

## Symposium Bioelectrics - Die Wechselwirkung gepulster Elektrischer und Magnetischer Felder mit biologischem Gewebe (SYBE)

gemeinsam veranstaltet vom Fachverband Kurzzeitphysik und dem Deutschen Chapter Nuclear and Plasma Science von IEEE

|  |  |
|--|--|
| Klaus Frank<br>Universität Erlangen-Nürnberg<br>Physikalisches Institut I<br>Erwin-Rommel-Str. 1<br>91058 Erlangen<br>Klaus.Frank@physik.uni-erlangen.de | Andreas Görtler<br>Coherent GmbH<br>Zielstattstr. 32<br>81379 München<br>andreas.goertler@coherent.com |
|--|--|

### Übersicht der Hauptvorträge und Fachsitzungen (Hörsaal 6A)

#### Hauptvorträge

|          |    |             |    |   |
|----------|----|-------------|----|---|
| SYBE 1.1 | Di | 10:30–11:00 | 6A | <b>Immedeate, Non-Physiological Responses of Mammalian Cells to Nano-second Pulsed Electric Fields</b> — •JÜRGEN F. KOLB, JODY A. WHITE, WOLFGANG FREY, SHAKA SCARLETT, RACHAEL SHEVIN, ANDREI PAKHOMOV, STEPHEN J. BEEBE, E. STEVE BUESCHER, PETER F. BLACKMORE, RAVINDRA P. JOSHI, RICHARD NUCCITELLI, KARL H. SCHOENBACH |
| SYBE 1.2 | Di | 11:00–11:30 | 6A | <b>Nanosekunden-zeitaufgelöste Messung der Membranaufladung biologischer Zellen in gepulsten elektrischen Feldern</b> — •WOLFGANG FREY, THOMAS BERGHÖFER, JÜRGEN KOLB   |
| SYBE 1.3 | Di | 11:30–12:00 | 6A | <b>Membran-Elektroporation – Konzept und Methode für Klinische Gen- und Krebs-Therapien</b> — •EBERHARD NEUMANN, SERGEJ KAKORIN, THORSTEN GRIESE, KATJA TOENSING, ALINA FRANCESCU, GABRIEL FRANCESCU, UWE PLIQUETT  |
| SYBE 1.4 | Di | 12:00–12:30 | 6A | <b>Keimabtötung mit hohen gepulsten elektrischen Feldern</b> — •C. GUSBETH, W. FREY, H. VOLKMANN, S. GUPTA, H-J. BLUHM  |
| SYBE 2.1 | Di | 14:00–14:30 | 6A | <b>Technische Elektroporation von Pflanzenzellen bei großen Massenströmen</b> — •MARTIN SACK, RENÉ STÄNGLE, GEORG MÜLLER  |
| SYBE 2.2 | Di | 14:30–15:00 | 6A | <b>Anwendung gepulster elektrischer Felder zur Steigerung der Wirtschaftlichkeit in der Lebensmittelindustrie</b> — •STEFAN TÖPFL, VOLKER HEINZ   |
| SYBE 2.3 | Di | 15:00–15:30 | 6A | <b>Zellarrays hergestellt durch Photo-induzierte Modifikation von Polymeren: Anwendung für Gen-Transfer durch reverse Transfektion und Elektroporation</b> — •JOHANNES HEITZ, MICHAEL OLBRICH, ESTHER REBOLLAR, CHRISTOPH ROMANIN, IRENE FRISCHAUF, STEFFEN HERING, THOMAS PETERBAUER                                       |
| SYBE 2.4 | Di | 15:30–16:00 | 6A | <b>Dekontamination durch Atmosphärendruckplasmen</b> — •KLAUS-DIETER WELTMANN   |
| SYBE 3.1 | Di | 16:30–17:00 | 6A | <b>Grundlagen und Anwendungen der Plasmasterilisation</b> — •PETER AWAKOWICZ, HELMUT HALFMANN, NIKITA BIBINOV, ACHIM VON KEUDELL  |
| SYBE 3.2 | Di | 17:00–17:30 | 6A | <b>Atmosphärendruck-Plasmajets für die Behandlung von empfindlichen Oberflächen</b> — •V. SCHULZ-VON DER GATHEN, K. NIEMI, ST. REUTER, H.F. DÖBELE  |

#### Fachsitzungen

|              |    |             |    |                                   |
|--------------|----|-------------|----|-----------------------------------|
| SYBE 1.1–1.4 | Di | 10:30–12:30 | 6A | <b>Symposium Bioelectrics I</b>   |
| SYBE 2.1–2.4 | Di | 14:00–16:00 | 6A | <b>Symposium Bioelectrics II</b>  |
| SYBE 3.1–3.2 | Di | 16:30–17:30 | 6A | <b>Symposium Bioelectrics III</b> |

**SYBE 1: Symposium Bioelectrics I**

Zeit: Dienstag 10:30–12:30

Raum: 6A

**Hauptvortrag** SYBE 1.1 Di 10:30 6A  
**Immedeate, Non-Physiological Responses of Mammalian Cells to Nanosecond Pulsed Electric Fields** — ●JÜRGEN F. KOLB<sup>1</sup>, JODY A. WHITE<sup>1</sup>, WOLFGANG FREY<sup>2</sup>, SHAKA SCARLETT<sup>1</sup>, RACHAEL SHEVIN<sup>1</sup>, ANDREI PAKHOMOV<sup>1</sup>, STEPHEN J. BEEBE<sup>3</sup>, E. STEVE BUESCHER<sup>4</sup>, PETER F. BLACKMORE<sup>3</sup>, RAVINDRA P. JOSHI<sup>5</sup>, RICHARD NUCCITELLI<sup>1</sup> und KARL H. SCHOENBACH<sup>1</sup> — <sup>1</sup>Center for Bioelectrics, Old Dominion University, 830 Southampton Ave., Suite 5100, Norfolk, VA, 23510, USA — <sup>2</sup>Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, D76021, Karlsruhe, Germany — <sup>3</sup>Department of Physiological Sciences, Eastern Virginia Medical School, P.O. Box 1980, Norfolk, VA, 23501, USA — <sup>4</sup>Center for Pediatric Research, Eastern Virginia Medical School, 855 W. Brambleton Ave., Norfolk, VA, 23510, USA — <sup>5</sup>Department 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 FREY<sup>1</sup>, THOMAS BERGHÖFER<sup>1</sup> und JÜRGEN KOLB<sup>2</sup> — <sup>1</sup>Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Institut für Hochleistungsimpuls- und Mikrowellentechnologie, Postfach 3640, 76021 Karlsruhe — <sup>2</sup>Frank 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 FRANCESCU 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,  $\mu$ s; 500 MV/m) und ionisch (Maxwell-Wagner) für die Niederfeldpulse ( $\mu$ 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  $60 \times 10^{-30}$  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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, 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

synchronisierten Marxgeneratoren geplant. Der Vortrag beleuchtet einige Aspekte der Konzeption einer solchen Anlage.

**Hauptvortrag** SYBE 2.2 Di 14:30 6A  
**Anwendung gepulster elektrischer Felder zur Steigerung der Wirtschaftlichkeit in der Lebensmittelindustrie** — ●STEFAN TÖPFL und VOLKER HEINZ — Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., Prof.-von-Klitzing-Str. 7, 49610 Quakenbrück

Seit der ersten Beschreibung der Wirkung gepulster elektrischer Felder auf biologische Materialien in den 1960er Jahren wurden zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten im Bereich der Lebensmittelverarbeitung untersucht. Es konnte gezeigt werden dass durch eine Anwendung des Verfahrens die Extraktion intrazellulärer Bestandteile, die Gewinnung von Frucht- oder Gemüsesäften oder die Trocknung pflanzlicher und tierischer Produkte beschleunigt werden kann. Aufgrund des geringen spezifischen Energiebedarfs im Bereich von 1 - 10 kJ/kg und der kontinuierlichen Betriebsweise ergeben sich deutliche verfahrenstechnische Vorteile im Vergleich zu konventionellen Zellaufschlussverfahren. Bei der Fruchtsaftherstellung kann - auch ohne Einsatz pektinolytischer Enzyme - eine gleichwertige oder höhere Saftausbeute bei geringerem Bedarf an Stapeltanks und technischen Hilfsstoffen erzielt werden. Hier kann durch geringere Betriebskosten und Ausbeutesteigerung mit einem Einsparpotential im Bereich von 2 - 3 Euro/t Rohware gerechnet werden. Eine Beschleunigung der Trocknung pflanzlicher und tierischer Produkte um 20 - 40 % erlaubt eine höhere Ausnutzung bestehender Trocknungsanlagen sowie die Reduktion des für Energiebedarfs aufgrund kürzerer Trocknerlaufzeit.

Auch zu einer schonenden Entkeimung flüssiger Medien kann das Verfahren eingesetzt werden. Eine erste kommerzielle Nutzung des Verfahrens erfolgte 2005 in den USA zur Haltmarmachung von Fruchtsäften. Der Energiebedarf zur Inaktivierung von Mikroorganismen und liegt zwar mit 50 - 500 kJ/kg über dem einer thermischen Behandlung (etwa 20 kJ/kg bei 94 % Wärmerückgewinnung), insbesondere für Premiumprodukte oder thermisch labile Produkte wie Enzym- oder Nährlösungen kann eine Steigerung der Wirtschaftlichkeit und Produktqualität durch eine geringere thermische Belastung erzielt werden. Der Energiebedarf und die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens wird anhand ausgewählter Beispiele diskutiert.

**Hauptvortrag** SYBE 2.3 Di 15:00 6A  
**Zellarrays hergestellt durch Photo-induzierte Modifikation von Polymeren: Anwendung für Gen-Transfer durch reverse Transfektion und Elektroporation** — ●JOHANNES HEITZ<sup>1</sup>, MICHAEL OLBRICH<sup>1</sup>, ESTHER REBOLLAR<sup>1</sup>, CHRISTOPH ROMANIN<sup>2</sup>, IRENE FRISCHAUF<sup>2</sup>, STEFFEN HERING<sup>3</sup> und THOMAS PETERBAUER<sup>3</sup> —

<sup>1</sup>Institut für Angewandte Physik, Johannes Kepler Universität Linz, A-4040 Linz — <sup>2</sup>Institut für Biophysik, Johannes Kepler Universität Linz, A-4040 Linz — <sup>3</sup>Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Wien, A-1090 Wien

Wir präsentieren hier die Modifikation von verschiedenen Polymeren (Polytetrafluorethylen, Polyethylenterephthalat, und Polyvinyl Alkohol) durch UV-Bestrahlung mit Wellenlängen unterhalb von 200 nm in einer reaktiven Atmosphäre. Die verwendeten Lichtquellen sind F<sub>2</sub>- oder Excimerlaser und Excimerlampen. Bei den reaktiven Gasen handelt es sich um Ammoniak (NH<sub>3</sub>), Azetylen (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), und Sauerstoff (O<sub>2</sub>). Photodissoziierte Fragmente dieser Gase reagieren mit den Polymeren oder werden darauf abgeschieden. Dadurch entstehen neue chemische Gruppen an der Oberfläche, die lokal die Biokompatibilität dieser Oberflächen aber auch die Haftung von metallischen Beschichtungen signifikant erhöhen. Das heißt insbesondere, dass biologische Zellen auf diesen modifizierten Bereichen bevorzugt haften und sich vermehren. Potentielle Anwendungen dieser Oberflächen sind Zellarrays für High Throughput Screening. Als Beispiel zeigen werden Zellarrays für den Gen-Transfer in lebende Zellen durch reverse Transfektion und Elektroporation.

**Hauptvortrag** SYBE 2.4 Di 15:30 6A  
**Dekontamination durch Atmosphärendruckplasmen** — ●KLAUS-DIETER WELTMANN — Institut für Niedertemperatur-Plasmaphysik (INP Greifswald) e.V., Felix-Hausdorff-Str. 2, 17489 Greifswald

Die Dekontamination von Oberflächen mittels Plasmen stellt insbesondere bei thermolabilen Materialien eine Alternative zu in Anwendung befindlichen Verfahren wie z.B. der Dampfsterilisation dar. Auf dem Gebiet der Keimreduktion durch Niederdruckplasmen sowie durch den Einsatz gepulster elektrischer Felder konnten in den letzten Jahren signifikante Fortschritte erzielt werden. Ein industriell möglicher Einsatz von Atmosphärendruckplasmen zur Dekontamination von Oberflächen eröffnet neue Wege der Forschung.

Im Vortrag werden Beispiele für den Einsatz von verschiedenen Atmosphärendruckplasmen bei der Dekontamination von Kunststoffflaschen sowie medizinischen Geräten vorgestellt. Dabei stehen die Charakterisierung des Plasmas und die damit verbundene antimikrobielle Wirksamkeit im Vordergrund der Untersuchungen. Dies wird im Kontext auf die industrielle Verwertbarkeit der Ergebnisse diskutiert.

Die Arbeiten wurden gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung unter den FKZ 13N8666 und FKZ 13N8967. Dank gilt D. Braun, C. Lösche, E. Kindel, M. Stieber, J. Ehlbeck, R. Brandenburg, T. v. Woetke und R. Foest für die Unterstützung der Arbeiten sowie wertvolle Hinweise.

## SYBE 3: Symposium Bioelectrics III

Zeit: Dienstag 16:30–17:30

Raum: 6A

**Hauptvortrag** SYBE 3.1 Di 16:30 6A  
**Grundlagen und Anwendungen der Plasmasterilisation** — ●PETER AWAKOWICZ, HELMUT HALFMANN, NIKITA BIBINOV und ACHIM VON KEUDELL — Center for Plasma Science and Technology, Ruhr Universität Bochum

Sterilisationsmethoden zur Behandlung thermolabiler Güter basieren heutzutage entweder auf der Anwendung toxischer Gase (Ethylenoxid) oder ionisierender Strahlung (Elektronenstrahl, Gamma). Im Vortrag soll gezeigt werden, dass die moderne Plasmatechnik zu diesen Methoden eine gute Alternative bietet. Allerdings sind die Mechanismen der Plasmasterilisation bisher weitestgehend unerforscht oder basieren auf Mutmaßungen. Neben einigen Anwendungen aus dem Bereich der Sterilisation thermolabiler medizinischer Güter sollen jüngste Untersuchungen mit absolut kalibrierten Plasmen und Strahlquellen vorgestellt werden, die zum ersten Mal den aus der Mikroelektronik bekannten Mechanismus des chemischen Sputterns auf biologische Systeme übertragen. Zum Abschluss wird ein Konzept einer industrietauglichen Sterilisationsmaschine vorgestellt.

**Hauptvortrag** SYBE 3.2 Di 17:00 6A  
**Atmosphärendruck-Plasmajets für die Behandlung von empfindlichen Oberflächen** — ●V. SCHULZ-VON DER GATHEN<sup>1</sup>, K. NIEMI<sup>1</sup>, ST. REUTER<sup>2</sup> und H.F. DÖBELE<sup>2</sup> — <sup>1</sup>Ruhr-Universität

Bochum, Institut für Experimentalphysik II, 44801 Bochum — <sup>2</sup>Universität Duisburg-Essen, Institut für Experimentalphysik, 45141 Essen

In den letzten Jahren haben die Nichtgleichgewichts-Niedertemperatur-Plasmen bei Atmosphärendruck sehr stark an Aufmerksamkeit gewonnen. Diese Entladungen arbeiten sehr häufig mit einem Edelgas als Trägergas, dem je nach geplanter Anwendung eine reaktive molekulare Komponente (~1 Vol.-%) beigefügt wird. Besonders häufig wird Sauerstoff verwendet. Von der Vielzahl der bis heute erprobten Entladungskonzepte werden hier die sogenannten 'Jets' vorgestellt, die mit RF-Anregungsfrequenzen und bei Leistungen in der Größenordnung von 10 - 100 W arbeiten. Bei diesem Entladungstyp tritt aus dem eigentlichen Plasmabereich ein kalter ladungsträger-freier Gasstrahl aus, der große Mengen an Radikalen (~ 10<sup>15</sup> cm<sup>-3</sup> Sauerstoffatome) enthält. Dieser Effluent kann dann auf Grund seiner geringen Temperatur (~ 50°C) auch gerichtet zur Behandlung wärmeempfindliche Oberflächen angewendet werden. Auf Grund der Schwierigkeiten des diagnostischen Zugriffs sind die Grundlagen dieser Entladungen nur ansatzweise verstanden. Auch für die Anwendung wichtige Fragestellungen z.B. nach der tatsächlich emittierten Radikalen-Konzentration oder der Emission von für die zu behandelnde Oberfläche schädlicher Strahlung werden angesprochen.