

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

PTE-N Nr. 23

BMBF geförderte FuE zu
„Nukleare Sicherheitsforschung“

Berichtszeitraum: 1. Januar - 30. Juni 2021

Projekträger Karlsruhe (PTKA)
Entsorgung

November 2021

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

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

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

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

Vorwort

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

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

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

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

Dem Bericht liegt folgendes Gliederungsprinzip zugrunde:

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

Inhaltsverzeichnis

1	Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen.....	1
1.1	<i>Sicherheitsforschung für Kernreaktoren.....</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung.....</i>	<i>3</i>
1.3	<i>Strahlenforschung.....</i>	<i>7</i>
2	Formalisierte Zwischenberichte	13
2.1	SICHERHEITSFORSCHUNG FÜR KERNREAKTOREN.....	13
2.2	SICHERHEITSFORSCHUNG ZUR NUKLEAREN ENTSORGUNG.....	31
2.3	STRAHLENFORSCHUNG.....	91
3	Verzeichnis der Forschungsstellen	189

1 Verzeichnis der Fördervorhaben gemäß FuE-Themenbereichen

1.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

02 NUK 041A	Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integralexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem	TU Dresden	📖 14
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.	📖 16
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	📖 18
02 NUK 062A	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A	Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 20
02 NUK 062B	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt B	Universität Stuttgart	📖 22
02 NUK 062C	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt C	TU München	📖 24
02 NUK 062D	Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D	Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, Köln	📖 26
02 NUK 063	Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation	TU Dresden	📖 28

1.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung














- | | | | |
|--------------------|---|---|------|
| 02 NUK 046A | Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A | TU Dresden | 📖 32 |
| 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. | 📖 34 |
| 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 | 📖 36 |
| 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 | 📖 38 |
| 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. | 📖 40 |
| 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 | 📖 42 |
| 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 | 📖 44 |
| 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. | 📖 46 |













02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 48
02 NUK 053B	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 50
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)	📖 52
02 NUK 053D	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D	Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ	📖 54
02 NUK 053E	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E	Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ	📖 56
02 NUK 056A	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 58
02 NUK 056B	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 60
02 NUK 056C	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 62
02 NUK 056D	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D	TU Berlin	📖 64
02 NUK 056E	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E	Universität Bremen	📖 66
02 NUK 059A	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 68
02 NUK 059B	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 70
02 NUK 059C	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C	Universität Heidelberg	📖 72
02 NUK 059D	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 74

02 NUK 059E	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg	📖 76
02 NUK 059F	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F	Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 78
02 NUK 060A	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	📖 80
02 NUK 060B	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B	RWTH Aachen	📖 82
02 NUK 060C	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 84
02 NUK 060D	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D	RWTH Aachen	📖 86
02 NUK 060E	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E	Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main	📖 88



1.3 Strahlenforschung

02 NUK 032	DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 92
02 NUK 035A	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Universität des Saarlandes	📖 94
02 NUK 035B	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	📖 96
02 NUK 035C	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	TU Dresden	📖 98
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Bundesamt für Strahlenschutz, Salzgitter	📖 100
02 NUK 036AX	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A	IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 102
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B	Elbe Kliniken Stade-Buxtehude	📖 104
02 NUK 036C	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C	IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH	📖 106
02 NUK 036D	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D	TU Darmstadt	📖 108
02 NUK 042A	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 110
02 NUK 042B	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B	Johannes Gutenberg-Universität Mainz	📖 112

02 NUK 042C	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C	Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Bremen	 114
02 NUK 042D	Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D	TU Darmstadt	 116
02 NUK 047A	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim	 118
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B	Bundesamt für Strahlenschutz	 120
02 NUK 047C	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C	Klinikum der Universität München	 122
02 NUK 047D	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D	Universitätsklinikum Essen	 124
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E	Charité - Universitätsmedizin Berlin	 126
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg	 128
02 NUK 048A	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	 130
02 NUK 048B	Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B	Universität Ulm	 132
02 NUK 049A	Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH	 134
02 NUK 049B	Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt B	Hochschule für angewandte Wissenschaften – Fachhochschule Aschaffenburg	 136
02 NUK 050A	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dichtionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH	 138

02 NUK 050B	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B	TU Darmstadt	 140
02 NUK 050C	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C	TU Darmstadt	 142
02 NUK 050D	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D	Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main	 144
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg	 146
02 NUK 054A	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A	GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH	 148
02 NUK 054B	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	 150
02 NUK 054C	Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C	TU Darmstadt	 152
02 NUK 055A	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A	Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Jena	 154
02 NUK 055B	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf	 156
02 NUK 055C	Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C	TU Dresden	 158
02 NUK 057A	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A	Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.	 160
02 NUK 057B	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B	TU Dresden	 162

02 NUK 057C	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt C	Universität Hannover	📖 164
02 NUK 057D	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt D	VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V.	📖 166
02 NUK 057E	Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt E	Sondervermögen Großforschung am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)	📖 168
02 NUK 058A	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A	Universität Heidelberg	📖 170
02 NUK 058B	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B	Universität des Saarlandes	📖 172
02 NUK 058C	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C	Forschungszentrum Jülich GmbH	📖 174
02 NUK 061A	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A	Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim	📖 176
02 NUK 061B	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B	Universitätsklinikum Essen	📖 178
02 NUK 061C	Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C	Klinikum der Universität München	📖 180
02 NUK 064A	Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A	Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München	📖 182

- 02 NUK 064B** Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B **Helmholtz-Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Oberschleißheim**  184
- 02 NUK 064C** Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C **Albert-Ludwigs-Universität Freiburg**  186

2 Formalisierte Zwischenberichte

2.1 Sicherheitsforschung für Kernreaktoren

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt A: Einzel- und Integraleexperimente sowie theoretische Analysen zu Verdampfung, Kondensation und Zweiphasen-Natriumlaufstabilität in einem passiven Wärmetransportsystem		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.01.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.998.046,95 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hurtado	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben gliedert sich in die folgenden Arbeitspakete:

- AP1: Systemanalyse, Literaturstudium, Festlegung von Szenarien (TUD-WKET, THD, HZDR, 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)

Für den Zeitraum 05/2021 bis 01/2022 wurde eine weitere Aufstockung bewilligt. In dieser Phase ist die Fortsetzung der bisherigen Arbeitspakete und die Durchführung der infolge der CORONA-Maßnahmen in 2020 nicht möglichen Arbeiten vorgesehen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1*: abgeschlossen
 AP2*: Die Versuchsanlage wurde einer Revision unterzogen. Das Massenspektrometer weist beim Einsatz in Wasserdampf infolge Eindringen von Kondensat Schwierigkeiten auf, was zu längeren Trocknungszeiten des Systems nach der Messung führt. Die experimentellen Untersuchungen zur Anwesenheit nichtkondensierbarer Gase wurden fortgeführt. Erste Ergebnisse zeigen eine Schichtung der Gase (Stickstoff, Helium, Wasserdampf) im Versuchsraum.
 AP3*: Das an das ATHLET-GENEVA-Modell angepasste Naturumlauf-ROM wurde mit dem Bifurkationscode MatCont gekoppelt. Die Komplexität der Modellierung verursacht allerdings trotz der Modellordnungsreduktion einen hohen Rechenaufwand. Die Verfolgung dieser Bifurkation innerhalb des Parameterraumes der Eintrittsenthalpie und der Wärmestromdichte ergibt allerdings nur Datenpunkte in der Nähe des Referenz-Betriebspunktes. Bei der numerischen Integration verschiedenster Betriebspunkte im Zeitbereich erhält man plausible Stabilitätscharakteristiken, ob im stabilen oder instabilen Bereich des Hopf-Bifurkationspunktes. Dieses Stabilitätsverhalten deckt sich annähernd mit dem des ATHLET-Datensatzes und grob mit dem der GENEVA-Versuchsanlage. Der ATHLET-Datensatz zur Berücksichtigung nichtkondensierbarer Gase beim Kondensationswärmeübergang wurde überarbeitet. Aussagen hierzu können erst nach Abschluss der experimentellen Untersuchungen gemacht werden.
 AP4*: Ein an die Versuchsanlage INKA angelehntes vereinfachtes ATHLET-Modell, welches auch die Annahmen des Naturumlauf-ROM erfüllt, wurde erstellt. Im Vergleich zu den experimentellen liegen erhebliche Abweichungen vor. Eine Stabilitätsuntersuchung ist nicht möglich, da zu wenig geeignete Datenpunkte vorliegen.
 AP5*: Die Erarbeitung des Abschlussberichtes wurde begonnen.

In der jetzigen Aufstockungsphase erfolgte im Berichtszeitraum lediglich eine Bestandsaufnahme zum Status der Versuchsanlage und der Beginn der Einarbeitung in die wissenschaftliche Problematik.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Experimente zum Einfluss der nichtkondensierbaren Gase sollen entsprechend den ursprünglichen Planungen folgend durchgeführt werden. Die theoretischen Arbeiten sollen den Zusammenhang zwischen Naturumlauf-ROM und ATHLET-Modell vertiefen.

Die Arbeiten der GRS werden entsprechend dem im Angebot fixierten Schwerpunkten in der folgenden Aufstockungsphase weitergeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 041B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.01.2022		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.417.808,95 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Hampel

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Vorbereitung und Durchführung der Experimente

- Weiterentwicklung von Analysealgorithmen für Slugströmungen
- Durchführung verbliebener Experimente
- Umbau der Teststrecke
- Experimente mit geändertem Wandmaterial und Einbauten
- Support und Beratung zur Versuchsdurchführung und den experimentellen Ergebnissen

AP2: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes

- CFD-Simulationen für die Experimente mit geringem Gasanteil
- CFD-Simulationen für die neuen COSMEA-Experimente mit dem Titanlegierungsrohr
- Simulation der COSMEA-Experimente mit ATHLET und Vergleich der Ergebnisse mit den experimentellen Daten (für die in der Versuchsserie 2020 durchgeführten Messpunkte)
- Durchführung einer Unsicherheitsanalyse mit dem Programmpaket SUSA für das ATHLET-Modell der COSMEA-Kondensationsexperimente

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Der Aufstockungsantrag zum laufenden PANAS Vorhaben wurde vom Projektträger erst im Mai 2021 für den Zeitraum vom 01.05.2021 bis 31.01.2022 bewilligt. Da insbesondere die Experimente einen gewissen Vorlauf in Planung und Durchführung benötigen und es auch noch offene Punkte aus der Experimentalmatrix von 2020 gab, wurden Teile der nachfolgend beschriebenen Arbeiten vor dem 01. Mai 2021 durchgeführt. Im Bereich der theoretischen Arbeiten wurde hauptsächlich eine Reihe von älteren Experimenten aus dem Jahr 2020 nachgerechnet. Die Simulationen dienten der Identifizierung von Modellschwächen und somit auch zur Vorbereitung der in der Aufstockungsphase geplanten Arbeiten.

AP1: Vorbereitung und Durchführung der Experimente:

Die Nachbearbeitung und thermohydraulische Analyse der durchgeführten Testexperimente im Jahr 2020 wurde durchgeführt. Darüber hinaus erfolgte die Entwicklung und Anwendung von Auswertemethoden für dynamische Radiographiedaten. Schließlich wurden Testexperimente für offene Versuchspunkte aus der Testmatrix von 2020 durchgeführt.

AP2: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes

CFD: Der neue numerische CFD-Setup zur Modellierung des neuen Designs des COSMEA-Versuchsstands wurde vorbereitet. Die Simulationen wurden durchgeführt und mit den experimentellen Daten verglichen.

ATHLET: Im Berichtszeitraum wurden die in 2020 durchgeführten COSMEA-Versuche mit dem Simulationscode ATHLET nachgerechnet. Die Rechnungen umfassten 16 Experimente mit 5 Druckstufen und variiertem Dampfmassengehalt. Die dabei erzielten Ergebnisse ähneln qualitativ den bereits berichteten.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Vorbereitung und Durchführung der Experimente

Nachbearbeitung und Datenanalyse der COSMEA-Ergebnisse

Umbau der Teststrecke

Vorbereitung und Durchführung der Experimente mit geändertem Wandmaterial und Einbauten

Support und Beratung zur Versuchsdurchführung und den experimentellen Ergebnissen

AP2: Modellentwicklung für CFD- und Integralcodes

CFD-Simulationen für die neuen COSMEA-Experimente mit dem Titanlegierungsrohr

Verbesserte Wärmeübergangsmodelle für die Tropfenkondensation am GENEVA-Außenrohr

Durchführung einer Unsicherheitsanalyse für ausgewählte Messpunkte

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: THD - Technische Hochschule Deggendorf, Dieter-Görlitz-Platz 1, 94469 Deggendorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 041D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2015 bis 31.01.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 590.316,40 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Leyer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

Im Rahmen der Aufstockung des PANAS Projektes wird nun der sekundärseitige Wärmeübergang modelliert und diese Modellierung optimiert. Zusätzlich wird das adiabate Sieden im Steigrohr des Gebäudekondensators modelliert.

Der Terminplan wurde an die Änderungen im PANAS Projekt angepasst. Die Arbeiten des aufgestockten PANAS Projekts sind in 6 Arbeitspakete unterteilt:

AP1: Literaturstudium zu sekundärseitigen Wärmeübergangsmodellen und Mehrrohr-Effekten.

AP2: Auswahl anwendbarer Wärmeübertragungsmodelle aus der Literatur für unterschiedliche Arbeitsbedingungen und deren Verwendung in ATHLET-Simulationen der Sekundärseite.

AP3: CFD-Simulation der Sekundärseite des Wärmetauschers in ANSYS CFX.

- AP4: Entwicklung der Simulation unter Berücksichtigung der Möglichkeit der Verdunstung um die Kondensationsrohre
- AP5: CFD-Simulation des adiabatischen Siedens in Steigrohren
- AP6: Validierung von Simulationen anhand der Experimente

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

PANAS Projekt bis 2019: Die Arbeitspakete sind erfolgreich abgeschlossen. Ein neues Modell wurde auf basierende COSMEA Datei mit der Regressionsmethode entwickelt. Die Nachrechnungen der COSMEA Experimente zeigten deutliche verbesserte Übereinstimmungen zwischen experimentalen und verrechneten Daten.

Erweiterung des PANAS Projektes seit 2020: Das Arbeitspaket 1 und 2 wurde abgeschlossen. Eine umfassende Literaturstudie unter Berücksichtigung aller möglichen Wärmeübertragungsphänomene auf der Sekundärseite des Notkondensators wurde durchgeführt und die anwendbaren Modelle im Betriebsbereich der Sekundärseite der COSMEA-Testanlage ausgewählt.

Die Ergebnisse dieser Auswertung zeigen, dass sie das Wärmeübergangsverhalten in der Sekundärseite des COSMEA-Testsystems oft nicht vorhersagen können. Arbeitspaket 3 wurde ebenfalls abgeschlossen. Es wurde eine 3D-CFD-Simulation der Sekundärseite der COSMEA-Testanlage in ANSYS CFX durchgeführt und die Ergebnisse für verschiedene Arbeitsbedingungen extrahiert. Dies führte zu einer guten Analyse der Temperaturverteilung und des Wärmeübergangskoeffizienten der Sekundärseite. Basierend auf dem Arbeitspaket 6 wurden diese Ergebnisse durch aufgezeichnete Daten der COSMEA-Testanlage validiert und zeigen eine gute Übereinstimmung. Auf der Sekundärseite der COSMEA-Testanlage ist jedoch aufgrund der experimentellen Daten und der Verfahrensmerkmale keine Verdampfung möglich. Daher entfällt das Arbeitspaket 4 und wird bei zukünftigen Untersuchungen in anderen Versuchsanlagen mit der Möglichkeit der Verdampfung im Kühlkörper berücksichtigt.

Die CFD-Simulation des adiabatischen Siedens in Steigrohren im Zusammenhang mit Arbeitspaket 5 ist ebenfalls im Gange und die Ergebnisse werden auf Basis der experimentellen Daten der INTRA VIT-Testanlage aufbereitet und ausgewertet.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den nächsten Schritten wird in ANSYS CFX eine CFD-Simulation des adiabatischen Siedens in Steigrohren durchgeführt. Für die Auswertung dieser CFD-Simulation wurde das Testsystem INT-RAVIT berücksichtigt. Daher sind Weiterentwicklungen des Prüfstandes notwendig. Dazu werden die Netzsensoren installiert und zur Generierung von Daten für die Phasenverteilung im Steigrohr als Validierungsgrundlage für die CFD-Simulation verwendet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserst. 12, 76131 Karlsruhe		Förderkennzeichen: 02 NUK 062A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2021 bis 31.05.2025	Berichtszeitraum: 01.06.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 855.228,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Cheng	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das wissenschaftliche Ziel ist die Untersuchung des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich. Durch experimentelle Untersuchungen mit Freon R134a wird eine umfangreiche Datenbank aufgebaut, welche dem gesamten Verbundprojekt zur Verfügung gestellt wird und der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und den Post-CHF Wärmeübergang analysiert. Mit Hilfe dieser Datenbank und verbesserten Verständnisses der mechanistischen Vorgänge werden vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, und gegebenenfalls neue Modelle entwickelt. Numerische Simulationen mit CFD-Programmen sollen zum besseren Verständnis der zu untersuchenden Phänomene beitragen und die experimentellen Arbeiten unterstützen. Die Entwicklung von Fluid-zu-Fluid Skalierungsmodellen ermöglicht die direkte Übertragung der Versuchsdaten von drei unterschiedlichen Fluiden. In Zusammenarbeit mit dem LES der TU München (02 NUK 062C) und dem IKE der Universität Stuttgart (02 NUK 062B) werden auch die experimentellen Daten von Wasser und CO₂ in die Datenbank miteingebunden. Die Implementierung der neu entwickelten Modelle und Validierung gegen experimentelle Daten wird durch die GRS (02 NUK 062D) unterstützt und erhöht die Aussagekraft des STH-Programms ATHLET für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden. Die anspruchsvollen wissenschaftlichen Aufgaben leisten einen wichtigen Beitrag zum Kompetenzerhalt der Kerntechnik und zur Ausbildung des kerntechnischen Nachwuchses.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Experimentelle Untersuchungen mit R134a. An der KIMOF-Anlage des IATF/KIT werden experimentelle Untersuchungen zum CHF und Post-CHF Wärmeübergang mit Freon R134a durchgeführt. Die Versuche werden dabei einmal in einem Kreisrohr und einmal in einem Ein-Stab-Testkanal durchgeführt.
- AP2: Modellentwicklung. Es werden Modelle für Post-CHF Wärmeübertragung und entsprechende Fluid-zu-Fluid Skalierung entwickelt. Für die Entwicklung von Modellen und für die Bewertung/Validierung der Modelle steht jeweils eine experimentelle Datenbasis zur Verfügung.
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung. Dieses AP fokussiert sich auf die Weiterentwicklung des STH-Programms ATHLET, was dessen Aussagekraft erhöht.
- AP4: Management/Koordination. Dieses AP widmet sich der Koordination und dem Management des Verbundprojekts und wird vom IATF/KIT koordiniert.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Bislang durchgeführte Arbeiten ergeben sich aus der Literaturrecherche über bisher vorhandene Modelle und Fluid-zu-Fluid Skalierungen bezüglich des CHF und Post-CHF Wärmeübergangs mit dem Kühlmittel Freon R134a sowie des Verhaltens der physikalischen Vorgänge der Tropfenbewegung.

- AP1: Ebenfalls wurden erste Vorbereitungen getroffen, um den Umbau der KIMOF-Versuchsanlage für die experimentellen Versuche voranzutreiben.
- AP2: Des Weiteren wurden Vorbereitungen für die numerische Simulation der Dispersionsströmung (Post Dryout (PDO) Region) gestartet, mit dem Schwerpunkt auf die Anwendbarkeit von Lösungsmethoden.
- AP3: noch nicht begonnen.
- AP4: Erstes Online-Treffen mit den Verbundpartnern und dem Projektträger, welches zur Vorstellung der Teilnehmer sowie zur ersten Besprechung diente.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Bestellungen für den Umbau der KIMOF-Versuchsanlage werden durchgeführt und somit die Anlage bei Eintreffen der notwendigen Komponenten umgebaut.
Nach Beendigung des Umbaus werden die ersten Versuche mit dem Kreisrohr durchgeführt. Dabei werden während eines Versuchs der Druck, die Massenstromdichte und die Eintrittsenthalpie konstant gehalten und lediglich die Heizleistung bzw. die Wärmestromdichte variiert. Nach jeder Leistungssteigerung wird ein neuer stationärer Zustand erzielt und die entsprechenden Versuchsdaten werden aufgenommen. Damit ergibt sich die Möglichkeit, Daten zum CHF und zum Post-CHF Wärmeübergang bei verschiedenen Parameterkombinationen zu gewinnen.
Diese resultierenden Daten werden im Anschluss zum Aufbau der experimentellen Datenbank genutzt und jedem Verbundpartner zu Verfügung gestellt.
- AP2: Angemessene Lösungsmethoden für die CFD Simulation der Dispersionsströmung (PDO Region) werden durch Vergleich mit den experimentellen Daten aus der Literatur ausgewählt. Es werden weiterhin tiefgreifende CFD-Berechnungen durchgeführt, um den Einfluss verschiedener Randbedingungen auf die Ergebnisse zu untersuchen.
Des Weiteren werden Korrelationen aus der Literatur gewählt, welche mit den existierenden experimentellen Daten verglichen werden. Die Korrelation mit der höchsten Genauigkeit unter hohen Druckparametern wird ausgewählt und dem Verbundprojekt für weitere Aufgaben empfohlen.
- AP4: Planung und Durchführung eines eineinhalbtägigen Kick-Off-Meetings. Dieses dient dem persönlichen Kennenlernen und zur Diskussion weiterer Vorgehensweisen. Ebenfalls werden im 4-wöchigen Takt Besprechungstermine der Doktorandinnen und Doktoranden abgehalten, um stetig auf dem aktuellen Stand zu sein und sich somit immer abstimmen zu können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart		Förderkennzeichen: 02 NUK 062B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmetransfers nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2021 bis 31.05.2025	Berichtszeitraum: 01.06.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 846.526,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Starflinger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete wissenschaftliche Ziel des Verbundvorhabens CPC-HD ist die Untersuchung des Wärmeübergangs bis zur Siedekrise (CHF) und darüber hinaus (Post-CHF) bei hohen Drücken. Hierzu soll der Einfluss verschiedener Parameter auf CHF und Post-CHF experimentell untersucht und mit den Ergebnissen eine umfangreiche Datenbank aufgebaut werden. Auf Basis der hierdurch gewonnenen Erkenntnisse sollen vorhandene Modelle zur Vorhersage des CHF und des Post-CHF Wärmeübergangs bewertet, verbessert (oder ggf. neu entwickelt) und anhand der experimentellen Daten validiert werden. Hierdurch soll vor allem auch die Übertragbarkeit auf unterschiedliche Fluide gewährleistet sein. Die im Vorhaben entwickelten validierten Modelle sollen in das STH-Programm ATHLET implementiert und damit dessen Aussagekraft speziell auch für innovative nukleare Systeme mit überkritischen Fluiden verbessert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

An der SCARLETT-Anlage sollen Versuche mit dem Kühlmittel CO₂ durchgeführt werden, die den Wärmeübergang bis zur Siedekrise, die Bestimmung der kritischen Wärmestromdichte sowohl bei DNB und Dryout-Verhältnissen und auch den Post-CHF-Wärmeübergang abdecken. Es sind zwei Versuchsstrecken (Rohrdurchmesser 6 und 10 mm) einschließlich Heizung aufzubauen und zu instrumentieren, wobei die Einsatzfähigkeit der Messtechnik auch in einem erweiterten Temperaturbereich, der Post-Dryout abdeckt, gewährleistet werden soll. Es sollen Versuche mit Variation des Druckbereichs sowie Variationen der Randbedingungen (Massenstromdichte, Eintrittstemperatur) durchgeführt werden. Neben Experimenten mit homogener Beheizung sollen auch Versuche mit entlang der Heizstrecke veränderlicher Heizleistung (Leistungsprofile) durchgeführt werden.

Zur Vorhersage des Auftretens der Siedekrise bei hohen Dampfqualitäten soll ein mechanistisches Modell mit Schwerpunkt auf hohen Drücken erarbeitet werden. Die Anwendbarkeit der Modellierung auf unterschiedliche Kühlmittel soll durch Fluid-zu-Fluid-Skalierung ermöglicht werden. Das Modell soll anhand der im Verbundprojekt erzeugten experimentellen Datenbasis validiert werden. Daraus soll eine ausreichend genaue und dennoch schnell-laufende Version abgeleitet werden, die in ATHLET zu implementieren ist.

Die Arbeiten sind in 5 Arbeitspakete unterteilt:

AP1: Experimentelle Untersuchungen im TP: Untersuchungen mit CO₂ und Aufbau experimenteller Datenbank

AP2: Aufbau einer experimentellen Datenbank

AP3: Modellentwicklung im TP: Modellierung des CHF unter Dryout Bedingungen

AP4: ATHLET Weiterentwicklung

AP5: Koordination des Verbundprojekts

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Der für die experimentellen Arbeiten zuständige Mitarbeiter hat begonnen, sich anhand einschlägiger Fachliteratur in den Forschungsgegenstand einzuarbeiten und sich mit dem Aufbau und dem Betrieb der SCARLETT-Versuchsanlage vertraut zu machen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Die im Antrag skizzierte Konzeption zur Modifikation der SCARLETT-Anlage für Versuche bei unterkritischem Druck sowie zum Aufbau der Messstrecke sollen ausgearbeitet und entsprechende detaillierte Planungen und Konstruktionsunterlagen erstellt werden. Für die anzuschaffenden Komponenten und Messtechnik sollen genaue Spezifikationen erarbeitet und Angebote eingeholt und ausgewählt werden. An der SCARLETT-Anlage sollen Vorversuche u. a. zur Druckregelung bei unterkritischer, zweiphasiger Strömung durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität München, Arcisstr. 21, 80333 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 062C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2021 bis 31.05.2025	Berichtszeitraum: 01.06.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 859.872,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Spliethoff	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In zukünftigen nuklearen Systemen kommen überkritische Fluide immer häufiger zum Einsatz. Für die Sicherheitsbewertung eines thermohydraulischen Systems mit überkritischen Fluiden sind die genauen Kenntnisse des Wärmeübergangs in einem breiten Druckbereich unentbehrlich. Bei Lasttransienten werden dabei auch unterkritische Drücke und die damit verbundenen Siedekrisen für die Systemsicherheit relevant. Während die Siedekrisen zwar bis zu einem reduzierten Druckverhältnis von 0,7 gut erforscht sind, existiert eine Forschungslücke bei höheren Drücken. Das übergeordnete Ziel dieses Verbundvorhabens ist die Untersuchung und Modellierung des Post-CHF Wärmeübergangs im hohen Druckbereich. So sollen konzentriert mit drei unterschiedlichen Fluiden (Wasser, CO₂ und R134a) vergleichbare Experimente durchgeführt werden, was eine Skalierung von Modellen und Korrelationen erst ermöglicht. Die Ergebnisse sollen zudem in die Thermohydraulische Systemsoftware ATHLET implementiert werden, um eine direkte Anwendbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen. In diesem Teilprojekt werden insbesondere die Versuche mit dem Arbeitsmedium Wasser sowie die Modellierung des DNB-Wärmeübergangs adressiert.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben gliedert sich in vier Arbeitspakete (AP):

- AP1: Experiment
- AP2: Modellentwicklung
- AP3: ATHLET Weiterentwicklung
- AP4: Koordination

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum vom 01.06.2021 - 30.06.2021 wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Es wurde begonnen, die Versuchsanlage HIPER für erste experimentelle Untersuchungen mit Wasser zu ertüchtigen.
- AP2: Es wurde mit der Einarbeitung in die vorliegenden Phänomene und Modelle zur Beschreibung des DNB (Departure from Nucleate Boiling) anhand einer Literaturrecherche begonnen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Berichtszeitraum sind folgende Arbeiten geplant:

- AP1: Nach Ertüchtigung der Versuchsanlage HIPER soll – unter Verwendung der derzeitigen Teststrecke (ID 15.8 mm) – eine erste Versuchskampagne durchgeführt werden. Erste Ergebnisse mit dieser Teststrecke sind im November 2021 zu erwarten. Aus der durchgeführten Versuchskampagne sollen erste experimentelle Daten in die zu erstellende Datenbank aufgenommen werden. Zeitgleich erfolgt die Planung der Teststreckenmodifikation für einen zukünftigen Innendurchmesser von 10 mm.
- AP2: Die Einarbeitung in die vorliegenden Phänomene und Modelle zur Beschreibung des DNB anhand einer Literaturrecherche soll fortgeführt werden. Im Zuge dessen werden Korrelationen zur kritischen Wärmestromdichte unter DNB-Bedingungen aus der Literatur gesammelt und bezüglich ihrer Eignung für die Anwendung bei hohen Drücken bewertet.
- AP3: Es erfolgt die Einarbeitung in die Thermohydraulische Systemsoftware ATHLET.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Gesellschaft für Anlagen-und Reaktorsicherheit (GRS) gGmbH, Schwertnergasse 1, 50667 Köln		Förderkennzeichen: 02 NUK 062D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2021 bis 31.05.2025	Berichtszeitraum: 01.06.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 334.133,33 EUR	Projektleiter: Dr. Weyermann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Im Rahmen des Teilprojekts sollen die in den anderen Teilprojekten des Verbundvorhabens erarbeiteten Korrelationen zur Bestimmung des Wärmeübergangs bei hohen Drücken in die offizielle ATHLET Version implementiert und damit allen ATHLET-Anwendern nutzbar gemacht werden. Hierzu entwickelt die GRS eine spezielle Arbeitsversion für die Projektpartner, die alle drei in dem Verbundprojekt verwendeten Fluide simulieren kann. Die GRS unterstützt die Partner weiter durch eine enge Beratung und verschiedene Kurse zur Anwendung von ATHLET und zur Programmierung. Die finale Implementierung der Arbeitsergebnisse in den Hauptentwicklungszweig von ATHLET wird dann von der GRS durchgeführt und qualitätsgesichert. Mit der turnusgemäß nächsten Veröffentlichung einer ATHLET-Version werden die Projektergebnisse dann allen ATHLET-Anwendern zur Verfügung stehen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- TP-AP3.1: Aktualisierung der ATHLET-Modelle für CHF und Post-CHF-Wärmeübergang im betrachteten Druckbereich und Implementierung der zusätzlichen Arbeitsfluide R134a und CO₂
- TP-AP3.2: Unterstützung der Projektpartner bei der Modellentwicklung und Implementierung der neuen Korrelationen in ATHLET
- TP-AP3.3: Finale Implementierung der neuen Korrelationen in ATHLET, Durchführung der notwendigen Validierung und Qualitätssicherung
- TP-AP4.1: Koordination des Verbundprojekts, Dokumentation der Arbeitsergebnisse
- TP-AP4.2: Organisation der Ausbildungsaktivitäten, Durchführung von Schulungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum erfolgte der Start des Projektes (01.06.2021).

TP-AP3.1: Arbeitspaket wurde gestartet. Es wurden erste Möglichkeiten zur Implementierung der zusätzlichen Arbeitsmedien geprüft.

TP-AP4.1: Es fanden erste Koordinierungsgespräche mit den Projektpartnern statt.

4. Geplante Weiterarbeiten

TP-AP3.1: Erweiterung von ATHLET für die Simulation von R134a und CO₂, Überprüfung ggf. Erweiterung der Wärmeübergangsberechnung.

TP-AP4.1: Koordinierung mit den Projektpartnern.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 063
Vorhabensbezeichnung: Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Reaktorsicherheit		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 555.091,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hurtado	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

Es gibt keinen Bezug zu anderen Vorhaben.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1.1: Die theoretischen Grundlagen zu Nullleistungsmessverfahren wurden intensiv aufgearbeitet und das entsprechende Wissen wird kontinuierlich weiter ins Detail gehend verfeinert. Insbesondere standen (und stehen) Grundlagen zu stochastischen Prozessen in Spaltzonen von Kernreaktoren und wesentliche statistische Auswerteverfahren zur Untersuchung von Neutronenverzweigungsprozessen im Fokus der Literaturrecherche. Darüber hinaus wurden aktuelle experimentelle Arbeiten zum vorliegenden Thema an anderen Kernreaktoren, wie zum Beispiel am CROCUS des EPFLs in der Schweiz, aufbereitet.

- AP1.2: Es wurden ausgiebige Tests mit vorhandenen, nicht optimalen älteren He3-Zählrohren durchgeführt, wobei im Rahmen derer Genauigkeit bereits erste systematische Einflüsse auf die Messung von Neutronenverzweigungsprozessen studiert werden konnten. Eine erste Probemessung mit einem Prototyp der neu angeschafften He3-Zählrohre+Vorverstärker wies sehr gute Eigenschaften bzgl. kleiner Totzeiten auf.
- AP1.3: Die im Rahmen des vorliegenden Vorhabens zu beschaffenden hocheffizienten He3-Zählrohre wurden geliefert. Wie im vorherigen Punkt erläutert, konnte bereits ein He3-Zählrohr erfolgreich getestet werden. Das gemessene Totzeitverhalten entspricht dabei den Erwartungen. In Kooperation mit dem Hersteller der Vorverstärker der neu beschafften He3-Zählrohre wurde ein noch weiter zu optimierender Prototyp des Gesamtdetektors hergestellt und getestet. Die Entwicklung schreitet planmäßig gut voran; anschließende Tests sind in Planung.
- AP1.4: Studien und Tests zu He3-Zählrohren haben ergeben, dass das anfangs bestehende Problem zu großer Totzeiten durch Kovarianz-Messungen von Paaren thermischer Neutronendetektoren sehr gut unter Kontrolle zu bekommen ist.
- AP2: Eine Lizenz für das Lizenz-pflichtige MCNP Simulationsprogramm wurden mit Beginn des Projektes beantragt, um planmäßig mit den Strahlungstransportsimulationen beginnen zu können.
- AP3.1: Es wurde ein umfassender Code geschrieben und getestet, um „state-of-the-art“ Nullleistungsmessungen auswerten zu können. Zur Visualisierung und Anpassung theoretischer Modelle an die Daten wurde die CERN-Software ROOT genutzt und ausgiebige Skripte erstellt. Des Weiteren werden Verfahren zur Erfassung der statistischen Unsicherheiten der Messungen entwickelt und getestet, welche über den aktuellen Stand in der Literatur hinausgehen. Durch viele Testmessungen konnte die vorhandene nichtoptimierte Messelektronik verbessert werden. Das betrifft sowohl die analoge Signalübertragung als auch das Hardwaredesign der FPGA gestützten Auswerteelektronik.
- AP4.1: Proton-Rückstoßdetektoren wurden bestellt, jedoch noch nicht geliefert.
- AP4.2: Mit Hilfe eines geliehenen Protonenrückstoßdetektorsystems konnten erste Tests durchgeführt werden und insbes. die Grundlagen solcher Messungen aufgearbeitet und besser verstanden werden, d. h. Potential und Probleme mit Blick auf den zukünftigen Auswertalgorithmus können bereits jetzt abgeschätzt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Fertigstellung des Prototyps des Detektors für thermische Neutronen mit anschließenden umfassenden Tests ist geplant. Nach erfolgreichen Tests erfolgt die Anforderung von weiteren Exemplaren, d. h. insgesamt sechs He3-Zählrohre verbaut als Paare mit Vorverstärkern in drei Detektoren, welche geometrisch exakt auf die Experimentierkanäle des AKR-2 zugeschnitten sind.
- AP2: Es sind Strahlungstransportsimulationen mit MCNP (bzw. anderen Codes wie Serpent, ...) zur Validation der experimentellen Ergebnisse, mit Fokus auf Geometrie der Spaltzonenkonfiguration als auch der Detektorausmaße und -Lage, geplant.
- AP3.1: Die Validierung des Auswertalgorithmus durch analytische und numerische Rechnungen sowie dessen Weiterentwicklung mit Blick auf Rechenzeit und Speicherzugriff, zur Auswertung deutlich höherer Zählstatistiken sollen erfolgen.
- AP3.2: Die Einbindung von neuronalen Netzen soll erfolgen. Insbes. soll zunächst eine Abschätzung stattfinden, an welcher Stelle diese optimal mit Blick auf Verbesserung der Ergebnisse eingesetzt werden können.
- AP4: Die Inbetriebnahme der Proton-Rückstoßdetektoren (sobald geliefert) sowie das Aufsetzen einer effizienten Signalauswertung mit Teilchenidentifikation (Photonen vs. schnelle Neutronen) ist geplant. Mit der Entwicklung der modernen Signalauswerteelektronik unter Zuhilfenahme eines FPGAs wird begonnen.
- AP5: Der Beginn von systematischen Nullleistungsmessungen mit den neuen Detektorsystemen ist geplant, inklusive der Bestimmung von Rossi-Alpha-Werten und deren statistischer Signifikanz.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

2.2 Sicherheitsforschung zur nuklearen Entsorgung

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.07.2021		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.427.253,00 EUR		Projektleiter: 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 Untersuchungen der Komplexbildungseigenschaften von Phosphorylpyrazolonen gegenüber Actinoidionen in der Oxidationsstufe +IV sowie ausgewählten Lanthanoidionen in den Oxidationsstufen +III und +IV wurden in Zusammenarbeit von der Weigand- und Stumpf-Gruppe abgeschlossen. Die Ergebnisse wurden einem Manuskript zusammengefasst und in der Zeitschrift Dalton Transaction veröffentlicht. Ferner konnten die Ergebnisse zum Adsorptionsverhalten von Uranlyonen an Treber, der durch gezielte Oxidation modifiziert wurde, vervollständigt werden. Zur Oxidation wurde Treber mit 85 %iger H_3PO_4 und $NaNO_2$ behandelt und eine Steigerung der vorhandenen Carboxylgruppe von 0,15 mmol/g

Trockenmasse Treber auf 1,3 mmol/g detektiert. Adsorptionsstudien weisen eine Adsorptionskapazität von 297,3 mg/g UO_2^{2+} auf und detaillierte FTIR-Untersuchungen zeigen, dass die Uranylionen durch die zwei O-Donoratome der Carbonylgruppen nach Deprotonierung koordiniert werden. Die Ergebnisse wurden einem Manuskript zusammengefasst und zur Veröffentlichung in der Zeitschrift ACS Omega angenommen. Darüber hinaus wurden die Arbeiten zur Koordination von Uranylionen durch substituiertes Glucosamin in einem Manuskript zusammengefasst und in der Zeitschrift Chemistry – A European Journal veröffentlicht. Aufbauen darauf wurden Liganden synthetisiert, in denen die OH-Gruppen des Zuckers verschieden derivatisiert sind. Die Untersuchungen zum Koordinationsverhalten von Uranylionen für ein peracetyliertes Derivat zeigen, dass die Acetylgruppe in Position C-1 hydrolysiert und das Metallzentrum durch das O-Donoratom des Zuckers sowie von dem N- und O-Donoratom des Substituenten koordiniert wird. Durch geeignete Auswahl der Reaktionsbedingungen konnte sowohl eine Spezies mit einer 2:2 Stöchiometrie als auch mit der 3:3 Stöchiometrie isoliert und deren Strukturen mit Hilfe von Röntgenbeugungsexperimenten bestimmt werden. Detailliert NMR Experimente erlauben eine Identifizierung der verschiedenen Spezies in Lösung und die Beobachtung der gezielten Umwandlung durch Titration mit einer Base. Aufbauend darauf sind Experimente unter Verwendung von isotope markierten Wasser in Vorbereitung und sollen die Identifikation der vorliegenden Spezies vervollständigen.

In Zusammenarbeit von der Brunner- und Stumpf-Gruppe wurden die Arbeiten zur Sorption von Eu^{3+} an unbehandeltem Chitin in Kooperation mit dem HZDR zu Ende geführt. Zur Identifikation der Bindungsfunktionen am Chitin, welche mit den Ln- und An-Ionen wechselwirken, wurden die Untersuchungen mit dem Monomer von Chitin, dem Monosaccharid N-Acetylglucosamin, vertieft. Das Manuskript ist in Vorbereitung und soll in Kürze eingereicht werden. Darüber hinaus wurden die Arbeiten zur Kathodolumineszenz in Kooperation mit Frau Prof. Hieckmann von der Fakultät für Physik der TU Dresden abgeschlossen. Das Manuskript ist im Frühjahr 2021 positiv begutachtet worden. Die von den Gutachtern verlangten Revisionen sind vorgenommen und das revidierte Manuskript ist im Juli 2021 wieder eingereicht worden. Weiterhin wurde die Herstellung von chitinösen Folien für die Sorption von Europiumionen aus wässrigen Lösungen erfolgreich zu Ende geführt. Die Synthese wurde durch Zusatz von Additiven optimiert. Dies wird Bestandteil der in Vorbereitung befindlichen Dissertation von K. Kammerlander sein.

Ferner wurden die Gleichgewichtsdialyseexperimente zur Untersuchung der Bindung von Eu^{3+} und UO_2^{2+} an Kaffeemelanoide abgeschlossen. Zusätzlich wurden anhand von TRLFS-Experimenten und Datenauswertung mittels PARAFAC die Bindung von Eu^{3+} an die Melanoidinfraktionen tiefergehend charakterisiert. Dabei wurden für das untersuchte System zwei unterschiedliche Eu^{3+} -Melanoidin-Bindungsmotive identifiziert, deren Verhältnis zueinander sich mit zunehmender Röstintensität umkehrt. Durch die Präparation synthetischer Melanoide sollen die an der Bindung beteiligten Strukturen weiter aufgeklärt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Weiterführung der Untersuchungen zur Adsorption von f-Elementen an immobilisierten Treber
- Untersuchungen zur Synthese und Charakterisierung von tripodaler Alkylphosphinoxide, deren Podandarme über Aminfunktionen verknüpft sind
- Durchführung von MS-Experimenten mit isotope markierten Verbindungen zur weiterführenden Charakterisierung der Komplexverbindungen mit substituiertes Glucosamin.
- TRLFS-Experimente mit synthetischen Melanoidinen variierender Zusammensetzung
- Fortsetzung der spektroskopischen Untersuchungen zur Komplexbildung ausgewählter Maillard-Reaktions-Modellliganden gegenüber dreiwertigen f-Elementen und UO_2^{2+} -Ionen

5. Berichte, Veröffentlichungen

J. Zhang, M. Wenzel, K. Schnaars, F. Hennersdorf, K. Schwedtmann, J. März, A. Rossberg, P. Kaden, F. Kraus, T. Stumpf, J. J. Weigand; Coordination of Trivalent Lanthanum and Cerium, and Tetravalent Cerium and Actinides (An = Th(IV), U(IV), Np(IV)) by a 4-Phosphoryl 1H-Pyrazol-5-olate Ligand in Solution and the Solid State; *Dalton Trans.*, 2021, 50, 3550-3558. (<https://doi.org/10.1039/D1DT00365H>)

Y. Su, M. Wenzel, S. Paasch, M. Seifert, W. Böhm, T. Doert, J. J. Weigand; Recycling of brewer's spent grain as biosorbent by nitro-oxidation for uranyl ions removal from wastewater; *ACS Omega*, accepted <http://doi.org/10.1021/acsomega.1c00589> (Supplement Front Cover: accepted for upcoming issue)

G. Schaper, M. Wenzel, F. Hennersdorf, L. F. Lindoy, J. J. Weigand; Saccharified uranyl ions: Self-assembly of UO_2^{2+} into trinuclear anionic complexes via the coordination of glucosamine-derived Schiff bases; *Chem. Eur. J.*, 2021, 27 8484-8491. Hot paper, <https://doi.org/10.1002/chem.202100546>

(Inside Front Cover: <https://doi.org/10.1002/chem.202101557> (*Chem. Eur. J.* 33/2021))

K. Kammerlander, L. Köhler, N. Huittinen, F. Bok, R. Steudtner, C. Oschatz, M. Vogel, T. Stumpf, E. Brunner; Sorption of Europium on Diatom Biosilica as Model of a "Green" Sorbent for f-Elements, *Appl. Geochem.*, 2021, 126, 104823. (<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104823>)

E. Hieckmann, K. Kammerlander, L. Köhler, L. Neumann, N. Albanis, T. Hutsch, E. Brunner; Detection and Localization of Eu on Biosilica, *Analytical Scanning Electron Microscopy*, revised and resubmitted

K. Kammerlander, H. Huittinen, M. Patzschke, J. Kretzschmar, P. Kaden, S. Paasch, T. Stumpf, E. Brunner, A spectroscopic and computational Study of trivalent f-Element Sorption onto α -Chitin and its monomers, in preparation

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 046B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.04.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 893.268,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Stumpf	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Schutzmaßnahmen der Covid-19-Pandemie haben den Laborbetrieb am HZDR während des Berichtszeitraums erneut eingeschränkt. Die beteiligten Mitarbeiter haben die Zeit genutzt, um Publikationen zu finalisieren und ihre Abschlussarbeiten zu schreiben bzw. zu verteidigen.

AP1: – bereits erfolgreich abgeschlossen –

AP2: – bereits erfolgreich abgeschlossen –

AP3: Die Komplexierungsversuche mit den neuen N-Donor-Liganden wurden erfolgreich fortgesetzt. Dafür wurden die Ergebnisse für die gesättigte Koordinationssphäre im 2:1 Komplex der vierwertigen Actinide auf offene Koordinationssphäre in den jeweiligen 1:1 Komplexen erweitert und die entstandenen Verbindungen in Lösung charakterisiert. Die Berechnungen größerer Komplexsysteme

mit natürlich vorkommenden und biologisch-inspirierten Ligandsystemen mit QM/MM Methoden wurden fortgesetzt und eine Publikation zu den Ergebnissen an Haupt- und Nebengruppenmetallkomplexen zur Publikation eingereicht.

AP4: – bereits erfolgreich abgeschlossen –

AP5: Herr Fichter tritt eine Postdoc-Position im Bereich Radioanalytik an. Herr Radoske finalisiert derzeit seine Doktorarbeit. Die Arbeiten zur Komplexbildung von Phosphonaten mit Actiniden (mit AK Weigand (TUD)) wurden ebenso wie die Arbeiten zur Komplexbildung von An(III) und Ln(III) an Biosilikaten (mit AK Brunner (TUD)) publiziert.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP2: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP3: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP4: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

AP5: Bereits erfolgreich abgeschlossen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Kloditz, R.; Radoske, T.; Schmidt, M.; Heine, T.; Stumpf, T.; Patzschke, M.: Comprehensive Bonding Analysis of Tetravalent f-Element Complexes of the Type $[M(\text{salen})_2]$, *Inorg. Chem.* 2021, 60(4), 2514-2525. DOI 10.1021/acs.inorgchem.0c03424

Taylor, C. J.; Schönberger, N.; Laníková, A.; Patzschke, M.; Drobot, B.; Žídek, L.; Lederer, F.: Investigation of the structure and dynamics of Gallium binding to high-affinity peptides elucidated by multi-scale simulation, quantum chemistry, NMR and ITC, *PhysChemChemPhys* 2021, 23(14), 8618-8632. DOI10.1039/d1cp00356a

Zhang, J.; Wenzel, M.; Schnaars, K.; Hennersdorf, F.; Schwedtmann, K.; März, J.; Rossberg, A.; Kaden, P.; Kraus, F.; Stumpf, T.; Weigand, J. J.: Coordination of Tetravalent Cerium and Actinides (An = Th(IV), U(IV), Np(IV)) by a 4-Phosphoryl 1H-Pyrazol-5-olate Ligand in Solution and the Solid State, *Dalton Trans.* 2021, 50, 3550-3558. DOI 10.1039/D1DT00365H

Kammerlander, K. K. K.; Köhler, L.; Huittinen, N. M.; Bok, F.; Steudtner, R.; Oschatz, C.; Vogel, M.; Stumpf, T.; Brunner, E.: Sorption of Europium on Diatom Biosilica as Model of a “Green” Sorbent for f-Elements, *Appl. Geochem.* 2021, 126, 104823. DOI 10.1016/j.apgeochem.2020.104823

Lyu, K.; Fichter, S.; Gu, M.; März, J.; Schmidt, M.: An updated status and trends in actinide metal-organic frameworks (An-MOFs): from synthesis to application, *Coord. Chem. Rev.* 2021, accepted

Köhler, L.; Patzschke, M.; Bateurs, S.; Vitova, T.; Butorin, S. M.; Kvashnina, K.; Schmidt, M.; März, J.; Stumpf, T.: The Inverse Trans Influence in U(IV/V) Complexes: A Comparative Study, *Chem. Eur. J.* 2021, in preparation

Köhler, L.; Patzschke, M.; Schmidt, M.; Stumpf, T.; März, J.: How 5f electron polarizability drives covalency and selectivity in actinide N-donor complexes, *Chem. Eur. J.* 2021, in preparation

Vorträge:

März, J.; Radoske, R.; Fichter, S.; Patzschke, M.; Stumpf, T.: Bonding Trends in a Series of Tetravalent Th-Pu Monosalen Complexes, *Journées des Actinides*, 22.-25.03.2021, Rennes, Frankreich

Köhler, L.; Patzschke, M.; März, J.; Schmidt, M.; Stumpf, T.: Pyrrol-Based Ligands as Salen Relatives: Complex Synthesis, Characterization and Comparison, *ACS-Spring Meeting*, 12.04.2021, USA

Dissertation:

Kloditz, R.: Quantenchemische Untersuchungen an tetravalenten f-Elementverbindungen, *Dissertation (TU Dresden)* 2021, mit “summa cum laude”.

Zuwendungsempfänger: Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig		Förderkennzeichen: 02 NUK 046C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt FENABIUM: Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen f-Elementen und organischen Ligandsystemen mit naturstoffbasierten Bindungsfunktionen in Hinblick auf eine mögliche Mobilisierung in der Umwelt, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2016 bis 31.10.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 637.671,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kersting	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Hauptziel des Projektes ist die Erweiterung des Kenntnisstandes zur Koordinationschemie von Lanthanoid- und Actinoiden gegenüber Chelatbildnern mit naturrelevanten Bindungsfunktionen. Hierbei soll insbesondere der Einfluss des Oxidationszustandes, der Ionenladung und des Ionenradius der f-Elemente 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 FENABIUM-Verbundprojektes neue, ionenselektive Liganden synthetisiert werden. Hierbei handelt es sich um Calixaren-basierte Liganden, welche mit naturnahen Bindungsfunktionen funktionalisiert werden sollen, um die Bindung der f-Elemente an naturrelevante Systeme modellhaft zu studieren. Die Bindungsfunktionen des Naturstoffes Chitosan dienen als Vorbild. Durch die Variation der Anzahl sowie Position der Substituenten am Grundgerüst kann die Bindungselektivität, Löslichkeit oder das Extraktionsverhalten systematisch untersucht werden. Die Synthese der Komplexe soll in Anlehnung an bereits literaturbekannte Verfahren zur Darstellung ähnlicher Verbindungen erfolgen. Zur umfassenden Charakterisierung dieser Verbindungen sollen verschiedene moderne Analysemethoden zum Einsatz kommen. Hierzu zählen die NMR-Spektroskopie, IR-Spektroskopie, Raman-Spektroskopie, UV/Vis-Spektroskopie, ESI-MS, pH-Potenzimetrie, Laserfluoreszenz, isotherme Titrationskalorimetrie und Spektroelektrochemie. Ein anderer wichtiger Teil des Projektes besteht in der Aufklärung der Struktur der dargestellten f-Elementkomplexe in Lösung und im Feststoff. Um Aussagen über die elektronischen Gegebenheiten, die Funktion der Strukturelemente sowie die strukturellen Besonderheiten der Zielverbindungen treffen zu können, kann auf Methoden wie Röntgenbeugung und ggf. auf die EXAFS-Spektroskopie zurückgegriffen werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Es gibt mehrere Arbeitspakete, die genauer im Aufstockungsantrag beschrieben sind. Die Arbeitsgruppe Kersting bearbeitet die Arbeitspakete 1, 3, und 5 (Synthese und Charakterisierung des Koordinationsverhaltens zweifach-funktionalisierter Schiff-Base-Calixaren-Liganden). Seit Beginn des FENABIUM-Projektes zum 1.11.2016 arbeiten M. Sc. Peter Hahn sowie ab dem 01.01.2017 M. Sc. Anne Mehnert, M. Sc. Tony Zielke und M. Sc. Jennifer Klose (assoziiert) an den skizzierten Experimenten.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die geplanten experimentellen Arbeiten wurden im Berichtszeitraum erfolgreich abgeschlossen. Es wurden Komplexe mit C_2 -Symmetrie erhalten, die sich durch spezielle optische und magnetische Eigenschaften auszeichnen, und als Chemosensoren für Alkalimetallkationen wirken können. Die hergestellten Komplexe wurden mittels Kristallstrukturanalyse, SQUID-Magnetometrie, ITC (isothermale Titrationskalorimetrie), und Infrarot-Spektroskopie umfassend untersucht. Die Lumineszenzeigenschaften von Tb^{3+} - und Eu^{3+} -Komplexen wurden mittels zeitaufgelöster Photolumineszenz-Spektroskopie in Lösung und an Pulverproben untersucht. Es gelang uns erstmals, einige der synthetisierten Lanthanoid-Komplexe mittels NMR-Spektroskopie in Lösung und im Festkörper (CP-MAS-Spektroskopie) strukturell zu charakterisieren. Bei den abschließenden Experimenten wurden auch noch einige vierkernige Peroxo-Komplexe des dreiwertigen La^{3+} erhalten, die vollständig einschließlich durch Kristallstrukturanalyse charakterisiert werden konnten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Herr M. Sc. Lennart Günzel und Herr M. Sc. Josef Taut sind seit Januar 2021 bzw. April 2021 auf dem FENABIUM Projekt tätig. Sie sollen die im Berichtszeitraum erhaltenen Ergebnisse im Zeitraum vom 1.8.21-31.10.21 publizieren.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Berichte: Im Berichtszeitraum konnten die Promotionen von Herrn M. Sc. Peter Hahn, Frau M. Sc. Anne Mehnert sowie Frau M. Sc. Jennifer Klose (als assoziierte Doktorandin) erfolgreich abgeschlossen werden. Es wurde auch noch eine Masterarbeit im FENABIUM-Projekt (Karl Georg Stegen) abgeschlossen (s. u.)

Peter Hahn, Synthese und Eigenschaften mehrkerniger Lanthanoidkomplexe auf Basis von lower-rim monofunktionalisierten Calix[4]arenen mit naturstoffnahen Bindungsfunktionen, Dissertation, Universität Leipzig, 4.12.2020 (Verteidigung: Februar 2021)

Anne Mehnert, Heterodinukleare Komplexe auf Calix[4]arenbasis zur sensitiven Detektion ausgewählter Alkalimetalle mittels Lumineszenz der Seltenerdmetalle, Dissertation, Universität Leipzig, 13.01.2021 (Verteidigung April 2021)

Jennifer Klose, Photophysikalische und magnetische Eigenschaften von Metallo-Cavitanden eines N6S2-Liganden durch Variation photochemisch aktiver Coliganden, Dissertation, Universität Leipzig, 16.02.2021 (Frau Klose war als assoziierte Doktorandin auf dem FENABIUM-Projekt tätig und hat magnetische Messungen durchgeführt, Verteidigung 28. Mai 2021)

Karl Georg Stegen, Lumineszierende Lanthanoidkomplexe auf Basis β -Ketoimin-funktionalisierter Calix[4]arene, Masterarbeit, Universität Leipzig, 9.7.2021

Publikationen:

Synthesis, Structures and Luminescence Properties of Dinuclear Nd, Eu, Tb, and Yb Complexes supported by a Pendant Picolyl-Imine Calix[4]arene Ligand. P. Hahn, S. Ullmann, A. Kahnt, B. Abel, B. Kersting, *Inorg. Chim. Acta.* 2021, 514, 119983. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119983>

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 051A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 28.02.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 886.891,00 EUR		Projektleiter: 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: Die letzten Analysen zu einer Bohrkern-Entnahme aus den Lysimetern wurden fertiggestellt. Während die Bohrkern-Proben des mit Am-243 getracerten Lysimeters oberhalb der untersten 5 cm nur Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze lieferte, zeigte sich in den Lysimetern mit I-125 und Pu-238, dass der Tracer zwar zum größten Teil im unteren Bereich der Säule vom Boden zurückgehalten wurde, ein geringer Teil jedoch bis in die oberflächennahen Schichten migriert war. Im Tc-99-Lysimeter war der Tracer über die gesamte Tiefe der Bodensäule verteilt, wobei ca. 22 % der zugegebenen Tracermenge in den obersten 12 cm gefunden wurden.

- AP4: Die Expression verschiedener Transporter in der für das Projekt relevanten Pflanzen wurde zuvor mittels PCR nachgewiesen. Die Transporter AtGLR3.7, AtPHT1.4, AtIRT1 und AtNRT1.1 wurden kloniert. Für die funktionelle Analyse wurden AtPHT1.4 und AtGLR3.7 in *Xenopus* Oozyten exprimiert und mittels der Elektrophysiologie der Ionentransport untersucht. Anhand der elektrophysiologischen Daten ist möglich, dass der Ca^{2+} -Transporter GLR3 Kation-Nuklide wie Curium oder Americium transportiert.
- Um die Quantifizierung der exprimierten Transporter-Moleküle zu bewerten, wurden Western Blot Experimenten durchgeführt. Aufgrund unspezifischer Bindungen der Antikörper, konnten jedoch keine aussagekräftigen Resultate erzielt werden.
- AP5: Die Ergebnisse aus allen Versuchsreihen wurden zusammengeführt und abschließend ausgewertet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Keine.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Linus Holtmann: Bestimmung endlagerrelevanter Radionuklide in Pflanzenteilen mittels orts aufgelöster Massenspektrometrie (Masterarbeit)

Artur Brittner: Mobilitäts- und Sorptionsverhalten von Plutonium in deutschen Referenzböden (Masterarbeit)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 051B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 28.02.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 28.02.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 520.337,00 EUR	Projektleiter: 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 Bioassoziation von U(VI) an *Brassica napus* Zellen wurde mittels Röntgenabsorptionsspektroskopie an der Rossendorf Beamline (ROBL) an der ESRF in Grenoble untersucht. Der Oxidationszustand von bioassoziiertem U wurde mittels HERFD-XANES (High-energy-resolution fluorescence detection-X-ray absorption near edge structure spectroscopy) bestimmt. In Abhängigkeit von der U-Konzentration kommt es zu einer U(VI)-Reduktion in Gegenwart der Pflanzenzellen, infolge dieser konnten sowohl U(V) als auch U(IV) nachgewiesen werden. EXAFS (Extended X-ray absorption fine structure spectroscopy)-Untersuchungen belegen eine Anbindung des U an die Zellen über phosphatische Bindungsmotive.

Eine neue Anreicherungsmethode für niedermolekulare organische Säuren wurde eingeführt und für Zellkulturmedien U-exponierter *B. napus*-Suspensionszellkulturen angewendet.

In Hydrokulturlösungen Eu(III)-exponierter Rapspflanzen wurden zwei Eu(III)-Spezies mittels Lumineszenzspektroskopie nachgewiesen. Unterschiede in den 7F_0 -Anregungsspektren lassen auf eine Än-

derung der Eu(III)-Speziation zwischen 0 und 72 h Exposition schließen. In einer Eu(III)-exponierten Rapswurzel konnten drei Eu(III)-Spezies anhand ihrer Lumineszenzlebensdauer detektiert werden.

AP2: Proteinprofile U(VI)-exponierter *Nicotiana tabacum* Zellen (BY-2; 10 μ M U(VI)) wurden charakterisiert. Ziel war es U-induzierte Veränderungen in Proteinen, die für Endozytose, vesikulären Transport, Ionen- und Xenobiotikatransport sowie die Exsudation organischer Säuren und die Produktion von Antioxidantien verantwortlich sind, zu identifizieren. Basierend auf diesen Analysen wurde der Entwurf eines Manuskripts mit dem Titel „Endocytosis is a means of uranium(VI) uptake in tobacco (*Nicotiana tabacum*) BY-2 cells“ erarbeitet.

AP4: Eine Methode zur Präparation von U(VI)-exponierten BY-2-Zellen für die Transmissionselektronenmikroskopie wurde etabliert. U-Präzipitatbildungen in Vakuolen und U-Sorption an Zellwand und Plasmamembran von BY-2-Zellen wurden beobachtet.

Im Verlauf der zweiten Lysimeter-Beprobung der Universität Jena, wurden wiederholt Refesol-Bodenproben entnommen, die dem HZDR für die Bestimmung der mikrobiellen Diversität zur Verfügung standen. Die DNA der insgesamt 9 Festproben konnte erfolgreich isoliert, vervielfältigt und durch die Firma RTL Genomics (Texas, USA) sequenziert werden. Die 9 Refesol-Proben zeigen jeweils eine hohe mikrobielle Diversität, wobei sich in jeder der 9 Proben auch ein großer Anteil noch unbekannter Mikroorganismen befand, deren metabolisches Potential unbekannt ist. Daher können an dieser Stelle keine Rückschlüsse auf die Entwicklung geochemischer Parameter im Lysimeter gezogen werden. Unter den identifizierten Mikroorganismen finden sich „typische“ Boden-Organismen, die metabolisch sehr divers sind (z. B. *Clostridium*, *Bacillus* und *Bradyrhizobium*). Des Weiteren konnten auch Spezialisten identifiziert werden, wie z. B. *Cytophaga spec.*, welcher Cellulose verwerten kann sowie *Thiobacillus spec.*, welcher in der Lage ist, CO₂ zu fixieren und Schwefel und/oder Thiosulfat als Elektronen-Quelle nutzt. Diese zwei letztgenannten Vertreter könnten die Geochemie im Lysimeter signifikant durch ihren Stoffwechsel beeinflussen. Darüber hinaus wurde aus Refesol-Bodenproben aus den Lysimetern der Uni Hannover erfolgreich DNA isoliert, vervielfältigt und durch RTL Genomics sequenziert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Projektergebnisse werden in weiteren Journalpublikationen und im Abschlussbericht zusammengefasst.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Rajabi, F., Jessat, J., Garimella, J. N., Bok, F., Steudtner, R., Stumpf, T., Sachs, S.: Uranium(VI) toxicity in tobacco BY-2 cell suspension culture – A physiological study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 211 (2021) 111883, doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111883

Moll, H., Schmidt, M., Sachs, S.: Curium(III) and europium(III) as luminescence probes for plant cell (*Brassica napus*) interactions with potentially toxic metals. *J. Hazard. Mat.* 412 (2021) 125251, doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125251

Jessat, J., Sachs, S., Moll, H., John, W., Steudtner, R., Hübner, R., Bok, F., Stumpf, T.: Bioassociation of U(VI) and Eu(III) by *Brassica napus* suspension cell cultures – A spectroscopic investigation. *Environ. Sci. Technol.* (2021) 55: 6718-6728, doi.org/10.1021/acs.est.0c05881

Bilke, Marie-Louise: Studien zu Aufnahmemechanismen von Europium(III) und Uran(VI) in Pflanzenzellen. Technische Universität Dresden, 2021 (Bachelorarbeit)

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Schiller-Universität Jena, Fürstengraben 1, 07743 Jena		Förderkennzeichen: 02 NUK 051C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 28.02.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 508.416,00 EUR		Projektleiter: 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
- AP1.1.2a: 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: Das Arbeitspaket wurde zum Ende des Projekts in der Zeitplanung abgeschlossen und letzte Messungen zur mineralogischen Zusammensetzung mittels XRD und der spezifischen Oberfläche mittels N₂-BET durchgeführt.
- AP2: Status: Die numerischen Arbeiten zur Implementierung der Saugspannung und Spezieskonzentration wurden abgeschlossen und sind in den numerischen Simulationen des Injektionsexperimentes für alle vier RefeSol Böden (01A, 02A, 03G und 04A) berücksichtigt. Weitere Modellierungsansätze (z. B. doppelte Porositätsmodell) und die Einbeziehung von Hysterese-Effekten sowie Transport reaktiver Transport werden in den numerischen Simulationen des Abschlussberichts gegenübergestellt.
- AP3: Status: Die Konzentrationen der in die Laborlysimeter injizierten Zielelemente respektive Durchbruchkurven wurden durch weitere Probenahmen überwacht. 284 Tage nach Beginn der Tracerzugabe erfolgte die letzte Porenwasserprobenahme mit anschließender Bodenkernentnahme. Die Verarbeitung erfolgte laut Punkt 4 AP3 des vergangenen Berichtszeitraumes, wobei Ergebnisse und Diskussion im folgenden Abschlussbericht formuliert werden. Die Kernentnahme war im Sinne des entwickelten Doppelrohrsystems erfolgreich und die etablierten vier Laborlysimeter werden auch nach Abschluss des Projektes in der Klimakammer vorerst weiter unterhalten und das Monitoring betrieben.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Abgeschlossen.
- AP2: Abgeschlossen.
- AP3: Methodik, Ergebnisse der Experimente und Diskussion der Daten werden im Abschlussbericht dokumentiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Lellau, R., 2021: Influence of redox gradient, pH and conductivity on natural colloids: nanoparticle tracking analysis (NTA) and in-situ/ex-situ pore water analyses in mesoscale lysimeter experiments. Project Module, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Zuwendungsempfänger: Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 051D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 28.02.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 278.664,00 EUR		Projektleiter: Prof. Dr. Günther

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 wurden für die Projektpartner am IRS Hannover Speziationsrechnungen zu den Lysimeterversuchen durchgeführt. Alle entwickelten Modelle wurden noch einmal überprüft.

4. Geplante Weiterarbeiten

Finalisierung des Projektberichts.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Es wurde ein Fachartikel veröffentlicht:

Hormann, V. A consistent model for estimating the partitioning of Am, Pu and Se in agricultural soils, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 329(2), 769-784.

Zuwendungsempfänger: Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 051E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt TRANS-LARA: Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2017 bis 28.02.2021		Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 28.02.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 387.384,00 EUR		Projektleiter: 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 Klima-Zustände (ECOLEGO) ausgehend aus den Ergebnissen FSU-AnGeo

- AP2.5.2a: Bewertung der Ergebnisse, Unsicherheitsanalyse der RN-Konzentrationen und BDCF (ECOLEGO)
- AP4.4: Entwicklung eines verbesserten Kompartimentmodells für den Transfer Boden-Pflanze in ECOLEGO mit Konzepten und gemessenen Parametern des laufenden Projektes (ECOLEGO)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Die Arbeiten zu AP1.1.2b/AP1.2.1/AP1.3.1/AP1.3.2/AP1.4.1 sind abgeschlossen.
- AP1.5.1: Dient dem Austausch der Projektpartner. Es finden Absprachen zum Stand und zur Interpretation der Ergebnisse im Abschlussbericht statt.
- AP2.1.2: Der Aufbau der Datenbank im Ecolego-Model wird zur Ergebnisdarstellung im Abschlussbericht fortgesetzt. Die Datenbank wird über die Vorhabenzeit hinaus gepflegt.
- AP2.4.1b: Ist abgeschlossen. Die Kooperation FS-AnGeo/ÖI wird im AP2.5.2b fortgesetzt.
- AP2.5.2b: Der Benchmark mit Transportmodell in IcP (FSU-AnGeo), im Hinblick auf die großskalige Darstellung (Aufskalierung) mit der 1-D Konvektions-Dispersions-Gleichung (Richards-Gleichung, Raumdiskretisierung mit Finite Volumen Methode) sowie die Rand- und Anfangsbedingungen wurde abgeschlossen. Der Aufbau des Phreeqc-Modells des UB-IUP und die damit neulich ermittelten K_d -Werte und Abhängigkeiten (smart- K_d) wurden mit den experimentellen Werten validiert, Die K_d -Werte wurden in den ECOLEGO-Ansatz in Form von look-up-tables implementiert. Die Bewertung des Einflusses der unterschiedlichen Parametrisierung sowie der Vereinfachung der Darstellung der Retentionskurve (FS-AnGeo/Öko-Institut) wurde abgeschlossen. Die grundsätzliche Machbarkeit der „Monte-Carlo“ Analyse im ECOLEGO-Transportmodell konnte gezeigt werden, es ist allerdings offen, welchen Stellenwert die „Monte-Carlo“ Analyse in der aktuellen Phase der Modelentwicklung haben kann.
- AP4.4: Der konzeptuelle Ansatz zum Kompartimentmodell der pflanzlichen Systeme in ECOLEGO wurde ausgebaut. Die Implementierung des Radionuklidtransfers im Wurzel-Boden-Bereich wurde im Wesentlichen abgeschlossen, es erfolgt eine Validierungsphase des Modells.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.5.1: Weitere Online-Meetings zur Absprache mit Projektpartnern nach Bedarf.
- AP4.4: Fortsetzung Validierung Modellteil Wurzel-Boden in ECOLEGO, Austausch mit LUH-IRS. LUH-IfB und HZDR-IRE zu deren Experimentaufbau und -ergebnissen im Rahmen der finalen Berichterstattung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 053A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 631.302,00 EUR	Projektleiter: 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: Weiterführung der Untersuchungen zur Sorption von ^{226}Ra an Opalinuston als Funktion des Mineralbestands und der initialen Aktivitätskonzentration an ^{226}Ra . Auswertung von HTO-Durchdiffusionsexperimenten zur Ermittlung effektiver Diffusionskoeffizienten und der diffusionswirksamen Porosität der sandigen OPA-Fazies. Die initialen Ergebnisse und der Vergleich mit Literaturdaten lassen darauf schließen, dass der effektive Diffusionskoeffizient der sandigen Opalinustonzfazies nur ca. einen Faktor 2 größer ist, als derjenige der tonigen Opalinustonzfazies. Fertigstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des Diffusionsverhaltens von ^{226}Ra in ausgewählten Proben aus dem sandigen Opalinuston.
- AP2: Abschluss der Planungsarbeiten zu den Diffusionsexperimenten DR-C ("Diffusion in a thermal gradient") und DR-D ("Heterogeneity of sandy facies by geophysical characterization and diffusion studies"). Abstimmung mit den Experiment-Partnern über Probenahmestrategien und zu experimentellen Untersuchungen an den gewonnenen Bohrkernen. Teilnahme am halbjährlichen Treffen zum Modellierungstask im Rahmen des CI-D Experiments ("Diffusion across 10-year old concrete/claystone interface") inkl. Vorstellung des für die Simulationen des Tracertransports durch die Grenzfläche Beton/Opalinuston vorgesehenen Hybridmodells.
- AP3: Durchführung von Modellierungsarbeiten mit dem reaktiven Stofftransportmodell iCP (Kopplung COMSOL Multiphysics – PhreeqC) zur Evaluierung des Einflusses mineralogischer und struktureller Heterogenitäten der sandigen Opalinustransports auf den Transport von sorbierenden und nicht-sorbierenden Tracern unter Berücksichtigung verschiedener geometrischer Konfigurationen; Weiterentwicklung von Modellansätzen zum Einfluss der Wassersättigung auf den reaktiven Stofftransport in partiell wassergesättigten nanoskaligen porösen Medien auf dem Porenmaßstab; Entwicklung eines hybriden reaktiven Stofftransportmodells durch Kopplung von OpenGeoSys (Kontinuums-Maßstab) mit einem Transportmodell auf dem Porenmaßstab auf Basis der Lattice-Boltzmann-Methodik (in Kooperation mit UFZ).
- AP4: Abstimmung und Diskussion mit den iCross-Partnern bzgl. der koordinierten und kohärenten "Proof-of-concept" Studien zu den Themen "Radionuclide and gas transport across an evolving near field" und "Heterogeneity across scales".

4. Geplante Weiterarbeiten

Im 2. Halbjahr 2021 sollen im Rahmen des AP1 die "in-diffusion" Experimente mit ^{226}Ra gestartet werden. In AP2 sind die Durchführung geochemisch-mineralogischer Untersuchungen an den im Rahmen der Experimente DR-C und DR-D gewonnenen Bohrkernen inkl. der Evaluierung der Bohrlochlogs sowie die Fortführung der Arbeiten zum Modellierungstask im Rahmen des CI-D Experiments vorgesehen. Im Rahmen von AP3 ist die Weiterführung der Arbeiten zur Integration realitätsnäherer Prozesskopplungen in reaktive Stofftransportmodelle und zur Simulation des ^{226}Ra Transport in (makroskopisch und mikroskopisch) heterogenem sandigen Opalinuston sowie die Durchführung von Stofftransportsimulationen auf dem Kontinuums- und Porenmaßstab zur Untersuchung repräsentativer Elementarvolumina (REV) und der Anisotropie des sandigen Opalinustons geplant. Des Weiteren sollen die Arbeiten zu den Benchmarkstudien und den "Proof-of-concept" Studien fortgeführt werden (AP4).

5. Berichte, Veröffentlichungen

1 Tagungsbeitrag (Interpore Conference)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V.; Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 053B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 502.109,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Stumpf	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Vorhaben gliedert sich in folgende Arbeitspakete:

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Durchführung von örtlich aufgelösten Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und μ TRLFS-Messungen zur Sorption von Eu(III) und Cm(III) an Orthoklaseinkristallen und kristallinen Dünnschliffen (Granit (Eibenstock, Sachsen)), migmatisierten Gneis (Bukov, Tschechische Republik), granitischen Pegmatit (Onkalo, Finland) und Granodiorit (Grimsel, Schweiz).

Segmentierung von FIB-SEM-Tomografiedaten und Rekonstruktion von Porennetzwerkmodellen im OPA-SF. Bereitstellung erster segmentierter Geometrien für numerische Transportanalyse. Auswertung von Porosimetriedaten diagenetisch unterschiedlicher OPA-SF-Typen. Generalisierung und Kombination dieser Datensätze mit FIB-SEM-Datensätzen. Durchführung von Langzeit-Diffusionsexperimenten und Fließfeldanalytik mit GeoPET. Auswertung von Fließfelddaten bzgl. diagenetisch bedingter Diffusionskontraste, Berechnung von unterschiedlichen effektiven Diffusivitäten zur Modellparametrisierung.

AP3: Publikation zur Simulation des diffusiven Transports auf der nm- und μm -Skala zur Analyse der effektiven Diffusivität unter Berücksichtigung von Lamination und Zementation, basierend auf Ansätzen zur „digital rock geometry“. Numerische Untersuchungen zum repräsentativen Elementarvolumen (REV) der Diffusivität in OPA-SF (gemeinsam mit FZJ).

Weitere Berechnung von Aktivierungsenergien für $\text{Eu}(\text{OH})_3$ Adsorption für ausgewählte Oberflächenkonfigurationen des Modellsystems Muskovit zur Verwendung bei kinetic Monte Carlo (kMC)-Simulation der Adsorption. Vergleich und Auswertung der neuparametrisierten kMC-Modelle zur Sorption. Umfangreiche Datenvalidierung für das Update der thermodynamischen Datenbasis zur Verwendung in OGS-6 Transportsimulationen. Ableiten neuer Oberflächenkomplexierungskonstanten ($\log K^0$ -Werte) aus experimentellen Batchsorptionstudien für ausgewählte Sorptionssysteme (U(VI) an Montmorillonit bzw. Ac(III) an K-Feldspat).

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Vergleich der Cm(III)-Sorption auf den Orthoklaseinkristallen und den o. g. kristallinen Dünnschliffen bei verschiedenen pH-Werten zur Analyse von Sorptionsmenge und -mechanismus mittels Interferometrie-, Autoradiografie-, Raman- und μTRLFS -Messungen.

Abschluss der Arbeiten zu einem generalisierten Porennetzwerkmodell zur verallgemeinerungsfähigen Verwendung bei Transportsimulationen.

Abschluss der PET-Experimente, Auswertung der Fließfeldexperimente mit generellen Schlussfolgerungen zur Transportheterogenität in der sandigen Fazies.

AP3: Abschluss der Parametrisierung eines Transportmodelles auf Basis des in AP1 segmentierten Porennetzwerks von OPA-SF. Validierung mit experimentellen Daten.

Regelmäßige Arbeitstreffen mit Partnern an FZJ und UFZ zur Weiterentwicklung skalenübergreifender Transportmodelle.

Vergleichende Benchmark-Rechnungen mit OGS-6 und anderen Transportcodes (d^3f++ , GRS Braunschweig) zur abschließenden Validierung des smart K_d -Konzeptes sowie Mithilfe bei Erstellung des Benchmark-Buches. Weiterentwicklung der konzeptuellen Modelle sowie neuer Ansätze (z. B. Surrogate Funktionen, Machine learning) gemeinsam mit GFZ.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Yuan, T.; Fischer, C.: Effective diffusivity prediction of radionuclides in clay formations using an integrated upscaling workflow. *Transport in Porous Media* (2021) 138 (2), 245

4 Vorträge: 2. Tage der Standortauswahl, Virtual conference, 11. – 12.02.2021

2 Vorträge: EGU General Assembly, Virtual conference, 19. – 30.04.2021

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 053C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 540.067,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Geckeis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Charakterisierung der Mineralogie von ausgewählten Teilbereichen (1 cm³) der sandigen Fazies des Opalinuston (BMB-A7) mittels SEM-EDX, XRD + Rietveld, TIC/TOC und Kationenaustauschkapazitätsbestimmung mittels Cu-trien. Durchführung von Batch-Sorptionsversuche mit ¹³⁷Cs, ⁶⁰Co und ¹⁵²Eu an BMB-A7 Proben und Modellierung der Ergebnisse mit PhreeqC. Präparation und Aufarbeitung der Bohrkern BDR-D1&2 (sandige Fazies OPA). Tests von Sorptionsversuchen an OPA Oberflächen und Detektion via Autoradiographie. Bau von Diffusionszellen für REV-Diffusionsexperimente und Filterdiffusionsversuch. Entwicklung eines Comsol-Modells zur Modellierung der Diffusion durch heterogenes Gestein. Konzentrationsprofilermittlung von ²³³U(VI) und ²⁴³Am(III) mittels AMS nach 240 d Diffusion in Opalinustonproben (tonige Fazies). Ein für U(VI)-typisches Diffusionsprofil konnte bis $\approx 10^{-9}$ mol ²³³U(VI) / (m³ Ton) und einer Tie-

fe von 8,6 mm bestimmt werden. $^{243}\text{Am(III)}$ zeigte ein zweiteiliges Profil mit unerwartet hohen Konzentrationen von $> 10^{-6} \text{ mol/m}^3$ für Tiefen von 0,8–3,7 mm („Schnellläufer“). Start des Diffusionsexperiments über die Magnetit-Na(Bentonit)-Grenzfläche.

- AP2: DR-C: Verschiebung der Arbeiten auf das 3. Quartal wegen Covid-19. DR-D: Bohrung und Charakterisierung der beiden Seismikbohrlöcher, Abholung der Tonbohrproben im Mai 2020, Übergabe von Tonproben ans HZDR. IC-A: Zwei weitere Korrosionsproben (Stahl und Kupfer) wurden eingebettet und Querschnitte hergestellt. Sie wurden mittels SEM-EDX, XPS, optischem Mikroskop und $\mu\text{-XAS}$ (XRF + XANES: Cu-K Edge, Fe-K Edge, S-K Edge) charakterisiert.
- AP3: Vorbereitung einer Veröffentlichung zum Reaktiven-Transport bei der Kanister-Bentonit-Wechselwirkung über 10.000 Jahre. Durchführung von Simulationen von Diffusionsexperimenten.
- AP4: AP4-Arbeitstreffen sowie Begleitung des Arbeitstreffens im AP1. Planung von Anschlussmöglichkeiten für das iCross Projekt. Planung der Integration der Forschungsergebnisse aus AP1 + AP2 in numerischen Modellen zum Radionuklidtransport (AP3).

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Charakterisierung von Teilbereichen der BDR-D1&2 und Sorptionsversuche mit ^{137}Cs , ^{60}Co und ^{152}Eu . Fortführung der Oberflächensorptionsversuche und Detektion mit Autoradiographie. Durchführung des REV-Diffusionsexperiments und der Filterdiffusionsversuche. Durchführung von Diffusionsversuchen mit $^{233}\text{U(VI)}$ und $^{243}\text{Am(III)}$ bei zwei Größenordnungen niedrigeren initialen Tracerkonzentrationen.
- AP2: DR-C: Bohrkernabholung im August 2021, Präparation und Übergabe von Teilproben an FZJ und Beginn der Charakterisierung.
- AP3: Reaktive-Transport-Modellierung von Experimenten im Untergrundlabor.
- AP4: Durchführung weiterer Projekttreffen, insbesondere das Jahrestreffens am KIT, in Verbindung mit dem internationalen TransRet Workshop. Beginn der Zusammenführung der Ergebnisse.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Klose, T., Chaparro, M.C., Schilling, F. Christoph Butscher and Philipp Blum (2021): Fluid Flow Simulations of a Large-Scale Borehole Leakage Experiment, *Transport in Porous Media*, <https://doi.org/10.1007/s11242-020-01504-y>
- Dávila, G., Cama, J., Chaparro, M. C., Lothenbach, B., Schmitt, D. R. and Soler, J. M. (2021): Interaction between CO_2 -rich acidic water, hydrated Portland cement and sedimentary rocks: Column experiments and reactive transport modelling, *Chemical Geology*, 572, 120122
- Fernández-Rojo, L., Soler, J. M., Dávila, G., Chaparro, M. C., Queralt, I. and Cama, J. (2021): Flow and reaction along the interface between hydrated Portland cement and calcareous rocks during CO_2 injection. Laboratory experiments and modelling, *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 108, 103331
- Ait-Mouheb, N., Joseph, C., Schäfer, T., Montoya, V. (2021): Multi-method approach for studying HTO and $^{36}\text{Cl}^-$ migration through “low-pH” cement pastes and mortars, *Cement and Concrete Research*, under review
- F. Heberling, T. Klačić, P. Raiteri, J. D. Gale, P. J. Eng, J. E. Stubbs, T. Gil-Díaz, T. Begović, J. Lützenkirchen (2021): Structure and surface complexation at the calcite(104)-water interface, *ES&T* (accepted)
- N. Morelová, D. Schild, F. Heberling, N. Finck, K. Dardenne, V. Metz, H. Geckeis (2021): Anaerobic corrosion of carbon steel in compacted bentonite exposed to natural Opalinus clay porewater: Bentonite alteration study. Goldschmidt Conference 2021, Lyon, France (Poster/Flash-Talk, online)
- F. Heberling, T. Gil-Díaz, J. Lützenkirchen (2021): Surface complexation models for heterogeneous and uneven surfaces – the charge regulation concept applied to simple 2D geometries, Goldschmidt Conference 2021, Lyon, France (Poster/Flash-Talk, online)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Potsdam Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Telegrafenberg, 14473 Potsdam		Förderkennzeichen: 02 NUK 053D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalen- übergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.279.364,00 EUR	Projektleiter: 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

Aufgabe 1.4: Temperatureffekte auf geomechanische Prozesse:

Zur Charakterisierung der hydraulischen Transmissivität sowie des Reibungsverhaltens von künstlich erzeugten Rissflächen an getrockneten Proben der sandigen sowie tonigen Fazies des Opalinustons wurden weitere Tests durchgeführt. Die Risstransmissivität zeigte eine nicht lineare Abnahme durch schrittweise Erhöhung der Normalspannung sowie eine irreversible Reduktion nach anschließender Entlastung um ca. eine Größenordnung. Die Transmissivität der tonigen Fazies ($2.5 \cdot 10^{-18} \text{ m}^3$) lag bei gleicher Versuchsdurchführung um ca. eine Größenordnung niedriger als die der sandigen Fazies ($2 \cdot 10^{-17} \text{ m}^3$). Die Reibungsexperimente zeigten eine abnehmende Deformationslokalisierung in der künstlichen Scherzone mit steigender Mantelspannung, die durch nichtlineare Verfestigung gekennzeichnet ist. Die Deformation der sandigen Fazies ist durch eine höhere Reibungsfestigkeit ($\mu \sim 0,5$) im Vergleich zur tonigen Fazies ($\mu \sim 0,4$) charakterisiert sowie durch das Auftreten akustischer Emissionen, deren Anzahl mit zunehmender Mantelspannung sinkt.

Aufgabe 2.5: Seismische Erkundung, Charakterisierung und Überwachung:

Die seismischen Wiederholungs- und Verdichtungsmessungen in Mont Terri wurden ausgewertet und konnten die Ergebnisse der Pilotmessungen reproduzieren und präzisieren. Unter Verwendung aller nun verfügbaren Quell-Empfänger-Kombinationen konnte die Anisotropie in der tonigen Fazies robust bestimmt werden, während in der karbonatreichen sandigen Fazies weiterhin die Azimutüberdeckung in der schnellen Richtung dominiert. Der verdichtete Datensatz wurde mit einer tomographischen Inversion analysiert. Ein Schwerpunkt lag dabei auf der Hauptstörung. Die Datenauswertung zeigte, dass eine Charakterisierung dieser Störung im Hinblick auf die seismische Geschwindigkeit innerhalb der Störung möglich ist. Im Juni 2021 wurde eine Messkampagne zur großräumigen Umfelderkundung in Mont Terri durchgeführt. Dabei wurde in der Sicherheitsgalerie ein 400 m langes Profil - von der Staffelegg Formation bis in die Passwang Formation hinein - reflexionsseismisch mit Scherwellen vermessen.

Aufgabe 4.3: Koordination der Experimente in Untertagelaboren:

Neben der kontinuierlichen Fortentwicklung der Experimente, an denen das iCross-Projekt beteiligt ist, wurden weitere Partnerschaften mit anderen Experimenten geplant und umgesetzt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aufgabe 1.4: Weitere Auswertung der akustischen sowie mechanischen Daten der Reibungs- und Durchströmungsexperimente und mikrostrukturelle Auswertung der Deformationsprozesse auf der Rissoberfläche

Aufgabe 2.5: Abschluss der Reflexionsauswertung der Verdichtungs-/Wiederholungsmessung und Auswertung der reflexionsseismischen Messung in der Sicherheitsgalerie

Aufgabe 4.3: Umsetzung der geplanten Experimente der kommenden Entwicklungsphase, die am 1. Juli 2021 im Untergrundlabor Mont Terri beginnt. Insbesondere werden ein neues Diffusionsexperiment und eine Bohrkampagne im Rahmen der hydrogeologischen Untersuchungen unter Leitung des iCross-Projektes umgesetzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Schuster, V., Rybacki, E., Bonnelye, A., Herrmann, J., Schleicher, A.M. & Dresen, G. (2021): Experimental Deformation of Opalinus Clay at Elevated Temperature and Pressure Conditions: Mechanical Properties and the Influence of Rock Fabric. *Rock Mech Rock Eng.* <https://doi.org/10.1007/s00603-021-02474-3>

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig		Förderkennzeichen: 02 NUK 053E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2018 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 740.139,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Kolditz	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Gesamtvorhaben ist in vier interagierende Arbeitspakete strukturiert:

Laborversuche (WP1),

Experimente in Untertagelaboren (WP2),

Modellierung und Simulation für Prozess- und Systemanalyse (WP3) sowie

Integration/Synthese der Arbeiten und Ergebnisse (WP4).

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

WP1: Mikrobiologie

- Experimente zur mikrobiellen Korrosion von Stahl durch das methanogene Archäon IM1-8 (Tamisier et al., 2021)
- Durchführung von Korrosionsexperimenten mit Gusseisen mit Kugelgraphiteinschlüssen (Sphäroguss), Untersuchungen von Struktur und Zusammensetzung der gebildeten Korrosionskruste mittels Heliumionenmikroskopie, energie-dispersiver Röntgenspektroskopie sowie Mikro-Raman-Spektroskopie (ähnliche Methodik wie bei Stahl)
- Weitere Arbeiten: zeitlich aufgelöste Experimente für Korrosionsdynamik; Experimente mit Titan und Nickellegierungen (alternativen, korrosionsresistenteren Containermaterialien); Korrosionsexperimente auch mit sulfatreduzierenden Bakterien (*Desulfovibrio corrodens/ferrophilus*)

WP3-AP1: Mehrphasen-Mechanik (TH2M)

- Einreichung des Manuskripts für das neue OGS-TH2M Modell und Weiterentwicklung der Benchmark-Serie für die Verifizierung (Grunwald et al. 2021)

- Einsatz des TH2M Modells in verschiedenen Anwendungsstudien (BenVaSim, EURAD-GAS, DECOVALEX) zur weiteren Testung der Robustheit des neuen Modells
- Entwicklung einer Modellkette für TH2M Prozesse in Ton Barrieren (nach Paul Marschall)

WP3-AP2: Reaktive Transportprozesse (RTP)

- Benchmark zur Migration stark sorbierender Radionuklide in Tongestein (Águila et al. 2021)
- Entwicklung einer neuen numerischen Methode für die reaktive Transportmodellierung mit Testbeispielen von iCROSS Experimenten (Lu et al. 2021); RTP Benchmarksammlung (Weiterführung)

WP3-AP3: Unsicherheitsanalyse

- Anwendung der TH(M)-Modelle für ungesättigte Bedingungen (basierend auf Richards-Gleichung) in OpenGeoSys-6 auf 2D und 3D Modelle des FE-Experiment im URL Mt. Terri (Buchwald et al., 2021a)
- Studie zur Unsicherheitsanalyse mit den o. g. genannten Modellen basierend auf experimentellen Daten des FE-Experiments im URL Mt. Terri
- Weiterentwicklung der der Python-OGS-Schnittstelle ogs6py und des Tools VTUinterface zur vereinfachten Analyse von Simulationsdaten mit Python (Buchwald et al. 2021b)

WP4: Networking und Synthese

- Präsentationen auf Konferenzen: Tage der Standortauswahl (11-12.02.2021, OpenGeoSys-Postersession); INTERPORE (01-02.02.2021, 01.06.2021); EURAD Annual Meetings (ACED, DONUT, GAS, HITEC), General Assembly (16.03.2021); EGU General Assembly (19.-30.04.2021); DECOVALEX (26-30.04.2021), ESM-DKK (14-15.06.2021)
- Weiterbildung: OGS RTP Trainingkurs auf der Goldschmidt-Konferenz (29-30.06.2021)
- VR-Task zur Virtuellen Realität des Untertagelabors Mt. Terri in Zusammenarbeit mit swisstopo

4. Geplante Weiterarbeiten

WP1: "Weiterführende Analysen der Struktur und chemischen Zusammensetzung der durch das methanogene Archäon IM1-8 gebildeten Korrosionskrusten an Nichteisenmetallen (Ti, Ni); Korrosionsexperimente mit sulfat-reduzierenden Bakterien an verschiedenen, für das Endlager relevanten Containermaterialien

WP3-AP1: Anwendungen des TH2M Modells für die Auswertung laufender EURAD Experimente (GAS, HITEC) für verschiedene Tongesteine (Opalinus, Callovo-Oxfordian, Boom clays)

WP2-AP2: Entwicklung einer Modellierungskette für Radionuklidtransport in Multi-Barrieren

WP3-AP3: Anwendung des DoE-Workflows auf das FE-Experiment im URL Mt. Terri; Übertragung des UQ-Konzepts auf Phasensfeldmodelle als Proof-of-Concept zur Demonstration der Bestimmung des Risikos zur Rissbildung aufgrund von Parameterunsicherheiten

WP4: Networking mit den EURAD und DECOVALEX Projekten: Benchmarking und Nutzung der experimentellen Ergebnisse des EU Projekts. Beteiligung an Phase 27 des Mt. Terri Projekts (mehrere Tasks); Aufbau einer Modellkette für den Radionuklid-Transport in der Multi-Barriere (Proof-of-Concept)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Águila et al. (2021): Modeling cesium migration through Opalinus clay: a benchmark for single- and multi-species sorption-diffusion models. *Comput. Geosci.* (in print)

Buchwald et al. (2021): Improved predictions of thermal fluid pressurization in hydro-thermal models based on consistent incorporation of thermo-mechanical effects in anisotropic porous media. *Int. J. Heat Mass Transf.* 172, art. 121127

Buchwald et al. (2021): ogs6py and VTU interface: streamlining OpenGeoSys workflows in Python. *JOSS* (pre-review)

Grunwald et al. (2021): Non-isothermal two-phase flow in deformable porous media: Systematic open-source implementation and verification procedure. *Geomech. Geophys. Geo-energ. Geo-resour.* (in review)

Lu et al. (2021): A consistent integration-point collocation scheme for reactive transport modeling with the operator splitting approach. *Computers and Geosciences* (in review)

Tamisier et al. (2021): Iron corrosion by methanogenic archaea characterized by stable isotope effects and crust mineralogy. *Env. Microbiol.* (early view), doi: 10.1111/1462-2920.15658

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 056A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 328.412,00 EUR	Projektleiter: Dr. Heberling	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Beim Einbau von Radionukliden in Mischkristalle steht das gesamte Mineralvolumen zur Radionuklidrückhaltung zur Verfügung. Dieser Prozess hat somit gegenüber der reinen Adsorption an Mineraloberflächen ein erhebliches höheres Potential, Radionuklide im einschlusswirksamen Gebirgsbereich zu immobilisieren. Die Mischkristallbildung wird in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt. Dies liegt daran, dass entsprechende Modellparameter, welche die Mischungsthermodynamik und insbesondere auch die Bildungskinetik von Mischkristallen beschreiben, bisher nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind. In KRIMI werden am KIT grundlegende Untersuchungen zur Bildungskinetik und Thermodynamik des Radionuklideinbaus in die Mineralphasen Baryt und Calcit durchgeführt, mit dem Ziel die Quantifizierung der Radionuklidrückhaltung durch Einbau in diese Mineralphasen für ausgewählte Radionuklide zuverlässig mit mechanistischen Modellen zu ermöglichen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau in- und zur Rekristallisationskinetik von Baryt und Calcit
- AP2: Modellierung und Simulation. Mit Molekular-Dynamik und Density Functional Theory Simulationen werden die Grundlagen für Mischungsthermodynamik und Rekristallisationskinetik erarbeitet
- AP3: (Natürliche Analoga, keine eigenständigen Beiträge von KIT-INE geplant)
- AP4: Projektkoordination

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden von KIT-INE in KRIMI die folgenden Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Zahlreiche Experimente zur Umwandlung von Baryt (BaSO_4) in Witherit (BaCO_3) durch Rekristallisationsprozesse in Anwesenheit von Carbonat wurden durchgeführt. Verschiedene natürliche Baryte wurden verwendet. pH, Carbonat-Konzentration und Temperatur wurden variiert. Zur detaillierten Untersuchung der fortschreitenden Rekristallisation wurden Querschnitte von rekristallisierten Barytwürfeln mittels SEM-EDX betrachtet. Feststoffe die als Produkte aus älteren Aragonit-Calcit Rekristallisationsexperimenten in Anwesenheit von Selenit und Neptunium(V) hervorgingen wurden abgetrennt. Baryt/Witherit- und Aragonit/Calcit-Proben wurden mittels Pulver-XRD und Raman-Spektroskopie sowie mit SEM(-EDX) untersucht.
- AP2: BaCO_3 , RaCO_3 , und Ra-dotierte BaCO_3 Festkörper wurden mit Density Functional Theory (DFT) simuliert, zur Bestimmung der Nichtidealität des Ra-Einbaus in Witherit (Single-Defect-Methode). Vorbereitende DFT-Rechnungen zur Optimierung der Barytstruktur in Barytsuperzellen wurden durchgeführt. Für die Simulation der Anlagerung von (Ba-)Ionen an verschiedene Stufen auf Barytoberflächen wurden entsprechende Startstrukturen ausgearbeitet und optimiert.
Ein PhreeqC Transportmodell zur Beschreibung der bei der Rekristallisation ablaufenden Diffusionsprozesse wurde aufgesetzt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Durch gezielte Parametervariation bei Experimenten zur Baryt-Witherit Umwandlung soll ein vertieftes Verständnis der Kristallwachstums- und Passivierungseffekte erzielt werden. Experimente zum Ra-Einbau in Witherit werden begonnen. Raster-Kraft-mikroskopische (AFM) Untersuchungen zur Barytrekristallisation an Einkristallproben werden begonnen. Die Charakterisierung von Lösungen und Festphasen aus den aufgearbeiteten Aragonit/Calcit Experimenten wird fortgesetzt. Je nach Selen/Neptunium Konzentration in den Festphasen werden Röntgenabsorptionsspektroskopische und UV-VIS Untersuchungen angestrebt. Eine detaillierte Charakterisierung der Festkörper mittels FIB-SEM in Zusammenarbeit mit dem FZ-Jülich ist geplant.
Baryte unterschiedlicher Kristallinität werden synthetisiert und in Isotopenaustauschexperimenten verwendet.
- AP2: DFT Rechnungen zum Ra-Einbau in Witherit werden abgeschlossen. Simulationen von Baryt-Oberflächen werden begonnen. Die PhreeqC Modellierung wird fortgeführt.
- AP4: Arbeitstreffen zur Organisation der Zusammenarbeit, insb. mit dem FZ-Jülich und Henrik Drake aus Schweden, und Halbjahrestreffen des gesamten KRIMI-Verbundes sind geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Präsentationen auf der Goldschmidt Konferenz 2021, 4.-9. Juli 2021, Lyon, Frankreich (online)

Vortrag: Barite Recrystallization to Witherite in the Presence of Carbonate, and the Impact on Radium Retention, Mohammed Alzaydan, Frank Heberling, Robert Polly, Thomas Roth, Dieter Schild, Volker Metz

Poster/Flash-Talk: Reactive transport of Selenite and Strontium through a goethite coated sand column, Lukas Zunftmeister, Zhe Nie, Frank Heberling, Johannes Luetzenkirchen, Nicolas Finck, Chunli Liu, Remi Marsac, Norbert Jordan and Khalil Hanna

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 056B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 259.072,00 EUR	Projektleiter: Dr. Brandt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Die Forschungsthematik des KRIMI Projektes basiert auf standortunabhängigen Szenarien für die tiefengeologische Endlagerung hochradioaktiver Abfälle, in denen die Möglichkeit des Kontakts von eingelagerten Abfallbehältern mit Grundwasser betrachtet wird. Wichtige Rückhalteprozesse für Radionuklide sind dabei Sorption und Ausfällung. Ein Grenzfall zwischen Sorptions- und Ausfällungsprozessen ist die Bildung von Mischkristallen, die ein großes Rückhaltepotenzial bieten. Die Mischkristallbildung wird dennoch in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt, weil entsprechende Modellparameter zur Mischungsthermodynamik und insbesondere auch zur Beschreibung der Bildungskinetik von Mischkristallen nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind. Der Schwerpunkt des KRIMI Teilprojekts in Jülich wird die Kinetik des Einbaus von Radium im Mischkristallsystem (Ba,Sr,Ra)SO₄ sein. Dabei werden hochauflösende Methoden der Elektronenmikroskopie und atomistische Simulationen angewendet, um die Kinetik und langfristige Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts in diesem System detailliert nachzuvollziehen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten von FZJ-IEK-6 im Rahmen von KRIMI gliedern sich in folgende Arbeitspakete:

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau zum Einbau von ²²⁶Ra in (Ba,Ra)SO₄ und (Ba,Sr,Ra)SO₄
- AP2: Modellierung und Simulation. Mit Molekular-Dynamik und Density Functional Theory Simulationen werden die Grundlagen für Mischungsthermodynamik und Rekristallisationskinetik erarbeitet
- AP3: (Natürliche Analoga, keine eigenständigen Beiträge von FZJ-IEK-6 geplant)
- AP4: Projektkoordination

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- AP1: Aufgrund der erschwerten Stellenbesetzung durch die Covid-19 Epidemie konnte der Beginn der konkreten Arbeiten erst 2021 stattfinden. Durch den stark eingeschränkten Betrieb im Rahmen der Corona-Vorsichtsmaßnahmen des FZJ konnten die experimentellen Arbeiten erst ab Mai aufgenommen werden. Erste mikroskopische Detailuntersuchungen an Proben aus Ra-Rekristallisationsexperimenten in der Mischkristallreihe (Ba,Sr,Ra)SO₄ laufen derzeit.
- AP2: Der Schwerpunkt der Arbeiten im ersten Jahr von KRIMI wurde am FZJ auf den theoretischen Arbeiten gelegt. Hier wurde der Doktorand bereits in die DFT Berechnungen auf dem Jülicher Supercomputer EUREKA eingearbeitet. Derzeit laufen erste vorbereitende Berechnungen zum Baryt für die Bestimmung von Bindungsenergien von Oberflächenionen mit Bezug auf verschiedene Prozesse (Desorption, Adsorption, Diffusion, ...).
- AP3: Gespräche mit externen Projektpartnern (Prof. Drake, Linnaeus University, Schweden) haben stattgefunden. Geplant ist, natürliche Barytproben zwischen KIT und FZJ zu untersuchen und mit synthetischen zu vergleichen.
- AP4: Vor dem Hintergrund der Corona-Pandemie wurde ein virtuelles Projektmeeting für September 2021 geplant.

4. Geplante Weiterarbeiten

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

- AP2: Dieses AP wird auch im 2. Halbjahr 2021 der Schwerpunkt der Jülicher Arbeiten werden, mit dem Ziel, erste konkrete Ergebnisse an die Projektpartner der Universität Bremen zu liefern.
- AP1+AP3: Die Einarbeitung und erste Untersuchungen an Proben aus Rekristallisationsexperimenten werden fortgesetzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 056C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 411.828,00 EUR	Projektleiter: Dr. Scheinost	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI verfolgt zwei grundlegende Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse systemrelevanter Mischkristalle.

Die Forschungsthematik des KRIMI Projektes basiert auf standortunabhängigen Szenarien für die tiefengeologische Endlagerung hochradioaktiver Abfälle, in denen die Möglichkeit des Kontakts von eingelagerten Abfallbehältern mit Grundwasser betrachtet wird. Wichtige Rückhalteprozesse für Radionuklide sind dabei Sorption und Ausfällung. Ein Grenzfall zwischen Sorptions- und Ausfällungsprozessen ist die Bildung von Mischkristallen, die ein großes Rückhaltepotenzial bieten. Die Mischkristallbildung wird dennoch in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt, weil entsprechende Modellparameter zur Mischungsthermodynamik und insbesondere auch zur Beschreibung der Bildungskinetik von Mischkristallen nur für wenige Fälle ausreichend gut belegt sind.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1.3: Untersuchung von Kinetik und Mechanismus des Einbaus von Pu(III) und Tc(IV) in Magnetit und deren Freisetzung mittels Experiment und Spektroskopie

AP2.3: Kinetik und Mechanismus des Einbaus von Pu(III) und Tc(IV) in Magnetit mittels atomistischer Simulationen (Unterauftrag Uni Bern)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1.3: Synthese und Charakterisierung (XRD, TEM und Raman-Spektroskopie) eines reinen Magnetits mit Partikelgröße von ~ 10 nm. Untersuchung der Technetium-Sorption an diesen Nanopartikeln in Abhängigkeit von pH (2-13) und bei zwei festflüssig Verhältnissen. Messung von Tc, Fe(II), Fe(III), pH und Eh in Lösung mittels LSC, ICP-MS und Ferrocen. Untersuchung der Tc-Speziierung an der Festphase (Tc-K XAFS) und der Festphase nach der Reaktion (XRD, Raman). Ebenso wurden erste Versuche zur Herstellung einer Mischkristallphase von Magnetit mit TcO_2 unternommen.
- AP2.3: Einstellung einer Doktorandin ab 01.02.2021 (Anita Katheras). Einarbeitung in Simulationsmethoden und Anwendungssoftware für quantenmechanische Berechnungen. Literaturstudie und erste erfolgreiche Simulationen zum Magnetitvolumenkristall (bulk). Modellierungsvergleich mit bisherigen Daten aus der Literatur. Beschreibung der möglichen vorliegenden Partikeloberflächen (Sorptionsplätze) anhand von Literatur, eine Anpassung der Modellparameter wird vorgenommen. Präsentation erster Modellierungsergebnissen auf einem internationalen Modellierungworkshop.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1.3: Synthese und Untersuchung von Mischkristallphasen von Magnetit mit Tc. Auswertung der XAFS-Daten. Weitere Untersuchung der Festphase mittels Mößbauer, XPS, TEM und BET.
- AP2.3: Abschluss der Modelloptimierung der Magnetitoberflächen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- AP2.3: Poster: „Magnetite surfaces for radionuclide retention using DFT+U“ im Rahmen des CECAM flagship workshops „Multi-approach modeling of alloy nanoparticles: from non-equilibrium synthesis to structural and functional properties“, 07.-09. Juli 2021

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 056D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 254.962,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Neumann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Forschungsprojekt KRIMI leistet einen wichtigen Beitrag zur sicheren Endlagerung hochradioaktiven Abfalls. Dabei verfolgt das Verbundprojekt zwei grundlegende Ziele: (i) Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie und (ii) Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse systemrelevanter Mischkristalle.

Im Fokus des Projektes steht die Bildung von Mischkristallen aus wässriger Lösung zwischen ausgewählten dreiwertigen Actiniden (Pu(III), Am(III), Cm(III)), zweiwertigen Spalt-, Aktivierungs-, und Zerfallsprodukten (Ra(II), Zn(II), Ni(II)) sowie Se(IV) und Tc(IV) und den endlagerrelevanten Mineralphasen Baryt, Calcit und Magnetit.

Wichtige Teilziele sind:

- Die kinetische Beschreibung der Mischkristallbildung: Neben der Beschreibung der Geschwindigkeit des Reaktionsverlaufs soll hier geklärt werden, inwiefern Inhibitionseffekte vorliegen (können). Möglich sind sowohl Reaktionen, die keinen Gleichgewichtszustand erreichen, als auch „entrapment“-Effekte durch die bei einer Präzipitationsreaktion signifikant mehr eines Radionuklids in das Wirtsmineral eingebaut wird als thermodynamisch stabil aufgenommen werden kann. In diesem metastabilen Fall müsste dann mit einer späteren (unkontrollierten) Freisetzung gerechnet werden
- Thermodynamische Modelle der entstehenden Mischkristalle: Sie bilden die Basis für die Quantifizierung der Abweichung metastabiler (kinetisch kontrollierter) Zustände vom thermodynamischen Gleichgewichtszustand
- Die Untersuchung natürlicher Analoga: Sie bieten die Möglichkeit, die Mischkristallstabilität bzw. bei Inhibitions- oder „entrapment“-Effekten, die Metastabilität über geologische Zeiträume zu überprüfen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Teilprojekt D an der TU Berlin widmet sich der Untersuchung von natürlichen Analoga der Sekundärphasenbildung. Die Auswahl der Mischkristalle ist mit den Laborexperimenten und Modellen der übrigen Teilprojekte konsistent. Folgende Mischkristallsysteme stehen im Fokus:

- (Me²⁺) Calcit
- (REE³⁺) Calcit
- (Ba/Ra/Sr) Sulfate

Es werden sowohl geothermale Systeme mit calcit- und sulfathaltigen Kluftmineralisationen, die unter Niedrigtemperatur-Bedingungen alteriert wurden, als auch sedimentäre Systeme untersucht.

Die Arbeiten sind vorläufig wie folgt in 4 Arbeitspakete unterteilt:

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zum 15. April 2021 wurde die Projektmitarbeiterstelle mit Herrn Ferdinand Kirchner (M. Sc.) besetzt. Folgende Arbeiten konnten im ersten Halbjahr 2021 durchgeführt werden:

- AP1: Festlegung geeigneter analoger Elemente für den Radionuklideinbau in Calcit und Baryt (für zweiwertige Radionuklide: Ba^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} ; für dreiwertige Radionuklide: La^{3+}).
- AP2: Untersuchung von natürlichen Kluft-Calciten aus dem Laxemar Gebiet (Schweden) die von Henrik Drake (Linnaeus University Schweden) zur Verfügung gestellt wurden: μ -RFA Maps zur Darstellung des intrakristallinen Zonarbaus für die anschließende LA-ICP-MS Analytik; Erstellung eines Protokolls zur Anfertigung von quantitativen Elementmappings in diesen Kristallen. Anhand der Ergebnisse können Bereiche für andere Methoden mit höherer Ortsauflösung (FIB-TEM) oder für Isotopenanalytik definiert werden. Referenzmaterialien für die in situ U/Pb Datierung wurden bei zahlreichen Instituten angefragt und werden größtenteils unentgeltlich zur Verfügung gestellt.
- AP3: Mit der Ausarbeitung der Beprobungsstandorte wurde begonnen (Schwarzwald, Kaiserstuhl, Raum Frankfurt).

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Zusammenstellung von publizierten Verteilungskoeffizienten für die definierten analogen Elemente bestenfalls in Abhängigkeit verschiedener physikochemischer Parameter
- AP2: Prüfung, ob Verteilungskoeffizienten und Kristallisationstemperaturen über Flüssigkeitseinschlüsse in den Mischkristallen ermittelt werden können (mittels LA-ICP-MS und Heiztisch zur Bestimmung der Homogenisierungstemperatur)
- AP3: Beprobungskampagne zur Gewinnung natürlicher Analoga
- AP4: Nach Auswertung der Literaturrecherche zu den publizierten Verteilungskoeffizienten (AP1) sollen ggf. zusätzliche Rekristallisationsexperimente in Kooperation mit den Verbundpartnern angeregt werden

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 056E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2020 bis 31.08.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 237.435,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lüttge	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Verbundvorhaben KRIMI hat die folgenden grundlegenden Ziele:

- Kompetenzerhalt im Bereich der Endlagerforschung und der Radio-Geochemie, und
- Aufklärung der Kinetik grundlegender Bildungsprozesse endlagerrelevanter Mischkristalle.

Für den Einbau von Radionukliden in (Misch-)Kristalle steht neben ihren Oberflächen auch das gesamte Kristallvolumen zur Verfügung. Damit müssen neben der Kinetik der reinen Adsorptionsprozesse an den Mineraloberflächen auch die Prozesse der Mischkristallbildung besser verstanden werden, die in Langzeitsicherheitsmodellen bisher nur ausnahmsweise berücksichtigt wurden. Primäre Ursache für diese Situation ist, dass dringend benötigte Modellparameter für die Beschreibung der Mischungsthermodynamik und mehr noch die Kristallisationskinetik solcher Systeme bisher nur unzureichend vorhanden sind. In KRIMI wird an der Universität Bremen ein grundlegendes kinetic Monte Carlo Modell zur Kinetik des Radionuklideinbaus in die Mineralphasen Baryt und Calcit erarbeitet. Diese Arbeit hat das Ziel, die Fähigkeit zur Prognose zu gewinnen und so die Quantifizierung der Radionuklidrückhaltung durch den Einbau in die o. g. Mineralphasen für ausgewählte Radionuklide zuverlässiger zu gestalten und die Entwicklung detaillierter mechanistischer Modelle zu unterstützen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Die Arbeiten der Uni Bremen im Rahmen von KRIMI gliedern sich in die Arbeitspakete:

- AP1: Experimentelle Arbeiten zum Radionuklideinbau in- und zur Rekristallisationskinetik von Baryt und Calcit (AG Bremen: Unterstützung mit einem (fastscan) AFM-Gerät und einem RAMAN-gekoppelten Vertikal Scannenden Interferometer für die experimentellen Arbeiten/Messungen).
- AP2: Modellierung und Simulation. AG Bremen leistet mit der Entwicklung von KMC-Modellen für Baryt und Calcit einen Beitrag zur Modellierung.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Bislang wurden Reparatur- und Corona-bedingt noch keine Untersuchungen mit einem Raster-Kraft-Mikroskop (AFM) in Bremen durchgeführt. Die aufwendige Reparatur

der Scan-Einheit des Instruments (Bruker Dimension Icon®) wurde zwischenzeitlich durch einen Austausch abgeschlossen.

AP2: Organisatorische online-Treffen, um Ansätze für die Parametrisierung des kinetischen Monte Carlo (kMC) Modells zu diskutieren und zu entscheiden und die atomistische Geometrie des Systems für die (Density Functional Theory) DFT-Studien zu definieren. Da DFT-Rechnungen oft zeitaufwändig sind, ist es von entscheidender Bedeutung, die optimale Systemgröße zu definieren, die sowohl für die Parametrisierung nötig ist, als sich auch in angemessener Zeit mit DFT-Methoden berechnen lässt. Ein Arbeitsplan für die Untersuchungen der Auflösungsmechanismen an entscheidenden Positionen der Baryt- (BaSO_4) bzw. Calcit- (CaCO_3) Oberflächen wurde entwickelt.

Die Suche nach einem bzw. einer geeigneten PhD-Studenten:in für die kMC-Modellierungs-Studien an Baryt wurde sehr erfolgreich abgeschlossen. Der administrative Einstellungsprozess für einen hervorragend geeigneten Kandidaten von der Lomonosov Moscow State University (Moskau, Russland) läuft in der Universitätsverwaltung.

Um weiteren Verzögerungen entgegenzuwirken, wurde Frau Dr. Inna Kurganskaya, eine international ausgewiesene Expertin für kMC-Modellierung, bis auf weiteres für das Projekt eingestellt. Sie wird auch eine Co-Betreuung des o. g. Doktoranden im Rahmen ihrer geplanten Habilitation übernehmen.

Die Entwicklung des grundlegenden kMC-Algorithmus für die Untersuchungen zur Auflösungskinetik der Baryt-Struktur wurde begonnen. Eine erste Publikation dazu, d. h. ein eingeladener Beitrag für das Open-Access-Journal „Minerals“, ist derzeit in Vorbereitung.

AP4: Beteiligung bei der Organisation und Durchführung von o. g. online-Treffen.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Erste Untersuchungen zum Auflösungsverhalten von Baryt und Calcit mit dem reparierten Raster-Kraft-Mikroskop.

AP2: Das grundlegende kMC-Programm für das Studium der Baryt-Auflösung wird an der Universität Bremen von Dr. Kurganskaya implementiert. Eine entsprechende Publikation soll bis Ende 2021 bei „Minerals“ eingereicht werden. Der für das KRIMI-Projekt angeworbene Doktorand wird den Code in der Folge zur Weiterentwicklung übernehmen, um die Komplexität des Modells durch zusätzliche Oberflächenreaktionen zu erhöhen. Z. B. sollen dann Adsorption und Kristallwachstum sowie Studien zu der (Ba,Sr) SO_4 -Mischkristall-Auflösungskinetik möglich werden. Ca. 6 Monate wird die spezielle Ausbildung des Doktoranden in Anspruch nehmen: Programmierarbeiten und die Einarbeitung in fachspezifische Literatur und bereits veröffentlichte Daten zu Auflösungs- und Adsorptionsprozessen sowie erste eigene Simulationen und Datenanalysen werden hier im Vordergrund stehen. Diese Aufgaben sollen später mit Modell-Verifikation anhand experimenteller Daten-Routinen im Bremer Labor ergänzt werden. Geplant und vereinbart ist die intensive Zusammenarbeit mit dem Team, das bereits an den DFT-Studien zur Modell-Parametrisierung arbeitet.

AP4: Beteiligung bei der Organisation und Durchführung von (online-) Arbeitstreffen, Workshops etc.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 059A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 438.556,00 EUR	Projektleiter: Dr. Geist	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien in Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Nach erfolgreichem Abschluss seiner Promotion wird Dr. Thomas Sittel seit 01.04.2021 über das Projekt finanziert. Im Rahmen eines radiochemischen und physikalisch-chemischen Fortgeschrittenenpraktikums wurden zwei Masterstudenten betreut.
- AP2: Es wurden Versuche zur Herstellung eines wasserlöslichen CHON-kompatiblen BTP-Liganden unternommen. Es wurden unterschiedliche Diketonderivate als Precursor hergestellt und in der BTP-Ringschlussreaktion getestet. Allerdings zeigten die hergestellten BTP-Liganden 2,6-bis(5,6-bis(3,5-dimethoxyphenyl)-1,2,4-triazin-3-yl)pyridin und 2,6-bis(5,6-bis(2,3-dimethoxyphenyl)-1,2,4-triazin-3-yl)pyridin keine ausreichende Wasserlöslichkeit.
- AP3: Bisherige NMR-Untersuchungen an $[M(L1)_3]^{3+}$ (mit $M = Lu, La, Y, Sm, Am$; $L1 = N,N,N',N'$ -Tetraethyl-2,6-dicarboxamidpyridin) ergaben einen erhöhten kovalenten Bindungscharakter der Am(III)-N-Bindung im Vergleich zur Ln(III)-N-Bindung. Im Gegensatz dazu zeigen die Am(III)-O- und Ln(III)-O-Bindungen vergleichbare Eigenschaften. Weitere NMR-Untersuchungen befassten sich mit der vollständigen Charakterisierung der Komplexe $[Ln(L1)_{1-3}]^{3+}$ und $[Ln(L2)_{1-3}]^{3+}$ (mit $Ln = Yb, Tb$; $L2 = N,N,N',N'$ -Tetrapropyl-2,6-dicarboxamidpyridin). Zusätzlich wurden temperaturabhängige NMR-Messungen an den Komplexen durchgeführt, um daraus Aussagen zum Bindungsverhältnis zwischen Metallion und Liganden zu treffen. Insgesamt zeigte sich ein zu hoher FCS-Beitrag für die jeweiligen Protonen und Kohlenstoffatome des Liganden.
- AP4: Im Berichtszeitraum wurden keine Arbeiten durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- NMR-Untersuchungen der An(III)- und An(IV)-Dipicolinamidkomplexe hinsichtlich der chemischen Verschiebung der Donoratome
- weitere temperaturabhängige NMR-Messungen an An(III)- und Ln(III)-Dipicolinamidkomplexen
- Synthese von strukturähnlichen *N,O*-Donorliganden sowie NMR-Untersuchungen zur Komplexierung von An(III) und Ln(III)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 059B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 370.233,00 EUR	Projektleiter: Dr. Schmidt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von *f*-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (*f*-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien in Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Zur Besetzung der beiden Doktorandenstellen am HZDR wurden am 22., 23. und 26. Oktober 2020 Bewerbungsgespräche durchgeführt, bei denen zwei geeignete Kandidat*innen identifiziert wurden. Frau Tamara Duckworth und Herr Boseok Hong haben am 4. Januar bzw. 10. Februar 2021 ihre jeweiligen Stellen angetreten. Zusätzlich arbeiten zwei Masteranden an zum Projekt gehörigen Themen.
- AP2: Es wurde ein neuartiger asymmetrischer *N*-Donor-Ligand (smif) basierend auf verknüpften *N*-Heterocyclen synthetisiert und via NMR und EA charakterisiert. Quantenchemische Rechnungen deuten darauf hin, dass alle ausgewählten *N*-Donor-Liganden stabile Komplexe mit vierwertigen Actiniden bilden können. Für den smif-Liganden wie auch für BTP-ähnliche *N*-Donoren sind dabei Änderungen der Stöchiometrie zwischen Ligand und Metallion von 1:1 bis 3:1 möglich. Erste Berechnungen der für die Komplexsynthese vorgesehen Phosphan-substituierten Amidinate zeigen Unterschiede in der Stabilität im Vergleich zu reinen Stickstoff-Amidinen auf.
- AP3: Erste Synthesen von Komplexen der vierwertigen Actiniden mit Liganden vom Pyren-Typ (*N*-Analoga des Salen-Liganden) wurden durchgeführt. Die Ergebnisse der Charakterisierung werden zurzeit ausgewertet. Hierzu gehören auch erste hochaufgelöste XANES Messungen an der ESRF. Zusätzlich wurden erste Th- und U-Komplexsynthesen mit dem smif-Liganden, Pyrrol-substituierten Pyridin-Liganden sowie den Amidinen PEBA und iPrBA (letztere jeweils zur Verfügung gestellt vom AK Roesky, KIT) begonnen.
- AP4: Keine Beiträge von HZDR.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Beide Doktoranden werden am Projekttreffen teilnehmen und dort ihre ersten Ergebnisse präsentieren. Für 2022 sind wieder Konferenzbesuche geplant.
- AP2: Experimentelle Ergebnisse sowie quantenchemische Rechnungen fließen fortwährend in die Weiterentwicklung geeigneter neuer Liganden ein.
- AP3: An Th(IV)- und U(IV)-Komplexen der Amidinate PEBA und iPrBA sollen die koordinierenden Chloro-Liganden gegen andere Halogene und Pseudohalogene ausgetauscht werden. Die entstehenden Komplexe sollen u. a. mittels NMR und SC-XRD experimentell untersucht werden. Die Ergebnisse werden schließlich mit denen aus quantenchemischen Rechnungen verglichen. Daneben sind auf Basis der U(IV)-PEBA-Komplexsysteme Reduktions- sowie Oxidationsversuche geplant. Alle mit Th(IV) und U(IV) erfolgreichen Komplexsynthesen mit den oben genannten *N*-Donorliganden sollen auf die Transurane Np(IV) und Pu(IV) übertragen werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Heidelberg, Grabengasse1, 69117 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 059C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 318.465,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Panak	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von *f*-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (*f*-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP3:

Für die Komplexierung von Cm(III) mit dem N,O-Donorliganden N,N,N,N-Tetraethyl-2,6-dicarboxamidpyridin (Et-Pic) in Acetonitril mit 10 Vol.% H₂O wurden mittels zeitaufgelöster Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) die thermodynamischen Funktionen wie Reaktionsenthalpie und -entropie bestimmt. Diese sind $\Delta_R H'_3 = 7.6 \pm 2.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ und $\Delta_R S'_3 = 36.6 \pm 8.4 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$. Damit ist die Komplexierungsreaktion endotherm und somit entropiegetrieben. Die Kenntnis der thermodynamischen Daten sind von großer Bedeutung, da sie die Quantifizierung der Cm(III) Speziation mit Et-Pic als Funktion der Temperatur ermöglicht.

Des Weiteren wurde die Kinetik der Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit 6-(6-methyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)-2,2'-bipyridin (Tetrabipy) in 2-Propanol mit 50 Vol. % H₂O mittels TRLFS untersucht. Bei einer Konzentration von $3.42 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ Tetrabipy wurden neben dem Solvenskomplex drei weitere Komplexspezies bei 600.2 nm, 606.6 nm und 614.2 nm beobachtet. Die Entwicklung der Fluoreszenzspektren wurde über einen Zeitraum von 13 Tagen verfolgt. Konstante Emissionsspektren wurden nach etwa 266 Stunden erhalten. Der Ligand weist somit eine ähnlich langsame Komplexierungskinetik wie der Ligand 2,6-bis(6-propyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)pyridin auf. Aufgrund der langsamen Komplexierungskinetik wird die Bestimmung der Stabilitätskonstanten der Komplexierung von Cm(III) mit Tetrabipy in Form von Batchexperimenten durchgeführt.

Darüber hinaus wurde die Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit dem nicht aromatischen N-Donorligand 1,1'-(pyridine-2,6-diyl)bis(N-(o-tolyl)ethan-1-imine) und dem P,N,P-Donorligand 2,6-bis((di-tert-butylphosphaneyl)methyl)pyridine in Chloroform oder Acetonitril untersucht. Beide Liganden bildeten Komplexe sowohl mit Cm(III) als auch mit Eu(III). Aufgrund der geringen Stabilität beider Liganden in Lösung (Iminspaltung durch Spuren von Wasser oder Oxidation von P(III) zu P(V) durch Sauerstoff) blieb eine genaue Charakterisierung der beobachteten Komplexspezies vorerst erfolglos.

4. Geplante Weiterarbeiten

- In der nächsten Forschungsperiode sollen Stabilitätskonstanten sowie thermodynamische Daten für die Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit Tetrabipy ermittelt werden.
- Zusätzlich soll die Komplexierung von Cm(III) und Eu(III) mit nicht aromatischen Donorliganden unter Ausschluss von Wasser untersucht werden.
- Darüber hinaus sollen in Kooperation mit dem KIT-INE ergänzende Untersuchungen mithilfe der NMR durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 059D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 437.777,00 EUR	Projektleiter: Dr. Modolo	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Eine Masterarbeit mit dem Thema „Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden“ wurde begonnen. Im Rahmen der Masterarbeit wird die Kombination aus lipophilen Diglycolamid-Derivaten mit hydrophilen N-Donor-Liganden untersucht und die gebildeten f-Element Komplexe werden charakterisiert.
- AP2: Im Berichtszeitraum wurden keine neu synthetisierten Liganden von den Projektpartnern erhalten.
- AP3: Die Kombination aus lipophilen Diglycolamid-Derivaten mit hydrophilen N-Donor-Liganden wurde untersucht.
- AP4: Eine Veröffentlichung zur Stabilität von CyMe₄BTBP und CyMe₄BTPPhen gegenüber ionisierender Strahlung wurde eingereicht und zur Veröffentlichung in „Radiation Physics and Chemistry“ akzeptiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Abschluss der Masterarbeit und anschließend Beginn der Promotion. Vorstellung erster Ergebnisse beim Projekttreffen am 23.07.2021.
- AP2: Testen von neu entwickelten Liganden.
- AP3: Tiefergehende Untersuchungen von in AP2 entwickelten Liganden.
- AP4: Die Extraktionseigenschaften von vielversprechenden Liganden werden untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Schmidt, H.; Wilden, A.; Modolo, G.; Bosbach, D.; Santiago-Schübel, B.; Hupert, M.; Mincher, B. J.; Mezyk, S. P.; Švehla, J.; Grüner, B.; Ekberg, C.: Gamma and pulsed electron radiolysis studies of CyMe₄BTBP and CyMe₄BTPPhen: identification of radiolysis products and effects on the hydrometallurgical separation of trivalent actinides and lanthanides. *Radiat. Phys. Chem.* 2021, Accepted, DOI:10.1016/j.radphyschem.2021.109696

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 059E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 318.221,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Meyer	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von *f*-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (*f*-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses

AP2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden

AP3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

AP4: Studien im Hinblick auf potentielle Anwendungen

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspakete 1–4:

Arbeiten zu allen Arbeitspaketen 1–4 haben erfolgreich begonnen.

Der Student M. Sc. Benedikt Kestel konnte für die Promotion auf dem Gebiet der Uranchemie mit „soft“-Donorliganden gewonnen werden (AP1).

Im Rahmen der Vorgängerprojekte des BMBF wurden bisher in der AG Meyer unterschiedliche O-, N,O- und N,N-Liganden synthetisiert, die verschiedene Ankersysteme (N, tacn, cyclen, mes, py etc.) tragen. Durch eine entsprechend angepasste Auswahl an *ortho*- und *para*-Substituenten konnten im Anschluss die elektronischen und magnetischen Eigenschaften sowie die Reaktivitäten und Löslichkeiten der daraus hervorgegangenen Urankomplexe maßgeschneidert werden. In der Fortführung dieser Arbeiten gelang es nun, selektiv die harten Sauerstoffdonoren in diesen Liganden mit weichen („soft“) Schwefeldonoren zu ersetzen. Die Schlüsselverbindung war hierbei ein geschützter Thiophenolether, der ausgehend von dem käuflichen 4-Methylphenol in einer siebenstufigen Synthese erhalten wurde. In jeweils zwei weiteren Reaktionsschritten konnten dann ausgehend von diesem Thiophenolether die *tacn*- bzw. *mes*-geankerten Thiophenolliganden erhalten werden mit Gesamtausbeuten von 15 bzw. 12 %. In einer leicht abgewandelten Reaktionsfolge konnte des Weiteren der N-geankerte Thiophenolligand erhalten werden (4 zusätzliche Schritte, Gesamtausbeute 11 %; AP2).

Diese synthetisch aufwendigen N,S-Liganden wurden zur Komplexierung von Uran(III–VI)-Kationen eingesetzt und erste Versuche scheinen vielversprechend (AP3). Weitere Untersuchungen bzgl. der Koordinationschemie und Reaktivität dieser Komplexe sind Gegenstand aktueller Arbeiten, wobei die Ermittlung der molekularen und elektronischen Strukturen dieser Koordinationsverbindungen mittels Spektroskopie (AG Meyer; AP3) und theoretischen Untersuchungen (Kooperationspartner *f*-Char; AP4) im Vordergrund steht.

Des Weiteren wurden in der AG Meyer synthetisierte Liganden an Projektpartner für weiterführende Untersuchungen bzgl. potentieller Anwendungen weitergeleitet (AP4).

4. Geplante Weiterarbeiten

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorträge:

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

Veröffentlichungen:

R. J. Ward, D. Pividori, A. Carpentier, M. L. Tarlton, S. P. Kelley, L. Maron, K. Meyer, J. R. Walensky: Isolation of a [Fe(CO)₄]²⁻-Bridged Diuranium Complex Obtained via Reduction of Fe(CO)₅ with Uranium(III), *Organometallics* 2021, 40, 1411–1415

D. R. Hartline, K. Meyer: From Chemical Curiosities and Trophy Molecules to Uranium-Based Catalysis: Developments for Uranium Catalysis as a New Facet in Molecular Uranium Chemistry, *JACS Au* 2021, 1, 698–709

Zuwendungsempfänger: Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe		Förderkennzeichen: 02 NUK 059F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 694.408,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Roesky	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des beantragten Projektes "Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden (f-Char)" ist es, das Verständnis der Koordinationschemie der Actinid- und Lanthanidionen mit sogenannten soft donor-Liganden zu vertiefen. Dabei sollen insbesondere die subtilen Unterschiede der Wechselwirkung dieser Liganden mit den chemisch ähnlichen Actinid- bzw. Lanthanidionen weitergehend charakterisiert und quantifiziert werden. Ein weiterer wesentlicher Aspekt des Projektes ist die Ausbildung und Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses im Bereich der Nuklearen Sicherheitsforschung und der Nuklearchemie im Allgemeinen sowie in Themen der Actinidenchemie im Besonderen. Somit leistet das Projekt einen wichtigen Beitrag zum Aufbau, der Weiterentwicklung und dem Erhalt der wissenschaftlich-technischen Kompetenz in der Nuklearen Sicherheitsforschung.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

- Synthese von f-Element-Komplexen mit den N-Donor-Liganden
- Charakterisierung der Komplexe, insbesondere per SXRD sowie der Elektrochemie
- Synthese von funktionalisierten N-Donor-Liganden

Eingeschränkt durch die COVID-19-Pandemie sowie Sanierungsmaßnahmen am KIT-AOC musste einer der ersten Meilensteine auf eine spätere Bearbeitung verschoben werden.

- Beschaffung und Installation der Schutzgashandschuhbox

Die Untersuchungen erfolgen in den Bereichen:

- Arbeitspaket 1: Förderung und Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses
- Arbeitspaket 2: Entwicklung, Synthese und Charakterisierung neuer Liganden
- Arbeitspaket 3: Synthese und Charakterisierung von Actinid- und Lanthanidkomplexen in Lösung und im Festkörper

Bedingt durch die kurzfristige Bewilligung und eingeschränkt durch die COVID-19-Pandemie konnten von vier beantragten bisher lediglich zwei Mitarbeiter/innen eingestellt werden, die seit dem 1. November 2020 bzw. 1. Dezember 2020 im Rahmen des Projekts tätig sind. Die Elektrochemie wurde bereits installiert und ist einsatzbereit.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Am KIT-AOC werden die bisher erfolgreich dargestellten Extraktionsliganden weiterentwickelt und neue Ligandengeometrien untersucht. Darüber hinaus werden Versuche zur Darstellung von wasserlöslichen Liganden durchgeführt.

Ein Ziel des Vorhabens ist es, die bereits in Vorgängerprojekten untersuchten Tris(hydrazonyl)methan-Liganden mit 1,10-Phenanthrolin und 2,2'-Bipyridin zu funktionalisieren. Mehrstufige organische Synthesen zum Aufbau des Liganden wurden bereits durchgeführt. Um das Ligandenportfolio zu erweitern, wurde Tris(2-aminoethyl)amin (tren) als Linker zwischen den Liganden-Armen verwendet. Durch Iminkondensation mit 2-Pyridincarboxaldehyd (Produkt: py₃tren) und 4-Imidazolcarboxaldehyd (Produkt: im₃tren) wurden die Liganden nach Literaturvorschrift synthetisiert. Komplexierungsversuche an Triflatsalzen (OTf) der dreiwertigen Ionen Y, La, Sm, Eu und Lu wurden erfolgreich durchgeführt und die Komplexe teilweise per SXRD charakterisiert (z. B. La(py₃tren)(OTf)₃, La(im₃tren)(OTf)₃).

Zur Etablierung von wasserlöslichen Liganden wurde der Fokus auf die Modifizierung der mehrzähligen Liganden Tris(pyrazol-1-yl)methan und (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)methan gelegt. Zunächst wurden die möglichen synthetischen Zugänge zu den rückgratmodifizierten Liganden eruiert. Als sehr erfolgreich erwies sich die Deprotonierung der OH-Einheit Tris-2,2,2-(1-pyrazolyl)ethanol gefolgt von nukleophile Substitution mit Triethylglykolidiodid (TEG-I). Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung als Öl isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert. Als nächster Schritt stehen Komplexierungsversuche an. Für den zweiten wasserlöslichen Zielliganden (3-TEG-Triazol)bis(pyrazolyl)methan wurde ein anderer Syntheseweg beschritten. Die Reaktion zwischen Pyrazol und 3-(Trimethylsilyl)-3-propynal führte zu einem Bis(pyrazolyl)methan mit einem Trimethylsilyl-substituierten Acetylen-Rest. Durch eine Click-Reaktion mit Triethylglykol-Monomethylether-Azid sollte nun der gewünschte Ligand zugänglich sein.

Weiterhin sollen mit Borsäureestern funktionalisierte 2,6-Bistriazolpyridine synthetisiert werden. Hierzu wurden in einer Click-Reaktion verschiedene Azide mit 2,6-Ethynylpyridin umgesetzt. Hierbei konnte ein Ligand mit einem Bromid als Rest am zweifach methylsubstituierten Phenylring erhalten werden, der allerdings bislang nicht mit einem Borsäureester funktionalisiert werden konnte. Mit diesem Liganden konnte ein Erbium-Komplex in THF synthetisiert werden, der durch SXRD untersucht wurde. Hierbei zeigte sich ein von drei Liganden koordiniertes Metallzentrum, dessen positive Ladung durch drei Triflat-Anionen ausgeglichen wird. Weiterhin konnte ein Ligand mit einem Borpinakolester am Phenylring synthetisiert werden. Versuche zur Komplexierung waren bisher nicht erfolgreich. Die beiden Liganden wurden zudem zur Untersuchung des Komplexierungsverhaltens mit Actiniden an das HZDR weitergegeben. Als weiterer Ligand wurde ein Tetrazin-funktionalisiertes Bipyridin (6-(6-Methyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)-2,2'-bipyridin (MTB)) hergestellt. Dieses wurde aus einem Bipyridincyanid mit Schwefel und Hydrazinhydrat und anschließender Reduktion mit Natriumnitrit synthetisiert und die Struktur durch SXRD bestätigt. Mit dem Liganden wurden Komplexierungsreaktionen mit Lanthanoid-Nitraten in Acetonitril durchgeführt. Hierbei wurden Komplexe der Zusammensetzung [M(MTB)(NO₃)₃MeCN] mit M = Sm, Gd, Eu erhalten. Diese konnten kristallisiert werden und mittels SXRD untersucht werden. Weiterhin wurde der Ligand ebenfalls an das HZDR weitergegeben und außerdem dem KIT-INE zur Verfügung gestellt. Die geplante Synthese eines Pyridin-funktionalisierten 1,10-Phenanthrolins, das am Pyridin durch ein weiteres Triazol substituiert ist wurde begonnen. Die Click-Reaktion zur Synthese des entsprechenden Triazols konnte bisher nicht durchgeführt werden.

Aufgrund von Baumaßnahmen im laufenden Betrieb kam es während des Berichtszeitraums zu Ausfallzeiten der Laboratorien von ca. vier Wochen. Aus diesem Grund gab es erhebliche Schwierigkeiten, die Ziele zu erreichen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Synthese der sich bisher in Untersuchung befindlichen Liganden wird fortgesetzt bzw. optimiert. Weitere Komplexierungsreaktionen an f-Metallen werden durchgeführt und die Komplexe per SXRD charakterisiert. Weiterhin sollen N-heterozyklische Aldehyde (Phenanthrolin und Bipyridin) synthetisiert werden, um tripodale Liganden durch Iminkondensation mit 2,2',2''-Triaminotriethylamine oder Tris(hydrazonyl)methan herzustellen. Die Synthese von (3-TEG-Triazol) bis (pyrazolyl)methan wird weiter fortgeführt.

Die synthetisierten Liganden sollen für weitere Komplexierungsreaktionen genutzt werden und die erhaltenen Komplexe weiter charakterisiert werden. Zusätzlich werden weitere Liganden synthetisiert bzw. die bereits begonnene Synthese des Triazol-funktionalisierten 1,10-Phenanthrolins wird weiter fortgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 060A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 996.222,00 EUR	Projektleiter: Dr. Huittinen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Erste Synthesen und spektroskopische Charakterisierungen von $Ce(IV)$ -dotiertem ZrO_2 und Y -dotiertem ZrO_2 wurden abgeschlossen. Die Pulverproben wurden an die RWTH-GHI zur Keramikherstellung versandt. Vorhandene Y/Eu -dotierte kubische ZrO_2 -Proben wurden zur Einkristallzucht an das FZJ-IEK6 geschickt. Zur Charakterisierung der Oxidationszustände des Chroms wurden Lumineszenzspektroskopische Analysen und EPR-Messungen an Cr -Standardmaterialien durchgeführt. Diese Ergebnisse werden zur Charakterisierung von Cr -dotierten UO_2 -Einkristallen in Zusammenarbeit mit dem FZJ-IEK6 verwendet. Erste $An(IV)$ -dotierte ZrO_2 -Proben wurden synthetisiert und mit Synchrotron-PXRD charakterisiert (ROBL, Grenoble). Diese Stu-

dien umfassten den Einbau von Th in 14 At. % Y-stabilisiertem t-ZrO₂. Es wurde festgestellt, dass die maximale Th-Aufnahme ca. 10 At. % beträgt. In einer weiteren Messzeit wurde 25 At. % Y-stabilisiertes kubisches ZrO₂-System untersucht. Wie erwartet, wurde eine höhere Th-Aufnahme beobachtet. In dieser Messzeit wurden weiterhin Proben vom FZJ-IEK6 an UO₂-Cr-dotierte Systeme und vom HZDR an dotiertem ZrO₂ und Ln₂Zr₂O₇ untersucht.

- AP2: Ein Antrag auf Bestrahlungszeit im Ionenstrahlzentrum am HZDR wurde geschrieben und die erste Bestrahlungszeit für November/Dezember 2021 bewilligt. Damit werden die ersten Proben, die nach der Ionenbestrahlung charakterisiert werden, Ende 2021 zur Verfügung stehen.
- AP3: Erste Gespräche über Auflösungs-/Korrosionsstudien von bestrahlten Materialien wurden mit Prof. Sarah Finkeldei, (UCI -Department of Chemistry), geführt.
- AP4: Dr. Volodymyr Svitlyk und Dr. Sara Gilson wurden mit Wirkung vom 01.03.2021 bzw. 07.06.21 als wissenschaftliche Mitarbeiter auf dem Teilprojekt A eingestellt. Ein weiterer Nachwuchswissenschaftler, Herr Lucas Opitz, der nicht über das AcE-Projekt finanziert wird, ist mit Beginn seiner Masterarbeit in das AcE-Projekt eingebunden worden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Synthese und Charakterisierung von weiteren Ce(IV)-dotierten ZrO₂-Proben bis zur Löslichkeitsgrenze werden durchgeführt. Die Ko-Dotierung mit Ca und Gd/Y zur Verbesserung der Ce(IV)-Löslichkeit wird untersucht und die Ergebnisse werden mit berechneten Löslichkeitsgrenzen verglichen. Um die Strahlungstoleranz von Pyrochlor- und Defektfluorit-Strukturen zu untersuchen, werden erste Synthesen von Gd₂Zr₂O₇-Pyrochlor und Gd-dotierten ZrO₂-Defektfluorit-Proben durchgeführt. Die Charakterisierung dieser Proben wird mit PXRD und Lumineszenzspektroskopie durchgeführt. Zusätzlich werden auch EPR-Untersuchungen vorgenommen. Es werden erste Synthesen von Ce(IV) und An(IV) in ZrSiO₄ durchgeführt. Inaktive Ce(IV)-Zusammensetzungen werden für Einkristallsynthesen an die RWTH-IFK geschickt. Es werden EPR-Studien an Cr-dotierten UO₂-Einkristallen in Zusammenarbeit mit FZJ-IEK6 untersucht, um den Oxidationszustand von Cr in der UO₂-Matrix zu klären. Weitere Untersuchungen für höhere Th-Gehalte in Y-stabilisiertes kubisches ZrO₂ (25YSZ) sind geplant. Die neue Hochtemperatur-Kammer HTK1200 wird in Betrieb genommen.
- AP2: Aus dem Eu-dotierten LaPO₄-Monazit-Standardmaterial werden Pellets für die anstehende Ionenbestrahlung am HZDR hergestellt. Es werden Poliermethoden zur Erzeugung ebener Oberflächen entwickelt. Die Bestrahlung der polierten Einkristallproben und der Keramiken und Pulverpellets wird am IBC/HZDR durchgeführt.
- AP3: Erste Auflösungsstudien von ZrO₂-Proben mittels vertikaler Scanning-Interferometrie sind geplant.
- AP4: Die Doktorandin für das Teilprojekt A beginnt am 1. Juli 2021. Der Masterstudent schließt seine Arbeit voraussichtlich im Oktober/November 2021 ab. Das AcE-Projekt wird auf der 45. SBNWM-Tagung im Oktober 2021 vorgestellt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		Förderkennzeichen: 02 NUK 060B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 294.068,00 EUR	Projektleiter: Dr. Peters	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Die Arbeit am System $La^{3+}_{1-x}Ce^{4+}_{x/2}Ca^{2+}_{x/2}PO_4$ (Pulver) wurde begonnen. Der erste Einkristallzüchtungsversuch mit dem vom FZJ-IEK dargestellten Standard-Material ($LaPO_4:Eu$) läuft und wird in Kürze abgeschlossen. Mit der Darstellung der $Zn_{1-x}Ce_xSiO_4$ -Einkristalle wird begonnen, sobald die Pulverproben von HZDR-IRE verfügbar sind.

Die Beschaffung von Chemikalien und Edelmetalltiegeln für die Synthesen ist im Gange.

AP2: Seitens des IfK sind keine eigenen Bestrahlungsversuche im Berichtszeitraum avisiert.

AP3: Noch keine Proben für Charakterisierung verfügbar.

AP4: Frau M. Sc. Theresa Karpe wurde mit Wirkung vom 03.05.21 als wissenschaftliche Mitarbeiterin auf dem Teilprojekt B eingestellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Synthese der Mischkristallreihe $\text{La}^{3+}_{1-x}\text{Ce}^{4+}_{x/2}\text{Ca}^{2+}_{x/2}\text{PO}_4$ mit 3 verschiedenen Methoden: Festphasenreaktion, Sol-Gel, Lösungs-Fällungsreaktion
- Synthese von Einkristallen aus den erhaltenen Pulvern über Hochtemperatur-Lösungszüchtung
- Strukturelle Charakterisierung der Produkte mittels Röntgen- (Pulver- & Einkristall-)beugung
- Chemische Charakterisierung der Produkte mittels Elektronenstrahlröntgenmikroanalyse
- Spektroskopische Untersuchungen an Pulvern und Einkristallen (IR; Raman, TRLFS)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 060C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 596.685,00 EUR	Projektleiter: Dr. Murphy	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: LaPO₄-Monazit und anderes Referenzmaterial wurde beschafft oder synthetisiert und den Projektpartnern rechtzeitig zur Verfügung gestellt. Bestrahlungsexperimente für LaPO₄-Monazit und anderes Referenzmaterial beginnen voraussichtlich im November 2021. Erste Serien von UO₂-Proben mit Cr/Ln wurden hergestellt und gemessen. Hochauflösende Messungen sind in Zusammenarbeit mit HZDR und ROBL im Gange.
- AP2: Ionenbestrahlung von Monazit und Referenzmaterialien geplant für November 2021. Vorschlag zur Selbstbestrahlungsschädigung von UO₂-Proben mit Cr durch Pu-238 beim Actuslab-Programm der GFS Karlsruhe eingereicht. Der Vorschlag wurde positiv bewertet, jedoch ist unklar, wann das Experiment aufgrund von Covid-Problemen beginnen kann - der Rückstand bei früheren Vorschlägen muss aufgeholt werden dort. UO₂-Proben für die Ionenbestrahlung sind vorbereitet und werden Ende 2021, oder Anfang 2022 für Experimente verschickt.
- AP3: Erste Einkristalle aus UO₂ wurden hergestellt und an der P21@PETRA III-Beamline bei DESY in Zusammenarbeit mit der GUF untersucht. Das Experiment war erfolgreich, auch

wenn es Probleme mit der Kühlung gab; es soll in der nächsten Ausschreibung wiederholt werden. Dieselben Proben wurden bei GUF mit Raman-Spektroskopie gemessen. Vorschlag für Neutronenbeugung am ILL-Kernreaktor in Zusammenarbeit mit Mitarbeitern des CEA vorbereitet, Vorschlag soll in Kürze eingereicht werden. Erfolgreiche Beugungsexperimente an der ROBL-Beamline an den UO_2 -Cr-dotierten Proben durchgeführt.

AP4: Die MRS-2021 wird vom IEK-6 organisiert und findet in diesem Jahr statt, wobei Wissenschaftler und Studenten des AcE teilnehmen werden. Aufgrund des späten Stands des Projekts wurde beschlossen, dass keine eigene AcE-Sitzung abgehalten wird, da viele der neuen Studenten und Mitarbeiter nicht rechtzeitig ausreichende Ergebnisse erzielt haben werden. Das Treffen wird fast zeitgleich mit dem 2. Projekttreffen des AcE im November 2021 in Jülich stattfinden. Das Treffen wird aus einem speziellen Tag für Vorträge bestehen, die von erfahrenen IEK-6-Wissenschaftlern im Bereich der nuklearen Entsorgung in Deutschland für neue Studenten und Wissenschaftler im AcE gehalten werden, die keinen Hintergrund in der nuklearen Bildung und Ausbildung haben.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Die endgültigen UO_2 -Zusammensetzungen mit dotiertem Ln werden synthetisiert und für Synchrotron-, Neutronen- und Ionenbestrahlungsexperimente verwendet. Weitere UO_2 -Einkristalle werden auf Anfrage an die GUF geliefert, um deren experimentellen Bedarf zu decken.

AP2: Im November 2021 wird die erste Ionenbestrahlungskampagne in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern beginnen. Dr. Sara Gilson (Postdoc-Stelle am HZDR) wird das IEK-6 besuchen und mit Dr. Gabriel Murphy an der Vorbereitung der Proben für die Ionenbestrahlung arbeiten. Dr. Gilson wird auch im November für die folgende Ionenbestrahlungskampagne an Pyrochlor anwesend sein. Die UO_2 -Proben für die Ionenbestrahlung werden nach abschließenden Gesprächen mit ANSTO-Wissenschaftlern (Dr. Zhaoming Zhang) an ANSTO in Australien verschickt. Der Vorschlag zur Selbstbestrahlung von Pu-238 bei der GFS Karlsruhe wird in diesem Jahr je nach Zeitplan der GFS mit Covid-Verzögerungen erneut versucht werden. Weitere Experimente an der ROBL-Beamline werden im November 2021 stattfinden.

AP3: Weitere Ex-situ- und In-situ-Experimente mit Ln- und Cr-dotiertem Einkristall- und Pulver- UO_2 sollen im November durchgeführt werden. Vorschlag an das ILL zur Phasentrennung in mit Ln dotiertem UO_2 in Zusammenarbeit mit CEA-Mitarbeitern. Einreichung eines Vorschlags bei DESY in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner GUF.

AP4: Die vom IEK-6/FZJ organisierte MRS-2021 wird im Oktober in Köln stattfinden, wo Wissenschaftler und Studenten des AcE teilnehmen werden. Das zweite Projekttreffen für AcE wird am FZJ stattfinden, wo ein spezieller Tag zur nuklearen Entsorgung in Deutschland für neue Studenten und Wissenschaftler in AcE, die keinen Hintergrund in der Nuklearindustrie haben, abgehalten werden wird.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen in Vorbereitung.

Zuwendungsempfänger: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Temp- lergraben 55, 52062 Aachen		Förderkennzeichen: 02 NUK 060D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 290.472,00 EUR	Projektleiter: Dr. Tonnesen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Vergleich zum Vorgängerprojekt „Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung langlebiger Radionuklide mittels Einbau in endlagerrelevante Keramiken“ (Förderkennzeichen 02NUK021D), werden in diesem Projekt neben Monazit auch weitere Festphasen wie ZrO_2 , $ZrSiO_4$, $Ln_2Zr_2O_7$ untersucht. Aufgrund dessen wurde die Entwicklung eines keramischen Prozesses angestrebt, der für verschiedene Ausgangsstoffe hohe Sinterdichten und eine homogene Makrostruktur erzielt. Zu Beginn des Projekts waren keine von den Projektpartnern synthetisierten Rohstoffe verfügbar. Damit dennoch Messerfahrung und -parameter gesammelt werden konnten, wurden Vorversuche mit Yttrium dotiertem (8 mol %) Zirkonoxid der Firma Tosoh durchgeführt.

Zunächst wurde die benötigte Pulveraufbereitung untersucht. Dieser Schritt dient dazu, die Triebkräfte für das Sintern zu erhöhen und das Pulver für den nachfolgenden Pressschritt zu konditionieren. Neben Versuchen mit unterschiedlichen Mahlmethoden (Handmörser und Mühle) wurden ebenfalls verschiedene Bindersysteme (Dextrine, Polyethylenglycol 400) getestet. Die Additive konnten jedoch nur durch Lösung in Isopropanol homogen mit den Rohstoffen gemischt werden.

Die Verdichtung der Proben erfolgte mittels einer uniaxialen Presse. Diese wurde dabei so modifiziert, dass der untere Stempel in der Matrize beweglich ist, wodurch eine homogenere Verdichtung erreicht werden konnte. Es wurden zudem verschiedenen Belastungszyklen mit Pressdrücken im Bereich von 50 - 250 MPa verwendet. Zu hohe Pressdrücke führten dabei zu Defekten in den Proben. Ein Pressdruck von ca. 150 MPa erwies sich hierbei als bester Kompromiss zwischen ausreichend hoher Verdichtung ohne übermäßige Defektbildung.

Das Entbinderungs- und Sinterverhalten wurde mittels Dilatometermessung analysiert. Es wurden unterschiedliche Temperaturen für die optimale Zersetzung des PEG 400 untersucht. Eine Haltezeit von 2 h bei 250 °C erwies sich dabei als ideal. Nach dem Entbindern wurde die Probe mit 1, 2, 5 und 20 $Kmin^{-1}$ auf die maximale Temperatur von 1450 °C aufgeheizt und dort für 2 h gehalten. Die unterschiedlichen Heizraten zeigten einen geringen Einfluss auf die Enddichte.

Von den Projektpartnern sind gegen Ende dieses Berichtszeitraums synthetisierte Pulver am GHI eingegangen. Dabei handelt es sich um amorphe und teilkristallines Cer/Yttrium dotiertes Zirkonoxid (HZDR) sowie Rhabdophan (FZJ). Ein Teil der Rohstoffe wurde bereits mittels Rasterelektronenmikroskop und Differentialthermoanalyse untersucht. Diese beiden Methoden haben sich bewährt, da sie wichtige Informationen zu den Pulvereigenschaften liefern und gleichzeitig nur sehr wenig Probenmaterial benötigt wird.

4. Geplante Weiterarbeiten

Aus den von Rohstoffen vom HZDR und FZJ sollen weitere keramische Proben hergestellt werden. Dabei wird angestrebt, die Pulver ohne vorherige Kalzination zu sintern. Während der Kalzination nimmt die spez. Oberfläche ab. Außerdem kann es zu Phasenumwandlungen kommen wie der Kristallisation amorphen Pulvers oder die Umwandlung von Rhabdophan zu Monazit. In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass ohne Kalzination eine bessere Verdichtung erzielt werden kann, da die genannten Effekte zu einer Reduzierung der Sinteraktivität führen können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		Förderkennzeichen: 02 NUK 060E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 444.523,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Winkler	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP2: Bestrahlung mit Ionen und Charakterisierung bestrahlter Proben

AP3: Verständnis von Struktur–Eigenschaftsbeziehungen auf atomarer Skala

AP4: Kompetenzerhalt, –erweiterung und Nachwuchsförderung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: In Kooperation mit dem FZJ wurden UO_2 Kristalle erfolgreich synthetisiert sowie Diffraktionsexperimente an PETRA III durchgeführt werden Charakterisierung von ZrO_2 - und UO_2 -Einkristallen mittels Raman-Spektroskopie, optischer Mikroskopie, Röntgenfluoreszenz und Diffraktion. Durchführung von Einkristall-XRD Experimenten an Monazitkristallen mit unterschiedlichen Kationen (Sm, Nd, Pr), bereitgestellt durch die RWTH.
6-Monats-Meilenstein erreicht.
- AP2: Start dieses Arbeitspakets war laut Zeitplan erst in der zweiten Hälfte 2021 vorgesehen, aber es konnten bereits Experimente durchgeführt werden. Die Bestrahlung der im AP1 charakterisierten Einkristalle mit Gold-Ionen unterschiedlicher Energie und Fluenzen erfolgte durch die externen Partner UFRGS und GSI. Die im Frühjahr 2021 bestrahlten Kristalle können aber erst später nach Freigabe durch den Strahlenschutz untersucht werden. Mit der Charakterisierung der durch die Bestrahlung herbeigeführten Strahlenschädigung mittels optischer Lichtmikroskopie, SEM und Raman-Spektroskopie, Röntgenfluoreszenzanalytik in Reflektion und unter streifendem Ausfall wurde begonnen. In der Reflektionsgeometrie, die an der BEAMline zur Verfügung steht, konnte die Implantierung der Gold-Ionen nachgewiesen sowie deren Konzentration in der Probe berechnet werden. Die GE-XRF (@mySpot) sollen zur Bestimmung der Tiefe, in der die Gold-Ionen gestoppt wurden sowie die Dicke dieses Layers zu dienen.
- AP3: Start dieses Arbeitspakets ist laut Zeitplan ebenfalls erst in der zweiten Hälfte 2021 vorgesehen. Der für die Rechnungen notwendige Cluster wurde beschafft und in Betrieb genommen. Mit Simulationen zum Stopp-Prozess und zur Eindringtiefe von Ionen in Materie (SRIM) wurden bereits begonnen.
- AP4: Organisation und Durchführung des Kick-off Meetings, auf Grund der derzeitigen Situation als Hybrid-Veranstaltung teils in Präsenz und teils Online. Nicht durch das BMBF-finanzierten Nachwuchswissenschaftlern (Doktoranden) wurden durch Beteiligung an Experimenten eingebunden.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: wie geplant: Durchführung von weiteren Einkristall-XRD Experimenten, Raman-Spektroskopie und Messung physikalischer Eigenschaften sowie Ätzversuche an unbestrahlten Referenzproben.
- AP2: wie geplant: Untersuchungen zur strukturellen Veränderung verursacht durch die Bestrahlung mittels diffuser Streuung an der ROBL Beamline der ESRF (November 2021) sowie mit Hilfe von Raman-Spektroskopie. Messung physikalischer Eigenschaften an Ionenbestrahlten Proben (Härte, spezifischer Widerstand). Untersuchung der Oberfläche mit bildgebenden Verfahren (SEM, AFM, Lichtmikroskopie) zum möglichen Anschwellen durch die Bestrahlung. Bestrahlung weiterer Proben.
- AP3: wie geplant: SRIM-Simulation und DFT-Rechnungen der relevanten Phasen.
- AP4: wie geplant: Nachwuchswissenschaftler (sowohl projektfinanziert als auch andere) werden eingebunden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

2.3 Strahlenforschung

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 032
Vorhabensbezeichnung: DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 2.100.891,60 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rothkamm	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

AP2: Homologe Rekombination (HR) und Replikation

ihre Interaktion und die Bedeutung der in vielen Brusttumoren eingeschränkten HR-Funktion als Ansatz für die selektive 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

Experimentelle Arbeiten waren wg. COVID19 nur stark eingeschränkt möglich.

- AP1: Ein Originalartikel zur Aufnahme von strahlendosisverstärkenden Goldnanopartikeln in Prostatatumorzellen wurde veröffentlicht (Schmutzler et al. 2021).
- AP2: Originalartikel zur therapeutischen Nutzung von Replikationsstress bei KRAS-mutierten Krebszellen, zu Oct4 als Regulator der homologen Rekombination und zur Bedeutung des CIN Score in Kopf-Hals-Tumoren wurden zur Veröffentlichung in *Sci Rep*, *Oncogene* bzw. *Cancers* angenommen (Al Zubaidi et al. 2021; Nathansen et al. 2021; Bold et al. 2021) und die finale Version eines Übersichtsartikels zu Replikation, Chromatindynamik und DNA-Schadensantwort (Mognato et al. 2021) wurde veröffentlicht.
- AP3: Manuskripte zur Rolle der Src-Kinasefamilie bei Kopf-Halstumoren sowie zu AKT3 in metastatischen Brustkrebszellen wurden zur Veröffentlichung in *Cells* bzw. im *Int J Cancer* angenommen (Hinz et al. 2021; Bußmann et al. 2021).
- AP4: Eine Originalarbeit zur kombinierten zielgerichteten Therapie von HPV + Kopf-Hals-Tumoren mit PARP- und S/G2-Zellzyklus-Checkpoint-Inhibitoren wurde eingereicht.
- AP5: Strahlenbiologische Lehrinhalte wurden weiter für die Online-Lehre optimiert und in das Lehrkonzept für die (Post)Graduierten-Fortbildung integriert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Weiterarbeit an M1.4 und M1.5.
- AP2: Aufarbeitung der verbleibenden Daten.
- AP3: Fortführung von Untersuchungen zu Biomarkern für individualisierte Therapieansätze (insbesondere Kinomics) in HNSCC und GBM und deren Validierung (M3.3 & M3.4).
- AP4: Biomarker- und Target-Validierung für HPV-pos HNSCC (M4.4 & M4.5).
- AP5: Fortführung der Aktualisierung und interdisziplinären Vernetzung des Lehrprogramms im Online-Format.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Al Zubaidi T, Gehrish OHF, Genoio MM, Liu Q, Lu S, Kung J, Xie Y, Schuemann J, Lu HM, Hata AN, Zou L, Borgmann K, Willers H. (2021) Targeting the DNA replication stress phenotype of KRAS mutant cancer cells. *Sci Rep* 11:3656
- Bold IT, Specht AK, Droste CF, Zielinski A, Meyer F, Clauditz TS, Münscher A, Werner S, Rothkamm K, Petersen C, Borgmann K. (2021) DNA Damage Response during Replication Correlates with CIN70 Score and Determines Survival in HNSCC Patients. *Cancers* 13:1194
- Bußmann L, Hoffer K, von Bargen CM, Droste C, Lange T, Kemmling J, Schröder-Schwarz J, Vu AT, Akingunsade L, Nollau P, Rangarajan S, de Wijn R, Oetting A, Müller C, Böckelmann LC, Zech HB, Berger JC, Möckelmann N, Busch CJ, Böttcher A, Gatzemeier F, Klinghammer K, Simnica D, Binder M, Struve N, Rieckmann T, Schumacher U, Clauditz TS, Betz CS, Petersen C, Rothkamm K, Münscher A, Kriegs M. (2021) Analyzing tyrosine kinase activity in head and neck cancer by functional kinomics: Identification of hyperactivated Src family kinases as prognostic markers and potential targets. *Int J Cancer* 149:1166-1180
- Hinz N, Baranowsky A, Horn M, Kriegs M, Sibbertsen F, Smit DJ, Clezardin P, Lange T, Schinke T, Jücker M. (2021) Knockdown of AKT3 Activates HER2 and DDR Kinases in Bone-Seeking Breast Cancer Cells, Promotes Metastasis In Vivo and Attenuates the TGF β /CTGF Axis. *Cells* 10:430
- Mognato M, Burdak-Rothkamm S, Rothkamm K. (2021) Interplay between DNA replication stress, chromatin dynamics and DNA-damage response for the maintenance of genome stability. *Mutat Res Reviews* 787:108346
- Nathansen J, Lukiyanchuk V, Hein L, Stolte MI, Borgmann K, Löck S, Kurth I, Baumann M, Krause M, Linge A, Dubrovskaya A. (2021) Oct4 confers stemness and radioresistance to head and neck squamous cell carcinoma by regulating the homologous recombination factors PSMC3IP and RAD54L. *Oncogene* 40:4214-4228
- Schmutzler O, Graf S, Behm N, Mansour WY, Blumendorf F, Staufer T, Körnig C, Salah D, Kang Y, Peters JN, Liu Y, Feliu N, Parak WJ, Burkhardt A, Gargioni E, Gennis S, Chandralingam S, Höeg F, Maison W, Rothkamm K, Schulz F, Grüner F. (2021) X-ray Fluorescence Uptake Measurement of Functionalized Gold Nanoparticles in Tumor Cell Microsamples

Zuwendungsempfänger: Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken	Förderkennzeichen: 02 NUK 035A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.171.890,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rube

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

AP2: Akkumulation von RF nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung

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

AP4: Akkumulierte RF als Marker des Normalgeweberisikos

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

- Um den Einfluss fraktionierter Niedrig-Dosis-Bestrahlung (20 x 0.1 Gy) hinsichtlich einer potentiellen Neuroinflammation zu untersuchen, wurde bei C57BL6 Mäusen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung (1 m, 3 m, 6 m post-IR) die Neuroglia in der Hippocampus-Region im Vergleich zu altersentsprechenden, unbestrahlten Kontroll-Tieren quantifiziert. Die Zellzahlen für Mikroglia, Astrozyten und Oligodendrozyten ergaben signifikante Veränderungen, die insgesamt für eine chronische Entzündungsreaktion sprechen. Auch die Perfusions- und Diffusions-Messungen mittels MRT-Untersuchungen ergaben regionale Blutflussänderungen, die auf eine Neuroinflammation hinweisen. Diese Ergebnisse konnten inzwischen hochrangig publiziert werden (Schmal Z et al. 2021).
- Anschließend wurde das Schadensausmaß der Neuroinflammation nach frakt. Niedrig-Dosis-Bestrahlung (20 x 0.1 Gy = 2 Gy) und entsprechender Einzeit-Bestrahlung (2 Gy) verglichen, um die Auswirkungen der protahierten Bestrahlung zu ermitteln. Die Ergebnisse werden zurzeit in einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.
- Irreparable DNA Schäden induzieren eine prolongierte DNA Schadensantwort und führen zu einer prämaturnen, zellulären Seneszenz. Um die Bedeutung der Histonvariante H2A.J für die strahleninduzierte Seneszenz zu untersuchen, wurden humane Fibroblasten (primäre WI-38 Fibroblasten sowie gentechnisch-modifizierte H2A.J knock-down (KO) und H2A.J knock-in (KI) Fibroblasten mit 20 Gy (Photonen) bestrahlt, um die persistierenden DNA-Schäden im Kontext des Chromatins zu analysieren. Mittels hochauflösender Elektronenmikroskopie konnten wir zeigen, dass H2A.J im Bereich persistierender 53BP1-Foci in das Chromatin inkorporiert wird und zur Ausbildung der DNA-SCARS beiträgt. Bei der Bestrahlung der H2A.J-KO Fibroblasten, führte die shRNA-vermittelte H2A.J Depletion zu einer modifizierten Chromatin-Umstrukturierung und verhinderte den Seneszenz-assoziierten Phänotyp (SASP), so dass die Sekretion inflammatorischer Mediatoren weitgehend supprimiert wurde. Bei den H2A.J-KI Fibroblasten zeigt sich dagegen bereits ohne Strahlenexposition eine verstärkte Expression inflammatorischer Zytokine, jedoch gehen die Zellen nicht in die strahleninduzierte Seneszenz. Durch verschiedene epigenetischen Analysen (ATAC-Seq, Mod-Spec, RNA-Seq) wurden die hochkomplexen Regulationsmechanismen untersucht. Die Daten werden zurzeit für ein Publikationsmanuskript zusammengefasst.
- Bei der Charakterisierung persistierender DNA-Schäden in Rahmen der strahleninduzierten, prämaturnen Seneszenz wurden mit der seriellen Block-Raster-Elektronenmikroskopie seneszente Fibroblasten mittels eines integrierten Ultramikrotoms seriell geschnitten, und die Anschnittsflächen wurden automatisiert durch einen feingebündelten Elektronenstrahl abgerastert, um hunderte von Schnittbild-Ebenen zu generieren. Um eine hochaufgelöste 3D-Architektur dieser seneszenten Zellen zu erhalten, wurden diese umfangreichen 2D-Bildstapel mit Hilfe des Visualisierungs- und Segmentierungs-Programms AMIRA™ zu einer hochaufgelösten 3D-Bildgebung zusammengesetzt. Die präzise 3D-Rekonstruktion dieser seneszenten Zellen ermöglicht es, nicht nur die veränderte Chromatinstruktur, sondern auch die Ausschleusung von Chromatin-Fragmenten aus dem Zellkern in das Zytoplasma durch entsprechende Segmentierung hochaufgelöst zu visualisieren. Die Ergebnisse werden zurzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.
- In Kooperation mit AP3 (RF als Marker für unterschiedliche Reparaturmechanismen, AG Mansour/Rothkamm, UKE1) wurden in A549 Tumorzellen nach Bestrahlung die RPA-Foci in den S/G2-Zellen im Chromatinkontext mittels TEM charakterisiert. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.
- In Kooperation mit AP5 (RF als Marker der Tumorstrahlenempfindlichkeit, AG Krause, UKD) wurden bei FaDu-Tumorzellen nach *in-vitro* und *in-vivo* Bestrahlung die γ H2AX- und 53BP1-Foci im Chromatinkontext mittels TEM charakterisiert. Die Ergebnisse werden derzeit zu einem Publikationsmanuskript zusammengefasst.

4. Geplante Weiterarbeiten

Keine. Projekt endet zum 30.06.2021.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Human skin aging is associated with increased expression of the histone variant H2A.J in the epidermis. Rube CE, Bäumert C, Schuler N, Isermann A, Schmal Z, Glanemann M, Mann C, Scherthan H. NPJ Aging Mech Dis. 2021 Apr 1;7(1):7. doi: 10.1038/s41514-021-00060-z. NPJ Aging Mech Dis. 2021. PMID: 33795696

Fractionated low-dose radiation induces long-lasting inflammatory responses in the hippocampal stem cell niche. Schmal Z, Hammer B, Müller A, Rube CE. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2021 Jul 16:S0360-3016(21)00877-4. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.07.007. Online ahead of print

Focused Ion Microbeam Irradiation Induces Clustering of DNA Double-Strand Breaks in Heterochromatin Visualized by Nanoscale-Resolution Electron Microscopy. Lorat Y, Reindl J, Isermann A, Rube C, Friedl AA, Rube CE. Int J Mol Sci. 2021. Online ahead of print

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 035B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.369.516,00 EUR	Projektleiter: 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 Schadenslokalisation 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

Auf Grund der COVID-bedingten Einschränkungen fanden experimentelle Arbeiten nur in einem stark reduzierten Umfang statt. Trotzdem gelang es, das Projekt erfolgreich zum Abschluss zu führen und eine weitere große Zahl an Manuskripten zu veröffentlichen (s. u.)

4. Geplante Weiterarbeiten

Auswertung und Veröffentlichung der noch verbleibenden Datensätze.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Al Zubaidi T, Gehrish OHF, Genois MM, Liu Q, Lu S, Kung J, Xie Y, Schuemann J, Lu HM, Hata AN, Zou L, Borgmann K, Willers H. (2021) Targeting the DNA replication stress phenotype of KRAS mutant cancer cells. *Sci Rep* 11:3656.

Bold IT, Specht AK, Droste CF, Zielinski A, Meyer F, Clauditz TS, Münscher A, Werner S, Rothkamm K, Petersen C, Borgmann K. (2021) DNA Damage Response during Replication Correlates with CIN70 Score and Determines Survival in HNSCC Patients. *Cancers* 13:1194.

Bußmann L, Hoffer K, von Barga CM, Droste C, Lange T, Kemmling J, Schröder-Schwarz J, Vu AT, Akingunsade L, Nollau P, Rangarajan S, de Wijn R, Oetting A, Müller C, Böckelmann LC, Zech HB, Berger JC, Möckelmann N, Busch CJ, Böttcher A, Gatzemeier F, Klinghammer K, Simnica D, Binder M, Struve N, Rieckmann T, Schumacher U, Clauditz TS, Betz CS, Petersen C, Rothkamm K, Münscher A, Kriegs M. (2021) Analyzing tyrosine kinase activity in head and neck cancer by functional kinomics: Identification of hyperactivated Src family kinases as prognostic markers and potential targets. *Int J Cancer* 149:1166-1180.

Köcher S, Volquardsen J, Perugachi Heinsohn A, Petersen C, Roggenbuck D, Rothkamm K, Mansour WY. (2021) Fully automated counting of DNA damage foci in tumor cell culture: A matter of cell separation. *DNA Repair* 102:103100.

Mognato M, Burdak-Rothkamm S, Rothkamm K. (2021) Interplay between DNA replication stress, chromatin dynamics and DNA-damage response for the maintenance of genome stability. *Mutat Res Reviews* 787:108346.

Nathansen J, Lukiyanchuk V, Hein L, Stolte MI, Borgmann K, Löck S, Kurth I, Baumann M, Krause M, Linge A, Dubrovskaya A. (2021) Oct4 confers stemness and radioresistance to head and neck squamous cell carcinoma by regulating the homologous recombination factors PSMC3IP and RAD54L. *Oncogene* 40:4214-4228.

Sanchez-Cano C, Alvarez-Puebla RA, Abendroth JM, Beck T, Blick R, Cao Y, Caruso F, Chakraborty I, Chapman HN, Chen C, Cohen BE, Conceição ALC, Cormode DP, Cui D, Dawson KA, Falkenberg G, Fan C, Feliu N, Gao M, Gargioni E, Glüer CC, Grüner F, Hassan M, Hu Y, Huang Y, Huber S, Huse N, Kang Y, Khademhosseini A, Keller TF, Körnig C, Kotov NA, Koziej D, Liang XJ, Liu B, Liu S, Liu Y, Liu Z, Liz-Marzán LM, Ma X, Machicote A, Maison W, Mancuso AP, Megahed S, Nickel B, Otto F, Palencia C, Pascarelli S, Pearson A, Peñate-Medina O, Qi B, Rädler J, Richardson JJ, Rosenhahn A, Rothkamm K, Rübhausen M, Sanyal MK, Schaak RE, Schlemmer HP, Schmidt M, Schmutzler O, Schotten T, Schulz F, Sood AK, Spiers KM, Staufer T, Stemer DM, Stierle A, Sun X, Tsakanova G, Weiss PS, Weller H, Westermeier F, Xu M, Yan H, Zeng Y, Zhao Y, Zhao Y, Zhu D, Zhu Y, Parak WJ. (2021) X-ray-Based Techniques to Study the Nano-Bio Interface. *ACS Nano* 15:3754-3807.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 035C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 412.218,00 EUR	Projektleiter: 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 Tumorstahlenempfindlichkeit“. Unter Nutzung von an der Technischen Universität Dresden etablierten und gut charakterisierten humanen Tumormodellen sowie einer histologischen, Mikromilieu-korrigierten semiautomatisierten Bildanalyse, wird das Potential der RF als Biomarker für die Prädiktion der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren in vivo bestimmt. Die Methodik wird dabei für den Einsatz an menschlichen Tumorbiopsien sowie für den Hochdurchsatz (High Throughput) weiterentwickelt und validiert, um zukünftig die lokale Tumorkontrolle besser vorhersagen und mögliche Strahlenschäden an gesundem Gewebe 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: Der Einfluss der Bestrahlung auf die DNA Methylierung wurde unter drei Kulturbedingungen (in vivo, ex vivo, und in vitro) in zwei Tumormodellen untersucht. Die Methylom-Analysen zeigten einen signifikanten Unterschied im Methylierungsprofil zwischen bestrahlten und unbestrahlten Proben, in Abhängigkeit von den Tumormodellen und den Kulturbedingungen. Potenzielle Methylierungssignaturen, die mit der Tumorstrahlenempfindlichkeit assoziiert sein könnten, wurden nachgewiesen. Die Analyse der Signalwege zeigte, dass die bei der Chromatin-Umstrukturierung involvierten Gene bei dem strahlenresistenten Modell stark methyliert sind. Im Gegensatz dazu blieb der Methylierungsstatus dieser Gene im strahlungsempfindlichen Modell unverändert. Eine Publikation wird angestrebt.

AP5.2: In einem systembiologischen Ansatz sollen vorhandene Ergebnisse bzgl. RF in ex-vivo bestrahlten Biopsien und in-vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren mit den neu erhobenen Methylom-Daten und den phänotypischen Tumoreigenschaften, wie Hypoxie und Vaskularisierung kombiniert werden. Dieser Teil wird gemeinsam mit einem Kooperationspartner (DKFZ, Heidelberg) durchgeführt.

AP5.3: Das automatische RF Detektionsverfahren basiert auf der Open Source Software Fiji ImageJ und wurde etabliert und weiterentwickelt. Die Validierung und Re-Evaluierung der RF war erfolgreich. Das Ergebnis zeigte eine angemessene Korrelation zwischen manueller und automatischer RF-Auszählung. Das Verfahren für Foci-Auszählung wurde auf die Patientenproben angewendet. Das Ergebnis deutet darauf hin, dass das Verfahren auf klinische Proben anwendbar ist und ein hohes Potential für die Umsetzung in der Klinik hat. Ein Manuskript zu den Ergebnissen ist in Vorbereitung.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5.1: Das Arbeitspaket wurde erfolgreich abgeschlossen.

AP5.2: Die vorhandenen Daten werden bzgl. RF in ex-vivo bestrahlten Biopsien und in-vivo bestrahlten Xenograft-Tumoren, mit den phänotypischen Charakteristika der Tumoren wie Vaskularisation und Hypoxie, Tumorstrahlenempfindlichkeit und den neu erhobenen Methylom-Daten kombiniert, um ein prädiktives Modell für die Tumorstrahlenempfindlichkeit zu etablieren.

AP5.3: Das automatische RF Detektionsverfahren wird für die Foci-Auszählung von den verbleibenden Proben verwendet. Die Implementierung des Verfahrens für eine klinische Anwendung wird konzipiert und getestet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

29. Symposium Experimentelle Strahlentherapie und Klinische Strahlenbiologie, Heidelberg, Deutschland, 25.-26.03.2021, Poster (Virtuell): Klug F., Michaelidesová A., Dietrich A., Krause M., Rasmamegevanon T. DNA-methylation as a predictive marker for tumor radiosensitivity

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 035D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2014 bis 30.06.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 486.966,00 EUR	Projektleiter: 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 γ 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 γ H2AX Foci-Antwort in einem Kollektiv von 5 AT-Zelllinien

Versuch 2 (VI.2): Veränderung von vorgeschalteten und nachfolgenden Signalproteinen in der γ 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

API Abschlussarbeiten RF als Marker einer berufsbedingten chronischen Strahlenexposition: Chromosomenanalysen an 56 kryokonservierten Lymphozyten von strahlenexponierten Wismut Bergarbeitern wurden abgeschlossen. Diese Daten zusammen mit bereits generierten Genexpressionsdaten eines anderen Projektes geben Hinweise darauf, dass eine chronische Strahlenexposition auch Jahre später zur genomischen Instabilität führt und diese möglicherweise inflammatorischen Reaktionen in hoch exponierten Bergarbeitern auslösen. Die RF in unbestrahlten und *in vitro* bestrahlten Lymphozyten zeigen hierzu keine signifikanten Unterschiede in hoch und niedrig Strahlen exponierten Bergarbeitern. Abschließend wird zurzeit überprüft, ob sich eine veränderte Zytokinexpression im Blutplasma der Bergarbeiter bestätigen lässt.

VI.3: Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke in Zelllinien von AT-Patienten (API Strahlenempfindlichkeit): Die Identifizierung individuell veränderter Signalstrukturen und Netzwerke mittels Gesamt-Proteom-Analyse in den *ATM*^{-/-} Zelllinien wurde in Kooperation mit der *Research Unit Protein Science* (HMGU) durchgeführt. Die *ATM*^{-/-} Zelllinien sowie LCLs gesunder junger Spender wurden mittels eines speziellen Lyse-Verfahrens so aufgeschlossen, dass chromatin-assoziierte Proteine in der Massenspektrometrie zugänglich sind. Dies wurde qualitativ mit Westernblot überprüft (HP1 alpha, H3K9me3). Die Messung aller experimentell relevanten Proben wurde in je drei biologischen Replikaten durchgeführt. Hierbei wurden in einem ersten Versuchsansatz die auffälligsten Patienten-Zelllinien im Vergleich zu Kontroll-Linien 24 h und 72 h nach Exposition mit 10 Gy untersucht. Die Funktion des ATM Proteins in der Aktivierung weiterer Signalwege nach Strahlenexposition wurde mit ATM Inhibitorexperimenten (KU-60019) in einer *ATM*^{+/+}-Zelllinie untersucht. Der Vergleich der Zelllinie mit und ohne Inhibitor soll Aufschluss über den Effekt von ATM geben, unabhängig vom individuellen genetischen Hintergrund. Die Auswertung aller Daten ist bereits abgeschlossen. Es wurde gezeigt, dass die Strahlenantwort 24 h und 72 h nach Bestrahlung mit 10 Gy, unabhängig von der Mutation, in jeder Linie sehr individuell ist. Die Beobachtung der großen intraindividuellen Unterschiede bestätigt die Ergebnisse aus früheren Versuchen. Es wurden unterschiedliche Software Programme für die Netzwerkanalyse genutzt: STRING, Reactome und Ingenuity Pathway Analysis (IPA). Trotz der intraindividuellen Unterschiede konnte gezeigt werden, dass der mitotische Zellzyklus Prozess in *ATM*^{+/+} LCLs nach Bestrahlung betroffen ist, in *ATM*^{-/-} diese Signalwege jedoch nicht gefunden wurden. Es wurde eine Literaturrecherche der Proteine, die in Zusammenhang mit Mitose stehen und in beiden *ATM*^{+/+} dereguliert sind, durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass der sog *Chromosome Passenger Complex* (bestehend aus den Proteinen CDCA8, INCENP und Aurora-B Kinase) betroffen ist, der eine wichtige Funktion bei der Trennung (Abschnürung = *abscission*) der Tochterzellen nach Mitose hat. In der Literatur ist beschrieben, dass ATM benötigt wird, um den sog. *abscission checkpoint* zu initiieren. Das Fehlen von ATM führt zu beschleunigter Abschnürung der Tochterzellen. Im Falle einer Chromatinbrücke im interzellulären Kanal führt die verfrühte Abschnürung zu Chromatinbrüchen. Dies könnte bei *ATM*^{-/-} zum genomisch instabilen Phänotyp beitragen. Die Änderung der Expression der Bestandteile des *Chromosome Passenger Complex* wird nun in einer Zeitreihe vor und nach Bestrahlung mit qPCR und dPCR untersucht. Es soll festgestellt werden, ob die betroffenen Gene in *ATM*^{-/-} und *ATM*^{+/+} transient exprimiert werden und wie sich die Expression über die Zeit nach Bestrahlung verhält (sham oder 10 Gy, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h). In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Rube wurden Proteomanalysen in drei Fibroblasten Zelllinien (WI38) durchgeführt, bei denen das Histonprotein H2AJ überexprimiert, oder ausgeschaltet wurde. Die differentielle Proteinexpression wurde mit der normalen WI-38 Zelllinie verglichen. Die Zelllinien zeigten unter anderem eine veränderte Proteinexpression in Signalwegen des SASP Phänotyps und der extrazellulären Matrixproteine.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt endete am 30.06.2021. Die begonnenen experimentellen Arbeiten werden zurzeit abgeschlossen, ausgewertet und die Daten für weitere Publikationen vorbereitet. Derzeit wird der Abschlussbericht zum Gesamtvorhaben erstellt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Veröffentlichungen: Martin Bucher, Sebastian Trinkl, Dr. David Endesfelder, Tina Weiss, Maria Gomolka, Juliane Pätzold, Ursula Lechel, Ute Roessler, Dr. Hugo de las Heras Gala, Simone Moertl and Augusto Giussani: Dose variations and field inhomogeneity using an x-ray cabinet in radiation biology research – Medical Physics, in review
Vorträge: Gomolka M. et al.: GENE EXPRESSION ALTERATIONS OF THE IMMUNE SYSTEM DECADES AFTER RADIATION EXPOSURE. ConRad 2021, 10.-12. Mai, München

Promotion: Martin Bucher hat seine Promotion am 02.03.21 erfolgreich abgeschlossen. Dissertationsarbeit: Reparaturfoci als Biomarker für Strahlenempfindlichkeit und chronische Strahlenexposition. Universität des Saarlandes 2021

Zuwendungsempfänger: IUF - Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036AX
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2015 bis 31.12.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.306.436,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Boukamp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2.3) Welche Rolle spielen Alters-abhängige Veränderungen in der dermalen Matrix auf das epidermale Schadensprofil nach Kombinationsbestrahlung? • AGE-OTKs: Keratinozyten mit gealterten Fibroblasten/HaCaT Zellen mit gealterten Fibroblasten (Invasion).

2.4) Welche Rolle spielen off Target Effekte der Immunsuppressiva für die Entstehung von UV-induzierten Hautcarcinomen? • Langzeitbehandlung (10 Wochen) von HaCaT Zellen mit Cyclosporin A/Einfluss von auf die Epithel-Mesenchym Interaktion (RNA Expressionsanalyse) /Einfluss von Cyclosporin A plus Kombinationsbestrahlung mit UV-VIS-IR.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zu 2. Finalisierung der Konsortiumspublikation: „Development and characterisation of an irradiation device for biomedical studies covering the solar spectrum with individual regulated spectral bands” Plitta-Michalak, Stricker, Pavez Lorie, Chen, Pollet, Krutmann, Volkmer, Greinert, Boukamp and Rapp.

Zu 2.2) Akute Bestrahlung mit UVB, UVA+B und KAUVIR:

- miR Analyse zur akuten Bestrahlung von NHEK und HaCaT OTKs siehe Report Buxtehude.
- *MMP Induktion durch Bestrahlung:* UVB Strahlung induziert bekanntermaßen die Expression von Matrixmetalloproteasen (MMPs) und speziell MMP1. Wir haben die Sekretion von MMP1, -2 und -3 mittels ELISA quantifiziert und es zeigt sich für *MMP1*: speziell KAUVIR führte zu einer transienten (24 bis 48 h nach Bestrahlung) Induktion; *MMP2*: war 48 h nach Bestrahlung für UVA+B als auch KAUVIR nachweisbar; *MMP3*: wurde am stärksten durch KAUVIR induziert und war für 24 bis 72 h nachweisbar. Dass auch die dermalen Fibroblasten zur MMP Expression beitragen, wurde durch Immunlokalisation von MMP1 bestimmt. MMP1 war 24 h nach Bestrahlung durch UVB in der „Dermis“ nachweisbar war, während UVA+B und KAUVIR erst nach 48 h eine positive MMP1 Färbung zeigten. Für UVA+B war selbst nach 92 h noch MMP1 Expression nachweisbar. D. h. beide, die epidermalen Keratinozyten als auch die dermalen Fibroblasten, sind für die MMP Expression nach Bestrahlung verantwortlich.
- *Einfluss der Bestrahlung auf die Proliferation:* In unseren 2D Zellzyklusstudien kam es durch UVB, UVA+B und KAUVIR 12 h nach Bestrahlung zu einer diskreten S-phase Akkumulation. Wie dieses die Proliferation der Keratinozyten in den OTKs beeinflusst, wurden durch Bestimmung des Proliferationsindex (Ki67+ Zellen in der Basalschicht der Epidermis) 0 bis Tage nach Bestrahlung ermittelt. Direkt nach Bestrahlung kam es durch UVA+B und KAUVIR zu einer Proliferationshemmung, die jedoch nach 24 h überkommen war. Danach kam es, verglichen zur Kontrolle, zu keiner größeren Abweichung. D. h. die Bestrahlung hatte keinen bleibenden Einfluss auf die Proliferation.

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

- *Myofibroblasten und Strahlenabhängigkeit:* ein Anteil der alten Fibroblasten zeichnen sich durch einen Myofibroblastenphänotyp (α SMA+) aus. Bestrahlung, UVA+B und speziell KAUVIR, führt im Gewebeverband (OTK-alt) zum weitgehenden Verlust dieser α SMA+ Zellen. In 2D Bestrahlungsexperimenten und anschließender FACS Analyse haben wir deshalb der Anteil apoptotischer/nekrotischer Zellen ermittelt. Verglichen zu den Kontrollen (10 % für junge und 12 % für alte Fibroblasten) reduzierte sich die Zahl apoptotischer Zellen nach Bestrahlung auf ~ 6 %. Dieser unerwartete Befund zeigt, dass die Bestrahlung für die Fibroblasten nicht toxisch ist, sondern eher zur „Aktivierung/Vitalisierung“ führt. Da auch in der Immunfärbung keine Abnahme von α SMA+ Zellen zu sehen war, können wir schlussfolgern, dass alte Fibroblasten nicht sensitiver gegenüber KAUVIR Strahlung sind als junge und dass Strahlungsbedingte Apoptose nicht für die Abnahme der α SMA+ Zellen in OTK-alt verantwortlich ist.
- *Strahlen-induziertes Degradom:* in OTK-alt liegt bereits ein erhöhter MMP1 und MMP3 Proteinanteil vor. Durch UVA+B und KAUVIR kommt es zudem zu einer klaren Strahlen-induzierten Induktion (Strahlen-induzierte Induktion gilt auch für OTK-jung). Dagegen wird die Expression der endogenen MMP Inhibitoren TIMP1 und TIMP2 durch Bestrahlung nicht verstärkt, was zu einem degradativen Ungleichgewicht führt. Dennoch finden wir in OTK-jung nach Bestrahlung keine proteolytische Aktivität (Gelatinase Assay). OTK-alt zeigen dagegen bereits in Kontrollen Gelatinaseaktivität. Diese wird durch Bestrahlung interessanterweise reduziert. Entsprechend sehen wir nach Bestrahlung auch keine Degradation der Basalmembran oder Reduktion von Collagen. Die Matrixkomponente Hyaluronsäure (HA) wird dagegen in OTK-jung durch UVA+B (nicht aber KAUVIR) reduziert. In OTK-alt, die wenig HA in Kontrollen aufweisen, führt UVA+B und KAUVIR bemerkenswerterweise zur Zunahme von HA - ein klares Anzeichen für Bestrahlungs-induzierte Aktivierung/Normalisierung der alten Fibroblasten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Zu 2.2) • Weiterführende molekulare Auswertung zur akuten Bestrahlung von Hautäquivalente.

Zu 2.3) • Kooperationsversuch zur miR Expression (mit Buxtehude) sowie weitere molekulare Analysen zum Unterschied „Alt“ versus „Jung“ und Bestrahlung - UVA+B versus KAUVIR Gesamtspektrum in den NHEK- und HaCaT Hautäquivalenten, speziell auch bezüglich Sunburn cells, Fibroblasten Proliferation (Zellzahl) und epidermaler Schädigung. Durchführung der RNAseq Analyse (Firma GenXPro) und Auswertung in Kooperation mit Prof. Schaal, HHU Düsseldorf.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vorbereitung zur Einreichung der KAUVIR Lampe zur Erlangung eines Musterschutzes

Zuwendungsempfänger: Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade		Förderkennzeichen: 02 NUK 036B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.295.176,00 EUR	Projektleiter: 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

Arbeitspaket 5: Epigenetische Veränderungen in den 3D-Hautkulturen (organotypischen Kulturen, OTKs) nach UV/VIS/IR-Bestrahlung.

Ergebnisse: Das Transkriptionsprofil von miRNAs nach der Kombinationsbestrahlung wurde im Epithel der 3D-Hautkulturen (OTKs) untersucht. Die Herstellung von OTKs (mit normalen humanen Keratinozyten, NHEKs oder HaCaTs) und die Bestrahlungen wurden in AG1 (Boukamp) durchgeführt. Die OTKs wurden mit UVA, UVB, UVA+UVB oder dem gesamten Spektrum (UVB 0.78 kJ/m² + UVA 40 kJ/m² + VIS 90 kJ/m² + IRA 196 kJ/m²) bestrahlt. Für die RNA-Isolation wurde das

Epithel 6 h nach der Bestrahlung geerntet. Die microRNA-Transkription wurde mit dem FirePlex Assay mit 54 Kandidaten-miRNAs, welche Funktionen bei der UV-Hautkarzinogenese haben könnten, analysiert. In den OTKs mit NHEKs konnte eine signifikant veränderte Transkription ($\geq 1,3$ -fach und $p < 0,05$) bei sechs miRNAs festgestellt werden: miR-7-5p (UVB+UVA), miR-34c-5p (UVB+UVA), miR-101-3p (Gesamtspektrum), miR-125b-5p (Gesamtspektrum), miR-181a-3p (UVB+UVA und Gesamtspektrum) und miR-421 (Gesamtspektrum). Keine der 54 untersuchten miRNAs zeigte eine signifikante Änderung nach der Einzelbestrahlung mit UVA oder UVB. In den OTKs mit HaCaTs wurden vier miRNAs nach der Bestrahlung signifikant verändert: miR-101-3p (UVB+UVA und Gesamtspektrum), miR-155-5p (Gesamtspektrum), miR-421 (UVA, UVB, UVB+UVA und Gesamtspektrum) und miR-503-5p (UVA und Gesamtspektrum). Während miR-101-3p und miR-421 eine Strahlenantwort in OTKs sowohl mit NHEKs als auch mit HaCaTs zeigten, wiesen die anderen sechs miRs eine zelltyp-abhängige Änderung auf. Auffällig war, dass alle acht miRs eine Herunterregulierung aber keine Hochregulierung durch die Bestrahlung zeigten. Besonders interessant war die Identifizierung der Herunterregulierung der miR-101-3p, welcher in zahlreichen Tumoren eine Tumorsuppressorfunktion zugeschrieben wird und welche in unserem SCC-Tumorgewebe reprimiert ist. Um der Frage nachzugehen, wie gut die Vergleichbarkeit zwischen 2D- und 3D-Kultur ist, wurde die miR-Transkription auch in bestrahlter NHEK-2D-Zellkultur und HaCaT-2D-Zellkultur untersucht. Nach der Bestrahlung von NHEK-2D-Zellkulturen wurden vier miRs (let-7f-5p, miR-32-5p, miR-200b-3p und miR-421) induziert und vier miRs (miR-24-3p, miR-181a-3p, miR-203a-3p und miR-503-5p) reprimiert. Bei HaCaT-2D-Zellkulturen konnte eine strahleninduzierte Hochregulierung von miR-23b-3p, miR-26b-5p und miR-378i detektiert werden. miR-7-5p, miR-155-5p und miR-181a-3p waren in HaCaT-2D-Kulturen herunterreguliert. Beim Vergleich von 3D mit 2D konnte nur für miR-181a-3p als einzige miRNA in den NHEK-Kulturen und miR-155-5p in den HaCaT-Kulturen eine ähnliche Regulation festgestellt werden. Unsere 3D- und 2D-Versuche zeigten eindeutig, dass die Auswahl sowohl der Kultursysteme (3D versus 2D) als auch der Zelltypen (NHEK versus HaCaT) entscheidend auf die miRNA-Strahlenantwort einwirkt. Um die ersten Hinweise auf die Funktionalität der identifizierten miRs zu erhalten, wurden mithilfe des Programms „MirTargetLink Human“ die Targetgene der miRs zusammengefasst. Bei den OTKs mit NHEKs konnten BCL-2 (B-cell lymphoma 2, von miR-7-5p, miR-34c-5p, miR-125b-5p getargetet) und TET2 (Ten eleven translocation 2, methylcytosine dioxygenase 2, von miR-7-5p, miR-101-3p, miR-125b-5p getargetet) als Targetgene von je drei miRs festgestellt werden. ATM, BMF, CDH5, E2F3, IL6R, MCL1, MET, MYCN, NANOG, PIK3CD, RAF1, SMAD4 und YY1 sind von je zwei miRs regulierte Gene. Bei den OTKs mit HaCaTs konnten acht Gene (ATM, CCND1, MEIS1, MITF, PIK3R1, SMAD4, VEGFA und WEE1) als Targetgene von je zwei miRs identifiziert werden. Interessanterweise konnte ATM (Ataxia-telangiectasia mutated kinase), ein Sensor für DNA-Schäden (meistens Doppelstrangbrüche), als Targetgen sowohl bei NHEK-OTKs als auch bei HaCaT-OTKs nach Bestrahlung identifiziert werden. ATM ist auch das einzige gemeinsame Targetgen in den beiden OTKs. Nun werden die Funktionen der identifizierten Targetgene und die möglichen Pathways analysiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

- 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.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: IUF – Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH, Auf'm Hennekamp 50, 40225 Düsseldorf		Förderkennzeichen: 02 NUK 036C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.12.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 822.834,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Krutmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Arbeitspaket 1 und 2:

Die bestrahlungsquellenabhängige Reduktion von CPDs in HaCaT Keratinozyten wurde mittels siRNA gegen Reparaturenzyme charakterisiert. Keratinozyten mit einem Knock-out des NRF2 Gens zeigten ebenfalls keinen Unterschied im Reduktionsmuster der DNA Schäden. Dies deutet erneut darauf hin, dass die bereits gezeigte Veränderung der Apoptoserate entscheidend für die unterschiedliche Zellantwort in Abhängigkeit zur Bestrahlungsquelle ist.

Arbeitspakete 3, 4, 5:

Der Tierversuch mit Experimententeil B und dem Aktenzeichen 81-02.04.2018-A024 wurde am 08. Februar erneut gestartet. Die Anzahl der Tiere, die einer Bestrahlung ausgesetzt wurden, ist auf 12 pro Gruppe erhöht worden. Die Tiere werden Montag, Mittwoch und Freitag mit UVB, UVA oder einer Kombination der beiden Quellen bestrahlt, wobei die Ratio zwischen UVB und UVA immer in einem Verhältnis von etwa 1:41 gehalten wird. Die Dosis erhöht sich dabei wöchentlich um 10 %, ausgehend von 0,9kJ/m² UVB bis zum Erreichen der Maximaldosis von 1,5kJ/m² UVB.

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. (iv) Dieser Effekt lässt sich nicht nur in HaCaT Keratinozyten, sondern auch in primären humanen Keratinozyten beobachten. (v) Die Daten der RNA-Sequenzierung zeigen, dass die UVB-Strahlung den größten Einfluss auf das Expressionsprofil der Zellen hat.

In diesem Berichtszeitraum konnte durch transientes Ausschalten des Reparaturenzyms XPA gezeigt werden, dass die Unterschiede bei der Reduktion von DNA-Schäden unabhängig vom Reparatursystem erfolgen. Auch ein über CRISPR-Cas9 vermittelter Knockout von NRF-2 in Keratinozyten zeigte keinen Einfluss auf die zuvor beschriebenen Unterschiede in der Beseitigung von UV-induzierten DNA-Schäden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Arbeitspaket 1 und 2:

Die unterschiedlich starke Induktion des Zelltods in Abhängigkeit zur Bestrahlungsquelle wird weiter analysiert, um den zugrundeliegenden Mechanismus besser erklären zu können.

Arbeitspakete 3, 4, 5:

Die Tumorlast der Tiere wird nach Abschluss des Experimententeil B ermittelt. Gewebeproben werden für histologische und molekularbiologische Analysen entnommen und aufgearbeitet.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 036D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2014 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.444.215,00 EUR	Projektleiter: Dr. Rapp	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Die Arbeitspakete und Meilensteine des Teilprojekts D sind:

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

- DNA Schadensprofile der Kombinationsbestrahlung
Messung der DNA Schadensprofile nach isolierter und kombinierter Exposition (MS4)
- DNA Schadensantwort und Zellalterung
Vergleichende Charakterisierung der DNA Reparatur in gealterten, Chondrozyten-ähnlichen Fibroblasten und nicht gealterten Fibroblasten, unter Verwendung der Lebendzellmikroskopie (MS5)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden die Arbeiten für die Arbeit zur Beschreibung der Bestrahlungsanlage abgeschlossen, ebenso wurden die bisherigen Ergebnisse auf der zellphysiologischen Ebene für die Publikation zusammengestellt und final aufbereitet. Im Anschluss daran erfolgte die eingehende Diskussion der Ergebnisse innerhalb des Konsortiums. Daraus resultierte die fertiggestellte Publikation zur Lampenbeschreibung und den Ergebnissen der Kombinationsbestrahlung in Hinblick auf zelluläre metabolische Aktivität (MTT), Zellzyklusverhalten und klonogenes Überleben.

Für den zweiten großen Fragenblock, nach dem DNA Schadensprofil und der daraus resultierenden DNA Reparatur nach Exposition gegenüber individueller und kombinierter Spektralanteile wurden ebenfalls die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen zusammengestellt, aufbereitet und nun an die Kooperationspartner zur Diskussion herumgeschickt. Die daraus resultierende Publikation besteht bereits als Gerüst und es werden nun weitere Ergebnisse aus dem Konsortium identifiziert, vergleichend analysiert und in das Manuskript eingefügt. Ebenfalls zu diesem Themenkomplex wurden weitere Untersuchungen in Hinblick auf UVB+nIR Exposition unternommen. Dabei wurde die Häufigkeit von DNA Einzelstrangbrüchen und die Menge an einzelsträngiger DNA zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Exposition mit Hilfe der molekularen Marker poly-ADP-Polymere und RPA34 gemessen. Dabei zeigte sich eine durch nIR induzierte Verschiebung des Verhältnisses zwischen Einzelstrangbrüchen und einzelsträngiger DNA.

Für das AP4 wurden aus der AG Boukamp Fibroblasten von unterschiedlich alten Spendern bezogen. Diese Zellkulturen wurden im Berichtszeitraum in Darmstadt etabliert und expandiert. Erste Untersuchungen zur Sensitivität gegenüber UV und Kombinationsbestrahlungen sind bereits erfolgt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Für den kommenden Berichtszeitraum geht es darum, die Publikation zum DNA Schadensmuster abzuschließen und einzureichen. Für die Publikation zum Lampenbau und den damit verbundenen Erkenntnissen zu den Effekten von einzelnen spektralen Bereichen und deren Kombination auf die zellphysiologischen Parameter, könnten eventuell anfallende Revisionsarbeiten anstehen. Diese sind zumindest eingeplant.

Abschließend sollen noch für die Fibroblasten aus jungen und älteren Spendern Reparaturkinetiken für DNA Strangbrüche und CPDs erstellt werden. Diese Ergebnisse sollen in die Betrachtungen zur Fähigkeit dieser Zellen zur Bildung von organotypischen Kulturen (AG Boukamp) mit eingehen.

Auf der diesjährig online stattfindenden Jahrestagung der GBS werden die Ergebnisse präsentiert.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 3.336.492,00 EUR	Projektleiter: 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 Tumorereignis mit denen von Patienten von primären und sekundären Tumoren in Bezug auf das Genom und Genexpression vor und nach Bestrahlung verglichen (AP2). Die notwendigen statistischen und bioinformatischen Mittel werden in AP3 entwickelt. Strahlenbedingte epigenetische Veränderungen in der Genregulation werden in AP4 untersucht. Untersuchungen auf genomischer Ebene zur Erforschung spontaner und strahleninduzierter Veränderungen der Telomere (AP7a) und dosimetrische Untersuchungen zur Ganzkörperdosisbelastung durch strahlentherapeutische Behandlungen mittels strahleninduzierter genomischer Läsionen (AP7b) sind geplant.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Epidemiologische Auswertung von im DKKR erfassten Second-Tumor Ereignissen nach therapeutischer Exposition zu Strahlung (SCAR)
- AP2: Fall-Kontroll-Studie zu Krebserkrankungen im Kindesalter und molekularer Epidemiologie (KIKME) - Genomweite Analyse von Unterschieden in der strahlenassoziierten, genetischen Krebs susceptibility
- AP3: Statistische Techniken zur integrativen genomweiten Analyse
- AP4: Copy-Number-Variation und Methylierung vor und nach Bestrahlung
- AP7a: Genomische Stabilität bei 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: Abschluss der Zusammenführung der unterschiedlichen Datenquellen (u. a. VIVE) und Qualitätskontrolle. Die Dosimetrie wurde fortgeführt mit Auswertung der Organdosen nach ZNS-Bestrahlung (Methodenteil und Ergebnisteil der zugehörigen Doktorarbeit abgeschlossen). Weitere Patientendaten zur Bestrahlungsplanung wurden aus Münster

übermittelt und ausgewertet. Vollständiger Entwurf der Dissertation zu Folgeneoplasien nach ZNS-Bestrahlung erstellt.

- AP2: In der ersten Jahreshälfte des Jahres 2021 wurden in AP2 Bioproben der KiKMe Studie für notwendige Wiederholungsanalysen an AP8 weitergeleitet. In diesem Rahmen wurde die long-non-coding-RNA in 9 Proben neu sequenziert. Zudem wurden die Genotypen von 28 Proben erneut mittels SNP-Array gemessen.
- AP3: Die Prozessierung der Whole Genome Sequenzdaten (WGS) wurden finalisiert. Die Whole Exom Sequenzierungsdaten (WES) wurden Annotiert und auf Mutations-Unterschiede zwischen den Gruppen hin untersucht. Die GSA-Chip Daten von Speichelproben wurden auf ihre Qualität hin untersucht und die autosomalen Chromosomen wurden imputiert. Dafür wurde eine lokale Michigan Imputation Server Instanz eingerichtet.
- AP4: -
- AP7a: Die Analysen zytogenetischer Schäden nach induziertem Replikationsstress mit dem Mikrokern-Assay in GenKiK/KIKME-Fibroblasten von 65 Spendern der Pilotstudie wurden abgeschlossen und werden derzeit vom AP3 statistisch ausgewertet. Aktuell werden ergänzende Studien zum Nachweis von DNA-Schäden und zur Zellzyklusregulierung mittels Immunfluoreszenz, Chromosomenanalysen und Western Blot durchgeführt.
- AP7b: In Kooperation mit dem Materialprüfungsamt Nordrhein-Westfalen wurden dosimetrische Messungen zur genauen Charakterisierung des Neutronen-Photonen Mischfelds am TRIGA-Forschungsreaktor der Uni-Mainz durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Auswertung der aus verschiedenen Quellen integrierten Daten in einer Dosis-Wirkungs-Analyse. Fortführung der retrospektiven Dosimetrie mit weiteren Patienten aus Münster. Abschluss der Promotion zu ZNS-Folgeneoplasien. Abschluss der Promotion zu Organdosen bei ZNS-Bestrahlung.
- AP2: Im kommenden Halbjahr sollen die Ergebnisse der umfangreichen Versuche in mehreren wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht werden.
- AP3: WGS Daten werden auf Mutationen hin untersucht. Die Imputation der GSA-Chip Daten wird abgeschlossen. Ein Teil dieser Daten stammt von denselben Patienten, wie die WGS-Daten. Diese werden dazu verwendet um zu überprüfen, ob es sich bei den in den WGS Daten gefundenen Mutationen um Keimbahnmutationen handelt. Die restlichen GSA-Chip Daten werden verwendet, um zu überprüfen, ob die Mutationen in unabhängigen Tumorpatienten wiedergefunden werden können.
- AP4: Publikation der Forschungsergebnisse.
- AP7a: Bis zum Ende der Projektlaufzeit werden die experimentellen Studien finalisiert und die Daten in Manuskripten zur Publikation zusammengefasst.
- AP7b: Basierend auf den Dosimetriedaten wird eine genaue Bestimmung des Neutronenflusses, des Spektrums des Neutronenflusses, der Photonenenergie und des Neutronen-/Photonen-Verhältnisses der TRIGA-Forschungsreaktor der Uni-Mainz durchgeführt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Zahnreich S., Schmidberger H.: Childhood Cancer: Occurrence, Treatment and Risk of Second Primary Malignancies. *Cancers* (Basel). 2021; 13. doi: 10.3390/cancers13112607

Zuwendungsempfänger: Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 042B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.04.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.066.254,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hankeln	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Forschungsverbund ISIBELA verfolgt das übergeordnete Ziel, den Zusammenhang zwischen einer Strahlenexposition und der Entstehung von 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 (mRNA/LncRNA) von Zellkultur-Proben vor und nach radioaktiver Bestrahlung

AP3: DNA-Sequenzierung des Genoms ausgewählter Probanden

AP4: Replikation der genetischen Daten in einem zweiten unabhängigen Probandenkollektiv

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In der ersten Jahreshälfte 2021 wurden als Wiederholungsexperiment aus 9 RNA-Proben humaner Fibroblasten-Zellkulturen (erhalten von AP2) für die Analyse der lncRNA-Komponente erneut Sequenzier-Bibliotheken erstellt. Diese wurden mit dem Illumina-Hochdurchsatzverfahren auf dem HiSeq 2500 sequenziert und die Daten an die Bioinformatik-Gruppe am IMBEI (AP3) weitergeleitet.

Für das Bestätigungskollektiv wurden 28 DNA-Proben erneut als Wiederholung qualitätsüberprüft, quantifiziert und in entsprechender Konzentration abgefüllt an den Dienstleister Life & Brain, Bonn, zwecks SNP-Analytik versendet. Die Daten haben wir inzwischen erhalten und an AP2 weitergeleitet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Mit der erneuten Sequenzierung der 9 Proben und der Weitergabe der Daten an die Bioinformatik konnten die geplanten Arbeiten abgeschlossen werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Diverse Manuskripte sind in verschiedenen Stadien der Publikation begriffen. Siehe Auflistungen der anderen Projektpartner.

Zuwendungsempfänger: Leibniz-Institut für Präventionsforschung und Epidemiologie – BIPS GmbH, Achterstr.30, 28359 Bremen		Förderkennzeichen: 02 NUK 042C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 711.627,00 EUR	Projektleiter: Dr. Marron	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

Die Publikation zum Studiendesign und dem Rekrutierungserfolg der KiKme-Studie wurde im vergangenen Halbjahr überarbeitet und bei einem anderen Journal zur Veröffentlichung eingereicht. Die Publikation zur Identifikation von Unterschieden in der Genexpression je Proband*innengruppen auf Path-

way-Ebene wurde im vergangenen Halbjahr finalisiert und soll bei einem Journal eingereicht werden. Die Auswertung der Genexpressionsvariation vor und nach Bestrahlung stratifiziert nach Gruppen wurde abgeschlossen und die erste Fassung des Manuskripts umfangreich überarbeitet und um zusätzliche Analysen bezüglich Geschlecht, Ethnie sowie Tabak- und Alkoholkonsum ergänzt. Die zugehörige Publikation soll im kommenden Halbjahr ebenfalls veröffentlicht werden. Darüber hinaus wurde im vergangenen Halbjahr die sequenzierte long-non-coding RNA (lncRNA) von 156 Teilnehmer*innen nach hoher (2 Gy) und niedriger (0.05 Gy) Strahlenexposition ausgewertet. Hierbei wurden mit der Analyse auf differenzielle Expression der lncRNA etwaige Gruppenunterschiede detailliert untersucht und die Transkripte mittels der standardisierten Strahlungsexperimente und der gewichteten Koexpressionsnetzwerken aus messenger- und lncRNA funktional der Strahlenantwort zugeordnet. Auf diesem Wege wurden zwei lncRNAs erstmalig mit der zellulären Strahlenantwort assoziiert. Diese könnten sich zukünftig für die klinische Arbeit als potentielle Ziele in der Therapie von strahlenresistenten Tumorentitäten, aber auch als prognostische Marker für kurz- und langfristige Strahlenschäden bei deregulierter Expression erweisen.

Neben den weiteren Auswertungen der Bestrahlungsexperimente wurde im vergangenen Halbjahr auch die Auswertung der Fragebogendaten intensiviert. Für eine weitere Publikation wurden hierzu Assoziationen zwischen dem Auftreten von Kinderkrebskrankungen im Kindesalter und auftretenden Spätfolgen sowie zu verschiedenen Lebensstilfaktoren untersucht. Überlebende von Kinderkrebskrankungen zeigten hierbei insgesamt eine höhere Krankheitsprävalenz und nahmen folglich auch mehr Medikamente ein. Nachdem der entwickelte Fragebogen zur lebenslangen, medizinischen Strahlenexpositionseinschätzung mittels der vorhandenen Therapievariable (Therapie ja/nein) für Chemotherapie sowie für Strahlentherapie bei Proband*innen mit mehr als einer Primärneoplasie als valide bewertet wurde, wurde mit der Analyse von therapieassoziierten Spätfolgen begonnen. Die Dosisdaten zur Chemo- und Strahlentherapie konnten leider von AP1 noch nicht zur Verfügung gestellt werden. Darüber hinaus wurde im vergangenen Halbjahr mittels konditioneller logistischer Regression die familiäre Krebsbelastung von Kinderkrebspatient*innen hinsichtlich verschiedener Verwandtschaftsgrade, weiblichen, männlichen, mütterlichen und väterlichen Verwandten betrachtet. Hierbei wurde ein erhöhtes Odds Ratio bei Verwandten väterlicherseits gefunden, welches jedoch nach Ausschluss von Familien, die die Kriterien für ein Li-Fraumeni-Syndrom erfüllten und somit als potenzielle Träger von TP53 Mutationen gelten, nicht mehr vorhanden war. Zwischen ehemaligen Kinderkrebspatient*innen mit sekundären primären Neoplasien und familiären Krebsfällen fanden sich, bis auf einen höheren Prozentsatz von Krebs bei weiblichen Angehörigen, keine Assoziationen. Hinsichtlich anderer nicht-maligner Erkrankungen in den Familien von Kinderkrebspatienten zeigte die konditionelle logistische Regression im Vergleich zu den Kontrollen ein erhöhtes Odds Ratio für kardiovaskuläre Erkrankungen, das möglicherweise auf gemeinsame genetische, zelluläre und Signal-Mechanismen zurückzuführen ist.

Die Informationen zu vorhandenen Bioproben wurden fortlaufend qualitätsgesichert in der Bioproben-datenbank aktualisiert. Es befinden sich weiterhin 6.566 Bioproben in der Datenbank, von denen 33,3 % für Analysen genutzt wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Halbjahr sollen die umfangreichen Analysen aller erhobenen Studiendaten abgeschlossen und zur Publikation gebracht werden. Dies betrifft neben der weiteren Auswertung der Fragebogendaten vor allem die nun komplettierten umfangreichen genetischen Daten. Hierbei wird in Zusammenarbeit mit AP3 die nach mRNA-Daten gewichtete Analyse auf krebsrelevante Punktmutationen durchgeführt und validiert sowie um Analysen zu Copy Number Variationen ergänzt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 042D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2015 bis 31.08.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.190.568,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP5: DSB-Reparatur- und G2/M-Checkpoint-Messungen und Genomanalysen prädisponierter Personen 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: Im Fokus der Arbeiten von AP5 stehen Ursachen und Lokalisation von spontan auftretenden DSBs. Im letzten Berichtszeitraum wurden vielversprechende ChIP-Proben von zwei Modellzelllinien (DivA und der Fibroblasten-Zelllinie 82-6 hTert) zur Sequenzierung gegeben. Bei den DivA-Zellen, die über ca. 100 annotierte Schnittstellen des Restriktionsenzym *AsiSI* verfügen, wurden in den Sequenzierungsdaten einige ausgewählte Schnittstellen manuell überprüft und dabei eine Anreicherung der Signale aus der Sequenzierung (und damit von DSBs) an den entsprechenden Schnittstellen festgestellt. Diese Ergebnisse bestätigten die zuvor erhaltenen Resultate aus der qPCR und dienten als interne Positivkontrolle für die ChIP-Seq mit der Fibroblasten-Zelllinie 82-6 hTert. Die Herausforderung bei der Analyse der Fibroblasten besteht darin, dass sich die Schäden in jeder Zelle der Population zufällig verteilen und damit jeweils an anderen Positionen vorliegen. Dies erzeugte bei der ersten bioinformatischen Analyse eine Gleichverteilung der Sequenzierungssignale über das Genom hinweg. Um dies zu umgehen, wurde in einer detaillierteren Analyse ausgenutzt, dass Brüche u. a. etwas häufiger in aktiv transkribierten Genbereichen auftreten. Hier kann es bei der Replikation zu Konflikten mit der Transkription kommen, die dann zu einem DSBs führen. Dieser Effekt tritt spontan auf und wird noch verstärkt, wenn beispielsweise durch oxidativen Stress das feinregulierte Timing von Replikation und Transkription gestört wird. Um aktiv transkribierte Bereiche in den 82-6 hTert zu identifizieren, wurde ein Experiment mit anschließender mRNA-Sequenzierung durch die Firma BGI Genomics durchgeführt und die resultierenden Daten von uns bioinformatisch ausgewertet. Eine vorläufige Korrelationsanalyse beider Datensätze (ChIP-Seq und mRNA), bei dem das Genom in Abschnitte von 0.5 Mbp eingeteilt wurde, zeigt, dass in aktiv transkribierten Bereichen vermehrt DSBs vorliegen. Dies ist als Trend für unbehandelte Zellen mit spontan aufgetretenen Schäden zu erkennen und wird deutlicher, wenn in den Zellen oxidativer Stress ausgelöst wurde. Diese Ergebnisse zeigen einen wichtigen Mechanismus in Bezug auf die Tumorgenese auf, da dabei überwiegend Sequenzen von Genen, die für die zelluläre Integrität wichtig sind, beschädigt werden könnten. Ob tatsächlich in Genen mehr Mutationen vorliegen, die aus falsch reparierten DSBs resultieren können, werden die Analysen der durchgeführten Sequenzierungen des gesamten Genoms (WGS) zeigen.

AP6: Die Experimente zur Analyse der DSB-Reparaturkapazität wurden abgeschlossen. Die statistische Analyse verifiziert einen signifikanten Unterschied bei der Reparaturkapazität nach Bestrahlung mit 2,5 mGy zwischen ehemaligen Kinderkrebspatienten und gesunden Probanden. Bei 5 mGy und 10 mGy war dieser Unterschied nur als Trend zu erkennen bzw. war dieser nach 100 mGy nicht mehr sichtbar. Dies deutet darauf hin, dass die Zellen der Krebspatienten bei sehr geringen Schädigungen bereits reparieren und dabei das Risiko einer Fehlreparatur in Kauf nehmen. Dadurch könnten sich über die Zeit Mutationen in den Zellen ansammeln, die letztendlich die Krebsentstehung initialisieren bzw. fördern.

Im Rahmen einer Bachelorarbeit wurde die Analyse des Checkpoints nach Bestrahlung mit 3 Gy vorgenommen. Durch die zum Teil manuelle Auswertung des Mitotischen Indexes konnten sogar etwas unscharfe Bilder, bei denen die automatische Zellerkennung nicht funktionierte, mit in die Auswertung eingeschlossen werden. Dadurch konnten letztendlich 147 Zelllinien in die Analyse einfließen. In der spontanen Proliferation und der Dauer, die der Checkpoint nach Schädigung aufrechterhalten wird, zeigten sich große interindividuelle Unterschiede innerhalb der Gruppen (SPN, FPN, gesunde Probanden). Ein Unterschied zwischen den Gruppen konnte nur für die Aufrechterhaltung des Checkpoints zwischen ehemaligen Kinderkrebspatienten und gesunden Probanden festgestellt werden (die statistische Analyse wird derzeit vorbereitet).

4. Geplante Weiterarbeiten

AP5: Die Daten der Sequenzierungsansätze (ChIP-Seq, mRNA-Seq, WGS) werden bioinformatisch analysiert und komplementierende Experimente in Abhängigkeit der erzielten Ergebnisse werden durchgeführt.

AP6: Die Daten werden für eine Veröffentlichung vorbereitet und notwendige Kontrollexperimente sowie statistische Analysen werden durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		Förderkennzeichen: 02 NUK 047A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 806.645,00 EUR	Projektleiter: Dr. Selmansberger	

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 Normalgewebeprobe 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 (HGMU, BfS, CUB, IFZ, LMU und UKF) gemeinsam bearbeitet werden:

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung

AP1.1: Identifizierung zentraler Netzwerkmodule der Strahlenantwort

Der zeitaufgelöste Transkriptomdatensatz (8 Zeitpunkte nach Bestrahlung mit 0 Gy (sham)/8 Gy) von Mundschleimhaut-Keratinocytenzellen zweier gesunder Spender und zwei Kopf-Hals-Tumor-Zelllinienklonen (Cal33) wurde hinsichtlich der differentiellen Strahlenantwort in Zellen mit unterschiedlicher Strahlensensitivität untersucht. Es wurden Signalwege und Gene identifiziert, welche als Kandidaten für eine Modulation der Strahlenantwort infrage kommen. Dabei wurden PSMD10 und CD40 als Kandidaten für weiterführende Analysen zur Modulation der Strahlenantwort mittels geeigneter Wirkstoffe oder siRNAs ausgewählt, deren Wirkung im Koloniebildungsassay und mittels CyTOF untersucht werden soll.

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

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

In enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern (BfS, IFZ, LMU, CUB) wurden die Analysen der generierten Daten zur molekularen und funktionellen Charakterisierung des HNSCC-Zelllinien Panels (n = 11) und den *in vivo* Tumorproben des Panels weitergeführt und am HMGU in den Manuskript-Entwurf integriert.

AP3: Translationale Validierung von Netzwerken und Markern in Patientengewebe

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

Von der Pathologie des UKF wurden insgesamt Tumor (T)- und Normalgewebeproben (N) von n = 29 HNSCC Patienten erhalten, wobei für n = 19 Patienten sowohl T als auch N vorlagen. Die Bestimmung des HPV-Status der n = 28 T erfolgte mittels p16^{Ink4a}-Immunhistochemie (IHC) in Kombination mit dem PCR-Nachweis Mukosa-assoziiierter HPV-DNA. n = 8 T wurden als HPV-positiv klassifiziert, da sie sowohl für den IHC p16^{INK4a}- als auch für den HPV-DNA-Status positiv eingestuft wurden. Für n = 28 T und n = 18 N wurden RNAseq Daten generiert, wobei die erste Qualitätsanalyse für alle Proben erfolgreich verlief. In Zusammenarbeit mit dem BMBF-Projekt Metabolist wurden von n = 28 T MALDI MSI Messungen auf Metabolit-Ebene (100-1060 Da) durchgeführt. Eine erste Analyse zeigte die heterogene Verteilung der Metaboliten. Vom UKF wurden Mundschleimhaut-Keratinocytenzellen von n = 20 Patienten 96 h nach Bestrahlung mit 0 (sham) und 6 Gy erhalten. Es wurde RNA isoliert und Sequenzierungsbibliotheken für eine RNAseq erstellt.

Bedingt durch die Corona-Pandemie fand das Projekttreffen vom 18.-19.05.2021 virtuell in Form einer Videokonferenz statt, an der H. Zitzelsberger, P. Weber, K. Unger, S. Mwiberi und J. Hess für das HMGU teilnahmen.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Early senescence and production of senescence-associated cytokines are major determinants of radioresistance in head-and-neck squamous cell carcinoma: U Schoetz, D Klein, J Hess, A Sieber, A Thomssen, K Unger, V Jendrossek, H Zitzelsberger, N Blüthgen, C Belka, B Klinger, K Lauber. *Cell Death & Disease*, in revision.

Integration of p16/HPV DNA status with a 24-miRNA-defined molecular phenotype improves clinically relevant stratification of head and neck cancer patients: J Hess, K Unger, P Weber, K Lauber, M Henke, H Zitzelsberger, C Belka. *European Journal of Cancer*, under review.

Therapy-driven selection of transcriptional subtypes in matched primary and recurrent head and neck cancer: P Weber, J Hess, K Unger, K Lauber, C Belka, H Zitzelsberger. *Clinical Cancer Research*, under review

Zuwendungsempfänger: Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter		Förderkennzeichen: 02 NUK 047B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 516.332,00 EUR	Projektleiter: Dr. Hornhardt	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das übergeordnete Ziel dieses Verbundprojekts ist die Identifizierung von molekularen Zielstrukturen und Signalnetzwerken, die die zelluläre Strahlenantwort in Tumorgewebe von Kopf-Hals Tumoren modulieren. In einem zweiten Schritt werden diese Signalwege und Repräsentanten auch in Normalgeweben auf ihre Beteiligung bei Strahlenreaktionen überprüft. Basierend auf den in vitro und in vivo Modellen mit charakterisierter Strahlenempfindlichkeit des Vorgängerprojekts ZiSS (02NUK024) und den identifizierten gemeinsamen Signalwegen von strahlenresistenten, normalsensitiven und hypersensitiven Zellkulturmodellen wird die Hypothese überprüft, ob diese gemeinsamen Signalwege eine zentrale Bedeutung bei der Ausprägung eines strahlenresistenten Phänotyps in Kopf-Hals Tumoren sowie bei der Strahlenreaktion im Normalgewebe haben. Durch Perturbationsexperimente werden die regulatorischen Netzwerke modelliert, um zentrale Netzwerkrepräsentanten als mögliche Biomarker und therapeutische Angriffspunkte zu charakterisieren. Konsequenterweise erfolgt daraufhin die Übertragung der Erkenntnisse aus den präklinischen in vitro und in vivo Modellen auf menschliche Primärgewebeproben. Hierzu werden zunächst geeignete Nachweismethoden entwickelt und etabliert. Darüber hinaus werden Kollektive für Tumor- und Normalgewebe etabliert, die eine Verknüpfung der gemessenen Marker mit klinisch strahlenempfindlichen oder strahlenresistenten Phänotypen erlauben.

Schließlich sollen im geplanten Verbundprojekt der wissenschaftliche Austausch und Nachwuchs gefördert werden und zudem die zukunftsweisende Systembiologie in die Strahlenforschung integriert werden.

Weitere Verbundpartner sind Abt. für Strahlenzytogenetik, HelmholtzZentrum München; Institut für Pathologie, Charite Berlin; Institut für Zellbiologie, Universitätsklinikum Essen; Klinik u. Poliklinik für Strahlentherapie u. Radioonkologie, Ludwig-Maximilians-Universität München; Klinik für Strahlenheilkunde, Universitätsklinikum Freiburg.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Netzwerkanalyse und Systemmodellierung
Schwerpunkt BfS: 1.3 Implementierung von Nachweismethoden
- AP2: Funktionelle Charakterisierung und präklinische Validierung von Strahlenantwort-relevanten Netzwerken
Schwerpunkt BfS: 2.4 Funktionelle Analyse und Validierung therapeutisch relevanter 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: Erste massenspektrometrische Untersuchungen von Blutplasma wurden durchgeführt, um diese Methode zur Analyse von Blutproteinen zu etablieren. Es wurden über 200 Plasmaproteine pro Probe detektiert. Entzündungsfaktoren konnten nicht identifiziert werden.
- AP2: Zur Charakterisierung der in die Untersuchungen einbezogenen HNSCC-Zelllinien wurden Wachstumskurven dieser Zelllinien angefertigt und die Daten für eine gemeinsame Veröffentlichung an den Kooperationspartner HMGU übergeben.
Die Charakterisierung der zellulären Strahlenempfindlich von 30 lymphoblastoiden Zelllinien (LCLs) generiert aus Blutzellen von Brustkrebs- und HNSCC-Patienten mit beschriebener Strahlenreaktion nach Radiotherapie (15 reagierten sensitiv, 15 normal) wurde abgeschlossen. Die untersuchten Parameter metabolische Aktivität (WST Assay, indirekter Nachweis für Zelltod), DNA-Reparatur (γ H2AX-Assay) und Zellzyklusanalysen (FACS) nach Bestrahlung zeigten keine Assoziation mit der klinischen Strahlenempfindlichkeit der Patienten.
Mit dem Kooperationspartnern Uniklinikum Freiburg und der Research Unit Protein Science des HMGU wurde erfolgreich ein Protokoll zur Analyse von Keratinozyten isoliert aus Mundschleimhautbiopsien etabliert. Dazu wurden Mundschleimhautzellen von fünf Probanden nach in vitro Bestrahlung zu zwei Zeitpunkten (24 h und 96 h) untersucht, über 5000 Proteine wurden detektiert. Dabei wurden unterschiedlich deregulierte Proteine bzw. Signalwege zu unterschiedlichen Zeitpunkten (24 h, 96 h) nach Bestrahlung im Vergleich zu unbestrahlten Kontrollzellen identifiziert. Pathway-Analysen zeigen typische Reaktionen der Keratinozyten nach Stress und Verwundung und bilden somit die Charakteristika der Zellen gut ab. Die Daten wurden durch massenspektrometrische Analyse der Biopsie-Keratinozyten von weiteren Probanden weitgehend bestätigt. Zur Validierung der einmaligen Biopsie-Proben wurde die Keratinozyten-Zelllinie OKF6-tert1 (aus Mundschleimhaut wie die Biopsien) untersucht. Die massenspektrometrische Analyse der Zelllinie bei gleicher Dosis und gleichen Zeitpunkten zeigte sehr ähnliche Ergebnisse und damit Eigenschaften wie die primären Zellen, so dass ausgewählte Signalwege in der Linie validiert werden können. Dazu wurde ein Wundheilungstest (Scratch-Assay) und Immunfärbungen mit OKF6-Zellen etabliert. Interessanterweise zeigte die ebenfalls getestete Keratinozyten-Zelllinie HaCat aus der normalen Haut etwas andere Eigenschaften.
- 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 Verteilung und Aufarbeitung der Mundschleimhautkulturen wurde mit den Verbundpartnern abgestimmt.
Die in Freiburg gesammelten Mundschleimhautproben aus Biopsien von Hals-Kopf-Tumorpatienten wurden für die Kooperationspartner angezogen und zur Verfügung gestellt. Das BfS erhielt Material für massenspektrometrische Proteinanalytik sowie Präparate für den zuvor etablierten Reparaturfoci-Assay (RF-Assay, γ H2AX/53BP1). Der RF-Assay wurde erfolgreich durchgeführt. Die Daten befinden sich in der Auswertung. Die in den Präparaten auffälligen Mikrokerne (Schäden der DNA in Form von Kleinkernen) wurden aufwändig manuell gezählt und werden in die Auswertungen einbezogen.
- AP4: Das erste Projekttreffen 2021 wurde aufgrund der Corona-Situation als Videokonferenz am 18./19. Mai 2021 durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die Weiterarbeit wird nach Arbeitsplan durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Subedi P, Gomolka M, Moertl S, Dietz A.: Ionizing radiation protein biomarkers in normal tissue and their correlation to radiosensitivity - systematic review. J Personalized Med (Review) eingereicht (im Review-Prozeß)
Für einen Vortrag bei der deGBS (27.-29.9.2021) wurde ein Abstrakt eingereicht: Subedi P, Thomsen AR, Aldrian C, Monroy Ordonez EB, Hauck S, Mörtl S, Henke M, Gomolka M and Hornhardt S. Proteome analysis identified wound healing processes as major radiation-regulated pathways in keratinocytes

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 047C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 688.212,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lauber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im vorliegenden Bericht werden Arbeiten des Projektpartners LMU zu AP1-4 dargestellt.

Im berichteten Zeitraum fand der experimentelle Forschungsbetrieb in der Klinik für Strahlentherapie pandemiebedingt immer noch mit Einschränkungen statt. Um Patient*innen und klinisch tätiges Personal zu schützen, wurden die Home-Office-Regelungen für das forschende Personal verlängert. Experimentelles Arbeiten war nur in reduzierter Form des Normalbetriebs möglich. Dies betraf weiterhin vor allem die im Projekt geplanten tierexperimentellen Arbeiten, da von behördlicher Seite mit Nachdruck empfohlen wurde, tierexperimentelle Arbeiten auf ein absolutes Minimum zu beschränken (um bei einem eventuellen Co-

vid-19-Ausbruchsgeschehen vorzeitige Versuchsabbrüche zu vermeiden). Die daraus entstandenen Verzögerungen bei der Bearbeitung des vorliegenden Projektvorhabens und die Unterschreitung des Mittelverbrauchs im Vergleich zur Kostenplanung werden unter Punkt 4 und 8-12 berichtet.

Die geplante Publikation zur Bedeutung der zellulären Seneszenz und des damit verbundenen sekretorischen Phänotyps wurde gemeinsam mit den anderen Projektpartnern fertiggestellt und eingereicht. Die Reviewer-Kommentare des Peer-Reviews liegen vor und werden aktuell im Rahmen der Revision bearbeitet. Eine Resubmission ist geplant für Q3-2021.

Aus diesem Projekt wurde eine inhaltliche Brücke zum Verbund METABOLiST (02NUK061) erschlossen, Experimente und Datenauswertungen laufen aktuell bei den METABOLiST-Partner*innen.

Die experimentellen Arbeiten zur Beteiligung eines Stammzell-Oberflächenrezeptors an den Mechanismen der Radioresistenz von HNSCC-Zellen (im Rahmen von ZiSStrans) sind abgeschlossen. Eine inhaltliche Brücke zum Verbund METABOLiST (02NUK061) wurde identifiziert und in vernetzenden Videokonferenzen konkretisiert. Aktuell werden von den METABOLiST-Partner*innen Experimente hierzu durchgeführt.

Für die geplante HNSCC-Zelllinien-Publikation wurden gemeinsam mit dem Projektpartner CUB CyTOF-Analysen durchgeführt, die Auswertungen hierzu wurden abgeschlossen.

Im Teilprojekt mit den generierten radioresistenten Cal33-Zellklonen führt der Partner HMGU aktuell die Auswertung von RNASeq-Analysen aus Gewebeproben explantierter Tumore durch. Danach soll vom Partner IZB zeitnah ein Publikationskonzept erstellt werden.

Die zellbiologische Charakterisierung der aus der heterogenen Ausgangszelllinie Cal33 isolierten 20 neuen Subklone wurde abgeschlossen. Die vom Projektpartner HMGU erhobenen Daten der RNASeq-Analysen wurden hiermit integriert. Es zeigte sich eine klare Anreicherung von spezifischen DNA-Schadensreparatur-Regulatoren mit der Radioresistenz. Ausgewählte Kandidaten befinden sich aktuell in der funktionellen Charakterisierung. Vom Projektpartner CUB wurden zusätzlich CyTOF-Analysen durchgeführt. Die Ergebnisse liegen vor, und das weitere Vorgehen wird aktuell zwischen den Partnern abgestimmt.

In Analogie zu den isolierten Cal33-Subklonen wurden von 3 HNSCC-Patientenproben jeweils 5 Subklone isoliert, radiobiologisch charakterisiert und die erhaltenen Daten mit RNA-Sequenzierungsdaten (erhoben vom Partner HMGU) integriert. Die erhaltenen patientenspezifischen Resistenz-Phänotypen werden aktuell funktionell charakterisiert – auch in Zusammenarbeit mit dem Verbund METABOLiST, da für einen Patienten ein metabolischer Radioresistenz-Phänotyp beobachtet wurde.

Sonstiges:

Das halbjährliche Treffen des Verbundes fand virtuell am 18./19.05.2021 (jeweils 9-15 Uhr) statt. Eine zusätzliche abstimmende Videokonferenz wurde am 02.03.2021 (14-16 Uhr) abgehalten. Für den Partner LMU nahmen jeweils Dr. Radostin Galabov (PostDoc), Pablo Branz (Medizindoktorand) und Prof. Dr. Kirsten Lauber (Projektleiterin) teil.

Seit März 2021 arbeitet eine neue Medizindoktorandin an diesem Projekt mit.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Die Gesamtverzögerung des Projektvorhabens beim Projektpartner LMU liegt bei 15 Monaten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Covid-19-bedingt fand die Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie (DEGRO) virtuell statt. Folgender Beitrag aus ZiSStrans wurde vorgestellt:

Cellular Cooperation: Why the plating efficiency-based Colony Formation Assay is less robust than desired
Brix, N, Samaga, D, Hennel, R, Gehr, K, Zitzelsberger, H, Lauber, K; STRAHLENTHERAPIE UND ONKOLOGIE 197, S202; DEGRO Jahrestagung 2021 (virtuell)

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 047D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 739.080,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Jendrossek	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

Das Verbundprojekt besteht aus den sechs Projektpartnern: Abteilung Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München (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 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 gemäß Arbeitsplan weiter fortgeführt (Verzögerungen vgl. Zwischenberichte 2/19 und 1/20). Hierbei konnten nun die Arbeiten zur SASP-Inhibition erfolgreich abgeschlossen und bereits publiziert werden (s. u.). Die Arbeiten bzgl. zur Wirkung eines Immunmodulators werden weiter fortgeführt.

Die Experimente zur molekularen, zell- und radiobiologischen Charakterisierung der beiden durch wiederholte *in vitro* Bestrahlung generierten Klone einer HNSCC-Zelllinie mit unterschiedlicher Radiosensitivität (vgl. Zwischenbericht 2/19) wurden fortgesetzt.

Die erhobenen Daten der erhaltenen und weiterverarbeiteten retrospektiven Speichelproben (vgl. Zwischenbericht 2/20) werden derzeit (bzgl. eines sich abzeichnenden Musters an Normalgewebsveränderungen) quantifiziert sowie statistisch ausgewertet. Außerdem wurde die Etablierung der Phänotypisierung der Immunzellzusammensetzung im peripheren Blut mittels Multicolor-Durchflusszytometrie für das humane System an Proben gesunder Spender abgeschlossen. Diese Methodik steht nun für ergänzende Untersuchungen zur translationalen Validierung identifizierter Netzwerkrepräsentanten und Marker einer veränderten Immunregulation im Blut von Patienten zur Verfügung. Erste Patientenproben für entsprechende Analysen wurden vom Partner BFS/HMGU erhalten.

Bedingt durch die Corona-Pandemie konnte das im Frühjahr 2021 geplante Projekttreffen in Berlin nicht stattfinden. Dieses wurde durch ein am 18.-19. Mai stattfindendes virtuelles zweitägiges Treffen mit allen Partnern und Vorstellung der Projektfortschritte ersetzt, an dem für den Partner IFZ Essen V. Jendrossek, D. Klein, C. Hansel, F. Wirsdörfer, I. Bocci und J. Matschke teilnahmen. Außerdem fand zur internen Abstimmung am 2. März 2021 eine Telefonkonferenz aller Partner statt, an der für den Partner IFZ Essen V. Jendrossek, D. Klein, F. Wirsdörfer teilnahmen.

4. Geplante Weiterarbeiten

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen

Hansel C, Barr S, Schemann AV, Lauber K, Hess J, Unger K, Zitzelsberger H, Jendrossek V, Klein D. Metformin Protects against Radiation-Induced Acute Effects by Limiting Senescence of Bronchial-Epithelial Cells. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 30;22(13):7064. doi: 10.3390/ijms22137064.

Poster/Vorträge/Preise

V. Jendrossek, eingeladener Vortrag Mercator Research Center Ruhr (MERCUR) Graduiertenkolleg "Hochpräzisionsstrahlentherapie, „Biological aspects of the radiation response: Immune changes in response to radiotherapy“

V. Jendrossek eingeladener Vortrag DFG Graduiertenkolleg Marburg „Radiotherapy-immune interactions: molecular mechanisms and relevance to radiation oncology, 26. März 2021 (virtuell)

V. Jendrossek eingeladener Vortrag Europäische Krebsforschungsgesellschaft (EACR2021 Turin) „Metabolic hallmarks of radioresistance“ Juni 2021(virtuell)

F. Wirsdörfer CD4+ T lymphocytes contribute to radiation-induced pneumopathy. Virtuelle Jahrestagung EACR 2021, 09-12 June 2021; (Poster)

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

Zuwendungsempfänger: Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin		Förderkennzeichen: 02 NUK 047E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.03.2017 bis 28.02.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 582.708,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Blüthgen	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum 1. Halbjahr 2021 wurde als wichtigste Aufgabe die mit CyTOF-Einzelzellmessungen des ZiSS-Trans Panels ausgewertet. Hierzu wurden von der HMGU isogene Zelllinien in einer Zeitreihe bestrahlt und nach Berlin geschickt. Hier wurden dann auf Einzelzellebene die Signalwegaktivitäten und Proteinmessungen mit Hilfe der CyTOF-Methode durchgeführt. Ein entscheidender Fortschritt, hochaufgelöste Zeitreihen zu bestimmen war auf den resultierenden Daten wurden die bereits entwickelten Verfahren zur Zellzyklusannotation sowie der Zellgrößenbestimmung und -regression angewendet. Da die Messmethode destruktiv ist, ist es nicht möglich, die gleiche Zelle zu verschiedenen Zeiten vor und nach der Bestrahlung zu messen. Um nun die Antworten einzelner Zellen auf die Bestrahlung zu bestimmen, müssen daher computerbasierte Methoden entwickelt und angewendet werden, die die wahrscheinlichste Zuordnung von Zellen zu den verschiedenen Zeitpunkten durchführt. Dazu werden nun Methoden des maschinellen Lernens („latent representation“, UMAP, „optimal transport“) weiterentwickelt und genutzt, die bereits erste interessante Ergebnisse generierten. Insbesondere können Zellzyklusblock und -release durch Bestrahlung gut modelliert werden.

Weiterhin wurden neue Verfahren zum Cell-barcoding und der In-situ-Fixierung von Zellen getestet, die es ermöglichen, deutlich effizienter und schneller größere Experimente durchzuführen. Hierbei werden die Zellen in den Multi-Well-Platten fixiert und erst danach mit stabilen Isotopen von seltenen Erden gebarcodet und vereinzelt. Das erleichtert zum einen die experimentelle Durchführung, und führt auch zu reproduzierbareren Ergebnissen, da die Zellen nicht unfixiert von der Platte gelöst werden müssen. Ein weiterer wesentlicher Schritt ist der Einsatz von mono-isotopischen Cis-Platin, das eine weitere Möglichkeit des Barcodens bietet und es erlaubt, 60 verschiedene Bedingungen problemlos gleichzeitig zu messen.

Eine Daueraufgabe des Teilprojekts ist die Weiterentwicklung und Koordination des Datenmanagements zusammen mit dem HMGU.

4. Geplante Weiterarbeiten

Es werden weiterhin Experimente zur Validierung des Signalwegs ZISS1 durchgeführt (in enger Kooperation mit den Partnern). Nach erfolgter Auswertung der Messungen zu den durchgeführten Zeitreihenexperimenten, werden gezielte Messungen zur Bestätigung der Modelle durchgeführt, analysiert und mit den Modellen verglichen. Das Datenmanagement mit der HMGU wird weiterentwickelt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Benedikt Obermayer, Eric Blanc, Yana Ruchiy, Thomas Sell, Soulafa Mamlouk, Roberto Arsie, Tzu-Ting Wie, Kathleen Klotz-Noack, Roland F Schwarz, Birgit Sawitzki, Carsten Kamphues, Dieter Beule, Markus Landthaler, Christine Sers, David Horst, Nils Blüthgen, Markus Morkel. Mitogen-activated protein kinase activity drives cell trajectories in colorectal cancer EMBO Mol Med (2021): e14123. <https://doi.org/10.15252/emmm.202114123>

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Friedrichstr. 39, 79098 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 047F
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2017 bis 31.03.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 611.208,00 EUR	Projektleiter: 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: Mit Ende der Pandemie-bedingten Einschränkungen wurden im Berichtszeitraum 18 neue Patienten prospektiv eingeschlossen, vor- und therapiebegleitend untersucht, entsprechende Blut-, Serum- und Speichelproben vor und während der Strahlenbehandlung gewonnen, untersucht, versandt oder für gebündelte Analysen asserviert. Von 11 dieser Patienten wurden Schleimhautbiopsien entnommen, kryokonserviert und auf Strahlenempfindlichkeit getestet.
Für zelluläre und zell-sekretorische Analysen der beteiligten Partner von zeitabhängiger bestrahlungsinduzierter Veränderung von (1) Genexpression, (2) Transkriptom, (3) Protein-Profil, (4) Zytokin-Sekretion sowie (5) von Doppelstrangbrüchen wurden asservierte orale Keratinozyten von 20 bisher prospektiv erfassten Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren aufbereitet und den beteiligten Laboren zugesandt. Das umfangreiche Probenmaterial (n = 720) bedurfte einer Identifikations- und Beschriftungscodierung, der in einer Datenbank mit den entsprechenden Bestrahlungs- und klinischen Daten der Patienten hinterlegt wurde.
- AP4: Daten zur Demographie, Therapie und Therapieeffekt der aktuell behandelten Patienten wurden erfasst, aktualisiert und entsprechende Biomaterialien für die Analyse asserviert oder vorbereitet.
- AP5: Nachwuchsförderung, Training und interdisziplinärer Austausch erfolgten im Berichtszeitraum (s. auch Bericht des Sprechers, Prof. Dr. Zitzelberger) angesichts der Pandemie ausschließlich telefonisch und im Rahmen von Videokonferenzen. Die Frequenz dieser virtuellen Treffen wurde auf erhöhtem Niveau belassen, um einen ausreichenden Austausch aufrecht zu erhalten.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die weitere Tätigkeit wird dem in Antrag spezifizierten Arbeitsprogramm folgen.

FF-Biopsien/Resektate, Speichelproben, Serumproben und Mundschleimhautbiopsien werden entsprechend geltendem Hygienekonzepts protokollgemäß gesammelt, tiefgefroren gelagert und die klinischen Daten (Demographie, Tu-Charakteristika, Interventionsparameter und Mukositis-Assessments sowie Überlebens und Tumorkontrolldaten) kontinuierlich erfasst. EDTA- und Heparin-antikoaguliertes Vollblut wird dem Projektpartner BfS für zelluläre Analysen übersandt, der dann nach Anreicherung der mononukleären Zellen diese den anderen Partner zur Verfügung stellt.

Mundschleimhaut-Keratinozyten neu-rekrutierter Patienten werden in-vitro auf ihre Radiosensitivität getestet (spread-assay). Überstände (Sekretom) entsprechender spread-assays werden für die SASP-Analyse (LMU) asserviert.

In Zusammenarbeit mit dem BfS werden bislang beobachtete Korrelationen von spread-assay und γ H2AX/53BP1-foci validiert.

Die angestrebte Korrelation der klinischen Befunden mit den experimentellen Untersuchungen (Proteom-, Transkriptom-Analysen und Zytokinexpression) wird durch Daten-Standardisierungen, -Bereinigungen und Test-Evaluationen vorbereitet. Eine Datenbank zur Erfassung und Analyse sämtlicher Patientenproben, -befunde mit entsprechenden Ergebnissen ist, gemeinsam mit Kollegen der CUB und des HGMU, in Entwicklung.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Ein Manuskript zur Methodik über die Mikro-Biopsie von primären Mundschleimhaut-Keratinozyten aus und die Untersuchung ihrer bestrahlungsabhängigen Hemmung von Proliferations- und die Migrationsfähigkeit wurde bei Radiotherapy and Oncology eingereicht. Mittlerweile liegen Gutachten vor und wir gehen von einer conditional acceptance aus; (Frist seitens des Editors: 21.09.21)

Zuwendungsempfänger: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz		Förderkennzeichen: 02 NUK 048A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.09.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 819.068,00 EUR	Projektleiter: Dr. Wollschläger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

AP1: Mortalitäts-Follow up bis einschließlich 30.06.2018.

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

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

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

- AP1: Recherche zum Vitalstatus/zu Todesursachen abgeschlossen/multikausale Codierung der Todesursachen abgeschlossen. Deskriptive Analyse zum Vitalstatus/Lost to Follow-up/Charakterisierung klinischer Basisdaten der Teilkohorten (Mainz/Ulm) wurde abgeschlossen.
- AP2a: Fragebogensurvey abgeschlossen. SOPs zur Plausibilitätskontrolle und zu deskriptiven Analyse wurden erstellt. Validierungsstudie (Prüfung der selbstberichteten Angaben zum Gesundheitsstatus durch behandelnde Ärzte) wurde abgeschlossen und Daten eingegeben. Deskriptive Analyse abgeschlossen.
- AP2b: Kohortenabgleich mit dem Krebsregister Rheinland-Pfalz abgeschlossen. Der mit dem Krebsregister Baden-Württemberg geplante Abgleich wurde von den dort zuständigen Beauftragten für den Datenschutz nur gestattet, wenn von jeder ehemaligen Patientin (post hoc) die schriftliche Einwilligung eingeholt werden würde. Dies war im gegebenen zeitlichen und finanziellen Rahmen des Projektes nicht umsetzbar. Damit entfällt auch der ursprünglich geplante Abgleich mit dem Krebsregister Bayern.
- AP3: Datenaustausch mit Ulm ist abgeschlossen, es liegen etwas mehr als 400 Datensätze zur statistischen Auswertung vor.
Die Datenerhebung in Mainz ist abgeschlossen, es liegen 143 Datensätze für die Fall-Kontroll-Studie vor.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Süd ist abgeschlossen mit ca. 100 fertigen Datensätzen.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Heidenheim ist abgeschlossen mit ca. 20 fertigen Datensätzen.
Der Datenaustausch mit der Strahlentherapie Villingen-Schwenningen ist abgeschlossen mit ca. 20 fertigen Datensätzen.
Der Export aller Dosis-Volumen-Histogramme für das Herz und seine Substrukturen wurde abgeschlossen.
- AP4: Zusammenführung der verschiedenen Datenquellen aus PASSOS und ESKaRa zu einem Auswertedatensatz für Kohorten-basierte Analysen wie auch für Fall-Kontroll-basierte Analysen erfolgreich abgeschlossen. Berücksichtigt werden: Daten Mortalitätsstudie PASSOS, Daten Inzidenzstudie PASSOS (Fragebogenstudie), Daten Dosimetriestichprobe PASSOS, Dosis-Daten Dosimetriestichprobe ESKaRa Mainz/Ulm/ NWK, Status als Fall oder Kontrolle. Dokumentation aller Variablen in einem Codebuch.
Die kombinierte PASSOS/ESKaRa-Dosimetriestichprobe umfasst ca. 1400 Patientinnen mit individueller Herzdosimetrie. Von den ca. 1500 auf Basis der PASSOS-Daten identifizierten Fälle und Kontrollen haben ca. 600 eine individuelle Herzdosimetrie.
Auswertepan für Dosis-Wirkungs-Analyse in der Fall-Kontroll-Studie erstellt.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP2b: Kohortenabgleich mit Krebsregister Rheinland-Pfalz: Analyse der übermittelten Daten zur Ermittlung der Anzahl inzidenter Zweitumoren nach Krebstherapie. Erstellung einer Publikation zu diesem Thema.
- AP4: Abschluss der Daten-Dokumentation. Einreichen der Publikation zur Dosis-Wirkungs-Analyse.

5. Berichte, Veröffentlichungen

- Initiierung des Dissertationsvorhabens „Impact of self-reported alterations in lifestyle factors and cardiac late effects in breast cancer patients“ mit geplanter Veröffentlichung der Ergebnisse. Exposé zur Promotion im Fachbereich eingereicht.
- Einreichung der ersten Publikation „Cardiac late effects after modern radiotherapy in breast cancer patients - a retrospective cohort study in Germany (ESCaRa)“ im Journal “Breast Cancer Research and Treatment”.
- Erstellung eines Publikationsentwurfes zur “Dosis-Wirkungs-Analyse“.
- Einreichungen für Vorträge anlässlich der Jahrestagungen 2021 der DGEpi und der GMDS.

Zuwendungsempfänger: Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm		Förderkennzeichen: 02 NUK 048B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 30.04.2021	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.04.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 270.727,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Wiegel	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1 und 2: Der Vitalstatusabgleich/Adressabgleich über die Einwohnermeldeämter in Ulm und den 16 externen Zentren ist abgeschlossen (insgesamt ca. 8400 Patientinnen); bei „neu“ verstorbenen Patientinnen ist die individuelle Todesursachen-Recherche über die zuständigen Gesundheitsämter erfolgt. Anfragedatum am 27.05.2019 (1208 Patientinnen bei 70 Gesundheitsämtern). Nachdem die Unbedenklichkeitserklärungen von Bayern und Baden-Württemberg über Ministerien eingeholt wurden, haben 68 Gesundheitsämter unsere Anfrage beantwortet (1206 Patientinnen). Insgesamt sind inzwischen 3885 Patientinnen verstorben, von 3775 Patientinnen liegt die Todesbescheinigung vor.

Der Versand der Patientenbefragungen zu Zweitmalignomen und kardialen Ereignissen, welche im Rahmen der Passos-Herzstudie einer erneuten Befragung zugestimmt hatten (Versand der Fragebögen am 05.06.2019 an 1868 Patienten) ist erfolgt. Im Oktober 2019 wurde nochmals an 546 Patientinnen ein Erinnerungsschreiben versendet. Insgesamt haben 1557 Patientinnen eine erneute Einwilligung erteilt und den Fragebogen ausgefüllt zurückgeschickt.

Zur Validierung der Patientinnen-Angaben zu Gesundheitsereignissen ist eine Validierung über den behandelnden Arzt erfolgt. Hierfür wurde eine 15 %-Stichprobenanalyse von Ulmer Patientinnen mit vorliegender Einwilligung zum Arztkontakt durchgeführt. Für die Analyse wurde eine Deskription der 10-Jahres-Altersklassen der in Frage kommenden Stichproben erstellt. Es wurden 54 Ärzte angeschrieben, um die Angaben für 68 Patientinnen zu validieren. Für 48 Patientinnen wurde das Formular von den Ärzten ausgefüllt zurückgeschickt, womit die geplante 10 %-Stichprobe für die Validierung erreicht werden konnte.

Die Patientenfragebögen, die Todesbescheinigungen und die Formulare der Arztanschriften wurden pseudonymisiert zur Dokumentation und Codierung an das IMBEI Mainz versendet.

Somit konnten bis Juni 2020 alle Arbeitspakete 1 und 2 abgeschlossen werden.

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-Herzatlase. 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 Patientenennung 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, dosimetriert und dosimetrisch ausgewertet.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1, 2 und 3 abgeschlossen. Vorhaben endete zum 30.04.2021.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 049A
Vorhabensbezeichnung: 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		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2017 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 984.192,00 EUR	Projektleiter: Dr. Schröder	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

AP1: Generierung und Charakterisierung von zerebralen Organoiden mit sich aus ihnen entwickelnden pädiatrischen ZNS-Tumoren durch Manipulation von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen; erste Versuche mit Röntgen- und Partikelstrahlen sollen Aufschluss über die Interaktion der Tumorzellen und des sie umgebenden Normalgewebes unter Therapiebedingungen geben (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum konnten im Rahmen der FAIR Phase 0 Bestrahlungsversuche mit Protonen und Kohlenstoffionen unter Therapiebedingungen an zerebralen Organoiden durchgeführt werden. Derzeit werden die bestrahlten Proben und die entsprechenden Kontrollen durch immunzytochemische Färbungen auf spezifische Marker für neuronale und gliale Vorläuferzellen sowie für Neurone und Gliazellen untersucht. Ebenfalls weitergeführt wurden die Untersuchungen zur Ausbildung von Strukturen des Plexus choroideus als Reaktion auf die Bestrahlung. Die Etablierung eines Organoidmodells, das sowohl neuronale Netzwerke ausbildet als auch Astrozyten und Oligodendrozyten generiert, konnte erfolgreich abgeschlossen werden. Dieses Modell wurde neben dem bereits in der ersten Förderphase etablierten Organoidmodell für die Herstellung von Tumororganoiden mittels Überexpression des Onkogens cMyc genutzt. Hier lag der Fokus auf der Optimierung der Transfektionsbedingungen und der Charakterisierung der weiteren Entwicklung der Organoide. Erste Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Initiation von Clustern mit erhöhtem cMyc-Gehalt (Tumorinitiation) zwar nicht generell die neuronale Entwicklung innerhalb des Organoids hemmt, jedoch sehr wohl die strukturelle Ausrichtung der neuronalen Netzwerke. Im Berichtszeitraum konnte ebenfalls die Herstellung von Organoidschnitten und deren Kultur im Air-Liquid-Interface-Kultursystem etabliert werden. Hier zeigte sich eine deutliche Reifung des neuronalen Netzwerks. Derartige Schnitte sollen daher als Ausgangspunkt für funktionelle Analysen (AP2) dienen. Die Bestrahlung der Schnitte mit Röntgenstrahlen (2 Gy, 250 kV, 16 mA, Dosisrate: 1,5 Gy/Minute) führte laut ersten Analysen zu einer gesteigerten Nekrose.

4. Geplante Weiterarbeiten

In den mit den etablierten Protokollen hergestellten Organoiden werden durch die Überexpression von Onkogenen und die Deletion von Tumorsuppressorgenen weiterhin Tumore generiert und anschließend charakterisiert. Fortgeführt wird darüber hinaus die Analyse von mit Röntgen- und Partikelstrahlung exponierten zerebralen Organoiden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Estrella Passerat de la Chapelle, Master Sciences du Vivant, Spécialité Neurosciences, S4 Internship Report: Using air-liquid interface cultures of human oligodendrocyte spheroids to study the mechanisms underlying ionizing radiation-induced disruption of CNS function. Université Strasbourg, Faculté des Sciences de la Vie (2021)

Zuwendungsempfänger: Technische Hochschule Aschaffenburg, Würzburger Str. 45, 63743 Aschaffenburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 049B
Vorhabensbezeichnung: 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		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2017 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 678.020,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Thielemann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Verbundvorhaben beinhaltet die folgenden Arbeitspakete (Teilprojekte):

AP1: Generierung und Charakterisierung von zerebralen Organoiden mit sich aus ihnen entwickelnden pädiatrischen ZNS-Tumoren durch Manipulation von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen; erste Versuche mit Röntgen- und Partikelstrahlen sollen Aufschluss über die Interaktion der Tumorzellen und des sie umgebenden Normalgewebes unter Therapiebedingungen geben (GSI Helmholtzzentrum, Dr. Insa S. Schroeder).

AP2: Anfertigung und Charakterisierung von Tumororganoid-Schnitten zur Verhinderung von nekrotischen Prozessen bei der Langzeitkultivierung; Etablierung moderner Schnittprotokolle und umfangreiche immunzytochemische Färbungen zur Charakterisierung des

Systems. Funktionale Analysen zur neuronalen Netzaktivität innerhalb der angefertigten Organoidschnitte mittels Kalzium-Imaging und Mikroelektrodenarray-Technik (Technische Hochschule Aschaffenburg, Prof. Dr. C. Thielemann).

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Trotz des sehr stark eingeschränkten Laborbetriebs während der Covid-19 Pandemie, konnten im ersten Halbjahr 2021 die Arbeiten mit den Neurosphären und den zerebralen Organoiden fortgesetzt werden. Der Schwerpunkt lag hierbei auf der Etablierung der Methode des Calcium-Imagings, die zur Komplementierung der funktionalen Analysen zusätzlich zu den MEA-Messungen angewendet werden soll. Die Experimente wurden im Rahmen einer Studienarbeit mit dem Titel „*Calcium-Imaging – funktionale Analyse dreidimensionaler, neuronaler Netzwerke*“ durchgeführt. Hierbei wurden auf hESC basierende Neurosphären mit dem Calcium sensitiven Fluoreszenzfarbstoff Fluo-4 behandelt und nachfolgend die spontan auftretenden Calcium-Ströme analysiert. Die Ergebnisse zeigen – insbesondere in den auswachsenden Neuronen und Neuriten – eine deutliche Zellaktivität, die sich in Änderungen der Intensität des Fluoreszenzsignals manifestieren. Um zu überprüfen, ob die beobachteten Calcium-Ströme auf Aktionspotentiale zurückzuführen sind, wurde den Kulturen Bicucullin, ein kompetitiver Antagonist des GABA_A-Rezeptors, appliziert. Die Analysen zeigen eine deutliche Steigerung der Calcium-Ströme infolge der Bicucullin Applikation, so dass ein Zusammenhang mit Aktionspotentialen nachgewiesen werden konnte. Als Negativkontrolle wurden die Experimente mit HEK-Zellen wiederholt. Dabei zeigte sich, dass die beobachteten Calcium-Ströme einen anderen Intensitätsverlauf aufweisen als diejenigen der Neurosphären und eine Applikation von Bicucullin keine Erhöhung des Signals bewirkte.

Nach erfolgreicher Etablierung der Methode, wurden Calcium-Imaging an Slices zerebraler Organoide durchgeführt, die vom Projektpartner der GSI zur Verfügung gestellt wurden. Die Dicke der Slices (300 µm) erschwerte die Detektion der Calcium-Ströme auf zellulärer Ebene. Es zeigte sich jedoch eine deutliche synchrone Zellaktivität in räumlich definierten Zellclustern.

4. Geplante Weiterarbeiten

Der Schwerpunkt der Experimente im nächsten Halbjahr wird auf der Optimierung der Methode des Calcium-Imaging liegen. In mehreren Experimenten konnten erfolgreich durch Aktionspotential bedingte Calcium-Ströme nachgewiesen werden. An einigen Punkten im Protokoll zeigten sich jedoch auch vielversprechende Optimierungsmöglichkeiten, die im Rahmen einer Bachelorarbeit bearbeitet werden sollen. Hierzu zählen beispielsweise die Wahl des bei der Messung verwendeten Mediums, technische Parameter beim Mikroskop (Belichtungszeit, Intensität des Fluoreszenzlichtes) sowie die Applikation neuromodulierender Substanzen durch ein mikrofluidisches System.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Simone Hufgard, Calcium Imaging – Funktionale Analyse dreidimensionaler, neuronaler Netzwerke, Studienarbeit, Technische Hochschule Aschaffenburg, 2021

M. Ciba, Synchrony Measurement and Connectivity Estimation of Parallel Spike Trains from in vitro Neuronal Networks, Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2021

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 3.335.237,00 EUR	Projektleiter: 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 α -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 α -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 α -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 α -Strahlung auf OB-Vorläuferzellen
 - Wirkung von Radon-Adsorption in hTNF- α -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 des Mausexperiments zur akkuraten Bestimmung der Dosis durch aktive und passive Transportprozesse wurde fortgeführt. Messungen zur Löslichkeit in Knochenmark wurden durchgeführt, Experimente mit humanem Blut wurden vorbereitet. Um den Einfluss der Aerosolgrößenverteilung auf die Dosisdeposition untersuchen zu können, wurde ein Aerosolgenerator und geeignete Messtechnik beschafft, diese wird nun getestet. Eine Publikation zur Bindung von Radon an Aktivkohle wurde erfolgreich publiziert, das Manuskript zur Probandenmessung eingereicht. Weitere Veröffentlichungen zur Löslichkeit, Lungenmodell und Mikrodosimetrie sind in Vorbereitung. Für andere APs fanden Experimente an der Radonkammer statt.
- AP3: Die Auswertung dizentrischer Chromosomen im Patientenblut vor und nach der 2. Bäderserie (Proben 05 und 06 der RAD-ON02 Studie) wurde abgeschlossen. Die statistische Analyse der Daten aus beiden Serien zeigte keine signifikante Veränderung in der Häufigkeit dizentrischer Chromosomen vor und nach der Therapie. Weiterhin wurde mit der mFISH-Analyse multiaberranter Zellen („rogue cells“) begonnen, die in einigen Patienten gehäuft auftraten. Die Forschungsergebnisse zur Differenzierungsfähigkeit von Bronchialepithelzellen von 2 jungen gesunden Spendern nach einer Exposition mit α - oder Röntgenstrahlung, die im Rahmen einer Doktorarbeit erzielt wurden, wurden zusammengefasst. Mit der Anfertigung der Doktorarbeit wurde begonnen.
- AP4: Der Zusammenhang zwischen intrazellulärem ROS-Level und Adhäsion von peripheren Blutlymphozyten (PBLs) wurde in Endothelzellen unter laminaren (Flow Chamber) und statischen Bedingungen nach Röntgenbestrahlung weiter untersucht. Dazu wurden weitere Experimente mit C-Ionen (1x) und Röntgenbestrahlungen (2x) durchgeführt, um zusätzlich die Expressionslevel von Adhäsionsmolekülen und antioxidativen Enzymen in Endothelzellen zu untersuchen (mit AP6). Für beide Strahlenarten wurde eine Reduktion des ROS-Levels und der Expression der Adhäsionsmoleküle mit einer gleichzeitigen Erhöhung der antioxidativen Enzyme bei niedrigen Dosen sowie kausale Zusammenhänge in Positivkontrollen (H_2O_2) bestätigt. Eine Publikation ist in Vorbereitung. Die ex vivo Bestrahlung und Untersuchung des Endothels und des Zytokinlevels aus humanen Knie-Gewebeproben (mit Prof. Rehart, Agaplesion Markus Krankenhaus Frankfurt) wurde fortgesetzt. Die Transkriptom-Analysen (mit R. Kriehuber, FJZ Jülich) wurden weitergeführt. Die Translokationsstudien zu NFATc1 (Osteoklastogenese) wurden mit humanen Progenitorzellen auf Knochenplättchen etabliert und nach Niedrig-Dosis-Bestrahlung analysiert; eine Publikation wird vorbereitet. In Blutproben von Patienten der RAD-ON02-Studie wurde die ex vivo Differenzierungsfähigkeit und resorptive Aktivität von Osteoklasten (OC) vor und nach der Therapie auch nach Cross over untersucht, außerdem wurde mit der Ermittlung der CTX-Konzentration (C-terminale Crosslinks) zu allen Zeitpunkten begonnen. Es erfolgte die Aufarbeitung weiterer 50 Blutproben von Patienten im Rahmen der IMMO-LDRT Studie.

4. Geplante Weiterarbeiten

- AP1: Die Auswertung des Mausexperiments soll abgeschlossen und für eine Publikation vorbereitet werden. Messungen zur Löslichkeit von Radon in humanem Blut sollen durchgeführt werden. Die Messtechnik zur Untersuchung des Einflusses der Aerosolgrößenverteilung soll getestet und erste Experimente durchgeführt werden. Publikationen zur Löslichkeit, Lungenmodell und Mikrodosimetrie sollen vorbereitet werden, Bestrahlungsservice für andere APs ist eingeplant
- AP3: Die mFISH Analysen von Patientenproben mit erhöhter Spontanrate sowie mit einer erhöhten Rate multiaberranter Zellen („rogue cells“) werden fortgesetzt. Eine Publikation zur Wirkung von dicht und dünnionisierender Strahlung auf humane Bronchialepithelzellen wird vorbereitet.
- AP4: Die Untersuchungen des Aktivierungszustandes des Endothels und die Zytokin-Freisetzung aus Knie-Gewebeproben von Patienten wird fortgeführt und soll, zum Vergleich, durch gesunde Spender (Traumapatienten) erweitert werden. Eine geeignete Fortführung der Transkriptom-Analysen (mit R. Kriehuber, FJZ Jülich) wird festgelegt werden. Das Th17/Treg-Verhältnis wird in den Blutproben von Patienten der RAD-ON02 und IMMO-LDRT Studie untersucht. Die Bestimmung der CTX-Konzentration in Blutproben der Patienten der RAD-ON02 und auch der IMMO-LDRT Studie werden fortgeführt. Außerdem soll die bereits begonnene Etablierung der RNA Isolation auf Knochenplättchen fortgeführt werden, um die relevanten Gene der Osteoklastogenese zu identifizieren und zu untersuchen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Maier, A.; Jones, J.; Sternkopf, S.; Friedrich, E.; Fournier, C.; Kraft, G.: Radon Adsorption in Charcoal. Int. J. Environ. Res. Public Health 2021, 18, 4454 <https://doi.org/10.3390/ijerph18094454>

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.046.137,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

In dem Projekt GREWIS α 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 α -Bestrahlungen sowie Experimenten mit Ionenstrahlen sollen Zellkulturen und Tiere in einer Radonkammer exponiert werden, da die Radon-Exposition im Bereich des Strahlenschutzes und in der Therapie entzündlicher Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielt. In Zell- und Tier-Versuchen soll die 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}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 fortgeführt. Vorangegangene Studien in kultivierten Fibroblasten zeigten, dass die ineffiziente Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) nach einer Bestrahlung mit niedrigen Dosen Röntgenstrahlung mit einer verminderten Aktivität der DNA-PK zusammenhängt. Dabei könnte die Aktivität der DNA-PK durch andere Proteine gesteuert werden, die auf das Radikalllevel in der Zelle reagieren können. Ein solcher Regulationsmechanismus ist z. B. bei den Peroxiredoxinen (PRDX) bekannt und wurde von Somayajit et al. (2017, DOI: 10.1126/science. aao3172) für den Replikationsapparat beschrieben. Um zu untersuchen, ob hier ein ähnlicher Mechanismus vorliegt, haben wir die Experimente in Gegenwart von Adenantin, einem Inhibitor für PRDX1/2 durchgeführt sowie eine siRNA gegen PRDX2 etabliert. Diese Experimente zeigen, dass die Inhibition oder siRNA-vermittelte Depletion von PRDX2 (analog zu einer H₂O₂-Behandlung) zu einer verbesserten Reparatureffizienz nach Bestrahlung mit 10 mGy führt und auch die DNA-PK aktiviert.

Um dieses Ergebnis zu konsolidieren und die Art der Wechselwirkung zwischen der DNA-PK und PRDX2 näher zu charakterisieren, wurde mit der Etablierung von 2 neuen Methoden begonnen.

(1) Mit einer Co-Immunpräzipitation kann untersucht werden, ob Proteine miteinander interagieren. Dabei wird eines der Proteine mit einem spezifischen Antikörper aus dem Zelllysate isoliert, wobei Proteine, die an das Zielprotein binden, indirekt ebenfalls isoliert werden. Über eine Gelelektrophorese mit anschließendem Westernblot können die so isolierten Proteine dann der Größe nach aufgetrennt und mittels weiteren Antikörpern detektiert werden. Für diese Methode wurden unterschiedliche Protokolle in Bezug auf das Verhältnis von Zellen zu Beads bzw. Antikörper des Zielproteins sowie verschiedenste Puffer zur Isolation des Zielproteins getestet. Die Herausforderung besteht darin eine Bedingung zu finden, bei der unspezifische Signale bestmöglich reduziert werden und die mögliche Wechselwirkung zwischen Proteinen nicht zerstört wird.

(2) Mit dem ebenfalls Antikörper-basierten Proximity-Ligation-Assay kann in der Immunfluoreszenz-Mikroskopie untersucht werden, ob sich 2 Proteine in unmittelbarer Nähe zueinander befinden. Nur wenn die Proteine (und die daran gebundenen spezifischen Antikörper) näher als ca. 40 nm sind, kann ein in der Immunfluoreszenz-Mikroskopie sichtbares fokales Signal detektiert werden. Grundlegende Schritte dieses Assays wurden bereits anhand der bekannten Interaktion zwischen KU und DNA-PK etabliert und müssen nun an die neuen Zielproteine DNA-PK und PRDX2 angepasst werden. Bisherige Ergebnisse aus der Interaktion von Ku80 und DNA-PK erlauben zudem in Zukunft die Untersuchung der Fragen, ob die DNA-PK auch nach der Exposition mit niedrigen Dosen am Bruch bindet und ob es sich bei den beobachteten persistierenden Focussignalen (24 h nach der Exposition mit 10 mGy) noch um offene Brüchen handelt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die mechanistischen Studien zum Zusammenhang zwischen der Aktivierung von DNA-PK und der Reparatureffizienz bzw. der Interaktion von DNA-PK und PRDX2 werden fortgesetzt. Dabei werden wir die oben genannten molekular-biologischen auch biochemische Techniken etablieren und einsetzen. Darüber hinaus werden wir durchgeführte Experimente zur Lebendzellmikroskopie auswerten, ggfs. die Aufnahmebedingungen optimieren und wichtige Experimente aus den mechanistischen Studien wiederholen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 050C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 657.792,00 EUR	Projektleiter: 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 letzten Bericht haben wir die Einreichung einer Publikation zum Thema des Projektes angezeigt (siehe unten). Das Manuskript wurde inzwischen begutachtet und von drei Gutachtern für sehr interessant eingestuft. Die Gutachter haben jedoch eine Reihe von zusätzlichen Experimenten eingefordert, die für die Publikation notwendig sind. Die notwendigen Experimente sind recht herausfordernd, da sie Techniken benötigen, die in unserem Labor nicht etabliert sind. Im Berichtszeitraum haben wir dazu versucht, die Komponenten der CRAC Kanäle in Jurkat Zellen mittels genetischer Techniken zu unterdrücken. Wir sind jetzt an dem Punkt mit diesen Zellen die geforderten Experimente durchzuführen.

Im zweiten Arbeitspaket wurde als Ersatz für die Doktorandin Juliane Joswig (Elternzeit) ab dem 01.02.21 Herr Dr. Bastian Roth eingestellt. Um die in unserem früheren Bericht erzielten Resultate, welche eine reduzierte Phosphorylierung einer NMDA-Rezeptor Untereinheit nach Radon Behandlung aufwiesen zu bestätigen, hat Herr Roth im Berichtszeitraum Gehirne von Radon behandelten sowie unbehandelten arthritischen Mäusen entnommen. Darüber hinaus wurden aus den genannten Mäusen Rückenmarksschnitte angefertigt, um diese Beobachtung lokal zu überprüfen und einen kausalen Zusammenhang mit einer reduzierten Schmerzweiterleitung im hinteren Spinalganglion herzustellen. Hier konnten bisher keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im kommenden Berichtszeitraum werden wir die Revision der Publikation abschließen. Wir werden darüber hinaus schon begonnene Experimente vorantreiben, um die ganz frühen Ereignisse der strahleninduzierten Ca^{2+} Signalkaskade aufzuklären. Interessant in dem Zusammenhang sind Experimente, in denen wir die Generierung von radikalen Sauerstoffspezies in den Mitochondrien unter Strahlenexposition mittels Fluoreszenzsensoren untersuchen. Nach unserer Arbeitshypothese triggern Radikale, die in den Mitochondrien entstehen, eine Signalkaskade durch die immer mehr Sauerstoffradikale in den Zellen entstehen.

In bereits laufenden Arbeiten werden die Auswirkungen von Alpha- sowie Äquivalentdosen von Röntgen-Strahlen auf die Signalweiterleitung in neuronalen Netzwerken (in vitro) mittels Multi-Elektroden Array untersucht, diese sollen weitergeführt und Auswirkungen auf die NMDAR-abhängige Signalweiterleitung durch einen höheren Anteil an erregenden Neuronen innerhalb der verwendeten Zellkultur verstärkt werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Publikationen:

Tandl, D., Sponagel, T., Fuck, S., Smit, T., Hehlhans, S., Jakob, B., Fournier, C., Rödel, F., Roth, B., Moroni, A., Thiel, G.: X-ray irradiation activates immune response in human T-lymphocytes via store-operated Ca^{2+} entry and NFAT activation (J. Gen. Physiol. in Begutachtung)

Zuwendungsempfänger: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Theodor-W.-Adorno-Platz 1, 60323 Frankfurt am Main		Förderkennzeichen: 02 NUK 050D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 710.793,00 EUR	Projektleiter: 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

Der Einfluss von Niedrigdosisbestrahlung und Radon-Exposition auf antioxidative Faktoren in Immunzellen und der Zusammenhang mit einer anti-inflammatorischen Wirkung wurden im Berichtszeitraum sowohl *in vitro* als auch *in vivo* weiter untersucht. Dazu wurde RNA/miRNA aus *in vivo* Proben, die im vergangenen Berichtszeitraum vom Projektpartner in Erlangen (AP5) gesammelt wurden, präpariert und mittels quantitativer PCR die Expression des Transkriptionsfaktors Nrf2 und der antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase 1, Catalase und Glutathion-Peroxidase 1 untersucht. Dabei zeigte sich bei lokaler Röntgenbestrahlung TNF α -transgener Tiere keine Veränderung der Expression der untersuchten Faktoren nach 7 Tagen. Im Gegensatz dazu waren 14 Tage nach der Bestrahlung alle Faktoren im peripheren Blut erhöht. Auch eine Radon-Exposition führte nach 7 Tagen zu einer Erhöhung der Expression der Faktoren in einem Serumtransfermodell im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen.

Zudem wurden im Berichtszeitraum weitere Experimente zur Regulation von ROS in primären humanen mikrovaskulären Endothelzellen (HMVEC) nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen und mit Kohlenstoff (C)-Ionen in Kooperation mit dem Projektpartner in Darmstadt (AP1, AP4) durchgeführt. Dabei war insbesondere die Kultivierung der Endothelzellen unter physiologischen Scherstress-Bedingungen von Relevanz, da unter diesen Bedingungen bei zuvor publizierten Daten eine verringerte Leukozyten-Adhäsion nach Bestrahlung mit Dosen von 0,1 und 0,5 Gy beobachtet werden konnte. Es zeigte sich eine erhöhte Expression von anti-oxidativen Faktoren nach Bestrahlung mit 0,1 Gy Röntgenstrahlen und 0,5 Gy C-Ionen, die mit einer verringerten ROS-Menge korrelierte. Um den direkten Einfluss von ROS auf die Leukozytenadhäsion zu verifizieren, wurden zudem Experimente durchgeführt, bei denen HMVEC-Zellen sowohl unter laminaren als auch statischen Bedingungen oxidativem Stress (Wasserstoffperoxid, H₂O₂) ausgesetzt und anschließend ROS und Leukozytenadhäsion gemessen wurden. Oxidativer Stress resultierte bei beiden Bedingungen in einer signifikant erhöhten Leukozytenadhäsion, die durch eine vorherige Behandlung der Zellen mit einem Radikalfänger (N-Acetyl-L-Cystein) gehemmt werden konnte.

Darüber hinaus erfolgte die Isolation von RNA und miRNA aus Patienten-Blutproben, die im Rahmen der RAD-ON02 Studien vom Projektpartner in Erlangen (AP5) gesammelt wurden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Im nächsten Berichtszeitraum werden aus RNA-Proben, die aus dem peripheren Blut von Patienten innerhalb der IMMO-LDRT01 Studie vom Projektpartner in Erlangen gesammelt wurden, weitere Daten zur Expression antioxidativer Faktoren generiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Hehlhgans S., Eckert D., Rapp F., Tsecke A., Rödel F., Fournier C.: Eine verminderte Leukozytenadhäsion an Endothelzellen nach Bestrahlung mit niedrigen Dosen wird abhängig von der Strahlenart und den Kultivierungsbedingungen durch reaktive Oxygenspezies moduliert. Poster bei der 27. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie 2021; Strahlenther Onkol 2021 (Suppl 1) 197: S201

Eckert S., Martin D., Lumniczky K., Fokas E., Rodel C., Rödel F., Hehlhgans S.: Expression von microRNAs in extrazellulären Vesikeln im Serum von Leukämie Patienten. Vortrag bei der 27. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie 2021; Strahlenther Onkol 2021 (Suppl 1) 197: S49

Donaubauer A.-J., Hehlhgans S.: Translationale Forschung im Rahmen der IMMO-LDRT01 Studie. Vortrag bei der 27. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie 2021

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schloss- platz 4, 91054 Erlangen		Förderkennzeichen: 02 NUK 050E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2017 bis 31.01.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.292.552,00 EUR	Projektleiter: 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- α -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- α -tg Mausmodellen sowie in *ex vivo* Zellkultursystemen durchgeführt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Rahmen der IMMO-LDRT01 Studie wurde eine statistische Zwischenauswertung zu den immunologischen und klinischen Daten der ersten 125 Patienten durchgeführt. Die schmerzmodulierende Wirkung von LDRT konnte hier bestätigt werden. Des Weiteren konnte diese Schmerzmodulation mit der Anzahl verschiedener monozytärer Immunzellen korreliert werden, daher sind diese Zellen als potentielle zukünftige Biomarker interessant. Eine Publikation zu diesen Analysen ist derzeit in Vorbereitung. Bei der RAD-ON02 Studie lag der Auswertungsfokus zunächst auf der ersten Studienhälfte (vor dem Cross-over), um die Effekte zwischen Radon- und Placebo-Bädern herauszuarbeiten. Hier zeigten sich sowohl bei der Schmerzmodulation, als auch bei den immunologischen Parametern Radon-spezifische Effekte, aber es konnten auch Modulationen auf Placebo-Effekte zurückgeführt werden. Diese Analysen zu beiden Patientenstudien wurden im Juni auf der DEGRO 2021 jeweils in Form eines Vortrags präsentiert. Bei der Weiterentwicklung der Immunphänotypisierung konnten zwei Assays zum Screening von TEMRA Zellen und myeloiden Suppressorzellen etabliert werden. Derzeit werden diese Assays in Patientenstudien validiert. Erste Daten dazu wurden in Form eines Posters ebenfalls auf der DEGRO 2021 präsentiert. Die Charakterisierung der humanen Osteoklasten wurde vorangetrieben. Erste Assays zur Untersuchung des Metabolismus und der Knochenresorption wurden hierbei durchgeführt. Des Weiteren konnten die Genexpressionsanalysen weitergeführt und ein stabiler PCR Assay etabliert werden. Der Ethikantrag für eine zukünftige Placebo-kontrollierte LDRT Studie wurde nochmals modifiziert und befindet sich in der Finalisierung. Die in Q4/2020 geplanten *ex vivo* Versuche in der Radonkammer mit isoliertem Knochenmark sowie Monozyten und Makrophagen wurden im Februar 2021 im Rahmen eines dreiwöchigen Forschungsaufenthalts zusammen mit AP1 und mit Unterstützung von AP4 an der GSI durchgeführt. Aus den Versuchen ging Material ebenfalls an AP6 zur weiteren Untersuchung. Effekte, welche vor allem in den T- und B-Zellen der *in vivo* bestrahlten Tiere beobachtet wurden, zeigten sich *ex vivo* bestätigt. Monozyten und Makrophagen zeigten sich in ihrem Phänotyp, wie schon nach Röntgenbestrahlung, als relativ strahlenresistent. Jedoch konnten Veränderungen in den Vorläuferzellen bestätigt werden. Aktuell werden noch ELISA/MSD Messungen sowie qPCR Analysen durchgeführt. Erste Ergebnisse der Radonversuche wurden im Rahmen eines Vortrags auf der DEGRO 2021 Jahrestagung präsentiert und ein Abstract zur Jahrestagung der DeGBS wurde hierzu eingereicht. Die Etablierungsversuche mit Makrophagen auf Mylarfolie für zukünftige Bestrahlungen an der Alpha-Quelle konnten ebenfalls erfolgreich abgeschlossen werden. Eine Research Topic „Osteoarticular-immunological interplay in response to disease and therapy“ wurde bei Frontiers in Immunology mit Dr. Deloch als einer der Editoren akzeptiert. Im Rahmen dieses Research Topic wurde bereits ein Abstract zu Daten eingereicht, welche erstmals Korrelationen zwischen klinischen Ergebnissen zu einer Niedrigdosis Behandlung im Patienten mit den im Tierrmodell gewonnenen Erkenntnissen aufzeigen. Die medizinischen Doktorarbeiten zum Themengebiet der Makrophagen, der Synovialfibroblasten sowie zur Charakterisierung des entzündlichen degenerativen Mausmodells wurden fertig gestellt und zum Teil bereits als Dissertationsschrift eingereicht. Die zahnmedizinische Doktorarbeit, welche sich mit dem Einfluss von Röntgenstrahlung auf Chondrozyten beschäftigt wurde größtenteils fertiggestellt. Die finalen Analysen verzögern sich jedoch momentan noch aufgrund des Mangels an qPCR Materialien.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die oben genannten Analysen zur IMMO-LDRT01 Studie sollen publiziert werden. Auch zu den bereits durchgeführten Analysen der RAD-ON02 Studie soll eine erste Publikation verfasst werden. Außerdem sollen die funktionellen Analysen zu den humanen Osteoklasten vorangetrieben werden. Weitere Ergebnisse basierend auf der Erweiterung der Immunphänotypisierung werden erwartet. Ein weiterer Fokus liegt auf dem Verfassen der naturwissenschaftlichen Doktorarbeit im Rahmen des GREWIS-alpha Projektes. Publikationen, welche sich mit den im Rahmen der medizinischen Doktorarbeiten gewonnenen Erkenntnisse zu den Themengebieten der Wirkung von LD-RT auf Synovialfibroblasten sowie Makrophagen beschäftigen, befinden sich in Vorbereitung. Weiterführende Versuche zur Aufstockung der Ergebnisse aus der medizinischen Doktorarbeit, welche sich mit der Charakterisierung des entzündlichen degenerativen Mausmodells beschäftigt, werden durchgeführt und anschließend zur Publikation vorbereitet. Ein Review Artikel, welcher den momentanen Wissenstand zur Wirkweise einer niedrig dosierten Röntgenbestrahlung in prä-klinischen und Patienten-Studien sowie generellen Ergebnissen aus der Klinik vereinen soll, befindet sich ebenfalls in Vorbereitung. Der Tierversuchsantrag sowie ein komplementärer DFG Erst-Antrag zur Thematik der osteoimmunologischen Wirkungsweisen von niedrig dosierter Strahlung sollen im Laufe des Jahres fertig gestellt und neue Tiermodelle hierzu etabliert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Rückert, M. et al.: Cancers (Basel). 2021 Feb 9;13(4):714

Zhou J. G.; Donaubaue, A. et al.: J Immunother Cancer. 2021 Feb;9(2):e001845

Zuwendungsempfänger: GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Planckstr. 1, 64291 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 054A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 935.813,00 EUR	Projektleiter: Dr. Jakob	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gegenstand dieses Verbundprojektes ist ein besseres Verständnis des Zusammenspiels von Strahlenqualität (unter besonderer Berücksichtigung dichtungisierender Teilchenstrahlung) und DNA-Reparatur im Chromatinkontext in Abhängigkeit spezifischer Tumorzelleigenschaften um diese Tumorzellen durch gezielte Inhibition für die in der Radiotherapie eingesetzte ionisierende Strahlung zu sensibilisieren, Normalgewebszellen aber nach Möglichkeit unbeeinflusst zu lassen. Um dieses Ziel zu erreichen werden in Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Prof. Dr. M. Löbrich (TU Darmstadt) und Prof. Dr. G. Iliakis (Universität Duisburg-Essen) verschiedene Schwerpunkte bearbeitet und die übergeordnete Fragestellung dieser potentiell sensibilisierenden Tumorzelleigenschaften aus unterschiedlichen Blickwinkeln (Chromatinstruktur, Reparaturwege, Energiemetabolismus) angegangen. Ein fundiertes mechanistisches und molekulares Verständnis ist eine unverzichtbare Grundlage für einen auf wissenschaftlicher Erkenntnis basierenden kombinatorischen Therapieansatz. Neben den wissenschaftlichen Forschungszielen ist auch der Kompetenzerhalt in der Strahlenforschung ein wichtiger Aspekt des Verbundprojektes, dem durch die Ausbildung von wissenschaftlichem Nachwuchs Rechnung getragen wird. Dazu zählen die Einbindung und Ausbildung von Doktoranden ebenso wie die Rekrutierung oder Weiterbeschäftigung talentierter Nachwuchswissenschaftler (Postdoktoranden). Neben der Forschungsarbeit erlaubt das Verbundprojekt dem Nachwuchs durch den regelmäßigen Austausch eine erleichterte Heranführung an die Strahlenforschung beziehungsweise eine Vertiefung vorhandener Kenntnisse sowie eine Vernetzung auf nationaler Ebene.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

AP1 (GSI): Eine der seit langem identifizierten Änderung vieler Tumore ist ihre ausgeprägte Fähigkeit auch unter aeroben Bedingungen Glykolyse zu betreiben und so ihre Energie und Stoffwechselprodukte für eine schnelle Proliferation zu gewinnen und eine dem Tumorwachstum förderliche Umgebung zu schaffen. Ziel in diesem Arbeitspaket ist es den tumor-spezifischen Energiestoffwechsel zu hemmen der normalerweise auch die notwendige Energie bereitstellt um die Reparatur von DNA-Schäden zu gewährleisten, zudem die Reparatur durch eine offene Chromatinstruktur begünstigt und ein reduktives Milieu schafft und so zur Strahlenresistenz beiträgt.

Untersucht werden soll, wie sich die Hemmung der Glykolyse auf den Energiehaushalt, die Chromatinstruktur sowie die Wahl der Reparaturwege nach einer Bestrahlung auswirkt und wie dadurch das Überleben der Zellen beeinflusst wird. Zusätzlich soll auch der Einfluss einer Bestrahlung auf das Redoxpotential und die Generierung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) analysiert werden, da Tumorzellen oft schon ein erhöhtes oxidatives Stresslevel aufweisen, welches durch die Inhibition der aeroben Glykolyse weiter gesteigert und somit zum Zelltod beitragen könnte. Ein besonderes Augenmerk wird im Rahmen des AP1 auf den Einfluss der Strahlenqualität und der, damit einhergehenden, größeren Schadenskomplexität durch die vergleichende Verwendung dicht ionisierender Teilchenstrahlung gelegt werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

In dem Berichtszeitraum von 01.01.2021 bis 30.06.2021 wurden die experimentellen Bedingungen für die ausgewählten Zelllinien optimiert, neue Techniken und Methoden getestet und erste Experimente mit Schwerionenstrahlung durchgeführt.

Wie im letzten Bericht erwähnt, zeigte zumindest die Sarkomlinie HT1080 eine Anpassung ihres Energiestoffwechsels an das jeweils benutzte Medium während längerer Kultivierung. Um diese Variationen zu minimieren und jeweils gleiche Ausgangsbedingungen zu erhalten, wurden die Kulturbedingungen der jeweiligen Zelllinien ausgetestet und die Kultivierungsprotokolle angepasst.

Zudem wurden neue Techniken etabliert, um die Inhibitor-Experimente effizienter durchführen zu können und die Möglichkeit zur Analyse zu erweitern. Dazu wurden z. B. der Sulforhodamin-Test etabliert der einen raschen Aufschluss über das Zellwachstum liefern kann. Zudem wurden verschiedene Lebendzell-Mikroskopiesysteme für den Inkubator getestet, die in Echtzeit das Wachstum und Überleben der Zellen erfassen können. Automatisierte Proliferationsmessungen die in Multiwellplatten durchgeführt werden sollen in Zukunft im Projekt den Zeitaufwand des Austestens der Inhibitorkonzentrationen sowie ihrer Wechselwirkung mit Strahlung deutlich verkürzen. Auch die Auswertung soll so effizienter werden.

Zusätzlich wurde die Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie und Fluoreszenz/Lumineszenz-Tests eingesetzt um den Redoxzustand bzw. den oxidativen Stress der Zellen vor- und nach Behandlung mit Inhibitoren und Strahlung zu charakterisieren. Dazu wurden die Antioxidantien NAD(P)H und Glutathion (GSH) gemessen sowie die Wasserstoffperoxidgenerierung. Um geeignete Konzentrationen und Strahlendosen für die verwendeten Tumorzelllinien zu definieren wurden Experimente mit einer Kombination der Inhibitoren und Röntgenstrahlung durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass der Inhibitor BSO schon bei geringen Konzentrationen (wenige μM) in der Lage war, den Glutathionpool deutlich zu verringern. Der Thiothionin-Inhibitor Auranofin hingegen erwies sich bei 200 nM schon als zytotoxisch.

Im Mai konnten erste Experimente mit einem Kohlenstoffstrahl durchgeführt werden. Durch die Inhibition der Hexokinase II (HKII) sollen vornehmlich metabolisch glykolytische Tumorzellen zur oxidativen Atmung gezwungen werden um den oxidativen Stress zu erhöhen. Eine zusätzliche synergistische Inhibition der antioxidativen Abwehr soll dazu führen, dass die durch die Strahlung entstehenden Radikale/Peroxide nicht mehr effektiv abgefangen werden können und die Zellen absterben. Dazu wurden die Zelllinien entweder mit dem HKII Inhibitor 2-DG behandelt oder mit BSO, der das verfügbare GSH reduziert bzw. einer Kombination von beiden. Diese Experimente waren so ausgelegt, dass sie das Überleben der Zellen sowie deren oxidativen Stress bzw. den Level der Antioxidation nach Behandlung mit Inhibitoren und Bestrahlung messen. Zudem wurden Proben bestrahlt, um das Reparaturverhalten der Zellen unter diesen inhibitorischen Bedingungen analysieren zu können.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die unmittelbar geplanten Weiterarbeiten bestehen aus der Aufarbeitung und Auswertung der erhaltenen Daten aus der Kohlenstoffstrahlzeit und vergleichender Röntgenexperimente. Diese werden zeigen, ob und in wie weit die verschiedenen Zelllinien auf die Schwerionenstrahlung in Kombination mit den oben genannten Inhibitoren reagieren und ob es einen Unterschied in der Strahlenantwort bezüglich der Strahlenqualität gibt. Aus den gewonnenen Daten und Erkenntnissen soll die experimentelle Strategie bezüglich der verwendeten Zellsysteme und Inhibitoren angepasst und optimiert werden. Dabei steht im Mittelpunkt, die molekularen Mechanismen der jeweiligen Zelllinien zu verstehen, die zu den beobachteten Phänotypen geführt haben. Der Schwerpunkt dieser Untersuchungen liegt im Energiestoffwechsel und dem Redox-System der Zellen.

Im Speziellen ist geplant für die zytotoxischen Inhibitoren mittels Proliferationsstudien Dosis-Effektkurven für die einzelnen Zelllinien zu erstellen und anschließend bei subletalen Konzentrationen Röntgenbestrahlungsexperimente durchzuführen.

Vor allem die ersten Ergebnisse der Bestrahlungsexperimente der Arbeitspakete sollen zeitnah intensiv diskutiert werden, um ein weiteres Vorgehen abzustimmen. Dazu ist für die zweite Hälfte des Jahres ein weiteres Verbundtreffen geplant. Aufgrund von Covid-19 und den aktuell noch existierenden Beschränkungen an den Instituten wird auch dieses Treffen voraussichtlich virtuell stattfinden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Averbek et al.: O-GlcNAcylation Affects the Pathway Choice of DNA Double-Strand Break Repair, *Int.J.Mol.Sci.* 2021;22(11):5715

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen		Förderkennzeichen: 02 NUK 054B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 913.833,01 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Iliakis	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Vorarbeiten in unserem Labor konnten zeigen, dass globale Manipulationen der Chromatinstruktur, z. B. hervorgerufen durch Tonizitätsveränderungen, erheblich die Doppelstrangbruch(DSB)-Reparatur durch Homologe Rekombinationsreparatur (HRR) verschlechtern und gleichzeitig Single Strand Annealing (SSA) deutlich verbessern. Da dieser Eingriff in die Chromatinstruktur jedoch von begrenzter physiologischer Relevanz ist, werden in diesem Projekt die Rollen zweier Schlüsselkomponenten der Chromatinorganisation untersucht: CTCF und Cohesin, die für die globale Organisation des Chromatins essentiell sind und zudem eine noch nicht aufgeklärte Rolle in der HRR spielen. Da die topologische Organisation des Chromatins u. a. die Reaktion auf DSBs sowie die Wahrscheinlichkeit und Beschaffenheit von Verarbeitungsfehlern (z. B. Translokationen), die zur Karzinogenese führen können, bestimmt, werden wir die Rollen von CTCF und Cohesin auf die Gesamtantwort auf DSBs untersuchen. Hierbei liegt ein besonderer Fokus auf der Analyse der Verarbeitung von DSBs unterschiedlicher Komplexität, die durch Teilchenbestrahlung bei der GSI, aber auch enzymatisch lokal induziert werden kann.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Etablierung des Knockdowns von CTCF und Cohesin mithilfe der RNA Interferenz in normalen humanen Fibroblasten und Epithelzellen sowie in humanen Tumorzellen. Außerdem Einarbeitung in CRISPR/Cas9 Technologie für Knockout Experimente von CTCF in A549 Zellen.
- Untersuchung der Rolle von CTCF und Cohesin auf verschiedene DSB Reparaturwege mithilfe von U2OS Reporter Assay Zelllinien sowie tiefergehende Analyse hinsichtlich der HRR mittels Rad51 Foci Analyse in der S/G2-Phase des Zellzyklus mithilfe konfokaler Mikroskopie.
- Untersuchung der Rolle von PAR in der Rekrutierung von CTCF und Cohesin an DNA Schäden. Hier sollen verschiedene PARP1 Inhibitoren sowie PARP1^{-/-} A549 Zellen genutzt werden (in Zusammenarbeit mit AP2).
- Analyse des Einflusses von CTCF und Cohesin auf DSB Reparatur durch klassische Nicht-Homologe Endverknüpfung (cNHEJ) nach hoher Strahlendosis (5 - 40 Gy) mittels PFGE sowie im Niedrigdosisbereich durch die Auswertung von γ H2AX Foci mittels konfokaler Mikroskopie. Fokus liegt hier auch auf der γ H2AX Fokusgröße (in Zusammenarbeit mit AP1). Zusätzlich sollen DNA-PK Inhibitoren eingesetzt werden, um die Funktion der alternativen Endverknüpfung (altEJ) ebenfalls zu untersuchen.
- Untersuchung der Rolle von CTCF und Cohesin auf die ATM und ATR Signalwege und die G2-Kontrollpunktaktivierung. Hier soll zwischen Zellen, die in der S- bzw. G2-Phase bestrahlt wurden, unterschieden werden. Zusätzlich soll der S-Phase Kontrollpunkt mithilfe der Inkorporation von radioaktiv markiertem Thymidin analysiert werden.

- Mittels klassischer Zytogenetik soll die Bildung von Chromosomenaberrationen in normalen humanen Fibroblasten und RPE-1 hTert Zellen untersucht werden, in denen CTCF bzw. Cohesin herunterreguliert wurde. Fokus liegt hier auf der G1- bzw. G2-Phase.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Zuge der Kollaboration konnten wir im Frühjahr Strahlzeiten an der GSI nutzen. Dabei wurden humane Epithelzellen (RPE-1 hTert), in denen zuvor CTCF mittels siRNA herunterreguliert wurde sowie Kontrollzellen, die mit nicht-codierender RNA behandelt wurden, verwendet. Die Bestrahlung fand am UNILAC unter Verwendung von Kohlenstoff-Ionen mit einer Energie von 8,6 MeV/u statt. Breit angesetzte Experimente führten zu folgenden Ergebnissen: Zytogenetische Analysen zeigten eine ansteigende Tendenz der Translokationsbildung und des Schwesterchromatidaustausches nach hoch-LET Bestrahlung, wenn CTCF herunterreguliert wurde. Die Western Blot Analyse ergab, eine geringere Aktivierung von ATM (gemessen an phosphorylierter ATM-Menge) nach Bestrahlung in Zellen ohne CTCF. Infolgedessen konnten wir auch leicht niedrigere Werte für γ -H2AX nach CTCF-Knockdown finden. Wie im vorherigen Bericht bereits erwähnt, konnten wir auch mittels der Immunfluoreszenz-Mikroskopie eine erhöhte Anzahl an RPA-Foci in unbestrahlten Zellen ohne CTCF feststellen. Durch die Bestrahlung erhöht sich die Resektionsaktivität kaum im Gegensatz zu den Kontrollzellen. Die Untersuchung der Reparaturkapazität der Homologen Rekombination (die abhängig von der Endresektion ist) zeigte, dass der CTCF-Knockdown zu einer Reduktion führt, die HRR jedoch nicht komplett ausschaltet.

Des Weiteren konnte eine siRNA basierte Herunterregulierung zweier Condensin-Untereinheiten in RPE-1 hTert Zellen etabliert werden. So ist es uns gelungen, CAPH (Condensin I) und CAPD3 (Condensin II) auszuschalten, um auch den Einfluss dieser Chromatin-modellierenden Proteine auf die DNA DSB Reparatur zu untersuchen.

Die Revision der angestrebten Veröffentlichung (s. 5.) erforderte noch weitere, extensive Experimente, um alle Fragen der Reviewer zu adressieren. So ist im Laufe der Versuche aufgefallen, dass bekannte Reparatur-Foci (γ -H2AX, pATM und 53BP1) unter hypotonen Bedingungen nicht oder in geringerem Maße sichtbar sind. Mittels Western Blot konnten wir allerdings feststellen, dass dies nicht auf eine geringere Aktivierung/Phosphorylierung zurückzuführen ist, sondern eine direkte Konsequenz der Chromatindekondensation ist, die durch hypotone Behandlung verursacht wird.

4. Geplante Weiterarbeiten

- Um eventuelle Unterschiede zwischen Zelltypen ausfindig zu machen, soll die siRNA vermittelte Herunterregulierung von CTCF, Cohesin und Condensin I+II auch in humanen Fibroblasten (82-6 hTert) und humanen Tumorzellen (A549) etabliert werden.
- Die Experimente, die an der GSI durchgeführt wurden, sollen ebenfalls mit Niedrig-LET-Strahlung durchgeführt werden, um eventuelle Unterschiede in der DSB Reparatur sowie im DNA Damage Response Signaling in Abhängigkeit der Strahlenmodalitäten festzustellen (s. Experimente unter folgenden Punkten).
- Der Einfluss des CTCF Knockdowns auf die Resektionsaktivität soll weiter erforscht werden. Um ebenso den Einfluss vor allem auf die HRR zu untersuchen, sollen Rad51 Foci sowie RPA70 Foci in Zellen nach CTCF Knockdown und Bestrahlung durch konfokale Mikroskopie untersucht werden. Zusätzlich wird hier ebenso die Bildung von γ -H2AX und 53BP1 Foci untersucht.
- Außerdem soll der Einfluss der Herunterregulierung von CTCF und Cohesin auf die Bildung von Chromosomenaberrationen (z. B. Translokation) mithilfe der klassischen Zytogenetik in humanen Epithelzellen, Fibroblasten und Tumorzellen bestimmt werden. Hier soll zunächst der Fokus auf Zellen in der G2-Phase des Zellzyklus gelegt werden, da in dieser Phase alle Reparaturwege aktiv sein können.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Krieger L.M., Mladenov E., Soni A., Demond M., Iliakis G.; Hypotonic stress disrupts homologous recombination and shifts DSB repair to error-prone single strand annealing. DNA Repair (Amst). 2021 – under revision

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt		Förderkennzeichen: 02 NUK 054C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 804.799,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Löbrich	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Der Schwerpunkt des geförderten Projekts liegt auf der Charakterisierung der beiden Faktoren Rad52 und ATRX, welche Ansatzpunkte für eine individualisierte Strahlentherapie darstellen können. Ziel ist es dabei, die Funktion von Rad52 und ATRX während der Homologen Rekombination (HR) in Normalgewebs- und Tumorzellen aufzuklären, somit einen wichtigen grundlagenwissenschaftlichen Beitrag zum Verständnis der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) im Kontext von Chromatin zu leisten und letztendlich zu einer klinischen Anwendung dieser Erkenntnis beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Bisherige Studien konnten zeigen, dass BRCA2-defiziente Tumorzellen durch einen Verlust von Rad52 effektiv abgetötet werden. Eigene Vorarbeiten gaben Hinweise darauf, dass dies auf die Nutzung eines fehlerbehafteten Reparaturwegs (Alt-NHEJ) zurückzuführen ist, der zur Ausbildung toxischer chromosomaler Veränderungen führt. Dieser Prozess, welcher durch die Polymerase Pol θ vermittelt wird, scheint von Rad52 unterdrückt zu werden.

Im ersten Teil des Teilprojekts soll diese Hypothese überprüft und das Wechselspiel von Rad52 und Pol θ an resektierten DSBs genauer charakterisiert werden. Dadurch sollen die Mechanismen, die zur Empfindlichkeit von BRCA2-defizienten Tumoren gegenüber einer Rad52-Inhibierung beitragen, genauer verstanden und ein wichtiger Beitrag für den Einsatz von Rad52-Inhibitoren in der Krebstherapie geleistet werden.

Der zweite Teil des Teilprojekts beschäftigt sich mit dem Chromatin-Remodellierer ATRX und baut auf den im Vorgänger-Projekt (02NUK037C) gewonnenen Erkenntnissen auf. Hier konnten wir zeigen, dass ATRX während der HR für die Chromatin-Wiederherstellung beim Schritt der DNA-Synthese entscheidend ist. Darauf aufbauend soll nun die Bedeutung des ATRX-abhängigen Reparaturwegs für verschiedene Entitäten von DSBs untersucht werden. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen einen Beitrag zur Etablierung von Therapieansätzen leisten, bei denen Tumore mit ATRX-Defekten (etwa 10-15 % aller Tumore) gezielt und unter Schonung von Normalgewebszellen mit DNA-schädigenden Agenzien inaktiviert werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

1. Teil: Ein Verlust von Rad52 oder der Polymerase Pol Θ führt zu einem starken Absterben von BRCA2-defizienten Zellen. Mit unseren Studien konnten wir nicht nur die bisher nicht verstandenen Hintergründe dieser synthetischen Lethalität aufklären, wir konnten zudem zeigen, dass die Funktionen dieser drei Faktoren zusammenhängen. Unsere Arbeiten verdeutlichen, dass resektierte DSBs in BRCA2-defizienten Zellen über den fehlerbehafteten Weg des Pol Θ -vermittelten Alt-NHEJ repariert werden, der somit einen alternativen Reparaturweg zur HR darstellt. Wird Pol Θ in BRCA2-defizienten Zellen depletiert, sind beide möglichen Wege zur Reparatur resektierter DSBs defekt, was in persistierenden DSBs, der Ausbildung von Mikrokernen und letztlich im Absterben der Zellen resultiert. Der Pol Θ -abhängige Reparaturweg ist dabei auf den Zeitraum der Mitose begrenzt und eine vorzeitige Nutzung in der G2-Phase führt zur Ausbildung chromosomaler Fusionen und Anaphasebrücken, was für die Zelle häufig letale Ereignisse darstellt. Diese vorzeitige Nutzung des Alt-NHEJ wird sowohl durch BRCA2 als auch durch Rad52 unterdrückt, was eine Erklärung für das starke Zellsterben darstellt, wenn beiden Faktoren fehlen. Diese Ergebnisse, die vor allem auf der siRNA-vermittelten Depletion von Pol Θ oder Rad52 beruhen, wurden in diesem Berichtszeitraum auch in Pol Θ - und Rad52-Knock-out-Zelllinien bestätigt. Abschließend konnten wir durch Untersuchung unterschiedlicher Rad52-Deletionsmutanten mit der DNA-Bindedomäne und der RPA-Interaktionsdomäne zwei Proteindomänen identifizieren, die für die Funktion von Rad52 essentiell sind. Eine Interaktion von Rad52 mit Rad51 ist für diese Funktion jedoch nicht nötig.

2. Teil: Etwa 10-15 % aller Tumore zeigen eine Defizienz für den Chromatin-Remodellierer ATRX. Wir konnten in unseren Studien zeigen, dass ATRX für einen Unterweg der HR essentiell ist, welcher sich unter anderem durch Crossover-Ereignisse zwischen den Schwesterchromatiden auszeichnet und der in Wildtyp-Zellen den dominierenden HR-Weg darstellt. In ATRX-defizienten Zellen erfolgt der HR-Prozess über den Unterweg des synthesis-dependent strand-annealing (SDSA), bei dem keine Crossover ausgebildet werden und der von der Aktivität der Helikase RecQ5 abhängt. Eine Depletion von RecQ5 resultiert folglich in ATRX-defizienten Zellen in einem starken Reparaturdefekt, während dies in Zellen mit ATRX kaum Effekte hat. Dies verdeutlicht, dass eine Inhibierung von RecQ5 einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung ATRX-defizienter Tumore unter gleichzeitiger Schonung von Normalgewebszellen darstellen könnte.

4. Geplante Weiterarbeiten

1. Teil: Die bisher gewonnenen Erkenntnisse sollen zeitnah zur Veröffentlichung gebracht werden.

2. Teil: In den bisher durchgeführten Studien konnten wir eine unterschiedliche Bedeutung der beiden HR-Unterwege in Wildtyp-Zellen und ATRX-defizienten Tumorzellen nachweisen und aufzeigen, dass eine Inhibierung von RecQ5 einen vielversprechenden Ansatz zur Therapie ATRX-defizienter Tumore darstellen könnte. In weiterführenden Studien möchten wir nun untersuchen, ob ATRX-defiziente Tumor- und ATRX-profiziente Normalgewebszellen nach Depletion von RecQ5 unterschiedlich stark auf Behandlungen mit therapeutisch relevanten Agenzien (z. B. Strahlung, Topoisomerase-Inhibitoren) reagieren. Da RecQ5 auch in weiteren zellulären Prozessen wie beispielsweise der Replikation involviert ist, könnte eine RecQ5-Inhibierung zu ungewünschten Nebenwirkungen führen. Aus diesem Grund möchten wir den SDSA-Weg weiter charakterisieren, um Faktoren zu identifizieren, die eine noch spezifischere Inhibierung des SDSA-Wegs ermöglichen könnten.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Elbakry A., Juhász S., Chan K.C., Löbrich M. (2021): ATRX and RECQ5 define distinct homologous recombination subpathways; <https://doi.org/10.1073/pnas.2010370118>

Zuwendungsempfänger: Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena		Förderkennzeichen: 02 NUK 055A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 336.499,00 EUR	Projektleiter: Dr. Pospiech	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 2 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde die Optimierung des Synchronisationsprotokolls abgeschlossen. Die Generation von Zellkulturen mit einem hohen Anteil an Zellen in der frühen, mittleren und späten S-Phase ist von großer Bedeutung für das Verbundprojekt. Die Optimierung der Synchronisation und die Etablierung eines Standard-Protokolls hat sich dabei als deutlich schwieriger als ursprünglich erwartet erwiesen. Es konnte schließlich ein neues, robustes Protokoll entwickelt werden, welches auf einen Zellzyklusarrest der Zellen in der G1-Phase mithilfe des cdk4/6 Inhibitors Palbociclib gefolgt von einem weiteren Arrest in der G2-Phase durch den Cdk1-Inhibitor RO3306 aufbaut und eine Synchronisation von 70 - 75 % der Zellen in der S-Phase erreicht werden. Dabei mussten die Konzentrationen sowie Behandlungszeiten der beiden genutzten Zellzyklusinhibitoren unabhängig voneinander optimiert werden.

Im Anschluss wurde das vom Projektpartner Prof. Cordes zur Verfügung gestellte Protokoll verwendet, um erste Proben für die Metabolomanalyse von S-Phase-Zellen zu sammeln. In einer initialen Prüfung zeigten die Proben eine gute Qualität für die Metabolommessungen.

Parallel wurde der Effekt einer pharmakologischen Hemmung von PARP1 bzw. Aktivierung des mTOR Komplexes 1 auf die Strahlenempfindlichkeit von Zellen in der S-Phase basierend auf der High Content Analysis untersucht. Auswertungen zeigen, dass eine Aktivierung des mTOR Komplexes 1 S-Phase-Zellen gegenüber LET Bestrahlung sensibilisiert.

Verzögerungen der experimentellen Arbeiten sind durch das Ausscheiden des ursprünglich im Projekt beschäftigten Mitarbeiters und den Corona-bedingten Einschränkungen im Arbeitsbetrieb unseres Institutes verursacht. Darüber hinaus war die Etablierung des Protokolls für die Zellzyklussynchronisation deutlich aufwendiger als ursprünglich antizipiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Der erste Schwerpunkt des zweiten Halbjahrs 2021 ist die Sammlung der Proben für Metabolom-Untersuchungen, welche der AG Cordes für die weitere Analyse zur Verfügung gestellt werden. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Fortsetzung der begonnenen High Content Analysen (siehe oben). Unterstützt von der AG Borgmann soll darüber hinaus hier neu entwickelte Protokoll der Zellzyklussynchronisation zur Veröffentlichung eingereicht werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 055B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 256.960,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Borgmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 4 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden Experimente zur Herstellung von in der S-Phase synchronisierten Zellen durchgeführt. Dazu wurden in Kooperation mit Dr. K. Siniuk und PD Dr. H. Pospiech, MDA-MB-231 Zellen durch die Inhibitoren, CDK1 (RO-3306) und CDK 4/6 (Palbociclib), synchronisiert und hinsichtlich ihrer erfolgreichen Anreicherung von Zellen in der S-Phase analysiert. Es konnte somit ein robustes Protokoll etabliert werden.

4. Geplante Weiterarbeiten

Mit dem erfolgreich etablierten Synchronisierungsprotokoll werden aktuell Untersuchungen zur Strahlenempfindlichkeit in der S-Phase durchgeführt. Dafür werden Zellen entsprechend dem etablierten Synchronisierungsprotokoll in der G2-Phase gesammelt, synchron aus dem Block entlassen und 4, 7, 11, 15, 19 und 23 h nach Entlassen mit 4 Gy bestrahlt. Für diese Zeitpunkte werden Kolonietests zur Bestimmung der Strahlenempfindlichkeit, Phosphorylierung von CHK1 zur Aktivierung der Intra-S-Phase-Signalkaskade und Analyse der zellzyklusabhängigen Genexpression relevanter Gene gemäß dem beschriebenen Untersuchungsprogramm durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 055C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2020 bis 31.12.2022	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 337.786,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Cordes	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel des Vorhabens ist die Aufklärung des Beitrages von Stoffwechselwegen und extranukleären Signalkaskaden für die S-Phasen-spezifische Strahlenempfindlichkeit, um neue Targets für eine therapeutische Intervention zu identifizieren. Dabei sollen strahleninduzierte Veränderungen in Metabolom und zellulären Signalkaskaden während der S-Phase identifiziert und mechanistisch aufgeklärt werden. Die dadurch identifizierten extranukleären Zielmoleküle sollen dann für eine therapeutische Intervention evaluiert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Metabolom, Kinom und Transkriptom nach ionisierender Bestrahlung in der S-Phase
- AP2: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf die DNA-Reparatur und -Schadensantwort nach Bestrahlung in der S-Phase
- AP3: Einfluss von extranukleären Signalkaskaden und Stoffwechselwegen auf den DNA-Replikationsstress nach Bestrahlung
- AP4: Evaluierung der in den vorgeordneten APs identifizierten Modulatoren der Strahlensensibilität in Hinblick auf eine therapeutische Intervention

Die AP1 und 4 werden hauptverantwortlich durch den Verbundpartner geleitet.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurde das Protokoll der Metabolom-Analyse etabliert und zusammen mit dem Kooperationspartner (Prof. T. Chavakis, Institut für Klinische Chemie, Universitätsklinikum Dresden) erfolgreich getestet.

Der Doktorand Hung Manh Le Van, M. Sc., aus Vietnam, hat auf eigenen Wunsch das Projekt zum 30.06.2021 verlassen. Hauptargument war die fehlende Integration in die Forschungsgruppe durch die Corona-Pandemie, welche zu einer zunehmenden Isolierung des Doktoranden trotz intensiver Gespräche und Treffen geführt hat.

Schlussfolgernd aus diesem Weggang und dem bereits fortgeschrittenen Stadium der Projektförderung wurde eine Stellenausschreibung für einen Postdoktoranden mit Schwerpunkt auf Bioinformatik durchgeführt. Bioinformatik ist ein zentrales Element im gesamten Verbundprojekt und ermöglicht somit ein schnelles Voranschreiten der Arbeiten.

Aufgrund der Tatsache, dass eine Reihe zentraler Experimente durch die Corona-Pandemie nicht durchgeführt werden konnten, wurde bereits eine Mittelverschiebung in das Jahr 2022 beantragt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Einstellung eines geeigneten postdoktoralen Bewerbers/Bewerberin und bioinformatische Analysen zur Identifizierung der zugrundeliegenden Mechanismen der S-Phase spezifischen Strahlenresistenz.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 673.430,00 EUR	Projektleiter: Dr. Barkleit	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Speziationsuntersuchungen von U(VI) in den Biofluiden des Verdauungstraktes
- AP2: Einfluss von Dekorporationsmitteln auf die U(VI)-Speziation
- AP3: Thermodynamische Modellierung der U(VI)-Speziation
- AP4: Einfluss von Dekorporationsmitteln auf die An/Ln(III)-Speziation
- AP5: Thermodynamische Modellierung der An/Ln(III)-Speziation
- AP6: Bestimmung von fehlenden Stabilitätskonstanten für U(VI) und An/Ln(III)

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die Literaturrecherche wurde auf bereits veröffentlichte thermodynamische Daten der ausgewählten Dekorporationsmittel sowie auf die Wechselwirkung von Uran(VI) mit den in den Biofluiden des menschlichen Verdauungstraktes enthaltenen anorganischen und organischen Liganden ausgeweitet. Die Biofluide Speichel, Magensaft und Gallenflüssigkeit wurden hergestellt und erste experimentelle Untersuchungen zur Speziation von U(VI) in diesen Medien mittels Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) durchgeführt. Dabei wurden bei den jeweiligen Biofluiden verschiedene Mischungen untersucht, in dem eine oder mehrere Komponenten weggelassen wurden, um die dominierenden Bindungspartner sowie deren Lumineszenzlebensdauer zu bestimmen.

Syntheseversuche zur Herstellung nicht käuflicher Dekorporationsmittel wurden durchgeführt, die Produkte mittels NMR und SC-XRD bestimmt.

Eine kommerziell erhältliche Chemikalie als Vertreter einer Stoffgruppe (Hydroxamate) wurde in einer ersten Testreihe auf deren potentielle Eignung als Dekorporationsmittel für Eu(III) mittels Laserfluoreszenzspektroskopie (TRLFS) positiv getestet.

4. Geplante Weiterarbeiten

Weiterführende Speziationsuntersuchungen von Uran(VI) in den Biofluiden Speichel, Magensaft und Gallenflüssigkeit werden durchgeführt. Zudem sollen die dominierenden Bindungspartner von Uran(VI) im Pankreassaft, in den Verdauungssegmenten Magen und Dünndarm sowie in der Kombination dieser beiden Segmente bestimmt werden. In einem weiteren Schritt soll die Speziesverteilung mittels linearer Kombinationsanalyse quantifiziert werden. Die Speziationen von Uran(VI) in den Biofluiden des menschlichen Verdauungssystems sollen thermodynamisch modelliert und mit den experimentell bestimmten Daten verglichen werden.

Die Syntheseversuche zur Gewinnung der Zielprodukte werden fortgesetzt. Die Liganden werden anschließend auf ihre Eignung als Dekorporationsmittel untersucht. Neue Strategien zur Synthese von Hydroxamaten mit variabler Kettenlänge sollen getestet werden. Weitere Untersuchungen zur Komplexbildung von Hydroxamaten mit Eu(III) (Konzentrationsreihe, Bestimmung der Komplexbildungskonstanten, Konkurrenzfähigkeit mit physiologischen Komplexbildnern) mittels TRLFS, NMR und ESI-MS (LU Hannover) werden durchgeführt.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Technische Universität Dresden, Helmholtzstr. 10, 01069 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.03.2024	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 933.486,00 EUR	Projektleiter: Dr. Heller	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Vorarbeiten Zellkultur
- AP2: Untersuchungen mit Nierenzellen
- AP3: Untersuchungen mit Magenzellen
- AP4: Untersuchungen mit Darmzellen
- AP5: Zellfreie Experimente
- AP6: Projektmanagement und -leitung

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Zum 01.01.2021 hat der Doktorand, Christian Senwitz, seine Arbeit im Projekt aufgenommen.

Im Berichtszeitraum erfolgte die Einweisung und das Training am Investitionsgerät Cytation 5. Es wurden ersten Protokolle und Methoden zur automatisierten Zellzählung sowie zur Viabilitätsmessung mittels XTT-Assay entwickelt.

In der Zellkultur wurden sechs verschiedene Chargen von FKS getestet und das Wachstum sowie die Morphologie von NRK-52E- und HEK-293-Zellen beobachtet. Die FKS-Charge, die das beste Wachstum bewirkte, wurde bestimmt und wird für sämtliche Experimente dieses Projektes genutzt. Weiterhin wurden Nieren-, Darm- und Leberzelllinie von Mensch/Ratte angeschafft und erste Zellstocks angezogen. Es wurde begonnen, die Morphologie und Wachstumsparameter der Zelllinien zu bestimmen sowie die Zellkultivierung zu optimieren. Ein gemeinsames Standardmedium wurde für alle Zelllinien definiert sowie ein zweites, um Insulin erweitertes Medium für Darmzellen.

Als Dekorationsmittel für dieses Teilprojekt wurden das zugelassene DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure) sowie das kommerziell erwerbliche HEDP (Etidronsäure) ausgewählt und beschafft. In Kooperation mit Kollegen vom Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Ressourcenökologie (HZDR/IRE) wurde die Komplexierung von Eu mit HEDP in Wasser im pH-Bereich 1 - 12 mittels Lumineszenz- (TRLFS), Infrarot- (ATR-FT-IR) und Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) untersucht. Mittels TRLFS wurden in Abhängigkeit vom pH-Wert und Eu:Liganden-Verhältnis fünf verschiedene Komplexspezies der Stöchiometrie Eu:HEDP = 1:1 bzw. 1:2 identifiziert. Mindestens einer dieser Komplexe ist schwer löslich und fällt über einen großen pH-Bereich aus. Daher wurde mittels ICP-MS und C-Bestimmung die Löslichkeit im Eu-HEDP-System untersucht und die Zusammensetzung der Niederschläge bestimmt. Darüber hinaus wurde die theoretische Speziation von Eu + HEDP in Wasser an Hand von Literaturwerten thermodynamisch modelliert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die identifizierten Eu:HEDP-Komplexspezies werden in Zusammenarbeit mit dem HZDR/IRE mittels ATR und NMR weiter charakterisiert und die Komplexstöchiometrie sowie der Bindungsmodus bestimmt. Mittels DFT werden verschiedene Komplexstrukturen berechnet und die resultierenden IR-Spektren mit den experimentell ermittelten verglichen. Mittels NMR werden die pK_s -Werte von HEDP bestimmt, mit publizierten Werten verglichen und die Literaturwerte ggf. ergänzt (pK_{s1} und pK_{s5}). Darüber hinaus werden TRLFS-Spektren von Eu + HEDP in 10 %iger FKS-Lösung sowie in Zellkulturmedium aufgenommen und mit denen in Wasser verglichen. Von Eu + DTPA werden mittels TRLFS Referenzspektren in Wasser sowie in 10 %iger FKS-Lösung und Zellkulturmedium aufgenommen. Für beide Dekorationsmittel wird die dominante Eu-Spezies bei pH 7 - 8 bestimmt.

In der Zellkultur werden die Protokolle für die automatisierte Zellzählung und den XTT-Assay validiert und von den übrigen Zelllinien Stocks angelegt sowie Wachstumskurven aufgenommen. Die Löslichkeit von HEDP sowie HEDP + Eu in Zellkulturmedium wird mittels ICP-MS bestimmt. Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen, werden mittels XTT-Assay Dosis-Wirkungskurven von Eu auf Nierenzellen am Cytation 5 aufgenommen und mit publizierten Daten verglichen. Anschließend wird die Zytotoxizität von HEDP und DTPA auf Nierenzellen mittels XTT-Assay untersucht.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover		Förderkennzeichen: 02 NUK 057C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 391.375,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- AP1: Umfassende Literaturrecherche
- AP2: Synthese der Ra(II)-haltigen Komplexe
- AP3: Charakterisierung von Referenzverbindungen mit massenspektrometrischen Methoden
- AP4: Speziation/Charakterisierung von An/Ln(III) und U(VI) Verbindungen in den Biofluiden in An- und Abwesenheit der Dekorporationsmittel
- AP5: Zusammenfassung/Vergleich der experimentell und rechnerisch ermittelten Ergebnisse

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Die Literaturrecherche wurde begonnen, ist jedoch noch nicht abgeschlossen.

AP3: Beginn der Einarbeitung in die ESI-MS-Messungen ist erfolgt.

Erste Bestandteile der zur späteren Speziation von Radionukliden in AP4 verwendeten synthetischen Biofluiden wurden nach dem UBM-Protokoll (Barge) hergestellt. Die Messung und Charakterisierung dieser Bestandteile mittels ESI-MS wurde ebenfalls begonnen (organische Komponenten).

4. Geplante Weiterarbeiten

- Fortsetzung der Literaturrecherche
- Messung der Biofluide einschließlich der organischen Komponenten
- Einarbeitung in PheeqC
- Vorbereitung eines Workshops zu ESI-MS Messungen

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden		Förderkennzeichen: 02 NUK 057D
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt D		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 406.245,00 EUR	Projektleiter: Dr. Walther	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Gelangen Radionuklide (RN) über den Nahrungspfad zum Menschen, können sie eine radio- und chemotoxische Gefahr darstellen. Um die Gesundheitsrisiken bei einer oralen Aufnahme von RN mit der Nahrung präzise abschätzen und wirksame Dekontaminationsverfahren anwenden zu können, ist ein Prozessverständnis der Biokinetik der RN auf zellulärer und molekularer Ebene zwingend notwendig. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter RN neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der RN im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht. Ziel dieser Arbeiten ist es, mit einem tieferen Prozessverständnis der RN-Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Das Teilprojekt D des Verbundprojektes umfasst folgende Teilaufgaben:

- AP1: Zur Bestimmung sehr kleiner Aktivitätskonzentrationen von ^{228}Ra im Urin werden methodische Arbeiten zur Optimierung einer vorhandenen Methode durchgeführt, um ein für den Routinebetrieb geeignetes radiochemisches Trennverfahren zu entwickeln.
- AP2: Den unter Punkt 4 geplanten Probandenstudien geht die Beschaffung von Paranüssen und geeigneten Heilwässern voran. Zur Charakterisierung der Nahrungsmittel und gleichzeitiger Validierung werden ^{226}Ra und ^{228}Ra mit den entsprechend optimierten Methoden bestimmt und die Analysenwerte mittels Gammaskpektrometrie überprüft.
- AP3: Die sorgfältige Vorbereitung der Probandenstudien (Punkt 4) umfasst die Werbung von potentiellen Teilnehmern und deren ausführliche Information über Ablauf und notwendige Aufgaben sowie die Bereitstellung der notwendigen Sachmittel (Behälter für 24-h-Ausscheidungsproben, Protokolle) in ausreichender Menge.
- AP4: In zeitlich genügendem Abstand werden zwei Probandenstudien mit denselben Teilnehmern durchgeführt, in deren Verlauf eine definierte Menge an Paranüssen bzw. Heilwasser zu einem definierten Zeitpunkt verzehrt wird. Nach einem vorgegebenen Zeitplan werden über einen Zeitraum von ca. 35 Tagen 24-h-Ausscheidungsproben (Urin, Stuhl) gesammelt und in sogenannten Verzehrprotokollen die aufgenommenen Nahrungsmittel dokumentiert.
- AP5: Den Probandenstudien schließt sich die sorgfältige Analyse von ^{226}Ra und ^{228}Ra mittels Gammaskpektrometrie, Alphaskpektrometrie und β -Messung nach radiochemischer Trennung an.

- AP6: Aus den Aktivitätswerten werden die täglichen Ausscheidungsraten, die auf die verzehrte Aktivität normierten Ausscheidungsraten sowie der zeitliche Verlauf der Ausscheidungsraten von ^{226}Ra und ^{228}Ra bestimmt.
- AP7: In enger Zusammenarbeit mit den anderen Teilprojekten werden radiochemische Analysen von Radiumisotopen und ICP-MS-Messungen dreiwertiger Lanthanide durchgeführt sowie Paranüsse und Heilwässer für weiterführende Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Methodische Arbeiten zur Entwicklung/Optimierung eines Verfahrens zur $^{226}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ -Bestimmung in Urin und anderen Matrices werden weitergeführt (Punkt 1):

- Erweiterung des sauren Aufschlusses um basischen Auszug mit Natriumcarbonat
→ Bei der massenspektrometrischen Bestimmung (ICP-MS) von Calcium, Strontium und Barium als chemische Analoga zu Radium werden 15 - 50 % zusätzlich zum herkömmlichen sauren Aufschluss gefunden.
- Recherche, Tests und Beschaffung einer für die Zerkleinerung und Homogenisierung größerer Mengen an Paranüssen geeigneten Mühle bzw. von Zubehörteilen
- Überprüfung möglicher Verlusten bei der Veraschung von Paranüssen bei 550 °C
→ Die gammaspektrometrischen Ergebnisse der Paranussaschen stimmen mit den Messergebnissen für die frisch gemahlene, unveraschte Nüsse innerhalb der Messunsicherheiten überein.

Verschiedene Dokumente zur Durchführung der Probandenstudie sind vorbereitet worden (Punkt 3):

- Informationsmaterial zur Werbung der Probanden
- für die Durchführung der Studien notwendige Dokumente (Fragebogen, Verzehr- und Probenahmeprotokolle)

4. Geplante Weiterarbeiten

Die methodischen Arbeiten zur Entwicklung/Optimierung einer $^{226}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ -Bestimmungsmethode für Urin und andere Probenmatrices werden weitergeführt (Punkt 1):

- Verbesserung des nasschemischen Aufschlussverfahrens, um die Wiederfindung von $^{226}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ zu verbessern
→ Totalaufschluss mit Flußsäure oder Schmelzaufschluss
- Erprobung eines radiochemischen Teilschrittes zur Trennung von ^{228}Ra und ^{228}Ac
→ Verwendung von LN- oder DGA-Resin (Triskem)
- Verwendung von Cer als chemisch zu Actinium ähnlichem Element als Träger und Ausbeutetracer zur Bestimmung der Wiederfindung von ^{228}Ac
- Messreihen von ^{228}Ra bzw. ^{228}Ac im LSC zur Bestimmung der Messeffizienz und des Quenchverhaltens
- Beschaffung und Analyse eines Standards oder Referenzmaterials für $^{226}\text{Ra}/^{228}\text{Ra}$ zur Überprüfung/Validierung der Methoden

Beschaffung und Charakterisierung von Paranüssen und Heilwässern (Punkt 2)

Beschaffung einer Vakuumbox zur möglichen Automatisierung eines Teilschrittes innerhalb des radiochemischen Trennverfahrens (Säulenchromatographie)

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Sondervermögen Großforschung beim Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen		Förderkennzeichen: 02 NUK 057E
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt E		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2020 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 317.343,00 EUR	Projektleiter: Raskop	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Das Gesamtziel der Forschungsaktivität ist es, das Prozessverständnis der Radionuklid Wechselwirkungen im Verdauungstrakt auf molekularer und zellulärer Ebene deutlich zu verbessern und damit zur Erstellung eines präzisen biokinetischen Modells und zur Entwicklung bzw. Verbesserung von nuklidspezifischen Dekontaminationsstrategien beizutragen. In dem geplanten Verbundprojekt werden für die orale Inkorporation ausgewählter Radionuklide neben quantitativen Ausscheidungsanalysen und biokinetischen Modellierungen auch die molekulare Speziation der Radionuklide im Verdauungstrakt und ihre Wechselwirkungen mit Zellen des Magen-Darm-Traktes in An- und Abwesenheit gängiger Dekorporationsmittel untersucht.

Das Teilprojekt E ist ein Teilvorhaben des Verbundes RADEKOR. Der Schwerpunkt des Teilprojekts E (respektive Teilprojekte 5 und 6) am KIT liegt auf der Modellierung des biokinetischen Verhaltens von Americium im menschlichen Körper in An- und Abwesenheit von Dekorporationsmitteln. Hierzu wird ein neues Modell für die Biokinetik von Am(III) entwickelt und getestet. Daraus gewonnene Erkenntnisse werden verwendet um aus experimentell gemessenen Ra(II) und Ln(II) Konzentrationswerten den biokinetischen Prozess der Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung zu modellieren.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

Teilprojekt 5: Modellierung des biokinetischen Verhaltens von Americium im menschlichen Körper in An- und Abwesenheit von Dekorporationsmitteln

Teilprojekt 6: Bioverfügbarkeit von Radium aus Lebensmitteln und Wechselwirkungen im Verdauungssystem (Biofluide, Zellen)

Der Arbeitsplan des Verbundprojekts umfasst insgesamt sechs Arbeitspakete. Die Teilprojekte 1 bis 4 werden ausschließlich durch die Verbundpartner VKTA, TUD, HZDR, und LUH bearbeitet. An Teilprojekt 6 sind alle Partner beteiligt. In diesem fließen die verschiedenen Expertisen und Methoden aller Partner ein, um einen optimalen Synergieeffekt zu erzielen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nachdem 2020 erfolgreich ein Doktorand akquiriert werden konnte, verzögerte sich Pandemie bedingt seine Anstellung. Aufgrund von Corona Vorschriften und Visum Regelungen, konnte er seine Projektarbeit erst im März 2021 starten.

TP5: Das Teilprojekt wurde mit einer Literaturstudie über die zurzeit gängige Inkorporationsüberwachung und Dosisberechnung von Americium und die Auswirkungen bei der Aufnahme in den menschlichen Körper begonnen. Ein Schwerpunkt ist die Analyse des aktuellen Stands der Forschung bezüglich der Simulation von Verteilprozessen des Radionuklides im Körper nach Inkorporation. Dabei werden auch Wissenslücken zum Verständnis der Verteilungsprozesse im menschlichen Körper behandelt. Eine wichtige Erkenntnis ist zum Beispiel, dass Veränderungen des chemischen Zustandes der einzelnen Modellkomponenten während des Aufenthaltes von Americium im Körper in den Modellen oft vernachlässigt wird.

In Diskussionen mit anderen Projektpartnern wurden Experimente vorgeschlagen, um Parameter für die Modellierung zu gewinnen.

Erste Modellansätze für einfache Austauschprozesse im Körper wurden implementiert.

TP6: Dieses Teilprojekt wurde noch nicht gestartet.

4. Geplante Weiterarbeiten

TP5: Die Literaturstudie wird weitergeführt und in der zweiten Jahreshälfte dokumentiert. Die Softwareentwicklung konzentriert sich auf komplexere Kompartimentmodelle, die die Prozesse im menschlichen Körper realistischer beschreiben.

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

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69120 Heidelberg		Förderkennzeichen: 02 NUK 058A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 361.100,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Hausmann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

DNA-Schäden werden in Zellkernen lokal induziert (Koop. Teilprojekt Jülich). Die Auswahl der Schadensorte erfolgt (sequenz)spezifisch an definierten Orten (z. B. Gene, strukturierende Elemente etc.), so dass einzelne und multiple Schäden induziert werden. Mittels hochauflösender Mikroskopie, d. h. Mehrfarben-Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (sowie Elektronenmikroskopie in Teilprojekt Homburg) werden topologische Chromatinveränderungen nach der Schädigung und während der folgenden Reparatur am Schadensort und in der näheren und fernerer Umgebung untersucht. Hierzu werden Hetero- und Euchromatin mittels Antikörper sowie Sequenzen (SINEs, LINEs) mit fluoreszenten Oligonukleotiden spezifisch markiert und analysiert. Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), Targetregionen (γ H2AX-Foci) und Reparaturfoci (Rekrutierungsorte von Reparaturproteinen) werden mittels mathematischer Verfahren quantifiziert. Durch systematischen Vergleich werden charakteristische Parameter der Chromatin- und Reparaturfoci-Architektur ermittelt und ihre Bedeutung für den Reparaturverlauf und die Strahlenresistenz/-empfindlichkeit von Zellen und Gewebe erforscht.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- G1: Etablierung derselben geeigneten Zelllinien in allen Partnerlaboratorien.
- H1: Bestimmung algebraischer Topologien von γ H2AX Clustern in Bezug zu benachbarten Chromatinregionen (Hetero-, Euchromatin, SINEs, LINEs).
- H2: Bestimmung und Topologien initialer Reparaturproteine in Korrelation zu γ H2AX Topologien/Korrelation von γ H2AX und lokaler Reparaturweg-Entscheidung.
- H3.1: Bestimmung von Topologien und Netzwerkcharakteristika von Chromatinkonformationen in potentiellen Schadensbereichen (Kontrollen ohne Strahlenexposition).
- H3.2: Bestimmung von Topologien und Netzwerkcharakteristika von Chromatinkonformationen in geschädigten Bereichen nach Strahlenexposition.
- H4: Bestimmung von Topologien von Chromatinkonformationen in den zu Schadensregionen komplementären Bereichen.
- H5: Optimierung der SMLM Beleuchtung.
- G2: Gemeinsame Erstellung von Zusammenfassungen (Berichten) und Publikationen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

H1 und H3: Es wurden 3 Zellsysteme hinsichtlich topologischer Eigenschaften von γ H2AX und Heterochromatin (H3K9me3) untersucht, die mit Antikörpern markiert und lokalisationsmikroskopisch vermessen waren:

a) normal proliferierende Fibroblasten; b) kontakthinhibierte Fibroblasten aus Langzeitkulturen (6 Monate); c) teilungsreaktivierte Fibroblasten aus Langzeitkulturen.

Während Typ a ein normales in vitro System darstellt, sind b und c gewebeähnliche Systeme. Die Zellen wurden low-LET Photonenstrahlung (2 Gy) exponiert, und Aliquots wurden 1,5 und 6 Stunden nach Bestrahlung fixiert. Als Kontrolle wurden unbestrahlte Zellen gleicher Kulturen verwendet. Die Auswertungen der Messdaten sind noch nicht abgeschlossen. Bisherige Ergebnisse zeigen, dass γ H2AX Cluster in Zellen Typ b im Vergleich zu Zellen Typ c länger persistieren. Netzwerkanalysen der Heterochromatinverteilung bestätigen vorläufig, dass Zellen von Typ b in relaxierten Chromatinzuständen verharren, während stimulierte Zellen des Typ c die Reparatur hochregeln und im Laufe der Reparatur das Heterochromatin wieder in den ursprünglichen Verpackungszustand zurückversetzen.

Die räumliche Organisation von γ H2AX und pATM wurde in HeLa Zellen nach Hyperthermiebehandlung (43 °C) und Bestrahlung (1 Gy Röntgen). Es zeigte sich, dass die hyperthermische Behandlung bei Kombination mit Bestrahlung die Effekte dominierte. Grundsätzlich ließen sich Unterschiede in der Verteilung und Clusterung feststellen, wobei es ein topologisch ähnliches Verhalten von strahleninduzierten γ H2AX-Clustern im Gegensatz zu thermisch induzierten zu geben scheint. Hier werden die vollständigen Ergebnisse noch erwartet.

H1, H2 und H3: Vom Verbundpartner Jülich wurde Jurkat Zell-Präparate mit 125 IUdR und nicht radioaktiver IUdR Markierung und verschiedene Kontrollen zur räumlich-topologischen Analyse zur Verfügung gestellt. Im Einzelnen handelt es sich um Analysen von γ H2AX und 53BP1 in Bezug Eu- und Heterochromatin nach 125 IUdR/IUdR Applikation in früher und später S-Phase. Die Zellen waren zur Schadensanreicherung in der nächsten G1-Phase eingefroren und Aliquots wurden nach dem Auftauen nach 30 min, 1 h, 3 h und 5 h fixiert. Als Kontrollen wurden zusätzlich Zellen nach 10 Gy low LET Bestrahlung analysiert. Die lokalisationsmikroskopischen Messungen sind weitgehend durchgeführt. Die Auswertungen sind noch nicht abgeschlossen. Erste Ergebnisse zeigen jedoch auch bei Exposition mit nicht-radioaktivem Jod erhebliche Anzahlen von γ H2AX Signalen. Daher werden derzeit Cluster-Analysen und topologische Analysen persistenter Homologien durchgeführt, um so ggf. strukturelle Eigenschaften von radioaktiv induzierten Clustern und rein durch Jod induzierte Schäden zu diskriminieren.

4. Geplante Weiterarbeiten

H1, H2 und H3: Die Auswertungen der bereits vermessenen Präparate (siehe 3.) werden fortgesetzt bzw. abgeschlossen und interpretiert.

H4 und H5: Die AP's werden erst in einem folgenden Zeitraum begonnen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Vortrag M. Hausmann auf 1st International Electronic Conference on Cancers: Exploiting Cancer Vulnerability by Targeting the DNA Damage Response: „Space and time in the universe of the cell nucleus after ionizing radiation attacks: a comparison of cancer and non-cancer cell response“ (Artikel in MDPI Proceedings: <https://sciforum.net/paper/view/9219>)

Zuwendungsempfänger: Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken		Förderkennzeichen: 02 NUK 058B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 244.868,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Rube	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Die strahleninduzierte Schädigung der genomischen DNA verändert lokal und meistens auch weitreichend die Chromatin-Architektur im Zellkern. Im Rahmen des Verbundprojektes werden einzelne und multiple DNA-Schadensereignisse an definierten Stellen mittels spezifischen Oligonukleotiden erzeugt, die entsprechende Strahlenemitter tragen (Teilprojekt Jülich). Mittels hochauflösender Mikroskopie-Techniken, d. h. Mehrfarben-Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (Teilprojekt Heidelberg) sowie Elektronenmikroskopie (Teilprojekt Homburg) werden topologische Chromatin-Veränderungen nach der DNA-Schädigung und während der folgenden Reparatur am Schadensort und in der Chromatin-Umgebung untersucht. Hierzu werden die Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), der Targetregionen (γ H2AX-Foci) und der Reparaturfoci (Rekrutierungsorte von Reparaturproteinen) im Euchromatin und Heterochromatin charakterisiert. Durch den systematischen Vergleich der hochauflösenden Mikroskopie-Verfahren werden charakteristische Parameter der DNA-Reparatur im Kontext des Chromatins ermittelt und ihre Bedeutung für den Reparaturverlauf und die Strahlenantwort von Zellen erforscht.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- WPR1: Durch Immunogold-Markierung erfolgt die Visualisierung verschiedener Reparaturfaktoren mittels TEM; hierdurch kann die Bedeutung unterschiedlicher Reparaturwege für die Schadensregulierung euchromatischer und heterochromatischer Brüche untersucht werden.
- WPR2: Durch vergleichende Zuordnung der verschiedenen Graustufen zu Eu- und Heterochromatin kann die Chromatindichte im TEM eingeschätzt werden.
- WPR3: Die Chromatin-Konformation an den unterschiedlichen Schadensorten kann durch den Nachweis verschiedener Histon-Modifikationen zusätzlich charakterisiert werden.
- WPR4: Durch die Markierung der freien Bruchenden mittels modifizierter TUNEL Analyse kann die Verteilung der strahleninduzierten DSBs im Zellkern direkt nachgewiesen werden.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Nach high-LET Strahlexposition mit Kohlenstoff-Ionen wurden TERT-Fibroblasten mittels der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) untersucht, um die Strahlenschäden im Kontext des Chromatins zu charakterisieren. Durch das Mikrobeam SNAKE wurde eine definierte Anzahl von Kohlenstoff-Ionen (1/ 10/ 100 per Puls) fokussiert in mikrometerkleine Streifen bzw. Punkte auf adhärenente Fibroblasten appliziert. Nach Strahlenexposition wurden die strahleninduzierten DNA Schäden durch die Reparaturmarker γ H2AX, 53BP1 und pKu70 mittels konventioneller und hochaufgelöster Immunfluoreszenz-Mikroskopie (STED) visualisiert. Durch Immunogold-Markierungen von 53BP1 und pKu70 wurden die strahleninduzierten DNA-Doppelstrangbrüche (DSB) anschließend mittels TEM im Chromatin-Kontext charakterisiert. Die Chromatindichte wurde durch die verschiedenen Graustufen im TEM bestimmt und entsprechend dem Eu- und Heterochromatin zugeordnet. Die Quantifizierung von einzelnen und gehäuften pKu70 Goldpartikel im Eu- und Heterochromatin erfolgte nach 0.1, 5 h und 24 h nach Strahlenexposition. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die zunehmende Anzahl von Kohlenstoff-Ionen in umschriebenen subnukleären Regionen zu einer räumlichen Ansammlung von DSBs mit erhöhter Schadenskomplexität insbes. im Heterochromatin führt. Diese hoch-komplexen DNA Schäden werden nur verzögert und ineffizient prozessiert; dies erklärt die hohe therapeutische Effektivität der high-LET Bestrahlung mit Kohlenstoff-Ionen. Die Ergebnisse konnten erfolgreich publiziert werden (s. u.).

Mit den Verbundpartnern wurden die verschiedenen Versuchsbedingungen für die Synchronisierung und 125IUdR Markierung der Jurkat-Zellen erfolgreich optimiert, so dass Präparationsartefakte für die TEM-Analyse weitgehend eliminiert werden konnten.

Inzwischen wurden die Jurkat Zellen synchronisiert und in früher S-Phase versus späte S-Phase mit 125IUdR „puls-gelabelt“. Durch die Applikation von JdU wahlweise der frühen oder späten S-Phase erfolgte eine bevorzugte Schadensanreicherung im Euchromatin bzw. Heterochromatin. Anschließend wurden die Zellen in die nächste G1-Zellzyklusphase geschickt und zur Akkumulation von Zerfällen eingefroren. In den Zellen wurden im gefrorenen Zustand ca. 1000 – 2500 Zerfälle (125I) akkumuliert. Nach dem Auftauen wurden die Zellen nach 5 min, 1 h, 5 h und 24 h für die TEM-Analysen fixiert. Zudem wurden als Kontrollen Zellen mit kaltem IUdR inkubiert sowie mit 10 Gy low-LET bestrahlt.

Inzwischen werden die ersten Zellpräparate mittels TEM systematisch analysiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

Die oben beschriebenen Zellpräparate sollen mittels TEM hinsichtlich strahleninduzierter DNA-Schädigung und entsprechender Chromatin-Veränderungen untersucht werden. Durch Immunogold-Markierungen für γ H2AX, 53BP1, pKu70 sollen die strahleninduzierten DNA-Doppelstrangbrüche (DSB) zunächst im Chromatin-Kontext charakterisiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Focused Ion Microbeam Irradiation Induces Clustering of DNA Double-Strand Breaks in Heterochromatin Visualized by Nanoscale-Resolution Electron Microscopy. Lorat Y, Reindl J, Isermann A, Rube C, Friedl AA, Rube CE. Int J Mol Sci. 2021. Online ahead of print

Zuwendungsempfänger: Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Str., 52428 Jülich		Förderkennzeichen: 02 NUK 058C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Entsorgung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.10.2020 bis 30.09.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 334.522,00 EUR	Projektleiter: Dr. Kriehuber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

Mittels Auger-Elektronen-Emitter-markierten Oligonukleotiden und Basenanaloga werden in ausgewählten Zelllinien gezielt DNA-Schäden induziert. Über spezifische Markierungstechniken sowie die Auswahl von Oligonukleotiden können dabei an definierten Orten im Genom neben einzelnen auch multiple DNA-Schäden induziert werden. Mittels hochauflösenden Mikroskopieverfahren (Fluoreszenz-Lokalisationsmikroskopie (Teilprojekt Heidelberg) und Transmissions-Elektronenmikroskopie (Teilprojekt Homburg)) werden die topologischen Veränderungen der Chromatinumgebung nach erfolgter Schädigung und während der darauffolgenden Reparaturprozesse systematisch in der näheren und fernerer Umgebung des Schadensortes untersucht. Hierzu werden Hetero- und Euchromatin mittels Antikörper sowie repetitive Sequenzen mittels fluoreszenten Oligonukleotiden spezifisch markiert und analysiert. Topologien der Strangbrüche (Bruchenden), Targetregionen (γ H2AX-Foci) und Reparaturfoci (Rekrutierung von relevanten DNA-Reparaturproteinen) werden mittels hochauflösender Mikroskopieverfahren detektiert und mittels mathematischer Verfahren analysiert. Durch systematischen Vergleich sollen charakteristische Parameter der Chromatin- und Reparaturfoci-Architektur ermittelt und die Bedeutung für den Reparaturverlauf und der intrinsischen Strahlenresistenz der ausgewählten Zellen korreliert werden.

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- G1: Etablierung geeigneter Zelllinien.
- K1.1: Induktion von DNA Doppelstrangbrüchen im Eu- und Heterochromatin.
- K1.2: Setzen spezifischer DNA-Schäden in alpha-Satelliten.
- K1.3: Spezifische DNA-Schädigung in ALU-/L1-Elementen.
- K2: Quantifizierung der DNA Schäden mittels 53BP1 Antikörperfärbung.
- G2: Erstellung von Zusammenfassungen (Berichte) und Publikationen.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

G1: Die Präparations-Methodik für die Elektronenmikroskopie (Teilprojekt Homburg) wurde angepasst und erfolgreich optimiert. Zudem wurden neue Antikörper für die hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie (Teilprojekt Heidelberg) getestet und das Färbeprotokoll für Jurkat Zellen optimiert.

K1.1: Die in Suspensionskultur wachsenden Jurkat-Zellen wurden, unter Begleitung von durchflusszytometrischen Messungen, mittels Aphidicolin synchronisiert, anschließend mit ^{125}I -UdR in der frühen S-Phase (Euchromatinbereiche) bzw. späten S-Phase (Heterochromatinbereiche) für 1 h puls-gelabelt und nach Einwanderung in die G1-Phase zur Akkumulation von radioaktiven Zerfällen eingefroren. Nach Zerfallsakkumulation bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden die Zellen aufgetaut und danach zu verschiedenen Zeitpunkten für die Elektronen- bzw. Fluoreszenzmikroskopie fixiert. Für Vergleichsuntersuchungen wurden Zellen in der G1-Zellzyklusphase gamma-bestrahlt (^{137}Cs , 0.6 Gy/min). Präparate mit fixierten Zellen wurden gamma-H2AX gefärbt bzw. unbehandelt an die Kooperationspartner verschickt.

K1.1, K1.2 und K1.3: Um radioaktive Zerfälle im nicht eingefrorenen Zustand akkumulieren zu können, wurden Zellen über mehrere Tage bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, unter Verwendung verschiedener Puffersysteme, inkubiert (Hibernation) und danach wieder in Kultur genommen. Erste Experimente zeigten, dass bei einem Großteil der Zellen durch die Hypothermie Apoptose induziert wurde.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Schadensmaß der exponierten Zellen soll hinsichtlich DNA Doppelstrangbruch-Induktion quantifiziert werden (K2). Um eine Zerfallsakkumulation in nicht-eingefrorenen Zellen zu ermöglichen, sollen die Expositionsbedingungen von Zellen bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hibernation) weiter optimiert werden u. a. durch Verwendung von Lösungen aus der Transplantationsmedizin. Parallel hierzu soll die Kryokonservierung der Zellen weiter optimiert werden, um zytotoxische Einfriereffekte zu minimieren (K1.1, K1.2 und K1.3).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		Förderkennzeichen: 02 NUK 061A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 897.237,00 EUR	Projektleiter: Dr. Selmansberger	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP1: Zwei transkriptomische RNAseq Datensätze (generiert aus klinischen HNSCC Proben im Rahmen des ZiSstrans Projektes und aus Xenograft-Resektaten der Cal33 Zelllinie, AP3), wurden zur Analyse in METABOLiST (AP1) vorbereitet. Zu den klinischen Proben liegen auch MALDI-MSI Daten (n=52) vor, die im Berichtszeitraum analysiert wurden. Die Analyse umfasste die Entwicklung eines bioinformatischen Verfahrens zur Auswertung des hochdimensionalen Datensatzes, welches eine einheitliche Quantifizierung von ca. 160 tumor-gewebe-spezifischen m/z-Spezies im Massenbereich von 100-1000 Da ermöglichte. Zusätzlich konnten in einem ersten Schritt m/z-Spezies identifiziert werden, die vermehrt und spezifisch in HPV-assoziierten HNSCCs auftreten. Mit dem Ziel einer basalen metabolischen Charakterisierung des HNSCC Zelllinienpanels (n=14), wurden Zellpellets unter normalen Wachstumsbedingungen, abhängig von der Nährstoffzusammensetzung drei verschiedener Kultivierungsmedien generiert. Es wurden sowohl Proben für die massenspektrometrische Messung (AP4, BGC), als auch Proben für die Generierung von transkriptomischen RNAseq Daten generiert.

AP4: Hochaufgelöste Massenspektren (12T FT/ICR-MS) wurden vom HNSCC Zelllinienpanel (n=14, Zusammenarbeit mit AP1) zur Charakterisierung des basalen Metabolomes unter verschiedenen Kultivierungsbedingungen im positiven und negativen Ionisierungsmodus erzeugt, kalibriert und für die chemometrische Auswertung vorprozessiert. Des Weiteren starteten Arbeiten, um den Einfluss des CD44v6 Rezeptors auf den Metabolismus und des Lipidomes zu erfassen (Zusammenarbeit mit AP3). Hierzu wurden 12 T FT/ICR MS Spektren vollständig erzeugt und prozessiert. Die chemometrische Datenanalyse dieser hat bereits begonnen. Der Einfluss auf das Lipidom wird mittels LC/MS Messung ermittelt. Alle Daten wurden erzeugt, die Datenauswertung wird gegenwärtig abgeschlossen. Vorarbeiten für eine in der Klinik einfach durchzuführende Speichelprobenentnahme und eine analytisch störungsfreie Analyse wurden durchgeführt. Das Protokoll wird in enger Absprache mit den Klinikern der LMU (AP3) optimiert.

4. Geplante Weiterarbeiten

AP1: Assoziation der transkriptomischen Daten aus den klinischen HNSCC Proben mit den vorliegenden klinischen Daten, mit dem Ziel metabolische Unterschiede in Patientengruppen mit unterschiedlichem Therapieansprechen zur identifizieren. Hierzu werden differentielle Genexpressionsanalysen zwischen den Gruppen durchgeführt und eine funktionelle Charakterisierung mittel Anreicherungsanalysen auf „KEGG metabolic pathways“ (Stoffwechselwege) durchgeführt. Dieses Aufgabenfeld soll als erste Arbeit im Rahmen des Promotionsprojekts in AP1 unter Anleitung von Dr. Martin Selmsberger durchgeführt werden. Die in den MALDI-MSI Daten quantifizierten, HNSCC-gewebespezifischen m/z-Spezies werden in Zusammenarbeit mit Dr. Franco Moritz (AP4) annotiert. Anschließend werden die transkriptomischen Daten und die Metabolitdaten der klinischen Proben mit Hilfe eines Gen-Metabolit-Netzwerks integriert und wiederum mit den klinischen Daten und dem Therapieansprechen verknüpft.

AP4: Der Einfluss von verschiedenen Kultivierungsmedien auf das basalen Metabolome soll mittels einer Massen-Differenz-Analyse bestimmt werden, um die Vergleichbarkeit zu Analysen aus Vorarbeiten zu gewährleisten. Weiterhin sollen differentielle Metabolomeanalysen zwischen den HNSCC Zelllinien Einblicke auf die zelllinien-spezifischen Charakteristika geben. Der Einfluss des CD44v6 Rezeptors auf die Strahlenantwort soll auf metabolischer und lipidomischer Ebene herausgearbeitet werden.

Optimierungen im Bereich der Speichelanalyse sind notwendig, da das bisher getestete Material Kontaminationen aufweist, welche die Analytik stören. Überprüft wird ein Wechsel der verwendeten Instrumentierung und das Sammeln von Mundlavagen anstatt von Abstrichen.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 1, 45147 Essen	Förderkennzeichen: 02 NUK 061B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B	
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung	
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021
Gesamtkosten des Vorhabens: 610.514,00 EUR	Projektleiter: Dr. Matschke

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

AP2: Das HNSCC-Zelllinien Panel aus ZiSStrans wurde zur Analyse in METABOLiST an AP2 übergeben. Die einheitlichen experimentellen Voraussetzungen für METABOLiST wurden auf einer Telefonkonferenz festgelegt. Die erforderliche Optimierung der experimentellen Parameter für die Messung der basalen als auch der Strahleninduzierten systemischen metabolischen Veränderungen mittels Seahorse XFe96 Bioanalyzers ist für 7 von 14 HNSCC Zelllinien abgeschlossen. Identifizierung und Einstellung einer geeigneten Kandidatin für die Doktorandenstelle in AP2 zum 01.06.21 ist abgeschlossen. Derzeit erfolgt die Einarbeitung der Doktorandin in die für das Projekt erforderlichen Methoden, u. a. die Kultivierung der HNSCC Zelllinien, die in AP2 metabolisch charakterisiert werden sollen sowie deren Kryokonservierung

Das organisatorische Pre-Kick Off Meeting am 07.01.21 und das Kick Off Meeting am 17.-18.02.21 fanden virtuell statt. Vom Partner IFZ Essen nahmen J. Matschke und V. Jendrossek teil. Außerdem fanden regelmäßige Zoom Konferenzen zur internen Abstimmung der experimentellen Bedingungen für die geplanten Experimente unter den Partnern statt (27.05.21 und 01.07.21).

4. Geplante Weiterarbeiten

Die geplante Weiterarbeit folgt dem Arbeitsprogramm.

5. Berichte, Veröffentlichungen

J. Matschke eingeladener Vortrag Strukturierten Graduierten Ausbildungsprogramms BIOME Radiation Sciences am 22.06.21 am Universitätsklinikum Essen; Titel: Identification of metabolic mechanisms driving cancer cell radiation resistance and associated therapeutic opportunities

J. Matschke eingeladener Vortrag im Rahmen eines Laborseminars im „NeuroScienceLab“ am 07.06.21 am Universitätsklinikum Essen; Titel: Role of cell metabolism in ROS-defense, micro-environment-mediated radiation resistance and associated therapeutic opportunities

Zuwendungsempfänger: Klinikum der Universität München, Marchionenstr. 15, 81377 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 061C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2021 bis 31.12.2023	Berichtszeitraum: 01.01.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 454.653,00 EUR	Projektleiter: Prof. Dr. Lauber	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

Folgende Ziele und Arbeitspakete wurden im Projektantrag formuliert:

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Im Berichtszeitraum fand der experimentelle Forschungsbetrieb in der Klinik für Strahlentherapie Covid-19-pandemiebedingt mit Einschränkungen statt. Um Patient*innen und klinisch tätiges Personal zu schützen, wurden seit 03-2020 bestehende Home-Office-Regelungen für das forschende Personal verlängert. Experimentelles Arbeiten war nur in reduzierter Form des Normalbetriebs möglich. Dies betraf vor allem die im Projekt geplanten tierexperimentellen Arbeiten, da von behördlicher Seite mit Nachdruck empfohlen wurde, tierexperimentelle Arbeiten auf ein absolutes

Minimum zu beschränken (um bei einem eventuellen Covid-19-Ausbruchsgeschehen vorzeitige Versuchsabbrüche zu vermeiden). Die daraus entstandenen Verzögerungen bei der Bearbeitung des vorliegenden Projektvorhabens und die Unterschreitung des Mittelverbrauchs im Vergleich zur Kostenplanung werden unter Punkt 4 und Punkt 8-12 berichtet.

Der Tierversuchsantrag für die vorgesehenen Arbeiten wurde geplant und ausgearbeitet. Er befindet sich in der Finalisierung, und die Submission ist für Q3-2021 geplant.

Parallel wurden – wie im Projektantrag beschrieben – Schnittstellen zum BMBF-Verbundprojekt ZiSStrans (02NUK047) identifiziert und ausgearbeitet. Hierzu gehören bereits bewilligte tierexperimentelle Vorhaben und Projektansätze mit bereits vorliegenden hochdimensionalen Datensätzen.

Aus einer aktuell in Begutachtung befindlichen Publikation des ZiSStrans-Verbunds liegen RNA-Sequenzierungsdaten von HNSCC-Xenotransplantaten vor, die mit Radiotherapie +/- Perturbation des Komplex-I der Atmungskette durch Metformin behandelt wurden. Die Kombinationstherapie war mit einer signifikanten Verbesserung des Radiotherapie-Erfolgs verbunden, und die RNA-Seq-Daten wurden an den Partner HMGU für gezielte Auswertungen im Hinblick auf Veränderungen von Stoffwechselprozessen weitergegeben. Mit identischem Behandlungsschema werden aktuell weitere In-vivo-Proben von Xenotransplantaten anderer HNSCC-Zelllinien für RNA-Sequenzierungsanalysen und analoge Downstream-Analysen generiert.

Eine weitere Schnittstelle zum ZiSStrans-Verbund (02NUK047) ließ sich über die metabolischen und lipidomischen Implikationen der Expression eines Stammzelloberflächen-Rezeptors in HNSCC-Modellen identifizieren. Transkriptomische Analysen aus ZiSStrans hatten gezeigt, dass der genetische Knockdown des Rezeptors zu Breitband-Veränderungen in der Expression von Regulatoren des primären und sekundären oxidativen Stoffwechsels führt. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden Zellkulturproben +/- Rezeptor-Knockdown und +/- Bestrahlung generiert, die vom Partner HMGU in hochauflösenden Massenspektrometrie-Untersuchungen (12T-FT/ICR-MS-Spektren) und LC/MS-Lipidom-Analysen unterzogen wurden. Die Primärdaten liegen vor und befinden sich aktuell in Auswertung.

Die Sammlung klinischer Proben findet – wie im Projektantrag beschrieben – im Rahmen der klinischen Kooperationsgruppe "Personalisierte Radiotherapie von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region" statt. Erste Pilotexperimente zur Sammlung und massenspektrometrischen Analyse von Speichelproben von freiwilligen Spender*innen wurden in Kooperation mit dem Partner HMGU durchgeführt.

4. Geplante Weiterarbeiten

Das Projekt wird wie im Projektantrag geplant weiterbearbeitet. Die bisherige Verzögerung des Projektvorhabens beim Projektpartner LMU Klinikum liegt bei 4 Monaten. Sie rührt daher, dass sich die Fertigstellung des Promotionsprojekts des für die Bearbeitung des Projektvorhabens vorgesehenen PostDoc-Wissenschaftlers pandemiebedingt verzögert hat und insbesondere tierexperimentelle Arbeiten nur stark eingeschränkt durchgeführt werden konnten. Auch ein Medizindoktorand konnte erst zum 15.06.2021 rekrutiert werden.

5. Berichte, Veröffentlichungen

Keine.

Zuwendungsempfänger: Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Str. 22, 81675 München		Förderkennzeichen: 02 NUK 064A
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikro- vaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2021 bis 31.01.2025	Berichtszeitraum: 01.02.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 1.182.531,00 EUR	Projektleiter: Dr. Sievert	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

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

- AP7: Quantifizierung der synaptischen Transmission und synaptischen Plastizität (LTP) von Mäusen nach Bestrahlung und Gabe von Fenofibrat oder Cannabidiol.
- AP8: Quantifizierung der Dichte der neuronalen Dornfortsätze (Spine Density) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis.
- AP9: Bestimmung der Astrozyten-abhängigen Synapseneliminierung.
- AP10: Bestimmung der Mikroglia Polarisation zur Identifizierung neuroinflammatorischer Prozesse.

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Mit Hilfe des CT-bildgestützten Hochpräzisionsbestrahlungsgerätes „Small Animal Radiation Research Platform“ wurde die linke Maus-Hirnhälfte bestrahlt (sham, 2, 8, 20 Gy) und 3 Tage, 5 und 10 Wochen nach Bestrahlung bezüglich Langzeitpotenzierung (LTP) und Gefäßdichte im Hippocampus, einer wichtigen Region für Lern- und Gedächtnis-Leistung, analysiert. Dadurch konnte erstmalig der Langzeiteffekt der Bestrahlung im bestrahlten Hippocampus (linke Hirnhälfte) und der abkopale Effekt im nicht bestrahlten Hippocampus (rechte Hirnhälfte) untersucht werden (AP2). In Zusammenarbeit mit der AG Rammes konnten wir bereits 3 Tage nach Bestrahlung mit 20 Gy im Vergleich zum kontralateralen Hippocampus eine signifikante Reduzierung von LTP im ipsilateralen Hippocampus nachweisen, die mindestens 10 Wochen konstant anhielt. Im Vergleich zu den nicht bestrahlten (sham) Kontrollen (linker Hippocampus) konnten wir 10 Wochen nach der Bestrahlung mit 2, 8 und 20 Gy eine signifikante dosisabhängige Reduzierung von LTP im ipsilateralen Hippocampus zeigen (AP7). Ein abkopaler Effekt im kontralateralen Hippocampus konnte nicht nachgewiesen werden. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass der strahleninduzierte funktionelle Hirnschaden im linken Hippocampus 10 Wochen nach 20 Gy mit einer reduzierten mikrovaskulären Gefäßdichte korreliert (AP5). Zusammenfassend führt die Bestrahlung des linken Hippocampus zu einer dosisabhängigen langanhaltenden Beeinträchtigung der Funktion sowie zu einer Verringerung der Gefäßdichte, während der kontralaterale Hippocampus unverändert bleibt (Fan et al., Manuskript im review). Diese Erkenntnisse geben Einblicke in potentielle Strahlenschäden des Gehirns und liefern hilfreiche Strategien für Teilhirnbestrahlungen, um junge Patienten mit Hirntumoren vor kognitiven Schäden zu schützen.

In einem weiteren Projektabschnitt wurden in Zusammenarbeit mit der AG Tapio strahlungsinduzierte Veränderungen im Serum, insbesondere Entzündungsparameter und Produkte des Cholesterinstoffwechsels, 20 Wochen nach lokaler Herzbestrahlung (8, 16 Gy) mittels Proteomik und ELISA untersucht (Arbeitspaket 2). Im Vergleich zu den nicht bestrahlten Kontrollen konnten wir im Serum einen signifikanten Anstieg entzündungsfördernder Zytokine (TNF- α , TGF- β , IL-1, IL-6), freie Fettsäuren, Gesamtcholesterin, LDL und oxidiertes LDL 20 Wochen nach einer Bestrahlung mit 16 Gy zeigen (Azimzadeh et al., 2021). Diese Erkenntnisse liefern Einblicke in systemische Wirkungen einer Herzbestrahlung und helfen Nebenwirkungen einer Strahlentherapie besser abschätzen zu können.

4. Geplante Weiterarbeiten

Derzeit wird ein Protokoll mit geeigneten settings für die Analyse der isolierten Endothelzellen und Perizyten mittels eines neuen Durchflusszytometers (MACSQuant 9) etabliert. Mit MACSQuant können im Vergleich zum Vorgänger eine erhöhte Anzahl an Oberflächenmarker in geringerer Zellzahl analysiert werden. Insbesondere für isolierte Perizyten, die im Tumor nur in geringer Zahl vorhanden sind, ist die Verwendung von MACSQuant ein großer Vorteil (AP4).

Mit *in vitro* Versuchen soll die Wirkung von Fenofibrat und Cannabidiol auf Endothelzellen und Perizyten nach unterschiedlichen Strahlendosen nachgewiesen werden. Neben der Toxizität stehen insbesondere verschiedene Inflammationsmarker (PECAM-1, ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) im Fokus (AP1).

Das Protokoll zur Isolierung von Endothelzellen und Perizyten aus dem Herzen soll für das Gehirn modifiziert werden, da der hohe Fettanteil im Gehirn eine erfolgreiche Isolierung von Endothelzellen und Perizyten verhindert (AP4).

Zudem soll an Hirschnittpräparaten des Hippocampus die Funktionalität (LTP) nach Bestrahlung vor und nach Fenofibrat- bzw. Cannabidiol-Behandlung bestimmt werden (AP7).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Omid Azimzadeh, Christine von Toerne, Vikram Subramanian, Wolfgang Sievert, Gabriele Multhoff, Michael J. Atkinson, Soile Tapio. Data-independent acquisition proteomics reveals long-term biomarkers in the serum of C57BL/6J mice following local high-dose heart irradiation. *Frontiers in public health*. 2021;9:678856

Manuskript: Hengyi Fan, Wolfgang Sievert, Julian Hofmann, Selina J. Keppler, Katja Steiger, Xènia Puig-Bosch, Bernhard Haller, Gerhard Rammes, Gabriele Multhoff. Partial-brain radiation-induced microvascular cognitive impairment in juvenile murine unilateral hippocampal synaptic plasticity. Im review (*International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*)

Zuwendungsempfänger: Helmholtz Zentrum München Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Oberschleißheim		Förderkennzeichen: 02 NUK 064B
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2021 bis 31.01.2025	Berichtszeitraum: 01.02.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 739.043,00 EUR	Projektleiter: Dr. Tapio	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Die experimentelle Arbeit mit den Mäusen unter Verwendung von Bestrahlung und Agonisten hat, wie im Tierversuchsantrag (Teilprojekt A) vorgesehen, begonnen. Allerdings haben wir (Teilprojekt B) noch kein isoliertes Zellmaterial aus diesen Versuchen erhalten können. Stattdessen haben wir mit der Optimierung der Proteomik-Plattform unter Verwendung kleinerer Mengen von Material aus früheren Experimenten begonnen.

Die Exposition des Herzens mit ionisierender Strahlung wie bei der Strahlentherapie von Brustkrebs oder Morbus Hodgkin erhöht das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wobei eine frühzeitige Erkennung der Herzschiidigung von Vorteil wäre. Deshalb untersuchten wir langfristige Verändelungen in dem Serumproteom nach lokaler Herzbestrahlung am gleichen Mausmodell wie im Teilprojekt A (C57BL/6J) mit dem Ziel, Biomarker für strahleninduzierte Herztotoxizität zu erkennen. Serumproben wurden 20 Wochen nach lokaler Herzbestrahlung mit 8 Gy oder 16 Gy Röntgenstrahlung gesammelt; die Kontrollen wurden scheinbestrahlt. Die Proben wurden mittels quantitativer Proteomik analysiert und mittels Bioinformatik und ELISA weiter untersucht.

Die Analyse zeigte strahleninduzierte Verändelungen in den Spiegeln verschiedener Serumproteine, die an der Akut-Phase-Antwort, der Entzündung und dem Cholesterinstoffwechsel beteiligt sind. Wir fanden eine signifikant erhöhte Expression von entzündungsfördernden Zytokinen (TNF-alpha, TGF-beta, IL-1 und IL-6) im Serum der bestrahlten Mäuse. Der Gehalt an freien Fettsäuren, Gesamtcholesterin, Lipoproteinen niedriger Dichte (LDL) und oxidierten LDL war erhöht, während der an Lipoproteinen hoher Dichte (HDL) durch die Bestrahlung vermindert war.

Diese Studie, die ein Teil von AP1 war, liefert Informationen über systemische Effekte der Herzbestrahlung, die zur Aufklärung von unerwünschten kardialen Effekten nach einer Strahlentherapie verwendet werden können.

4. Geplante Weiterarbeiten

Demnächst werden wir die vergleichende Proteom-Analyse von Endothelzellen und Perizyten aus scheinbestrahltem und bestrahltem Herz mit oder ohne Fenofibrat- oder Cannabidiol-Behandlung durchführen (Material von Teilprojekt A).

5. Berichte, Veröffentlichungen

Azimzadeh, O., von Toerne, C., Subramanian, V., Sievert, W., Multhoff, G., Atkinson, M. J., Tapio, S.: Data-Independent Acquisition Proteomics Reveals Long-Term Biomarkers in the Serum of C57BL/6J Mice Following Local High-Dose Heart Irradiation, akzeptiert zur Veröffentlichung in *Frontiers in Public Health, Section Radiation and Health*

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Fahrenbergplatz, 79098 Freiburg		Förderkennzeichen: 02 NUK 064C
Vorhabensbezeichnung: Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikro- vaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C		
Zuordnung zum FuE-Programm: Nukleare Sicherheitsforschung: Strahlenforschung		
Laufzeit des Vorhabens: 01.02.2021 bis 31.01.2025	Berichtszeitraum: 01.02.2021 bis 30.06.2021	
Gesamtkosten des Vorhabens: 806.321,81 EUR	Projektleiter: Dr. Niedermann	

1. Vorhabensziele/Bezug zu anderen Vorhaben

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

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

2. Untersuchungsprogramm/Arbeitspakete

- Tumorbestrahlung (ablativ bzw. nicht-ablativ) +/- Immuntherapie sowie Isolierung von Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz.
- Erfassung direkter und indirekter genotoxischer Effekte auf Endothelzellen und Perizyten aus bestrahltem und nicht bestrahltem Tumor sowie Lunge und Herz.

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

3. Durchgeführte Arbeiten und Ergebnisse

Wir haben syngene Maustumormodelle (4T1-Mammakarzinom, B16-Melanom), für die anti-tumorale Effekte durch Monotherapie mit Fenofibrat bzw. Cannabidiol beschrieben worden sind, und die Bestrahlungen mittels Kleintierbestrahlungsanlage etabliert und sind dabei, anhand dieser Modelle die Isolierung und durchflusszytometrische Charakterisierung von Endothelzellen aus bestrahltem und nicht-bestrahltem Tumor, Lunge und Herz zu etablieren. Im zurückliegenden Bearbeitungszeitraum lag ein Fokus neben nicht-ablativer Bestrahlung auch auf ablativen Strahlendosen.

4. Geplante Weiterarbeiten














In den nächsten Monaten möchten wir zunächst das Protokoll von Dr. Sievert mit geeigneten Settings für die Analyse von isolierten Endothelzellen und Perizyten mittels Mehrfarbendurchflusszytometrie etablieren. Mit diesem Protokoll können im Vergleich zum Vorgängerprotokoll eine erhöhte Anzahl an Oberflächenmarkern in geringerer Zellzahl analysiert werden (Arbeitspaket 1). Des Weiteren möchten wir die geplanten Experimente zur Erfassung der Strahlensensitivität von Tumor-Endothelzellen, Tumor-Perizyten und der malignen Tumorzellen des bestrahlten Tumors nach nicht-ablativer (3 x 8 Gy) und ablativer (1 x 20 Gy) RT +/- Immuntherapie im Vergleich zu nicht bestrahlten Mäusen (Sham RT) durchführen. U. a. sollen strahleninduzierte DNA-Reparatur-Foci, Zellzyklusveränderungen, Zelltod und Seneszenz direkt *ex vivo* zu verschiedenen Zeitpunkten nach hRT bestimmt werden. Die Analyse von DNA-Doppelstrangbrüchen, Zelltod und ROS (reaktive Sauerstoffspezies) in Endothelzellen und Perizyten von abkopalem Tumor, Herz und linkem Lungenflügel (potentielle Bystandereffekte) mittels Durchflusszytometrie und Immunhistochemie zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Primärtumorbestrahlung ist ebenfalls geplant.

5. Berichte, Veröffentlichungen


E. Firat, G. Niedermann: Abscopal effect by ablative RT on lung metastases in an oligopressive tumor model. *Strahlenther Onkol* (2021) (Suppl 1) 197: 1–246 (2021)

K. Onyshchenko, R. Luo, G. Niedermann: Hypofractionated radiation synergizes with lenalidomide to induce an abscopal immune response. *Strahlenther Onkol* (Suppl 1) 197: 1–246 (2021)


3 Verzeichnis der Forschungsstellen

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Fahnenbergplatz, 79098 Freiburg	
02 NUK 047F	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt F  128
02 NUK 064C	Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt C  186
Bundesamt für Strahlenschutz, Willy-Brandt-Str. 5, 38226 Salzgitter	
02 NUK 035D	Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D  100
02 NUK 047B	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  120
Charité - Universitätsmedizin Berlin, Hindenburgdamm 30, 14195 Berlin	
02 NUK 047E	Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E  126
Elbe Kliniken Stade-Buxtehude GmbH, Bremervörder Str. 111, 21682 Stade	
02 NUK 036B	Verbundprojekt KAUVIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt B  104
Forschungszentrum Jülich GmbH, Wilhelm-Johnen-Straße, 52428 Jülich	
02 NUK 053A	Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt A  48
02 NUK 056B	Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt B  60
02 NUK 058C	Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt C  174
02 NUK 059D	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt D  74
02 NUK 060C	Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt C  84
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossplatz 4, 91054 Erlangen	
02 NUK 050E	Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt E  146
02 NUK 059E	Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt E  76




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

- 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  42







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


- 02 NUK 062D Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt D  26


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

- 02 NUK 049A Verbundprojekt BrainRadiationAssay: Etablierung eines in vitro Systems zur Analyse und Prädiktion von Schäden im zentralen Nervensystem nach Exposition mit ionisierender Strahlung in Kombination mit anderen Neurotoxika, Teilprojekt A  134
- 02 NUK 050A Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt A  138
- 02 NUK 054A Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt A  148


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

- 02 NUK 041B Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt B: Untersuchungen zu Kondensationsprozessen im Notkondensator und numerische Simulation einer passiven Wärmeabfuhrkette  16
- 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  34
- 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  40
- 02 NUK 053B Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt B  50
- 02 NUK 056C Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt C  62
- 02 NUK 057A Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorpositionsmitteln, Teilprojekt A  160


02 NUK 059B Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt B  70


02 NUK 060A Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt A  80


Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig

02 NUK 053E Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt E  56


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

02 NUK 047A Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A  118


02 NUK 061A Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt A  176

02 NUK 064B Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt B  184


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  54

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  136


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  102


02 NUK 036C Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt C  106

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 α -Strahlung, Teilprojekt D  144


- 02 NUK 060E Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt E  88

Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Saarstr. 21, 55122 Mainz


- 02 NUK 042B Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt B  112


Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Kaiserstr. 12, 76131 Karlsruhe

- 02 NUK 059F Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt F  78


- 02 NUK 062A Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt A  20

Klinikum der Universität München, Marchioninstr. 15, 81377 München


- 02 NUK 047C Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  122

- 02 NUK 061C Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt C  180


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

- 02 NUK 064A Verbundprojekt Radio-EC-2: Kompensation strahleninduzierter Inflammation an der Mikrovaskulatur durch inflammationshemmende Substanzen, Teilprojekt A  182


Leibniz-Institut für Alternsforschung – Fritz-Lipmann-Institut e. V. (FLI), Beutenbergstr. 11, 07745 Jena


- 02 NUK 055A Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt A  154

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


- 02 NUK 042C Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt C  114

Leibniz Universität Hannover, Welfengarten 1, 30167 Hannover



- 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  38

- 02 NUK 057C Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt C  164





Öko-Institut. Institut für angewandte Ökologie e. V., Merzhauser Str. 173, 79100 Freiburg

- 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  46


Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Templergraben 55, 52062 Aachen

- 02 NUK 060B Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt B  82
- 02 NUK 060D Verbundprojekt AcE: Grundlegende Untersuchungen zur Immobilisierung von Actiniden mittels Einbau in endlagerrelevante Festphasen, Teilprojekt D  86


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

- 02 NUK 053C Verbundprojekt iCross: Integrität von Endlagersystemen für radioaktive Abfälle - Skalenübergreifendes Systemverständnis und Systemanalyse, Teilprojekt C  52
- 02 NUK 056A Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt A  58
- 02 NUK 057E Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorpositionsmitteln, Teilprojekt E  168
- 02 NUK 059A Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt A  68



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




- 02 NUK 041D Verbundprojekt PANAS: Untersuchungen zu passiven Nachzerfallswärme-Abfuhrsystemen; Teilprojekt D: Statische und dynamische Modellierung der thermischen Kopplung von Fluidphasen und Wärmeüberträgerstrukturen  18

Technische Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin







- 02 NUK 056D Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt D  64

Technische Universität Darmstadt, Karolinenplatz 5, 64289 Darmstadt


- 02 NUK 036D Verbundprojekt KAU VIR: Kombination statt Addition – UV bis IR Strahlung in der Krebsentstehung und Alterung, Teilprojekt D  108
- 02 NUK 042D Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt D  116

- 02 NUK 050B Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt B  140
- 02 NUK 050C Verbundprojekt GREWISalpha: Genetische Risiken und entzündungshemmende Wirkung von dicht-ionisierender α -Strahlung, Teilprojekt C  142
- 02 NUK 054C Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt C  152



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

- 02 NUK 035C Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt C  98
- 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  14
- 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  32
- 02 NUK 055C Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt C  158
- 02 NUK 057B Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionukliden im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorporationsmitteln, Teilprojekt B  162
- 02 NUK 063 Entwicklung einer quantitativen Methode zur Kernmaterialverifikation  28

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

- 02 NUK 062C Verbundprojekt CPC-HD: Physikalische Vorgänge des Wärmeübergangs nach der Siedekrise (Post-CHF) unter hohen Druckparametern, Teilprojekt C  24

Universität Bremen, Bibliothekstr. 1, 28359 Bremen

- 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  44
- 02 NUK 056E Verbundprojekt KRIMI: Kinetik der Radionuklidimmobilisierung durch endlagerrelevante Mischkristalle, Teilprojekt E  66

Universität des Saarlandes, Campus, 66123 Saarbrücken	
--	--

- | | | |
|-------------|---|-----|
| 02 NUK 035A | Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt A | 94 |
| 02 NUK 058B | Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt B | 172 |

Universität Heidelberg, Grabengasse 1, 69117 Heidelberg	
--	--

- | | | |
|-------------|---|-----|
| 02 NUK 058A | Verbundprojekt NANOSTRANG: Einflüsse strahleninduzierter, multipler und einzelner spezifisch-targetierter DNA-Strangschäden auf die übergeordnete meso- und nanoskalige Chromatinarchitektur und die Topologie von Reparaturfoci, Teilprojekt A | 170 |
| 02 NUK 059C | Verbundprojekt f-Char: Spektroskopische Charakterisierung von f-Element-Komplexen mit soft donor-Liganden, Teilprojekt C | 72 |

Universität Leipzig, Ritterstr. 26, 04109 Leipzig	
--	--

- | | | |
|-------------|---|----|
| 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 | 36 |
|-------------|---|----|

Universität Stuttgart, Keplerstr. 7, 70174 Stuttgart	
---	--

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

Universität Ulm, Helmholtzstr. 16, 89081 Ulm	
---	--



- | | | |
|-------------|---|-----|
| 02 NUK 048B | Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt B | 132 |
|-------------|---|-----|

Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, 45147 Essen	
---	--



- | | | |
|-------------|---|-----|
| 02 NUK 047D | Verbundprojekt ZiSStrans: Zielstrukturen der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt D | 124 |
| 02 NUK 054B | Verbundprojekt VERCHROMT II: Erkennung, Verarbeitung und biologische Konsequenzen von Chromatinschäden nach Teilchenbestrahlung II, Teilprojekt B | 150 |
| 02 NUK 061B | Verbundprojekt METABOLiST: Einfluss veränderter Stoffwechselwege auf die therapeutische Strahlenantwort von Tumoren, Teilprojekt B | 178 |

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20251 Hamburg	
--	--


- | | | |
|------------|--|----|
| 02 NUK 032 | DNA-Doppelstrangbruchreparatur in Tumoren: Mechanismen und Targets | 92 |
|------------|--|----|

- 02 NUK 035B** Verbundprojekt DNA-Reparaturfoci: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt B  96
- 02 NUK 055B** Verbundprojekt Radiometabolom: Outside in: Wie wird die Strahlenresistenz in der S-Phase durch den Metabolismus moduliert?, Teilprojekt B  156

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

- 02 NUK 042A** Verbundprojekt ISIBELA: Intrinsische Strahlenempfindlichkeit: Identifikation biologischer und epidemiologischer Langzeitfolgen, Teilprojekt A  110
- 02 NUK 048A** Verbundprojekt ESKaRa: Epidemiologische Studie zu Kardialen Spätfolgen und Zweitmalignomen nach Radiotherapie bei Brustkrebspatientinnen, Teilprojekt A  130

VKTA – Strahlenschutz, Analytik & Entsorgung Rossendorf e. V., Bautzner Landstr. 400, 01328 Dresden
--

- 02 NUK 057D** Verbundprojekt RADEKOR: Speziation und Transfer von Radionuklid im Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Dekorationsmitteln, Teilprojekt D  166