

## LEONARD HERZENBERG E IL F.A.C.S.

Giuseppe Luzi

Il 27 ottobre 2013, esattamente 3 anni or sono, all'età di 81 anni è morto Leonard Herzenberg, uno scienziato speciale, di quelli poco conosciuti ai non addetti ai lavori, ma senza il quale i progressi dell'Immunologia e dell'Oncologia non sarebbero stati così veloci e produttivi. Viene spesso citato, per varie circostanze, o perché è una bellissima frase, quanto disse Winston Churchill a proposito del ruolo svolto dall'aviazione inglese durante la II Guerra Mondiale nella celebre Battaglia d'Inghilterra, combattuta da giovani piloti britannici contro gli aerei dei nazisti: *Mai così tanti dovettero così tanto a così pochi*. Nel discorso del 20 giugno 1940 il primo ministro inglese si riferiva al ruolo cruciale svolto dai piloti inglesi che riuscirono a contenere l'attacco nemico e salvarono sostanzialmente l'Inghilterra dall'invasione tedesca.

Non è certamente esagerato riferirci al lavoro di Herzenberg quale costruzione di uno strumento "concettuale" nuovo, che ha permesso a migliaia di ricercatori di approfondire vari settori della fisiologia e della patologia umana. Alla fine degli anni Sessanta del XX secolo Herzenberg e collaboratori hanno sviluppato la tecnologia che va sotto il nome dell'apparecchio da lui elaborato "fluorescence-activated cellsorter" (FACS).

Il FACS ha realmente rivoluzionato gli studi di Immunologia, Genetica e Oncologia perché, combinando alcuni prodotti "identificatori" è stato possibile riconoscere le ca-

ratteristiche di vari tipi di cellule e definirle anche dal punto di vista funzionale. Gli ultimi 40 anni nella storia della scienza biologica si sono basati su un ricorso costante alla strumentazione FACS.

Nel giugno del 2006 ricevette il Kyoto Prize che è, sostanzialmente, l'equivalente giapponese del premio Nobel. Nel ricevere il premio, Herzenberg nella sua dichiarazione fece riferimento alla moglie, persona con la quale ha trascorso costantemente gli anni di ricerca e di vita familiare: "I'm extremely pleased and excited to receive the award. I only wish it were possible to be shared with my wife and lifelong colleague, Leonore Herzenberg."



La personalità, l'intelligenza, l'approccio creativo ai molti problemi che si ponevano per giungere al FACS sono stati sempre una vera luce di riferimento per i suoi collaboratori, studenti, ricercatori. Su PNAS, una delle riviste più qualificate del mondo scientifico, il 24 dicembre 2013 un articolo in *memoriam* ricorda il senso profondo della sua ricerca e della sua vivace umanità.

## Founding father of FACS: Professor Leonard A. Herzenberg (1931–2013)

Jeffery L. Dangl<sup>1,2</sup> and Lewis L. Lanier<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Howard Hughes Medical Institute and <sup>2</sup>Department of Biology, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27516-3280; and <sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, University of California, San Francisco, CA 94143-0414

The stunning ability to collect quantitative single-cell analyses of up to 20 parameters simultaneously (1), at rates of tens of thousands of cells per second, and then to divert and recover a specific single live cell, or a subpopulation of live cells, with desired characteristics is the genius of fluorescence-activated cell sorting (FACS). FACS applied in conjunction with fluorescently labeled monoclonal

immune system cell types, to identify alterations that occur in blood as immunological dysfunction progresses, and to quickly monitor changes during a variety of therapies. FACS can also be used to select specific cells internally expressing fluorescent proteins as a measure of gene activity over developmental and differentiation time frames. Perhaps surprisingly, and certainly less well known,



Len and Lee Herzenberg with a FACS, circa 1985.

**Leo Herzenberg e la moglie in una foto del 1985**

Sembra opportuno riportare le conclusioni che concludono l'articolo e che senz'altro danno un realistico contributo alla conoscenza di questa inimitabile personalità.

*Len's career forever altered the landscape of biomedical science research and application, and he was duly awarded many honors, including election to the NAS in 1982 and culminating in the 2006 Kyoto Prize. The continuing development of FACS technology, including recent development of sophisticated software for storage and analysis of 20-parameter cell biology data, has not slowed, despite 45 years of constant progress. This reflects Len's magical ability to remain curious and engaged and to his talent for sparking curiosity and engagement in his team of engineers, physicists, and computer scientists. In a remarkable testament to that courage and creativity, many members of the FACS development team spent their entire careers in his laboratory. This loyalty to purpose and dedication to a long-term vision to change the world for the better is unique in modern biomedical science.*

*Len's career was marked by a gentle and refreshing outlook toward discovery and innovation. Len pursued knowledge with the joy of a child; each breakthrough was celebrated as if it were his first and therefore somehow miraculous. Len established a long line of former students,*

*postdocs, and collaborators, ourselves included, who carry that joy into our own careers and lives. Len's desire to improve humanity through science, technology, and judicious reasoning set a high bar for all of us, and we try daily to honor Len by practicing what we learned from him.*

### L'essenza di uno strumento

Quando noi ci avviciniamo al microscopio, quello ottico per intenderci, utilizziamo le sue proprietà di ingrandimento e di discriminazione delle immagini, ma il "preparato" microscopico solo in determinati casi può essere studiato a "fresco". Nella maggior parte delle indagini si ricorre a una colorazione di cellule che sfruttano diverse proprietà dei coloranti disponibili. Per esempio leggere uno striscio di sangue e distinguere i vari globuli bianchi (neutrofili, linfociti, etc) è possibile grazie ad alcune caratteristiche delle cellule stesse di combinarsi con certi colori e non con altri.

Con un approccio in citometria a flusso e con il sistema FACS si sommano due aspetti. Non abbiamo più un microscopio, ma un raggio laser. Le singole cellule che devono

essere studiate e riconosciute vengono poi trattate con anticorpi opportunamente preparati, di solito monoclonali. Mediante la tecnologia degli anticorpi monoclonali siamo in grado di identificare caratteristiche molecolari sulle cellule che hanno specifiche strutture di membrana o nel citoplasma.

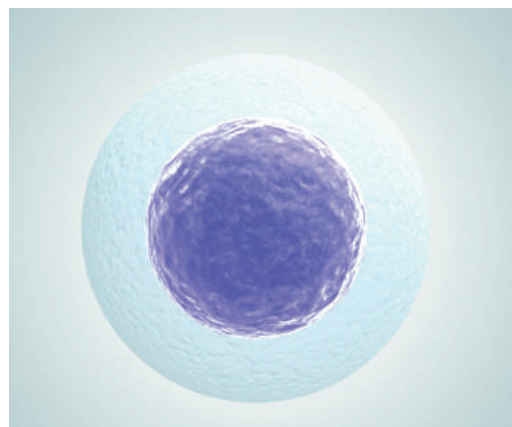
Quindi, se conosciamo le proprietà dell'anticorpo monoclonale e lo mettiamo a contatto con la cellula che deve essere esplorata, quest'ultima diventa riconoscibile per il parametro che stiamo studiando. Per esempio, agganciando sull'anticorpo una sostanza che si attiva in fluorescenza possiamo contare le cellule dotate di quella certa caratteristica. E qui interviene la citometria a flusso. La citometria a flusso è sostanzialmente un metodo di conteggio e/o di selezione e isolamento, di elementi corpuscolati (cellule) che, dopo essere state marcati con un colorante opportuno, vengono diretti singolarmente attraverso un sistema ottico di rilevazione a flusso laminare e quindi conteggiate una per una.

La citometria ha consentito un sostanziale impulso per lo studio del sistema immunitario, grazie soprattutto all'utilizzo di anticorpi monoclonali marcati con fluoresceina (FITC). Se all'inizio le cellule erano individuate per singoli caratteri specifici, oggi abbiamo la possibilità di studiare contemporaneamente più parametri e carat-

terizzare fasi di evoluzione cellulare o di danno.

In buona sostanza, come avviene ormai sempre più spesso, si sommano tre livelli di conoscenza: il sistema di rilevazione laser, la produzione di anticorpi monoclonali specifici per bersagli molecolari e l'evoluzione di programmi informatici di gestione che rendono possibile in tempo reale il confronto di diversi parametri cellulari e gestire le informazioni, sempre più numerose, che si acquisiscono dal FACS.

Proprio grazie a questa evoluzione possiamo disporre di cellule purificate che, opportunamente isolate dal sistema, vengono studiate per conoscerne le proprietà o, per esempio, la risposta a farmaci.



Quindi il FACS non solo “conta” ma anche “seleziona” e consente la raccolta di pregevole materiale di studio per gli esperimenti da eseguire. ■

Giuseppe Luzi, prof. associato di Medicina Interna, svolge attività di consulenza in qualità di medico internista e specialista in Immunologia Clinica.

**Per informazioni e prenotazioni: CUP 06 809641**