente (ohne Berücksichtigung des Siedens im Inneren der Primärseite).
- Modellierung des gesamten Szenarios mit Berücksichtigung von Sieden und Kondensation (durch Verwendung des RPI-Modells für das Sieden).

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Die nächsten Schritte sind:

Aufbau Thermoelement-Lanzen, Aufbau Strömungsgleichrichter und Siebe, Aufbau Messdatenerfassung für die Thermoelementlanzen, Aufbau erweiterte Druckmesstechnik, Montage Versuchsstand.

Das neue Titan-Außenrohr wird voraussichtlich im 1. Quartal 2020 in Betrieb genommen. Danach beginnen wir mit dem Aufbau der Anlage. Der voraussichtliche Termin für die Durchführung der Testexperimente und die Nachbearbeitung der Daten liegt im 2. und 3. Quartal 2020.

AP3: Es erfolgen weitere Arbeiten am GENTOP-Konzept zur Modellierung des gesamten Kondensationsprozesses vom Reindampf am Eintritt bis zur reinen Flüssigkeit am Austritt des Rohres. Weiterhin muss das Gitternetz für die neue Geometrie der COSMEA-Anlage (ohne Drallelemente) generiert werden.

Es wird ein ATHLET-Modell des COSMEA-Versuchsstandes entwickelt und anhand von Messdaten für ausgewählte Strömungszustände und Wärmeübergangsregime validiert. Die Arbeiten sollen unterstützenden Charakter haben und erfolgen in Absprache mit THD und GRS, um Doppelungen zu vermeiden. Parallel dazu soll anhand ausgewählter Experimente auch ein direkter Vergleich mit CFD-Rechnungen erfolgen, welche ebenfalls im HZDR durchgeführt werden. Durch den Vergleich von ATHLET- und CFD-Simulationen sollen Erkenntnisse zur Weiterentwicklung der Modelle in Systemcodes gewonnen werden.

Die Erkenntnisse aus den Experimenten und dem Vergleich von ATHLET- und CFD-Simulationen werden beispielhaft auf eine passive Nachwärmeabfuhrkette, bestehend aus einer Wärmequelle sowie einem Not- und Gebäudekondensator als Wärmesenke, angewendet. Hierfür wird das ATHLET-Integralmodell weiterentwickelt und es werden Simulationsrechnungen zu hypothetischen Störfallabläufen durchgeführt. Ziel ist es, den Einfluss der verschiedenen in ATHLET implementierten bzw. im PANAS-Projekt zu entwickelnden Modelle auf die Effektivität der passiven Wärmeabfuhr bei den unterschiedlichen Randbedingungen für verschiedene Störfallszenarien (z. B. kleines und großes Leck auf der Frischdampf- bzw. Speisewasserseite) zu untersuchen.

AP4: Bislang wird das HZDR-Kondensationsmodell auf die GENEVA-Geometrie angewendet. Die restlichen Schritte sind: Prüfung des Modells auf die genauen Randbedingungen der GENEVA-Experimente (ohne Berücksichtigung des Siedens im Inneren der Primärseite).

Modellierung des gesamten Szenarios mit Berücksichtigung von Sieden und Kondensation (durch Verwendung des RPI-Modells für das Sieden).

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Bieberle, A. et al.: Flow morphology and heat transfer analysis during high-pressure steam condensation in an inclined tube part I: Experimental investigations (Nuclear Engineering and Design 2019-submitted)

Moonesi A. et al.: Modeling of condensation process in an inclined tube, KOMPOST, HZDR, 2019, presentation

Moonesi, A. et al.: Flow morphology and heat transfer analysis during high-pressure steam condensation in an inclined tube part II: Numerical investigations (Nuclear Engineering and Design 2019- submitted)

Bieberle, A. et al.: Experimental and numerical studies on high-pressure steam condensation in a horizontal condenser tube, SWINTH workshop, 2019, Livorno

Zhang, Y., Moonesi, A. et al.: Evaluation of stratified condensation models for a slightly inclined tube using ATHLET code, NURETH 2019- Portland USA, proceeding

<b>Zuwendungsempfänger:</b> THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz- Platz 1, 94469 Deggendorf		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 041D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 494.528,40 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Leyer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Ausgehend von den in der Literatur verfügbaren Modellen und auf Basis kinetischer Modelle werden die Messergebnisse analysiert und optimierte Wärmeübergangsmodelle erarbeitet. Die Messergebnisse stammen von den Testständen GENEVA der Technischen Universität Dresden und vom Teststand zur Wärmedurchgangsmessung in geneigten Rohren des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf.

Daran anschließend wird die Implementierbarkeit dieser Modelle in gängige Fluidynamische Codes geprüft.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

- AP1: Literaturstudium zu Zweiphaseninstabilitäten und dynamischen thermischen Kopplungen
- AP2: Evaluieren von 1D dynamisch-thermischen Modellen sowohl im stabilen als auch im transienten Zustand mit ATHLET aufgrund der Daten der GENEVA- und COSMEA-Teststände
- AP3: Vergleich des Simulationsresultats mit dem Messergebnis und Analysieren des physikalischen Hintergrunds für Kondensationsmodelle

AP4: Verbesserung der ATHLET-Kondensationsmodelle im Hinblick auf vorhandene Zweiphasenströmungs-Instabilitäten und transienten Modellen. Abgrenzung der Gültigkeitsbereiche thermisch statischer und thermisch dynamischer Kopplungen.

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

Der Terminplan wurde an die Änderungen im PANAS Projekt angepasst.

Die Arbeiten des aufgestockten PANAS Projekts sind in 4 Arbeitspakete unterteilt:

AP1\*: Literaturstudium zu sekundärseitigen Wärmeübergangsmodellen und Mehrrohr-Effekten

AP2\*: Auswahl von geeigneten Wärmeübertragungsmodellen von Literatur und Implementierung der Modelle in ATHLET

AP3\*: Entwicklung des ATHLET Modelle und CFX Modelle

AP4\*: Validierung der neuen Modelle

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Ursprüngliches PANAS Projekt: Die Arbeitspakete sind erfolgreich abgeschlossen. Auf Basis der durchgeführten Literaturrecherche wurden verschiedene, geeignete Kondensationsmodelle identifiziert und mithilfe eines Python-Programms in die ATHLET-Rechnung implementiert. Die Nachrechnung der COSEMA-Experimente und der Vergleich mit den experimentellen Daten ergab teilweise erhebliche Abweichungen. Ein Neuronales Netz wurde mit Literaturdaten zum Kondensaionswärmeübergang versorgt und darauf basierend ein neues Kondensationsmodell erarbeitet. Die Nachrechnungen der COSEMA Experimente ergaben deutliche verbesserte Übereinstimmungen zwischen den experimentellen Daten. Das CFD Model der GENEVA Anlage wurde fertiggestellt und erste Rechnungen durchgeführt.

Erweiterung des PANAS Projektes: Es wurde eine umfangreiche Literaturstudie durchgeführt, welche aufgrund der Vielzahl an Daten immer noch weiterverfolgt wird. Derzeit wird erarbeitet, welche Modelle sich für die Implementierung in ATHLET am besten eignen. Die GENEVA Steigleitung wurde mit CFX modelliert und erste Rechnungen durchgeführt. Allerdings sind die Ergebnisse im Parameterbereich des Flashings physikalisch nicht plausibel. Eine erste Analyse der implementierten Verdampfungsmodellierung in CFX zeigt, dass das eine geeigneten Keimmodell fehlt und die Anfangsbedingungen unzulässig verfälscht. Derzeit wird erarbeitet, wie man die Verdampfungsproblematik besser modellieren kann.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Arbeiten zum ursprünglichen PANAS Projekt sind abgeschlossen.

Für die Projekterweiterung wird die Literaturrecherche zur Identifikation von geeigneten Wärmeübertragungsmodellen weitergeführt. Ausgewählte Modelle werden dann mit ATHLET getestet. Für die Verdampfungsmodellierung wird ein Verdampfungsmodell für CFD erarbeitet und implementiert.

### 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 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 30.04.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.916.145,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Altmaier	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP1: Initialisierungsarbeiten

AP2: Schätzverfahren für thermodynamische Parameter bei erhöhten Temperaturen

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

AP5: Bewertung von Schätzmethode

AP6: Qualitätsmanagement/Dokumentation

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- KIT-INE, Projektmanagement: Kommunikation im Verbund ThermAc, Dissemination.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Beginn der Th(IV)-Löslichkeitsexperimente bei höheren T. (ii) Ansetzen von Experimenten bei Anwesenheit von Carbonat bei höheren T. (iii) Publikation des Manuskripts von Lee et al. (2019, Applied Geochemistry) zum Ca-U(VI)-CO<sub>3</sub> System.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers GRS: (i) Spektrophotometrische Untersuchung der Fe(II)-Cl Komplexierung in KCl-, LiCl-, MgCl<sub>2</sub>- und NaCl-Lösungen bei T = 25-80 °C und Chloridkonzentrationen zwischen 0,0-11,9 mol/kg. (ii) Im gleichen Temperaturbereich: Untersuchung der Komplexbildung von Fe(II) mit Sulfat in Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bei Sulfatkonzentrationen von 0,0-2,5 mol/kg.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers Amphos21: Weiterentwicklung des Übersichtsreports inklusive der entwickelten technischen Datenblätter für alle analysierten experimentellen und geschätzten Systeme.
- Arbeiten des Unterauftragnehmers PSI-LES: Implementierung zusätzlicher Methoden zur Temperaturextrapolation mit dem Hauptgewicht auf dem Ryzhenko-Bryzgalin-Modell.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- KIT-INE, Projektmanagement: Kommunikation im Verbund ThermAc, Dissemination.
- KIT-INE, Experimentelles Programm: (i) Abschluss der Th(IV)-Löslichkeitsexperimente bei höheren T. (ii) Abschluss der Experimente bei Anwesenheit von Carbonat bei höheren T. (iii) Umfassende Festphasencharakterisierung für Th(IV) Festphasen, die höherer T ausgesetzt waren. (iv) Arbeit am Abschlussbericht.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers GRS: (i) Erstellung eines Modells zur Beschreibung der Komplexbildung von Eisen(II) in chloridischen und sulfatischen Lösungen. (ii) Kalorimetrische Messungen an Mg-Hexacyanoferraten und Erstellung eines Modells zur Beschreibung der Redoxpotentialänderungen in MgCl<sub>2</sub>-Lösungen. (iii) Arbeit am Abschlussbericht.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers Amphos21: (i) Schätzungen thermodynamischer Daten für das Th(IV)-OH-CO<sub>3</sub> System. (ii) Abschluss des Übersichtsreports und der entwickelten technischen Datenblätter. Analyse der Anwendbarkeit der entwickelten Methode für den Safety Case. (iii) Arbeit am Abschlussbericht.
- Arbeiten des KIT-Unterauftragnehmers PSI-LES: (i) Fertigstellung und Einreichung des Manuskriptes über die ThermoFun-Programmbibliothek, (ii) Fertigstellung der im Rahmen von ThermAc entwickelten Softwaretools (ThermoMatch, ThermoHub, ThermoFun) für die öffentliche Freigabe (mit Dokumentation), (iii) Arbeit am Abschlussbericht.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Lee et al. (2019): Effect of T on the Ca-U(VI)-CO<sub>3</sub> system (Applied Geochemistry, vol. 111, <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104374>)

Altmaier et al.: Vortrag, Migration Conference, Kyoto, Japan (09.2019)

Cevirim-Papaioannou et al.: Poster, Migration Conference, Kyoto, Japan (09.2019)

Fellhauer et al.: Poster, Migration Conference, Kyoto, Japan (09.2019)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 785.091,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Huittinen	

## 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

- Cm(III)/Eu(III)-Phosphat: Im Rahmen der Masterarbeit wurden die spektroskopischen Daten für das Eu(III)-Phosphat-System bei 25 °C und  $-\log[\text{H}^+] = 2.52$  ausgewertet, wobei ein weiterer Komplex identifiziert und dessen Komplexstabilitätskonstante bestimmt wurde. Bei den Experimenten mittels Isothermer Titrationskalorimetrie bei  $-\log[\text{H}^+] = 1.00$  konnte eine vorläufige Enthalpie für die Bildung des ersten Komplexes bei einer Ionenstärke von 1 M  $\text{NaClO}_4$  ermittelt werden. Es hat sich allerdings gezeigt, dass der Wärmebeitrag der Phosphorsäuredissoziation einen starken Einfluss auf die direkte Wärmemessung der Komplexbildung hat und dies für zukünftige Experimente zunächst weiter untersucht werden muss. Für das Cm(III)-Phosphat-System werden die bestimmten thermodynamischen Daten bei  $-\log[\text{H}^+] = 2.52$  und 3.44 aktuell in einer Publikation zusammengefasst.
- U(VI)-Silikat: Die bisher erhaltenen Daten zur U-Si Komplexbildung im aziden pH-Bereich sind in einer Publikation zusammengefasst worden. Die Auswertung der Lumineszenzspektroskopischen Daten weist auf ein komplexes Verhalten verschiedener Silikat-Spezies im alkalinen pH-Bereich hin. Die Untersuchungen zeigen, dass auch im alkalinen pH-Bereich die U(VI)-Hydrolyse eine Rolle spielt und für weitere Untersuchungen berücksichtigt werden muss. Gleichzeitig wurden mit ersten Arbeiten in diesem pH-Bereich unter Nutzung der Schubert-Methode begonnen, um zusätzliche Datenpunkte zu generieren.
- U(VI)-Chlorid/Fluorid: Die Ergebnisse zum Quenching- und Komplexbildungsverhalten von Uranyl(VI) mit Chlorid und Fluorid wurden in einer Publikation zusammengefasst.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Die spektroskopischen Daten für das Eu(III)-Phosphat-System bei höheren Temperaturen (bis 90 °C) und  $-\log[\text{H}^+] = 2.52$  werden ausgewertet, um weitere thermodynamische Daten für die Komplexbildungen zu bestimmen. Die Ergebnisse sollen zusammen mit den Daten bei 25 °C in einer Publikation veröffentlicht werden.
- Weitere Untersuchungen zur U-Si Komplexbildung im alkalinen pH-Bereich unter Nutzung der Schubert-Methode. Anfertigen einer Publikation sowie Dissertation.
- Erstellung des Projekt-Abschlussberichtes.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Abschlussarbeiten: I. Jessat: Komplexbildung von Eu(III) und Cm(III) mit Phosphat bei höheren Temperaturen, Masterarbeit, Technische Universität Dresden, 22.10.2019

Veröffentlichungen: H. Lösch, M. Raiwa, N. Jordan, M. Steppert, R. Steudtner, T. Stumpf, N. Huittinen: Temperature-dependent luminescence spectroscopic and mass spectrometric investigations of U(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic pH-range, angenommen in Environment International

Vorträge: H. Lösch, J. Tits, M. Marques-Fernandes, B. Baeyens, I. Chiorescu, S. Krüger, T. Stumpf, N. Huittinen: Uranium(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic to alkaline pH-range. Migration 2019, 15.-20.09.2019, Kyoto, Japan

H. Lösch, J. Tits, M. Marques-Fernandes, B. Baeyens, S. Krüger, I. Chiorescu, T. Stumpf, N. Huittinen: Uranium(VI) complexation with aqueous silicates in the acidic to alkaline pH-range. GDCh Jahrestagung der Fachgruppe Nuklearchemie, 25.-27.09.2019, Dresden

Posterpräsentationen: N. Jordan, N. Huittinen, I. Jessat, F. Réal, V. Vallet, S. Starke, M. Demnitz, H. Lösch, V. Brendler: Impact of temperature on the complexation of Eu(III) and Cm(III) with aqueous phosphates. Migration 2019, 15.-20.09.2019, Kyoto, Japan

<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 30.09.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 654.706,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Panak	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### WP1:

In Ergänzung zu den umfassenden Speziationsuntersuchungen des Cm(III)-Chlorid-Systems wurde die Komplexierung des Cm(III) mit weiteren schwach wechselwirkenden Liganden wie Bromid (25 bis 200 °C) und Thiocyanat (25 und 90 °C) untersucht, die ähnlich dem Cm(III)-Chlorid-System Doppelbanden in ihren Fluoreszenzspektren aufweisen. Die Fluoreszenzemission von Cm(III) in Chlorid-, Bromid- und Thiocyanat-haltigen Lösungen zeigt eine bathochrome Verschiebung mit steigender Temperatur und steigender Ligandkonzentration. Aufgrund der schwachen Komplexierung dieser Liganden wurden LiCl, NaCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, LiBr und NaSCN in sehr hohen Ligandkonzentrationen bis hin zur Sättigung der Lösung eingesetzt. Hierbei weisen die Cm(III)-Chlorid- und -Bromid-Spektren eine sehr ähnliche Bandenstruktur auf, die übereinstimmend den Komplexen CmCl<sub>n</sub><sup>3-n+</sup> und CmBr<sub>n</sub><sup>3-n+</sup> (n = 1 – 4) zugewiesen werden konnte. Das Cm(III)-Chlorid-System wurde im Zuge der Studie quantitativ beschrieben. Die Standardstabilitätskonstante log β<sub>2</sub>(T) steigt mit steigender Temperatur von log β<sub>2</sub>(75 °C, LiCl) = 0.14 ± 0.08 auf log β<sub>2</sub>(200 °C, LiCl) = 2.66 ± 0.08 an. Auch die Stabilitätskonstante der Komplexspezies CmCl<sub>3</sub>, die für 180 und 200 °C ermittelt wurde, nimmt in dem vergleichbar kleinen Temperaturintervall von 20 K mit log β<sub>3</sub>(180 °C, LiCl) = 1.72 ± 0.05 auf log β<sub>3</sub>(200 °C, LiCl) = 2.31 ± 0.14 stark zu. Für alle Elektrolyten wurde durch Anpassung der Daten mittels der van't Hoff-Gleichung für Raumtemperaturbedingungen ein mittlerer log β<sub>2</sub> von log β<sub>2</sub>(25 °C) = -1.16 ± 0.08 bestimmt. Das Cm(III)-Bromid-System konnte aufgrund der stark überlappenden Emissionsbanden des Cm(III)-Aquoions und der CmBr<sup>2+</sup>- und CmBr<sub>2</sub><sup>+</sup>-Spezies nicht quantifiziert werden und wurde nur qualitativ beschrieben. Für das Cm(III)-Thiocyanat-System wurde eine Stabilitätskonstante von log β<sub>1</sub>(25 °C) = 0.19 ± 0.02 bestimmt.

Die Untersuchungen des Cm(III)-Bromid- und Cm(III)-Thiocyanat-Systems wurden vor allem im Hinblick auf eine bei Chlorid beobachtete Doppelbandencharakteristik der Emissionsspektren durchgeführt. Für die Komplexe CmCl<sub>2</sub><sup>+</sup>, CmCl<sub>3</sub>, CmCl<sub>4</sub><sup>-</sup> wurden jeweils zwei Emissionsbanden beobachtet, die aufgrund ihrer relativen Verschiebung und der Temperaturabhängigkeit der Intensitätsverhältnisse nicht als *hot-bands* interpretiert werden konnten. Diese Struktur tritt auch bei den Emissionsbanden von CmBr<sub>2</sub><sup>+</sup> und Cm(SCN)<sub>2</sub><sup>+</sup> auf und ist auf das Auftreten zweier im Gleichgewicht vorliegender Hydratationsisomere Cm(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>X<sub>2</sub><sup>+</sup> und Cm(H<sub>2</sub>O)<sub>7</sub>X<sub>2</sub><sup>+</sup> zurückzuführen.

#### WP3:

Die mittels des neuen experimentellen Aufbaus durchgeführten UV/Vis-spektroskopischen Studien zur Komplexierung von NpO<sub>2</sub><sup>+</sup> mit SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> im Temperaturbereich bis 200 °C wurden abgeschlossen und die Daten vollständig ausgewertet. Die Ergebnisse sollen in Kürze publiziert werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

WP1: Speziationsuntersuchungen des Eu(III)-Aquoions mittels Hochtemperaturfluoreszenzzelle im Temperaturbereich bis 200 °C. (in Kooperation mit HZDR).

WP3: Publikation der thermodynamischen Daten der Np(V)-Sulfatkomplexierung bis 200 °C.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Maiwald, M. M., Fellhauer, D., Skerencak-Frech, A., Panak, P. J.: The complexation of neptunium(V) with fluoride at elevated temperatures: Speciation and thermodynamics. Appl. Geochem., 104, 10-18, (2019)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 039D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 30.11.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 30.11.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 582.309,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Brandt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Rahmen der Fortsetzungszeit von ThermAc bearbeitet das IEK-6 folgende Arbeitspakete:

- AP1: Herstellung und Charakterisierung von definierten Mischkristallen für Rekristallisationsexperimente
- AP2: Makroskopische Rekristallisationsexperimente zur Wechselwirkung von Radium mit (Ba,Sr)SO<sub>4</sub> Mischkristallen
- AP3: Mikroskopische und nanoanalytische Untersuchung von Proben aus AP2
- AP4: Auswertung der Experimente und Überprüfung des Modells
- AP5: Ergebnisdokumentation

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen der Fortsetzungszeit wurden alle darin vorgesehenen AP's bearbeitet. Ba-reiche (Ba,Sr)SO<sub>4</sub> Mischkristalle wurden erfolgreich mit definierter Zusammensetzung hergestellt und charakterisiert (AP1). Langzeit-Rekristallisationsexperimente wurden bei 23 °C und 70 °C durchgeführt (AP2). In den Experimenten bei 70 °C wurde ein Konzentrationsplateau von <sup>226</sup>Ra in Lösung, welches durch das in ThermAc entwickelte thermodynamische Modell vorhergesagt wurde. Bei 23 °C wurde das Plateau bei den Sr-reicheren Zusammensetzungen ebenfalls erreicht und bestätigt, zusammen mit den Experimenten bei 23 °C, dass eine Beimengung von kleinen Mengen Sr die Löslichkeit von <sup>226</sup>Ra deutlich verringert, und dass es somit ein ternäres Optimum in der Mischkristallreihe (Ba,Sr,Ra)SO<sub>4</sub> gibt, bei der die Radiumlöslichkeit minimal ist (AP2, AP4). Die mikroskopischen Beobachtungen deuten darauf hin, dass die Rekristallisierung der (Ba,Sr)SO<sub>4</sub> Mischkristalle zu (Ba,Sr,Ra)SO<sub>4</sub> über die Bildung intermediärer Ra- und Ba-reicher Phasen verläuft (AP3). In allen Experimenten wird mikroskopisch ein erheblicher Umbau der ursprünglichen Körner beobachtet, der auf eine komplette Auflösung der ursprünglichen Mischkristalle und eine Neubildung der Ra-haltigen Phasen deutet.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Keine.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 039E
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethode, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2015 bis 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.08.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 575.528,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Krüger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorhabensziele:

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

Bezug zu anderen Vorhaben: Teilprojekt im Verbund ThermAc.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Untersuchungsprogramm umfasst folgende Arbeitspakete:

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

## 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Rechnungen zu Np(V)-Sulfatkomplexen wurden mit der Suche nach dem Trisulfatkomplex (AP2) weitergeführt, der jedoch aufgrund der geringen Ligandenbindung nicht zweifelsfrei bestimmt werden konnte. Arbeiten zu bisher unbekanntem ternären Hydroxosulfatkomplexen mit zwei und drei anionischen Liganden (AP2 und 3) konnten erfolgreich für Np(V), Np(VI) und U(VI) abgeschlossen werden. Stabilste Strukturen zeigen mit einer Ausnahme für Np(V) eine bidentate Sulfatkoordination. Die gleichmäßig mit dem Austausch von Sulfato- durch Hydroxoliganden ansteigenden Komplexierungsenergien zeigen, dass mit steigendem pH von einem gleichmäßigen Übergang von Sulfato- zu Hydroxokomplexen über die Reihe der Hydroxosulfatkomplexe auszugehen ist.

Ergebnisse zu zweikernigen ternären Komplexen  $(\text{AnO}_2)_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_3^-$ , An = U und Np (AP4), wurden zusammengefasst und werden zur Veröffentlichung vorbereitet.

Dynamische Modellierungen zur Temperaturabhängigkeit von Aktinylkomplexen (AP5) wurden fortgeführt. Insbesondere wurden Simulationen bei 350 K, was bei der eingesetzten Methode etwa Raumtemperatur entspricht, von  $\text{UO}_2\text{OH}^+$  auf 21 ps und von  $\text{NpO}_2\text{OH}^0$  bis auf 42 ps Simulationszeit erweitert. Wie bei vorherigen Simulationen wurden keine Wechsel der Koordinationszahl 5 der Komplexe gefunden. In der zeitlich sehr ausgedehnten Simulation von  $\text{NpO}_2\text{OH}^0$  wurde ein dynamischer Austausch zwischen dem Monohydroxo- und dem Aquakomplex von Np(V) beobachtet. Für jeweils etwa 7 % der Simulationszeit wurden außersphärische Komplexe zwischen  $\text{NpO}_2^+$  und  $\text{OH}^-$  in der ersten und zweiten Solvatschale erhalten. Für den kationischen Komplex  $\text{UO}_2\text{OH}^+$  wurden in 21 ps Simulationszeit keine außersphärischen Spezies beobachtet. Zur Überprüfung der Metastabilität des Np(V)-Aquaions mit den Koordinationszahlen 4 und 5 bei 350-460 K Simulationstemperatur wurden kurze Simulationen der Spezies mit der Koordinationszahl 6 durchgeführt. Sowohl mit als auch ohne Voroptimierung werden nach 3 ps Simulationszeit bei 400 K Spezies mit den Koordinationszahlen 4 und 5 erhalten. Dies unterstützt den bisherigen Befund, dass auch bei erhöhter Temperatur beide Spezies für Zeiten im Bereich von ps stabil sind.

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

Das Projekt ist bis auf geplante Veröffentlichungen abgeschlossen.

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

A. Gray, I. Chiorescu, S. Krüger, N. Rösch, Mononuclear Hydroxo Carbonato Complexes of Np(V), Np(VI), and U(VI): A Density Functional Study, *European Journal of Inorganic Chemistry* 2019 (2019) 4516

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 044A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 882.354,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Walther	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Kopplung von TOF-SIMS mit resonanter Laser-ionisation Planung

AP2: Charakterisierung des Messverfahrens, Untersuchung systematischer Effekte

AP3: Durchführung analytischer Messungen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Alle Komponenten der zwei zusätzlichen Gitterlaser wurden beschafft, das Lasersystem wurde vorbereitend umgebaut und beide Gitterlaser vollständig aufgebaut und in Betrieb genommen.

AP2: Zum Test der am IPh in Mainz entwickelten Am-Anregungsschemata im Zuge einer Bachelorarbeit wurde das Anregungs- und Ionisationsverhalten von Americium aus Brennstoffpartikeln untersucht. Aufgrund der Messergebnisse konnte eine Optimierung für die Analyse der enthaltenen Isotope <sup>241</sup>-Am und <sup>243</sup>-Am erfolgen.

AP3: Die Ergebnisse der Beamline-Messungen vom November 2018 wurden vollständig ausgewertet und Ergebnisse präsentiert. Zusätzlich wurden chemische Auslaugungsexperimente mit stufenweiser Extraktion an einzelnen Mikropartikeln erprobt und erste Ergebnisse erhalten.

Unter Berücksichtigung der optimierten Messparameter für die Am-SNMS wurden analytische Messungen zur Bestimmung der entsprechenden relativen Isotopenanteile an extrahierten Partikeln erfolgreich durchgeführt. Im Rahmen einer Bachelorarbeit wurden dabei insgesamt 10 Partikel vermessen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Programmierung einer automatischen Stabilisierung von Leistung und Frequenz für die Gitter-Ti:Sa
- AP2: Charakterisierung der Gitter-Ti:Sa-Erweiterung, sobald die Laser automatisiert betrieben werden können
- AP3: Fortführung der Partikelextraktion  
Weiterentwicklung von Speziationsexperimenten, besonders in Form chemischer Auslaugungsexperimente

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Raiwa, M.; Bosco, H.; Weiss, M.; Kneip, N.; Wendt, K.; Walther, C.: "Non-destructive isotope analysis of micrometer sized hot particles from the Chernobyl environment by rL-SNMS", Migration, Kyoto, 16.09.2019, Posterpräsentation
- Weiss, M.; Bosco, H.; Raiwa, M.; Fallon, C. M.; Bower, W. R.; Warnicke, P.; Law, G.T.; Walther, C.: "Nondestructive extraction and speciation analysis of nuclear fuel particles from environmental samples", Migration, Kyoto, 19.09.2019, Vortrag
- Heller, M.: „Entwicklung und Test eines Anregungsschemas für Am zur Spurenanalyse an Brennstoffpartikeln“, 12.01.2020, Bachelorarbeit
- Heller, M.; Bosco, H.; Weiß, M.; Raiwa, M.; Walther, C.: „Untersuchung des Isotopenverhältnisses Am-241 zu Am-243 an Kernbrennstoffpartikeln mittels Laser-SNMS“, 25.09.2019, Jahrestagung der GDCh-Fachgruppe Nuklearchemie, Posterpräsentation
- Hanemann, P.; Bosco, H.; Weiß, M.; Raiwa, M.; Leifermann, L.; Walther, C.: „In-situ-Extraktion und TOF-SIMS Untersuchung uranhaltiger Partikel aus der Sperrzone Tschernobyl“, 25.09.2019, Jahrestagung der GDCh-Fachgruppe Nuklearchemie, Posterpräsentation
- Bosco, H.; Weiß, M.; Raiwa, M.; Kneip, N.; Wendt, K.; Walther, C.: „Influence of the hyperfine structure on plutonium in resonant laser-SNMS“, Hyperfine Interactions 2020, accepted, DOI: 10.1007/s10751-020-1696-2

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 044B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultrapurenanalyse, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 964.500,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Reich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die folgenden Arbeitspakete sind vorgesehen:

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Institut für Kernchemie:

Für die Laserspektroskopischen Untersuchungen an Np-239 im Institut für Physik (s. u.) wurde Np-239 am Forschungsreaktor TRIGA Mainz erzeugt und säulenchromatographisch abgetrennt.

Die Laser-SNMS- und TOF-SIMS-Messungen von mit 20  $\mu\text{M}$  Plutonium(IV)-Lösungen kontaktierten Tonmineralien zur systematischen Untersuchung des Matrixeffektes auf das jeweilige Pu-239-Signal wurden abgeschlossen und werden z. Z. ausgewertet.

Um die Fähigkeit der TOF-SIMS bezüglich der Untersuchung der Diffusion von Actiniden in Zementstein zu beleuchten, erfolgten erste TOF-SIMS-Messungen an polierten, mit 20  $\mu\text{M}$  Uran(VI) kontaktierten Zementscheiben. Mit einem kombinierten Ansatz aus TOF-SIMS und SEM/EDX konnten verschiedene Zementphasen identifiziert und Einflüsse des Elektrolyten auf die Mikrostruktur festgestellt werden. Mittels TOF-SIMS konnte Uran orts aufgelöst an der Zementoberfläche detektiert werden.

Institut für Physik:

Am RISIKO-Massenseparator wurden die spektroskopischen Messungen zur Lasermassenspektrometrischen Detektion von Curium abgeschlossen. Es wurden atomphysikalisch relevante Rydberg-Konvergenzen nahe des Ionisationspotentials für verschiedene erste Anregungsschritte von Cm-248 gemessen und verschiedene Rydberg-Serien identifiziert. Das Ionisationspotential konnte im Vergleich zu früheren Messungen deutlich präziser bestimmt werden. Für die Isotope Cm-243 und Cm-248 wurde die Isotopieverschiebung für zwei erste Anregungsschritte gemessen, die für analytische Messungen benötigt wird.

Für die Ultrapurenanalyse von Np-237 wurde ein selektives und effizientes zweistufiges Anregungsschema entwickelt. Weiterhin wurde die Isotopieverschiebung zwischen den Isotopen Np-237 und Np-239 mit hoher Präzision gemessen, um Informationen über die optische Hyperfeinstruktur zu erhalten, die die Effizienz des Anregungsschemas beeinflussen kann. Damit liegen nun auch für Curium und Neptunium alle notwendigen Daten für analytische Messungen an der Laser-SNMS-Apparatur vor. Insgesamt wurden neue selektive Anregungsschemata für U sowie die Transurane Np, Pu, Am, Cm und Cf ermittelt. Mit dem entwickelten automatisiert abstimmbaren Lasersystem mit Frequenzverdopplung kann schnell zwischen verschiedenen zweistufigen Anregungsschemata gewechselt werden, welches eine quasi-simultane Bestimmung verschiedener Actiniden ermöglicht und zudem den experimentellen Aufwand der Laser-SNMS deutlich verringert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Institut für Kernchemie:

- Weitere systematische Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Elektrolyten auf die Mikrostruktur des Zements
- Kontaktierung von Zementscheiben mit Pu-239 und Detektion mittels Laser-SNMS
- Erneute Herstellung und Abtrennung von Np-239 für die Laserspektroskopie zur Ermittlung eines dreistufigen Anregungsschemas in Zusammenarbeit mit dem Institut für Physik

Institut für Physik:

- Das Teilprojekt wurde zum Ende des Jahres 2019 abgeschlossen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 046A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 30.04.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.123.790,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Weigand

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die detaillierten Untersuchungen zu den Komplexbildungseigenschaften von substituierten Glucosamin mit Uranylionen wurden fortgeführt. Dabei konnte eine Koordination von drei Uranylionen über einen  $\mu$ -Oxo-

Liganden, jeweils von dem N- und O- Donoratom des Substituenten sowie durch die C-1 OH-Gruppe des Zuckers nach Deprotonierung auch in Anwesenheit von 1-Methyl-2-naphthol als Substituent beobachtet und vollständig charakterisiert werden.

Die Arbeiten zum Aufbau P-zentrierter tripodalen Ligandensystemen wurden weitergeführt. Die Darstellung von Liganden mit Amidfunktionen in den Podandarmen wurden trotz Anwendung verschiedener Synthesestrategien nicht erreicht, so dass die Synthese von Aminderivaten im Fokus der aktuellen Arbeiten steht. Darüber hinaus wurden die experimentellen Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten von *f*-Elementen an Biomaterialien fortgesetzt. Dabei zeigt sich, dass die Adsorptionskapazität des eingesetzten Trebers beispielweise für  $\text{UO}_2^{2+}$  von 96 mg/g durch chemische Modifikation auf 242 mg/g und durch eine Wärmebehandlung auf 220 mg/g gesteigert werden kann. Während  $^{13}\text{C}$ -CP/MAS NMR-Untersuchungen in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Brunner keine Rückschlüsse auf die an der Adsorption beteiligten funktionellen Gruppen erlauben, weisen FT-IR-Untersuchungen auf eine Koordination der Metallionen durch Carboxylgruppen.

Weiterhin wurden im 2. Halbjahr 2019 in enger Zusammenarbeit mit der Stumpf-Gruppe am HZDR die Arbeiten zur Sorption von Europium an Diatomeenbiosilikat im Hinblick auf die geplante Veröffentlichung weitgehend abgeschlossen. Das Manuskript ist fertiggestellt und wird im Februar 2020 bei einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht. Neben umfangreichen spektroskopischen Untersuchungen an den Sorptionskomplexen sind auch ICP-OES-Untersuchungen zur Quantifizierung ausgeführt worden. Wegen der vielversprechenden Ergebnisse sowie der biologischen Relevanz wurden die Sorptionsuntersuchungen auf die Wechselwirkung von *f*-Elementen mit lebenden Diatomeenzellen ausgedehnt. Die Untersuchungen sind weit fortgeschritten, eine entsprechende Veröffentlichung ist für 2020 vorgesehen.

Außerdem wurden die methodischen Arbeiten zur Kathodolumineszenz weitergeführt. Die Kathodolumineszenz wurde im Rahmen einer gemeinsam mit Frau Prof. Hieckmann von der Fakultät für Physik der TU Dresden betreuten Bachelorarbeit durch apparative Verbesserungen soweit optimiert, dass nun erstmalig die Verteilung sorbierter *f*-Elemente wie Europium räumlich aufgelöst über einzelne Diatomeenzellwände messbar ist. Eine gemeinsame Veröffentlichung dieser methodischen Arbeiten ist in Vorbereitung.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Synthese und Charakterisierung von tripodaler Alkylphosphinoxide, deren Podandarme über Amidfunktionen verknüpft sind
- Spektroskopische Studien der Ligand-Metallion-Wechselwirkungen der tripodalen Liganden in Lösung
- Durchführung von Kristallisationsexperimenten zur Gewinnung von Einkristallen der Liganden und relevanter Metallkomplexe
- Aufklärung der Ligand- bzw. Komplexstruktur durch Röntgeneinkristallstrukturanalyse
- Untersuchung ausgewählter Maillardprodukte als alternative Modellschubstanzen für Naturstoff-basierten Liganden
- Thermogravimetrische und dynamische differenzkalorimetrische Untersuchungen der synthetisierten Komplexverbindungen
- Weiterführung der Untersuchungen zur gezielten Modifikation von Treber sowie zur Adsorption von *f*-Elementen
- Weiterführung der Untersuchungen auf spezielle Arten von Chitin (z. B. Schwammchitin, chemisch modifiziertes Chitin) sowie auf lebende Diatomeenzellen

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Konferenzvorträge:

Köhler, L.; et al.: Diatom Cell Walls as Biogenic Aluminosilicates – Cultivation, Modification, and Application. The Molecular Life of Diatoms, 14.–18.07.2019, Norwich, United Kingdom

Kammerlander, K. et al.: Sorption of trivalent *f*-elements by materials of biological origin: NMR and Luminescence spectroscopic studies. Migration, 15.–20.09.2019, Kyoto, Japan

Kammerlander, K. et al.: A Spectroscopic Study of the Interactions of Trivalent *f*-Elements with  $\alpha$ -Chitin and its Constituents. 25.–27.09.2019 Jahrestagung der Fachgruppe Nuklearchemie, Dresden, Deutschland

Poster bei Konferenzen:

Köhler, L. et al.: The accumulation of aluminum in diatom frustules and modifications of the resulting aluminosilicate. BIOMIN XV, 15th International Symposium on Biomineralization, 09.–13.09.2019, München, Deutschland

J. Frötschel, et al.: Modified Phosphinoxides as tripodal ligands for *f*-block elements; Jahrestagung der Fachgruppe Nuklearchemie, 25.-27.09.2019, Dresden, Deutschland

G. Schaper, et al.: Glucosamine Schiff bases: biologically inspired ligands for the coordination of uranyl ions; Jahrestagung der Fachgruppe Nuklearchemie, 25.-27.09.2019, Dresden, Deutschland

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 046B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 30.04.2021		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 893.268,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Stumpf

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Synthese der Liganden
- AP2: Herstellung von Yttrium-86 am Zyklotron
- AP3: Komplexbildungsstudien
- AP4: Adsorptions- und Desorptionsuntersuchungen
- AP5: Zusammenfassung und Bewertung

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Arbeiten des Projekts wurden auf zwei Konferenzen mit einem Poster und einem Vortrag (Migration, Kyoto, Japan) und vier Vorträge und zwei Posterbeiträgen auf der Fachgruppentagung Nuklearchemie der GDCh in Dresden vorgestellt. Zudem hat Frau Luisa Köhler am Finale der Women in Nuklear Awards Germany in Karlstein/Main teilgenommen und dort die Ergebnisse ihrer Masterarbeit in einem eingeladenen Vortrag präsentiert.

AP1: Liganden der Phosphoramidinat-Klasse wurden in Kooperationen durch kleinere Modifikationen der Seitenketten verändert, um die Koordinationssphäre der entstehenden Komplexe besser zu sättigen. Zudem wurden Startstrukturen mit verschiedenen Alkalimetallen dargestellt.

AP2: – bereits erfolgreich abgeschlossen –

AP3: Die Arbeiten zur Komplexierung von Amidinaten und Schiffschschen Basen mit Th(IV), U(IV), Np(IV) und Pu(IV) wurden finalisiert. Durch quantenchemische Berechnungen wurden zudem Bindungsanalysen durchgeführt und Bindungsordnungen bestimmt. Die Komplexierungsversuche mit Phosphoramidinaten zeigten eine zu instabile Koordination um Kristalle zu erhalten. NMR Untersuchungen in Lösung zeigen

hohe Dynamik trotz hoher sterischer Abschirmung. Optimierungen des Liganddesigns sind geplant, werden aber vorerst zurückgestellt. Die Arbeiten zur Berechnung größerer Komplexsysteme mit natürlich vorkommenden und biologisch-inspirierten Ligandsystemen mit QM/MM Methoden wurden erfolgreich begonnen. Dabei wird die Koordinationsumgebung mit hochgenauen, quantenchemischen Methoden beschrieben, wohingegen weiter entfernte Regionen der Makromoleküle mit molekulardynamischen Methoden modelliert werden. Der dynamische Ansatz verspricht dabei, auch schwache Koordinationsstellen sowie sich dynamisch bildende Koordinationstaschen zu identifizieren. Erste Ergebnisse an Haupt- und Nebengruppenmetallkomplexen haben bereits erste interessante Resultate ergeben und werden zur Publikation vorbereitet.

- AP4: Da Actinide aufgrund ihrer Zerfallseigenschaften nicht mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) detektiert werden können und geeignete Lanthanid-Isotope als Analoga radiochemisch schwer zugänglich sind, wurde als potentieller Tracer für 3D-Transportuntersuchungen das Seltenerdmetall Yttrium(III) gewählt, welches im Sorptionsverhalten mit dreiwertigen Actiniden vergleichbar ist. Das Isotop  $^{86}\text{Y}$  (Herstellung und Aufarbeitung in AP2) hat eine ausreichend lange Halbwertszeit, jedoch nur einen geringen Positronenanteil im Zerfallsschema, wodurch störende Strahlungskomponenten stark ins Gewicht fallen. In einem Durchflussexperiment mit einer repräsentativen geologischen Matrix konnte gezeigt werden, dass sich  $^{86}\text{Y}$  dennoch gut als PET-Tracer eignet. Die Bildrekonstruktion nach einem optimierten Algorithmus ergab präzise Konzentrationsverteilungen, die als Grundlage zur Analyse von Transportprozessen verwendbar sind.
- AP5: Ein Manuskript zu den Arbeiten zum Reaktiven Transport aus AP4 wurden in Chemosphere zur Publikation angenommen. Es entstehen derzeit Publikationen zu den Komplexen der tetravalenten Actinide und den Amidinat-Systemen, Silylamid-/imid-Komplexen mit U(IV) und U(V) und den Schiffischen Basen mit vierwertigen Actiniden. Zwei der geplanten Publikationen sind derzeit im Review-Prozess. Zudem werden die ersten QM/MM Ergebnisse in ein Manuskript einfließen.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Erkenntnisse aus den Komplexierungsversuchen (AP3) fließen laufend in die Synthese neuer Ligandsysteme ein. Das Design der Liganden wird zudem maßgeblich durch begleitende quantenchemische Arbeiten im Haus unterstützt.
- AP2: – bereits erfolgreich abgeschlossen –
- AP3: Die Arbeiten zur Komplexierung von Amidinaten und Schiffischen Basen mit Th(IV), U(IV), Np(IV) und Pu(IV) werden finalisiert. Die erfolgreich begonnenen Berechnungen an komplexen biologisch-inspirierten Systemen mit QM/MM Methoden sollen nun auf die Koordination von Actiniden übertragen werden. Dabei gilt es eine Schnittstelle zwischen zwei Programmpaketen zu optimieren. Arbeiten zur Komplexierung von dreiwertigen An(III) und Ln(III) an Biosilikaten (mit AK Brunner (TUD)) mittels TRLFS werden fortgesetzt.
- AP4: – bereits erfolgreich abgeschlossen –
- AP5: Die ersten Publikationen zu den Ergebnissen von Serien tetravalenter Actinid-Komplexe mit Amidinaten und Schiffischen Basen sind bereits im Review Prozess und weitere Manuskripte werden derzeit geschrieben. Die Kooperationsarbeiten mit der TUD (AK Weigand und AK Brunner) sollen ebenso in peer-reviewed Journalen publiziert werden. Alle Ergebnisse sollen im kommenden Halbjahr in Dissertationen der beteiligten Doktoranden fließen und idealerweise zeitnah verteidigt werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Karimzadeh, L.; Lippold, H.; Stockmann, M.; Fischer, C., Effect of DTPA on europium sorption onto quartz – Batch sorption experiments and surface complexation modeling, *Chemosphere* 239(2020), 124771. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.124771 (accepted).

Radoske, T.; Schöne, S.; März, J.; Stumpf, T.; Ikeda-Ohno, A., Structural Trends in the Schiff Base Coordination Complexes of Tetravalent Transition Metals, Lanthanide and Actinides, *Inorg. Chem.* (submitted).

Vorträge:

Kammerlander, K.; Köhler, L.; Huittinen, N.; Stumpf, T.; Brunner, E., Sorption of Trivalent f-Elements by Materials of Biological Origin: NMR and Luminescence Spectroscopic Studies, Migration, 15.-20.09.2019, Kyoto, Japan

Kammerlander, K.; Huittinen, N.; Kaden, P.; Stumpf, T.; Brunner, E., A Spectroscopic Study of the Interactions of Trivalent f-Elements with  $\alpha$ -Chitin and its Constituents, GdCH Fachgruppentagung Nuklearchemie 2019, 25.-27.09.2019, Dresden, Deutschland

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 046C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.11.2016 bis 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 637.671,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kersting	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden mit den erhaltenen Hybrid-Schiff-Base/Calix[4]arenliganden sowie den Thiocalix[4]arenliganden Komplexbildungsstudien durchgeführt. Neben diversen Untersuchungen im Festkörper (u. a. Kristallstrukturanalyse) lag der Schwerpunkt der Arbeiten auf der Charakterisierung der Komplexbildung in Lösung. So wurden die Komplexbildungsreaktionen mittels UV-vis-Titrationen und ITC-Messungen der Liganden gegenüber ausgewählten dreiwertigen 4f-Elementen studiert.

Weiterhin wurden temperaturabhängige Lumineszenzmessungen (Lösung/Festkörper) durchgeführt, um den Einfluss der Gegenionen (z. B. Alkalimetallkationen) bei der Komplexbildung zu verstehen. Außerdem wurden erste NMR-Studien an heterodinuklearen Hybrid-Schiff-Base/Calix[4]aren-Komplexen in Lösung unternommen, um Informationen zur Struktur und Stabilität der Komplexe in Lösung zu gewinnen.

Mehrere neue zweikernige Lanthanoidkomplexe von Schiff-Base/Calix[4]aren-Liganden wurden synthetisiert und vollständig einschließlich Kristallstrukturanalyse charakterisiert. Diese Ergebnisse wurden auf der AutumnSchool „The Chemistry of *f*-elements“ in Dresden vorgestellt (12-16.11.2019). Es wurden einige ternäre Komplexe des Typs [Lanthanoid-Alkalimetallkation-Calixaren/Schiff-Base-Ligand] erhalten (Beitrag von Frau M.Sc. Anne Mehnert), strukturell, und spektroskopisch charakterisiert. Außerdem wurde eine neuartige *up*-Iodierung des Calix[4]arengrundkörpers etabliert, die eine Vielzahl an Folgereaktionen ermöglicht, u.a. auch die Immobilisierung der Liganden auf Festkörperoberflächen. Herr M.Sc. Tony Zielke schloss seine experimentellen Untersuchungen ab und schreibt nun seine Doktorarbeit.

Zum Nachziehen der Substanzen wird eine WHK beschäftigt, welche über das Projekt finanziert wird.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Ziel der nachfolgenden Monate ist die abschließende, vollständige analytische Charakterisierung bereits erhaltener Verbindungen, wobei insbesondere wiederum die Komplexbildungseigenschaften in Lösung und im Festkörper mittels NMR-, UV/Vis-, und Fluoreszenzspektroskopie herangezogen werden soll. Es ist geplant, die erhaltenen Ergebnisse zu publizieren. Weiterhin sollen die interessanten Lumineszenzeigenschaften im Hinblick auf eine mögliche sensorische Anwendung untersucht werden. Hierzu werden weitere Messungen mit optischer Spektroskopie vorgesehen, um den Antenneneffekt besser verstehen zu können. Noch nicht ermittelte Komplexbildungskonstanten und andere thermodynamische Reaktionsparameter sollen mittels isothermer Titrationskalorimetrie ermittelt werden. Ebenso sollen weitere Reaktionen mit den iodierten Calix[4]arenspezies durchgeführt werden, um sie auf biologischen Materialien (Chitosan, Treber, Malzrückstände) zu immobilisieren.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 051A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 811.518,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Riebe

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP2: In einer Bachelorarbeit zu Radionuklidmigration in Durchflusssäulen wurde gezeigt, dass sich Tc-99 in den Referenzböden 01A, 02A und 04A sehr mobil verhielt, während in RefeSol-03G der Großteil des Tracers im Boden verblieb. Die Annahme, dass das eingesetzte Tc(VII) zu immobilere Spezies reduziert wurde, muss in weiteren Experimenten bestätigt werden. Für I-125 wurde beobachtet, dass an RefeSol-03G am wenigsten Iod adsorbiert wurde (ca. 60 % des Tracers). Ein direkter Zusammenhang der Iod- und Tc-Mobilität mit den im Porenwasser gemessenen pH-, Eh- und DOC-Werten konnte in diesem Versuchsaufbau nicht beobachtet werden. Im Folgenden werden die Versuche unter Ausschluss von Luftsauerstoff wiederholt.

In Säulenversuchen mit Pu-238 und Am-243 in RefeSol-01A und -04A zeigte sich für Am-243 im Einklang mit den in Batchversuchen ermittelten hohen  $K_D$ -Werten eine entsprechend hohe Rückhaltung im Boden: die gesamte eingesetzte Aktivität war jeweils in der untersten Bodenschicht adsorbiert. Für die mit RefeSol-01A gefüllten Lysimeter wird momentan ein Vakuum-Probenahmesystem zur Gewinnung von Porenwasser mittels Saugkerzen in drei verschiedenen Höhen installiert.

AP3: In den Gefäßversuchen mit Weizen lagen die Transferfaktoren in RefeSol-01A und 04A deutlich niedriger als für andere Pflanzen, insbesondere für die Körner (TF = <LOD bis 0,096). Die TF für die Wurzeln lagen für RefeSol-01A (TF = 18,8 bis 43,6) höher als in RefeSol-04A (TF = 5,3 bis 25,9). Für die Blätter zeigte sich in beiden Böden vor allem, dass die TF für Tc (TF = 217,89 bis 468,30) sehr hoch waren, während sie für Iod, Am und Pu um mehrere Größenordnungen niedriger lagen (TF = 0,021 bis 9,37).

Die Kooperation mit dem SIRIUS-Projekt wird derzeit in zwei Masterarbeiten fortgeführt. Erste Tracerversuche mit Europium als Am-Homolog an Schnitten verschiedener Pflanzenteile zeigten bisher jedoch keine Ergebnisse. Um das Messsignal zu erhöhen, wird in Zukunft ein Si-Wafer als Probenhalter eingesetzt. Des Weiteren wurden mit Tc getracerte Pflanzenteile in analoger Weise präpariert und mittels einer Kopplungstechnik aus Laserablation und Massenspektrometrie analysiert. Dabei zeigte sich, dass Tc mit dieser Messmethode zunächst qualitativ bestimmbar ist und es vor allem in den Randbereichen zu einer erhöhten Radionuklidkonzentration kommt.

AP4: Die Klonierung der pflanzlichen Metabolitransporter AtGLR3.7, AtPHT1.4, AtIRT1 sowie AtNRT1.1 in einen Oozyten-Expressionsvektor sowie die elektrophysiologische Charakterisierung des AtGLR3.7 wurden abgeschlossen. Die Untersuchung des Ionentransportes von AtPHT1.4 mit verschiedenen pH-Werten und Phosphat-Konzentrationen, zeigt den höchsten Transport bei pH 6 und 1 mM Phosphat im extrazellulären Medium. Für den Nachweis der tatsächlich aufgenommenen Phosphatmenge wird ein Phosphat-Aufnahme-Assay mit Ammonium-Molybdat etabliert. Um die Expression der pflanzlichen Metabolitransporter in den Oozyten auf Protein-Ebene nachzuweisen, wurden erste Western Blot Experimente mit dem AtPHT1.4 durchgeführt. Mittels einer reversen Transkriptase (RT)-PCR wurde die Expression der mRNA der untersuchten Metabolitransporter in Erbsen untersucht und gezeigt, dass PHT1 und IRT1 exprimiert werden. Die Charakterisierung der Aufnahme und Wechselwirkung von AtGLR3.7 mit Cm(III) wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Ressourcenökologie (IRE/HZDR) fortgeführt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- Bestimmung Aktivitätskonzentrationen der Böden und TF aus weiteren Gefäßversuchen
- Säulenversuche unter O<sub>2</sub>-Ausschluss und Tracerzugabe in den Lysimeterversuchen
- Fortführung Methodenentwicklung für SIMS/LA-MS-Messungen (versch. Pflanzenteile)
- weitere Untersuchung zur Aufnahme und Wechselwirkung von Cm und Am mit AtGLR3.7 in Oozyten, Aufnahme von Tc durch AtPHT1.4
- Elektrophysiologische Charakterisierung des Ionentransportes durch AtPHT1.4 in Oozyten und Kinetik der Aufnahme von Phosphat durch AtPHT1.4-exprimierende Oozyten
- Entwicklung einer Expressionskontrolle pflanzlicher Metabolitransporter in Oozyten

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Kirsten Schmidt: Untersuchung der Radionuklidmigration in Säulen- und Lysimeterversuchen mit spektroskopischen und massenspektrometrischen Methoden (BSc)

Posterbeitrag: MIGRATION, 15.-20.09.2019, Kyoto

Posterbeitrag: GDCh, Jahrestagung Nuklearchemie, 25.-27.09.2019, Dresden

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 051B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 520.337,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Sachs	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Die zeitabhängigen Untersuchungen der Bioassoziation von U(VI) und Eu(III) (Analogon für dreiwertige Actinide) mit *Daucus carota*-Zellen wurden abgeschlossen. Die Speziation von bioassoziiertem Eu(III) an/in *D. carota*-Zellen wurde mittels site-selective time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS) untersucht. Sowohl im Nährmedium als auch an/in den Zellen wurden zwei verschiedene Eu(III)-Spezies identifiziert. Die spektroskopische Untersuchung der U(VI)-exponierten Zellen und Überstände zur Bestimmung der U(VI)-Speziation steht noch aus.

Erste Untersuchungen zur U(VI)-Aufnahme in junge Rapspflanzen (Hydrokultur) sind erfolgt und die Translokation von U(VI) in den Pflanzenteilen wurde bestimmt. Das Nährmedium der Pflanzen wurde nach erfolgter U(VI)-Exposition mittels HPLC zur Identifizierung von Pflanzenmetaboliten untersucht.

AP2/AP3: Zur Untersuchung des Einflusses von Ca-Kanälen auf den U(VI)-Transport in Pflanzenzellen wurden diese mit GdCl<sub>3</sub> blockiert und die U(VI)-Wechselwirkung dieser Zellen mit der von Kontrollzellen verglichen. Zellen, deren Ca-Kanäle blockiert waren, haben sowohl weniger Ca als auch weniger U(VI) bioassoziiert. Diese Ergebnisse liefern erste experimentelle Hinweise zur Beteiligung mechanosensitiver Ca-Ionenkanäle an der U(VI)-Bioassoziation.

Durch Proteom Analysen sollen Proteine identifiziert werden, die an der U(VI)-Aufnahme in Pflanzenzellen beteiligt sind. Eine Methode zur Etablierung optimaler Zellaufschlüsse zur Gewinnung von Proteinen wurde entwickelt. Zunächst wurden unterschiedliche mechanische Zellaufschlussmethoden getestet und der Erfolg dieser anhand der Proteinkonzentration im zellfreien Extrakt bestimmt. Das Arbeiten mit Mörser, Pistill und flüssigem N<sub>2</sub> zeigte sich als sehr effizient. Im Weiteren wurde eine Methode zur elektrophoretischen Trennung der Proteine in einem denaturierenden Polyacrylamidgel erfolgreich getestet.

In Zusammenarbeit mit dem IfB (Hannover) wurden die Untersuchungen (Bioassoziation und Speziation) zur Wechselwirkung von Cm(III) mit modifizierten Oozyten, welche heterolog pflanzliche Metalltransporter exprimieren und als Modellsystem für den pflanzlichen Metalltransport dienen, fortgeführt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Zur Identifizierung von Pflanzenzellmetaboliten sind weitere Arbeiten geplant. Neben bisherigen Methoden (HPLC, Massenspektrometrie) sollen NMR und Metabolitenprofiling herangezogen werden. Die Untersuchungen zur U(VI)-Aufnahme in junge Raps- und Karottenpflanzen (Hydrokultur) werden fortgesetzt und durch TRLFS-Messungen ergänzt. Zusätzlich werden Eu(III)-TRLFS-Messungen mit Modellverbindungen durchgeführt.

AP2/AP3: In vergleichenden Untersuchungen mit U(VI) exponierten Zellen und entsprechenden Kontroll-Ansätzen sollen differentiell synthetisierte Proteine, die eine potentielle Rolle bei der BY-2-Zell-Adaption nach erfolgter U(VI)-Exposition (inkl. Transport- und Redoxprozesse) spielen könnten, identifiziert werden. Die Experimente umfassen Bestimmungen von Proteinkonzentrationen, vergleichende SDS-PAGE zur initialen Charakterisierung des Proteinmusters hinsichtlich der getesteten Bedingungen, Optimierung und Durchführung von 2D-Gelelektrophoresen zur eindeutigen Darstellung differentiell-gebildeter Proteine, Durchführung und Auswertung von Proteom Analysen. Weiterhin soll der Zusammenhang zwischen der Veränderung des Proteoms und des Wachstumsverhaltens der Zellen untersucht und die U(VI)-Aufnahme und -Verteilung innerhalb der Zellen mikroskopisch (Fluoreszenzmikroskopie, TEM) nachgewiesen werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Jessat, J. et al.: Time dependence of the bioassociation behavior of U(VI) and Eu(III) with *Brassica napus* cells. Goldschmidt-Konferenz 2019, Barcelona, Spain, 18.-23.08.2019 (Flashtalk&Poster)

Moll, H. et al.: Interaction of curium(III) with plant cells (*Brassica napus*). 5th International Conference on Environmental Radioactivity – ENVIRA 2019, Prague, Czech Republic, 08.-13.09.2019 (Vortrag)

Jessat, J. et al.: Time and concentration dependence of the bioassociation behavior of U(VI) and Eu(III) with *Brassica napus* cells. Jahrestagung der Fachgruppe Nuklearchemie 2019, Dresden, Germany, 25.-27.09.2019 (Vortrag)

Jessat, J.: Studies on the interaction of plant cells with U(VI) and Eu(III) and on stress-induced metabolite release. WiN Germany Prize 2019, Karlstein, Germany, 11.10.2019 (eingeladener Vortrag)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 051C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 443.493,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schäfer

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Status: Bodenanalytik der Referenzbodentypen befindet sich für die Quantifizierung der mineralogischen Zusammensetzung auf dem Stand des letzten Berichtszeitraumes. Die Probenvorbereitung für die Analytik der spezifischen Oberfläche wurde durchgeführt.

- AP2: Status: Ein Strömungs- und Transportmodell für konservative Tracer ist in 1D und 3D in COMSOL realisiert. Von der Verwendung von COMSOL-PhreeqC (z. B. IcP) wird aufgrund des Zeitaufwands der Simulation in den Bodensystemen abgesehen (Jara et al. 2017 Comput. Geosci. 109, 281-294.). Ein Smart-K<sub>D</sub>-Ansatz ist im aktuellen Modell implementiert, wodurch Simulationen schneller durchgeführt werden können. Ein Strömungs- und Transportmodell ist in 1D verfügbar (in HP1; Hydrus-1D gekoppelt an PhreeqC), wobei die Komplexität des Systems für die Funktionalität des Modells noch reduziert werden musste. Die Modelle in Hydrus und COMSOL wurden miteinander validiert. Verschiedene Modelle zu Wasserretentionskurven wurden in COMSOL getestet und ergaben unterschiedliche Werte (z. B. Feststoff-Wasser-Verhältnis), welche Resultate der Transportmodellierung beeinflussen kann.
- AP3: Status: Porenwässer der vier Laborlysimeter wurden zur Überwachung zum Beginn des Berichtszeitraumes routinemäßig in definierten Abständen beprobt und mittels nasschemischer und Kolloid-Analytik untersucht. Das durchgeführte Regenereignis zum Entfernen initial mobilisierter Bestandteile wurde als erfolgreich bewertet, da über den zeitlichen Verlauf Drainage- bzw. Porenwässer mit abnehmenden Mengen gelöster (z. B. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und DOC) und partikulärer Bestandteile (kolloidale Phasen) beobachtet werden konnten. Zudem zeigte sich in situ gemessenen physikochemischen Parametern sowie mittels VisiSens System gemessenen pO<sub>2</sub> und pCO<sub>2</sub> der deutliche Einfluss des künstlichen Regenwassers in allen erfassten Tiefen. Nicht nur bei diesen Daten, sondern auch bei physikochemischen und hydrochemischen Analysen zeigte RefeSol 03G ein heterogenes Verhalten, was auf massive hydraulische Veränderungen im Porenraum schließen lässt. In Teilen war keine kontinuierliche Probenahme für diesen Refesol möglich. Das Regenereignis stellt den Beginn der Periode zur Einstellung des dynamischen pedochemischen Gleichgewichtszustandes des Porenwassers dar. Dieser Zustand wird anhand der physikochemischen und hydrochemischen Parameter überwacht und festgelegt. Zum Ende des Berichtszeitraumes, also nach ca. einjähriger Laufzeit des Experimentes, wurde dieser Zustand bei gegebenen Randbedingungen erreicht. Die Methodenentwicklung zur Charakterisierung kolloidaler Phasen mittels NTA wurde mittels Standardsuspensionen und natürlichen Porenwässern fortgeführt sowie zusätzliche Messungen mit AFM, DLS und LIBD durchgeführt. Für die qualitative Unterscheidung von Partikelpopulationen durch Einzelpartikelstreuungintensitäten wurden verschiedene Skripte auf Basis der Mie-Theorie getestet.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Ziele des AP sind auf dem Stand des letzten Berichtszeitraumes, die Analyse der spezifischen Oberfläche zur Komplettierung der Charakterisierung der Referenzmaterialien wird durchgeführt.
- AP2: Durch die unterschiedlichen Ergebnisse der Modellierung der Wasserretentionskurven ist es bisher unklar welche Rolle diese bei pedochemischen Prozessen in der Modellierung spielen. Folglich wird eine solche Simulation in HP1 durchgeführt. Die Implementierung der Hysterese im COMSOL-Modell muss ebenfalls noch durchgeführt werden. Geeignete Gleichungen für mikrobiologische Prozesse müssen ebenfalls gesichtet und implementiert werden.
- AP3: Nach Einstellung des dynamischen Gleichgewichtes des Porenwassers zum Ende des Berichtszeitraumes wird ein umfangreiches Protokoll zur Charakterisierung der Porenwässer umgesetzt. Eine Probenvorbereitung für Messungen des Porenwassers mit AMS wird durchgeführt. Bromid-Tracerexperimente sowie reaktive Transportexperimente mit Se-Spezies und Radionuklid-Homologen in Laborlysimetern werden im Anschluss begonnen. Die experimentelle Arbeit zur methodischen Weiterentwicklung der (fluo-) NTA soll mit neuen Referenzmaterialien fertiggestellt werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

- Schlechtweg, P. (2019): Vergleichende Messungen kolloidaler Suspensionen in einfachen und komplexen Matrizen mittels DLS und NTA unter Berücksichtigung interpartikulärer Prozesse. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- Stoltenberg, C. (2019): Tiefenaufgelöste Messung und Interpretation physikochemischer Parameter in Laborlysimetern mittels eines Optoden-Messsystems unter geänderten Klimabedingungen. Bachelorarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 051D
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 256.465,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Fischer	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurde für die Simulationsrechnungen des ÖI Darmstadt eine Tabelle erstellt, die mit PHREEQC abgeschätzte  $K_d$ -Werte bei verschiedenen Redoxzuständen für 4 Refesols und 3 verschiedene Nuklide (Am, Pu, Tc) enthält.

Es wurde ein Batchprogramm für PHREEQC („ $K_D$ -Multigrad“, Free Pascal/Lazarus, ca. 1200 Zeilen) fertiggestellt und getestet, mit Hilfe dessen  $K_D$ -Werte für beliebige Kombinationen aus 5 verschiedenen Parametern berechnet werden und in einer Tabelle („look-up-table“) abgespeichert werden können. Dies ist für die Transport-Rechnungen, die am AnGeo-Jena durchgeführt werden, von Vorteil, da die direkte Kopplung des Transportcodes an PHREEQC entfällt.

Für Am und Pu wurde mit Hilfe von Einzelparametervariationen abgeschätzt, welche dieser Parameter für den  $K_d$  unter den experimentellen Bedingungen der am AnGeo Jena durchgeführten Versuche für einen definierten Refesol (A1mix) am relevantesten sind (Am: DOC, Al- und Fe-Konzentration, pH, Temperatur; Pu: wie Am, zusätzlich noch pe). Die relevanten festen Phasen sind für Pu Illit (Tonanteil) und für Am org. Kohlenstoff und Illit.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Folgende Arbeiten sind für den nächsten Berichtszeitraum geplant:

- Entwicklung eines Gleichgewichtsmodells für Iod, mit dem entsprechende  $K_d$ -Matrizen erstellt werden können
- Durchführung von Einzelparametervariationen (Am und Pu) für mindestens ein anderen im Projekt verwendeten Refesol
- Durchführung von Einzelparametervariationen für Tc und Se
- Berechnung der ersten  $K_d$ -Matrizen für Am und Pu.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Auf der ENVIRA-Konferenz in Prag (08.09.-13.09.2019) wurde ein Vortrag mit dem Titel „Modelling the partitioning of Am and Pu in agricultural soils using the geochemical code PHREEQC“ gehalten.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 051E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2017 bis 31.08.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 338.312,63 EUR		<b>Projektleiter:</b> Dr. Ustohalova

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Arbeiten zu AP1.1.2b, AP1.2.1, AP1.3.1, AP1.3.2, AP1.4.1 wurden im Wesentlichen abgeschlossen. Anpassungen im ECOLEGO-Model je nach Verlauf der Bodenexperimente (Lysimeter) (AnGeo/LUH-IRS) werden im Rahmen AP1.5.1. regelmäßig diskutiert.
- AP1.5.1: Dient dem Austausch der Projektpartner. Zum weiteren Vorgehen beim Modellaufbau und der Verzahnung mit den Experimenten fand eine nachgeschaltete Sitzung nach dem Projektmeeting im November in Bremen (FSU-AnGeo/LUH-IRS/ÖI und ÖI/HZDR/LUH-IfB – AP4.4) statt. Weitere Abstimmungen erfolgen im Rahmen der Telefonkonferenzen.
- AP2.1.2: Der Aufbau der Datenbank der bodenhydrologischen und transportrelevanten Parameter wird parallel mit den Programmierarbeiten (FS-AnGeo/UB-IUP/ÖI) und dem Fortschritt der Bodenexperimente (AnGeo/LUH-IRS) fortgesetzt. Zusätzlich werden die Parameter des Transfers Boden-Wurzelzone Pflanze (AP4.4 - LUH-IRS/HZDR/LUH-IfB) eingepflegt. Die Datensätze der zentralen Datenbank beinhalten alle Parameter/Wertebandbreiten und deren physikalisch-mathematischen Abhängigkeiten. Die für die ECOLEGO-Modeltools relevanten Parameter und Abhängigkeiten fließen in die softwareeigene ECOLEGO-Bibliothek ein, in welcher auch die Verteilungsfunktionen der Parameterwerte zur Monte-Carlo Simulation definiert werden. Der zentrale Parameter ist dabei der  $K_d$ -Wert (pH/pe Abhängigkeiten): Eine wesentliche Datenquelle der  $K_d$ -Werte sind die Experimente sowie die Smart- $K_D$ -Modellierung in PHREEQC (UB-IUP).
- AP2.4.1b: ist abgeschlossen. Die Kooperation FS-AnGeo/ÖI wird im AP2.5.2b fortgesetzt.
- AP2.5.2b: Die Programmierarbeiten zur Wasserbewegung im kapillaren Saum und den Transportberechnungen innerhalb einer Bodenschicht in ECOLEGO erweitern die Darstellung um die Horizonte des Gesamtbodenprofils der Soll-/Ist-Böden (Mehrschichtmodell). Die großskalige Darstellung (Aufskalierung) wendet die numerische Form der 1D-Richards-Gleichung bzw. der 1-D Konvektions-Dispersions-Gleichung mit Finite Volumen Methode an. Entsprechend den gewählten Klimabedingungen der Bodengenese (AP1.3.1, 1.3.2) werden Niederschlagsmengen und Evapotranspiration unterstellt. Somit wird die Wechselwirkung Gravitations-/Kapillarwasser und deren Einfluss auf Transport abgebildet. Die von UB-IUP bislang ermittelten  $K_d$ -Werte und pH/pe Abhängigkeiten (Smart- $K_D$ ) werden entsprechend der ECOLEGO-Parametrisierung angepasst und berücksichtigt (AP2.1.2). Der Vergleich/Verifikation der Zwischenergebnisse zwischen FS-AnGeo und Öko-Institut fokussiert gegenwärtig auf den Einfluss der unterschiedlichen Parametrisierung sowie der Vereinfachung der Darstellung der Retentionskurve. Hier besteht ein weiterer Klärungsbedarf, dazu wird ein Treffen geplant. Ein Teil der Verteilungsfunktionen der Parameterwerte wurde im Modul zur Monte-Carlo Simulation implementiert (AP2.1.2). Das Tool zur Berechnung der Langzeitreihen von Biosphere Dose Conversion factors (BDCF) wird gem. Projektfortschritt erweitert, indem das Bodenmodell in das Expositionsmodell implementiert wird.
- AP4.4: Der konzeptuelle Ansatz zum Kompartimentmodell der pflanzlichen Systeme in ECOLEGO wird mit LUH-IfB und HZDR abgestimmt. Es findet Implementierung in ECOLEGO statt, welche auf den Wurzel-Boden Bereich fokussiert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.5.1: Kontinuierliche Absprache mit Projektpartnern: Treffen und TK Konferenzen.
- AP2.1.2: Fortsetzung Aufbau Datenbank mit Parametern zur Bodenhydrologie.
- AP2.5.2b: Fortsetzung der Arbeiten zum Aufbau der Modelltools in ECOLEGO, weiterer Austausch mit FS-AnGeo und UB-IUP. Treffen mit FS-AnGeo in Jena soll im März/April 2020 stattfinden.
- AP4.4: Fortsetzung Modelkonzept ECOLEGO, Austausch mit LUH-IfB und HZDR-IRE zu deren Experimentaufbau und –Ergebnissen. Konsultationen mit Fa Facilia (ÄF) zu Software ECOLEGO.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Projektstatusgespräch zur BMBF-geförderten Nuklearen Sicherheitsforschung Gesamtpräsentation Projekt Trans-LARA

Fachworkshop der Bundesgesellschaft für Endlagerung BGE, Endlagerung im Dialog mit Wissenschaft und Öffentlichkeit Braunschweig: Gesamtpräsentation Projekt Trans-LARA

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 631.302,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Bosbach	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Mit dem – komplementär aus Mitteln des BMBF und der HGF geförderten – multidisziplinären Vorhaben iCross sollen wissenschaftliche Grundlagen für die Beantwortung dringender Fragen und Herausforderungen im Zusammenhang mit der sicheren Entsorgung radioaktiver Abfälle geschaffen werden. Wesentliches Ziel dabei ist die Entwicklung eines umfassenden Prozessverständnisses auf Basis fortschrittlicher Experimente im Labormaßstab sowie in Untertagelaboren, um Unsicherheiten quantifizieren zu können und wesentliche Prozesse inkl. ihrer Kopplungen zu beschreiben und relevante Prozessparameter zu identifizieren. Diese Prozesse und Prozessparameter sollen in innovative Simulations- und Modellprogramme implementiert werden, um verlässliche und realitätsnähere Vorhersagen für die Entwicklung eines Endlagersystems vornehmen zu können. Das Vorhaben soll dabei u. a. auch die wissenschaftlichen Grundlagen für einen kriterien-basierten Vergleich verschiedener Endlagersysteme in unterschiedlichen Wirtsgesteinsformationen sowie unterschiedlichen Standortregionen liefern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben gliedert sich in 4 Arbeitspakete (AP):

- AP1: Laborexperimente: Charakterisierung von Probenmaterial aus der sandigen Fazies des Opalinuston und Durchführung von Diffusionsexperimenten mit HTO und Ra-226.
- AP2: Feldexperimente in URLs: Analyse des Einflusses makroskopischer Heterogenitäten und von Temperatureffekten auf Radionuklidmigration und Nahfeldgeochemie.
- AP3: Simulation: Entwicklung mathematisch und physikalisch konsistenter Beschreibungen gekoppelter Prozesse sowie modellbasierte Analyse von Effekten von Heterogenitäten.
- AP4: Integration: Wissenschaftlich/technische Koordination des Vorhabens; Integration der Ergebnisse.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Charakterisierung einer ersten Probenserie aus der sandigen Fazies des Opalinustons (OPA) aus dem Untertagelabor Mont Terri u. a. mittels XRD, SEM/EDX, und TG-DSC sowie Bestimmung der Sorptionseigenschaften bzgl.  $^{226}\text{Ra}$ . Vorbereitende Arbeiten (u. a. Konstruktion von Diffusionszellen, Probenpräparation, Methodenentwicklung) zur Durchführung von Diffusionsexperimenten (HTO und  $^{226}\text{Ra}$ ) mit Proben aus der sandigen OPA Fazies.
- AP2: Weiterführung der Planungsarbeiten zum DR-C Experiment ("Diffusion in a thermal gradient") in Mont Terri in Zusammenarbeit mit FANC, BfE und weiteren iCross-Partnern; Vorbereitungsarbeiten für das Technical Meeting TM-38 in Hinblick auf das CI-D Experiment ("Diffusion across 10-year old concrete/claystone interface").
- AP3: Evaluierung von Modellansätzen zur Beschreibung der Oberflächenpassivierung bei "Dissolution/Reprecipitation" Prozessen in reaktiven Stofftransportmodellen. Durchführung von orientierenden Modellrechnungen zur Thermodiffusion (Ludwig-Soret Effekt) in Tongesteinen auf dem Porenmaßstab.
- AP4: Vorbereitung und Durchführung des iCross Kick-off Meetings in Berlin; weitere Abstimmung mit den Projektpartnern bzgl. der Durchführung von koordinierten und kohärenten "Proof-of-concept" Studien zu den Themen "Radionuclide and gas transport across an evolving near field" und "Heterogeneity across scales".

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im 1. Halbjahr 2020 sollen im Rahmen des AP1 die Arbeiten zur Charakterisierung von Proben aus der sandigen OPA Fazies fortgesetzt werden und erste HTO Durchdiffusionsexperimente durchgeführt werden. Zudem sollen (in Zusammenarbeit mit dem PSI) die Methodenentwicklung für die "In diffusion" Experimente mit  $^{226}\text{Ra}$  abgeschlossen werden und der Aufbau der hierfür vorgesehenen Diffusionszellen erfolgen. In AP2 sind weitere Planungsarbeiten bzgl. der finalen Ausgestaltung des DR-C Experiments in Mont Terri sowie – im Rahmen des TM-38 – Abstimmungen mit den Mont Terri Partnern bzgl. der Modellierung des CI-D Experiments vorgesehen. Im Rahmen von AP3 sind weitere Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Porositäts-Permeabilitätsbeziehungen und zur Beschreibung von Oberflächenpassivierungseffekten in reaktive Stofftransportmodelle auf dem Kontinuumsmaßstab geplant. Des Weiteren werde die Arbeiten zu den Benchmarkstudien und den "Proof-of concept" Studien weitergeführt (AP4).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Poonoosamy, J., Klinkenberg, M., Deissmann, G., Brandt, F., Bosbach, D., Mäder, U., Kosakowski, G. (2020): Effects of solution supersaturation on barite precipitation in porous media and consequences on permeability: experiments and modelling. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 270, 43-60

Poonoosamy, J., Westerwalbesloh, C., Deissmann, G., Mahrous, M., Curti, E., Churakov, S.V., Klinkenberg, M., Kohlheyer, D., Bosbach, D., Prasianakis, N.I. (2019): A microfluidic experiment and complementary pore scale modelling diagnostics for assessing mineral precipitation and dissolution in confined spaces. *Chemical Geology*, 528, 119264

4 Tagungsbeiträge (Goldschmidt 2019, GeoMünster 2019, BGE Tage der Standortauswahl 2019)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 502.109,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Stumpf	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben "iCross" bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsbereichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalenübergreifend mit fortgeschrittenen Simulationen zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Die Arbeiten konzentrieren sich auf Wirtsgesteine (Kristalline und Ton), die in der Vergangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen.

Das Projekt wird im Rahmen eines Verbundvorhabens mit dem FZJ, KIT, UFZ und GZF durchgeführt.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben gliedert sich in Arbeitspakete:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Untersuchungen zur Sorption von Eu(III) und Cm(III) an Graniten: Durchführung von örtlich aufgelösten Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und  $\mu$ TRLFS-Messungen an Granitdünnschliffen (Eibenstock, Sachsen und Aspö, Schweden) beladen mit Eu(III) und Cm(III).

Untersuchungen zur Sorption von Eu(III) an Kalzit als wichtige detritische und diagenetisch rekristallisierte Komponente der sandigen Fazies des Opalinustons: Durchführung von ortsaufgelösten Messungen zur Nanotopografie (Interferometrie), Kristallorientierung (EBSD) sowie der Konzentration (Autoradiografie,  $\mu$ TRLFS). Statistische Auswertung der Variabilität der Oberflächenreaktivität.

AP3: Erstellen eines neuen numerischen Ansatzes zur Oberflächenkomplexierung (SCM) (Eu(III) und Kalzit) unter Berücksichtigung der Nanotopografie. Parametrisierung und Validierung mit experimentellen Daten.

Monte Carlo (MC) – Simulation der Sorption von Eu(III) an Schichtsilikatoberflächen unter Berücksichtigung der Nanotopografie (Kristall-Einzellagen).

Fortführung der Erstellung eines 2D-Transportmodelles mit den geochemischen Randbedingungen des ausgewählten Testfalles. Simulation des Testfalls mit OpenGeoSys (OGS) und Verifizierung/Validierung der Ergebnisse.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Vergleich der Ergebnisse der Sorption an verschiedenen Graniten sowie Vergleich der Sorption von Eu(III) und Cm(III) miteinander.

Diffusionsexperimente mit PET-Analytik zur Untersuchung der Heterogenität der Fluidausbreitung unter niedrigpermeablen Bedingungen in der sandigen Fazies des Opalinustons.

AP3: Entwicklung eines reaktiven Transportmodelles auf der Poren-/Korngrenzenskala der sandigen Fazies des Opalinustons. Implementierung von SCM/MC und des diffusionskontrollierten Transports. Validierung mit exp. Daten.

Regelmäßige Arbeitstreffen mit Projektpartner UFZ zur Weiterentwicklung der Strategie für die Implementierung des smart Kd-Konzeptes in OGS. Zuarbeiten zu geplanten UFZ Benchmark-Buch. Durchführung weiterer Arbeitstreffen mit Projektpartner GFZ zur Weiterentwicklung deren konzeptuellen Modelles.

### 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 053C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 540.067,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Geckeis	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben „iCross“ bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsreichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalenübergreifend mit fortgeschrittenen Simulationsmethoden zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Schwerpunkt der Arbeiten in URLs liegt auf Mt. Terri (Tonstein), wo derzeit mit starker deutscher Beteiligung ein neuer Experimentaltunnel entsteht. Weitere Beteiligungen an Experimenten im Grimsel Felslabor (Kristalline Gestein) sind vorgesehen. Die Arbeiten konzentrieren sich damit auf Wirtsgesteine, die in der Vergangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen. Ein weiterer Fokus liegt auf der Einbindung und Vernetzung junger Wissenschaftler/innen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Laborexperimente: Diffusion und Grenzflächenprozesse
- AP2: In-situ-Experimente Untertagelabor
- AP3: Reaktive Transport Modellierung
- AP4: Koordination und Integration der Projektergebnisse

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Pulverproben wurden aus verschiedenen Bereichen (Lithologien) des Bohrkerns BMB-A7 der sandigen Opalinustonfazies hergestellt. Die Charakterisierung des Pulvers ( $< 200 \mu\text{m}$ ) wurde fortgesetzt ( $\text{N}_2$ -BET, XRD, RFA, CEC, SEM, XPS, ICP-MS, DSC, Hg-Porosimetrie). Planung und Herstellung einer Diffusionszelle für die Untersuchung der Diffusion von Actiniden in Opalinuston.
- AP2: Das Design zum Mont Terri DR-C-Experiment (Diffusion in a thermal gradient) wurde mit den Partnern weiterentwickelt (zwei Technical Notes in Vorbereitung). UFZ konnte als weiterer Partner gewonnen werden. Es sind zwei Diffusionsversuche in den sandigen Opalinustonfazies (bei Raumtemperatur und bei  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ) geplant. Im Dezember gab es ein follow-up-Meeting mit den Partnern bei FANC in Brüssel. Nagra bzw. Amec Foster Wheeler wurde bezüglich Proben vom IC-A-Experiment (Corrosion of iron in bentonite) kontaktiert.

- AP3: Entwicklung eines Modellkonzepts zur Beschreibung der geplanten Experimente. Reaktive-Transportmodellrechnungen inklusive Diffusion, Mineral Ausfällung und -Auflösung sowie Kationenaustausch. Ab initio Berechnung von Diffusionskoeffizienten in Montmorillonit für Li(I), Na(I), K(I), Sr(II), Ca(II), H<sub>2</sub>O, HTO in der Zwischenschicht. Interner Review der Publikation der Illitstudien.
- AP4: Durchführung eines AP4 Meeting in Karlsruhe: Abschließende Definition zweier „Proof-of-Concept“ Projekte unter Beteiligung aller Projektpartner und Festlegung der Zuarbeiten.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Batch-Sorptionsversuche mit Cs<sup>+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Eu<sup>3+</sup> zur Bestimmung des Verteilungskoeffizienten (K<sub>d</sub>) an Pulverproben verschiedener Lithologien des Opalinustons (BMB-A7). Durchführung von Eindiffusionsversuchen mit Am(III) und U(VI) in Opalinuston. Die Diffusionsprofilermittlung erfolgt mittels abrasiven Abtragens. Nuklidgehalte werden mittels ICP-MS und AMS (Beschleunigermassenspektrometrie) bestimmt. Im 2. Quartal sollen neue sandige Opalinustonsproben unter Inertgasbedingungen in Mont Terri gebohrt und abgeholt werden. Pulverton (BMB-A7) wird an die Partner verteilt. Literaturrecherche und Bau des experimentellen Setups zum REV-Diffusions-experiment.
- AP2: Teilnahme am Mont Terri Technical Meeting-38 in Porrentruy; Antrag eines neuen Diffusions-experiments in der sandigen Opalinustonfazies unter Einbeziehung geophysikalischer Charakterisierungsmethoden zum Studium der Heterogenität zusammen mit GFZ; Entwicklung und Bau des Diffusionssetups für die Laborversuche zum DR-C-Experiment am KIT-INE. Bentonit-Fe/Cu-Proben vom IC-A-Experiment werden mittels XPS und Synchrotronmethoden untersucht.
- AP3: Reaktive-Transportmodellrechnungen zur Endlagerentwicklung eines generischen Endlagernahfelds im Tonstein unter Verwendung von Daten aus der Literatur. Erweiterung des DFT Montmorillonit Modells um explizite Kanten, um den Einfluss von Kationen auf das Porenvolumen zu untersuchen.
- AP4: Fertigstellung 5 seitiger Beschreibungen der „Proof-of-Concept“ Projekte.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

Glückman, D., Ultra-trace determination of actinides in clay systems with accelerator mass spectrometry & development of a diffusion setup for reducing conditions, Institut für Kernchemie, Mainz, 02. Dezember 2019, eingeladen

Heberling, F.; Klacic, T.; Eng, P.; Preocanin, T.; Lützenkirchen, J. Structure and surface complexation of the calcite-water-interface, Goldschmidt Conference 2019, 18. – 23.08. 2019, Barcelona, Spain

Chaparro, M.C., Saaltink, M.W., Geochemical reactions and tritium transport in concrete cells for storing radioactive waste, Goldschmidt Conference 2019, 18. – 23.08. 2019, Barcelona, Spain

Poster: L. Zunftmeister, Z. Nie, F. Heberling, R. Marsac, K. Hanna, N. Finck, C. Liu, J. Lützenkirchen, Selenite and Strontium breakthrough in a column of goethite coated sand: experiments and modelling, Goldschmidt Conference 2019, 18. – 23.08. 2019, Barcelona, Spain

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.279.364,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kühn	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das interdisziplinäre Vorhaben „iCross“ bündelt F+E Expertisen in der Helmholtz Gemeinschaft zu den Themen Nuklear-, Geo-, Biowissenschaften sowie Umweltsimulationen in einem forschungsbereichsübergreifenden Projekt. Dabei werden bislang nicht vollständig verstandene Prozesse von der molekularen Ebene bis zur regionalen Skala untersucht, bewertet und beschrieben. Ziel ist es, gezielt Laborexperimente zu planen und durchzuführen, Parameter abzuleiten, und relevante Abläufe skalenübergreifend mit fortgeschrittenen Simulationsmethoden zu beschreiben ("Upscaling"). Die Validierung der Simulationen erfolgt experimentell, teils in Untertagelabors (URL). Schwerpunkt der Arbeiten in URLs liegt auf Mont Terri (Tonstein), wo derzeit mit starker deutscher Beteiligung ein neuer Experimentaltunnel entsteht. Weitere Beteiligungen an Experimenten im Grimsel Felslabor (Kristallingestein) sind vorgesehen. Die Arbeiten konzentrieren sich damit auf Wirtsgesteine, die in der Vergangenheit nicht im Fokus der deutschen Endlagerforschung standen.

Verbundpartner des iCross-Projektes sind die folgenden Helmholtz-Zentren:

- Forschungszentrum Jülich GmbH (FZJ)
- Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum (GFZ)
- Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR)
- Karlsruher Institut für Technologie (KIT)
- Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH (UFZ)

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben iCross ist in folgende vier Arbeitspakete (AP) untergliedert:

AP1: Laborexperimente

AP2: Experimente in Untertagelaboren

AP3: Modellierungen und Simulationen zum Prozessverständnis und der Systemanalyse

AP4: Integration

Im Rahmen des BMBF-Vorhabens erfolgen vom GFZ Beiträge in folgenden Arbeitspaketen:

AP1 - Aufgabe 1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse

AP2 - Aufgabe 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung

AP4 - Aufgabe 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- 1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse: In einer Paterson-Gasdruckapparatur wurden 35 verschiebungskontrollierte Versuche durchgeführt. Der Fokus lag auf dem Einfluss von Temperatur, Belastungsrate und Mantelspannung auf das Verformungsverhalten von Opalinuston der sandigen Fazies unter Berücksichtigung der Probenorientierung relativ zur bestehenden Schichtung. Zudem erfolgten Versuche zum Einfluss von Wassersättigung, Vorkonsolidierung und Porendruckrandbedingung auf das Deformationsverhalten. Das Verformungsverhalten zeigt nur eine schwache Abhängigkeit von Temperatur und Belastungsrate für 45° und 90° orientierte Proben. Den größten Einfluss auf die Maximalspannungen hat die Erhöhung des Manteldrucks und des Wassergehalts.
- 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung: Die im Januar 2019 akquirierten seismischen Daten aus Mont Terri wurden weiter ausgewertet und die Leistungen der beiden Untertageseismik-Quellen im Hinblick auf die angeregten Frequenzen und das Amplitudenverhalten verglichen. Die Analysen geben Aufschluss über die empfohlenen Einsatzbereiche der Quellen. Zudem wurde die tomographische Auswertung unter Einbeziehung der aus früheren Untersuchungen schon erkannten Anisotropie des Opalinustons fortgesetzt. Ein Arbeitsablauf wurde erstellt, der eine anisotrope Korrektur der gemessenen Laufzeiten vor der tomographischen Inversion beinhaltet.
- 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren: Neben der kontinuierlichen Fortentwicklung der Experimente an denen das iCross-Projekt beteiligt ist, wurden drei Bohrungen als Ergänzung zu den mikrobiologischen und hydrogeologischen Experimenten niedergebracht. Zwei dienten der sterilen Probengewinnung aus der neu aufgeschlossenen sandigen Fazies und die dritte der Charakterisierung der Passwangformation.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- 1.4: Proben einzelner Deformationsexperimente werden mittels Röntgendiffraktometrie und -fluoreszenz untersucht. Durch mikrostrukturelle Analysen werden Deformationsmechanismen bei variierenden Versuchsbedingungen untersucht. Mithilfe von Sekundärelektronen-Bildern wird die 2D-Porenverteilung von deformierten Proben in Zonen lokalisierter Deformation in ton- und sandreichen Bereichen im Rasterelektronenmikroskop gemessen. Der quantitative Vergleich der Porenverteilung von intaktem und deformiertem Material soll die Entwicklung eines Deformationsmodells unter Berücksichtigung von Probenorientierung und bestehendem Materialkontrast ermöglichen.
- 2.5: Es wird die Weiterführung der Auswertung der ELVIS Messung und die Vermessung eines längeren ELVIS-Profiles in Mont Terri erfolgen. Eine Wiederholungsmessung mit Fokus auf die Impaktquelle wird vorbereitet und durchgeführt. Zudem erfolgen die Prüfung auf Wiederholbarkeit der Auswertung (Tomographie) und erste synthetische seismische Modellierungen für das Untersuchungsgebiet.
- 4.3: Die Planungen für die Experimente der kommenden Entwicklungsphase in 2021 des Untergrundlabors Mont Terri haben begonnen. Insbesondere soll es ein neues Diffusionsexperiment unter Leitung von iCross in der sandigen Fazies geben.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 053E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2018 bis 30.06.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 740.139,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Kolditz	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des iCross-Vorhabens ist die Entwicklung einer experimentellen und numerischen Plattform für die Endlagerforschung, die ein verbessertes, skalenübergreifendes Prozessverständnis der thermo-hydro-mechanischen (THM) und chemisch-mikrobiologischen (CB) Vorgänge im Nah- und Fernfeld potenzieller Endlagerstandorte in verschiedenen Wirtsgesteinen gewährleistet. Die Projektarbeiten dienen wesentlich der Entwicklung und Validierung von Methoden zur Beschreibung des Systemverhaltens in verschiedenen, wechselwirkenden Kompartimenten eines Endlagersystems. Das BMBF-Vorhaben ist eng verknüpft mit einer Sondermaßnahme des Impuls- und Vernetzungsfonds der Helmholtz-Gemeinschaft (FKZ SO-093). Durch das multidisziplinäre Vorhaben werden die Forschungsaktivitäten des FZJ, KIT und HZDR im Bereich Radio-, Geo- und Biochemie (Helmholtz-Programm NUSAFE im Forschungsbereich Energie) mit der Expertise von UFZ und GFZ (Forschungsbereich Erde und Umwelt) in den Geowissenschaften und der Systemanalyse verknüpft.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben ist in vier interagierende Arbeitspakete strukturiert: Laborversuche (WP1), Experimente in Untertagelaboren (WP2), Modellierung und Simulation für Prozess- und Systemanalyse (WP3) sowie Integration/Synthese der Arbeiten und Ergebnisse (WP4).

Durch den Zuwendungsempfänger werden im Bereich der Simulation numerische Methoden zur Analyse von THM- und THC-Prozessen in untertägigen Gesteinen unter Berücksichtigung struktureller Diskontinuitäten und geochemischer Heterogenitäten entwickelt und in die wissenschaftliche Open-Source-Software OpenGeoSys (OGS) implementiert. Als Gesteine werden Ton und Kristallin mit dafür typischen Diskontinuitäten sowie Heterogenitäten unter Verwendung spezieller numerischer Ansätze betrachtet. Die biogeochemischen Randbedingungen der Metallkorrosion unter typischen Bedingungen eines möglichen Endlagers werden darüber hinaus in Laborexperimenten untersucht. Damit erarbeitet das UFZ spezifische Beiträge zu den Arbeitspaketen WP1, WP3-AP1 (Mehrphasenprozesse), WP3-AP2 (reaktive Transportprozesse), WP3-AP3 (stochastische FEM und Unsicherheitsanalyse) sowie WP4.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden durch den Zuwendungsempfänger folgende Arbeiten durchgeführt und die nachfolgend aufgeführten wesentlichen Ergebnisse erzielt:

WP1: Mikrobiologie

- Kultivierung der korrodierenden Mikrobe IM1-8 mit Wasserstoff sowie mit Coupons aus zwei verschiedenen Stählen sowie aus Kupfer: Dafür wurden Methoden für die Präparation der korrodierten Coupons für korrelative Mikroskopie sowie Nanoanalytik entwickelt, z. B Nano-Lithographie der von IM1-8 gebildeten Eisenminerale

- Imaging von Bentonit mit Bentonit-verwitternden Mikroben (mit GFZ), Mikroanalytik an von einem Halobacterium biomineralisiertem Europium (mit HZDR)

#### WP3-AP1: Mehrphasen-Mechanik (TH2M)

- Weiterentwicklung des OGS-TH2M Modellteils zur Berücksichtigung temperatur- und spannungsabhängiger Porositäts- und Permeabilitätsänderungen sowie deren Rückkopplungen auf das Strömungsfeld
- „Experimental Design“ für das DR-C Experiment in Mt. Terri (Diffusionsprozesse in thermischen Gradienten) (mit WP3-AP2)

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

- Implementierung des Smart- $K_D$ -Konzepts zur Modellierung der Radionuklidmigration im Rahmen der Programmkopplung von OGS-6 und iPhreeqc (mit HZDR)
- Unterstützung des KIT (WP1) bei der Simulation geochemischer Experimente
- Signifikante Verbesserung der Recheneffizienz des OGS#iPhreeqc Codes (bis Faktor 20)

#### WP3-AP3: Unsicherheitsanalyse

- Anwendung und Validierung der „Design-of-Experiments“ Methode mit einem analytischen THM-Problem (Chaudry et al. 2019).
- Signifikante Verbesserung der Recheneffizienz des Workflows durch Parallelisierung von ogs6py (OGS Python-Schnittstelle), weitere funktionale Schnittstellen (netCDF4, VTK)

#### WP4: Networking und Synthese

- Monatliche Treffen mit den Verbundpartnern: Reaktive Transportmodellierung und gemeinsame Präsentationen (German Chemical Society Conference, 2019 in Aachen)
- Präsentation: Visualisierungsstudie auf dem iCROSS Statusmeeting (04.11.2019, Berlin), iCROSS Präsentationen (DECOVALEX Symposium, Tage der Standortauswahl der BGE)

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- WP1: Untersuchung der mikrobiellen Korrosion der Stahlcoupons in einer Zeitreihe, Entwicklung von Strategien für korrelative Mikro-Analytik mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie und Ramanmikroskopie um die kristallographische Struktur der gebildeten Eisenminerale zu klären, Genomics und Proteomics des Archäons IM1-8 (kultiviert auf Wasserstoff/Stahl), Experimente zur physiologischen Charakterisierung von IM1-8 (ToF-SIMS)
- WP3-AP1/2/3: Erstellung einer systematischen Benchmark-Reihe zur Validierung des TH2M-Gesamtmodells (alle Prozesskopplungen), Entwicklung und Implementierung eines vereinfachten Ansatzes zur Beschreibung einer spannungsinduzierten Dilatanzzone im Tongestein mit veränderten hydraulischen Parametern, Auswertung von EURAD-GAS Datensätzen/Verifizierung des OGS#iPhreeqc Modells mit zahlreichen Anwendungsbeispielen/Anwendung des Workflows für Unsicherheitsanalysen (z. B. FE-Experiment in Mt. Terri), Einbeziehung von Heterogenitäten in die Unsicherheitsbetrachtungen
- WP4: iCROSS Präsentationen: 38 TM (29.-30.01. Mt. Terri); Smart- $K_D$  Workshop (05.-07.02. HZDR), PhD Workshops zu Reaktiven Transportprozessen und OGS-RTM Trainingskurs (16.-17.03.2020, UFZ), DECOVALEX 2023 (28.-30.04. Berkeley), EGU Session “Towards a safe nuclear waste repository - assessment of barrier integrity, geoscientific, technological, societal and regulatory challenges and approaches”, Clay Conference (08.-11.06. Nancy).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

A.A. Chaudhry, Buchwald, J., Kolditz, O., Nagel, T. (2019): Consolidation around a point heat source (correction & verification). *Int J Numer Anal Meth Geomech*, 43(18): 2743–2751

T. Nagel et al.: Herausforderungen in der THMC Modellierung für die Endlagerforschung. Schnittstellen, Prozessbeschreibung, Softwareentwicklung. Tage der Standortauswahl der BGE. 12.12.2019, Braunschweig

H. Shao, Y. Wang, O. Kolditz, T. Nagel, T. Brüning (2019): Approaches to multi-scale analyses of mechanically and thermally-driven migration of fluid inclusions in salt rocks. *Phys Chem Earth A/B/C*, 113: 1–13

T. Vitova, I.V. Montoya, et al. (2020): Competitive reaction of Neptunium (V) and Uranium (VI) in potassium–sodium carbonate-rich aqueous media: Speciation study with a focus on high-resolution X-ray spectroscopy. *Inorg. Chem.* 59 (1), 8 – 22



## **2.3 Strahlenforschung**

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 032</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 30.06.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<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: Arbeiten zur Bedeutung von ERG für Reparaturdefekte in Prostatatumoren wurden an Hand von frischen Gewebeproben weitergeführt.
- AP2: Ein Manuskript zur Bedeutung von Chk1 für die zelluläre Toleranz von DNA-Replikationsstress wurde zur Veröffentlichung eingereicht. Ein Manuskript zur Mislokalisierung von BRCA1 in ABRAXAS1-Mutationsträgern wurde veröffentlicht.
- AP3: Ein Manuskript zur Identifikation, Charakterisierung und mechanistischen Analyse eines für das Therapieansprechen bei GBM relevanten Signalwegs (M3.2/3.3) wurde erneut revidiert und wieder eingereicht. Untersuchungen zu Targets und Biomarkern wurden fortgeführt, u.a. mittels Kinom-Analysen. Ein Manuskript zur Rolle der Src-Kinasefamilie bei Kopf-Halstumoren wurde erstellt und eingereicht. Eine vergleichende Studie zu EGFR-Expression und -aktivität in Kopf-Halstumoren wurde veröffentlicht.
- AP4: Ein Manuskript zum Einfluss der Expression von Ku auf das Überleben von Kopf-Halstumorphatienten in Abhängigkeit vom HPV-Status (M4.4) wurde zusammengestellt und zur Veröffentlichung eingereicht.
- AP5: Arbeiten zur kontinuierlichen Aktualisierung, curricularen Abstimmung und Forschungsvernetzung der strahlenbiologischen Lehrinhalte in Vorlesungen, Seminaren und Praktika wurden fortgesetzt sowie deren Integration in das Lehrkonzept der „Hamburg School of Oncology“ begonnen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Zusammenstellung, finale Auswertung, Interpretation und Veröffentlichung der verbleibenden Daten.
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zu Biomarkern für individualisierte Therapieansätze in HNSCC und GBM und deren Validierung (M3.3 & M3.4).
- AP4: Biomarker-Validierung und Etablierung neuer Targets für HPV-pos HNSCC (M4.4 & M4.5).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms. Insbesondere Integration strahlenbiologischer Inhalte in das Lehrkonzept der Graduiertenschule des Hamburger Krebszentrums, der „Hamburg School of Oncology“.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Bose M, Sachsenweger J, Laurila N, Parpys AC, Willmann J, Jungwirth J, Groth M, Rapakko K, Nieminen P, Friedl TWP, Heiserich L, Meyer F, Tuppurainen H, Peltoketo H, Nevanlinna H, Pylkäs K, Borgmann K, Wiesmüller L, Winqvist R, Pospiech H.: BRCA1 mislocalization leads to aberrant DNA damage response in heterozygous ABRAXAS1 mutation carrier cells. *Hum Mol Genet.* 2019 Oct 20. pii: ddz252. doi: 10.1093/hmg/ddz252

Kriegs M, Clauditz TS, Hoffer K, Bartels J, Buhs S, Gerull H, Zech HB, Bußmann L, Struve N, Rieckmann T, Petersen C, Betz CS, Rothkamm K, Nollau P, Münscher A.: Analyzing expression and phosphorylation of the EGF receptor in HNSCC. *Sci Rep.* 2019 Sep 19;9(1):13564. doi: 10.1038/s41598-019-49885-5

<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 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.171.890,00 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 Organgeweben (Gehirn, Haut, Herz, Lunge, Niere, Testis) die RF sowohl in ausdifferenzierten Funktionszellen als auch in Gewebespezifischen Stammzellen (spermatogonische Stammzellen in Testis, epidermale Stammzellen der Haarbalgregion) ausgezählt und charakterisiert, um eine potentielle Akkumulation von DNA Schäden zu erfassen. Es sollen mögliche Unterschiede in der Akkumulation von RF in den verschiedenen Funktionszellen und insbesondere in den langlebigen Stamm-/Vorläuferzellen untersucht und zusätzlich mittels der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) charakterisiert werden.

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Im Mausmodell mit juvenilen und adulten Versuchstieren konnten wir zeigen, dass eine fraktionierte Niedrig-Dosis-Bestrahlung zu einer deutlichen Störung der hippocampalen Neurogenese führt (Schmal Z. et al. 2019). Daraufhin wurde in den letzten Monaten wurde der Einfluss einer fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung auf eine potentiell chronische Neuroinflammation untersucht. Die Quantifizierung der Neuroglia in der Hippocampus-Region zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung (1 m, 3 m, 6 m post-IR) ergab signifikante Veränderungen der Zellzahlen für die Mikroglia, Astrozyten und Oligodendrozyten, die für eine chronische Entzündungsreaktion sprechen. Darüber hinaus wurden bei diesen Versuchstieren auch Perfusions- und Diffusions-Messungen mittels MRT-Untersuchungen durchgeführt, um regionale Blutflussänderungen im Rahmen einer potentiellen Neuroinflammation diagnostizieren zu können. Die Ergebnisse werden zurzeit ausgewertet und sollen zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst werden.

AP4: Das Publikationsmanuskript zur klinischen Studie (RF-Quantifizierung und Charakterisierung in Blutlymphozyten bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und Rektum-Karzinomen vor und während der Radio-/Chemotherapie) wurde bei der Zeitschrift *Strahlenther Onkol* angenommen (Lorat Y et al. 2019).

Bei Patienten unterschiedlichen Alters werden im Rahmen operativer Eingriffe Hautproben asserviert, die anschließend ex-vivo mit unterschiedlichen Strahlendosen bestrahlt werden. Bei diesen humanen Gewebeproben soll die DNA Schadensantwort in Abhängigkeit vom Alter untersucht werden.

In Kooperation mit AP6 (RF als Marker der genomischen Instabilität AG Borgmann, UKE2) wurden bei triple-negativen Mamma-Ca die RPA-Foci im Rahmen der homologen Rekombination vergleichend für radio-sensitive und radio-resistente Zelllinien untersucht, und mit TEM ultrastrukturell charakterisiert. Das Publikationsmanuskript zu diesem Kooperationsprojekt (*Prevention of DNA Replication Stress Leads to Chemoresistance Despite a DNA Repair Defect in Homologous Recombination in Breast Cancer, Felix Meyer et al.*) konnte zwischenzeitlich in der Zeitschrift *Cells* eingereicht werden.

Das Publikationsmanuskript zur Charakterisierung von Foci in humanen Fibroblasten nach low-LET (Photonen) und high-LET (Kohlenstoff- und Calcium-Ionen) befindet sich in Vorbereitung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP2: Mittels Kleintier-MRT wurden 1, 3, 6 und 12 Monate nach der Bestrahlungsserie Bilddaten für die morphologische und volumetrische Analyse verschiedener Hirnstrukturen akquiriert. Nach der Bildakquisition sollen die komplexen MRT-Bilddaten mit Hilfe dem Bildverarbeitungs-Programm AMIRA™ für die morphologische Befundbeurteilung ausgewertet werden. Durch die hochaufgelöste Darstellung der unterschiedlichen Hirnregionen im zeitlichen Verlauf nach Bestrahlung sowie im Vergleich zu altersentsprechenden Kontrolltieren sollen die morphologischen Veränderungen im Sinne einer potentiellen Neurodegeneration infolge der Bestrahlungsserie erfasst werden. Durch den Vergleich der fraktionierten Niedrig-Dosis-Bestrahlung bei juvenile Versuchstieren soll die erhöhte Vulnerabilität während der postnatalen Gehirnentwicklung herausgearbeitet werden.

AP4: In den Hautproben unterschiedlich alter Probanden sollen die strahleninduzierten Foci in der Epidermis zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung mittels IFM quantifiziert und im Kontext des Chromatins mittels TEM charakterisiert werden. In Kooperation mit AP3 (RF als Marker für unterschiedliche Reparaturmechanismen, AG Mansour/Rothkamm, UKE1) werden in A549 Tumorzellen nach Bestrahlung die RPA-Foci in den S/G2-Zellen mittels TEM charakterisiert. In Kooperation mit AP5 (RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit, AG Neubeck/Krause, UKD) werden bei FaDu-Tumorzellen nach in vitro und in vivo Bestrahlung die  $\gamma$ H2AX- und 53BP1-Foci mittels TEM charakterisiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

AP2: DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises hippocampal neurogenesis. Schmal Z, Isermann A, Hladik D, Tapio S, Rube CE. *Radiother Oncol*. 2019 Aug;137:45-54

AP4: Assessment of DNA-damage by 53BP1 and pKu70 detection in peripheral blood lymphocytes by immunofluorescence and high resolution transmission-electron-microscopy. Lorat Y, Fleckenstein J, Görlinger P, Rube CE. *Strahlenther Onkol*. 2019, accepted

<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 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.300.920,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rothkamm	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das grundsätzliche Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis von DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren. Die Detektion und Reparatur strahleninduzierter DSBs erfolgt in der komplexen Chromatin-Architektur des Zellkerns. In Abhängigkeit von einer Schadenslokalisierung im Eu- bzw. Heterochromatin sind unterschiedlich komplexe Prozesse der Umstrukturierung des Chromatins erforderlich, die wahrscheinlich nicht nur die Reparaturdynamiken beeinflussen, sondern auch die erforderlichen Reparaturmechanismen bestimmen. In diesem Aufstockungsantrag sollen für die verschiedenen Fragestellungen die RF mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken im Chromatinkontext ultrastrukturell charakterisiert werden, um den Einfluss der lokalen Chromatinstruktur auf die DNA Reparatur zu untersuchen.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

In diesem Verbundprojekt sollen die RF in Normal- und Tumor-Zelllinien, Experimental-Tumoren, Tumorbiopsien mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken ultrastrukturell charakterisiert werden, um die wechselseitigen Beziehungen zwischen der lokalen Chromatinstruktur auf den verschiedenen Reparaturwegen (NHEJ, HR, PARP1-EJ) zu untersuchen.

In AP3 sollen RF zur Untersuchung der Wechselwirkung unterschiedlicher DNA-Reparaturmechanismen mit der Chromatinstruktur eingesetzt werden. Ziel ist es, für jeden Reparaturmechanismus eine spezifische Chromatinsignatur zu identifizieren, die Strahlenempfindlichkeit durch Targeting der Chromatinstruktur zu modulieren sowie einen automatisierten Chromatin-Score zu etablieren.

In AP6 soll mit Hilfe von RF der Einfluss der Chromatinstruktur auf die durch DNA-Replikations- und -Reparaturprozesse vermittelte genomische Stabilität untersucht werden. Resistenzmechanismen und der Einfluss von Histondeacetylaseinhibitoren auf Tumorstammzellen stehen hierbei besonders im Fokus.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3: Ein Manuskript zum Einfluss von ERG auf die Regulation der DSB-Reparaturwege und Verschiebung der Reparatur hin zum PARP1-abhängigen Endjoining ist in Vorbereitung.

Erste Experimente zur Interaktion von Chromatinstruktur und DSB-Reparatur wurden begonnen. Verschiedene Marker für posttranslationale Histonmodifikationen wurden etabliert zur Untersuchung der Chromatinstruktur im hormonresistenten versus hormonsensitiven Prostatakarzinom. Ein Manuskript dazu ist in Vorbereitung.

AP6: Vergleichende Analyse von DNA Reparaturfoci in Tumorzelllinien mit ihren isogenen, radioresistenten Subklonen unter Berücksichtigung der für die genomische Instabilität relevanten DNA-Reparatur- und Replikationsprozesse. Untersuchung des Einflusses von Sauerstoffradikalen in radioresistenter Tumorzelllinien zur weiteren Charakterisierung der in der S-Phase generierten genomische Instabilität. Eine Publikation zum Thema befindet sich im Journal Cells in der Begutachtung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP3: (1) Die o. g. Manuskripte fertigstellen und publizieren.  
(2) „High throughput“ Analyse von RF und Charakterisierung der DSB-Reparatur unter verstärkter Berücksichtigung von Einflüssen der Chromatinstruktur und epigenetischer Prozesse.

AP6: Charakterisierung des für die Strahlenresistenz wichtigsten an der DNA Replikationsgabel befindlichen DNA Reparaturprozesses in Tumorstammzellen unter Berücksichtigung des Einflusses der Chromatinstruktur.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Bose M, Sachsenweger J, Laurila N, Parplys AC, Willmann J, Jungwirth J, Groth M, Rapakko K, Nieminen P, Friedl TWP, Heiserich L, Meyer F, Tuppurainen H, Peltoketo H, Nevanlinna H, Pylkäs K, Borgmann K, Wiesmüller L, Winqvist R, Pospiech H. BRCA1 mislocalization leads to aberrant DNA damage response in heterozygous ABRAXAS1 mutation carrier cells. Hum Mol Genet. 2019 Oct 20. pii: ddz252. doi: 10.1093/hmg/ddz252.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 412.218,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Krause	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das grundsätzliche Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis von DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren. Die Detektion und Reparatur strahleninduzierter DSBs erfolgt in der komplexen Chromatin-Architektur des Zellkerns. In Abhängigkeit von einer Schadenslokalisation im Eu- bzw. Heterochromatin sind unterschiedlich komplexe Prozesse der Chromatin-Umstrukturierung erforderlich, die wahrscheinlich nicht nur die Reparaturdynamiken beeinflussen, sondern auch die erforderlichen Reparaturmechanismen bestimmen. In diesem Aufstockungsantrag sollen für die verschiedenen Fragestellungen die RF mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken im Chromatinkontext ultrastrukturell charakterisiert werden, um den Einfluss der lokalen Chromatinstruktur auf die DNA Reparatur zu untersuchen.

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

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

AP5.1 -> AP6 bzgl. zellulärer Strahlenempfindlichkeit der HNSCC (UKE2)

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP5.1: Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren und Biopsien

An zehn Tumormodellen wird die Anzahl der DNA-RF/Zelle nach Bestrahlung von Tumoren in vivo mittels histologischer, Mikromilieu-korrigierter semi-automatisierter Bildanalyse ermittelt und mit vorhandenen Ergebnissen zur Tumorkontrollwahrscheinlichkeit korreliert. An Tumorbiopsien soll ein standardisierter und in der klinischen Routine einfach anwendbarer ex vivo Assay zur Bestimmung der intrinsischen Strahlenempfindlichkeit mittels DNA-RF etabliert werden. Die DNA aus den vorhandenen Xenograft-Proben und aus Tumorbiopsien von Patienten sollen isoliert und die Methylom-Analysen durchgeführt werden

AP5.2: Bioinformatische Modellentwicklung

In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandenen Ergebnisse bzgl. RF in ex vivo bestrahlten Biopsien und in vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren, mit den Proteom- und Transkriptom- und den neu erhobenen Methylom-Daten integriert werden.

AP5.3: Automatisierung der RF-Detektion in Biopsien

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Immunhistochemisch und Immunfluoreszenz Färbungen wurden auf Sieben Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinom (HNSCC) Xenograftmodelle durchgeführt. Die Reparaturfoci (Gamma-H2AX) wurden ausgewertet und die Kurvensteigungen der dosisabhängigen Reparaturfoci (SDRC) wurden analysiert. Dabei zeigt die SDRC eine signifikante negative Korrelation mit den Tumorkontrolldosen (TCD50); sowohl nach Einzeldosis-Bestrahlung unter hypoxische Bedingung als auch nach fraktionierter Bestrahlung (Meneceur et al. 2019). Mit Hilfe des entwickelten gemischten Modells (Rassamegevanon et al. 2017, *Radiother. Oncol.*) wurde die erhöhte Heterogenität von Reparaturfoci in den *ex vivo* bestrahlten Tumorbiopsien relativ zu den *in vivo* bestrahlten Tumoren nachgewiesen (Rassamegevanon et al. 2018, *Int J Mol Sci.*). Die Dosisantwortkurven von den beiden Szenarien zeigte in 4 von 5 Tumormodellen keinen statistisch signifikanten Unterschied. Die Steigungen der Reparaturfoci-Kurven konnte Tumoren in zwei Resistenzkategorien klassifizieren (Rassamegevanon et al. 2019). In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Universitätsklinikum Saarland (AP4) wurde die epigenetische Modifikation zwischen den beiden Bedingungen untersucht. Dabei zeigt sich eine signifikante Veränderung der Histon-Methylierung und der Verteilung des gamma-H2AX Clusters in den *ex vivo* bestrahlten Tumorbiopsien im Vergleich zu den *in vivo* bestrahlten Tumoren. Ein Manuskript ist in Vorbereitung. Die *ex vivo* Kultivierung und Bestrahlung von lebenden Tumorschnitten in drei HNSCC Xenograftmodellen wurde durchgeführt. Die preliminären Daten zeigen die vielversprechende Funktionalität der Methodik. Die Methylom-Analyse aus den vorhandenen *in vivo* bestrahlten und unbestrahlten Xenograft-Proben von zwei Tumormodellen wurde durchgeführt. Das Ergebnis zeigt einen signifikanten Unterschied im Methylierungsprofil zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben.

#### AP5.2: Bioinformatische Modellentwicklung

In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandenen Ergebnisse bzgl. RF in *ex-vivo* bestrahlten Biopsien und *in vivo* bestrahlten Xenograft-Tumoren, mit den Proteom- und Transkriptom- und den neu erhobenen Methylom-Daten integriert werden.

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

Es wurde ein automatisches RF Detektions-Verfahren basierend auf der Open Source Software (Fiji ImageJ) entwickelt. Die Validierung und Re-Evaluierung der RF wurde durchgeführt. Das Ergebnis zeigt eine adäquate Korrelation zwischen manueller und automatischer RF-Auszählung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

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

Zusätzliche Daten aus verschiedene primären Patientenproben sollen erhoben und mit den Ergebnissen der *in vivo* Tumoren verglichen bzw. mit den Behandlungsergebnissen korreliert werden. Es wird eine Publikation angestrebt.

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

Reparaturfoci-Daten aus den lebenden Tumorschnitten im HNSCC Xenograftmodell und die verbleibenden vier Tumormodelle werden erhoben und die Analyse der gewonnenen Daten wird fortgeführt. Dabei soll die erhöhte Heterogenität in *ex vivo* kultivierten, bestrahlten Tumorbiopsien weiter untersucht werden. Mithilfe von Laser-Mikrodissektionsmikroskopischen Methoden wird die lokal-spezifische DNA-Isolation aus den FFPE Materialien von *ex vivo* bestrahlten und unbestrahlten Proben etabliert und das gewonnene Material wird für die Omics-Untersuchung verwendet.

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

Das automatische RF Detektions-Verfahren wird für die Foci-Auszählung von den verbleibenden vier Tumormodellen verwendet. Zur Validierung des Verfahrens werden sämtliche erhobene Daten re-evaluiert und eine Korrelation zwischen manueller und automatischer Auszählung analysiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Rassamegevanon et al. 2019: Comparable radiation response of *ex vivo* and *in vivo* irradiated tumor samples determined by residual  $\gamma$ H2AX. *Radiother. Oncol.* 139:94-100. doi: 10.1016/j.radonc.2019.06.038.

International Conference GRK 1739 DNA DAMAGE AND BEYOND: From molecular mechanisms to innovative concepts in treatment of cancer, Essen, Germany, 25-26 October 2019, Vortrag: Rassamegevanon T., Krause M. and von Neubeck C.: Residual  $\gamma$ H2AX foci – a biomarker to predict patient's tumor response to photon-based radiotherapy?

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 035D
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2014 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 461.008,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Gomolka	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das grundsätzliche Ziel dieses Forschungsverbundes ist es, durch den Nachweis von DNA Reparaturfoci (RF) biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren. Die Detektion und Reparatur strahleninduzierter DSBs erfolgt in der komplexen Chromatin-Architektur des Zellkerns. In Abhängigkeit von einer Schadenslokalisierung im Eu- bzw. Heterochromatin sind unterschiedlich komplexe Prozesse der Chromatin-Umstrukturierung erforderlich, die wahrscheinlich nicht nur die Reparaturdynamiken beeinflussen, sondern auch die erforderlichen Reparaturmechanismen bestimmen. In diesem Aufstockungsantrag sollen für die verschiedenen Fragestellungen die RF mit hochauflösenden, korrelativen Mikroskopie-Techniken im Chromatin-kontext ultrastrukturell charakterisiert werden, um den Einfluss der lokalen Chromatinstruktur auf die DNA Reparatur zu untersuchen:

- AP1: RF als Marker einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit
- AP2: RF als Marker der Schadensakkumulation nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung
- AP3: RF als Marker für unterschiedliche Reparaturmechanismen
- AP4: RF als Marker zur klinischen Prädiktion in der Strahlentherapie
- AP5: RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit
- AP6: RF als Marker einer genomischen Instabilität
- AP7: Automatisierung der RF-Detektion
- AP8: Ultrastruktur Charakterisierung der RF

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (BfS): RF als Marker einer berufsbedingten chronischen Strahlenexposition und RF als Marker einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit

Die Arbeiten RF als Marker einer berufsbedingten chronischen Strahlenexposition sind abzuschließen. Im weiteren Verlauf ist der Fokus auf einer genetisch bedingten Strahlenempfindlichkeit. Hier ist zu klären, welche Signalwege/-moleküle bei Kindern mit Ataxia Telangiectasia (AT) und somit genetisch bedingter Strahlenempfindlichkeit individuell verändert sind. Im Fokus stehen hier, mit  $\gamma$ H2AX assoziierte Signalwege und Netzwerke (Up- and Downstream) und Proteine, die in der Chromatin-Organisation eine Rolle spielen. Als Untersuchungskollektiv stehen fünf lymphoblastoide Zelllinien und eine Fibroblasten-Zelllinie (Kooperation UKS) von AT-Kindern zur Verfügung. Somit stehen Zelllinien zur Verfügung, an denen eine bekannte genetisch bedingte Strahlenempfindlichkeit unterschiedlicher Ausprägung systematisch charakterisiert werden kann.

*Versuch 1 (VI.1):* Rolle von Strukturproteinen in der Foci-Antwort, Untersuchung der Proteinexpression von verschiedenen Strukturproteinen in Zusammenhang mit einer auffälligen  $\gamma$ H2AX Foci-Antwort in einem Kollektiv von 5 AT-Zelllinien

*Versuch 2 (VI.2):* Veränderung von vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der  $\gamma$ H2AX Signalkaskade und Foci-Induktion in Abhängigkeit zur Zellzyklusphase in den Zelllinien

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

*VI.1:* Nachweis von verschiedenen RF in einem Kollektiv hoch und niedrig exponierter Bergarbeiter (AP1 Chronische Strahlenexposition): Für die Untersuchung zur Akkumulation von Reparaturfoci in Uranbergarbeitern wurden  $\gamma$ H2AX mit pKAP1 und 53BP1 mit MDC1 jeweils in einer Doppelfärbung verwendet. Von 106 niedrig- und hochexponierten Uranbergarbeitern konnten bei 95 RF-Foci Analysen erfolgreich durchgeführt werden. Die Proben wurden in vitro mit 1 und 4 Gy Röntgenstrahlung (0,5 mm Cu Filter) bestrahlt und 1 h, 4 h und 8 h nach der Bestrahlung fixiert. Für MDC1 konnte keine Auswertung vorgenommen werden, da in den Versuchen Probleme bei der Färbung mit dem Antikörper aufgetreten sind und dieser keine Signale zeigte. Insgesamt konnten folgende Ergebnisse erzielt werden: die RBM-Dosis einer chronischen Exposition hat keinen signifikanten Einfluss auf die initiale Anzahl der  $\gamma$ H2AX Foci 1 h nach In-vitro-Bestrahlung mit 1 und 4 Gy. Für 53BP1 wurde nach Bestrahlung mit 4 Gy ein nicht signifikanter Anstieg der Foci mit steigender RBM Dosis und für pKAP1 nach Bestrahlung mit 1 und 4 Gy ein nicht signifikanter Abfall beobachtet. Die Reparaturkapazität wird bei der Betrachtung von  $\gamma$ H2AX nicht signifikant von der RBM Dosis beeinflusst. Bei 53BP1 wurde eine nicht signifikante stärkere Reparaturkapazität 4 h nach Bestrahlung mit 4 Gy. Bei pKAP1 wurde ebenfalls eine nicht signifikante stärkere Reparaturkapazität 4 h nach Bestrahlung mit 1 und 4 Gy beobachtet. Zur Untersuchung der Rolle von Struktur- und Chromatin-assoziierten-Proteinen in der Foci-Antwort (AP1 Strahlenempfindlichkeit), wurde mit der Methodenetablierung zur mikroskopischen Immunfluoreszenz-Analyse begonnen. Dafür wird der Nachweis von Hetero- und Euchromatin mit H3K9me3-, H3K9ac-, H4K16ac-, H4K20me2-, H4K20me3- und Heterochromatin Protein 1 alpha-, beta- und gamma-spezifischen Fluoreszenz markierten AK etabliert. Zusätzlich wird Tubulin-beta, Actin und Lamin mittels Immunfluoreszenz angefärbt.

*VI.2:* Zur Untersuchung von Veränderungen in vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der  $\gamma$ H2AX Signalkaskade und Foci-Induktion in Abhängigkeit zur Zellzyklusphase (AP1 Strahlenempfindlichkeit) wurde mit der Etablierung von Zellzyklusmarkern in der mikroskopischen Immunfluoreszenz-Analyse begonnen. Hierzu wird EDU als Marker für S-Phase Zellen, Ki67 als Marker für proliferierende Zellen (nicht G0), CENP-F als Marker für G2-/M-Phase verwendet.

*VI.3:* Validierung der in vivo Strahlenexposition mittels mFISH (AP1 Chronische Strahlenexposition): die mFISH Untersuchung von 89 Wismut-Bergarbeitern zeigte tendenziell eine Zunahme der geschädigten Zellen bei ansteigender RBM Dosis durch chronische Exposition. Da dieses Ergebnis statistisch nicht robust ist, wird die Untersuchung der kryokonservierten Lymphozyten um 22 weitere Probanden erweitert. Die Auswertung ist noch nicht abgeschlossen. Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke in Zelllinien von AT-Patienten (AP1 Strahlenempfindlichkeit): Zur Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke mittels Gesamt-Proteom-Analyse in den Zelllinien der AT-Patienten wird in Kooperation mit der Research Unit Protein Science (HMGU) das experimentelle Vorgehen für massenspektrometrische Untersuchungen abgestimmt. Die AT-Zelllinien sowie LCLs gesunder junger Spender werden mittels eines speziellen Lyse-Verfahrens so aufgeschlossen, dass chromatin-assoziierte Proteine in der Massenspektrometrie zugänglich sind. Dies wird qualitativ mit Westernblot überprüft. Die ersten Probemessungen erfolgen im Februar 2020. Die Messung aller experimentell relevanten Proben wird durchgeführt, sobald Proteinextrakte aller Zelllinien vorliegen. Anschließend wird eine Netzwerkanalyse durchgeführt, um Gemeinsamkeiten und Unterschiede in strahlen-induzierten Signalwegen zu identifizieren. Das statistische Verfahren hierfür ist bereits etabliert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Beitrag in einer Zeitschrift:

Gomolka M & Bucher M.: Die Deutsche Uranbergarbeiter Biobank. Management & Krankenhaus, 11/2019

Vorträge

Bucher M.: Chromosomal aberrations versus gammaH2AX to identify radiation sensitive Ataxia telangectasia patients. International Congress of Radiation Research, Workshop Molecular and Clinical Aspects of Individual Radiosensitivity, 25.-29.08.2019 Manchester/United Kingdom

Gomolka M, Schmeißer S, Endesfelder D, Roessler U, Oestreicher U, Kulka U, Hornhardt S and Bucher M.: Chromosomal aberrations in former uranium miners – an mFISH study. International Congress of Radiation Research, International Symposium on Chromosomal Aberrations ISCA12, 25.-29.08.2019 Manchester/United Kingdom

Posterbeitrag

Bucher M, Roessler U, Endesfelder D, Kulka U, Dücker G, Borkhardt A, Rube CE, Meese E, Hornhardt S, Gomolka M.: Chromosomal aberrations versus gammaH2AX to identify radiation sensitive Ataxia telangectasia patients. International Congress of Radiation Research, 25.-29.08.2019 Manchester/United Kingdom

<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 31.08.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.251.694,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Boukamp	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Im Teilprojekt A werden folgende Arbeitspakete bearbeitet:

- 2.1) Führt chronische Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR zur tumorigenen Transformation der HaCaT Zellen? • genetisches Profil/Tumorbildung/Invasion.
- 2.2) Welche Rolle spielt die Gewebeorganisation für das Schadensprofil durch eine Kombinationsbestrahlung? • Störungen von Gewebsorganisation und Differenzierung/Proliferation und Apoptose/Induktion einer Schadenskaskade/Telomerlängenregulation in Epidermis und Dermis.
- 2.3) Welche Rolle spielen Alters-abhängige Veränderungen in der dermalen Matrix auf das epidermale Schadensprofil nach Kombinationsbestrahlung? • AGE-OTKs: Keratinozyten mit gealterten Fibroblasten/HaCaT Zellen mit gealterten Fibroblasten (Invasion).
- 2.4) Welche Rolle spielen off Target Effekte der Immunsuppressiva für die Entstehung von UV-induzierten Hautcarcinomen? • Langzeitbehandlung (10 Wochen) von HaCaT Zellen mit Cyclosporin A/Einfluss von auf die Epithel-Mesenchym Interaktion (RNA Expressionsanalyse)/Einfluss von Cyclosporin A plus Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

2.2) • Kalibrierung der KUVIR Lampen:

Nach weiteren dosimetrischen Abgleichung der UVA Lampe (Bestrahlungsexperimente mit HaCaT Zellen) ist jetzt auch der UVA Anteil in dem Bereich, der für die KAUVIR Lampenkonstruktion vorgesehen war.

Damit ist nun die Lampe uneingeschränkt einsatzbereit. Überprüfung der Spektren wird weiterhin regelmäßig 2x jährlich erfolgen.

• Akute Bestrahlung von OTKs mit der KAUVIR Lampe:

Es wurde ein Wiederholungsexperiment mit fdm-basierten Hautäquivalenten zum Vergleich akuter Bestrahlung (1MED entspricht  $0,78 \text{ kJ/m}^2$  UVB) mit UVA *versus* UVA+B *versus* KAUVIR durchgeführt. Bestrahlt wurden 4 Wochen-alte Epithelien (Epithelhomöostase). Diesen Kulturen zeigten: i) dass einmalige Bestrahlung bei keinem der Bestrahlungsarten zu morphologischen Veränderungen des Epithels führte. Die zuvor beobachtete Epithelablösung muss somit als „Artefakt“ angesehen werden. ii) Bezüglich UV-spezifischer Schädigung in der Epidermis (Bestimmung der Cyclobutan Dimeren = CpD im Western Blot und in der Immunfluoreszenz) kam es durch KAUVIR zu einer sehr schnellen Induktion von CpDs (direkt nach Bestrahlung) mit einem deutlichen Abbau bereits nach 24 h. Durch UV (UVB und UVA+B) Bestrahlung war dagegen erst nach 24 h zu einer deutlichen CpD Induktion erkennbar, mit klarer Reduktion nach weiteren 24 h. D. h., bei Bestrahlung mit dem Gesamtspektrum besteht offensichtlich eine höhere Sensitivität für DNA Schäden (sofortige CpD Induktion) als bei reiner UV Bestrahlung, bei der CpDs erst verzögert auftreten. Die darauffolgende Reparaturkinetik scheint dagegen vergleichbar. iii) Da für UV Bestrahlung die Induktion proteolytischer Aktivität (Matrixmetalloproteasen (MMP)) bekannt ist, wurde in den 3 Bestrahlungsansätzen die Expression von MMP1, MMP2 und MMP3 im ELISA vermessen. Dabei war: 1. MMP1 24 h nach Bestrahlung mit allen Strahlenquellen nachweisbar und bleibt auch nach 48 h noch gleichbleibend hoch. Gleiches galt für MMP3, mit einem prominenten Peak speziell für KAUVIR nach 48 h. MMP2 wurde dagegen erst später (nach 48 h) induziert. D. h. Sowohl durch das Gesamtspektrum als auch UV-Strahlung kommt es zu einer sehr ähnlichen MMP Induktionssequenz. Möglicherweise ist die Intensität durch KAUVIR etwas erhöht.

2.3) • Age-OTKs:

Zwei weitere Experimente zur Rolle von UVA+B *versus* KAUVIR (0.65 MED 3x/Woche) auf Age-OTKs mit „jungen“ und „alten“ Fibroblasten wurden durchgeführt. Zum einen wurden Fibroblasten eines 23-jährigen und eines 74-jährigen Spenders eingesetzt und die Age-OTKs für 2, 4 und 6 Wochen mit UVA+B bzw. KAUVIR bestrahlt. Im zweiten Experiment wurden Fibroblasten eines 22-jährigen und eines 66-jährigen Spenders eingesetzt und die Age-OTKs für 2 und 4 Wochen mit UVA+B bzw. KAUVIR bestrahlt. Der erste Versuch konnte bereits histologisch ausgewertet werden. Zudem wurde von den 2 Wochen und 4 Wochenwerten RNA für eine RNAseq Analyse isoliert.

2.4) • Rolle von CsA:

Fertigstellung der Doktorarbeit von Philipp Worst: “Role of CsA and solar radiation (KAUVIR spectrum) on human skin keratinocytes in organotypic cultures”

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

2.2) • Weitere Experimente zur akuten Bestrahlung von Hautäquivalenten mit KAUVIR *versus* UV und weiterführende detaillierte molekulare Auswertung bezüglich Unterschiede/Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Bestrahlungsqualitäten.

2.3) • Fortsetzung der molekularen Auswertung (Proliferation/Schadensinduktion/Matrixmodulation) der verschiedenen Experimente zum Unterschied „Alt“ *versus* „Jung“ und der Rolle von Bestrahlung (UVA+B/KAUVIR Gesamtspektrum) auf den Fibroblastenphänotyp und RNAseq Analyse (s. o.).

2.4) • Fertigstellung der Publikation durch Dr. Philipp Worst zu: “Role of CsA and solar radiation (KAUVIR spectrum) on human skin equivalents”

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

29. Deutscher Hautkrebskongress, Ludwigshafen, Sitzung AEK meets ADO: Modellsysteme in der Hautkrebsforschung, Petra Boukamp Chair und Vortrag

November 2019: Good bye flat Biology: Advancing 3D-based models for cancer Biology and Drug Discovery, Katharina Kanke, Elizabeth Pavez Lorie: Posterpräsentation

November 2019: Inaugural Dissertation von Philipp Worst, Mathematische-Naturwissenschaftliche Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, zum Thema: “CsA is promoting tumor-like invasion in a long-term human skin equivalent”

<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 31.08.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.295.176,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Greinert	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel der Arbeiten ist es, die Bedeutung von zellulären Antworten und Reparaturprozessen für die Hautkrebsentstehung nach Induktion von UV-Schäden durch Kombinationsstrahlung (UV-VIS-IR) im Detail zu erforschen. Dazu ist es notwendig, (i) die Schadensinduktion und im besonderen Maße die nachfolgende DNA-Reparatur nach Kombinationsstrahlung im Vergleich zu anderen UV-Strahlenqualitäten (UVA und UVB) zu untersuchen (ii) unterschiedliche Expositionsmuster (chronisch vs. akut) miteinander zu vergleichen (iii) UV-VIS-IR-induzierte epigenetische Veränderungen in „nativem Material“ und in Zelllinien aus Tumormaterial zu charakterisieren (iv) molekulare und zelluläre Antwort mittels Ausschalten oder Aktivierung von Schlüsselfaktoren zu beeinflussen. Es ist das Ziel, bei den Punkten (i) – (iv) insbesondere den Einfluss von microRNAs und epigenetischen Faktoren (DNA-Methylierung, Histon-Methylierung) zu bestimmen.

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Epigenetische Veränderungen in chronisch UV/VIS/IR-bestrahlten HaCaT und Messung der Reparaturkapazität in chronisch bestrahlten Zellen.

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

AP3: Korrelation von miRNA-Expression mit Genexpressionsdaten in HaCaT Zellen nach UV/VIS/IR-Bestrahlung.

AP4: Epigenetische Veränderung in tumorigenen HaCaT Zellen durch UV/VIS/IR-Bestrahlung.

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Untersuchung der Expressionsänderungen von microRNAs und der Änderungen von globaler DNA-Methylierung nach chronischer UV-VIS-IRA-Kombinationsbestrahlung.

Ergebnisse: Die HaCaT-Zellen wurden über einen Zeitraum von sechs Wochen zweimal wöchentlich mit den Strahlenkombinationen UVB 300 J/m<sup>2</sup> + UVA 15,2 kJ/m<sup>2</sup> + Vis 34,5 kJ/m<sup>2</sup> + IRA 75,3 kJ/m<sup>2</sup> (gesamtes Spektrum) oder nur mit UVB + UVA mit der KAUVIR-Lampe bestrahlt (Bericht-2019-1). Die Transkription von 54 ausgesuchten Kandidaten-microRNAs wurde 72 h nach der letzten Bestrahlung bestimmt. Während 42 microRNAs (z. B. miR-205-5p, miR-16-5p, miR-21-5p und miR-24-3p)

eine ausreichend hohe Transkription aufwiesen, konnten 12 microRNAs (z. B. miR-9-5p, miR-34c-5p) aufgrund zu geringer Expression nicht analysiert werden. Die ersten Ergebnisse deuten auf ein unverändertes Transkriptionsmuster der Mehrheit der microRNAs nach chronischer Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum hin. Für miR-7-5p konnte hingegen eine veränderte Transkription (2,20-fache Induktion) nach Bestrahlung festgestellt werden. miR-7 werden tumorsuppressive Funktionen bei zahlreichen Krebsarten z. B. dem Melanom zugeschrieben. Allerdings konnten ebenso Oncogenfunktionen beim Oralkrebs und dem Nierenkarzinom festgestellt werden. Das Targeting auf den Transkriptionsfaktor KLF4 unterstützt die OncomiR-Funktionen der miR-7-5p in Epithelzellen. Neben miR-7-5p konnten weitere Transkriptionsänderungen festgestellt werden: miR-21-5p, eine OncomiR (1,27-fache Induktion), und miR-146a-5p, eine Tumor-suppressive microRNA (1,45-fache Reduktion). Bei der Bestrahlung mit UVB + UVA allein konnten ähnliche Transkriptionsänderungen auch für miR-7-5p und miR-21-5p aber nicht für miR-146a-5p detektiert werden. Um den Einfluss der chronischen Bestrahlung auf die darauffolgende Bestrahlung zu untersuchen, wurden die bereits 6 Wochen chronisch bestrahlten Zellen 11 Tage nach der letzten Bestrahlung zusätzlich mit einer höheren Dosis (*Challenge* Dosis mit dem gesamten Spektrum: UVB 400 J/m<sup>2</sup> + UVA 20,2 kJ/m<sup>2</sup> + Vis 46 kJ/m<sup>2</sup> + IRA 100 kJ/m<sup>2</sup>) bestrahlt. Nach der Challenge Dosis zeigten die Zellen mit chronischer Vorbestrahlung mit dem gesamten Spektrum im Vergleich zu Zellen, die nur die Challenge Dosis erhielten, lediglich eine Änderung der miR-146a-5p Transkription (Reduktion 2,65-fach). Die chronische Vorbestrahlung mit UVB + UVA allein bewirkte nach der Challenge Dosis im Vergleich zur Kontrolle nur Änderungen der miR-146a-5p (2,71-fache Reduktion) und der miR-7-5p Transkription (1,35-fache Induktion). In Bezug auf die globale DNA-Methylierung bewirkte die chronische Bestrahlung mit UVA+UVB eine leichte Erhöhung (von 52,9 auf 53,9 %), während sich die DNA-Methylierung nach chronischer Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum praktisch nicht änderte. Im Gegensatz dazu bewirkte die chronische Vorbestrahlung mit dem gesamten Spektrum (nicht aber mit UVB+UVA allein) nach der *Challenge*-Dosis eine erhöhte Methylierung.

AP4: Messung der Reparaturkapazität in den mit c-Ha-ras transfizierten tumorigenen HaCaT Zellen nach einer akuten Bestrahlung mit dem gesamten Spektrum.

Ergebnisse: Für die Bestimmung der Reparaturkapazität in den tumorigenen Zelllinien HaCaT-ras A-5 (benigne) und HaCaT-ras II-4 (maligne) wurden die Zellen mit dem gesamten Spektrum (UVB 400 J/m<sup>2</sup> + UVA 20,2 kJ/m<sup>2</sup> + Vis 46 kJ/m<sup>2</sup> + IRA 100 kJ/m<sup>2</sup>) bestrahlt und die Reparaturkinetik bestimmt. HaCaT-ras A-5 mit einer Reparaturzeitkonstante von 30,06 h und HaCaT-ras II-4 mit 27,87 h zeigten deutlich langsamere Reparatur als HaCaT-Kontrollzellen (20, 42 h). Momentan wird die Rolle der epigenetischen Veränderungen bei der veränderten Reparaturkapazität nach der Bestrahlung in diesen Zelllinien untersucht.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP4: Untersuchung der Expressionsänderungen von microRNAs und der globalen DNA Methylierung nach akuter UV-VIS-IRA-Kombinationsbestrahlung in tumorigenen HaCaT Zellen.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag: „miRNA response to sunlight-equivalent chronic irradiation in human keratinocytes and squamous skin cancer cell lines“. Posterpräsentation: „Effects of chronic UV-irradiation on DNA repair and miRNA expression in human keratinocyte depend on radiation quality“ bei DeGBS-Tagung, 2019 in Mannheim

<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 31.08.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 822.834,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Krutmann	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspakete 1, 2:

Das BMFZ (Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum) der Heinrich-Heine-Universität hat die Proben zur RNA Sequenzierung analysiert und die Daten zur Verfügung gestellt. Die Qualitätskontrolle aller Proben sowie das Adapterclipping sind bereits abgeschlossen. Ein quasi-mapping wurde mit der Software Salmon durchgeführt. Die ausgezählten Counts pro Gen wurden berechnet und die einzelnen Proben mit Hilfe von Hauptkomponentenanalysen miteinander verglichen.

Arbeitspakete 3, 4, 5:

Die ersten Tierversuche unter dem Aktenzeichen 81-02.04.2018-A024 wurden durchgeführt. Dabei wurden SKH-1 Mäuse mit und ohne AhR Knockout akut bestrahlt und nach 24 Stunden durch zervikale Dislokation aus dem Versuch genommen. Proben der Haut für proteinchemische-, RNA- und histologische Analysen werden zurzeit aufgearbeitet.

Der erste Langzeitversuch (Experiment B) ist noch nicht abgeschlossen, jedoch treten in allen Gruppen Tumore auf die mit UVB-Strahlung alleine oder aber einer Kombination mit anderen Quellen simultan behandelt worden sind.

Ergebnisse:

Unsere bisherigen Befunde zeigen, dass i) die Apoptoserate nach simultaner Bestrahlung (UVB+UVA, UVB+UVA+IRA, UVB+UVA+VIS+IRA) im Vergleich zur UVB-Einzelbestrahlung signifikant geringer ist, ii) und dosisabhängig durch UVA-Strahlung vermittelt wird, (iii) dieser Effekt nicht durch VIS und IRA modifizierbar ist, und ihm eine UVA-induzierte Modulation des extrinsischen Apoptose Signalwegs auf Ebene der Zellmembran zu Grunde liegt. In diesem Berichtszeitraum konnte neu gezeigt werden, dass (iv) dieser Effekt sich nicht nur in HaCaT Keratinozyten, sondern auch in primären humanen Keratinozyten beobachten lässt. (v) Die ersten Daten der RNA-Sequenzierung zeigen, dass die UVB-Strahlung den größten Einfluss auf das Expressionsprofil der Zellen hat. (vi) Im Tierversuch zeigt ebenfalls die UVB-Strahlung den stärksten Einfluss, in diesem Experiment spezifisch für die Tumorentstehung.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1, 2:

Die zur Verfügung stehenden Daten der RNA-Sequenzierung sollen in den kommenden Monaten genauer analysiert werden. Zudem soll ein STAR-Mapping durchgeführt werden um auch Split-Reads zu den einzelnen Genen zuordnen zu können.

Arbeitspakete 3,4, 5:

Nach Beendigung des Langzeitversuchs wird die Haut der Tiere für weitere Arbeiten isoliert. Die Tumormasse ermittelt sowie die Art der Karzinome mittels proteinchemischen- und histologischen Analysen bestimmt.

### 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 KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2014 bis 31.08.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.444.215,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Rapp	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden umfangreiche Arbeiten zur Quantifizierung der durch die einzelnen Spektralbereiche sowie deren Kombination induzierten DNA Schäden beendet. Dabei wurde zusammen mit dem Verbundpartner in Buxtehude Vergleichsmessungen bezüglich der Induktion von CPDs erstellt und diese mittels Slot Blot (Darmstadt) als auch mittels Durchflusszytometrie (Buxtehude) quantifiziert. Dafür wurden Proben jeweils in einem Labor bestrahlt und mittels der komplementären Methoden im anderen Labor vermessen. Dabei konnte eine gute Übereinstimmung gefunden werden, so dass die Effekte von Kombinationsbestrahlung verifiziert werden konnten. Dabei zeigte sich, dass die Infrarotkomponente des Sonnenspektrums entscheidend für die CPD Erkennung ist, wobei die anderen spektralen Komponenten keine weiteren Effekte darauf ausübten. Dies zeigte sich sowohl im Enzymmodifizierten Comet-Assay als auch in Slot Blot Experimenten. Weitere mechanistische Untersuchungen ergaben, dass dieser Effekt durch die Chromatinstruktur zumindest teilweise bedingt wird. Indem die Histon-Deacetylasen (HDACs) durch Trichostatin A (TSA) selektiv inhibiert wurden, was zu einer Chromatinrelaxierung führt, kann der Infraroteffekt auf die CPD Erkennung verhindert werden. Deshalb wird momentan untersucht, ob Infrarotexposition einen messbaren Effekt auf die Chromatinkompaktierung hat.

Hinsichtlich der physiologischen Endpunkte wurden die Messungen aller Spektralkombinationen fortgeführt und stehen jetzt vor dem Abschluss. Dabei wurde das Überleben durch Kolloniebildung, die metabolische Aktivität durch den MTT-Assay sowie Apoptosemessungen durchgeführt. Hierbei zeigte sich im Unterschied zu den CPD Quantifizierungen, dass es durch die Kombination der Spektralen Bereiche nur zu additiven Effekten kommt. Diese Messungen wurden teilweise in der Gegenwart von Radikalfängern durchgeführt um oxidative Schäden von nicht ROS vermittelten Effekten zu trennen.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Weiterführende Untersuchungen zur IR vermittelten Modulation der CPD Persistenz werden mit Hinblick auf die Chromatinstruktur weitergeführt. Zum einen wird geprüft ob ein direkter Effekt der IR Exposition auf die Chromatinkompaktierung messbar ist, zum anderen wird die entgegengesetzte Chromatinbeeinflussung (verstärkte Kontaktierung) auf deren Einfluss zur CPD Persistenz hin untersucht. Darüber hinaus wird weiterhin nach dem Faktor gesucht, der die IR vermittelte Chromatinbeeinflussung verursacht. Dazu werden Histonmodifikationen sowie physikalische Parameter kontrolliert moduliert. Ebenfalls werden die Untersuchungen an den NER defizienten Ziellinien fortgeführt. Darüber hinaus werden weitere Messungen zu den Effekten der Kombinationsbestrahlung auf die Induktion oxidativer Schäden, wie z. B. 8-oxo-dG fortgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag, A. Rapp: DNA damage induction and DNA repair after combined UVB/UVA/VIS/nIR exposure. 26.8.2019 ICRR World Congress 2019, Manchester UK

Posterpräsentation, B. Plitta Michalak und A. Rapp: DNA damage induction and DNA repair after combined UVB/UVA/VIS/nIR exposure. 23.9.2019 DeGBS 2019 Jahrestagung, Mannheim

<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 31.08.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.08.2019	
<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 TP (AP1: Einfluss der Chromatinstruktur und strukturbildender Faktoren auf die frühen Ereignisse von Reparaturprozessen nach Bestrahlung) der GSI liegt der Schwerpunkt der Untersuchung in der Wechselwirkung heterochromatischer und chromatinmodulierender Faktoren auf die Reparatur komplexer DNA Schäden nach Teilchenbestrahlung. Hierbei wird besonders der Einfluss der Komplexität auf die Auswahl des Reparaturweges untersucht, aber auch die räumliche Lage und gegebenenfalls Umorganisation der Schäden bezüglich des nukleären Heterochromatins im zeitlichen Verlauf der Schadensprozessierung und Reparatur mit einbezogen. Ein besseres Verständnis dieser zellulären Vorgänge und insbesondere die Rolle der Chromatinkompaktierung beziehungsweise der räumlichen Lage der DNA Schäden sollen bessere Vorhersagen und Risikoabschätzungen möglich machen. Strahlenbiologisch relevante molekularbiologische und mechanistische Erkenntnisse können dazu beitragen, die Strahlentherapie von Tumoren im Sinne kombinatorischer Therapieansätze weiterzuentwickeln.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1:

- Erfassung und Identifizierung strahlungsinduzierter Interaktionspartner strukturbildender heterochromatischer Faktoren.
- Bestimmung der Relevanz dieser Faktoren oder Interaktionen für die räumlich-zeitliche Organisation der DNA Reparatur und deren Ausgang.
- Optimierung und Erweiterung von Methoden/Techniken zur Beobachtung und Quantifizierung strahlungsabhängiger Chromatindekondensation.

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In den verbliebenen 2 Monaten wurden die Ergebnisse der Ionenstrahlzeit vom Frühjahr 2019 weiter ausgewertet und zusammengestellt.

Die Auswertung der DSB-Reparatur in U2OS-Wildtyp-Zellen im Vergleich zu U2OS-RNF138-Knockout-Zellen nach Bestrahlung mit hochenergetischen Eisenionen SIS ergab keinen signifikanten Unterschied, d. h. bei dieser Strahlenqualität hat die Ubiquitinligase RNF138 zumindest keinen größeren Einfluss auf die Endverknüpfung. Durch Einsatz von Inhibitoren der DNA-PKcs während der Bestrahlung mit Kohlenstoff konnte die Reparatur der Doppelstrangbrüche fast vollständig unterbunden, oder zumindest extrem verlangsamt werden. Dies zeigt die Wirksamkeit des verwendeten Inhibitors. Da die Reparatur aber weitgehend unterbunden war konnte kein indirekter Rückschluss auf den Verbleib des Ku80-Bindungspartners nach Induktion komplexer Schäden durch Bestrahlung mit Kohlenstoffionen gezogen werden. Bei der Bestrahlung mit Eisenionen zeigte sich jedoch in der direkten Immunofluoreszenzfärbung, dass Ku80 zwar nach 15 min an den Doppelstrangbruchenden gebunden ist, nach 1 h dort aber – auch in RNF138 ko Zellen – nicht mehr nachweisbar war.

Die gewonnenen Daten zur unterschiedlichen Rekrutierung von Reparaturfaktoren an komplexe und isolierte Doppelstrangbrüche (DSB) sowie zur individuellen Schadensantwort einzelner DSB wurden in einem Manuskript zusammengestellt und bei Scientific Reports eingereicht. Anhand des Reviews wurde eine revidierte Fassung erstellt und zur Veröffentlichung erneut eingereicht – diese wurde inzwischen zur Veröffentlichung akzeptiert.

Die Strahlzeitproben die für die Elektronenmikroskopie wurden mikroskopiert (3D-Tomogramme) und (semi-)quantitativ ausgewertet. Ein Manuskript der Daten befindet sich in der Erstellung.

Carina Barent, die Doktorandin die aus dem Vorhaben finanziert wurde, hat ihre Doktorarbeit mit dem Titel „Relevanz der Ubiquitinierung für die Resektionsregulation in G1-Phase-Zellen an schwerionen-induzierten DNA-Doppelstrangbrüchen“ Anfang Dezember im Fachbereich Biologie der TU Darmstadt eingereicht.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Das Vorhaben endete am Laufzeitende 31.08.2019.

Die Veröffentlichung der Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Arbeiten wird momentan angestrebt und das Manuskript fertiggestellt. Die Daten zur Reparaturregulation durch Ubiquitinierung sollen auch zeitnah zur Veröffentlichung gelangen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

B. Jakob, M. Dubiak-Szepietowska, E. Janiel, A. Schmidt, M. Durante and G. Taucher-Scholz: Differential repair protein recruitment at sites of clustered and isolated DNA double-strand breaks produced by high-energy heavy ions. Sci. Rep. in press

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 038A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2015 bis 31.07.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<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 Organ-systemen 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 (Siewert 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

Gen-Expressionsanalysen zeigten über 4.000 unterschiedlich exprimierte Gene von in Flussrichtung ausgerichteten Herz-Endothelzellen im Vergleich zu nicht ausgerichteten Herz-Endothelzellen unter statischen Bedingungen. Insbesondere die Inflammationsmarker PECAM-1, ICAM-1 und ICAM-2 zeigten eine signifikante erhöhte Expression bei Herz-Endothelzellen unter statischen Bedingungen. Dieses Ergebnis korreliert mit der erhöhten Expression von PECAM-1, ICAM-1 und ICAM-2 auf Tumor-Endothelzellen (Sievert et al. 2014), bei denen der Fluss ebenfalls verändert oder zum Erliegen gekommen ist. Beide Befunde zeigen, dass eine Störung des Blutflusses zu einer erhöhten Expression der Inflammationsmarker auf Endothelzellen führt und eine chronische Entzündung mit anschließenden kardiovaskulären Schäden verursachen kann.

Um den Einfluss von Bestrahlung unter verschiedene Fluss-Bedingungen zu analysieren, wurden primäre Herz-Endothelzellen 10 Wochen nach lokaler Herz-Bestrahlung mit 8 und 16 Gy isoliert und unter statischen- und Fluss-Bedingungen kultiviert. Eine anschließende Transkriptom-Analyse soll die Beteiligung der Inflammationsmarker an der Funktionsstörung von bestrahlten Endothelzellen genauer charakterisieren. Bereits in vorausgegangenen Experimenten konnten wir zeigen, dass nach einer lokalen Herz-Bestrahlung bestimmte Entzündungsmarker wie ICAM-1 und VCAM-1 auf Endothelzellen bis zu 50 Wochen nach Herz-Bestrahlung mit 8 und 16 Gy signifikant erhöht waren. Die Transkriptom-Analyse soll nun additive Effekte nach Bestrahlung bei gestörten Blutfluss untersuchen und Aufschluss über die Strahlenschäden von Endothelzellen geben.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Transkriptom-Daten von primären Herz-Endothelzellen unter statischen- und Fluss-Bedingungen sollen analysiert werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Manuskript: Wolfgang Sievert, Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Soile Tapio, Gabriele Multhoff: Increased expression of ICAM-1 and VCAM-1 on heart endothelial cells 50 weeks after local heart irradiation (in Vorbereitung)

Manuskript: Wolfgang Sievert, Jos Philipp, Omid Azimzadeh, Kristian Unger, Soile Tapio, Gabriele Multhoff: Loss of shear stress increases inflammatory effects on primary heart endothelial cells (in Vorbereitung)

Salvermoser L, Dressel S, Schleißheimer S, Stangl S, Diederichs C, Wergin M, Bley CR, Haller B, Multhoff G.: Hsp70 serum levels in pet dogs-a potential diagnostic biomarker for spontaneous round cell tumors. *Cell Stress Chaperones*: 24(5): 969-978, doi: 10.1007/s12192-019-01024-9, 2019

Kühnel A, Schilling D, Combs SE, Haller B, Schwab M, Multhoff G.: Radiosensitization of HSF-1 Knockdown Lung Cancer Cells by Low Concentrations of Hsp90 Inhibitor NVP-AUY922. *Cells*. 8(10): 166. doi: 10.3390/cells8101166, 2019

<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> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<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 Auswertung und Analyse nicht-bestrahlter und bestrahlter primärer Lungenendothelzellen nach *ex vivo* Isolierung und *in vitro* Kultivierung konnte erfolgreich beendet werden. In der Analyse dieses Projektes wurde ein Schwerpunkt auf die Aktivierung der Immunreaktion gelegt. Insbesondere die Stoffwechselwege um den Typ I Interferonantwort und den sogenannten „cGAS/STING“-Signalweg wurden hierfür untersucht. Die hierbei gesammelten Erkenntnisse lassen darauf schließen, dass der sogenannte „cGAS/STING“-Signalweg und auch der STAT1-Signalweg, ebenso wie das Protein „ISG15“ eine Rolle in der Aktivierung einer chronischen entzündlichen Immunreaktion nach der Strahlentherapie der Lunge spielen. Die Ergebnisse wurden in der Zeitschrift International Journal of Radiation Biology publiziert.

Um die Rolle des „cGAS/STING“-Signalwegs genauer zu untersuchen wurde weiterhin eine Studie an humanen koronaren Endothelzellen *in vitro* durchgeführt. Hierzu wurden verschie-

dene Gammastrahlendosen (0 Gy; 0,25 Gy; 0,5 Gy; 2 Gy; 10 Gy) und Zeitpunkte (4 h, 24 h, 48 h, 1 Woche nach Bestrahlung) verwendet. Die statistische Analyse und Validierung dieser Daten ist abgeschlossen. An einer Publikation wird gearbeitet. Hierbei konnte festgestellt werden, dass sowohl bei niedrigen Dosen als auch bei hohen Dosen eine Aktivierung der Immunreaktion erfolgt. Um eine genauere Definierung der Immunreaktion nach niedrigen Dosen möglich zu machen, ist allerdings ein längerer Überwachungszeitraum nach Bestrahlung nötig, da hierbei der Alterungseffekt den der Dosis übertrifft. Dennoch ist eine dosisabhängige Reaktion bei Betrachtung aller Proteine ohne statistischen Filter sichtbar. Einzig Zellen, die mit 10 Gy bestrahlt wurden, zeigen eine deutliche Reaktion auf die Bestrahlung unabhängig von der zeitlichen Komponente. Wie in den bereits publizierten Studien konnte auch hier in der höchsten Dosis (10 Gy) eine Immunreaktion beobachtet werden. Dabei tritt das Protein „ISG15“ hervor, welches schon 4 h, aber auch eine Woche nach der Bestrahlung noch immer hoch exprimiert wird. In der nicht-bestrahlten Kontrolle ist dies zu beiden Zeitpunkten nicht der Fall. Die Ergebnisse liegen als ein Manuskript vor.

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

Das Manuskript wird fertig gestellt und publiziert. Die Doktorarbeit von Herrn Jos Philipp wird zurzeit geschrieben. Sonst sind keine weiteren Arbeiten geplant.

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

##### Veröffentlichungen

Philipp J., Sievert W., Azimzadeh O., von Toerne C., Metzger F., Posch A., Hladik D., Subedi P., Multhoff G., Atkinson MJ., Tapio S.: Data independent acquisition mass spectrometry of irradiated mouse lung endothelial cells reveals a STAT-associated inflammatory response. *International Journal of Radiation Biology*, 8. Januar 2020: 1-29. doi: 10.1080/09553002.2020.1712492. [Epub ahead of print]; PMID: 31914348

<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 31.03.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 3.336.492,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Schmidberger	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Epidemiologische Auswertung von im DKKR erfassten Second-Tumor Ereignissen nach therapeutischer Exposition zu Strahlung (SCAR)
- AP2: Fall-Kontroll-Studie zu Krebserkrankungen im Kindesalter und molekularer Epidemiologie (KIKME) - Genomweite Analyse von Unterschieden in der strahlenassoziierten, genetischen Krebs susceptibilität
- 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: Zum Stand 31.12.2019 konnten Therapiedaten für 76 % aller Patienten erfasst werden. Mit den aktuell noch ausstehenden Datenlieferungen werden final Daten für 85 % aller Patienten vorliegen. Die retrospektive Dosimetrie für ALL-Patienten wurde präzisiert und finalisiert, die Dosimetrie für ZNS-Tumore und Hodgkin-Lymphome begonnen. Statistische Modelle zur Risikoschätzung und zur Fehlerabschätzung wurden entwickelt.
- AP2: Im vergangenen Halbjahr wurden innerhalb des AP2 am Standort in Mainz in Kooperation mit der Studienleitung in Bremen fehlende Rekrutierungsunterlagen der Teilnehmer nacherhoben.

Zudem wurden Teilnehmer, die bereits im Rahmen der Vorgängerstudie GenKik eine Hautbiopsie abgegeben haben, kontaktiert, um auch von diesen Fragebogeninformationen und Speichelproben zu erhalten. RNA- und DNA-Extrakte aus Fibroblasten und Speichelproben wurden aufbereitet und für die geplanten Analysen von AP2 an das Labor für die Sequenzierung weitergeleitet. Zudem wurden einige bereits vorhandene Zelllinien vermehrt. Die Rekrutierung und die Laborarbeiten wurden zum Ende des Jahres beendet und abgeschlossen.

- AP3: Die Whole Genome Sequencing (WGS) und Whole Exome Sequencing Daten wurden unter Verwendung von MOGON prozessiert. Die RNA-seq Daten wurden auf differentielle Expression hin untersucht. Es wurden WGS Daten simuliert um zu untersuchen, welche statistischen Methoden sich für die Analyse am besten eignen und um an Methoden zur integrativen Analyse von WGS und RNA-seq Daten zu forschen. Bisherige Ergebnisse der Simulationen wurden bei der GMDS (Dortmund) und beim Science-Day(Mainz) präsentiert.
- AP4: Das Paper RAD9A Methylierung wurde umgeschrieben und bei Carcinogenesis eingereicht. 265 Proben des Isibela Kollektivs wurden bisulfit-konvertiert. Das CGH-Paper wurde bei J.Mol.Med eingereicht. Es wurden Nachbesserungen nachgefordert, die nachgereicht werden müssen (im Moment in Durchsicht bei Kooperationspartnern). Ferner wurde in Zusammenarbeit mit Bremen (Forschungsaufenthalt Oktober 19) ein weiteres Paper entworfen mit dem Thema „interindividuelle Strahlenantwort“. Das Feedback zum TP53 Paper war durch aus positiv, es müssen funktionelle Studien eingefügt werden. Es wurde damit begonnen die Expression des TP53 in den KIKME-Zelllinien zu untersuchen.
- AP7a: Der Mikronukleus-Test zur Quantifizierung replikationsstress-induzierter zytogenetischer Schäden wurde erfolgreich etabliert. Erste Referenzdaten für humane normale sowie DNA-reparaturdefiziente Fibroblasten wurden generiert. Mit der Testung der ersten Fibroblasten der Probanden der ISIBELA-Pilotstudie wurde begonnen.
- AP7b: Aufgrund sehr geringer Partizipationsraten und keinem zu detektierenden Einfluss der niederenergetischen Orthovolttherapie des Fersensporns auf das in vivo Niveau des DNA Doppelstrangbruchindikators  $\gamma$ H2AX in peripheren Lymphozyten wurde die Rekrutierung eingestellt.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Es werden die noch fehlenden Dosimetriemodelle (Hodgkin-Lymphom, ZNS-Tumore, Nierentumore) erstellt. Die entwickelten Modelle zur Fehlerabschätzungen werden implementiert und einem Testdatensatz elaboriert.
- AP2: In der verbleibenden Laufzeit sollen die umfangreichen Versuchsergebnisse in mehreren Publikationen wissenschaftlich veröffentlicht werden.
- AP3: Fortführung der Methodenforschung zur integrativen Analyse von WGS und RNA-seq Daten und integrative Auswertung der tatsächlichen Daten.
- AP4: Die 265 Proben des Isibela Kollektivs werden amplifiziert und bisulfit-sequenziert. Es wird angestrebt die geforderten oben skizzierten Arbeiten fortzuführen um die geplanten Paper zu publizieren.
- AP7a: Mit der Testung der Fibroblasten der Probanden der ISIBELA-Pilotstudie wird fortgefahren.
- AP7b: Durch die entstanden Vakanzen sollen weitere Methoden zur Quantifizierung strahleninduzierter DNA-Schäden in peripheren Lymphozyten wie die frühzeitige Chromosomenkondensation in G1 und G2 etabliert werden.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

2<sup>nd</sup> UCT Mainz Science Day 2019: Genetic variation in TP53 and RAD9A gene in childhood cancer survivors. Galetzka Danuta, Eudenbach Matthias, Sinizyn Olesja, Chorzempa Heather, Johanna Mirsch, Spix Claudia, Prawitt Dirk, Haaf Thomas, Scholz-Kreisel Peter, Poplawski Alicia, Rossmann Heidi, Marron Manuela, Schmidberger Heinz

<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 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.066.254,00 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 Folge-Neoplasien bei Primärtumoren im Kindesalter zu erforschen. Die Verbundpartner (Universitätsmedizin Mainz, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Technische Universität Darmstadt, Leibniz Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie Bremen) untersuchen die Fragestellung unter Anwendung epidemiologischer, biostatistischer, radiobiologischer, zell- und molekularbiologischer sowie genetischer Arbeitstechniken. Durch Anwendung von Hochdurchsatz-Genomforschung sollen insbesondere mögliche genetische Prädispositionen für die Entstehung strahleninduzierter Krebserkrankungen aufgedeckt werden. Erkenntnisse zur strahleninduzierten Karzinogenese könnten zu einer Optimierung strahlentherapeutischer Behandlungsansätze führen.

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

AP3: DNA-Sequenzierung des Genoms ausgewählter Probanden

AP4: Replikation der genetischen Daten in einem zweiten unabhängigen Probandenkollektiv

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

Im Rahmen von Vor- und Hauptversuchen wurden in der ersten Jahreshälfte 2019 insgesamt 51 RNA Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2) zu RNA aufgearbeitet, qualitätsüberprüft und entsprechende Sequenzier-Bibliotheken erstellt. 87 Bibliotheken (tw. aus 2/2018) wurden mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren sequenziert. Somit konnte die im Bericht 2/2018 geplante Verarbeitung der noch verbleibenden Proben des Projektes erfolgreich umgesetzt werden.

Wie in den bisherigen Versuchen wurden sowohl die Dosis der Bestrahlung als auch die Zeit bis zu Extraktion der RNA variiert. Die Proben wurden gemäß der von uns festgelegten Standards (beschrieben in Bericht 1/2016) überführt, gelagert und qualitativ begutachtet. Alle eingegangenen RNA-Proben erfüllten die Qualitätsanforderungen und wurden daher zur Konstruktion von Sequenzierbibliotheken verwendet. Die Sequenzierung wurde jeweils mit einer angestrebten Sequenziertiefe von ca. 20 Mio. Reads pro Bibliothek gemäß der Standardprotokolle der Firma Illumina für „single read/high output“-Läufe auf einem HiSeq 2500-Sequencer durchgeführt. Die Daten wurden zu weiteren Auswertung per FTP an die Bioinformatikgruppe (AP3, IMBEI Mainz) transferiert. Die Details der Abläufe sind im Bericht 1/2016 erläutert. Die schrittweise erstellten und verbesserten Erfassungen der Laufparameter und Datensatzstatistiken wurden in den Berichten 2/2016 und 1/2017 dargestellt.

Die DNA-Sequenzierung gesamter Genome auf der NovaSeq-Plattform konnte im ersten Halbjahr für insgesamt 150 Proben erfolgreich abgeschlossen werden. Die Daten liegen der Bioinformatik-Gruppe vor.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Im 2. Halbjahr 2019 müssen aus technischen Gründen noch jeweils 12 neue Proben aus den Triplets 16 und 17 aufgearbeitet werden. Die Erstellung der 24 RNA-Bibliotheken sowie deren Sequenzierung können innerhalb dieses Halbjahres abgeschlossen werden.

Auf DNA-Seite steht die Sequenzierung von drei weiteren Triplets (n=9 Proben) sowie die nochmalige Sequenzierung von zwei Proben, die technische Probleme machten, aus.

### **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 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 711.627,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Marron	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Das Teilprojekt-C am Standort Bremen ist für die wissenschaftliche Leitung des Arbeitspaketes 2 des ISIBELA Verbundes zuständig. Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Durchführung der molekular-epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie KIKME (Krebserkrankungen im Kindesalter und molekulare Epidemiologie) und der genomweiten Identifizierung von Genen und Gen-Strahlen-Interaktionen.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Bereich der Auswertung wurde im vergangenen Halbjahr die erste Publikation mit der Beschreibung des Studiendesigns und des Rekrutierungsverhaltens zur Veröffentlichung eingereicht. Seit 2013 konnten 440 ehemalige Kinderkrebspatienten (darunter 101 Personen mit Zweitmalignomen im späteren Le-

ben) und 151 krebsfreie Kontrollen kombiniert nach Alter, Geschlecht, Tumormorphologie und Alter bei Diagnose für die eingebettete, molekular-epidemiologische Fall-Kontroll-Studie KiKme rekrutiert werden. Für unterschiedliche Bestrahlungsversuche und Experimentalreihen wurden Fibroblastenzelllinien aus Hautbiopsien der Probanden gewonnen. Darüber hinaus wurden von allen Teilnehmern Informationen bezüglich Lebensstil, sozioökonomischer und anthropometrischer Faktoren sowie medizinischer Strahlenexposition, allgemeiner Gesundheit und familiärer Krankheitsgeschichte per Fragebogen erhoben. Eine weitere Publikation zu ersten Ergebnissen der Bestrahlungsexperimente zu verschiedenen Zeitpunkten wurde im vergangenen Halbjahr finalisiert. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass 4 Stunden nach Bestrahlung sowohl auf niedrige, als auch auf hohe Strahlendosis mehr Gene differenziell exprimiert werden als nach 2 Stunden. Zwei Stunden nach Bestrahlung wurden hauptsächlich signalgebende Reaktionen gefunden, und 4 Stunden nach Bestrahlung primär Stoffwechselwege, die mit Zellseneszenz in Verbindung gebracht werden können. Ebenfalls wurde eine dritte Publikation zu einer weiteren Reihe von Bestrahlungsexperimenten zur Identifikation von Unterschieden in der Genexpression je Probandengruppen auf Pathway-Ebene angefangen. Hierbei ergaben sich erste Hinweise auf dysfunktionale Reaktionswege als Antwort auf hohe und niedrige Strahlendosen in Fibroblastenzelllinien von ehemaligen Kinderkrebspatienten im Vergleich zu krebsfreien Kontrollen. Zudem wurde die Arbeit an zwei weiteren Publikationen gestartet. Zum einen wurde damit angefangen die inter-individuelle Variation in der Genexpression vor und nach Bestrahlung stratifiziert nach Gruppen auszuwerten. Ziel dieser Analyse ist die erstmalige Beschreibung möglicher spezifischer Variationen in den Expressionsmustern bei der Strahlenantwort in den Probandengruppen, da es bis heute an verlässlichen Biomarkern für die individuelle Radiosensitivität (unmittelbare adverse Strahlenreaktion, z. B. Entzündungsreaktionen, Fibrosen), als auch für die Radiosuszeptibilität (mögliche langfristige adverse Strahlenreaktionen, z. B. Katarakt, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Folgeoplasien) mangelt. Zum anderen wurde mit der Evaluierung der Verlässlichkeit des entwickelten Fragebogens als Instrument zur lebenslangen, medizinischen Strahlenexpositionseinschätzung im Vergleich zu Klinikdaten begonnen. Zur Komplettierung des Studienkollektivs wurden insgesamt 35 weitere Teilnehmer aus der Pilotstudie kontaktiert, um Speichelproben und Fragebogeninformationen nachzuerheben. Von diesen haben sich 22 Personen zurückgemeldet und 21 zu einer Teilnahme bereit erklärt. Die für die Studienimplementierung notwendigen individuellen Rekrutierungspakete für die Nacherhebung wurden für alle Probanden des Pilotprojektes erstellt. Um die gesammelten Bioproben bestmöglich auswerten zu können, wurde mit der DNA-Sequenzierung von weiteren 140 Probanden begonnen. Informationen zu allen vorhandenen und prozessierten Bioproben wurden fortlaufend in die Bioprobendatenbank eingepflegt und auf Vollständigkeit sowie Richtigkeit überprüft. Zu denen in der Bioprobendatenbank vorliegenden Informationen gehören neben dem aktuellen Probenstatus auch Informationen zur Qualität in Quantität (Informationen zu Probenentnahme, Kultivierungsphasen, Zellentwicklung, Verbleib und Qualität von Extraktionen) der mittlerweile 4887 Bioproben (3871 Fibroblastenzelllinien, 488 Speichelproben, 365 DNA- und 163 RNA-Extraktionen). Darüber hinaus konnte die Plausibilitätsprüfung des ersten Datenstands ohne Nacherhebung abgeschlossen werden.

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

Im ersten Halbjahr 2020 sollen die Laboranalysen an der DNA und der RNA von den verschiedenen Bestrahlungsexperimenten abgeschlossen und mit der Auswertung dieser neuen Experimentaldaten in weiteren Publikationen angefangen werden. Nach dem Rekrutierungsschluss am 31.12.2019 wird darüber hinaus die Eingabe von Fragebogeninformationen von Teilnehmern der Nacherhebung standardisiert und über eine parallele Doppelteingabe von zwei Personen an getrennten Bildschirmen qualitätsgesichert weitergeführt und finalisiert. Der finale Datenstand wird weiteren Plausibilitätsprüfungen (automatisch und manuell) unterzogen und die Erstellung der finalen Datenbank wird für das Ende des ersten Halbjahrs 2020 angestrebt.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 042D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.09.2015 bis 31.08.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.190.568,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

### AP5: DSB-Reparatur- und G2/M-Checkpoint-Messungen und Genomanalysen prädisponierter Personen sowie ab 09/2021 Analyse von spontanen Doppelstrangbrüchen:

Im Rahmen des ISIMEP-Projekts wurden rund 40 Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer sekundären Neoplasie nach einem Ersttumor im Kindesalter sowie Zelllinien aus Biopsien von Patienten mit einer primären Neoplasie im Kindesalter ohne Folge-neoplasie auf ihre Checkpoint- und Reparaturkapazität untersucht. Diese Untersuchungen werden nun an 20 neu etablierten, gematchten Kontrollzelllinien gesunder Probanden durchgeführt. Außerdem sollen von allen insgesamt 60 Zelllinien molekulargenetische Analysen durchgeführt und eventuell vorliegende genomische Auffälligkeiten in Genen der DNA-Reparatur oder Zellzykluskontrolle mit dem zellulären Verhalten korreliert werden. Auffällige Zelllinien werden schließlich eingehenden Reparatur- und Zellzyklusstudien unterzogen sowie im Rahmen der Projektaufstockung ab 09/21 im Hinblick auf spontane Doppelstrangbrüche (DSBs) analysiert. Hier werden in verschiedenen Experimenten die Ursachen von spontan auftretenden Doppelstrangbrüchen analysiert, dabei soll die Rolle von Replikationsstress und anderen physiologischen Stressoren untersucht werden. Diese Studien werden durch ChIP-seq-Analysen zur Positionsanalyse spontaner Brüche komplementiert.

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Im aktuellen Berichtszeitraum wurde die Etablierung der ChIP-Experimente mit Hilfe von Modellzelllinien begonnen. Die Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP) ist eine Methode, um Fragen in Bezug auf die Wechselwirkung von Proteinen und Chromatin zu beantworten. Kombiniert mit einer Sequenzierung (ChIP-Seq) können die Sequenzen, an die Proteine binden, ermittelt und kartiert werden. Zur Etablierung der ChIP wurde die Zelllinie DivA (DSB Inducible via AsiSI) eingesetzt, bei der es sich um genetisch veränderte U2OS-Zellen handelt. Das Besondere an dieser Zelllinie ist, dass die Zellen das Restriktionsenzym AsiSI stabil exprimieren. Die Aktivität des Restriktionsenzym lässt sich durch die Zugabe einer Chemikalie (4-Hydroxytamoxifen) modulieren, denn erst nach der Zugabe von 4-Hydroxytamoxifen wird das Restriktionsenzym in den Zellkern transportiert. Im Zellkern wird die DNA durch das Restriktionsenzym an ca. 100 annotierten Positionen geschnitten. Anschließend wird die DNA in unmittelbarer Nähe zur Bruchstelle über die Markierung durch den Schadensmarker  $\gamma$ H2AX isoliert und sequenziert. Durch die bekannte Lokalisation der Bruchstellen im DivA-System konnte die Sequenzierung durch eine kostengünstigere qPCR ersetzt werden. Dies war ein großer Vorteil und ermöglichte die Etablierung und Optimierung des Verfahrens. Darauf aufbauend wurde die Etablierung der ChIP-Sequenzierung mit einer Fibroblasten-Zelllinie (82-6 hTERT) fortgesetzt. Hier wurden spontan-auftretende DSBs über  $\gamma$ H2AX nachgewiesen. Als Kontrolle wurden auch Zellen nach Bestrahlung untersucht und ein Anstieg des ChIP-Signals für  $\gamma$ H2AX nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen beobachtet sowie mit fortschreitender Reparaturzeit eine Abnahme des Signals. Derzeit werden die ersten Proben für die Sequenzierung vorbereitet.

AP6: AP2 stellte uns einige Zelllinien erneut zur Verfügung, die im Rahmen der KiKMeStudie (Phase II) von Patienten sowie von gesunden, gematchten Probanden etabliert wurden und beim ersten Expansionsversuch nicht angewachsen waren. Leider wuchsen die Zelllinien wieder nicht an, so dass diese Triplets nicht in die Analyse eingeschlossen werden können. Insgesamt befinden sich derzeit 53 pseudonymisierte Triplets (159 Zelllinien) in Darmstadt, die für die Experimente expandiert und im Kryotank eingelagert wurden. Die Experimente zur Analyse der Reparaturkapazität wurden sukzessive mit jeweils 7 Triplets durchgeführt und Bildaufnahmen zur automatisierten Auswertung der Reparaturkapazität angefertigt. Diese Bilder werden derzeit für die Auswertung mit der Software AutoFoci vorbereitet und sollen nach Abschluss der Experimente für alle Zelllinien gemeinsam ausgewertet werden. Diese zeitnahe Auswertung aller Bilddateien bei der keine separate Analyse von Zwischenergebnissen einzelner Versuchsdurchläufe vorgenommen wird, soll einen möglichen subjektiven Bias bei der Auswertung verhindern.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Nach dem Abschluss der statistischen Auswertung der vorangegangenen Studien zur Reparaturkapazität wird in Kooperation mit AP4 und AP7 eine umfassende Interpretation der bisherigen Daten und die Identifikation auffälliger Zelllinien erfolgen. Diese werden dann mit bereits etablierten Assays genauer analysiert. Die Etablierung der ChIP-Experimente wird fortgesetzt. Neben der experimentellen Auswertung ist die Etablierung der Analyse der Sequenzierungsdaten geplant. Nach erfolgreicher Etablierung der ChIP-Sequenzierung werden die Fibroblasten der Krebspatienten mit Hilfe dieser Methode untersucht.

AP6: Die Experimente mit anschließender Bildaufnahme werden fortgesetzt, wobei zeitnah die Bildprozessierung für die automatisierte Auswertung erfolgt. Nach Abschluss der Prozessierung erfolgt im kommenden Halbjahr die Computergestützte Auswertung. Diese Auswertung wird zeigen, ob einzelne Zelllinien wegen schlechten Wachstums oder schlechter Färbequalität erneut getestet werden müssen oder ggf. ganze Experimentreihen wiederholt werden müssen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 043A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2015 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 883.050,00 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- und Heterochromatins geschädigt werden und die Qualität der Schadensprozessierung in Relation zur Lokalisation und Komplexität des induzierten DSB zellzyklusabhängig untersucht werden. Über gezielte Schädigung von eingeführten DNA-Konstrukten soll des Weiteren die molekulare Signatur von Mutationsereignissen charakterisiert werden. Die genexpressionsbasierte Analyse von Signalwegen soll Hinweise darauf geben, welche zellulären Prozesse die Auswahl der involvierten Reparaturmechanismen steuern.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist in 2 Arbeitspakete/Hauptfragestellungen untergliedert:

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

AP2: Wie unterscheidet sich die Qualität der Reparatur von DSBs unterschiedlicher Komplexität auf dem Niveau des einzelnen Bruches? Zu diesem Zweck soll ein Genreporterkonstrukt erstellt und stabil in das Genom von SCL-II Zellen integriert werden. Der verwendete Genreporter verfügt über TFO-Bindesequenzen, so dass mit Hilfe von  $^{125}\text{I}$  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, Mutationstyp und Mutationslokation untersucht werden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1 und AP2:

Nach Zellzyklussynchronisation wurden Jurkat-Zellen mit Tritium-Thymidin oder I-125-UdR in der frühen S-Phase (Euchromatinbereiche) bzw. späten S-Phase (Heterochromatinbereiche) für eine Stunde puls-gelabelt und anschließend nach der Markierung direkt bzw. in der G2M- oder G1-Zellzyklusphase zur Akkumulation von Radionuklid-Zerfällen eingefroren. Nach Akkumulation adäquater Zerfallszahlen wurden die Zellen aufgetaut und hinsichtlich Chromosomenaberrationen sowie  $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ -, Mikrokern- und Apoptose-Induktion analysiert. G1-Zellen zeigten für beide Radionuklide keine Unterschiede hinsichtlich der zeitlichen Abnahme der  $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$  Foci (0 bis 24 h; Focikinetiken) nach Radionuklidmarkierung des Hetero- und Euchromatins. In S- bzw. G2M-Phase-Zellen war bei gleicher Anzahl an akkumulierten Zerfällen pro Zelle die initiale  $\gamma\text{H2AX}$ -Focinduktion nach Radionuklidmarkierung in Heterochromatinbereichen gegenüber Euchromatinbereichen generell signifikant erhöht. Bezüglich der 53BP1-Fociinduktion zeigte sich in S- bzw. G2M-Phase Zellen zusätzlich radionuklidspezifische Unterschiede. Während bei Zellen mit Tritium-exponierten Hetero- bzw. Euchromatinbereichen keine signifikanten Unterschiede auftraten, wurde dies nach I-125-UdR-Exposition festgestellt, wobei eine signifikante 53BP1-Foci-Erhöhung nach exklusiver Markierung der Heterochromatinbereiche auftrat.

Vergleichsexperimente mit Gamma-Bestrahlung (Cs-137) zeigten, dass DSB, die durch Tritium bzw.  $\gamma$ -Strahlung induziert werden, mit annähernd gleicher Effektivität und unabhängig von der Zellzyklusphase repariert werden. Für Tritium-Thymidin wurde, basierend auf mikrodosimetrischen Betrachtungen, für  $\gamma\text{H2AX}$ -Induktion eine relative biologische Wirksamkeit von 6,2 festgestellt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1 und AP2:

Bereits geerntete I-125-UdR-, Tritium- und Gamma-exponierte Proben werden bzgl. der unter Punkt 3 (erster Abschnitt) genannten Endpunkte weiter ausgewertet. Untersuchungen bezüglich der Komplexität von Tritium-induzierten DSB werden mit Endpunkt Zellüberleben untersucht. Die Involvierung homologer Rekombination in I-125-UdR-, Tritium- und Gamma-exponierten Zellen wird vergleichend analysiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Kasparick, Peter: Untersuchungen zur DNA schädigenden Wirkung von Tritium in vitro. MSc-Arbeit, Hochschule Koblenz (2019)

<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 30.06.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 2.279.559,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Iliakis	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

UDE-3: Mögliche Parameter für die Cisplatin- und Strahlenresistenz werden gesucht und Strategien entwickelt um diese zu umgehen. Hierzu wollen wir die Wirkung von Cisplatin und IR induzierten komplexen DNA Schäden auf die Checkpoint-Aktivierung im Zellzyklus, die Wahl der Reparaturwege, genomische Instabilität und Strahlenempfindlichkeit in nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomzelllinien (NSCLC) bewerten. Die Beziehung zwischen diesen funktionellen Endpunkten und möglichen Prädiktoren (Aktivierung unterschiedlicher Reparaturwege, Zellzyklusphasenabhängigkeit, Akkumulation residualer 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:** Wir konnten vorläufige Ergebnisse bestätigen, die angedeutet hatten, dass CtIP-Knockdown kaum Auswirkungen auf die Häufigkeit von durch einfache, I-SceI-induzierte, DSB verursachten Chromosomenanomalien hat. Ebenfalls konnte bestätigt werden, dass mit steigender Komplexität der zugrundeliegenden DSB der suppressive Effekt der CtIP-Reduktion zunimmt, und bei DSB-Clustern mit höchster Komplexität zu einer erheblichen Verringerung der Anzahl von Aberrationen um 50 % und mehr führt.

Die Untersuchungen zur Rolle der resektionsabhängigen SSA-Reparatur mit Hilfe RNAi vermittelter Reduktion der Rad52 Expression wurden fortgeführt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Depletion von Rad52 keine Auswirkungen auf die Bildung von Aberrationen in den CHO-Klonen hat, die einzelne DSB oder DSB-Paare aufweisen. Die Anzahl der Aberrationen, die während der Fehlreparatur von DSB-Clustern mit höchster Komplexität (CHO-2xS.R14 und CHO-4xS.R12) erzeugt werden, ist jedoch erheblich verringert. Die chemische Hemmung von Rad52 unter Verwendung von 6-Hydroxy-DL-DOPA bestätigt diese Ergebnisse, die Reduktionsrate war jedoch etwas geringer.

Frühere Experimente zeigten, dass in RNF8/168 depletierten Zellen keine 53BP1 Foci gebildet werden. Neuere Ergebnisse zeigen, dass die Bildung von gH2AX-Foci in denselben Zellen jedoch nicht beeinträchtigt ist. Klonogene Überlebensassays zeigen, dass die RNAi vermittelte Reduktion von RNF8/168 in Zellen, die einzelne DSBs enthalten, zu einem größeren Anstieg der Zellabtötung führt, als in Zellen, die DSB-Cluster aufweisen. In ähnlicher Weise wird auf zytogenetischer Ebene ein Anstieg der chromosomalen Translokationen um 50 % in Zellen beobachtet, die einzelne DSB aufweisen, wohingegen in Zellen, die DSB-Cluster enthalten, kein signifikanter Anstieg beobachtet wird.

**3.2 UDE-2:** Die bislang getesteten induzierbaren Systeme wiesen deutliche Schwächen auf. Wir sind weiterhin auf der Suche nach einem induzierbaren System mit geeigneten Eigenschaften.

**3.3 UDE-3:** Der Einfluss des MRN Komplexes auf die Strahlenempfindlichkeit nach kombinierter Radiochemotherapie mit Cisplatin (CPT) wurde in weiteren NSCLC Linien (insgesamt 8) weiter untersucht. Inhibierung von MRN verstärkt den strahlensensitivierenden Effekt von CPT in den eher CPT resistenten (A549, H1299, H838) sowie in Linien mit ATM Mutation (H23, H520). Keinen Effekt hat es auf die eher CPT sensitiven Linien (H522, H460, H661) mit Ausnahme von H1975. Mechanistisch ist der Effekt des Mirin (i) auf eine erhöhte CPT Addukt Formation und (ii) auf eine reduzierte Bildung von 53BP1 Reparaturfoci nach kombinierter Behandlung in den eher CPT resistenten Zelllinien zurückzuführen. Keinen Effekt hat es auf die 53BP1 Focibildung in den eher CPT sensitiven Linien. Die Bildung von Rad51 Foci wird dagegen in allen Zelllinien reduziert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

**4.1 UDE-1:** Die Untersuchungen zur Rolle von DNA-Endresektion und resektionsabhängiger DSB Reparaturwege bei der Bildung von chromosomalen Aberrationen nach Induktion von einfachen und geclusterten DSB in humanen und Hamsterzellen werden fortgesetzt werden.

**4.2 UDE-2:** Wir werden weitere Ansätze testen um ein System zu etablieren, das die Durchführung der avisierten Experimente erlaubt.

**4.3 UDE-3:** Wir wollen den Effekt der Inhibierung des MRN Komplexes auf normale Zellen (Fibroblasten) nach kombinierter Behandlung mit CPT und Bestrahlung in unterschiedlichen Wachstumsphasen (plateau, exponentiell) untersuchen. Hierzu werden CPT Addukte, Reparaturfoci und das klonogene Überleben in Fibroblasten (neonatal und adult) analysiert.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Iliakis G., Mladenov E., Mladenova V.: Necessities in the Processing of DNA Double Strand Breaks and Their Effects on Genomic Instability and Cancer. *Cancers* (Basel). 2019 Oct 28;11(11)

Sak A., Gronenberg M., Stuschke M.: DNA-dependent protein kinase: effect on DSB repair, G2/M checkpoint and mode of cell death in NSCLC cell lines. *Int J Radiat Biol.* 2019 Sep;95(9):1205-1219

Mladenov E., Fan X., Paul-Konietzko K., Soni A., Iliakis G.: DNA-PKcs and ATM Epistatically Suppress DNA End Resection and Hyperactivation of ATR-dependent G2-checkpoint in S-phase Irradiated Cells. *Sci Rep*, 9 (1), 14597, 2019 Oct 10

Iliakis G., Mladenov E., Mladenova V.: Necessities in the Processing of DNA Double Strand Breaks and Their Effects on Genomic Instability and Cancer. *Cancers* (Basel). 2019 Oct 28;11(11)

Mladenov E., Staudt C., Soni A., Murmann-Konda T., Siemann-Loekes M., Iliakis G.: Strong suppression of gene conversion with increasing DNA double-strand break load delimited by 53BP1 and RAD52. *Nucleic Acids Res.* 2019 Dec 13. [Online ahead of print]

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 045A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 988.930,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Graw	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Augenruppe (HMGU-Auge; Jochen Graw; AP1) untersucht die Auswirkungen niedriger Strahlendosen auf die Linse und die Retina. Nach dem Renteneintritt von Jochen Graw zum 1.8.2019 übernimmt Claudia Dalke die Federführung in AP1.

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

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Ergebnisse des 1. Halbjahres 2019 wurden im Rahmen einer INSTRA-Vollversammlung am 27.11.2019 vorgetragen und diskutiert; hier erfolgt nur eine kurze Darstellung:

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Claudia Dalke)

Die histologische Auswertung der 4 Std. nach Bestrahlung entnommenen Augen zeigte keine posterioren Katarakte und wurde als Referenzwert für die anschließende statistische Auswertung verwendet. Dabei wurden nach einer Dosis von 0,5 Gy signifikant häufiger posterior subcapsuläre Katarakte gefunden. Signifikant erhöht war dieser Katarakttyp erst 18 und 24 Monate nach Bestrahlung.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die Untersuchungen des Verhaltens und des Aktivierungszustandes von Mikroglia und Astrozyten im Hippocampus legen nahe, dass die Bestrahlung mit 0,063 Gy auf Verhalten und Neuroinflammation langfristig nicht schädlich, sondern im Alter sogar eher protektiv wirkt. Im Gegensatz dazu wirkt die Bestrahlung mit 0.5 Gy langfristig negativ und erhöht die Anzeichen von Neuroinflammation im Alter.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Die transkriptionellen Zeitseriendaten aus Blutproben der bestrahlten Mäuse wurden ausgewertet und milde strahlenassoziierte Genexpressionseffekte detektiert. Die transkriptionelle Analyse der Schilddrüsenneoplasien und der dazugehörigen Normalgewebe ergab frühe strahlenassoziierte Veränderungen von Krebswegen. Ein Manuskript zu den zeitaufgelösten Transkriptomdaten der bestrahlten Mäuse wird derzeit erstellt. Ein Manuskript zur Transkriptomanalyse der Schilddrüsenneoplasien beim Journal Thyroid eingereicht.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es wurden keine Bestrahlungen mehr für das Projekt durchgeführt.

Z2: Pathologie (HMGU-PATHO; Frauke Neff): ausgeschieden

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Die neu erstellten Daten werden homogenisiert und in die INSTRA-Graphdatenbank eingepflegt. Anschließend wird das entwickelte Regressionsmodell, Veröffentlichungen in Arbeit, verwendet um die integrierten Daten in Bezug auf den Gesamtorganismus zu analysieren.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Augenuntersuchungen (HMGU-Auge; Claudia Dalke)

Die Veröffentlichung der Ergebnisse ist in Vorbereitung.

AP2: Verhalten (HMGU-Verhalten; Sabine Hölter)

Die Einreichung des Manuskripts zur Veröffentlichung der Ergebnisse steht kurz bevor.

AP5: Transkriptomanalyse (HMGU-ZYTO; Kristian Unger)

Ein Manuskript zu den zeitaufgelösten Transkriptomdaten der bestrahlten Mäuse wird derzeit erstellt. Ein Manuskript zur Transkriptomanalyse der Schilddrüsenneoplasien beim Journal Thyroid eingereicht.

Z1: Bestrahlung (HMGU-AMSD; Helmut Schlattl)

Es werden keine Bestrahlungen durchgeführt.

Z2: Pathologie (PATHO; Frauke Neff): ausgeschieden

Z3: Datenintegration (HMGU-ICB; Fabian Theis)

Abschließende Datenanalyse.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Es wurden die INSTRA-Ergebnisse auf verschiedenen deutschen und internationalen Kongressen vorgestellt.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 045C
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.01.2016 bis 31.12.2019	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 208.353,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Atkinson	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Es wurde eine Alters- und Dosisabhängige Veränderung im Verhalten der Mäuse festgestellt, deren molekulare Ursachen durch Proteom-Analysen untersucht wurden. Für das Protein-Profilung wurde eine markierungsfreie („label-free“) Quantifizierung mit Hilfe von an Flüssigchromatographie gekoppelter Massenspektrometrie durchgeführt und mit der Software „Progenesis Q1“ ausgewertet. Die Ergebnisse der Proteom-Analyse zeigen signifikante Unterschiede, die abhängig von Geschlecht und Genotyp variieren. Die größte Veränderung im Proteom wurde bei den Wildtyp Männchen nach 4 Monaten und bei den Wildtyp Weibchen nach 24 Monaten festgestellt.

Aus diesem Grund wurden die MS-Daten der Wildtyp Weibchen nach 24 Monaten weiter validiert. Der CREB-Signalweg und die CREB-assoziierten Signalwege waren bei allen Dosierungen betroffen. Die niedrigeren Dosen (0,063 Gy und 0,125 Gy) induzierten den CREB-Signalweg, während die Exposition bei 0,5 Gy das CREB deaktiviert. Ebenso scheint es, dass die niedrigste Dosis (0,063 Gy) anhand reduzierter Anzahl der aktivierten Mikroglia, einen entzündungshemmenden Effekt hat. Im Gegensatz dazu wurde die Induktion aktivierter Mikroglia und reaktiver Astroglia bei 0,5 Gy gefunden, was auf eine erhöhte Entzündung bzw. Astrogliose hindeutet. Die apoptotischen Marker BAX und gespaltenes CASP-3 sowie die Marker für oxidativen Stress waren nur in der höchsten Dosis erhöht. Da der aktivierte CREB-Signalweg eine zentrale Rolle beim Lernen und Gedächtnis spielt, deuten diese Daten auf eine Neuroprotektion bei der niedrigsten Dosis (0,063 Gy), aber auf eine Neurodegeneration bei 0,5 Gy hin. Die Antwort auf 0,5 Gy ähnelt den Veränderungen, die man beim gesunden Altern findet, und könnte somit eine strahleninduzierte Beschleunigung des Alterungsprozesses im Gehirn darstellen. Die Ergebnisse wurden in einem Manuskript mit dem Titel „CREB Signaling Mediates Dose-Dependent Radiation Response in the Murine Hippocampus Two Years after Total Body Exposure“ zusammengefasst und in der Zeitschrift *Journal of Proteome Research* veröffentlicht.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Doktorarbeit von Frau Daniela Hladik wird zurzeit geschrieben. Sonst sind keine weiteren Arbeiten geplant.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Hladik, D., et al.: CREB Signaling Mediates Dose-Dependent Radiation Response in the Murine Hippocampus Two Years after Total Body Exposure. *J Proteome Res.* 2020 Jan 3;19(1):337-345

Hladik, D., et al.: Combined Treatment with Low-Dose Ionizing Radiation and Ketamine Induces Adverse Changes in CA1 Neuronal Structure in Male Murine Hippocampi. *Int J Mol Sci.* 2019 Dec 3;20(23)

Schmal, Z., et al.: DNA damage accumulation during fractionated low-dose radiation compromises hippocampal neurogenesis. *Radiother Oncol.* 2019 Aug;137:45-54

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 047A
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 806.645,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Zitzelsberger	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
- AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken
- AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe
- AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP1.1: Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort

Zeitaufgelöste Transkriptomdaten der Cal33 und LUCY Zellkulturmodelle wurden bezüglich strahlen-assoziiertes differentieller Pathwayregulation analysiert. Progeny und SPEED2 Analysen wurden

durchgeführt. Des Weiteren wurden Gene, welche ihre zeitabhängige Expressionsdynamik in sensiti-ven/resistenten geändert haben identifiziert. Solche "Switcher" Gene waren vor allem dem IL-1, TNFa, NFKb, MAPK, PI3K, Hippo und Wnt Signalling zuzuordnen. Im nächsten Schritt werden Gen-expressionszeitreihen von Keratinozytenzellen aus der Mundschleimhaut von zwei gesunden Spendern mit hoher und niedriger Strahlensensitivität (Freiburg) mittels Microarrayanalyse generiert und analog den LUCY und Cal33 Zellkulturmodellen analysiert.

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

AP2.1: Funktionelle Analyse der Wirkung von Repräsentanten der untersuchten Netzwerke auf die Strahlensensitivität von Tumorzellen *in vitro*

Die molekulare und funktionelle Charakterisierung des HNSCC-Zelllinien Panels (n=11) und den *in vivo* Tumorproben des Panels wurde in enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern (BfS, IFZ, LMU, CUB) abgeschlossen. Die Ergebnisse wurden am HMGU zu einem ersten Manuskript-Entwurf zusammengestellt. Für eine Charakterisierung der Strahlenantwort des HNSCC Zelllinien Panels wurden Genexpressionsanalysen mittels Microarray durchgeführt, wobei jeweils 4 biologische Replikate 96 h nach 0 Gy/6 Gy Bestrahlung analysiert wurden.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Im Berichtszeitraum wurde die *library preparation* für die RNAseq der noch ausstehenden Fälle des LMU-KKG Kollektivs adjuvant strahlentherapierter HNSCC Patienten durchgeführt und für die Sequenzierung vorbereitet werden.

Vom UKF wurden Mundschleimhautproben von 30 HNSCC Patienten mittels *Spread Assay* Analysen hinsichtlich der In-vitro-Strahlenempfindlichkeit charakterisiert. Die *Spread Assay* Proben aller Patienten wurden vom UKF ans HMGU zur RNA Isolierung und RNAseq übergeben. Von 21 Patienten konnte erfolgreiche RNA isoliert, eine *library preparation* (0 Gy und 6 Gy) durchgeführt und für die Sequenzierung vorbereitet werden.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes ZiSStrans fand am 25./26. November an der LMU in München statt. Für das HMGU nahmen H. Zitzelsberger, P. Weber, K. Unger, S. Mwiberi und J. Hess teil.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortragspräsentationen im Rahmen der DeGBS-Jahrestagung 2019 in Mannheim, 21.-23.09.2019:

Theresa Heider, Peter Weber, Samet Mutulu, Martin Selmsberger, Katharina Huber, Bertram Klinger, Nils Blüthgen, Kristian Unger, Julia Hess, Kirsten Lauber, Horst Zitzelsberger: In vitro and in vivo multi-level omics characterisation of a head and neck squamous cell carcinoma cell line panel

Sarah Mwiberi, Bertram Klinger, Daniel Samaga, Kirsten Lauber, Maria Gomolka, Sabine Hornhardt, Julia Hess, Horst Zitzelsberger, Nils Blüthgen and Kristian Unger: Signalling networks of the radiation response in a cell culture model of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC).

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		<b>Förderkennzeichen:</b> 02 NUK 047B
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 516.332,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Hornhardt	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung  
Schwerpunkt BfS: 1.3 Implementierung von Nachweismethoden
- AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken  
Schwerpunkt BfS: 2.4 Funktionelle Analyse und Validierung therapeutisch relevanter Netzwerkrepräsentanten und Knotenpunkte für die Normalgewebstoxizität in vitro
- AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe  
Schwerpunkt BfS: 3.2 Retrospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Normalgewebe; 3.3 Prospektive Validierung von Netzwerken und Repräsentanten in Tumor- und Normalgeweben
- AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch  
Alle Arbeiten erfolgen in enger Zusammenarbeit mit den Verbundpartnern

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Aus den mit 2D-DIGE Screen identifizierten Proteinen der HNSCC-Linie Cal33 und deren abgeleiteten strahlensensitiven Klon #303 und strahlenresistenten Klon #327 wurden Netzwerkanalysen in Zusammenarbeit mit Partner HMGU durchgeführt. Es wurden übereinstimmende Ergebnisse mit metabolischen Analysen und Transkriptomanalysen festgestellt. Weiterhin wurden massenspektrometrische Analysemethoden für den Nachweis von Kandidatenproteinen und zur Analyse des wertvollen primären Zellmaterials der Hals-Kopf-Tumor Patienten evaluiert und mit möglichen Kooperationspartnern besprochen.
- AP2: Zur Charakterisierung der in die Untersuchungen einbezogenen HNSCC-Zelllinien wurden Wachstumskurven dieser Zelllinien angefertigt. Darüber hinaus wurden die Zelllinien mittels Luminex Technik auf Zytokinsekretion untersucht. Dazu wurden die Zellkulturüberstände nach Bestrahlung verwendet. Dabei ließen sich radiosensitive und radioresistente Zelllinien anhand der Ähnlichkeit der Zytokinprofile gruppieren. Die Ergebnisse werden in eine gemeinsame Publikation aller Projektpartner einfließen.  
Ein Panel aus lymphoblastoiden Zelllinien (LCLs) wurde mittels WST Assay auf metabolische Aktivität (indirekter Nachweis für Zelltod) 24 und 48 Stunden nach Bestrahlung untersucht, um besonders empfindliche Zelllinien für weitere Analysen zu identifizieren. Eine signifikante Assoziation zwischen klinischer Strahlenempfindlichkeit und verringerter metabolischer Aktivität konnte nicht nachgewiesen werden. Einzelne Zelllinien reagierten reproduzierbar strahlensensitiv. Weiterhin wird ein „Limiting dilution assay“ etabliert, um das klonogene Zellüberleben nach Bestrahlung zu erfassen. Aus der Literatur gibt es Hinweise, dass dieser Test mit der klinischen Strahlensensitivität korreliert. Zur weiteren Charakterisierung dieser Zelllinien wurde mit Zellzyklusanalysen (FACS) begonnen.
- AP3: Es wurden mit allen Verbundpartnern Grundlagen zur Aufarbeitung und Analyse des Patientenmaterials des Partners Universitätsklinikum Freiburg ausgearbeitet. Es werden regelmäßig Blutproben von Patienten aus Freiburg im BFS aufgearbeitet.  
Die in Freiburg gesammelten Mundschleimhautproben sollen mittels Reparaturfoci-Assay ( $\gamma$ H2AX/53BP1) und massenspektrometrischer Proteinanalytik untersucht werden. Hierzu wurden bereits Pilotversuche an Zellen von drei freiwilligen Probanden durchgeführt, um die Methode auf den Zelltyp hin zu optimieren. Der RF-Assay wurde erfolgreich etabliert. Aufgrund der geringen zur Verfügung stehenden Zellzahl der Keratinozyten müssen dazu diese adhären Zellen auf Objektträgern kultiviert werden. Für die Massenspektrometrie wurde ein geeigneter Kooperationspartner gefunden: die Research Unit Protein Science des Helmholtz Zentrums München. Ein erster Testlauf mit Proben von Mundschleimhautzellen hat stattgefunden, um die Probenvorbereitungs- und Messmethoden zu optimieren.
- AP4: Zum Erlernen des sogenannten Spread-Assay von Mundschleimhautproben der HNSCC-Patienten war Frau Dr. Katharina Huber vom BFS zum Austausch beim Partner UK Freiburg. Zum Erlernen der Bioplexmethode hat Frau Huber Messungen an der Charite Berlin unterstützt.

Das zweite Projekttreffen 2020 fand am 25./26. 11.2019 an der LMU, München statt.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Heider T, Weber P, Mutulu S, Selmsberger M, Huber K, Klinger B, Blüthgen N, Unger K, Hess J, Lauber K, Zitzelsberger H: In vitro and in vivo multi-level omics characterisation of a head and neck squamous cell carcinoma cell line panel. Vortrag T. Heider, DeGBS, Mannheim, 23.-25.9.2019  
Mwiberi S, Klinger B, Samaga D, Lauber K, Gomolka M, Hornhardt S, Hess J, Zitzelsberger H, Blüthgen N, Unger K.: Signalling networks of the radiation response in a cell culture model of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Poster S. Mwiberi, DeGBS, Mannheim, 23.-25.9.2019

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 688.212,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Lauber	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
- AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken
- AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe
- AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des Projektpartners LMU zu AP1-4 dargestellt. Gemeinsam mit den anderen Projektpartnern wurde die geplante Publikation zur Bedeutung der zellulären Seneszenz und des damit verbundenen sekretorischen Phänotyps weiterbearbeitet. Die geplanten RNASeq-Analysen aus explantierten Tumoren wurden gemeinsam mit dem Partner HMGU durchge-

führt, allerdings mit ca. 2 Monaten Verspätung. Die erhaltenen Ergebnisse wurden in die Publikation eingearbeitet. Aktuell befinden sich Abbildungen und Publikationstext in der Fertigstellung. Eine Submission ist für Q1/2-2020 geplant.

Die Untersuchungen zur Beteiligung eines Stammzell-Oberflächenrezeptors an den Mechanismen der Radioresistenz von HNSCC-Zellen sind nahezu abgeschlossen. Die Datenerhebung zur Radiosensibilisierung von HNSCC-Linien durch Rezeptor-spezifische RNA-Interferenz *in vitro* und die Validierung in einem orthotopen HNSCC-Xenograft-Modell wurden erfolgreich beendet. Die Evaluierung der prognostischen Relevanz des Markers im TCGA-HNSCC-Kollektiv und im retrospektiven HNSCC-Kollektiv der klinischen Kooperationsgruppe 'Personalisierter Radiotherapie von Kopf-Hals-Tumoren' (Leitung Prof. Belka) wurde abgeschlossen. Finale Auswertungen betreffen RNASeq-Analysen von HNSCC-Zellen mit bzw. ohne Rezeptor-spezifischer RNA-Interferenz. Aktuell befinden sich Abbildungen und Publikationstext in der Fertigstellung. Eine Submission ist für Q3/4-2020 geplant.

Das Teilprojekt mit den generierten radioresistenten Cal33-Zellklonen befindet sich ebenfalls in Finalisierung der Datenerhebung. RNASeq-Analysen aus Gewebeproben explantierter Tumore wurden durchgeführt und befinden sich aktuell in der Auswertung beim Partner HMGU. Ziel ist die zeitnahe Erstellung eines Publikationskonzepts.

In Kollaboration mit dem Projektpartner CUB wird aktuell die Bedeutung eines weiteren Signalwegs für die Radioresistenz von HNSCC-Linien in Koloniebildungstests und Zelltodanalysen untersucht. Aus schutzrechtlichen Gründen bezeichnen wir diesen bis auf Weiteres ZiSS01. Ein Publikationskonzept wurde erstellt.

Die radiobiologische Charakterisierung der aus der heterogenen Ausgangszelllinie Cal33 isolierten 20 neuen Subklone ist abgeschlossen. Aktuell werden diese Daten mit aCGH- und SKY-FISH-Analysen vom Projektpartner HMGU abgeglichen. Hierdurch soll die Anzahl der weiter zu charakterisierenden Klone für RNASeq-Analysen reduziert werden.

Sonstiges:

Abstimmende Telefonkonferenzen des Verbunds fanden am 07.10.2019 und am 27.01.2020 statt. Für den Partner LMU nahmen Dr. Radostin Galabov und Prof. Dr. Kirsten Lauber teil.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 25./26.11.2019 in München statt und wurde vom Projektpartner LMU ausgerichtet. Für den Partner LMU nahmen Dr. Radostin Galabov und Prof. Dr. Kirsten Lauber teil.

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

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Die verzögerte Nachbesetzung der PostDoc-Stelle hat eine Verzögerung von 10 Monaten in der Projektbearbeitung verursacht. Durch Schwierigkeiten bei der Bearbeitung von RNASeq-Analysen beim Projektpartner HMGU sind weitere 2 Monate Verzögerung hinzugekommen. Insgesamt liegt die Verzögerung jetzt bei 12 Monaten. Über das Promotionsprogramm der medizinischen Fakultät der LMU konnte ein Promotionsstipendiat gewonnen werden, der ab 2020-02 am Projekt mitarbeiten wird.

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

Kongressbeiträge

Intrinsic and acquired radioresistance and intra-tumoral heterogeneity biomarkers in HNSCC  
Samet Mutlu, Sebastian Maier, Agata Michna, Ulrike Schötz, Kristian Unger, Theresa Heider, Horst Zitzelsberger, Claus Belka, and Kirsten Lauber. DeGBS Jahrestagung 2019, Mannheim

*In vitro* and *in vivo* multi-level omics characterisation of a head and neck squamous cell carcinoma cell line panel, Theresa Heider, Peter Weber, Samet Mutlu, Martin Selmansberger, Katharina Huber, Bertram Klinger, Nils Blüthgen, Kristian Unger, Julia Hess, Kirsten Lauber, Horst Zitzelsberger. DeGBS Jahrestagung 2019, Mannheim

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 739.080,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Jendrossek	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt ist Teilprojekt eines Verbundes dessen 4 Arbeitspakete von 6 Projektpartnern in München (BfS, LMU, HMGU), Berlin (CUB), Essen (IFZ) und Freiburg (UKF) gemeinsam bearbeitet werden.

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP2: HNSCC-Tumormodelle und Normalgewebsmodelle zur funktionellen Charakterisierung und präklinischen Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

AP4: Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

#### *Arbeiten des IFZ in API-4:*

Die *in vivo* Untersuchungen zur Radiosensitivitäts-Modulation von HNSCC-Xenograft-Tumoren durch den identifizierten SASP-Inhibitor (Kombinations-therapie mit Bestrahlung) wurden in einer weiteren Zelllinie abgeschlossen und ausgewertet. *In vivo* generierte Tumorenproben des im Verbund etablierten HNSCC-Tumor-Zelllinienpanels (10 Linien) wurden für die immunhistologische Validierung nach München (HMGU) geschickt und ausgewertet (s. Zwischenbericht 1/2019). Die Experimente zur metabolischen Charakterisierung der beiden durch wiederholte *in vitro* Bestrahlung generierten Klone einer HNSCC-Zelllinie mit unterschiedlicher Radiosensitivität wurden abgeschlossen (statistische Absicherung) und werden derzeit ausgewertet. Die Versuchsserien zur *in vivo* Analyse des Einflusses der Inhibition eines SASP Faktors und eines Immunmodulators auf frühe (0-3 Wochen) und späte (ca. 25 Wochen) Normalgewebsveränderungen nach Thoraxbestrahlung (Ausschluss einer gesteigerten Toxizität) wurden fortgesetzt (statistische Absicherung). Parallel dazu wurden wie geplant komplementäre *in vitro* Untersuchungen zur Wirkung von SASP-Inhibitoren auf bestrahlte humane und murine Normalgewebszellen durchgeführt.

Aus den an den Partner HMGU gesandten murinen Proben wurden Datensätze zu zeitabhängigen Veränderungen im Transkriptom muriner Lungengewebsproben nach Thoraxbestrahlung (0 und 15 Gy) erhalten, die nun bioinformatisch ausgewertet werden (Kooperation mit Partner HMGU); im Anschluss soll eine Validierung in Bezug auf die durch Modellierung erhaltenen Signaturen (Kooperation mit Partner CUB) erfolgen; in Bezug auf diese Analysen hatten sich unerwartet Verzögerungen ergeben. Die vorbereitenden Arbeiten zur Prüfung der pathologischen Rolle von Immunveränderungen beim Tumorwachstum und bei strahleninduzierter Mukositis in der Maus wurden fortgesetzt (Etablierung des set-ups für ein *in vivo* Mukositis-Modell in Kooperation mit LMU und Klinik für Radioonkologie, Essen; Erstellung Tierversuchsantrag). Zusätzlich zu den geplanten Arbeiten wurde an der Etablierung einer primären Keratinozyten-Kultur ausgehend von murinen Mundschleimhautproben gearbeitet (Kooperation mit Partner UKF); primäre murine Zellen erwiesen sich im Gegensatz zu den humanen Primärkulturen als nicht expandierbar.

Das Halbjahres-Meeting des Verbundes fand am 25./26.11.2019 an der LMU in München statt. Für das IFZ nahmen V. Jendrossek, D. Klein, Ch. Hansel und F. Wirsdörfer (vertretend für S. de Leve) teil.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm, allerdings mit einer weiteren zeitlichen Verzögerung (siehe Punkt 14).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

de Leve S, Wirsdörfer F, Jendrossek V.: The CD73/Ado System-A New Player in RT Induced Adverse Late Effects. *Cancers* (Basel). 2019 Oct 16;11(10). pii: E1578 (Review)

Dünker N, Jendrossek V.: Implementation of the Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Model in Radiation Biology & Experimental Radiation Oncology. *Cancers* (Basel). 2019 Oct 7;11(10). pii: E1499 (Review)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.03.2017 bis 28.02.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 582.708,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Blüthgen	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Ziel des Verbundvorhabens ist die Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, welche die zelluläre Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals Tumoren modulieren. Deren Relevanz wird auch in Normalgeweben überprüft. Außerdem soll eine Übertragung der Erkenntnisse aus Modellsystemen auf menschliche Proben erfolgen. Dabei soll der wissenschaftliche Nachwuchs gefördert und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden.

Das Projekt ist ein Verbundprojekt mit dem Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), dem Institut für Zellbiologie (IFZ) der Universitätsklinikum Essen, der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), der Abteilung für Strahlenzytogenetik des Helmholtz Zentrums München (HMGU) sowie der Klinik für Strahlenheilkunde des Universitätsklinikums Freiburg (UKF).

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

CUB ist verantwortlich für die systembiologischen Analysen im Konsortialprojekt, die Arbeitsgruppe koordiniert das Arbeitspaket AP1 und alle Arbeiten der CUB werden in AP1 „Netzwerkanalyse und Systemmodellierung“ durchgeführt.

Im Einzelnen gliedert sich das Arbeitsprogramm in folgende Punkte. Jeder dieser Punkte wird in enger Kooperation mit den Konsortialpartnern bearbeitet.

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

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

Hauptziele der Arbeiten in der Berichtsperiode waren die weitere Analyse der Mathematischen Modelle zur Signaltransduktion von Zelllinien mit unterschiedlicher Strahlensensitivität (eine parentale, und 2 abgeleitete Zelllinien mit geringerer oder stärkerer Strahlenresistenz). Hier wurden Modellsimulationen durchgeführt, deren Ergebnisse auf einen Signalweg (ZISS1) hindeuten, der potentiell ursächlich für die Strahlenresistenz sein könnte. Dazu wurden in Kooperation mit der LMU (Lauber) gezielt Experimente durchgeführt, die diese Vermutung weiter untermauern.

Da die Strahlenantwort im Wesentlichen in der einzelnen Zelle „entschieden“ wird, wurde weiterhin beschlossen, aufbauend auf unseren Vorarbeiten zu dem Thema, Essays für die Einzelzellmessungen zu etablieren. Hierzu wurden Antikörper für relevante Signalmoleküle sowie Antikörper für Zellzyklusmarker mit Metallen (seltene Erden) konjugiert. Diese erlauben es uns, ca. 38 Signalmoleküle in einzelnen Zellen zu markieren und dann im CyTOF (Flow Cytometer coupled with Time of Flight Mass Spectrometer) zu messen. Erste Messungen an Kopf-Hals-Tumorzellen waren erfolgreich, und es wurden erste Schritte zur Etablierung eines Protokolls unternommen, diese Technologie für einen großen Screen und Zeitreihen zu verwenden. Hierzu mussten, für einen größeren Durchsatz und besserer Reproduzierbarkeit, insbesondere Fixierungsbedingungen und Inkubationsbedingungen optimiert werden.

Weitere wesentliche Arbeiten betrafen die Auswertung der Transkriptomdaten und Datenintegration in Zusammenarbeit mit HMGU, wo insbesondere Pathway-Aktivitäten untersucht wurden. Hierfür wurde ein tool entwickelt (SPEED2), das zur Identifizierung der ursächlichen Signaltransduktionsprozesse auf, als reguliert identifizierte, Gengruppen angewandt werden kann, welches auf eine manuell kuriierte Datenbank von definierten Störungsexperimenten auf Transkriptomebene basiert.

### **4. Geplante Weiterarbeiten**

Die wichtigsten Schritte im 1. HJ 2020 werden sein, weitere Schritte zur Validierung des Signalwegs ZISS1 zu unternehmen (in enger Kooperation mit den Partnern) sowie die Einzelzellmessungen final zu etablieren, und erste Zeitreihen durchzuführen.

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

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 047F</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.04.2017 bis 31.03.2022	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 611.208,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Henke	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

ZiSStrans ist das Folgeprojekt zu ZiSS. In ZiSS identifizierte Signalwege der Seneszenz, des Zellzyklus, Immunsystems und von PI3K/Akt werden in weiterführenden Experimenten systembiologisch und funktionell spezifiziert und ihre Deregulation in humanen Proben validiert. Darüber hinaus sollen aus zusätzlichen Daten durch entsprechende Analysen weitere, neue Knotenpunkte und Repräsentanten in den Netzwerken der Strahlenantwort identifiziert werden. Sowohl Zellkulturmodelle als auch Patientenproben, die durch klinische Parameter hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit charakterisiert sind, werden untersucht.

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

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: „Netzwerkanalyse und Modellierung“ (CUB/HMGU/BfS)  
 AP2: Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in HNSCC Tumormodellen“ (LMU/HMGU/IFZ)  
 AP3: „Zeitaufgelöste Messung von Netzwerkkomponenten, funktionelle Charakterisierung und Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken in Normalgewebs-Modellen“ (IFZ/HMGU/BfS/UKF)  
 AP4: „Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe“ (BfS/HMGU/LMU/UKF/IFZ)  
 AP5: „Nachwuchsförderung, Training und Interdisziplinärer Austausch“ (BfS/CUB/HMGU/LMU/UKF/IFZ)

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

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

Arbeiten des UKF in AP3:

Bezüglich des retrospektiven Protokolls sind seit letzter Berichterstattung 55 Proben asservierter Speichelzellen von Patienten (43 prätherapeutisch, 5 während und 7 nach Behandlung) an das IFZ zur Genexpressionsanalyse verschickt. Von den gleichen Patienten wurden klinische Daten zur Verlauf der Radiomukositis für die danach zu erfolgende Analyse aufgearbeitet.

Die prospektiven Untersuchungen wurden protokollgemäß fortgesetzt (vergleiche auch Zwischenbericht vom 31.07.2019). Im jetzigen Berichtszeitraum wurden im Universitätsklinikum Freiburg etwa 65 Patienten/Monat mit Kopf-Halstumoren identifiziert (“pre-screening”), davon wurden 12 bis 14 pro Monat zur Strahlentherapie vorgestellt, und 1 bis 2 von ihnen Monat erfüllten die Einschlusskriterien für die Studienteilnahme erfüllt. Seit 31.07. haben wir sechs Patientinnen und Patienten in die Untersuchung eingeschlossen. Der Rückgang der Rekrutierung im Vergleich zur primären Planung ist nicht vollständig zu erklären und möglicherweise durch eine veränderte Indikationsstellung zur multimodalen Therapie bedingt. Die verminderte Arbeit am Patienten konnte erfreulicher-

weise zur intensiveren methodischen Arbeit, speziell der translationalen Fragestellungen, genutzt werden. Insbesondere wurde dabei zunehmend Material gesunder Probanden verarbeitet. Bei den sechs eingeschlossenen Patienten wurden protokollgemäß Mukosa-Keratinocyten entnommen und Normalgewebs-In-vitro-Radiosensitivitätsteste durchgeführt, Speichelproben gewonnen und – während der sechswöchigen Strahlbehandlung – regelmäßig die Radio-Mukositis-Scores evaluiert. Einer der teilnehmenden Patienten ist unglücklicherweise unter der laufenden Radiochemotherapie verstorben. Dieser Todesfall war Folge einer beidseitigen Lungenembolie und hatte keinen Zusammenhang mit der Studienteilnahme. 13 Patienten wurden (nach abgeschlossener Radiotherapie) nachgesorgt; dabei wurden bei fünf Patienten Metastasen/Rezidive (Studienendpunkte) diagnostiziert. 10 Blutproben (fünf Proben vor Behandlung und fünf Proben 18 Tage nach Beginn der Behandlung) wurden an die kooperierenden Zentren nach München (HMGU, BfS) versendet. Zellkulturmedium-Überstände bestrahlter und unbestrahlter Mundschleimhautkeratinocyten wurden asserviert und zur Bestimmung der Zeitkinetik Zytokinveränderungen den Kooperationspartnern (LMU) zugesandt. Zur Proteom-Analyse am Bundesamt für Strahlenschutz wurden Zell-Lysate von 3 Probanden nach Behandlung mit 0 vs. 6 Gy nach München versandt. Ebenfalls mit Probandenzellen, welche in Freiburg isoliert und behandelt wurden, gelang am BfS die Etablierung einer Immunfluoreszenz-Färbung zur Detektion von Doppelstrangbrüchen nach verschiedenen Strahlendosen und zu verschiedenen Zeitpunkten.

Die Genexpression im Zeitverlauf nach Bestrahlung von humanen oralen Keratinocyten wurde in Kooperation mit dem HMGU begonnen. Hierfür wurden Kulturen von Probanden, deren Zellen sich im Vorfeld als entweder wenig oder deutlich strahlensensibel gezeigt hatten, zu 8 verschiedenen Zeitpunkten nach Behandlung mit 0 Gy vs. 8 Gy und nach München verschickt. Die Zytokingehalte in den zugehörigen Kulturüberständen sollen am CUB gemessen werden. In Zusammenarbeit mit dem IFZ in Essen wurden Versuche zur Primärkultur von oralen Mausepithelkeratinocyten unternommen. Hierbei gelang trotz Einsatz von verschiedenen Kulturmedien allerdings nicht, die Proliferation der initial auswachsenden Zellen nach Passagierung aufrecht zu erhalten. Bei der biostatistischen Analyse der Resultate von Koloniebildungs- und Spread Assay wurden Modellrechnungen angestellt und Hauptkomponenten-Analysen durchgeführt.

#### Arbeiten des UKF in AP4:

Zu Patientengewebe und Normalgewebsreaktionen vergleiche auch oben, AP3. Das Studienprotokoll erfasst die Tumorkontrolle. Die im Protokoll vorgesehenen und entnommenen Proben – insbesondere auch die FF-Tumorgewebsproben - sollen zur prospektiven Validierung der präklinisch identifizierten prädiktiven Biomarker (vgl. AP1-3) verwendet werden. Die Daten der bisher eingebrachten und behandelten Patienten sind erfasst, und entsprechende Biomaterialien für die spätere Analyse asserviert.

Histologische Präparate und Leerschnitte von Tumor- und Normalgewebe der teilnehmenden Patienten der prospektiven Kohorte (entnommen zum Zeitpunkt der primären Diagnostik und Therapie) wurden im Institut für klinische Pathologie der Uniklinik Freiburg erstellt, bewertet und zu weiteren Analytik (Genexpression, Massenspektrometrie) an das HMGU verschickt.

#### Arbeiten des UKF in AP5:

Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch erfolgten im Berichtszeitraum. (s. auch Bericht des Sprechers, Prof. Dr. Zitzelberger). Im genannten Zeitraum je eine Wissenschaftlerin vom BfS und vom HMGU für jeweils 2 Tage in Freiburg zu Gast, um Methodik weiter zu entwickeln und bisherige Ergebnisse und weiteres Vorgehen zu diskutieren.

## **4. Geplante Weiterarbeiten**

Speichelproben, Serumproben und Tumorproben werden weiterhin entsprechend Studienprotokoll gesammelt und tiefgefroren gelagert, klinische Daten kontinuierlich erfasst. EDTA- und Heparin-antikoaguliertes Vollblut wird für zelluläre Analysen an den Projektpartner BfS gesendet, der nach Anreicherung der mononukleären Zellen diese an die anderen Partner versendet.

Auch In-vitro-Radiosensitivitätsteste an Keratinocyten werden für die neu-eingeschlossenen Patienten weiterhin regelhaft durchgeführt. Überstände entsprechender spread-assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert. Schließlich sollen auch - als weitere Validierung der Radiosensitivität - bestrahlte Keratinocytenkulturen auf  $\gamma$ H2AX (BfS) analysiert werden.

In Zusammenarbeit mit Kollegen des HMGU sollen aus asservierten (verbliebene Zellkulturplatten) Keratinocyten – zunächst von Spendern, des Weiteren auch von Patienten – Veränderungen des Transkriptom nach Bestrahlung erfasst werden; gegebenenfalls sind diese Ergebnisse dann zu klinischen Befunden zu korrelieren.

## **5. Berichte, Veröffentlichungen**

Ein Manuskript-Entwurf, in dem der in Vorberichten geschilderte Spread Assay als Methode beschrieben wird, wurde erstellt.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 048A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.05.2017 bis 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 819.068,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Wollschläger	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018.

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

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

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Am Standort Mainz abgeschlossen. Vitalstatus zum 30.06.2018: 63,5 % lebend, 34,7 % verstorben, 1,8 % unbekannt, lost to Follow up.
- AP2a: Die Aussendung von Fragebögen zu kardialen Spätschäden (incl. Einwilligungserklärung, Patienteninformation) erfolgte am 15.6.2019. Adressatinnen waren diejenigen Frauen, die in der PASSOS-Vorläuferstudie ihr Einverständnis zu einer erneuten Kontaktierung erteilt haben und in AP1 als noch lebend identifiziert werden konnten. Von diesen (n=396) haben bis zum 31.12. ca. 80 % den Fragebogen beantwortet.
- AP2b: Kohortenabgleich mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz im ersten Quartal 2020 möglich. Krebsregister Baden-Baden-Württemberg und Bayern: beide Register führen Kohortenabgleiche mit Klartextangaben durch und verlangen daher die persönliche Einwilligung jeder Patientin. Diese liegt für ESKaRa nicht vor. Lösungsansatz: Daten zu Zweitmalignomen der Ulmer Kohorte werden (nach erfolgtem Abgleich der Kohorte Ulm mit den Registern Baden-Württemberg und Bayern) nicht an das Studienzentrum Ulm übermittelt, sondern in pseudonymisierter Form an das Studienzentrum Mainz. Absprachen laufen derzeit.
- AP3: Datenaustausch mit Ulm weitestgehend abgeschlossen, es liegen etwas mehr als 400 Datensätze zur statistischen Auswertung vor.  
Die Datenerhebung in Mainz ist weitestgehend abgeschlossen, es liegen 143 Datensätze für die Fall-Kontroll-Studie vor.  
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Süd ist sehr gut angelaufen, bis dato konnten ca. 100 Datensätze in die Studiendatenbank übernommen werden, bei einem Großteil der Datensätze steht jedoch die Erhebung der dosimetrischen Daten noch aus.  
Der Datenbankabgleich und die vertragliche Organisation des Datenaustauschs mit der Strahlentherapie Heidenheim ist erfolgt, der Transfer der ersten Patienten steht aktuell an.  
Als weitere Partner wurden die Netzwerkkliniken in Esslingen (Ruit) und Villingen-Schwenningen kontaktiert. Villingen-Schwenningen hat sich zu einem eingeschränkten Abgleich der Patienten bereit erklärt, die in der Gynäkologie Rottweil die chirurgische Therapie erhalten haben. Der Datenabgleich steht bevor. Inwieweit Esslingen in der Studie mitarbeiten wird ist aktuell nicht absehbar.
- AP4: Workflow zur Konsolidierung der verschiedenen Datenquellen aus PASSOS und ESKaRa etabliert. Berücksichtigt werden bisher: Daten Mortalitätsstudie PASSOS, Daten Inzidenzstudie PASSOS (Fragebogenstudie), Daten Dosimetriestichprobe PASSOS, Dosis-Daten und Therapie-Daten Dosimetriestichprobe ESKaRa Mainz/Ulm, Daten Dosimetriestichprobe NWK. Beginn der Dokumentation aller Variablen in einem Codebuch.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Für Standort Mainz abgeschlossen. Zentrale Organisation der Codierung von Todesursachen der verstorbenen Patientinnen aus Baden-Württemberg werden im ersten Quartal 2020 abgeschlossen.
- AP2a: Die zentrale Dateneingabe von Fragebögen beider Standorte wird im ersten Quartal 2020 abgeschlossen.
- AP2b: Das Record Linkage mit den drei in Frage kommenden Krebsregistern (Rheinland-Pfalz, Baden-Württemberg, Bayern) ist für 2020 geplant. Die Abgleiche sollen zeitlich koordiniert werden, um nach Möglichkeit abweichende beobachtungszeiträume zu vermeiden.
- AP3: Fortführung des Datentransfers und der Datengenerierung aus dem Bereich Strahlentherapie Süd, Abschluss der Pilotphase für die Strahlentherapie Heidenheim. Datenbankabgleich mit den verbleibenden Kooperationspartnern in Villingen-Schwenningen und Esslingen (Ruit).  
Transfer der DICOM-Studiendatensätze aus den Netzwerkkliniken auf den dedizierten Server sowie Export der für die statistische Auswertung relevanten DVHs. Abschluss der gesamten Datenerhebung im 1. Halbjahr 2020.
- AP4: Abschluss der Konsolidierung und Zusammenführung aller Datensätze aus den epidemiologischen und dosimetrischen Teilstudien. Abschluss der Daten-Dokumentation. Erstellung des Statistical Analysis Plan.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Veröffentlichungen zur ESKaRa-Vorläuferstudie (PASSOS):

In Planung: „Impact of self-reported alterations in lifestyle factors and cardiac late effects in breast cancer patients“

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 048B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.05.2017 bis 30.04.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 270.727,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Wiegel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1+2: Der Vitalstatusabgleich/Adressabgleich über die Einwohnermeldeämter in Ulm und den 16 externen Zentren ist abgeschlossen (insgesamt ca. 8400 Patientinnen); bei „neu“ verstorbenen Patientinnen erfolgt aktuell die individuelle Todesursachen-Recherche über die zuständigen Gesundheitsämter. Anfragedatum am 27.05.2019 (1209 Patientinnen bei 70 Gesundheitsämtern) – bisheriger Rückantworten von 44 Gesundheitsämtern; es zeigt sich das Problem, dass einige Gesundheitsämter Unbedenklichkeitserklärungen der Ministerien fordern (von Bayern wurde diese erteilt, von Baden-Württemberg aktuell noch ausstehend); Versand der Patientenbefragungen zu Zweitmalignomen und kardialen Ereignissen an Patienten erfolgt, welche im Rahmen der Passos-Herzstudie einer erneuten Befragung zugestimmt hatten (Versand der Fragebögen am 05.06.2019 an 1868 Patienten)
- AP3: Patientenliste entsprechend Fall-Kontroll-Design in Studienzentrale Mainz selektiert und von Gynäkologie Ulm de-anonymisiert an Strahlentherapie übermittelt. CTs mit Behandlungsplänen von Originaldatenträgern (Tape/CD) auf Server übertragen. Datentransformation für Segmentierung in aktueller Planungssoftware ECLIPSE. Inter-Observer-Vergleich zum PASSOS-Herzatlas. Für insgesamt 416 Patienten Herz mit Teilstrukturen Myokard, linke/rechte Herzvorderwand, Aortenklappe, Pulmonalklappe, Reizleitungssystem, Lunge konturiert und Dosisvolumenhistogramme erstellt. Für insgesamt 416 Patienten eine verbesserte Teilstruktur zur Repräsentation des Reizleitungssystems konturiert. Dokumentation zugehöriger Fall- und Behandlungsdaten in ESKaRa-spezifischem Standard-Format. Verschlüsselung der Patientenkenung zum Abgleich zwischen Gynäkologie- und Strahlentherapie-Patienten bei Studienzentrale Mainz. Die anonymisierten Bilddatensätze, Bestrahlungsplandaten und Dokumentation wurden Datenschutz-konform von Ulm nach Mainz transferiert. Konturierungsanleitung für die Segmentierung der Lunge erstellt. Lunge Rechts/Links/Gesamt für 416 Patienten konturiert und dosimetriert.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1+2: Nachfrage bei Gesundheitsämtern, bei denen Rückantworten noch ausstehen; Dokumentation Rücklauf der Todesbescheinigungen und Versand zur Todesursachencodierung; Dokumentation: Eingang Patientenfragebogen und Einwilligungserklärung; Nachfrage bei Patientinnen, wenn Einwilligung fehlt oder unvollständig ausgefüllt; zweite Anfrage geplant Q1/2020 an Patientinnen, von denen keine Rückmeldung erfolgt ist und Dokumentation; Datenbankbereinigung  
Stelle der med. Dokumentarin seit 01.07.2019 nicht besetzt (durch studentische Hilfskraft derzeit kompensiert), Nachbesetzungsausschreiben läuft
- AP3: Vorauswertung der Daten für Publikation.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 049A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines <i>in vitro</i> Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2020	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 596.000,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Dr. Schröder	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Strahleninduzierte Schäden des zentralen Nervensystems (ZNS) stellen ein immenses Problem sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie pädiatrischer Tumore dar und führen zu einer progressiven Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten, ähnlich wie sie in Demenz- und Alzheimerpatienten beobachtet wird. Als Ursache wird die Schädigung von Stamm- und/oder Vorläuferzellen im Gehirn und eine damit verbundene gestörte Neurogenese/Neuroregeneration diskutiert, die noch verstärkt wird durch Kombination mit Chemo- und Immuntherapie und/oder anderen Medikationen zur Behandlung von Komorbiditäten. Die genauen Wirkmechanismen dieser Kombinationstherapien auf das gesunde ZNS und insbesondere die Rolle ionisierender Strahlung dabei sind weitgehend unbekannt und es gibt weltweit kein System das es erlaubt, die Diversität dieser chronischen und kumulativen Langzeiteffekte und deren Risiko umfassend zu untersuchen. Im Verbundprojekt BrainRadiationAssay wird daher basierend auf humanen embryonalen Stammzellen (hESZ) ein *in vitro* System entwickelt, das die *in vivo* Entwicklung und Regeneration von Neuronen und Mikroglia, welche als Makrophagen des Gehirns eine Schlüsselrolle sowohl in der Reaktion auf neurotoxische Einflüsse als auch in der Neurogenese selbst spielen, in allen Stadien realistisch nachbildet. So können die Mechanismen der Neurotoxizität von ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Therapieformen systematisch molekularbiologisch und elektrophysiologisch untersucht und potentielle Biomarker zur Prädiktion neurotoxischer Strahlenschäden identifiziert werden. Zusammenfassend stellt das Projekt einen wichtigen Baustein in der besseren Handhabung und Minimierung von strahleninduzierten Langzeitfolgen der Tumordetektion und –behandlung dar.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapeutika, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zweiten Halbjahr 2019 wurden weiter umfassende Untersuchungen zur Bestrahlung der sich entwickelnden zerebralen Organoiden (enCORs) durchgeführt. Um die durch die ionisierende Strahlung hervorgerufenen Effekte charakterisieren zu können, wurden Organoiden an Tag 20 der Differenzierung mit Röntgenstrahlen in einem Dosisbereich von 1 Gy bis zu 8 Gy bestrahlt und an Tag 66 der Kultivierung quantita-

tiver mRNA- Untersuchungen unterzogen. Diese Analysen zeigten, dass die röntgenbestrahlten Organoiden im Vergleich zur Kontrolle eine geringere Expression von PAX6 und NEUROD1 (Marker für neurale Vorläuferzellen), MAP-2 (neuronalen Vorläuferzellen) und SYP (charakteristisch für Neurone) aufweisen. Insbesondere die Expression von PAX6 wurde um das 55-fache reduziert und deutet somit auf ein deutlich verringertes Differenzierungspotential der bestrahlten Organoiden hin. Der Marker GFAP wurde in keinen Proben ausreichend exprimiert und zeigt damit, dass keine ausreichende Differenzierung in Gliazellen stattgefunden hat. Die mRNA Analyse der Organoiden allerdings auch starken interexperimentellen Schwankungen, so dass sie für die Beurteilung der Effekte ionisierender Strahlung nur in Zusammenhang mit immunzytochemischen Analysen aussagekräftig ist.

Derartige immunzytochemische Untersuchungen ergaben, dass ältere Organoiden (Tag 100 der Differenzierung) Schichten reifer Neurone aufweisen und Marker wie SATB2 und CTIP2 exprimieren, die in jüngeren Organoiden noch nicht detektiert werden können. Daher wurden für die Bestrahlung von Organoiden mit Protonen unter Therapiebedingungen (3, 6, 10 und 15 Gy; SOBP; 200 MeV) am Heidelberger Ionenstrahl-Therapiezentrum Organoiden an Tag 52 und 80 der Differenzierung verwendet und an Tag 100 der weiteren Kultivierung analysiert. In den niedrigeren Dosen konnte ein hoher Anteil apoptotischer Zellen nachgewiesen werden, während sich durch höheren Dosen der Anteil an nekrotischen Zellen erhöhte. Untersuchungen neuraler und neuronaler Marker werden derzeit durchgeführt.

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Nanobiosystemtechnik der TU Ilmenau wurden erste Prototypen von PLGA- und Polycarbonat-Kopolymerstrukturen hergestellt, um die Generierung der Organoiden reproduzierbarer zu gestalten. Eine optimale Struktur konnte allerdings noch nicht gefunden werden und so werden weiterhin die ursprünglichen Mikrofilamente verwendet, während an der TU Ilmenau die Optimierung der Polymerstrukturen fortgeführt wird.

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

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

Die Bestrahlungsversuche von reifen Organoiden mit konventioneller Röntgenstrahlung, Protonen und Kohlenstoffionen werden weitergeführt und mit der Gabe des Chemotherapeutikums Cisplatin kombiniert. Diese Versuche finden sowohl in der GSI als auch am Heidelberger Ionen-Therapiezentrum (HIT) statt.

Fortgeführt wird ebenfalls die Generierung von Organoiden mit einem höheren Anteil an Gliazellen und Mikroglia.

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

Lan Vi Ngoc Nguyen, Masterarbeit: "Biocompatible polymer scaffolds for the optimization of differentiation protocols", Mathematische und Naturwissenschaftliche Fakultät der Technischen Universität Ilmenau und GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung Darmstadt

Insa S Schroeder: „Pluripotent stem cells for cell therapy“ in Springer Protocols, Methods in Molecular Biology, In vitro models for stem cell therapy, Bruno Christ, Peggy Stock Editors, Humana Press (in press)

M. Mayer, O. Arrizabalaga, M. Ciba, I. S. Schröder, S. Ritter and C. Thielemann: Novel in Vitro Assay to Investigate Radiation Induced Changes in the Functionality of Human Embryonic Stem Cell-Derived Neurospheres, (1. Revision für die Fachzeitschrift Neurotoxicology)

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Hochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 049B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.07.2017 bis 31.12.2020		<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 389.735,00 EUR		<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Thielemann

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Strahleninduzierte Schäden des zentralen Nervensystems (ZNS) stellen ein immenses Problem sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie pädiatrischer Tumore dar und führen zu einer progressiven Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten, ähnlich wie sie in Demenz- und Alzheimerpatienten beobachtet wird. Als Ursache wird die Schädigung von Stamm- und/oder Vorläuferzellen im Gehirn und eine damit verbundene gestörte Neurogenese/Neuroregeneration diskutiert, die noch verstärkt wird durch Kombination mit Chemo- und Immuntherapie und/oder anderen Medikationen zur Behandlung von Komorbiditäten. Die genauen Wirkmechanismen dieser Kombinationstherapien auf das gesunde ZNS und insbesondere die Rolle ionisierender Strahlung dabei sind weitgehend unbekannt und es gibt weltweit kein System das es erlaubt, die Diversität dieser chronischen und kumulativen Langzeiteffekte und deren Risiko umfassend zu untersuchen. Im Verbundprojekt BrainRadiationAssay wird daher basierend auf humanen embryonalen Stammzellen (hESZ) ein in vitro System entwickelt, das die in vivo Entwicklung und Regeneration von Neuronen und Mikroglia, welche als Makrophagen des Gehirns eine Schlüsselrolle sowohl in der Reaktion auf neurotoxische Einflüsse als auch in der Neurogenese selbst spielen, in allen Stadien realistisch nachbildet. So können die Mechanismen der Neurotoxizität von ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Therapieformen systematisch molekularbiologisch und elektrophysiologisch untersucht und potentielle Biomarker zur Prädiktion neurotoxischer Strahlenschäden identifiziert werden. Zusammenfassend stellt das Projekt einen wichtigen Baustein in der besseren Handhabung und Minimierung von strahleninduzierten Langzeitfolgen der Tumordetektion und -behandlung dar.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

- AP1: Entwicklung eines neuronalen und mikroglialen Differenzierungssystems auf der Basis von hESZ und Untersuchung der Wirkmechanismen von Röntgenstrahlen und C-Ionen auf die neuronale/mikrogliale Differenzierung von hESZ allein oder in Kombination mit Chemotherapie, Immuntherapeutika oder Antikonvulsiva (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).
- AP2: Transfer der Differenzierungssysteme auf MEA Chips für funktionale Analysen von Neuronen nach kombinierter Strahlen- und Medikamenteneinwirkung (Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im zweiten Halbjahr 2019 wurden sowohl die Arbeiten mit den Neurosphären, als auch die Experimente mit den von AP1 zur Verfügung gestellten Organoiden fortgesetzt.

Das Protokoll für das Anfertigen der Organoid-Slices wurde hinsichtlich der Schnittparameter optimiert. Es zeigte sich, dass eine Schnittdicke von 300  $\mu\text{m}$ , eine Amplitude von 1,5 mm und eine Geschwindigkeit von 0,8 mm/s die optimalen Parameter für das Slicen der Organoiden darstellen. Die Bewertung der Schnittparameter erfolgte - neben der Überprüfung der Zellviabilität mittels Lebend/Tod Färbung - hauptsächlich durch optische Überprüfung der Schnittqualität in Hinblick auf eine homogene Schnittdicke.

Für die funktionalen Analysen der Slices wurden neue MEAs verwendet, die dreidimensionale, pyramidenförmige Elektroden besitzen. Zusätzlich dazu wurden neue Platingewichte eingesetzt, die eine homogene Druckverteilung auf die Slices ermöglichen. Erste Ergebnisse zeigen ein gutes Adhäsionsverhalten der Slices auf den MEAs, dass sich durch das Auswachsen neuronaler Zellen und Neurite manifestierte. Ferner konnten an vereinzelt Elektroden die ersten neuronalen Signale detektiert werden. Dabei handelte es sich sowohl um einzelne Spikes, als auch um Bursts und Netzwerkbursts. Zur Validierung der Ergebnisse wird derzeit eine Wiederholung des Experimentes vorbereitet.

Die Neurosphären wurden verwendet, um die akute Wirkung des Chemotherapeutikums Cisplatin und des Antiepileptikums Levetiracetam auf die Funktionalität neuronaler Netzwerke zu untersuchen. Wie bereits im Zwischenbericht 2019/1 erwähnt, deuteten erste Ergebnisse auf eine Dosis-abhängige Reduktion der Netzwerkaktivität hin. Umfassende Analysen in den letzten Monaten konnten dieses Ergebnis jedoch nicht bestätigen. Vielmehr wurde eine Reduktion der Netzwerkaktivität im Laufe der Messdauer beobachtet, unabhängig von den applizierten Medikamenten und den eingesetzten Dosen (auch bei entsprechenden Kontrollproben). Für nachfolgende Experimente soll daher der Versuchsaufbau in Hinblick auf stabilere Messungen über einen Zeitraum von bis zu 30 Minuten mit Hilfe geeigneter Produkte (z. B. Miniinkubator) optimiert werden.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die elektrophysiologischen Ableitungen der Organoid-Slices mittels 3D MEAs und Platingewichten werden fortgeführt. Nach erfolgreicher Validierung der Ergebnisse, werden umfassende elektrophysiologische Untersuchungen zur funktionalen Charakterisierung der Organoid-Slices erfolgen.

Des Weiteren werden die Experimente zur Auswirkung von Cisplatin und Levetiracetam auf die Funktionalität von Neurosphären fortgeführt. Neben akuten Auswirkungen, sollen nun insbesondere Langzeiteffekte untersucht werden. Diese Experimente sollen zusätzlich mit Neurosphären durchgeführt werden, die aus strahlen-exponierten neuronalen Stammzellen hergestellt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Tobias Kraus: Development of a biosensor for drug experiments on three-dimensional neural networks. Bachelor thesis, Technische Hochschule Aschaffenburg, 2019

Leticia Erandeny Duarte Reyna und Ismael Lozano Flores: Establishment of analytical methods for 3D neural cell structures. Bachelor thesis, Technische Hochschule Aschaffenburg/Universität Monterrey (Mexiko), 2019

<b>Zuwendungsempfänger:</b> GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050A</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 3.335.237,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Fournier	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Aufbauend auf die im GREWIS-Projekt erzielten Ergebnisse soll die Langzeitwirkung von Radonexposition näher untersucht werden, anknüpfend an die Notwendigkeit der Aufklärung biologischer Mechanismen im Niedrigdosis-Bereich, um fundierte Erkenntnisse zur therapeutischen Anwendung zu erarbeiten und die Unsicherheiten in der Einschätzung der Wirkung von niedrigen Dosen insbesondere von  $\alpha$ -Strahlung zu reduzieren. Die Radonkammer und die im GREWIS-Projekt etablierten Methoden der physikalischen und biologischen Dosimetrie sollen verwendet werden, um die Aktivitätskonzentrationen in der Lunge von exponierten Mäusen und in einem einfachen Lungenmodell zu quantifizieren, und dabei zwischen Radon und Folgeprodukten zu unterscheiden sowie eine Dosis abzuschätzen. In einem biologischen Lungenmodell sollen Zelltypen mit besonderem Risiko für bleibende genetische Schäden identifiziert werden. In Arbeiten des GREWIS-Projektes wurde in Fettgewebe (*ex vivo*) eine Akkumulation von Radon beobachtet sowie in der ersten Radon-Patientenstudie eine immunmodulierende und entzündungshemmende Wirkung, die sich auch auf Faktoren des Fettgewebes erstreckt. Die Antwort von Fettzellen auf Exposition mit  $\alpha$ -Teilchen- bzw. Radon sowie der Zusammenhang zu den beobachteten Veränderungen von Immun-, Gelenk- und Knochenzellen soll in weiteren Patientenstudien sowie durch *ex vivo* Untersuchung von Patientenmaterial und *in vitro* aufgeklärt werden.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Radon-Diffusion/Löslichkeit und Aerosole
- Radonkammer, Service Strahlenschutz
  - Dosisdeposition von Radon im mechanischen Lungenmodell
  - Radon-Löslichkeit und Konzentration (Gewebe, Organe, Mäuse; mit HPGe-Detektor)
  - Radon-Diffusion in Gewebeschichten (Fett, Knochen, Bindegewebe; in Radonkammer)
  - Exposition von Mäusen in Radonkammer
- AP3: Zytogenetische Untersuchungen
- Etablierung der organotypischen Kultivierung und Differenzierung von HBEZ
  - Genetische, zellbiologische und molekulare Endpunkte (Photonen und  $\alpha$ -Bestrahlung)
  - Differenzierungsfähigkeit/Funktionalität der HBEZ nach einer Strahlenexposition
  - Genetische Marker in Patienten(blut) nach Radon-Exposition
- AP4: (Osteo-) immunologische und entzündliche Reaktionen
- Osteo-immunologische Veränderungen in Patientenblut (LD-RT-, RAD-ON02-Studie)
  - Untersuchung von Vorläuferzellen *ex vivo* vor und nach Therapie (LD-RT, RAD-ON02)
  - *Ex vivo* Bestrahlung von Synovial-Gewebe von Patienten und gesunden Spendern
  - Vergleich des Einflusses von Photonen- und  $\alpha$ -Strahlung auf OB-Vorläuferzellen
  - Wirkung von Radon-Adsorption in hTNF- $\alpha$ -tg Mäusen;IDO-Expression in Lunge und Haut
  - Adhäsion von Lymphozyten auf Endothelzellen (organotypische), anti-oxidativer Einfluss

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Auswertung der Messdaten an einem Probanden (Bad Kreuznach) wurde fortgeführt und durch Messungen mit Kalibrierquellen und Simulationen ergänzt. Mit dem neuen Setup zur Messung der Rn-Löslichkeit und des Diffusionsverhaltens wurden verschiedene Proben analysiert. Daten, die zuvor mit dem Lungenmodell erhoben wurden, wurden neu ausgewertet und mit einer Simulation verglichen. Mittel für einen zweiten Gammadetektor wurden beantragt und bewilligt, was die Qualität der erhobenen Daten weiter verbessern wird. Die Ergebnisse wurden auf Konferenzen vorgestellt, eine Publikation zur Alphaquelle angenommen sowie eine weitere zum therapeutischen Effekt und dem potentiellen Risiko der Radontherapie vorbereitet. Für andere APs wurden Bestrahlungen an der Radonkammer und der Alphaquelle durchgeführt.
- AP3: Es wurde der Einfluss von Röntgenstrahlung auf die Differenzierungsfähigkeit von humanen Bronchialepithelzellen (NHBE) untersucht. Zellen von 2 gesunden Spendern wurden direkt nach der Bestrahlung unter physiologischen Bedingungen in der „AirLiquid Interphase“-Kultur differenziert und Genexpressionsanalysen durchgeführt. Es zeigten sich strahleninduzierte Veränderungen, insbesondere eine Herunterregulierung des Markers für Basalzellen und eine Hochregulierung des Markers für Becherzellen. Im Rahmen der RAD-ON02 Studie wurde die Chromosomenanalyse (1. Bäderserie) fortgesetzt, dabei wurden die Proben vor und nach der Therapie zur internen Auswertung nochmals verblindet. Erste Proben aus der 2. Bäderserie wurden erhalten, verarbeitet und für die Chromosomenanalyse vorbereitet.
- AP4: Ein Experiment mit Rn-exponierten Serumtransfer (KBxN)- Mäusen wurde mit AP5 durchgeführt. Die Analyse humaner Gewebeproben aus Knie-OPs (mit Prof. Rehart, Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) läuft weiter; es ergaben sich Hinweise auf eine geringere Zytokinfreisetzung nach Niedrigdosisbestrahlung. Die Auswertung der Transkriptom-Analyse von bestrahlten Adipozyten (mit R. Kriehuber, HZJ) wurde verbessert, der Probensatz um mehrere Zeitpunkte nach Bestrahlung erweitert sowie Gene zur qPCR-Analyse identifiziert. Ergänzend zum letzten Helium-Experiment wurden Endothelzellen unter laminarem Mediumfluss mit Röntgen-Strahlung behandelt (mit AP6). Die automatisierte 3D-Auswertung von Osteoklasten (OC) auf Knochen wurde weiterentwickelt (mit D. Eilenstein, AG Michael Scholz, GSI). In der RAD-ON02 Studie wurden die Proben vor und direkt nach dem Crossover genommen, die IMMO-LDRT Studie läuft weiter.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Messungen am verbesserten Setup zu Rn-Löslichkeit und Rn-Diffusionsverhalten werden fortgeführt, ergänzt durch Dosis-Messungen in der Radonkammer mittels Thermolumineszenzdosimetrie sowie der Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbruchmarkern. Die Auswertung der Probandenmessungen wird fortgeführt, ggf. durch weitere Messungen ergänzt, und die Daten für eine Publikation vorbereitet. Am mechanischen Lungenmodell sollen Daten erhoben und mit den Simulationen verglichen werden. Der neue Detektor (Lieferung voraussichtlich Mitte April) wird in Betrieb genommen und ausführlich getestet. Bestrahlungsservice für andere APs ist eingeplant.
- AP3: Ob das veränderte Expressionsmuster von differenzierten NHBE durch eine veränderte Genaktivität oder eine veränderte Zellzahl verursacht wird soll histologisch überprüft werden. Weiterhin soll die Funktionalität des Bronchialepithels (d. h. der Zilienschlag) überprüft werden. Die zytogenetische Analyse von Proben aus ersten Bäderserie der RAD-ON02 Studie wird fortgesetzt.
- AP4: Die Daten aus dem Experiment mit Radon-exponierten Serumtransfer (KBxN)- Mäusen werden analysiert; neue Experimente je nach Zuchterfolg vorbereitet. Die Datensätze zur Strahlenantwort von Fettgewebe, insbesondere zur Freisetzung pro-inflammatorischer Faktoren und zur Interaktion mit Synovialfibroblasten werden erweitert. In Adipozyten werden ausgesuchte Gene mittels qPCR untersucht und die Transkriptom-Analyse mit den neu hergestellten Proben fortgeführt. In Endothelzellen werden antioxidative Mechanismen unter laminarer Strömung nach Röntgenstrahlung überprüft. Strahleninduzierte Änderungen in OC werden automatisiert in 3D Aufnahmen überprüft, sobald das Programm fertiggestellt ist. Zur Visualisierung der Fusionierung von OC nach Bestrahlung wird eine Methode zum Live-Imaging auf Knochen etabliert. Die IMMO-LDRT Studie läuft weiter bis zur geplanten Fallzahl; die RAD-ON02 Studie läuft nach Zeitplan weiter mit AP3, 5 und 6.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

A. Maier, J. Wiedemann, J. A. Adrian, M. Dornhecker, A. Zipf, W. Kraft-Weyrather, G. Kraft, S. Richter, N. Teuscher and C. Fournier:  $\alpha$ -irradiation setup for primary human cell cultures. International Journal of Radiation Biology, Published online: 18 Nov 2019 <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1683641>

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050B</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.046.137,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Löbrich	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Projekt wird in Zusammenarbeit mit dem Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GSI durchgeführt. Schwerpunkte des Forschungsvorhabens der AG Löbrich an der TUD sind folgende Untersuchungen:

- Bestrahlung von Zellkulturen mit einer  $^{241}\text{Am}$ -Quelle zur Etablierung eines Korrekturfaktors
- Etablierung der Immunfluoreszenzfärbung von Markern für komplexe Brüche in verschiedenen Geweben
- Exposition von Mäusen mit hohen Aktivitätskonzentrationen von Radon, um die Rolle von Aerosolen bei der Dosisdeposition in der Lunge zu untersuchen
- Etablierung der Immunfluoreszenzfärbung von DNA-Doppelstrangbrüchen im Knochen sowie die Analyse der Radon-induzierten DNA-Doppelstrangbrüche
- Exposition von Mäusen mit hohen Aktivitätskonzentrationen von Radon um die Reparatur von strahleninduzierten DNA-Doppelstrangbrüchen in verschiedenen Organen zu untersuchen
- Umfassende mechanistische Studien zur Reparatur bei niedrigen Strahlendosen in kultivierten Zellen zur Frage, ob Radikalstress die Reparaturkinasen ATM und DNA-PKcs aktivieren kann und dadurch die Reparaturprozesse effizient aktiviert
- Etablierung von weiteren Markern zur *in vitro* Analyse von persistierenden Foci-Signalen

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im letzten Halbjahr wurden mechanistische Studien zur beobachteten ineffizienten Reparatur nach niedrigen Strahlendosen durchgeführt. Vorangegangene Studien in kultivierten Fibroblasten zeigten, dass die ineffiziente Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach einer Bestrahlung mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlung durch Radikale stimuliert werden kann (Grudzinski et al., DOI: 10.1073/pnas.1002213107, Dissertation J. Mirsch). Unsere Experimente zeigten, dass die Reparatureffizienz und die Aktivität von DNA-PK, der hauptverantwortlichen Kinase für die Reparatur, gleichermaßen durch Radikale (induziert durch eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Behandlung) verbessert werden kann. Wir vermuten daher, dass die ineffiziente Reparatur mit der verminderten Aktivität der DNA-PK zusammenhängt. Dieser Zusammenhang wurde durch weitere Kontrollexperimente unter der Verwendung spezifischer Inhibitoren für Reparaturfaktoren sowie die Stimulation der Reparatureffizienz mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu unterschiedlichen Reparaturzeiten bestätigt.

Um die Rolle der Radikale bei der Stimulation der DNA-PK bzw. der Reparatureffizienz zu überprüfen, nutzen wir derzeit Neocarzinostatin (NCS) als Radiomimetikum, um DSB in den Zellen zu erzeugen. Im Gegensatz zur Bestrahlung mit Röntgenstrahlen werden bei der Schadensinduktion durch NCS nur lokal um die Bruchstelle Radikale erzeugt. Diese Experimente werden zeigen, ob ein globales (in der ganzen Zelle vorliegend) oder lokales (direkt an der DNA vorliegend) Radikallevel notwendig ist, um die DNA-PK bzw. die Reparaturprozesse zu aktivieren.

Darüber hinaus wurde mit den Etablierungsarbeiten zur Lebendzellmikroskopie begonnen, um die Dynamik der Schadensentstehung und -reparatur sowie das Zellschicksal zu untersuchen. Inzwischen haben wir für unsere Untersuchungen mit der epithelialen Zelllinie MCF10A eine geeignete Zelllinie gefunden. Eine genetische Modifikation dieser Zellen erlaubt es, die DSBs über eine spezielle Markierung des Mediatorproteins 53BP1 auch in lebenden Zellen sichtbar zu machen. Unsere Kontrollexperimente haben gezeigt, dass diese Markierung sehr zuverlässig ausgebildet wird und mit unserer bisher zur Auswertung herangezogenen Markierung mittels Antikörpern in fixierten Zellen übereinstimmt. Darüber hinaus wurden die Schlüsselexperimente der mechanistischen Studien in Fibroblasten mit dieser Zelllinie wiederholt, wobei die Ergebnisse unsere bisherigen Studien bestätigen. Im Rahmen der weiteren Etablierungsarbeit wurden Experimente zur Etablierung geeigneter Mess- und Aufnahmeeinstellungen für die Lebendzellmikroskopie durchgeführt. Während dieser Vorstudien hat sich herausgestellt, dass wir unser automatisiertes Scanningmikroskop mit einem neuen Beleuchtungssystem und einem neuen Computer aufrüsten müssen, um die Experimente, wie geplant, durchführen zu können.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Die mechanistischen Studien zum Zusammenhang zwischen der Aktivierung von DNA-PK und der Reparatureffizienz werden fortgesetzt. Darüber hinaus ist die Aufrüstung des Lebendzellmikroskopes geplant. Anschließend werden wir die Etablierung von Mess- und Aufnahmeeinstellungen am Mikroskop fortsetzen und wichtige Experimente wiederholen.

Im Dezember 2019 wurde das Manuskript zur Biodosimetrie nach Radonexposition fertiggestellt und zur Veröffentlichung eingereicht. Im Rahmen des Review-Prozesses werden wir das Manuskript im nächsten Halbjahr finalisieren.

Nach der Anschaffung und Etablierung des Aerosolgenerators durch AP1 ist die Durchführung der ausstehenden Experimente in der Radonkammer vorgesehen.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050C</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2021	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 398.280,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Thiel	

### 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die geplanten Arbeiten werden sich auf Effekte von Strahlung im Allgemeinen und Radonstrahlung im Besonderen auf Prozesse in Zellen jenseits des Zellkerns konzentrieren. Ein zentrales Element in den Arbeiten beruht auf Befunden, die zeigen, dass eine Bestrahlung von Zellen mit niedrigen Dosen im Zytoplasma von Zellen zu einem raschen Anstieg an ROS führt; diese initiale Zellantwort löst wiederum weitere Signalkaskaden aus, die sowohl für die Immunantwort der Zellen aber auch für neurophysiologische Signalweiterleitungen von Bedeutung sein können.

### 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Untersuchungen zu dem zeitlichen und kausalen Zusammenhang zwischen einer Niedrigdosen-Bestrahlung von Zellen des Immunsystems und von Neuronen und dem folgenden Anstieg an ROS in den Zellen und die sich daraus ergebene Auswirkung auf Signalkaskaden.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Zentrum eines Arbeitsprogramms stehen Untersuchungen, die Einblick in die Wirkung von ionisierender Strahlung auf Zellen des Immunsystems liefern sollen. In den bisherigen Arbeiten konnten wir nachweisen, dass niedrig dosierte Strahlung zu einer Immunaktivierung von humanen T-Lymphozyten führt. Diese strahleninduzierte Immunaktivierung führt zu einer Reihe von zellulären Reaktionen in den T-Zellen zu denen auch die vermehrte Produktion von Interleukin-2 und Interferon- $\gamma$  zählt. Zellbiologische Studien konnten ferner belegen, dass die Aktivierung durch eine Signalkaskade ausgelöst wird, die wahrscheinlich über eine Erhöhung von radikalen Sauerstoffspezies (ROS) und einer daraus folgenden Erhöhung der Konzentration an Calcium im Cytoplasma ( $\text{Ca}^{2+}_{\text{cyt}}$ ) führt. In laufenden Arbeiten haben wir zentrale Erkenntnisse über die strahlungsinduzierte Signalkaskade in T-Zellen erarbeitet. Wir konnten nachweisen, dass ionisierende Strahlung -einschließlich  $\alpha$ -Strahlung- in T-Zellen mit einer zeitlichen Verzögerung von ca. 20 Minuten zu einer charakteristischen Oszillation von  $\text{Ca}^{2+}_{\text{cyt}}$  führt. So wie in Antigene-induzierten Immunreaktionen führt auch die strahleninduzierte Signalkaskade zu einer Translokation des  $\text{Ca}^{2+}_{\text{cyt}}$  abhängigen *Nuclear Factor of Activated T-cells* (NF-AT) vom Cytosol in den Zellkern. Diese Translokation des Transkriptionsfaktors ist ein Schlüsselereignis in der Immuninduktion von T-Zellen. Aus vielen Studien ist

bekannt, dass der sogenannte *Store operated Ca<sup>2+</sup> entry* (SOCE) Weg der zentrale Mechanismus ist über den Ca<sup>2+</sup> für die Immunaktivierung in T-Zellen gelangt. Alle stromabwärtsgelegenen Immunreaktion in T-Zellen, einschließlich der oben genannten NF-AT Translokation in den Zellkern, können über eine Aktivierung des SOCE ausgelöst werden können. Vor diesem Hintergrund sind unsere Daten von großer Bedeutung, da sie zeigen, dass niedrig dosierte Strahlung in der Lage ist den SOCE Weg für Ca<sup>2+</sup> Eintritt in T-Zellen zu aktivieren. Die Daten zu diesem Teil des Projektes werden gerade zur Publikation vorbereitet (1,2). Im zweiten Arbeitsprogramm soll die Wirkung von Radon auf die Schmerzweiterleitung untersucht werden. Mittels Western Blot wurden Hirne von Radon behandelten arthritischen Mäusen auf ihre Rezeptorzusammensetzung untersucht. Erste Ergebnisse zeigen eine Verminderung des phosphorylierten NMDAR2B Untereinheit. Dieses Ergebnis deutet auf eine veränderte Rezeptororganisation in der Schmerzverarbeitung nach Radonbehandlung hin.

#### 4. Geplante Weiterarbeiten

In den laufenden Arbeiten zum Ca<sup>2+</sup>-Signaling in T-Zellen werden Experimente durchgeführt die die statistische Aussagekraft der Daten für eine Publikation zu verbessern. Im Vordergrund stehen dabei Messungen zum Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer (FRET) zwischen den Proteinkomponenten des SOCE Signalweges. In laufenden Arbeiten in Arbeitspaket 7.2 werden weiterhin die Effekte von äquivalenten Dosen Röntgenstrahlung in einem neuronalen Netzwerk (*in vitro*) mithilfe des Multi Electrode Arrays analysiert. Des Weiteren werden weitere wichtige Proteine im Zusammenhang mit der Schmerzweiterleitung wie c-fos im Hirn von Radonbehandelten arthritischen Mäusen untersucht.

#### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Tandl, D., Fuck, S., Sponagel, T., Jacob, B., Fournier, C. Rödel, F., Moroni, A., Thiel, G.: Low dose ionizing radiation induces morphological and immunological modulation of Jurkat cells. (in prep.)

Tandl, D., Fuck, S., Sponagel, T., Jacob, B., Fournier, C. Rödel, F., Moroni, A., Thiel, G.: Ionizing radiation leads to immune response in T-lymphocytes: Spatial-temporal characterization of key elements in a x-ray induced signaling cascade. German Society for Biological Radiation Research (DeGBS). 22nd annual meeting, Mannheim

Masterarbeit: Tim Sonagel: Mikroskopische Analyse der Dynamik von CRAC-Kanal-Aktivierungen durch ionisierende Strahlung in Jurkat-T-Lymphozyten

Bachelorarbeit: Philipp Groß: Effekte von Oberflächenbehandlungen auf das elektrophysiologische Verhalten von J1-NSC

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050D</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 710.793,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Rödel	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die niedrig dosierte Strahlentherapie wird vorwiegend zur Behandlung degenerativ-inflammatorischer, d. h. benigner Erkrankungen eingesetzt. Die ursächlichen Mechanismen, die zur antientzündlichen Wirkung niedrig dosierter Strahlung führen, sind bislang jedoch nur unzureichend geklärt. Arbeiten unserer und anderer Arbeitsgruppen konnten jedoch in den letzten Jahren für viele Effekte eine nichtlineare Dosis-Wirkungsbeziehung nach Röntgen- und Schwerionen-Bestrahlung beobachten, an der entscheidend reaktive Sauerstoffspezies (ROS) beteiligt sind. Diese werden in der Zelle hochpräzise durch antioxidative Enzyme reguliert und führen im Niedrigdosisbereich funktionell zu einer Minderung der Leukozytenadhäsion als einer wesentlichen Komponente der Inflammation. In Teilprojekt D werden als mögliche Regulatoren des oxidativen Systems und der ROS-Produktion in Endothelzellen und Leukozyten der Transkriptionsfaktor Nrf2 sowie micro(mi)RNAs nach Bestrahlung mit Photonen und mit dicht-ionisierenden Strahlenquellen *in vitro*, *in vivo* und in Patientenstudien in enger Kooperation mit AP1 (Maier & Kraft, GSI), AP4 (C. Fournier, GSI) und AP5 (U. Gaipl & B. Frey, UKER) untersucht.

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Entsprechend der im Rahmen des Verbundprojektes GREWIS gewonnenen Erkenntnisse ist das Untersuchungsprogramm des Teilprojektes D (Arbeitspaket 6) wie folgt gegliedert:

Task 21: Der erste Themenkomplex beinhaltet Untersuchungen der Nrf2 Aktivität in Endothelzellen und Leukozyten nach Photonen- und Radon-Bestrahlung.

Task 22: Dieses Arbeitspaket befasst sich mit der Analyse von Nrf2 und dessen Targetgenen nach Bestrahlung von Subpopulationen muriner und humaner Lymphozyten.

Task 23: In diesem Themenkomplex sollen die *in vitro* gewonnenen molekularen Erkenntnisse über die differentielle Regulation der ROS-Produktion durch antioxidative Enzyme und miRNAs *in vivo* im Mausmodell sowie in Patientenstudien bestätigt werden.

Task 24: Gegenstand dieses Arbeitspaketes ist die Identifizierung der an der differentiellen Regulation des antioxidativen Systems von Endothelzellen und der Leukozytenadhäsion beteiligten miRNAs mittels spezifischer miRNA Inhibitoren und Next Generation Sequencing (NGS).

Task 25: In weiteren funktionellen Analysen werden die anti-oxidativen Einflüsse auf die Lymphozyten-Adhäsion an Endothelzellen mittels Flow Chamber untersucht.

Task 26: Dieses Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Etablierung organotypischer Blutgefäß-Kulturen zur Messung von Lymphozyten-Adhäsion nach Niedrigdosisbestrahlung.

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Vorangegangene Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnten einen funktionellen Zusammenhang zwischen niedrig dosierter Bestrahlung, einer verminderten Expression und Aktivität anti-oxidativer Enzyme und des Faktors Nrf2, einer daraus resultierenden erhöhten intrazellulären ROS-Menge sowohl in Endothelzellen als auch in Leukozyten und einer verringerten Leukozytenadhäsion herstellen. Zudem resultierte auch Radonexposition in einer veränderten Expression anti-oxidativer Faktoren und des Transkriptionsfaktors Nrf2 in einem hTNF $\alpha$  transgenen Mausmodell und in Wildtyp C57Bl/6 Mäusen. Im aktuellen Berichtszeitraum wurden in Kooperation mit den Projektpartnern in Erlangen (AP5) und Darmstadt (AP1, AP4) aus einem weiteren Mausmodell (Serumtransfermodell) nach Radonbestrahlung Blutproben gewonnen und die RNA daraus isoliert. Die Bestimmung der Expression von Faktoren des anti-oxidativen Systems erfolgt im nächsten Berichtszeitraum.

Im Rahmen des Aufbaus der RNA/cDNA Bank zur RAD-ON02 Studie, konnte bereits die RNA aus 224 Patientenproben (Zeitpunkte 1 und 2) isoliert werden und cDNA daraus hergestellt werden. Stichprobenartig wurde die Qualität der isolierten RNA in analytischen Agarosegelen und durch quantitative Real-Time PCR Messungen (10 Patienten) untersucht. Die Analysen zeigten eine sehr gute RNA-Integrität/Qualität, eine im Vergleich zu gesunden Spendern veränderte Expression der anti-oxidativen Faktoren Superoxid-Dismutase 1 (SOD1), Catalase und Nrf2 vor der Radonexposition und eine leichte Erhöhung der Expression von SOD1, Glutathionperoxidase 1 (GPx1), Catalase und Nrf2 nach der ersten Bäderserie. Aufgrund der Verblindung der Studie konnte noch keine Einteilung in Radon- und Placebo-behandelte Patienten erfolgen.

Im vergangenen Berichtszeitraum wurden Analysen an mit Helium- und Kohlenstoff-Ionen bestrahlten primären Endothelzellen unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Die Expression der anti-oxidativen Faktoren SOD1, GPx1, Catalase und Nrf2 unterlag dabei einer nichtlinearen Regulation mit einem lokalen Minimum bei 0,1 Gy sowohl bei statischen als auch dynamischen Bedingungen und einer daraus resultierenden erhöhten ROS-Menge, die mit einer verminderten Adhäsion von Leukozyten an die mit 0,1 Gy bestrahlten Endothelzellen einherging. Zur Untersuchung des Einflusses der Strahlenart und der Kultivierungsbedingungen auf die Expression anti-oxidativer Faktoren und deren spezifischer miRNA-Regulatoren, wurden zudem im Berichtszeitraum primäre Endothelzellen unter statischen und dynamischen Bedingungen mit Röntgenstrahlen bestrahlt, die ROS-Menge bestimmt und Zelllysate zur späteren Isolation von RNA und miRNA für die quantitative Real-Time PCR Analyse asserviert. Die quantitative Analyse dieser Proben erfolgt im nächsten Berichtszeitraum.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im weiteren Verlauf von GREWIS-alpha werden RNA/miRNA/cDNA aus fortlaufend vom Projektpartner in Erlangen (AP5) gesammelte IMMO-LDRT01 und RADON-02 Patientenproben aufgereinigt bzw. synthetisiert (Task 23). Zudem erfolgt die Bestimmung der anti-oxidativen Faktoren in den während der Radonbestrahlung im in vivo Serumtransfermodell und der unter dynamischen und statischen Bedingungen gesammelten Proben. Weiterhin wird der Einfluss von niedrig dosierter Röntgen- und Schwerionenbestrahlung auf die Expression spezifischer miRNAs und anti-oxidativer Faktoren in Immunzellen unter dynamischen und statischen Bedingungen in Kooperation mit den Projektpartnern an der GSI in Darmstadt (AP1, AP4) untersucht (Task 25).

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Hehlgans S, Donaubaue A, Becker I, Frey B, Dilovic E, Oppermann J, Fournier C, Gaip U, Rödel F.: Analysis of anti-oxidative gene expression in blood cells from patients treated for chronic inflammatory diseases with low-dose radiotherapy. Abstract bei der 22. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung e.V. (DeGBS), Mannheim, 2019; PS-3 55: 92

<b>Zuwendungsempfänger:</b> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		<b>Förderkennzeichen:</b> <b>02 NUK 050E</b>
<b>Vorhabensbezeichnung:</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E		
<b>Zuordnung zum FuE-Programm:</b> Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
<b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.08.2017 bis 31.01.2023	<b>Berichtszeitraum:</b> 01.07.2019 bis 31.12.2019	
<b>Gesamtkosten des Vorhabens:</b> 1.292.552,00 EUR	<b>Projektleiter:</b> Prof. Dr. Gaipl	

## 1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

## 2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

### 3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die aktuellen Daten der IMMO-LDRT01- und der RAD-ON02-Studie wurden im September 2019 in Form von Vorträgen bei der DeGBS Jahrestagung in Mannheim präsentiert. Es wurden erste verblindete Daten der RAD-ON02-Studie sowie Subgruppenanalysen zur IMMO-LDRT01-Studie vorgestellt. Im Rahmen zweier medizinischer Doktorarbeiten wurden erste Analysen zu osteoimmunologischen Faktoren im Serum von Patienten der IMMO-LDRT01-Studie durchgeführt. Außerdem wurden die mit Fragebögen erhobenen Daten zu Lebensqualität und Schmerzen der RAD-ON02 und IMMO-LDRT01 Patienten weiter ausgewertet. Die zweite Hälfte der RAD-ON02-Studie startete wie geplant im November 2019, dabei wurde die Placebo- und Radongruppe miteinander getauscht. Um die molekularen und zellulären Wirkmechanismen niedriger Strahlendosen besser zu verstehen, wurde damit begonnen, den Phänotyp humaner Osteoklasten nach Bestrahlung zu charakterisieren. Dabei wurden zunächst Zellen gesunder Spender mit aus LDRT-Patienten isolierten verglichen. Es wurde erfolgreich ein Protokoll zur Generierung von stabilen humanen Osteoklastenkulturen im Labor etabliert. Zur Differenzierung der Osteoklasten gesunder Normalspender unter Einfluss von LDRT wurden erste Versuche durchgeführt. Daten zu den prä-klinischen Untersuchungen mit den entzündlichen Mausmodellen wurden bei einer Posterpräsentation sowie auf zwei weiteren Postern bei der DeGBS Jahrestagung in Mannheim durch zwei zahnmedizinische Doktorandinnen präsentiert. Abstracts zu den Ergebnissen der Wirkung von niedrigen Dosen an Strahlung auf Makrophagen und Synovialfibroblasten wurden zum 40. European Workshop of Rheumatology Research (EWRR), welcher im Februar in Leuven, Belgien, stattfinden wird, eingereicht. Die Kongressteilnahme wird, auf den eingereichten Daten basierend, mit einem Reisestipendium der Deutschen Gesellschaft für Immunologie (DGfI) gefördert. An der Radonkammer der GSI wurde im September 2019 ein Versuch mit dem Serumtransfermodell in Zusammenarbeit mit den APs von Maier, Fournier, Rödel und Laube durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass eine Radonbehandlung eine leichte Verbesserung des klinischen Scores der Tiere sowie immunologische Veränderungen im Blut und Knochenmark der behandelten Mäuse verursacht. Allerdings unterscheiden sich diese Effekte von denen, welche nach Röntgenbehandlung beobachtet wurden. Die zukünftigen gemeinsamen Tierversuche mit den anderen APs wurden geplant und koordiniert. Auch wurde eine Bachelorarbeit zur Wirkung von LDRT auf den Makrophagenphänotyp abgeschlossen. Die longitudinalen Analysen zu den osteoimmunologischen Veränderungen nach LD-RT dauern an.

### 4. Geplante Weiterarbeiten

Im Februar 2020 werden die Daten der beiden Patienten-Studien auf dem EWRR 2020 in Leuven, Belgien, als Poster präsentiert. Im Juni sollen weitere Daten auf der DEGRO Jahrestagung in Wiesbaden vorgestellt werden. Für erweiterte Analysen von Zytokinen, Entzündungsmediatoren und Gefahrensignalen in den Seren aus den Patientenstudien wird eine neu angeschaffte Multi-Array Technologie von MSD zum Einsatz kommen. Mitte 2020 wird die aktive Phase der RAD-ON02 Studie beendet sein. Im Rahmen der Charakterisierung humaner Osteoklasten werden weitere Assays zur Untersuchung der Funktionalität und Differenzierung etabliert und durchgeführt. Dazu gehören beispielsweise Analysen zur Genexpression und zur Knochenresorption. Außerdem soll begonnen werden, den Metabolismus der Zellen unter Einfluss von LDRT zu untersuchen. Auch wird die retrospektive Auswertung zu den Effekten von LDRT bei Finger-Arthrosen fortgesetzt. Hierauf aufbauend soll dann der Antrag für eine Placebo-kontrollierte LDRT Studie begonnen werden vorzubereiten. Die longitudinalen Analysen der hTNF- $\alpha$ -tg Tiere werden fortgesetzt. Um die im Serumtransfermodell nach Radonexposition beobachteten immunologischen Effekte zu validieren, soll ein weiterer Versuch in der Radonkammer stattfinden. Im Januar 2020 beginnt eine weitere medizinische Doktorarbeit, welche geschlechts- sowie entzündungsstatusspezifische osteoimmunologische Effekte niedriger Strahlendosen weiter untersucht. Hierfür wird in Zusammenarbeit mit dem AP von Rödel/Hehlgans ein Protokoll zur Messung der ROS-Freisetzung mittels Durchflusszytometrie etabliert. Des Weiteren sollen die Makrophagen auf ihre Phagozytose-Fähigkeit nach Strahlungsexposition detaillierter untersucht werden. Um die Doktorarbeit zum Einfluss von LDRT auf den Phänotyp von Synovialfibroblasten zum Abschluss zu bringen und um die Ergebnisse publizieren zu können, müssen einige der Versuche zur Erhöhung der Fallzahl wiederholt werden. Des Weiteren wird damit begonnen Signalwege in den bisher untersuchten Zelltypen nach Strahlungsexposition zu untersuchen. Auch die Daten aus den murinen Untersuchungen sollen auf der DEGRO in Wiesbaden vorgestellt werden.

### 5. Berichte, Veröffentlichungen

Deloch et al.: J Immunol Res 2019 Aug;  
Seitz et al.: Front Oncol. 2019 Aug



### 3 Verzeichnis der Forschungsstellen

02 NUK 047F	<b>Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F  122
02 NUK 035D	<b>Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter</b> Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  80
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  114
02 NUK 047E	<b>Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin</b> Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E  120
02 NUK 036B	<b>Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade</b> Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B  84
02 NUK 039D	<b>Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich</b> Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt D  36
02 NUK 043A	Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt A  104
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A  60
02 NUK 050E	<b>Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen</b> Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt E  140
02 NUK 051C	<b>Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena</b> Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C  54

<b>GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt</b>
--

- 02 NUK 037A Verbundprojekt VERCHROMT: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung, Teilprojekt A  90
- 02 NUK 049A Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A  128
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt A  132

<b>Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden</b>
---

- 02 NUK 027C Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt C: Analyse und CFD-Modellentwicklung der Strömungszustände in ausdampfenden Brennelementen  16
- 02 NUK 041B Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  24
- 02 NUK 046B Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B  46
- 02 NUK 051B Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B  52
- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  62

<b>Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig</b>
---

- 02 NUK 053E Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E  68

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

- 02 NUK 038B Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt B  94
- 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  32
- 02 NUK 045A Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt A  108
- 02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  112

**Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam**

- 02 NUK 053D Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D  66

**Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg**

- 02 NUK 049B Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B  130

**Hochschule Zittau/Görlitz, Theodor-Körner-Allee 16, 02763 Zittau**

- 02 NUK 027D Verbundprojekt SINABEL: Sicherheit der Nasslager für abgebrannte Brennelemente: Experimentelle Analyse, Modellbildung und Validierung für System- und CFD-Codes; Teilprojekt D: Dichtegeltriebene vertikale Austauschbewegungen und radiales Strahlungsverhalten  18

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

- 02 NUK 036AX Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A  82
- 02 NUK 036C Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  86

**Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main**

- 02 NUK 050D Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt D  138

- |   |   |
|---|---|
| <b>Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz</b>                                       |   |
| 02 NUK 042B   | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B <span style="float: right;">📖 98</span>   |
| 02 NUK 044B   | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt B <span style="float: right;">📖 42</span>   |
| <b>Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München</b>                                   |   |
| 02 NUK 047C   | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 116</span>  |
| <b>Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München</b>      |   |
| 02 NUK 038A   | Verbundprojekt Endothelzellen: Effekte niedriger, mittlerer und hoher Strahlendosen auf primäre mikrovaskuläre Endothelzellen unterschiedlicher Normalgewebe; Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 92</span>   |
| <b>Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr. 30, 28359 Bremen</b> |   |
| 02 NUK 042C   | Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 100</span>  |
| <b>Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover</b>   |   |
| 02 NUK 044A   | Verbundprojekt SIRIUS: Sekundärionisation radioaktiver Isotope zur orts aufgelösten Ultraspurenanalyse, Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 40</span>   |
| 02 NUK 051A   | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A <span style="float: right;">📖 50</span> |
| <b>Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg</b>            |   |
| 02 NUK 051E   | Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E <span style="float: right;">📖 58</span> |
| <b>Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg</b>                               |   |
| 02 NUK 039C   | Verbundprojekt ThermAc: Aufklärung von Thermodynamik und Speziation von Actiniden bei höheren Temperaturen in Kombination von Schätzmethoden, spektroskopischen und quantenmechanischen Methoden; Teilprojekt C <span style="float: right;">📖 34</span>                     |

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

- 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  30
- 02 NUK 053C Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C  64

<b>THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1, 94469 Deggendorf</b>
---

- 02 NUK 041D Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeträgerstrukturen  26

<b>Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt</b>
--

- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  88
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  102
- 02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt B  134
- 02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender  $\alpha$ -Strahlung, Teilprojekt C  136

<b>Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden</b>
--

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

- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  78
- 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  22
- 02 NUK 046A Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A  44

<b>Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München</b>
--

- 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  38
- 02 NUK 045C Verbundprojekt INSTRA: Integrative Langzeitstudie zur Wirkung niedriger Strahlendosen in der Maus; Teilprojekt C  110

<b>Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen</b>
---

- 02 NUK 051D Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D  56

<b>Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken</b>
--

- 02 NUK 035A Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Maker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  74

<b>Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig</b>
--

- 02 NUK 046C Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C  48

<b>Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm</b>
---

- 02 NUK 048B Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B  126

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

- 02 NUK 043B Verbundprojekt COLLAR: Komplexe DNA-Läsionen und deren Bedeutung für die zelluläre Antwort nach Bestrahlung, Teilprojekt B  106
- 02 NUK 047D Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  118

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

- 02 NUK 032 DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets  72
- 02 NUK 035B Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  76

<b>Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz</b>
--

- 02 NUK 042A Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  96
- 02 NUK 048A Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  124