

SYBE 1: Symposium Bioelectrics I

Zeit: Dienstag 10:30–12:30

Raum: 6A

Hauptvortrag SYBE 1.1 Di 10:30 6A
Immediate, Non-Physiological Responses of Mammalian Cells to Nanosecond Pulsed Electric Fields — ●JÜRGEN F. KOLB¹, JODY A. WHITE¹, WOLFGANG FREY², SHAKA SCARLETT¹, RACHAEL SHEVIN¹, ANDREI PAKHOMOV¹, STEPHEN J. BEEBE³, E. STEVE BUESCHER⁴, PETER F. BLACKMORE³, RAVINDRA P. JOSHI⁵, RICHARD NUCCITELLI¹ und KARL H. SCHOENBACH¹ — ¹Center for Bioelectrics, Old Dominion University, 830 Southampton Ave., Suite 5100, Norfolk, VA, 23510, USA — ²Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, D76021, Karlsruhe, Germany — ³Department of Physiological Sciences, Eastern Virginia Medical School, P.O. Box 1980, Norfolk, VA, 23501, USA — ⁴Center for Pediatric Research, Eastern Virginia Medical School, 855 W. Brambleton Ave., Norfolk, VA, 23510, USA — ⁵Department of Electrical and Computer Engineering, Old Dominion University, 231 Kaufman Hall, Norfolk, VA, 23529, USA

Eine weitläufig akzeptierte Beschreibung der Wechselwirkung gepulster elektrischer Felder mit Zellen und Geweben nimmt die Bildung von Poren an, die aus der Ansammlung von Ladungen und damit verbundenen ansteigenden Spannungsdifferenz über der Zellmembran resultiert. Wenn die Pulslängen kürzer sind als die Aufladungszeit der Membran, aber die Felder stark genug, um die nötigen Schwellenwerte für diese Elektroporation zu überschreiten, ist nicht nur die äußere Membran sondern auch interne Zellmembranen betroffen. Die Resultate dieser elektrischen Stimulation reichen von der bloßen Störung von Zellfunktionen bis zur Einleitung von Apoptosis. Letztere erlaubt den gezielten Einsatz dieser Technologie in der Krebsbekämpfung. Die bisher dokumentierten Effekte ultra-kurzer gepulster elektrischer Felder („nanosecond pulsed electric fields“) sind meist physiologisch und damit eine Antwort der Zelle, Sekunden bis zu Stunden nach der Stimulation. Unsere Experimente zielen darauf ab, die Ladungs- und Transportvorgänge während und der Stimulation unmittelbar folgend zu erhellen. Dazu haben wir die Spannung über der Membran in Echtzeit, d.h. mit einer zeitlichen Auflösung von 5 ns, während der Verabreichung eines 60-ns Feldes, vermessen. Weitere Experimente haben Transportvorgänge von Calcium, mit einer zeitlichen Auflösung von 5 ms erschlossen.

Supported by an AFOSR/DOD MURI grant on the Subcellular Response to Narrow Band and Wide Band Radio Frequency Radiation.

Hauptvortrag SYBE 1.2 Di 11:00 6A
Nanosekunden-zeitaufgelöste Messung der Membranaufladung biologischer Zellen in gepulsten elektrischen Feldern — ●WOLFGANG FREY¹, THOMAS BERGHÖFER¹ und JÜRGEN KOLB² — ¹Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Institut für Hochleistungsimpuls- und Mikrowellentechnologie, Postfach 3640, 76021 Karlsruhe — ²Frank Reidy Research Center for Bioelectrics, Old Dominion University, 830 Southampton Ave., Ste. 5100, Norfolk, VA 23510

Die Aufladung der Zellmembran ist eine notwendige Bedingung zur feldinduzierten Porenbildung (Elektroporation). In Zusammenarbeit mit dem Frank Reidy Research Center for Bioelectrics wurde eine Diagnostik etabliert, die erstmals die Messung der Membranaufladung mit einer Zeitauflösung im Nanosekundenbereich erlaubt. Mittels eines Farbstofflaserimpulses werden Zellen, deren Membranen mit einem feldsensitiven Fluoreszenzfarbstoff gefärbt sind, unter einem Fluoreszenzmikroskop zu unterschiedlichen Zeitpunkten während des anliegenden Feldimpulses beleuchtet. Aus der Änderung der Fluores-

zenzantwort wird die Membranspannung bestimmt.

Es werden die Grundlagen und der Aufbau des Experiments erläutert, Messergebnisse der Membranaufladung unterschiedlicher Zelllinien präsentiert, Schlussfolgerungen und derzeit offene Fragestellungen diskutiert.

Hauptvortrag SYBE 1.3 Di 11:30 6A
Membran-Elektroporation – Konzept und Methode für Klinische Gen- und Krebs-Therapien — ●EBERHARD NEUMANN, SERGEJ KAKORIN, THORSTEN GRIESE, KATJA TOENSING, ALINA FRANCESCO, GABRIEL FRANCESCO und UWE PLIQUETT — Fakultät für Chemie, Universität Bielefeld, Postfach 100 131, D-33501 Bielefeld

Die Membranelektroporation (MEP) ist eine elektrochemische Puls-technik, um die Membranen von biologischen Zellen und intrazelluläre Organellen für Wirkstoffe durchlässig zu machen, für die sie sonst impermeabel sind. Die Methode der MEP wird seit einiger Zeit auch in der Humanmedizin benutzt, um systemisch Chemotherapeutika und Oligo- und Polynukleotide wie Gen-DNA einzuschleusen. Die neuen Disziplinen werden elektroporative Krebs- und Gentherapien genannt.

Der eigentlichen Membran-Permeabilisierung vorgelagert ist die feldinduzierte elektrische Grenzflächen-Polarisation. Sie ist dielektrisch für die ultraschnellen Hochfeldpulse (ns, μ s; 500 MV/m) und ionisch (Maxwell-Wagner) für die Niederfeldpulse (μ s, ms; 1 bis 3 MV/m), die durch grosse Zellmembran-Geometrien bis auf 50 MV/m verstärkt werden. Aus der Feldstärkeabhängigkeit der Porenbildungszeit folgt, dass der Elementarschritt, sowohl für die schnelle dielektrische als auch für die langsamere ionische Membranpolarisation, die Drehung polarer und dipolarer Lipid-Kopfgruppen (mit dem Dipolmoment von 60×10^{-30} Cm (20 Debye)) in die Konfiguration hydrophiler (invertierter) Elektroporen ist. Dieses Detail ist wichtig zur Verfahrensoptimierung.

Hauptvortrag SYBE 1.4 Di 12:00 6A
Keimabtötung mit hohen gepulsten elektrischen Feldern — ●C. GUSBETH, W. FREY, H. VOLKMANN, S. GUPTA und H.-J. BLUHM — Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Institut für Hochleistungsimpuls- und Mikrowellentechnologie, Postfach 3640, 76021 Karlsruhe

Die Elektroimpulsbehandlung erschließt zunehmend neue Anwendungsbereiche. In bestimmten Fällen wie der Entkeimung von Lacken aus Lackbädern, bei der gängige Entkeimungsmethoden versagen, ist es möglich, die „sanfte“ Elektroimpulsbehandlung einzusetzen. Eine andere wichtige Anwendung ist der Schutz vor Antibiotika resistenten Bakterien aus Klinik- und Krankenhausabwässern. Im Gegensatz zu anderen Entkeimungsmethoden hat sich gezeigt, dass die Elektroimpulsbehandlung keine Mutationen bei den behandelten Bakterien, in diesem Fall *Pseudomonas putida*, hervorruft.

Der Einsatz von Unterwasserkoronaentladungen ist eine Möglichkeit zur Steigerung der Effizienz bei der Keimabtötung. Unterwasserkoronaentladungen sind durch hohe elektrische Feldstärken an der Streamerspitze, Druckimpulse, intensive UV-Strahlung und die Erzeugung von Oxidationsmitteln wie OH-Radikale, H₂O₂, O₃, etc. gekennzeichnet. Es konnte gezeigt werden, dass die kombinatorische Wirkung dieser Effekte zu einer effizienteren Abtötung von Mikroorganismen führt.

Der Schwerpunkt des Vortrags liegt in der Darstellung der letzten Ergebnisse zur Optimierung der Abtötung von Bakterien durch die Elektroimpulsbehandlung und Unterwasserkoronaentladung und zeigt die Nachhaltigkeit dieser Methoden.

SYBE 2: Symposium Bioelectrics II

Zeit: Dienstag 14:00–16:00

Raum: 6A

Hauptvortrag SYBE 2.1 Di 14:00 6A
Technische Elektroporation von Pflanzenzellen bei großen Massenströmen — ●MARTIN SACK, RENÉ STÄNGLE und GEORG MÜLLER — Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Institut für Hochleistungsimpuls- und Mikrowellentechnik, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen

Der Aufschluss pflanzlicher Zellen mittels Elektroporation findet in

der Nahrungsmittelindustrie zunehmendes Interesse. Seit einigen Jahren wird am IHM an den technischen Grundlagen zum industriellen Einsatz der Elektroporation gearbeitet. Dies umfasst die hochspannungstechnische Anlagenkonzeption, die Weiterentwicklung und Anpassung von Marx-Generatoren, sowie Betrachtungen zur Auslegung des Zellaufschlussreaktors. Zur Elektroporation großer Massenströme ist eine Speisung des Zellaufschlussreaktors aus mehreren zueinander