

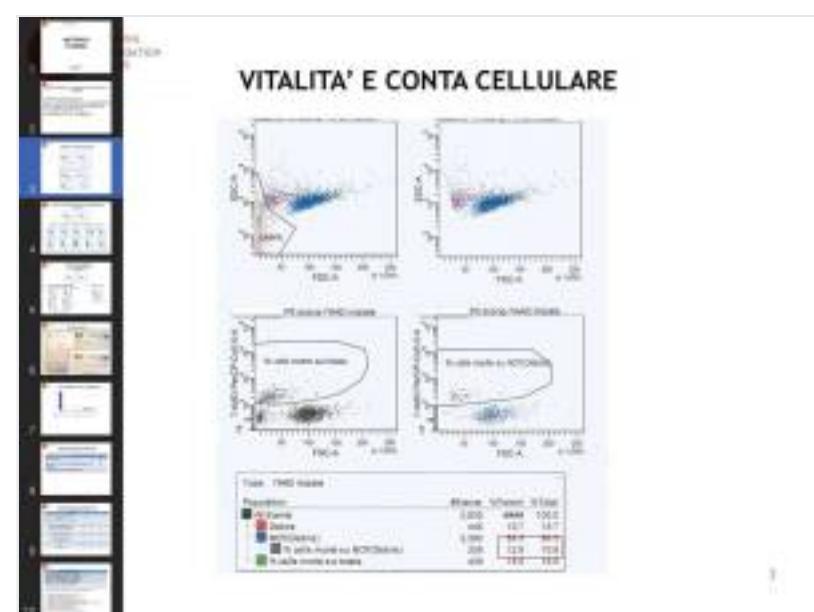
Commento ai dati sperimentali su Stamina

Sono un ricercatore, impegnato da più di dieci anni in progetti di immunologia dei tumori e terapia genica. Nel momento in cui credo di avere raggiunto un risultato di rilievo, il mio primo pensiero è di sottoporlo al vaglio della comunità scientifica (la cosiddetta “revisione tra pari”, in inglese “peer-review”) per vedere se la mia indagine sperimentale e le mie conclusioni stanno in piedi. Se la mia ricerca supera questo controllo, viene resa pubblica.

Davide Vannoni non ha, fino ad oggi, mostrato alla comunità scientifica risultati sperimentali su Stamina, per cui sono rimasto piacevolmente sorpreso dalla recente pubblicazione sulla sua pagina Facebook di alcune diapositive che costituiscono la prima –seppur parziale- condivisione di dati scientifici relativi a Stamina.

Ho ritenuto opportuno e rilevante commentare questi dati, per quanto possibile, da un punto di vista divulgativo ma scientifico, e auspico che numerosi altri colleghi facciano lo stesso al fine di surrogare quella “revisione tra pari” fino ad oggi evitata.

PRIMA DIAPOSITIVA – VITALITÀ DELLE CELLULE SCONGELATE



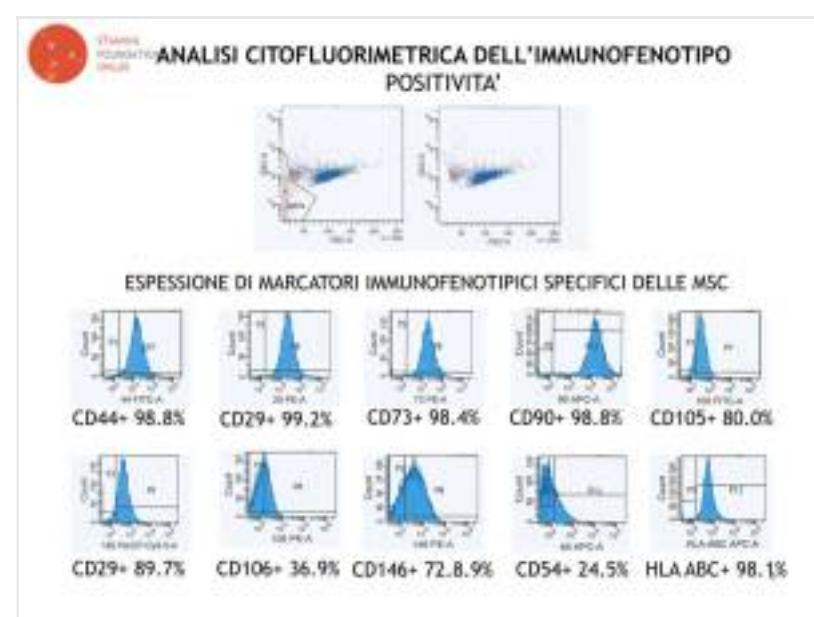
Obiettivi dell'esperimento: valutare la vitalità e il numero delle cellule che poi verosimilmente saranno infuse a un ammalato.

Come è stato condotto: le cellule, presumibilmente ottenute tramite metodica Stamina e congelate, sono state scongelate e colorate con 7AAD, un colorante che marca il DNA delle cellule morte. L'esperimento è stato quindi analizzato tramite citofluorimetria a flusso. Il grafico in alto a sinistra riporta la dimensione delle cellule (parametro FSC, asse X) in relazione alla loro granulosità (parametro SSC, asse Y). Ogni puntino è una cellula. Si nota immediatamente una popolazione di detriti cellulari molto piccoli e scarsamente granulari, che sono “avanzi” di cellule morte (in linguaggio tecnico “debris”). Questi sono stati circondati da un “gate” elettronico (la linea denominata “debris”) ed eliminati dal grafico successivo in alto a destra. Il grafico in basso a destra rappresenta la dimensione delle cellule (asse X) in relazione alla loro colorazione con 7AAD (asse Y). Le cellule morte vengono definite come cellule piccole e positive per 7AAD (gate “% cellule morte su NOT debris”), e ne viene calcolata la percentuale rispetto all'intera popolazione cellulare.

Cosa ci dice: Escludendo i debris (inerti), in questa preparazione c'è il 12,9% di cellule morte e l'87,1% di cellule vive e quindi potenzialmente attive.

Cosa non ci dice: L'esperimento non ci dice quante cellule in totale ci sono nel campione analizzato, né sul parametro cruciale di quante cellule vive siano state somministrate al paziente.

SECONDA DIapositiva: IMMUNOFENOTIPO DELLE CELLULE



Obiettivi dell'esperimento: L'esperimento si propone di descrivere l'aspetto ("immunofenotipo") delle cellule tramite la misurazione dell'espressione di alcune molecole caratteristiche ("marcatori") delle cellule staminali mesenchimali.

Come è stato condotto: Si tratta ancora di un esperimento di citofluorimetria. Le cellule sono state colorate con anticorpi che riconoscono specificamente ciascuna molecola da misurare. Ogni anticorpo è legato a un colorante fluorescente. La macchina misura l'intensità di fluorescenza su ciascuna cellula, che è tanto maggiore quanto la molecola è più espressa.

L'analisi si deve eseguire sulle sole cellule vive, che sono state plausibilmente definite soltanto come cellule "grandi" (grafici in alto, asse X, FSC elevato). Si nota che l'analisi con 7AAD non può essere stata eseguita perché interferirebbe con alcune analisi successive, e non è riportato se sia stata sostituita con metodiche equivalenti.

I dieci istogrammi in basso si leggono solo guardando l'asse X. Maggiore è il segnale sull'asse X, maggiore l'espressione della molecola annotata sotto al grafico. L'istogramma in basso a sinistra riporta un'etichetta sbagliata (CD29 invece di CD166).

Seppure su ogni istogramma sia stato indicato il confine tra un campione negativo e uno positivo (attraverso i gate indicati dalla lettera "P" e un numero), esso può essere stato disegnato in modo assolutamente arbitrario dall'esecutore dell'esperimento. Per questa ragione, il segnale di fluorescenza deve essere sempre confrontato con un adeguato controllo negativo, che in questo caso non è né descritto né mostrato.

Cosa ci dice: Qualora la distinzione tra campione positivo e negativo fosse stata operata correttamente, l'esperimento indicherebbe che, per questo paziente, le cellule prodotte con metodo Stamina hanno un aspetto che per alcuni tratti coincide con quello delle cellule staminali mesenchimali.

Cosa non ci dice: L'esperimento si concentra sull'aspetto delle cellule di un solo paziente, che potrebbe non rappresentare ciò che viene ottenuto "di routine" con il metodo Stamina. Infatti, la diapositiva numero 4 (vedi oltre) riporta che quasi tutti questi marcatori sono espressi solo debolmente in un paziente evidentemente diverso.

Inoltre, l'esperimento non ci dice se le cellule staminali mesenchimali funzionano correttamente. In particolare, non viene mostrato il dato cruciale e controverso che suggerirebbe che le cellule sono in grado di diventare neuroni.

TERZA DIAPOSITIVA – ESCLUSIONE DELLA TRASFORMAZIONE IN CANCRO



Obiettivi dell'esperimento: L'esperimento si propone di escludere la trasformazione tumorale delle cellule trattate con metodo Stamina tramite la misurazione dell'attività dell'enzima telomerasi. Un'elevata attività telomerasica è infatti caratteristica delle cellule cancerose.

Come è stato condotto: Il grafico mostra l'attività telomerasica delle cellule derivate da 10 pazienti e confrontate in percentuale con una linea cellulare tumorale (K562, prima barra). Esistono diverse metodiche per determinare l'attività della telomerasi (vedi Zhou e Xing, Chem Soc Rev 2012), ma quella utilizzata per produrre questi dati non è indicata.

Cosa ci dice: Per l'interpretazione dell'esperimento, è cruciale sapere se l'attività telomerasica è stata misurata sull'intera popolazione cellulare o sulle singole cellule. Dalla costruzione del grafico si potrebbe desumere che la misurazione sia stata compiuta sull'intera popolazione cellulare. In questo caso, si conclude che le cellule trattate con metodo Stamina hanno IN MEDIA una bassa attività telomerasica, in confronto con la linea tumorale K562.

Cosa non ci dice: In assenza di un test condotto su un campione rappresentativo di singole cellule, non si può escludere che una piccola frazione delle cellule abbia un’attività telomerasica alta, e quindi proprietà tumorali. Si dovrebbe inoltre aggiungere altri test in vitro (valutare il cariotipo, o comuni traslocazioni cromosomiche) per escludere che le cellule abbiano assunto altre caratteristiche proprie delle cellule tumorali. Sarebbe ancora più predittivo inoculare le cellule in vivo per seguire nel tempo l’eventuale insorgenza di tumori. Tali esperimenti sono particolarmente importanti perché è stato descritto che le cellule staminali mesenchimali coltivate in vitro possono dare origine a tumori (Charbord, Human Gene Therapy 2010).

QUARTA DIAPOSITIVA: ANALISI DI STERILITÀ



Obiettivi dell'esperimento: I test di sterilità sono volti a escludere che le cellule trattate con metodo Stamina siano contaminate da agenti biologici estranei che potrebbero causare patologie nel paziente.

Come è stato condotto: La presenza di batteri e funghi viene attestata coltivando in vitro un piccolo campione del tessuto da testare in condizioni che favoriscono lo sviluppo di funghi e batteri. Se non si osserva alcuna crescita di microorganismi, si esclude la contaminazione.

Si nota che la diapositiva è mal costruita: la parte sinistra e quella destra si riferiscono a pazienti diversi. Inoltre la parte destra sembra riferirsi a un test generale su campione di midollo osseo più che a cellule staminali mesenchimali prodotte con metodo Stamina.

Cosa ci dice: Questi test escludono la presenza di contaminazione da funghi o batteri.

Cosa non ci dice: Il risultato è parziale. Per somministrare un prodotto sicuro a un paziente è assolutamente necessario escludere contaminazioni da molti altri agenti patogeni come batteri intracellulari (micoplasma) e virus (HIV, epatite C).

CONCLUSIONI:

La diapositiva uno dimostra una buona vitalità delle cellule infuse.

I risultati dell'immunofenotipo sono incoerenti: la diapositiva due presenta un caso in cui la maggioranza dei marcatori caratteristici delle cellule mesenchimali sono molto espressi, la diapositiva quattro presenta un altro caso, dove tali marcatori sono scarsamente espressi.

Il saggio di attività telomerasica non è sufficiente, di per sé, a escludere la trasformazione tumorale di parte delle cellule mesenchimali.

Le indagini di sterilità sono presentate in modo incompleto.

I dati disponibili sono quindi frammentari, e vengono taciti particolari essenziali quali il numero di cellule infuse per ogni paziente, se (ed in quale percentuale) queste cellule sono in grado di diventare neuroni, ed una valutazione clinica precisa dei pazienti. Tali dati sono a tutt'oggi indisponibili.

[Francesco Marangoni]

Francesco Marangoni è Ricercatore al Massachusetts General Hospital e alla Harvard Medical School

di Boston. In 12 anni di attività scientifica ha ricevuto 13 riconoscimenti e pubblicato 14 articoli in riviste peer-reviewed tra cui The Journal of Experimental Medicine, Immunity e Nature. È revisore per il Ministero della Sanità (Bando Ricerca Finalizzata 2011-2012) ed ha collaborato alla revisione scientifica di numerosi articoli su riviste ad alto impact factor tra cui Nature e Science.

GLOSSARIO

7AAD: un colorante fluorescente del DNA che può entrare solo nelle cellule morte. È comunemente usato per escludere le cellule morte dall'analisi citofluorimetrica.

Campione negativo: Un campione sperimentale che non esprime una determinata caratteristica.

Campione positivo: Un campione sperimentale che esprime una determinata caratteristica.

Cariotipo: È la caratterizzazione morfologica dei cromosomi di una cellula. Nell'uomo, il cariotipo normale è costituito da 22 coppie di cromosomi e 2 cromosomi sessuali, ognuno dei quali caratterizzato da una specifica forma e dimensione. In presenza di gravi lesioni genetiche, il cariotipo appare alterato.

CD: È una sigla utilizzata nella nomenclatura delle molecole. La specifica molecola viene indicata dal prefisso CD, un numero progressivo, ed una lettera (facoltativa, presente solo se sussistono ambiguità). Esempio: esistono varie molecole chiamate CD1, una delle quali è CD1a.

Cellule staminali mesenchimali: sono cellule non completamente specializzate, in grado di diventare cellule ossee, cartilaginee, e adipose. La loro capacità di diventare cellule neuronali è controversa.

Citofluorimetria a flusso: È una tecnica in grado di misurare la grandezza e la fluorescenza di ogni singola cellula. È una tecnica veloce, che permette la misurazione di 2000 – 20000 cellule per secondo. È particolarmente utile per misurare la quantità di una molecola in una cellula: per fare questo si utilizzano anticorpi specifici che legano quella particolare molecola, e sono anche coniugati con un colorante fluorescente. In questo caso, la misura dell'intensità di fluorescenza di una cellula è proporzionale all'espressione della molecola.

Controllo negativo: È un campione che, nonostante sia sottoposto al medesimo trattamento di tutti gli altri campioni sperimentali, dà risultato nullo. È indispensabile per misurare il “rumore di fondo” intrinseco di qualsiasi misurazione.

Debris: Sono frammenti di cellule morte, probabilmente inerti.

FSC: In citofluorimetria, è l'acronimo di “Forward scatter”, e costituisce una misura della dimensione della cellula.

Gate elettronico: In citofluorimetria, è un contorno mono o bidimensionale che seleziona una popolazione di cellule per analisi successive. È anche utile per misurare la percentuale di cellule contenute nel gate.

Immunofenotipo: È l'aspetto delle cellule definito da esperimenti di citofluorimetria.

Linea cellulare: Si tratta di una popolazione di cellule che si può espandere indefinitamente mediante cultura in vitro. Nella maggioranza dei casi, si tratta di cellule tumorali.

Marcatore: In generale, è una molecola espressa in modo caratteristico da una cellula. Specificamente in citofluorimetria, sono le molecole misurate tramite anticorpi specifici coniugati a molecole fluorescenti.

Revisione tra pari: (in inglese “**peer-review**”) Il processo secondo cui un’indagine scientifica viene approfonditamente rianalizzata da altri ricercatori anonimi, che ne giudicano la qualità e propongono miglioramenti. È il passo obbligato prima di ogni pubblicazione scientifica e ogni richiesta di finanziamento.

SSC: In citofluorimetria, è l’acronimo di “Side scatter”, e costituisce una misura di quanti granuli sono contenuti in una cellula.

Telomerasi: È un enzima che mantiene elevata la lunghezza dei telomeri, elementi del cromosoma che progressivamente si accorciano durante l’invecchiamento delle cellule. Una eccessiva attività della telomerasi è sufficiente per lo sviluppo del tumore.

Traslocazione cromosomica: È una lesione genetica caratterizzata dal distacco di un pezzo di cromosoma, e dalla sua successiva fusione a un altro cromosoma. I geni ibridi che si creano talvolta scompaginano la normale crescita cellulare originando tumori. Sono lesioni comuni nel cancro.

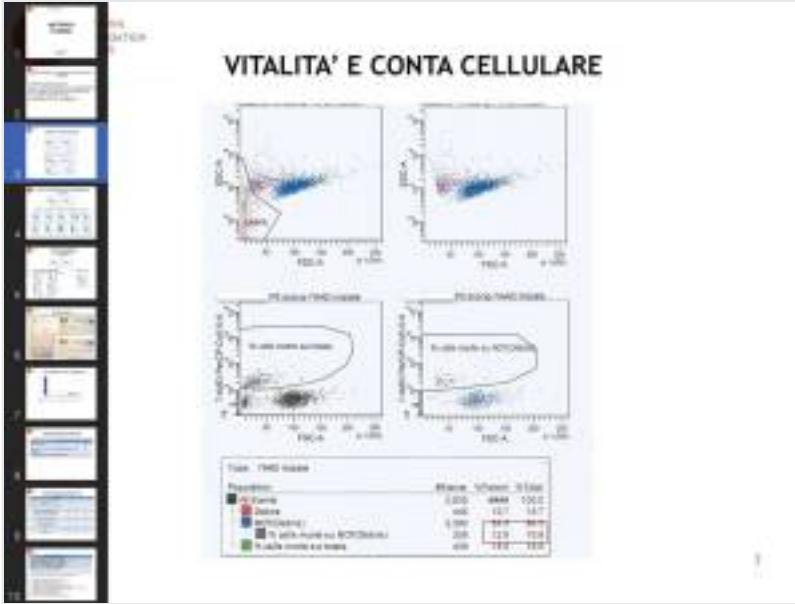
Pagina 1

Commento ai dati sperimentali su Stamina

Sono un ricercatore, impegnato da più di dieci anni in progetti di immunologia dei tumori e terapia genica. Nel momento in cui credo di avere raggiunto un risultato di rilievo, il mio primo pensiero è di sottoporlo al vaglio della comunità scientifica (la cosiddetta “revisione tra pari”, in inglese “peer-review”) per vedere se la mia indagine sperimentale e le mie conclusioni stanno in piedi. Se la mia ricerca supera questo controllo, viene resa pubblica.

Davide Vannoni non ha, fino ad oggi, mostrato alla comunità scientifica risultati sperimentali su Stamina, per cui sono rimasto piacevolmente sorpreso dalla recente pubblicazione sulla sua pagina Facebook di alcune diapositive che costituiscono la prima –seppur parziale- condivisione di dati scientifici relativi a Stamina. Ho ritenuto opportuno e rilevante commentare questi dati, per quanto possibile, da un punto di vista divulgativo ma scientifico, e auspico che numerosi altri colleghi facciano lo stesso al fine di surrogare quella “revisione tra pari” fino ad oggi evitata.

PRIMA DIAPOSITIVA – VITALITÀ DELLE CELLULE SCONGELATE



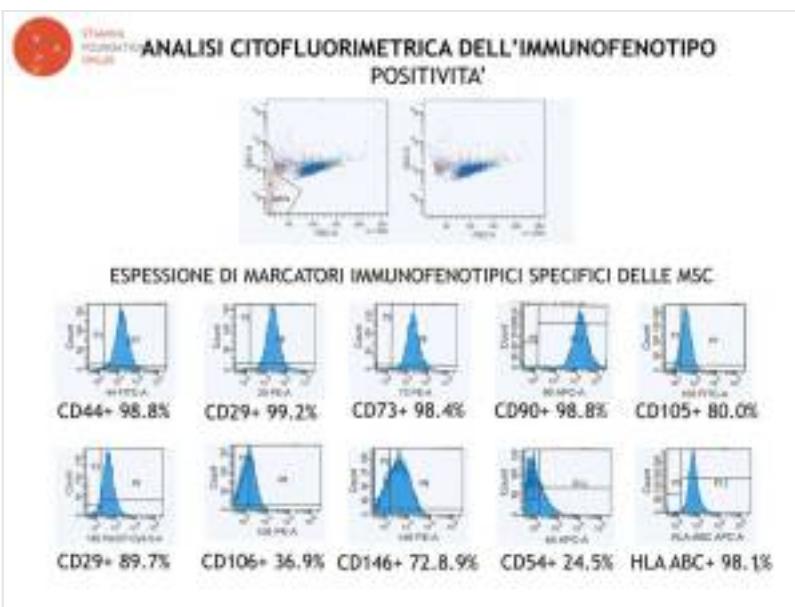
Obiettivi dell'esperimento: valutare la vitalità e il numero delle cellule che poi verosimilmente saranno infuse a un ammalato.

Come è stato condotto: le cellule, presumibilmente ottenute tramite metodica Stamina e congelate, sono state scongelate e colorate con 7AAD, un colorante che marca il DNA delle cellule morte. L'esperimento è stato quindi analizzato tramite citofluorimetria a flusso. Il grafico in alto a sinistra riporta la dimensione delle cellule (parametro FSC, asse X) in relazione alla loro granulosità (parametro SSC, asse Y). Ogni puntino è una cellula. Si nota immediatamente una popolazione di detriti cellulari molto piccoli e scarsamente granulari, che sono “avanzi” di cellule morte (in linguaggio tecnico “debris”). Questi sono stati circondati da un “gate” elettronico (la linea denominata “debris”) ed eliminati dal grafico successivo in alto a destra. Il grafico in basso a destra rappresenta la dimensione delle cellule (asse X) in relazione alla loro colorazione con 7AAD (asse Y). Le cellule morte vengono definite come cellule piccole e positive per 7AAD (gate “% cellule morte su NOT debris”), e ne viene calcolata la percentuale rispetto all'intera popolazione cellulare.

Cosa ci dice: Escludendo i debris (inerti), in questa preparazione c'è il 12,9% di cellule morte e l'87,1% di cellule vive e quindi potenzialmente attive.

Cosa non ci dice: L'esperimento non ci dice quante cellule in totale ci sono nel campione analizzato, né sul parametro cruciale di quante cellule vive siano state somministrate al paziente.

SECONDA DIPOSITIVA: IMMUNOFENOTIPO DELLE CELLULE



Obiettivi dell'esperimento: L'esperimento si propone di descrivere l'aspetto (“immunofenotipo”)

delle cellule tramite la misurazione dell'espressione di alcune molecole caratteristiche ("marcatori") delle cellule staminali mesenchimali.

Come è stato condotto: Si tratta ancora di un esperimento di citofluorimetria. Le cellule sono state colorate con anticorpi che riconoscono specificamente ciascuna molecola da misurare. Ogni anticorpo è legato a un colorante fluorescente. La macchina misura l'intensità di fluorescenza su ciascuna cellula, che è tanto maggiore quanto la molecola è più espressa.

L'analisi si deve eseguire sulle sole cellule vive, che sono state plausibilmente definite soltanto come cellule "grandi" (grafici in alto, asse X, FSC elevato). Si nota che l'analisi con 7AAD non può essere stata eseguita perché interferirebbe con alcune analisi successive, e non è riportato se sia stata sostituita con metodiche equivalenti.

I dieci istogrammi in basso si leggono solo guardando l'asse X. Maggiore è il segnale sull'asse X, maggiore l'espressione della molecola annotata sotto al grafico. L'istogramma in basso a sinistra riporta un'etichetta sbagliata (CD29 invece di CD166).

Seppure su ogni istogramma sia stato indicato il confine tra un campione negativo e uno positivo (attraverso i gate indicati dalla lettera "P" e un numero), esso può essere stato disegnato in modo assolutamente arbitrario dall'esecutore dell'esperimento. Per questa ragione, il segnale di fluorescenza deve essere sempre confrontato con un adeguato controllo negativo, che in questo caso non è né descritto né mostrato.

Cosa ci dice: Qualora la distinzione tra campione positivo e negativo fosse stata operata correttamente, l'esperimento indicherebbe che, per questo paziente, le cellule prodotte con metodo Stamina hanno un aspetto che per alcuni tratti coincide con quello delle cellule staminali mesenchimali.

Cosa non ci dice: L'esperimento si concentra sull'aspetto delle cellule di un solo paziente, che potrebbe non rappresentare ciò che viene ottenuto "di routine" con il metodo Stamina. Infatti, la diapositiva numero 4 (vedi oltre) riporta che quasi tutti questi marcatori sono espressi solo debolmente in un paziente evidentemente diverso.

Inoltre, l'esperimento non ci dice se le cellule staminali mesenchimali funzionano correttamente. In particolare, non viene mostrato il dato cruciale e controverso che suggerirebbe che le cellule sono in grado di diventare neuroni.

TERZA DIAPOSITIVA – ESCLUSIONE DELLA TRASFORMAZIONE IN CANCRO



Obiettivi dell'esperimento: L'esperimento si propone di escludere la trasformazione tumorale delle cellule trattate con metodo Stamina tramite la misurazione dell'attività dell'enzima telomerasi. Un'elevata attività telomerasica è infatti caratteristica delle cellule cancerose.

Come è stato condotto: Il grafico mostra l'attività telomerasica delle cellule derivate da 10 pazienti e confrontate in percentuale con una linea cellulare tumorale (K562, prima barra). Esistono diverse metodiche per determinare l'attività della telomerasi (vedi Zhou e Xing, Chem Soc Rev 2012), ma quella utilizzata per produrre questi dati non è indicata.

Cosa ci dice: Per l'interpretazione dell'esperimento, è cruciale sapere se l'attività telomerasica è stata misurata sull'intera popolazione cellulare o sulle singole cellule. Dalla costruzione del grafico si potrebbe desumere che la misurazione sia stata compiuta sull'intera popolazione cellulare. In questo caso, si conclude che le cellule trattate con metodo Stamina hanno IN MEDIA una bassa attività telomerasica, in confronto con la linea tumorale K562.

Cosa non ci dice: In assenza di un test condotto su un campione rappresentativo di singole cellule, non si può escludere che una piccola frazione delle cellule abbia un'attività telomerasica alta, e quindi proprietà tumorali. Si dovrebbe inoltre aggiungere altri test in vitro (valutare il cariotipo, o comuni traslocazioni cromosomiche) per escludere che le cellule abbiano assunto altre caratteristiche proprie delle cellule tumorali. Sarebbe ancora più predittivo inoculare le cellule in vivo per seguire nel tempo l'eventuale insorgenza di tumori. Tali esperimenti sono particolarmente importanti perché è stato descritto che le cellule staminali mesenchimali coltivate in vitro possono dare origine a tumori (Charbord, Human Gene Therapy 2010).

QUARTA DIAPOSITIVA: ANALISI DI STERILITÀ



Obiettivi dell'esperimento: I test di sterilità sono volti a escludere che le cellule trattate con metodo Stamina siano contaminate da agenti biologici estranei che potrebbero causare patologie nel paziente.

Come è stato condotto: La presenza di batteri e funghi viene attestata coltivando in vitro un piccolo campione del tessuto da testare in condizioni che favoriscono lo sviluppo di funghi e batteri. Se non si osserva alcuna crescita di microorganismi, si esclude la contaminazione.

Si nota che la diapositiva è mal costruita: la parte sinistra e quella destra si riferiscono a pazienti diversi. Inoltre la parte destra sembra riferirsi a un test generale su campione di midollo osseo più che a cellule staminali mesenchimali prodotte con metodo Stamina.

Cosa ci dice: Questi test escludono la presenza di contaminazione da funghi o batteri.

Cosa non ci dice: Il risultato è parziale. Per somministrare un prodotto sicuro a un paziente è assolutamente necessario escludere contaminazioni da molti altri agenti patogeni come batteri intracellulari (micoplasma) e virus (HIV, epatite C).

CONCLUSIONI:

La diapositiva uno dimostra una buona vitalità delle cellule infuse.

I risultati dell'immunofenotipo sono incoerenti: la diapositiva due presenta un caso in cui la maggioranza dei marcatori caratteristici delle cellule mesenchimali sono molto espressi, la diapositiva quattro presenta un altro caso, dove tali marcatori sono scarsamente espressi.

Il saggio di attività telomerasica non è sufficiente, di per sé, a escludere la trasformazione tumorale di parte delle cellule mesenchimali.

Le indagini di sterilità sono presentate in modo incompleto.

I dati disponibili sono quindi frammentari, e vengono taciuti particolari essenziali quali il numero di cellule infuse per ogni paziente, se (ed in quale percentuale) queste cellule sono in grado di diventare neuroni, ed una valutazione clinica precisa dei pazienti. Tali dati sono a tutt'oggi indisponibili.

[Francesco Marangoni]

Francesco Marangoni è Ricercatore al Massachusetts General Hospital e alla Harvard Medical School di Boston. In 12 anni di attività scientifica ha ricevuto 13 riconoscimenti e pubblicato 14 articoli in

riviste peer-reviewed tra cui The Journal of Experimental Medicine, Immunity e Nature. È revisore per il Ministero della Sanità (Bando Ricerca Finalizzata 2011-2012) ed ha collaborato alla revisione scientifica di numerosi articoli su riviste ad alto impact factor tra cui Nature e Science.

GLOSSARIO

7AAD: un colorante fluorescente del DNA che può entrare solo nelle cellule morte. È comunemente usato per escludere le cellule morte dall'analisi citofluorimetrica.

Campione negativo: Un campione sperimentale che non esprime una determinata caratteristica.

Campione positivo: Un campione sperimentale che esprime una determinata caratteristica.

Cariotipo: È la caratterizzazione morfologica dei cromosomi di una cellula. Nell'uomo, il cariotipo normale è costituito da 22 coppie di cromosomi e 2 cromosomi sessuali, ognuno dei quali caratterizzato da una specifica forma e dimensione. In presenza di gravi lesioni genetiche, il cariotipo appare alterato.

CD: È una sigla utilizzata nella nomenclatura delle molecole. La specifica molecola viene indicata dal prefisso CD, un numero progressivo, ed una lettera (facoltativa, presente solo se sussistono ambiguità). Esempio: esistono varie molecole chiamate CD1, una delle quali è CD1a.

Cellule staminali mesenchimali: sono cellule non completamente specializzate, in grado di diventare cellule ossee, cartilaginee, e adipose. La loro capacità di diventare cellule neuronali è controversa.

Citofluorimetria a flusso: È una tecnica in grado di misurare la grandezza e la fluorescenza di ogni singola cellula. È una tecnica veloce, che permette la misurazione di 2000 – 20000 cellule per secondo. È particolarmente utile per misurare la quantità di una molecola in una cellula: per fare questo si utilizzano anticorpi specifici che legano quella particolare molecola, e sono anche coniugati con un colorante fluorescente. In questo caso, la misura dell'intensità di fluorescenza di una cellula è proporzionale all'espressione della molecola.

Controllo negativo: È un campione che, nonostante sia sottoposto al medesimo trattamento di tutti gli altri campioni sperimentali, dà risultato nullo. È indispensabile per misurare il “rumore di fondo” intrinseco di qualsiasi misurazione.

Debris: Sono frammenti di cellule morte, probabilmente inerti.

FSC: In citofluorimetria, è l'acronimo di “Forward scatter”, e costituisce una misura della dimensione della cellula.

Gate elettronico: In citofluorimetria, è un contorno mono o bidimensionale che seleziona una popolazione di cellule per analisi successive. È anche utile per misurare la percentuale di cellule contenute nel gate.

Immunofenotipo: È l'aspetto delle cellule definito da esperimenti di citofluorimetria.

Linea cellulare: Si tratta di una popolazione di cellule che si può espandere indefinitamente mediante cultura in vitro. Nella maggioranza dei casi, si tratta di cellule tumorali.

Marcatore: In generale, è una molecola espressa in modo caratteristico da una cellula.

Specificamente in citofluorimetria, sono le molecole misurate tramite anticorpi specifici coniugati a molecole fluorescenti.

Revisione tra pari: (in inglese “**peer-review**”) Il processo secondo cui un’indagine scientifica viene approfonditamente rianalizzata da altri ricercatori anonimi, che ne giudicano la qualità e propongono miglioramenti. È il passo obbligato prima di ogni pubblicazione scientifica e ogni richiesta di finanziamento.

SSC: In citofluorimetria, è l’acronimo di “Side scatter”, e costituisce una misura di quanti granuli sono contenuti in una cellula.

Telomerasi: È un enzima che mantiene elevata la lunghezza dei telomeri, elementi del cromosoma che progressivamente si accorciano durante l’invecchiamento delle cellule. Una eccessiva attività della telomerasi è sufficiente per lo sviluppo del tumore.

Traslocazione cromosomica: È una lesione genetica caratterizzata dal distacco di un pezzo di cromosoma, e dalla sua successiva fusione a un altro cromosoma. I geni ibridi che si creano talvolta scompaginano la normale crescita cellulare originando tumori. Sono lesioni comuni nel cancro.