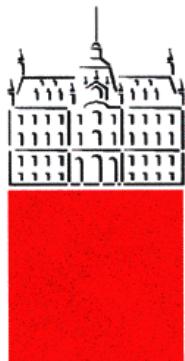


Kotnik T, Frey W, Sack M, Haberl Meglič S, Peterka M, Miklavčič D.

Electroporation-based applications in biotechnology.
Trends in Biotechnology 33: 480-488, 2015

Leto	2015
Naslov revije	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY
Faktor vpliva	12.065
Kategorija SE	DB - biotechnology & applied microbiology ; 3/161 ; četrtina: 1

Elektroporacija kot tehnološka platforma



Damjan Miklavčič
Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za elektrotehniko*

Uvod

- Celica izpostavljena $E \Rightarrow$ vsiljena TMV*
- Vsiljena TMV mora preseči določeno pragovno vrednost
- Prepustnost membrane je prehodno povečana na področjih, kjer TMV preseže določeno pragovno vrednost \Rightarrow **transport molekul**
 - Reverzibilna elektroporacija \Rightarrow **celica preživi**
 - Irreverzibilna elektroporacija \Rightarrow **celica odmre**

*TMV – transmembranska napetost (angl. *TransMembrane Voltage*)

Sinonimi: elektroporacija, electropemeabilizacija, obdelava s PEF, nanoporacija,...

ECT (elektrokemoterapija)
dan 0

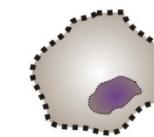
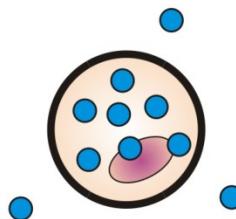
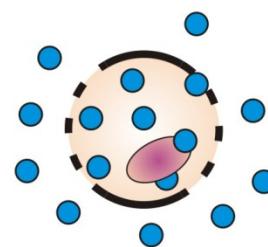
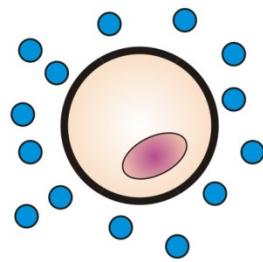


po injiciraju
zdravilo
obdaja celico

tvorba por po EP
– zdravilo vstopi v
celico

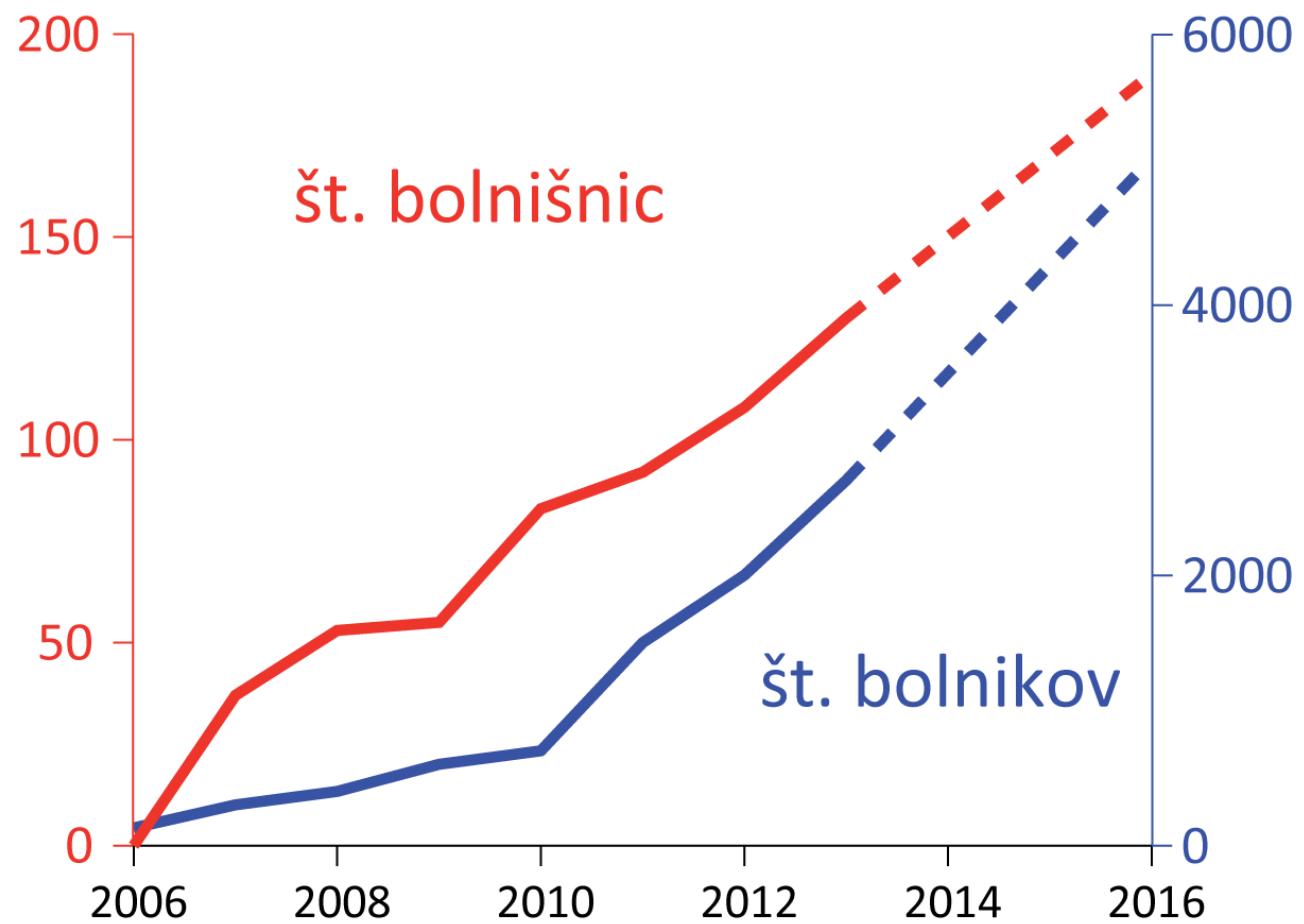
celjenje membrane –
zdravilo ostane ujeto v
celici

zdravilo
ubije celico



Julie Gehl.
Ugeskrift for Laeger 167(34): 3156-9, 2005.

Jarm, Čemažar, Miklavčič, Serša.
Expert Rev. Anticancer Ther. 10: 729–746, 2010



Vir: IGEA, Italija



Zdravljenje globlje ležečih tumorjev

Potrebna pogoja:

- kemoterapevtik v tumorju in
- celice v tumorju izpostavljene ustreznemu električnemu polju

Izberemo ustrezne elektrode, postavitev elektrod, in dovedemo električne pulze (U, T, N)

Priprava individualiziranega/personaliziranega načrta zdravljenja

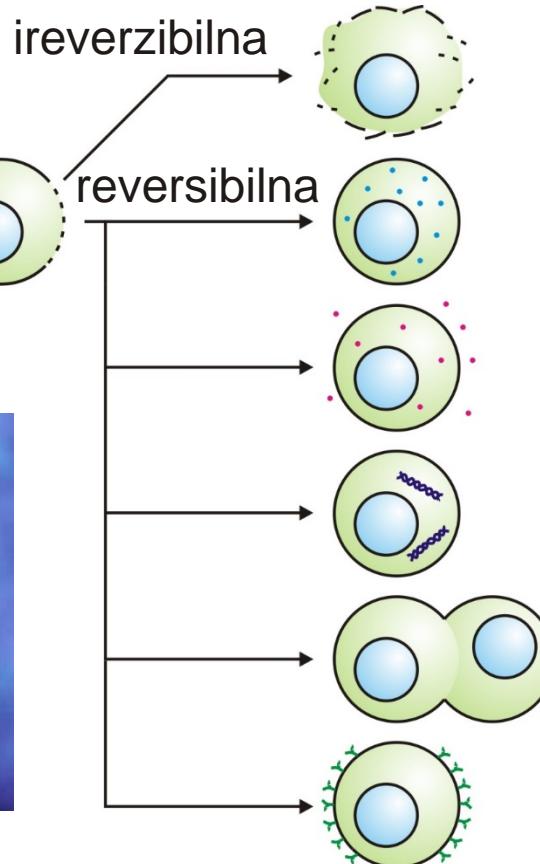
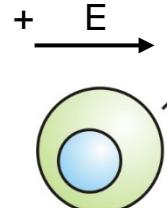
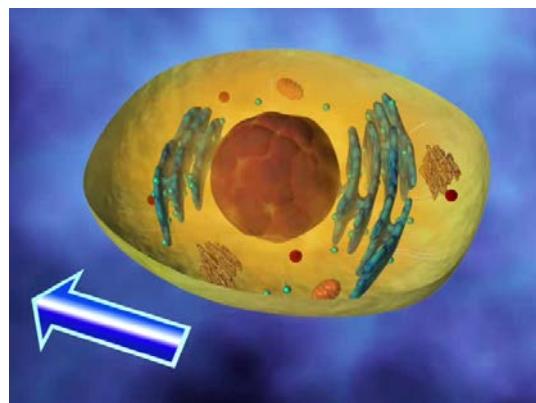
Vstavljanje elektrod s slikovno vodeno navigacijo

Dosežki 2015: Ibrahim Edhemović,

Elektrokemoterapija jetrnih zasevkov raka širokega črevesja in danke

Uporaba elektroporacije

Izpostavitev celice električnemu polju



Celična smrt:
ablacija tkiva, pasterizacija

Vnos majhnih molekul:
elektrokemoterapija, ...

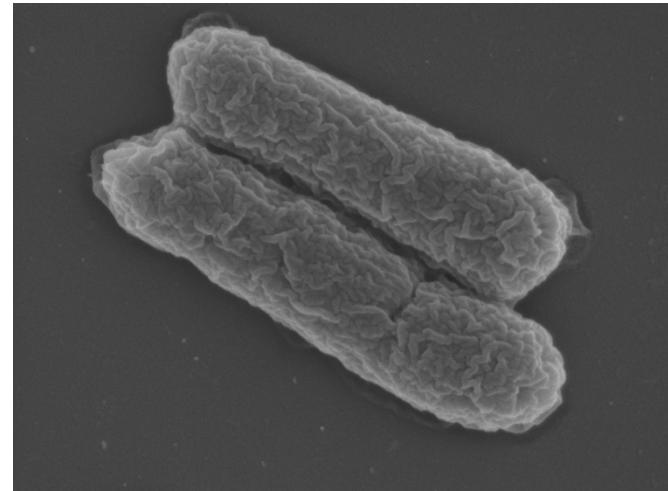
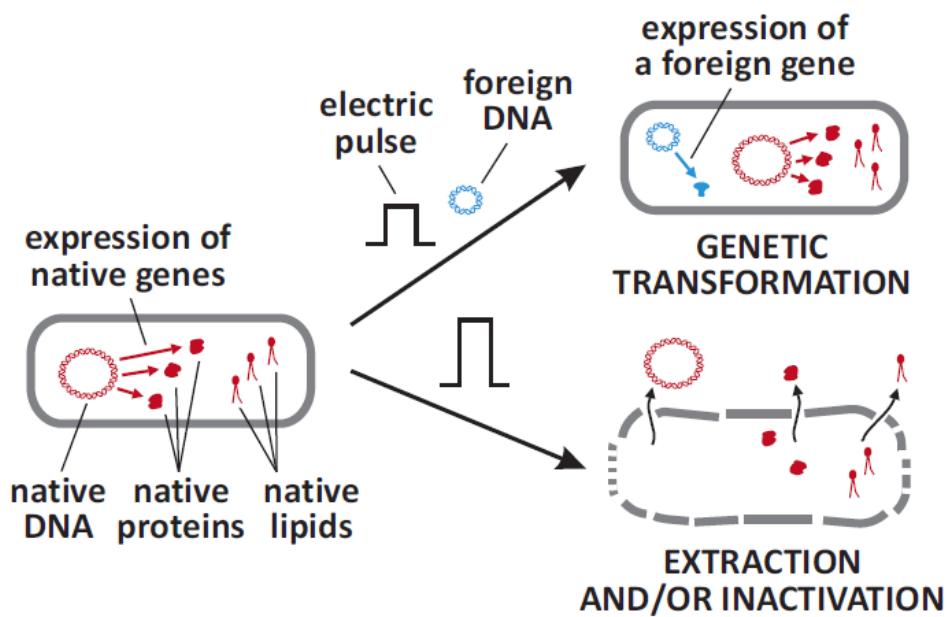
Ekstrakcija molekul:
pDNA, proteini, polifenoli,...

Genska transfekcija in
transformacija

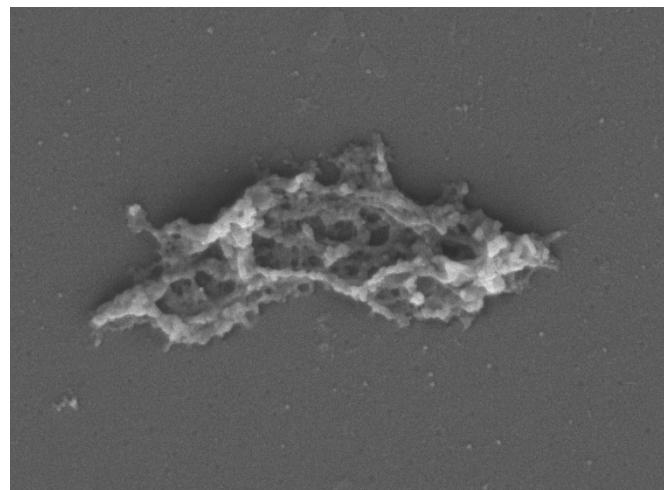
Zlivanje celic, celic in tkiv,...

Vstavitev proteinov v
membrano

Zaključni procesi v biotehnologiji (downstream processing)

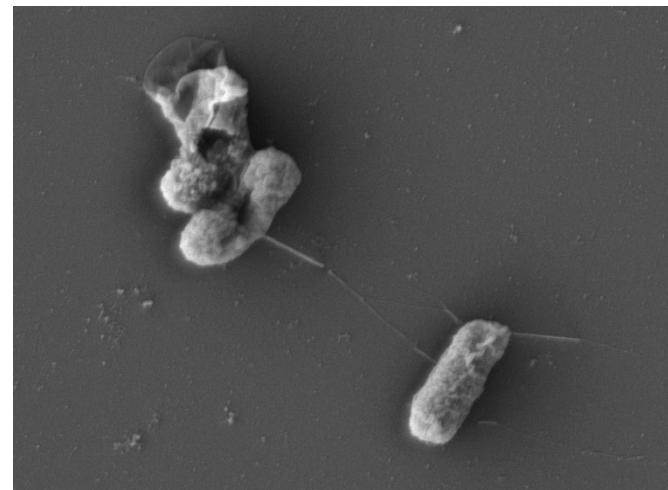


Bakterija *E.Coli*

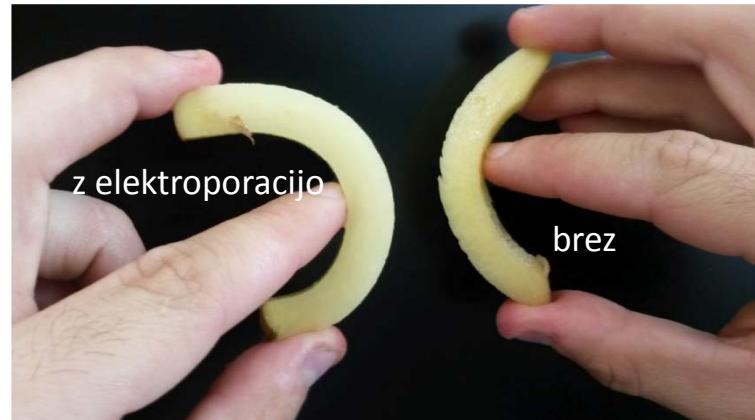
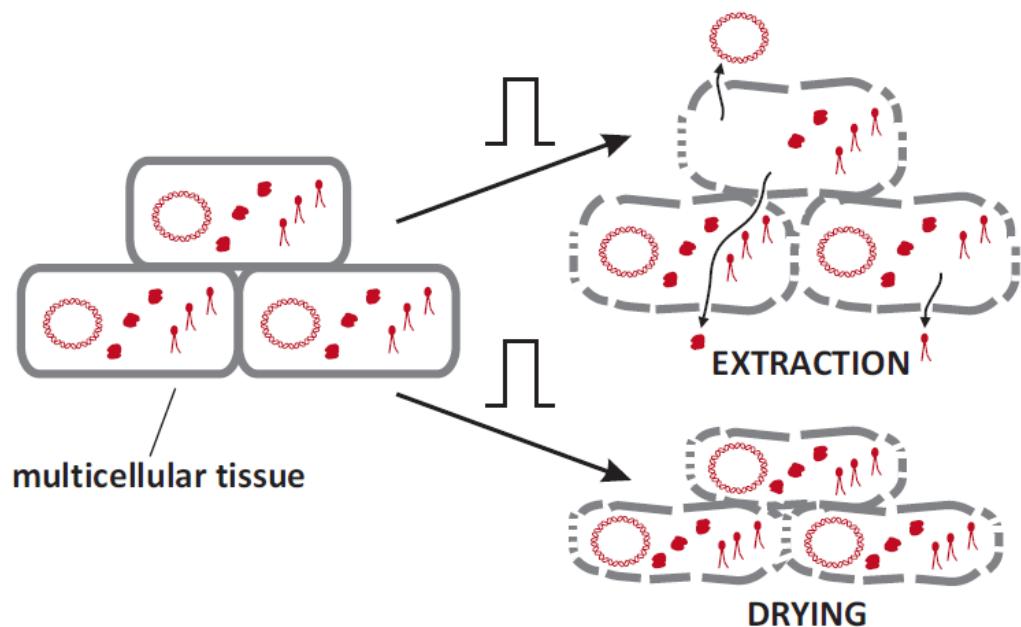


ekstrakcija
mehanska

z elektroporacijo



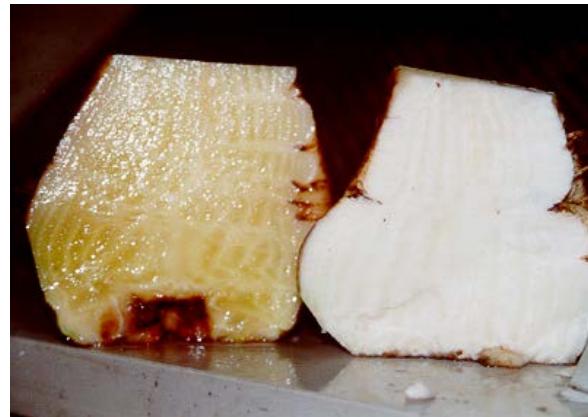
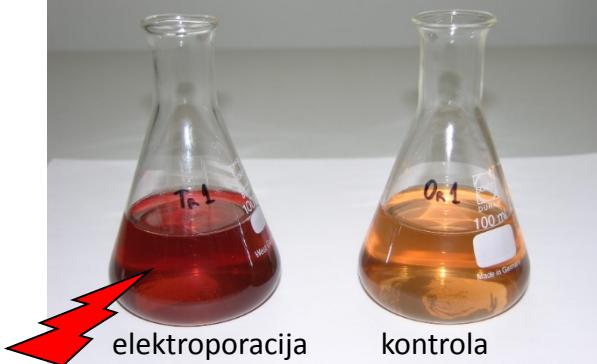
Rastline v biotehnologiji, živilska tehnologija (ekstrakcija, stiskanje, sušenje, lupljenje, pred-obdelava, ...)



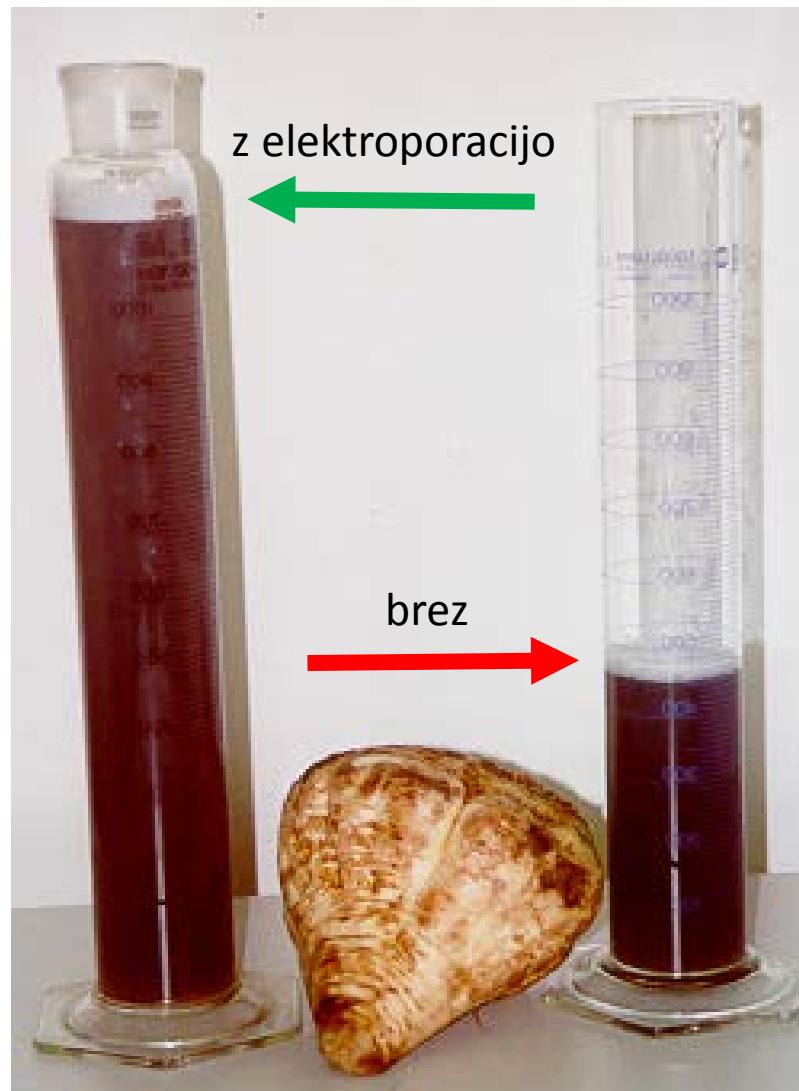
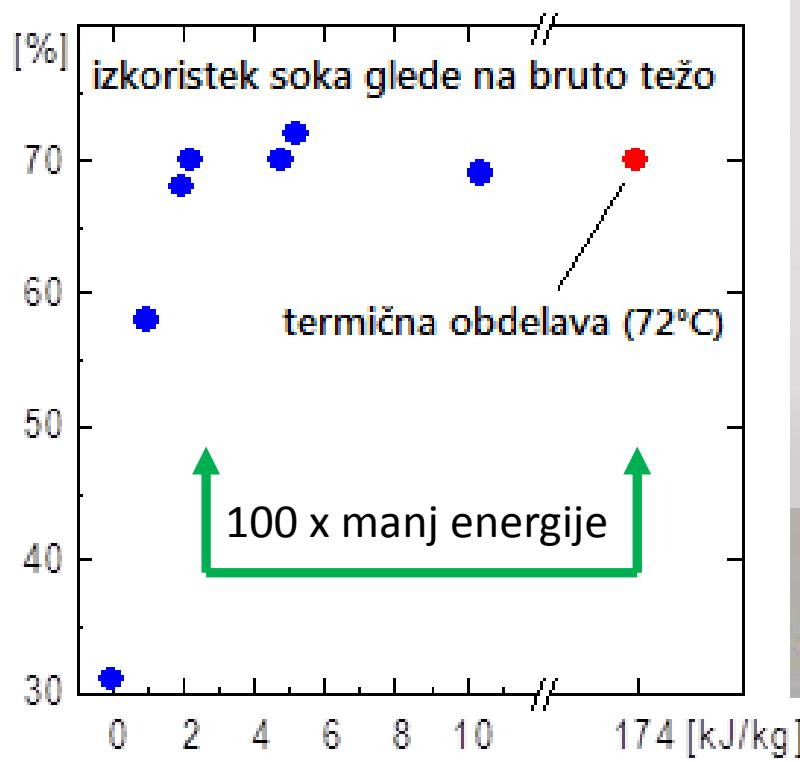
elea

Vir: Toepfl, DIL

Grozndni mošt, star 6 tednov

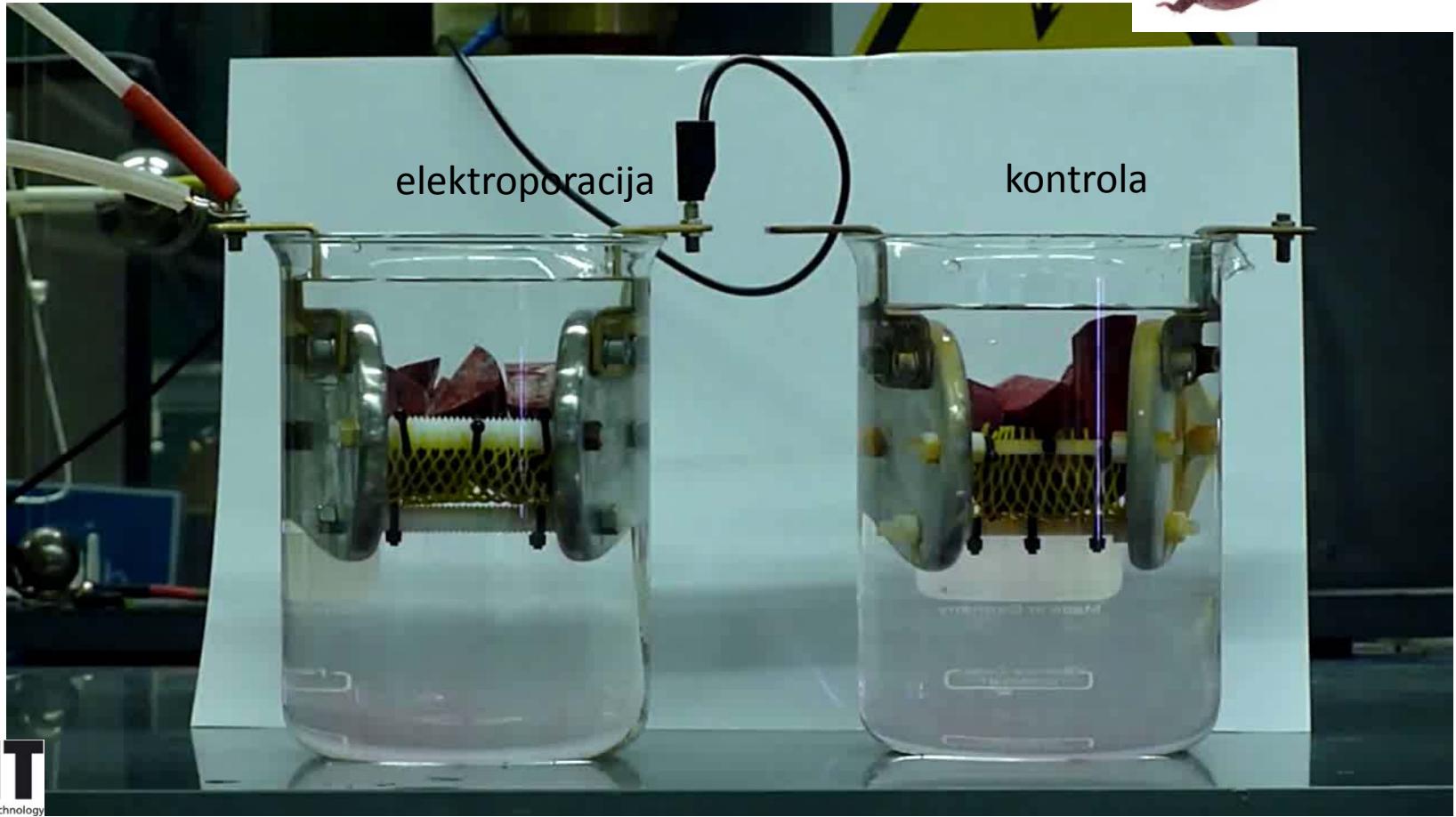


Elektroporacija sladkorne pese

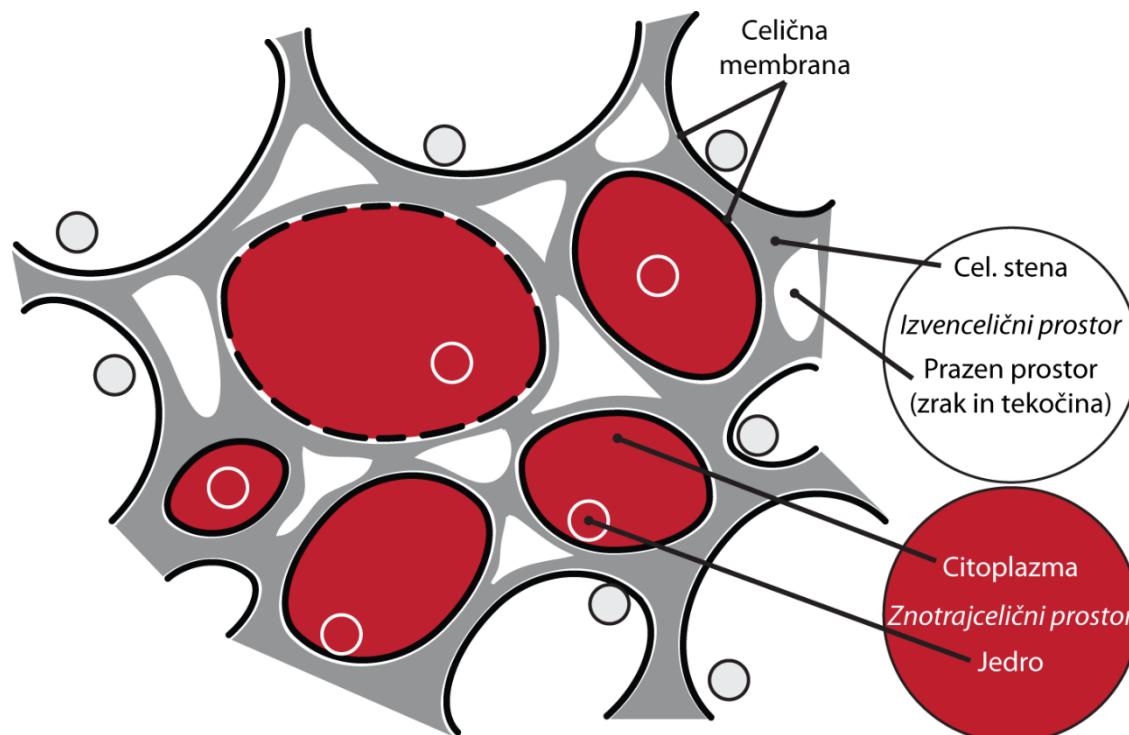


Schultheiss et al., 2002 Sack et al., 2010

Elektroporacija rdeče pese



Model dvojne poroznosti – znotrajcelični prostor



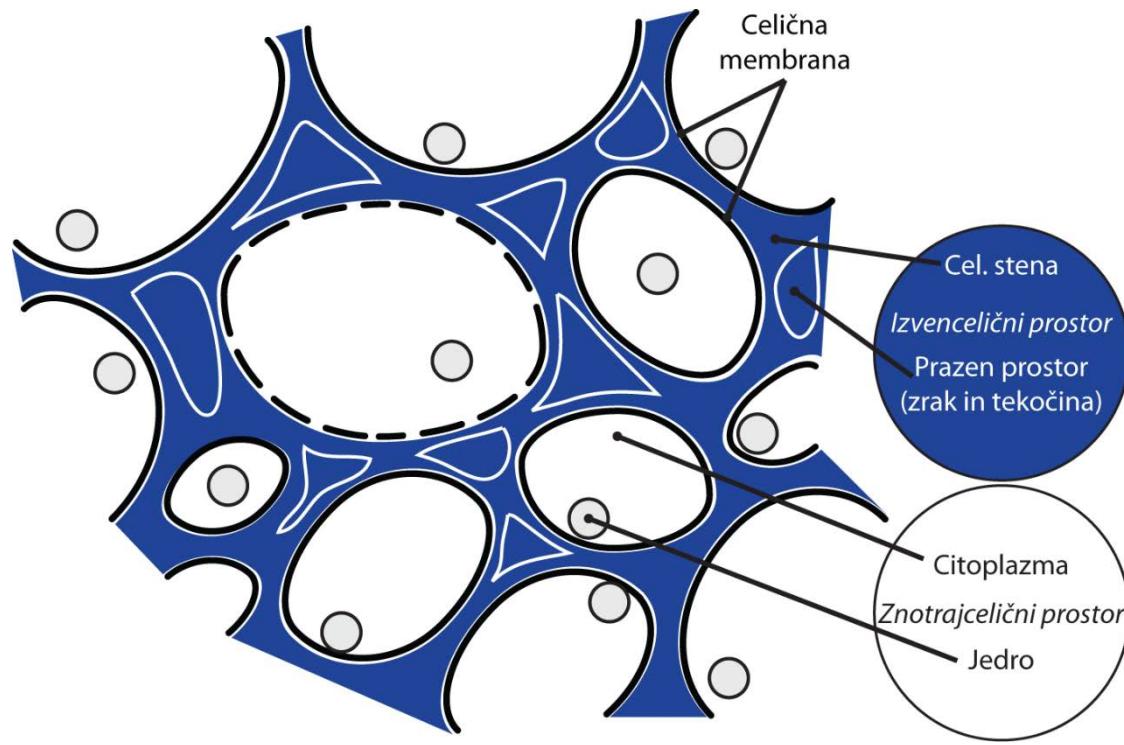
Znotrajcelični prostor

$$\frac{1}{G_{\varepsilon,i}} \frac{\partial p_i}{\partial t} + \frac{\alpha}{\mu} (p_i - p_e) = 0$$

Akumulacija (+)
ali izčrpavanje (-)

Pretok prek
membrane

Model dvojne poroznosti - zunajcelični prostor



Zunajcelični prostor

$$\frac{1}{G_{\varepsilon,e}} \frac{\partial p_e}{\partial t} - \frac{k_e}{\mu} \frac{\partial^2 p_e}{\partial z^2} - \frac{\alpha}{\mu} (p_i - p_e) = 0$$

Akumulacija (+)
ali izčrpavanje (-) gradijenta pritiska

Pretok zaradi
gradijenta pritiska

Pretok prek
membrane

Model dvojne poroznosti: analogni fizikalni zakoni

enačbe tlaka tekočine	$\frac{1}{G_{\varepsilon,e}} \frac{\partial p_e(z,t)}{\partial t} - \frac{k_e}{\mu} \frac{\partial^2 p_e(z,t)}{\partial z^2} - \frac{\alpha}{\mu} \cdot [p_i(z,t) - p_e(z,t)] = 0$	izvencelični prostor
enačbe difuzije topljenca	$\frac{1}{G_{\varepsilon,i}} \frac{\partial p_i(z,t)}{\partial t} + \frac{\alpha}{\mu} \cdot [p_i(z,t) - p_e(z,t)] = 0$	znotrajcelični prostor
enačbe prevajanja toplote	$\frac{\partial c_e(z,t)}{\partial t} - D_{s,e} \frac{\partial^2 c_e(z,t)}{\partial z^2} - f_v k \cdot [c_i(z,t) - c_e(z,t)] = 0$	izvencelični prostor
enačbe prevajanja toplote	$\frac{\partial c_i(z,t)}{\partial t} + k \cdot [c_i(z,t) - c_e(z,t)] = 0$	znotrajcelični prostor
enačbe prevajanja toplote	$\frac{\partial T_e(z,t)}{\partial t} - \lambda_e \frac{\partial^2 T_e(z,t)}{\partial z^2} - f_v h_v \cdot [T_i(z,t) - T_e(z,t)] = 0$	izvencelični prostor
enačbe prevajanja toplote	$\frac{\partial T_i(z,t)}{\partial t} - \lambda_i \frac{\partial^2 T_i(z,t)}{\partial z^2} + h_v \cdot [T_i(z,t) - T_e(z,t)] = 0$	znotrajcelični prostor

Model dvojne poroznosti: analogni fizikalni zakoni



Henry Darcy in Darcyjev zakon pretoka tekočine skozi porozen medij

$$q_z = -\frac{k}{\mu} \frac{\partial p}{\partial z}$$

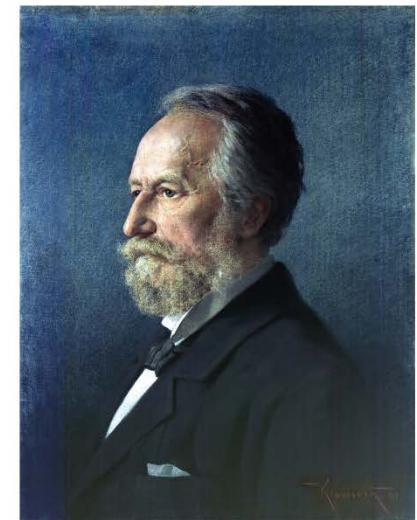
$$q_z = -\lambda \frac{\partial T}{\partial z}$$



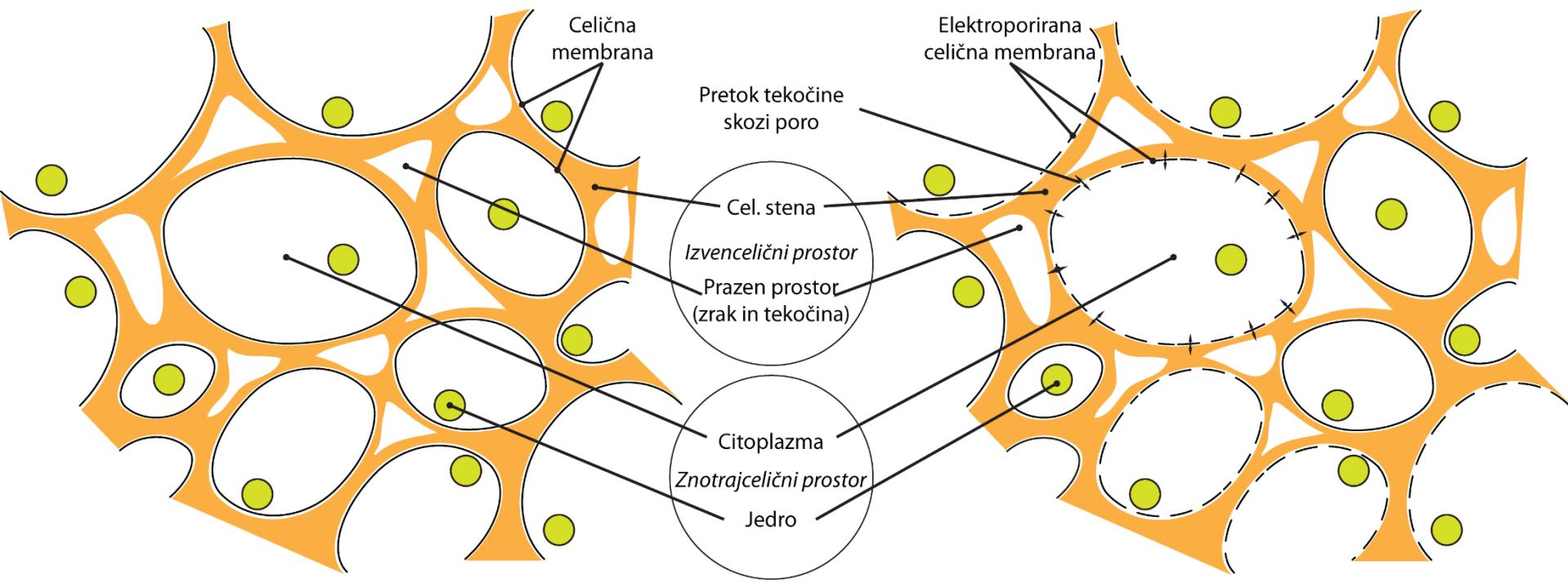
Joseph Fourier in Fourierjev zakon prevajanja toplote (častno poimenovan po njem)

$$q_z = -D \frac{\partial c}{\partial z}$$

Adolf E. Fick in Fickov zakon difuzije, s katerim je opisal difuzijo plina skozi tekočo membrano



Model dvojne poroznosti

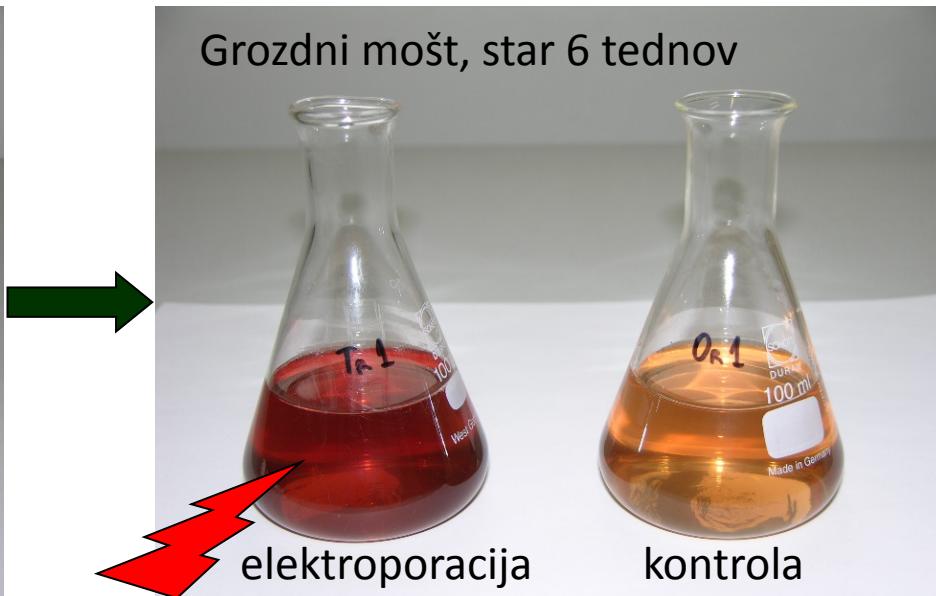
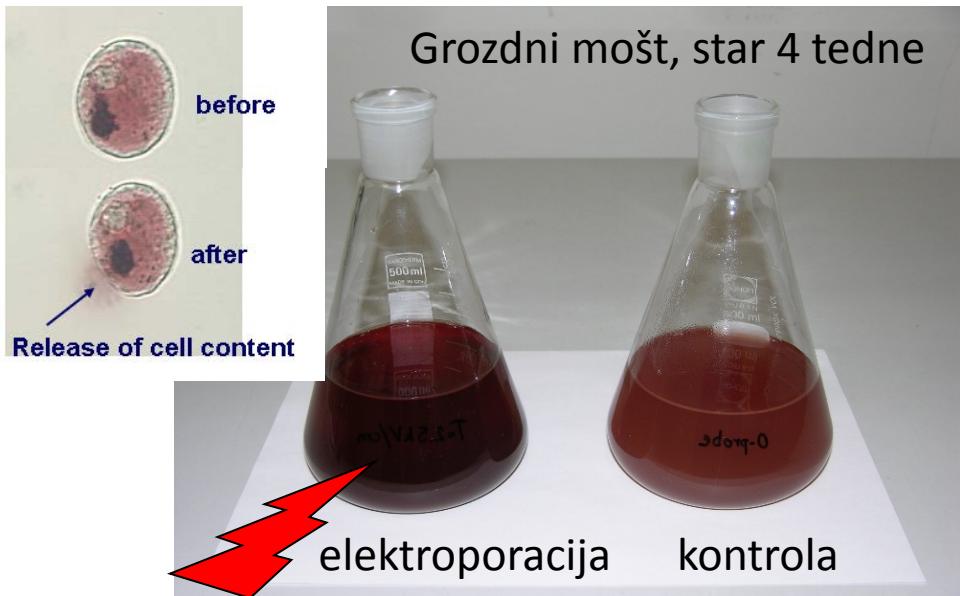


pred elektroporacijo

med in po elektroporaciji

Mahnič-Kalamiza S, Miklavčič D, Vorobiev E. **Dual-porosity model of mass transport in electroporated biological tissue: Simulations and experimental work for model validation.** *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 29: 41-54, 2015.

Uporaba elektroporacije v predelavi grozdja



Povečanje vrednosti celokupnih fenolov:

grozdn Sok: 13% - 28%

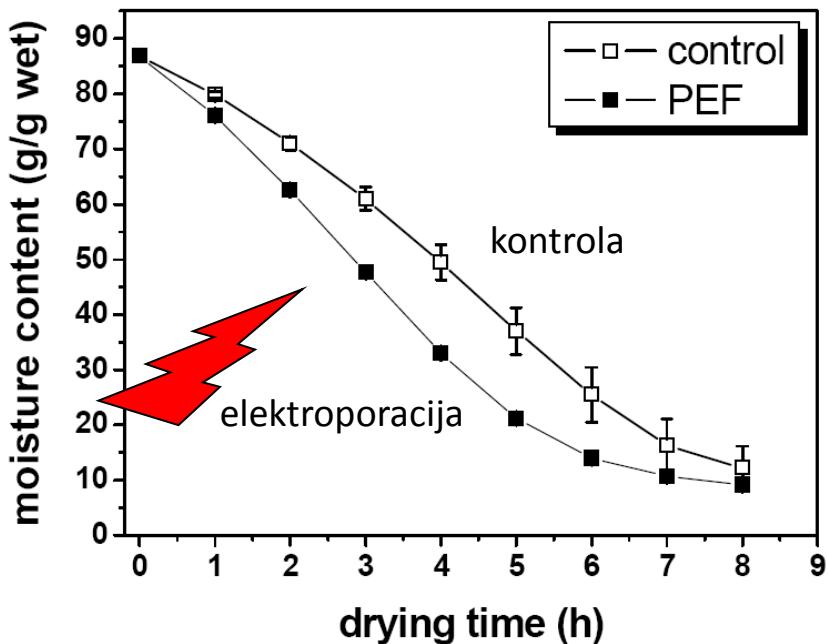
grozdn mošt: 14% - 24%

Brez dodatnih sprememb v pH, celokupnih sladkorjih in prostih kislinah

Vir: Henry Jaeger, BOKU,
Dunaj, Avstrija

Potek sušenja jabolk

Elektroporacija kot predobdelava jabolčnih kubet v konvektivnem zračnem sušilcu pri 60 °C



21 % zmanjšanje časa sušenja pri industrijskem sušenju jabolk

Vir: Henry Jaeger, BOKU, Dunaj, Avstrija

COST Action TD1104 (2011-2016)

43 držav, 581 raziskovalcev, 243 inštitucij, 28 podjetij

Organizirali smo:

9 šol

17 sestankov

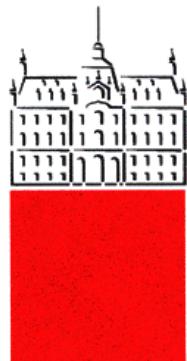
62 izmenjav raziskovalcev

- Zdravje
- Hrana
- Biotehnologija
- Energija
- Okolje

www.electroporation.net



Hvala



Damjan Miklavčič
Univerza *v Ljubljani*
Fakulteta *za elektrotehniko*