

## I. Schlussbericht – kurze Darstellung

"Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen O2NUK035E gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor".

ZE:	MEDIPAN GMBH	Förderkennzeichen: O2NUK035E
-----	--------------	------------------------------

Vorhabenbezeichnung:	Verbundprojekt: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E aus dem Programm Grundlagenforschung Energie 2020+
----------------------	---

Laufzeit:	01.07.2014 bis 30.06.2019
-----------	---------------------------

### 1. Aufgabenstellung

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

### 2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Der Antrag bezieht sich auf die Bekanntmachung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) der Richtlinie über die Förderung zum Themenfeld 'Grundlegende FuE-Arbeiten in der nuklearen Sicherheits- und Entsorgungsforschung zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses und zum Kompetenzerhalt' im Rahmen des Förderkonzeptes 'Grundlagenforschung Energie 2020+' und des 5. Energieforschungs-programms der Bundesregierung vom 22.7.2011.

Das geplante Projekt nimmt Bezug auf die Themen ‚Strahlenrisiko‘, ‚Individuelle Strahlenempfindlichkeit‘ und hierbei insbesondere auf ‚Testverfahren, die eine quantitative Erfassung der individuellen Strahlenempfindlichkeit erlauben‘, sowie den Kompetenzerhalt zur Nachwuchsförderung und zur Stärkung der internationalen Wettbewerbsfähigkeit durch

die Einbeziehung von Jungwissenschaftlern und Doktoranden. Das Projekt will mit seiner großen Aktualität sowie dem hohen wissenschaftlichen Anspruch einen wichtigen Beitrag für die nachhaltige Nachwuchsförderung im Bereich Strahlenbiologie und Strahlenschutz leisten. Die Antragsteller sind universitäre Arbeitsgruppen, die ihre Kompetenz in der Strahlenforschung an Jungwissenschaftler und Doktoranden weitergeben. Durch die Einbindung des Bundesamts für Strahlenschutz wird Grundlagenforschung mit wichtigen Strahlenschutzthemen verknüpft.

Die Firma MEDIPAN GMBH besitzt ihre Kernkompetenz in der Entwicklung und dem Vertrieb von in-vitro Diagnostika aus dem Bereich der Autoimmunerkrankungen. Ein Schwerpunkt liegt bei der Differentialdiagnostik systemisch-rheumatischer Erkrankungen, die seit den 70er Jahren über den Nachweis von anti-nucleären Antikörpern (ANA) über die humane Epithelzelle (Hep-2 Zelle) mittels indirekter Immunfluoreszenz manuell vorgenommen wird. MEDIPAN stellt weltweit mit der AKLIDES® Technologie erstmals ein System zur Verfügung, welches über intelligente Mustererkennungsalgorithmen eine automatische Auswertung der zellbasierten Immunfluoreszenz-Tests gewährleistet (Hiemann et al. 2006, 2007, 2009; Egerer et al. 2010). Basierend auf dem AKLIDES® System wird eine automatisierte Auswertung von gammaH2AX-Foci aufgebaut (Runge et al. 2012). Innerhalb dieses Verbundvorhabens soll für Lymphocyten, Tumorzellen und Tumorgewebe die automatische Auswertung der gammaH2AX-Foci über die AKLIDES® Technologie weiter entwickelt werden, so dass für diese wichtige Methode zur Bestimmung der individuellen Strahlenempfindlichkeit eine Hochdurchsatzkomponente zur Verfügung steht.

### **3. Planung und Ablauf des Vorhabens**

Die Projektplanung erfolgte im Jahre 2013 und führte zur Einreichung eines gemeinsamen Fördermittelantrags für das Programm "Grundlagenforschung Energie 2020+". Nach der Zustellung des Bewilligungsbescheids wurden mit den Arbeiten zum Projekt begonnen. Im Verlauf des Jahres 2014 wurde die Kooperationsvereinbarung mit den Projektpartnern unterzeichnet.

Die Forschungsarbeiten von MEDIPAN wurden von Juli 2014 bis Juni 2019 durchgeführt. Die MEDIPAN GMBH musste den Zeitrahmen um ein halbes Jahr kostenneutral verlängern, da die Finalisierung der letzten Arbeitspakete mehr Zeit in Anspruch nahm als vorher angedacht.

Die allgemeine Aufgabenstellung für das Teilprojekt setzte sich aus folgenden Grundbausteinen zusammen:

1. Automatisierung des Nachweises von RF in Lymphocyten
2. Automatisierung des Nachweises von RF in Tumorzellen
3. Automatisierung des Nachweises von RF im Tumorgewebe

#### 4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Neben der natürlich vorkommenden bzw. zivilisatorisch bedingten Radioaktivität in der Umwelt führt insbesondere die zunehmende Anwendung ionisierender Strahlen in der Medizin zu einer erhöhten Strahlenbelastung der Normalbevölkerung. Das individuelle Gefährdungspotential einer solchen Strahlenbelastung ist weitgehend unklar, da Menschen erheblich in ihrer individuellen Strahlenempfindlichkeit variieren. Es besteht daher die dringende Notwendigkeit Marker zu etablieren, die eine Aussage über diese individuelle Belastung und individuelle Strahlenreaktion erlauben.

Für die Wirkung einer Bestrahlung sind vor allem DNA-Doppelstrangbrüche (DSB) entscheidend, da nicht oder falsch reparierte DSB zu Chromosomenbrüchen und Translokationen und damit zum Verlust genetischer Information bzw. zum An- oder Abschalten von Onkogenen bzw. Tumorsuppressorgenen führen können. Dementsprechend besitzt die Reparatur von strahleninduzierten DSB eine fundamentale Bedeutung für die Aufrechterhaltung der genomischen Integrität.

Zellen verfügen über zwei zentrale Mechanismen der DSB Reparatur: Nichthomologes Endjoining (NHEJ) sowie Homologe Rekombination (HR). Am NHEJ beteiligt sind insbesondere die DNA-abhängige Proteinkinase (bestehend aus dem Heterodimer Ku70/80 und der katalytischen Untereinheit DNA-PKcs), XRCC4, DNA-Ligase IV sowie Artemis und ATM. Die HR wird eingeleitet durch eine Phosphorylierung des MRN-Komplexes vermittelt durch ATM. Unter der Beteiligung von BRCA1, BRCA2 wird Rad51 an die DNA gebunden und so eine Heteroduplex gebildet, welche die Reparatur des DSB durch Nutzung des Schwesterchromatids als Vorlage ermöglicht. Während das NHEJ in allen Zellzyklusphasen aktiv ist und vor allem die zelluläre Strahlenempfindlichkeit bestimmt, findet die HR nur in S- und G2-Phase statt und entscheidet ganz wesentlich über die genomische Stabilität einer Zelle.

Die je nach Mechanismus bei der Reparatur eines DSB gebildeten Proteinagglomerate können mittels Immunfluoreszenz in Form von diskreten Reparaturfoci (RF) sichtbar gemacht werden. Ein sehr empfindliches, früh nachweisbares Foci-bildendes Protein ist dabei die Histonvariante H2AX, die nach dem Auftreten eines DSB durch ATM am Ser139 zu  $\gamma$ H2AX phosphoryliert wird. Die Anzahl der gebildeten  $\gamma$ H2AX-Foci korreliert dabei mit der applizierten Dosis. Mit zunehmender Reparaturzeit nimmt die Zahl dieser Foci wieder ab. Die  $\gamma$ H2AX-Agglomeration am DSB dient als Plattform für andere Reparaturfaktoren oder Checkpoint-Proteine wie 53BP1, MDC1, BRCA1, BRCA2, FANCD2, ATM, oder die Komponenten des MRN-Komplexes, die entsprechende weitere Schritte einleiten. Durch den Nachweis bestimmter RF kann damit die Nutzung als auch den Ablauf der verschiedenen Reparaturwege verfolgt werden.

Die Analyse dieser RF ist eine sehr sensitive Methode, die die Untersuchung der DSB-Reparaturereignisse nach sehr niedrigen Strahlendosen (bis zu wenigen mGy) und auch auf Einzelzellebene ermöglicht. Durch eine Kombination mit anderen spezifischen Komponenten ist außerdem eine Zuordnung zu bestimmten Zellzyklusphasen sowie bestimmten

Chromatinkompartimenten möglich. Dieses Spektrum an verschiedenen RF soll genutzt werden, um Indikatoren für die unterschiedliche Schadensprozessierung und damit letztendlich unterschiedliche individuelle Strahlenempfindlichkeit zu etablieren.

#### **Zusammenarbeit mit anderen Stellen**

Im Rahmen des Projekts kooperierte die MEDIPAN GMBH mit dem Bundesamt für Strahlenschutz (BFS), Universitätsklinikum Saarland (UKS), Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) und dem Universitätsklinikum Carl Gustav Carus (UKD).

Das Gesamtziel des Forschungsverbundes war der Nachweis von spezifischen RF wie gammaH2AX, 53BP1, pATM und RAD51 zu nutzen, um diese als biologische Marker für die individuelle Strahlenempfindlichkeit bzw. das individuelle Strahlenrisiko zu etablieren. Durch die Vernetzung universitärer Forschung, Strahlenschutz sowie industriellem Knowhow der Firma MEDIPAN wurden die Kompetenzen viele Fachbereiche optimal für den Projekterfolg genutzt.

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

Dahlewitz, den 17.12.2019

-----  
Ort und Datum

-----  
Projektleiter Prof. Dr. Dirk Roggenbuck

MEDIPAN GMBH

## II. Eingehende Darstellung

ZE:	MEDIPAN GMBH	Förderkennzeichen: 02NUK035E
-----	--------------	------------------------------

Vorhabenbezeichnung:	Verbundprojekt: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E aus dem Programm Grundlagenforschung Energie 2020+
----------------------	---

Laufzeit:	01.07.2014 bis 30.06.2019
-----------	---------------------------

### 1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisse

Die beantragten Fördermittel wurden entsprechend der geplanten Aufgabenstellung für die nachfolgend genannten Projektarbeitspakete verwendet:

#### **Arbeitspaket 1 (V7.1): Automatisierung des Nachweises von RF in Lymphozyten**

*Die Blutlymphozyten von 20 gut charakterisierten, gesunden Spendern werden für die Testung von Reproduzierbarkeit, Stabilität, Sensitivität und Spezifität des Nachweises von RF herangezogen und die optimalen Ausgabeparameter werden bestimmt. Die Gegenkontrolle erfolgt bei allen Etablierungen über die manuelle Auswertung der RF. Eine Validierung erfolgt anhand des Lymphozytenarrays sowie der Proben chronisch exponierter Bergarbeiter.*

Für die äquivalente Abarbeitung der Laborarbeiten wurden die Färbeprotokolle mit den entsprechenden Projektpartnern ausgetauscht und angepasst. Ebenso wurden die zu verwendenden Trägermaterialien abgesprochen. Weiterhin wurde die Lymphozytenisolation im Labor etabliert.

Schwerpunktmäßig wurde die Software zur Bilderzeugung entwickelt. Diese beinhaltet die Möglichkeit zur nutzerdefinierte Auswahl wie viele Bilder und Zellen aufgenommen werden sollen, das Definieren der Aufnahmeflächen durch Implementierung eines Messrasters und die Auswahl der passenden Objektive und Filter. Das automatische Anfahren des Probentisches in der x- und y-Ebene sowie die korrekte Fokussierung in der z-Ebene waren ebenso Bestandteil der neuen Software. Diese berechnet unter Nutzung einer objektiven internen Qualitätskontrolle auch die nötige Belichtungszeit für die jeweiligen Marker, sodass die Bilder weder unter- noch überbelichtet sind. Die Fluoreszenzmuster der verwendeten Marker und ein Überlagerungsbild aller Marker werden dann von der angeschlossenen Kamera aufgenommen und in einem separaten Ordner gespeichert.

Zur Verbesserung der Detektion und Analyse wurden Zellparameter und Fociparameter, wie z.B. Anzahl, Größe, Färbung, Intensität und Konvexität, implementiert. Die Analyse der Foci wird dabei nur innerhalb der den Parametern entsprechenden Zellkernen durchgeführt. Dies soll die Detektion von Artefakten oder Färbungen außerhalb des Zellkerns verhindern. Die Ausgabe der Ergebnisse bzw. Rohdaten erfolgt sowohl innerhalb der Software, sowie als Dokument im Excel- und PDF-Format.

Die Analyse von Lymphozytenzellkernen wurde zunächst anhand von Bilddaten ausgetestet und erweitert. Anschließend wurden Messungen von Spenderlymphozyten durchgeführt, um die Bildaufnahme und Bildanalyse zu kontrollieren und verbesserte Algorithmen einzufügen.

Um den Anforderungen der Projektpartner besser zu entsprechen, wurden zusätzliche Parameter hinzugefügt. So z.B. die Möglichkeit, dass der Anwender die Anzahl der zu suchenden Reparaturfoci selbst bestimmt. Somit kann bei Proben mit geringer Focizahl ein statistisch auswertbares Ergebnis erzielt werden.

Bei der Analyse können nun weitere Bilder mit zusätzlichen Informationen generiert werden. In diesen werden bei Objekten, die nicht als Zellkerne klassifiziert wurden, die Parameter genannt, die nicht den Spezifikationen entsprechen. Auch gibt es separate Bilder, in denen die lokalen Intensitätsmaxima in den Zellkernen, der berechnete Hintergrund, und die berechneten apoptotischen Zellen eingezeichnet sind. Die Ausgabe der verschiedenen Bilder mit Zusatzinformationen ist in der Software einzeln auswählbar. So kann der Benutzer selbst entscheiden, ob er diese Informationen braucht, oder nicht speichern lässt, um somit das Datenvolumen zu reduzieren und Speicherplatz zu sparen.

### **Arbeitspaket 2 (V7.2): Automatisierung des Nachweises von RF in Tumorzellen**

*Für die Tumorklinien aus AP6 soll für verschiedene RF eine Automatisierung etabliert werden. Dies soll sowohl für RF, die mit der individueller Strahlenempfindlichkeit als auch mit jenen die mit der genomischer Instabilität assoziiert sind, durchgeführt werden.*

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

Da der Technologiefortschritt vorangeht und die Geräte immer weiter entwickelt werden, wurde bei dem NUK-System ein Upgrade durchgeführt und es wurde eine andere Kamera eingebaut. Das Upgrade sorgt dafür, dass die Stabilität und die Geschwindigkeit optimiert werden (bei der Aufnahme eines Trägers ist die Belichtungszeit der größte Faktor, der die

Gesamtdauer der Aufnahme beeinflusst). Durch dieses Upgrade konnten die Belichtungszeiten beim Fokussieren bis auf den Faktor 40 reduziert werden. Die Belichtungszeit während der Aufnahme von Bildern, die für die Analyse die entsprechende Qualität besitzen müssen, wurde um Faktor 2 reduziert.

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

Um eine Trennung der Zellen in einem Fluoreszenzbild mittels Algorithmus durchführen zu können, wurde eine Überlagerung der beiden Aufnahmen mittels Hellfeld und Fluoreszenz durchgeführt und nach geeigneten Parametern für die automatische Deckung der Bilder gesucht. Dabei wurde die Positionierung der Zellkerne zu einander als helfendes Element gewählt. Bei der Hellfeldaufnahme wurden die Zellkerne im gesuchten Bereich segmentiert und jeweils der Abstand zu einander berechnet.

Für die Aufnahme im Hellfeld wurden unterschiedliche LEDs ausprobiert, mit denen der Objektträger optimal ausgeleuchtet werden soll. Nach einigen Versuchen wurde sich für das NeoPixel LED-Band mit 144 LEDs entschieden. Das Band wurde in kleinere Leisten zugeschnitten (ein Schnitt jede 7mm ist möglich) und parallel eingesetzt. Dadurch ist es möglich eine homogene Ausleuchtung zu bekommen und die Steuerung einfach zu halten. Jede LED kann dabei einzeln gesteuert werden, sodass alle Bereiche homogen ausgeleuchtet werden können.

Durch einen stetigen Austausch mit dem Partners OncoRay wurden noch kleinere Nachbesserungen im Algorithmus vorgenommen und das Benutzerinterface angepasst.

Der Prototyp für den Deckel des Probenstisches wurde erstellt und die neu konstruierte LED Matrix wurde in die Auswertesoftware mit aufgenommen. Durch die Software können die LEDs angesteuert und somit das erhaltene Bild optimiert werden. Für die automatische Überlagerung der Hellfeld- und Fluoreszenzaufnahme wurden weitere Konzepte erarbeitet, mit denen letztendlich eine Erkennung und Separierung der einzelnen Zellen möglich ist. Diese wurden in der kostenneutralen Laufzeitverlängerung durchgeführt.

**Arbeitspaket 3 (V7.3): Automatisierung des Nachweises von RF im Tumorgewebe**

*Für unter AP5 verwendete Tumorgewebeschnitte sowie den bei AP6 etablierten Tumorarray soll eine Automatisierung des RF Nachweises etabliert werden. Dabei sind verschiedene Ausgabeparameter zu testen.*

Für die am UKD geplanten Gewebeanalysen, musste die Hardware des Aklides angepasst werden. Zur Bildaufnahme der histologischen Gewebeproben ist neben der vorhandenen Graustufenkamera eine Farbkamera nötig, auch mussten die dazugehörigen Treiber entwickelt werden. Es wurde begonnen die Software zur Analyse der Gewebeproben zu entwickeln. Die Bildanalysekette wurde definiert und die Implementierung erster Algorithmen, wie z.B. ein lokaladaptiver Schwellwert für die Zelldetektion, begonnen.

Vom Projektpartner OncoRay wurden umfangreiche Bilddaten zur Verfügung gestellt die systematisch in das entwickelte Software-Framework eingelesen wurden. Neben der Bildeingabe ist auch die automatische Bildaufnahme inklusive Ansteuerung der Gerätetechnik sowie Bildparametereinstellung abgeschlossen.

Anhand dieser Bilddaten wurde ein neues Verfahren basierend auf Heat-Maps entwickelt und implementiert um die Gewebeerläufe in fluoreszenzmarkierten Gewebeschnitten zu analysieren. Die Schwierigkeit bestand vor allem in der Heterogenität und häufig nicht eindeutigen Charakterisierbarkeit der Gefäße. Hierbei wurden in Absprache mit dem Projektpartner relevante Teilmerkmale beschrieben und in Form einzelner Heatmap-Regionen extrahiert. Diese Heatmap-Regionen beschreiben über Wahrscheinlichkeiten die Lage des Gefäßes anhand eines Merkmales. Durch die anschließende Überlagerung der einzelnen Heatmap-Regionen gelang eine Detektion des Gewebeerlaufes mit hoher Korrelation zu den manuellen Analyseergebnissen welcher als Vorbefund vorlag. Anschließend wurden an das detektierte Gefäß angrenzende Zellkerne über die Lage im 2D Raum beschrieben und hinsichtlich morphologischer Merkmale geeignete Zellkerne für die  $\gamma$ H2AX Analyse ausgewählt.

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

Zusammen mit dem Projektpartner OncoRay wurde mit Hilfe des neuen Moduls für die Erkennung von Blutgefäßen ein großer Umfang an Bildmaterial ausgewertet. Es sollte geprüft werden, ob die Analyse stabil bleibt und ob sich die Qualität bei verschiedenen Szenen und Konstellationen verändert. Der Projektpartner OncoRay ging die analysierten Bilder durch und bewertet die Analysen.



## **2. Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises**

Die größten Kostenpositionen laut Antrag waren die Ausgaben für Reisekosten über 16.160,00 Euro (0838) und Personalausgaben über 710.769,31 Euro (0837).

Durch erhöhte benötigte Ausgaben bei der Position 0837 Personalkosten wurden Mittel aus den Positionen 0838 Reisekosten kostenneutral umgewidmet.

## **3. Die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit**

Die oben dargestellten Voraussetzungen des Projektes hinsichtlich der Thematik ‚Strahlenrisiko‘, ‚Individuelle Strahlenempfindlichkeit‘ und hierbei insbesondere auf ‚Testverfahren, die eine quantitative Erfassung der individuellen Strahlenempfindlichkeit erlauben‘ ermöglichen eine individuelle Identifizierung und Prävention von strahleninduzierten DSB und somit das genotoxische Potenzial dieser Strahlung greifbar zu machen.

## **4. Der voraussichtliche Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschrittenen Verwertungsplans**

Ein automatisiertes und vergleichbares System zur genotoxischen Bewertung von Strahlung beinhaltet ein hohes wirtschaftliches Potential. Die automatisierte Reparatur-Foci Analyse zielt auf eine große Zahl an verschiedenen Anwendern. Dies sind neben zahlreichen universitären Forschungsgruppen und die verschiedenen medizinischen und technischen Institute, bei denen Strahlung angewendet wird und Behörden mit Aufgaben im Strahlenschutz. Es ist mit einem Listenpreis von 100 € pro Bestimmung zu rechnen. Der angestrebte mittlere Verkaufspreis des Geräts sind 80.000 € inkl. Des Softwarepakets. Bei jährlich 200.000 indizierten strahlentherapeutischen Behandlungen in Deutschland, ist alleine in dieser Zielgruppe ein Potenzial von 20.000.000 € zu finden.

## **5. Der während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordene Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen**

Eine automatisierte Aufnahme und Auswertung von Markern, die einen Doppelstrangbruch anzeigen, ist uns nicht bekannt. Es wurden viele Forschungsarbeiten in dem Bereich der Tumordiagnostik, Strahlentherapie, usw. veröffentlicht und es wurde der Marker gammaH2AX häufig genutzt. Dennoch sind keine relevanten Arbeiten zur Automatisierung der Detektion, speziell auch in Gewebeprobe, bekannt

**6. Die erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses**

Nach Abschluss der Arbeiten ist die Veröffentlichung der Arbeiten auf Messen und in Form von Flyern und Broschüren angedacht. Die entwickelten Techniken wurden in einem Patent (20.09.2017 Europäische Patentanmeldung: EP17192123.2) festgehalten.

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.



GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

Dahlewitz, den 17.12.2019

---

Ort und Datum

---

Projektleiter Prof. Dr. Dirk Roggenbuck

MEDIPAN GMBH

## Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN geplant	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel  Verbundprojekt: DNA-Reparaturfoci als Marker der individuellen Strahlenempfindlichkeit, Teilprojekt E, aus dem Programm Grundlagenforschung Energie 2020+	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)]  Roggenbuck, Dirk	5. Abschlussdatum des Vorhabens Juni 2019
	6. Veröffentlichungsdatum Dezember 2019
	7. Form der Publikation Schlussbericht
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse)  MEDIPAN GMBH Ludwig-Erhard-Ring 3 15827 Dahlewitz	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 02NUK035E
	11. Seitenzahl 13
12. Fördernde Institution (Name, Adresse)  Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)  Projekträger Karlsruhe, Karlsruhe, 17.12.2019	
18. Kurzfassung Ziel des Vorhabens ist die automatisierte Erkennung und Auswertung von DNA-Reparaturfoci (RF) zur Bearbeitung großer Probenmengen mittels des Aklides-Systems. Dies beinhaltet die Entwicklung und Testung von Software, sowie die Beschleunigung des Analyseablaufs im Vergleich zur manuellen Auswertung. Schwerpunkt ist die Analyse von DNA-Doppelstrangbrüchen in Lymphozyten mittels gammaH2AX. Gemeinsam mit dem Partner BfS geht es um Vergleichsuntersuchungen von Proben nach low-dose Strahlenbelastungen bei Bergarbeitern. Der Partner UKE wird in seinen Vorhaben untersuchen, welche Marker zur Erkennung der individuellen Strahlenempfindlichkeit besonders geeignet sind. Die Marker mit dem größten Potenzial sollen bevorzugt in die Software des Aklides Nuk-Systems implementiert werden. In Zusammenarbeit mit dem Partner OncoRay soll die Automatisierung des Nachweises von RF im Tumorgewebe etabliert werden.	
19. Schlagwörter In-vitro Diagnostik, Strahlung, gammaH2AX, fluorometrisch	
20. Verlag	21. Preis

## Document Control Sheet

<b>1. ISBN or ISSN</b> In progress	<b>2. type of document (e.g. report, publication)</b> Report
<b>3. title</b>  Collaborative project: DNA repair foci as a marker of individual radiation sensitivity, subproject E, from the programme Basic Research Energy 2020+	
<b>4. author(s) (family name, first name(s))</b>  Roggenbuck, Dirk	<b>5. end of project</b> June 2019  <b>6. publication date</b> December 2019  <b>7. form of publication</b> Report
<b>8. performing organization(s) (name, address)</b>  MEDIPAN GMBH Ludwig-Erhard-Ring 3 15827 Dahlewitz	<b>9. originator's report no.</b>  <b>10. reference no.</b> 02NUK035E  <b>11. no. of pages</b> 13
<b>12. sponsoring agency (name, address)</b>  Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	<b>13. no. of references</b>  <b>14. no. of tables</b>  <b>15. no. of figures</b>
<b>16. supplementary notes</b>	
<b>17. presented at (title, place, date)</b>  Projektträger Karlsruhe, Karlsruhe, 17th of december 2019	
<b>18. abstract</b>  The aim of the project is the automated recognition and evaluation of DNA repair foci (RF) for the processing of large sample quantities using the Aklides system. This includes the development and testing of software as well as the acceleration of the analysis process compared to manual evaluation. Main focus is the analysis of DNA double strand breaks in lymphocytes using gammaH2AX. Together with the partner BfS, the focus is on comparative investigations of samples after low-dose radiation exposure of miners. The partner UKE will investigate in its projects which markers are particularly suitable for the recognition of the individual radiation sensitivity. The markers with the greatest potential will preferably be implemented in the software of the Aklides Nuk-System. In cooperation with the partner OncoRay, the automation of the detection of RF in tumor tissue will be established.	
<b>19. keywords</b> in-vitro-diagnostic, radiation, gammaH2AX, fluorometric	
<b>20. publisher</b>	<b>21. price</b>

