

# 20 years Deutsche Gesellschaft für Zytometrie (DGfZ): Past and future concepts

G.Valet

em.Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, Germany

20th DGfZ Conference, Leipzig, Oct 13, 2010



dkfz

## Programm zum 2. Heidelberger Flow-Zytometrie Symposium

in Heidelberg  
vom 19. bis 21. Oktober 1989

Organisatoren:  
KLAUS GOERTTLER · MICHAEL STÖHR

Ort:  
Kommunikationszentrum  
des Deutschen Krebsforschungszentrums Heidelberg  
Im Neuenheimer Feld 280  
D-6900 Heidelberg 1 · Tel. 06221/484200

---

Beginn: Donnerstag, den 19. Oktober 1989, 14.00 Uhr  
Ende: Samstag, den 21. Oktober 1989, 12.00 Uhr  
Tagungsbeitrag: DM 50,-

---

## Discussion 1989, initiating DGfZ Foundation in 1990

*Freitag 20. 10. 1989*

**18.00 – 18.15** Kaffeepause

**18.15 – 19.00** **PODIUMSDISKUSSION**  
Organisationsform einer klinisch orientierten Flow-Zytometrie  
Chairman: VALET

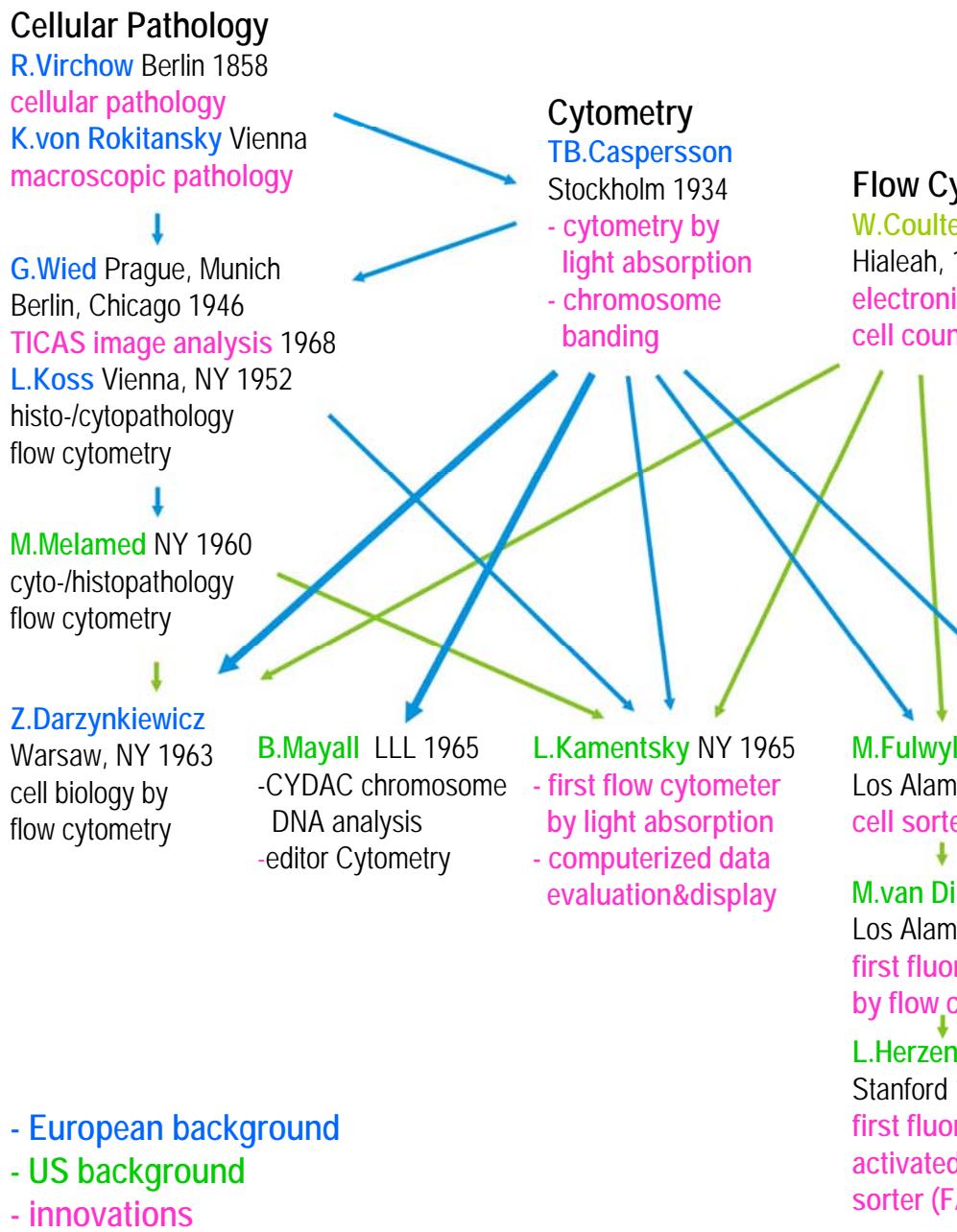
**19.00 – Ende** Gemeinsames Abendessen

# Chairman (G.Valet) notes during preparatory discussion for DGfZ foundation on 20.10.1989

- (Ges.Gtmetrie) +  
- Hocken +  
- Gödde +  
- Heidmann +  
- -  
- Naujok  
- Otto +  
- Stoehr  
- Umbria  
- (v.d.Kloog)  
- Cornelius +  
- Feilitz +  
- Valets +  
Ges. Gtmetrie  
Sektion: Durchfließtechnik  
Bildungsrat  
- Tagung  
- Kurse  
- Newsletter
- Burger  
- Ans  
- Aburair  
- -
- Ges. Gtmetrie
- Geoffroy  
Hocken  
Gödde  
Heidmann  
Otto  
Cornelius  
Umbria  
Feilitz
- ~~= Schwarzmaier~~ Zo. - IN  
~~= Ans~~  
~~= Schenck~~  
-
- im Verlaufe der Organschaft  
Gtmetrie in Europa
- Organisationskomitee  
- Ort der nächsten Tag  
- Satzung
- 12.10.89
- Gründung  
Gesellschaft  
Gtmetrie  
in Heidelberg

# 1. Overview: History of cytometry & flow cytometry

# Interrelations in cytometry and flow cytometry development



G.Ruhenstroth-Bauer, D.Zang  
Munich 1960  
artifactual right skew of Coulter cell volume distribution curves

R.Thom, V.Kachel Munich 1969  
hydrodynamic focusing in electrical sizing eliminates artifactual right skew

G.Valet Munich/Martinsried 1972
 

- cell function in disease
- **cytometric bioinformatics 1987**
- **predictive medicine by cytomics 1997/2001**

## 2. Coulter electrical counting and sizing

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

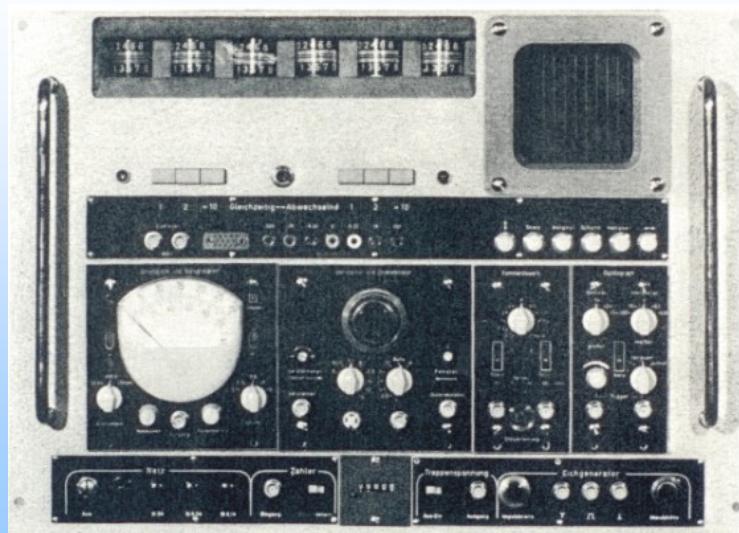
(Direktor: Prof. Dr. A. Butenandt)

Blut 6:446-463(1960)

## Automatische Zählmethoden: Das Coulter'sche Partikelzählgerät

Von G. Ruhstroth-Bauer und D. Zang

In den letzten Jahren sind zahlreiche biologische Meßmethoden weitgehend automatisiert worden. In vielen Fällen wurde dadurch nicht nur eine größere Meßgenauigkeit und eine Zeiteinsparung erzielt; häufig sind dadurch bestimmte Probleme erst der betreffenden Methode zugänglich gemacht worden. Dies gilt auch für die Partikelzählung durch das Coulter'sche Gerät\*). Seine Bedeutung für die Hämatologie besteht darin, daß es eine von subjektiven Fehlern weitgehend freie Zell-für-Zell-Zählung erlaubt und gleichzeitig eine genaue Messung der Volumensverteilung in der Suspension ermöglicht<sup>1)</sup>.



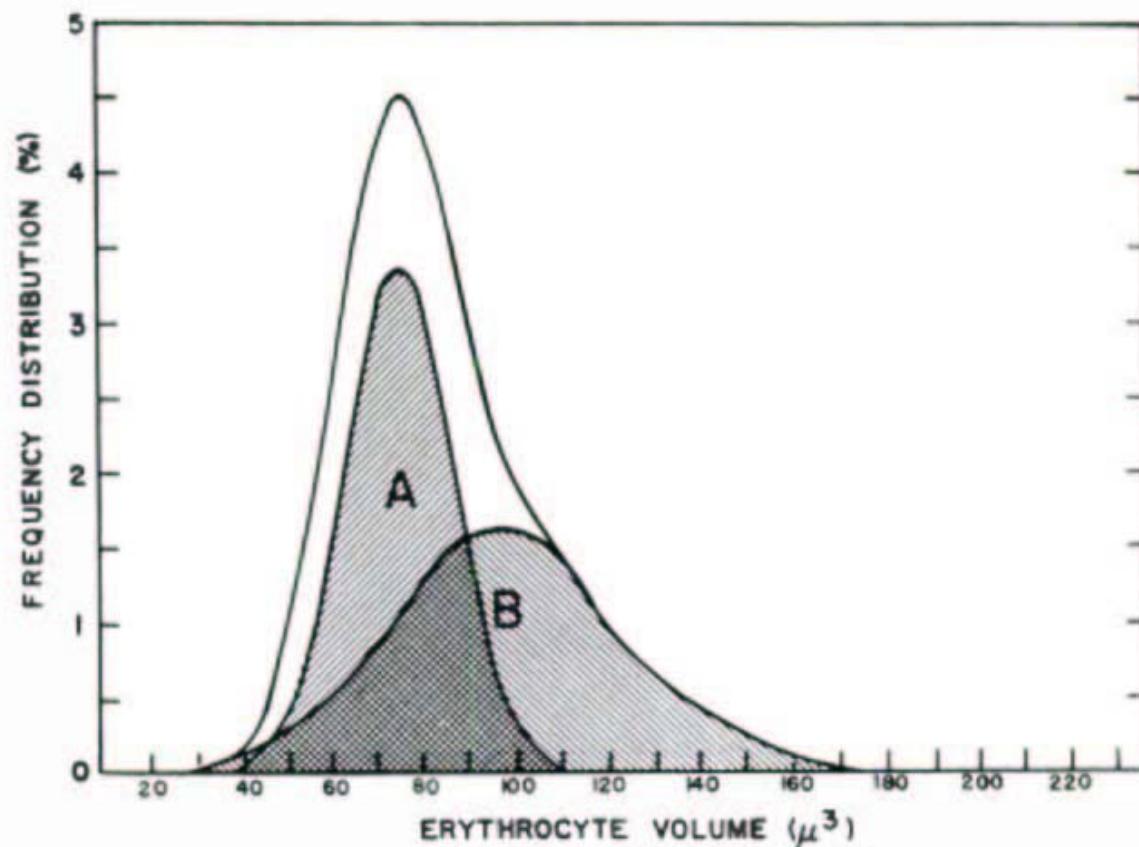
J Gutmann, Diplomarbeit Fachbereich Elektrotechnik  
TU-München 1963

goal: understanding the artificial right skew of  
Coulter cell volume distributions curves

## **Electronic Measurement of Cellular Volumes. II. Frequency Distribution of Erythrocyte Volumes**

*By C. C. LUSHBAUGH, N. J. BASMANN AND B. GLASCOCK*

BLOOD, VOL. 20, No. 2 (AUGUST), 1962



**Fig. 2.—Frequency distribution curve of erythrocyte volumes of human blood and its representation by two cell populations (A and B), each with a normal Gaussian distribution.**

Electronic separation of biological cells by volume  
MJ Fulwyler  
Science 150:910-911(1965)

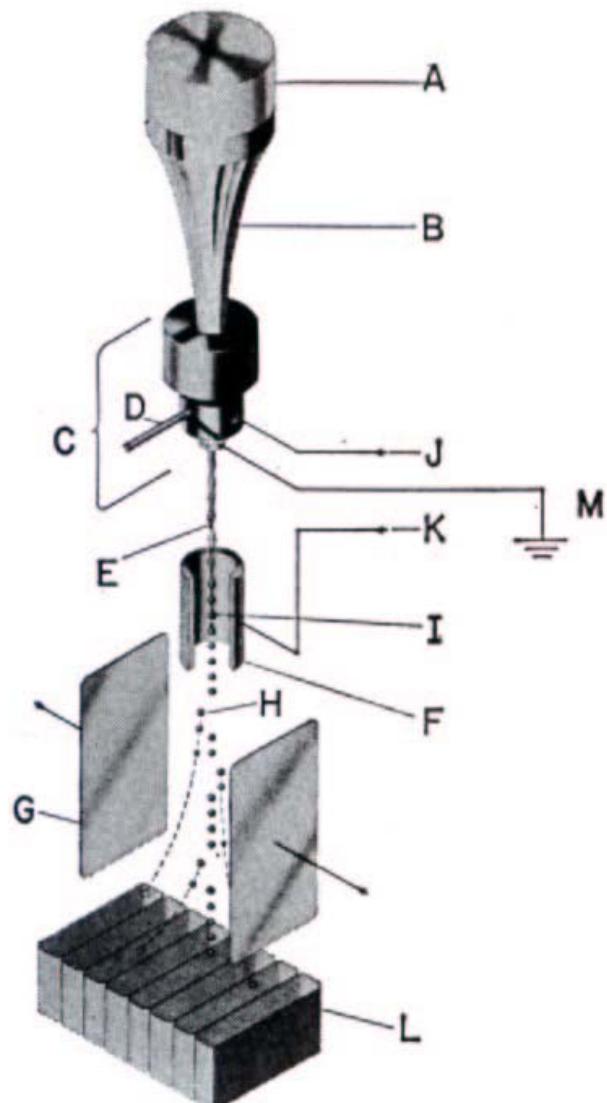


Fig. 1. Cell separator.

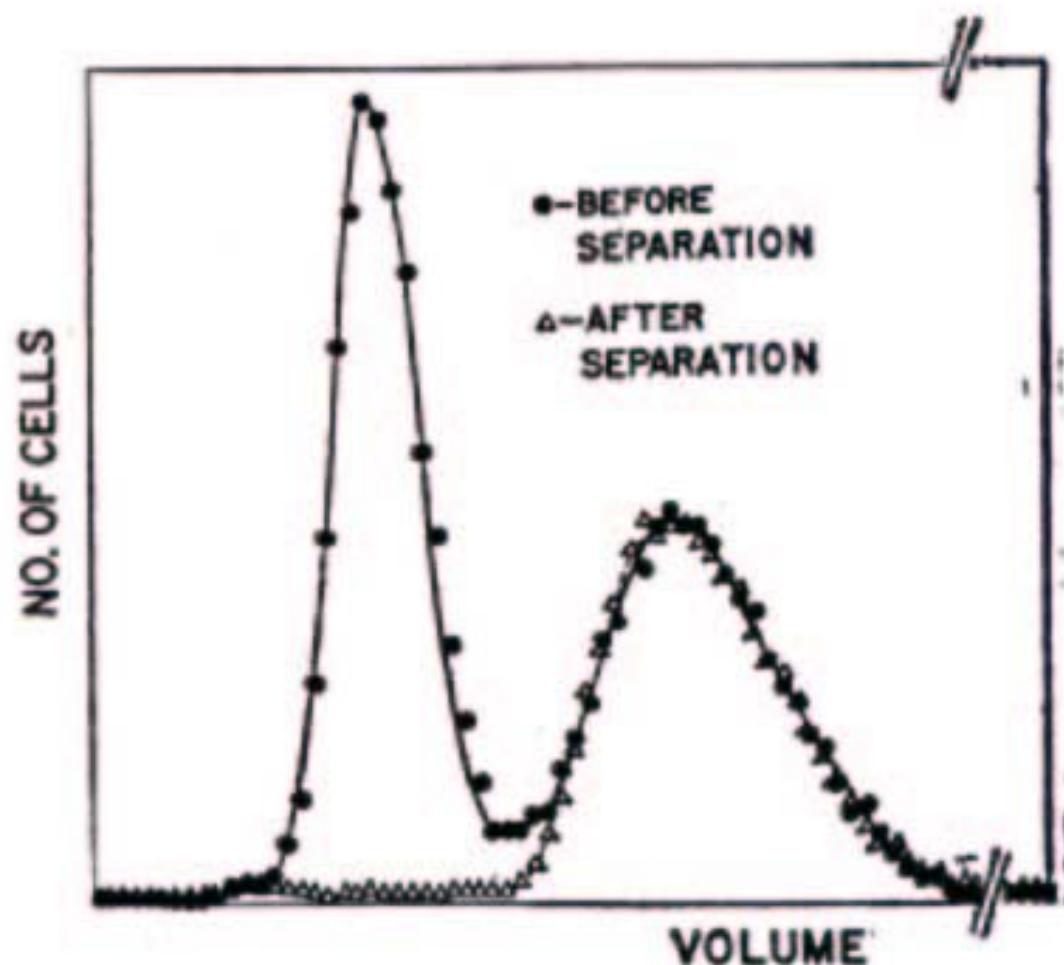


Fig. 2. Distribution by volume of mouse and human erythrocytes before and after separation.

## KURZE MITTEILUNG

*Aus der Med. Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin im Städt. Krankenhaus Westend,  
und dem Max-Planck-Institut für Biochemie München*

### Fortschritte für die elektronische Größenbestimmung von Blutkörperchen

Von R. Thom und V. Kachel

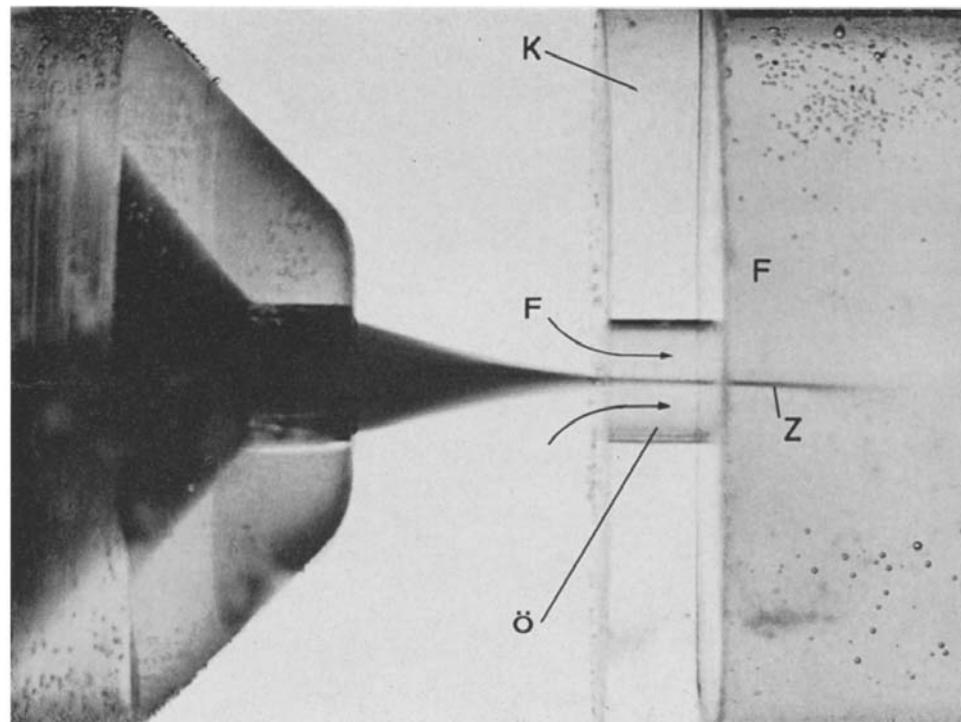


Abb. 1: Meßanordnung K = Kapillarwand; Z = Zentralstrahl, F = Ummantelnde Flüssigkeit; ö = Meßöffnung.

50

R. Thom und V. Kachel

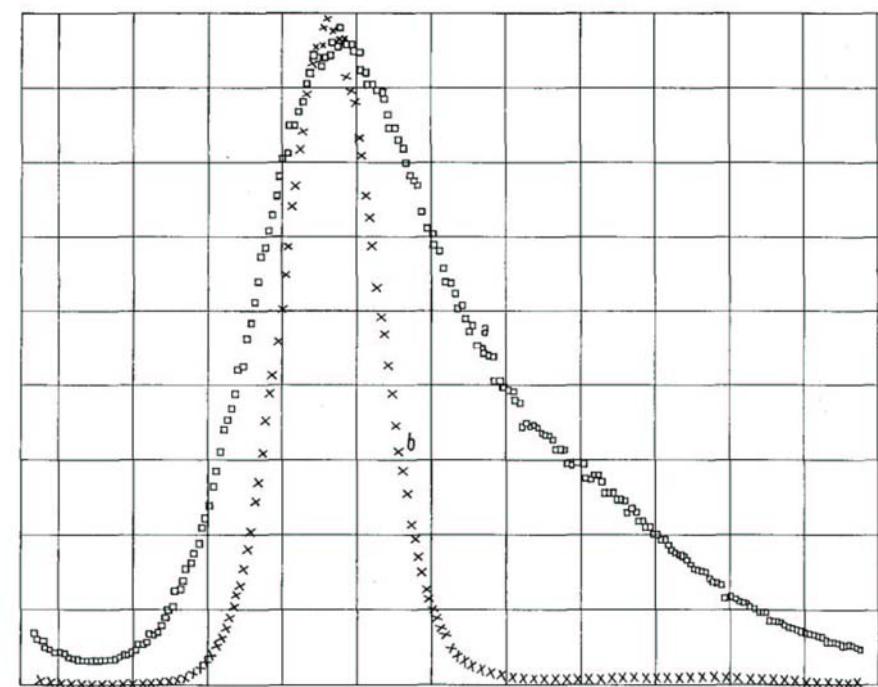


Abb. 3: Volumensverteilungskurven von nativen Erythrozyten. Messung in einer Coulter-Kapillare ( $100 \mu$ ) (a) und in der Zentralstrahlkapillare (b).

# High resolution cell volume distributions by hydrodynamic focusing

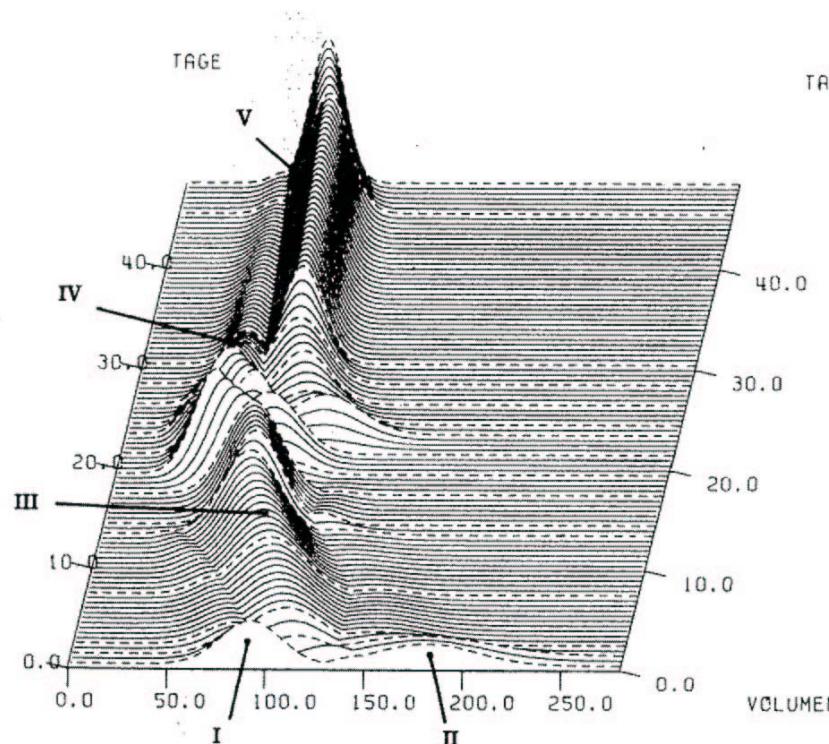


Fig. 6. Räumliche Darstellung der an verschiedenen Tagen nach Geburt gemessenen und analysierten Volumenverteilungskurven (gestrichelt) von Ratten-Erythrozyten. Zur Verbesserung des räumlichen Eindrucks sind zwischen den gemessenen linear interpolierte Kurven (durchgezogen) eingefügt (Volumen in  $\mu\text{m}^3$ )

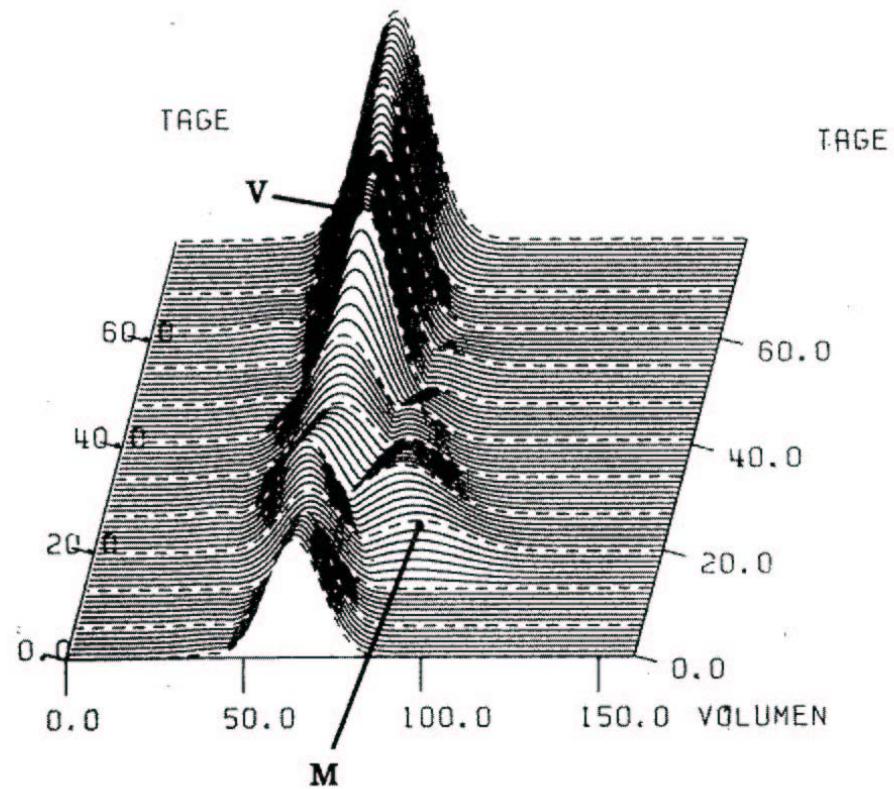


Fig. 7. Die Volumenverteilungskurven von Ratten-Erythrozyten nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung. Die räumliche Darstellung entspricht Fig. 6

Discrete erythrocyte volume populations during the **postnatal period** in rat, mouse, guinea pig and sheep as well as after **bleeding** (sheep) or **x-irradiation** (rat)

G.Ruhstroth-Bauer, G.Valet, V.Kachel, N.Boss. Naturwissenschaften 61:260-266(1974)

# 3. Cell fluorescence in flow cytometry

①

Int. Cl.: G 01 n

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES  PATENTAMT

②

Deutsche Kl.: 421, 13/04

W.Dittrich, W.Göhde

Automatisches Meß- und  
Zählgerät für die Teilchen  
einer Dispersion

patent application 1815352  
Deutsches Patentamt  
priority: Dec 18, 1968

# Offenlegungsschrift 1815352

Aktenzeichen: P 18 15 352.1

Anmeldetag: 18. Dezember 1968

Offenlegungstag: 14. Januar 1971

Ausstellungsriorität: —

③

Unionspriorität

④

Datum:

—

⑤

Land:

—

⑥

Aktenzeichen:

—

⑦

Bezeichnung:

Automatisches Meß- und Zählgerät für die Teilchen einer Dispersion

⑧

Zusatz zu:

—

⑨

Ausscheidung aus:

—

⑩

Anmelder:

Dittrich, Dr. Wolfgang; Göhde, Dr. Wolfgang; 4400 Münster

Vertreter:

—

⑪

Als Erfinder benannt:

Erfinder ist der Anmelder

# Impulsfluorometrie bei Einzelzellen in Suspensionen

W. DITTRICH und W. GÖHDE

Institut für Strahlenbiologie  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

(Z. Naturforschg. 24 b, 360—361 [1969]; eingegangen am 2. Januar 1969)

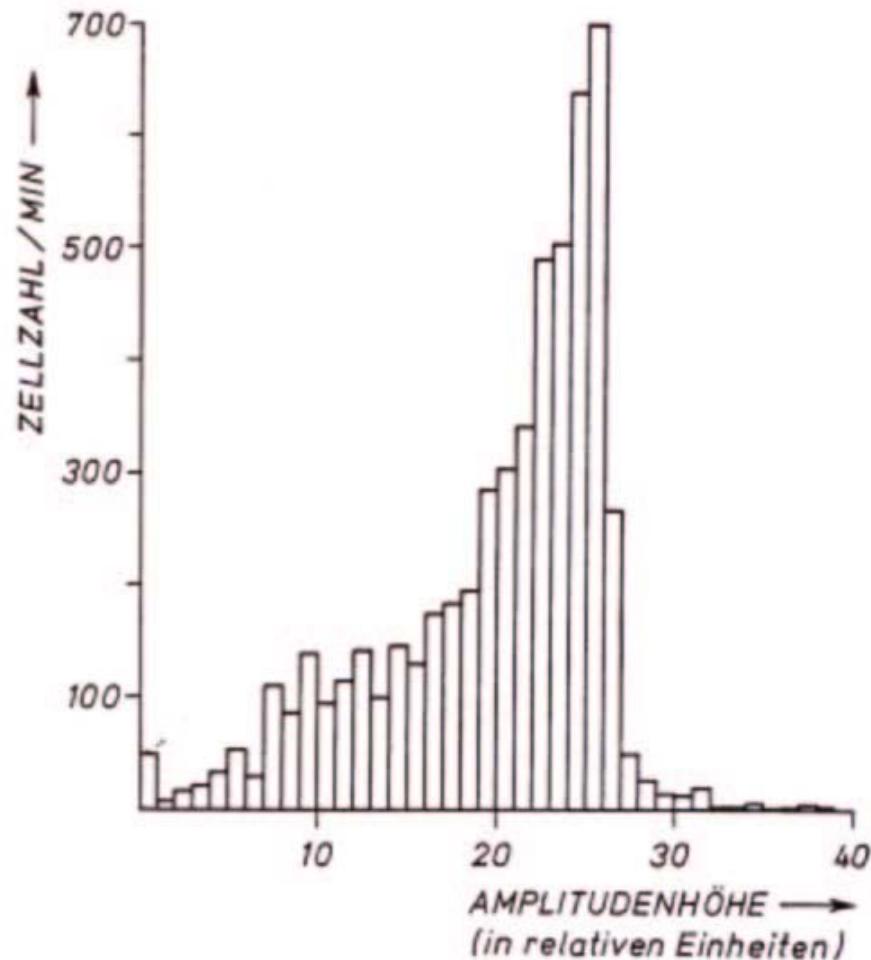
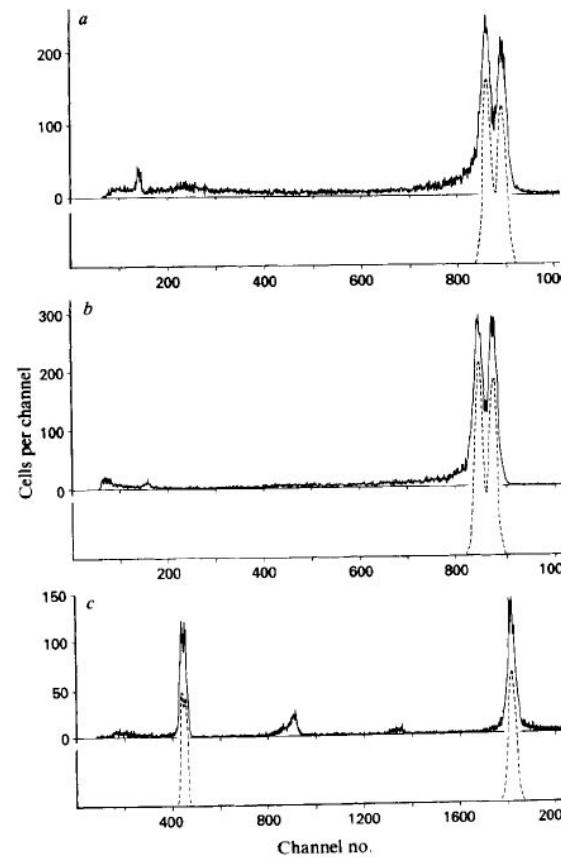


Abb. 2. Amplituden-Histogramm der Fluoreszenzlicht-Impulse.

# Resolution of x and y spermatids by pulse cytophotometry

ML Meistrich, W Göhde, RA White, J Schumann  
Nature 274:821-823(1978)

**Fig. 1** DNA distributions obtained from total testicular cell suspensions (*a*), and fractions of testicular cells enriched in round spermatids (*b*) and pachytene spermatocytes (*c*). Testicular cells were separated from DBA/2Tex mice (Timco) and fixed in ethanol, treated with pepsin and RNase, and stained with ethidium bromide and mithramycin. DNA distributions, measured with an impulse cytophotometer ICP-22, are shown as a solid line. Note, in spectra *a* and *b*, the 1C peak is at about channel 870, whereas in spectrum *c*, the 1C peak is at channel 450, and the 4C peak is at about 1800. The dashed lines indicate the best fits to the peaks with gaussian distributions.



**LOS ALAMOS SCIENTIFIC LABORATORY**  
of the  
**University of California**  
LOS ALAMOS • NEW MEXICO

Report written: September 1967

Report distributed: January 23, 1968

LA-3848-MS  
UC-48, BIOLOGY  
AND MEDICINE  
TID-4500

THE FLUORESCENT CELL PHOTOMETER: A NEW METHOD FOR  
THE RAPID MEASUREMENT OF BIOLOGICAL CELLS STAINED WITH FLUORESCENT DYES

(M. A. Van Dilla, P. F. Mullaney, and J. R. Coulter<sup>\*</sup>)

and 5000 Å with an absorption maximum near 4900 Å. The fluorescence emission is contained in a wide band extending from 5000 to 6000 Å. The brightest conventional sources of 4000 to 5000 Å light available are the short arc mercury vapor lamps such as the PEK-110 with an electrode separation of 300 μ and a brightness of 140,000 candelas/cm<sup>2</sup>. Since image brightness cannot exceed object brightness (3), this represents an upper limit on cell stream illumination with conventional sources. If f/l optics are used to collect the light from a point source placed at the focus,

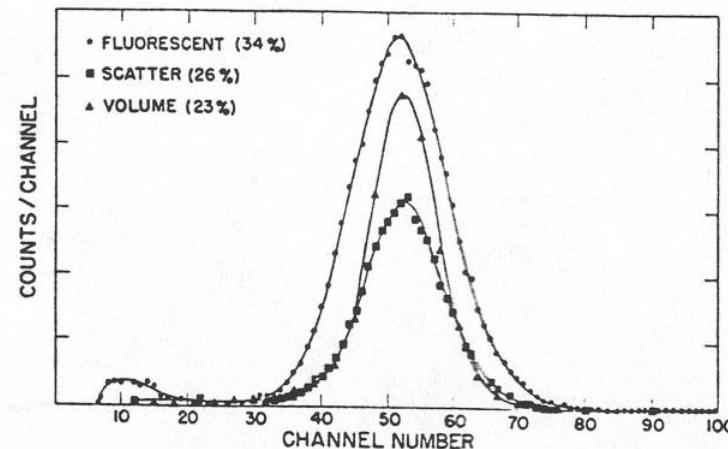


Fig. 3. Fluorescent, scatter, and volume spectra of acridine orange-stained ragweed pollen. Values in parentheses are width halfway down from peak as percent of mode.

# 4. Foundation of cytometry societies

# Foundation of Society for Analytical Cytology

## European effort

motivator: W.Göhde

Phywe ICP-11/22 mercury arc cytometer

1972 Heidelberg (M.Andreeff)

1973 Nijmegen (C.Haanen)

1975 Münster (W.Göhde)

1977 Vienna (D.Lutz)

1979 Voss (O.Laerum)

1980 Rome (F.Mauro)

## American Engineering Foundation

conference organizer: Sandford S.Cole

BioPhysics/Ortho/Coulter/BD laser cytometers

1972 Saxton River, VE

1973 Asilomar, CA

1975 Asilomar, CA

1976 Pensacola, FL

1978 Schloß Elmau/Mittenwald



foundation of the **Society for  
Analytical Cytology (SAC)**  
& journal **Cytometry**  
in Elmau 1978

# Nomenclature confusion (1969-1976)

1. Impulsfluorometrie
2. Impulszytophotometrie
3. Impulsmicrophotometrie
4. pulse cytophotometry
5. microflow fluorometry
6. micro-flow fluorometry
7. flow microfluorimetry
8. flow microfluorometry
9. flow cytofluorometry
10. **flow cytometry**  
by international consensus  
Pensacola 1976

**searchable** publications  
in periodicals:

60 mostly German  
44 US

numerous mostly European  
publications in periodicals and  
books are **unsearchable** by **flow**  
**cytometry** or **cytometry** terms

Examples for  
unsearchable  
publications  
under **cytometry**  
or **flow cytometry**

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

**Der Nachweis verschiedener Erythrozytenpopulationen  
bei der Ratte**

Von G. Valet, H. Metzger, V. Kachel und G. Ruhstroth-Bauer

Die Erythrozyten von neugeborenen und jungen Ratten werden in zeitlich festgelegter Reihenfolge in verschiedenen Organen gebildet [7], wobei das Auftreten mehrerer Hämoglobine beobachtet wurde [3]. Das mittlere Volumen der im Blut kreisenden Erythrozyten nimmt von der Geburt an fortschreitend ab und beträgt beim erwachsenen Tier weniger als die Hälfte der Werte beim Neugeborenen [6]. Die Vorstufen der Neugeborenen-Erythrozyten scheinen auch weniger Erythropoetin-sensibel zu sein als jene der späteren Altersstufen [7,8,10].

An Hand der Erythrozytvolumen-Verteilungskurven von Ratten verschiedenen

Acta Hepato-Gastroenterol. 22 (1975) 274-281  
© Georg Thieme Verlag Stuttgart

**Electrical Sizing of Liver Cell Nuclei by the Particle beam Method.  
Mean Volume, Volume Distribution and Electrical Resistance**

**G. Valet, S. Silz, H. Metzger, G. Ruhstroth-Bauer**

Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried

**Summary**

Electrical sizing of liver cell nuclei gives similar results as histological techniques for the mean volume,

**Zusammenfassung**

Die elektrische Größenbestimmung von Leberzellkernen ergibt ähnliche Resultate wie histologische

# Development of cytometry societies

- SAC membership **1978** around **150** US and **150** non US scientists
- SAC US membership shortly **rose** to 60-80% of SAC members
- **market removal**
  - Phywe ICP11/22 (W.Göhde) by Ortho Diagnostics
  - AEG Telefunken particle analyzer (R.Thom N1/EP/V 1698) by Coulter
- S.Cole at Sea Island, GA: Clinical Cytometry Conference **1983**  
„Whenever we see a potential for the American engineering industry we favour its development“
- SAC as **marketing instrument** for worldwide placement of flow cytometry instrumentation
- **dissatisfaction** with commercialised science development. Concept of **regional organisations**

# 5. Regional cytometry organisations

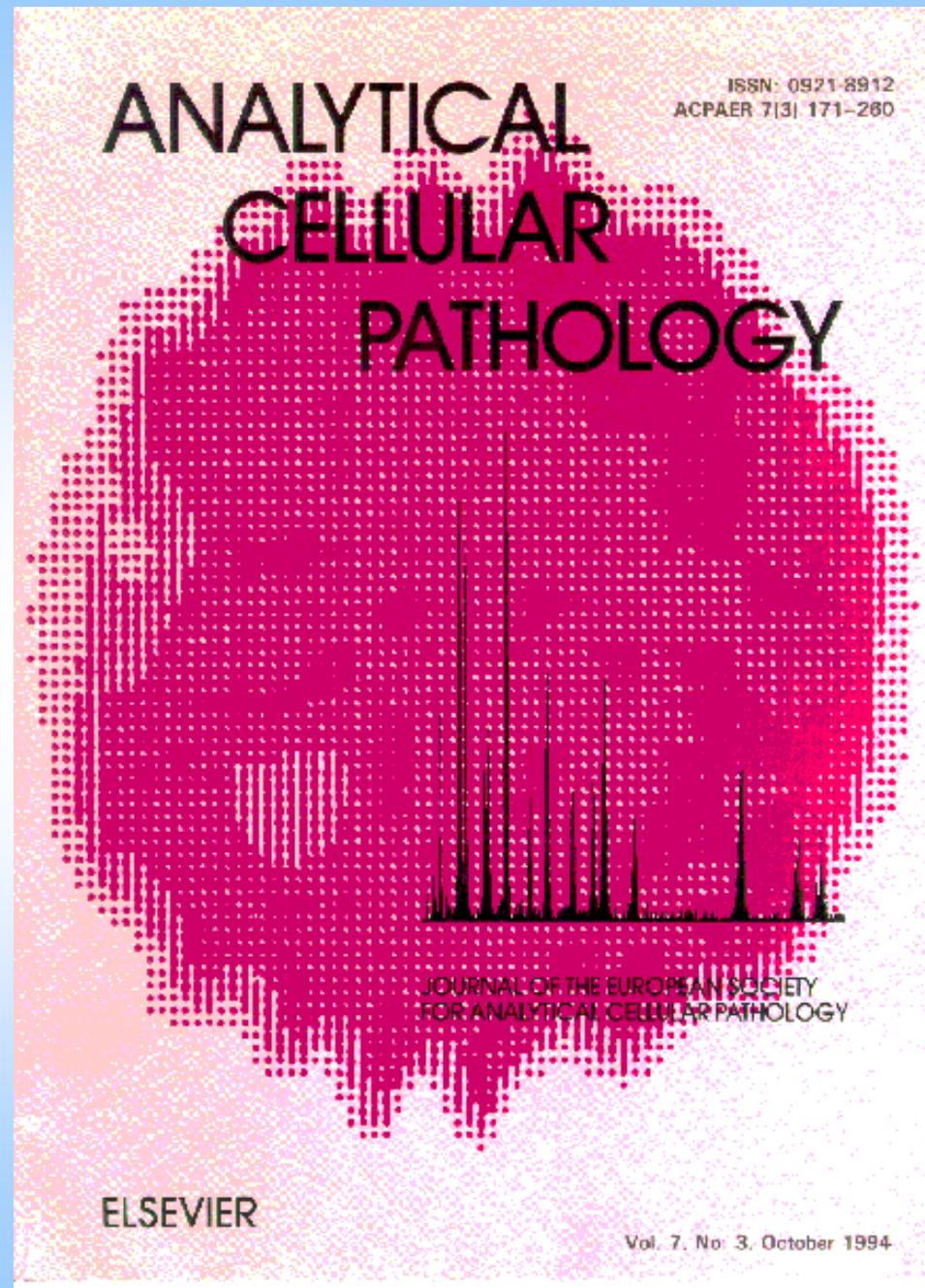


1986: foundation of  
European Society for Analytical  
Cellular Pathology (ESACP)  
with ACP journal

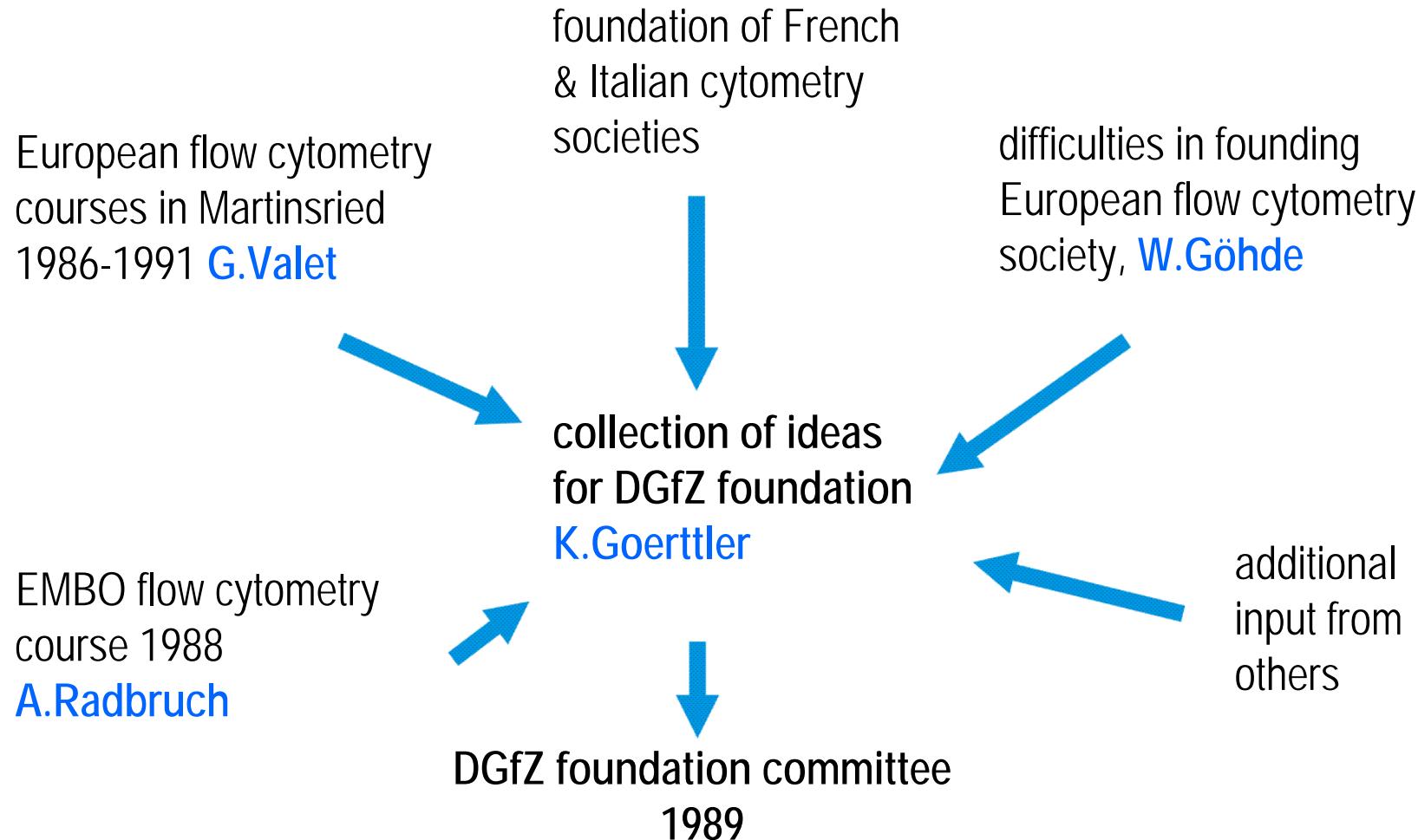
G.Burger, Neuherberg (image)  
G.Valet, Martinsried (flow)  
P.Vooijs, Nijmegen (pathology)  
G.Brugal, Grenoble (image)

continued since 2003 as:

International Society for Cellular  
Oncology (ISCO) with Cellular  
Oncology journal



# Preparations for Deutsche Gesellschaft für Zytometrie (DGfZ) foundation 1989



# DGfZ foundation 1990

## foundation

## committee

K.Goerttler  
C.Cornelisse  
G.Feichter  
W.Göhde  
H.Hoehn  
F.Otto  
A.Radbruch  
G.Valet

## membership cohesion

## DGfZ treasurer

1990/2010

P.Schwarzmann

## DGfZ presidents

90/92 K.Goerttler  
92/94 G.Valet  
94/96 A.Radbruch  
96/98 J.Hemmer  
98/00 M.Nusse  
00/02 R.Knüchel  
02/04 M.Stöhr  
04/06 A.Tarnok  
06/08 G.Brockhoff  
08/10 S.Müller  
10/12 E.Endl

## meetings

Heidelberg 1988-2004

K.Goerttler  
M.Stöhr  
K.Hutter  
H.zur Hausen

Leipzig

A.Tarnok 2005/06  
S.Müller 2009/10

Regensburg 2007

G.Brockhoff

Bremen 2008

G.Rothe

# **EWGCCA foundation**

## **European Working Group for Clinical Cell Analysis (EWGCCA) 1996**

G Schmitz (D), JW Gratama (NL), B Autran (F), B Brando (I), JL D'Hautcourt (B),  
R.Huber (CH), G.Janossy (UK), HE Johnsen (DK), J Kapelmayer (H), R Lenkei (S),  
A Orfao (E), S Papa (I), M Papamichail (GR), H Toterman (S), G Valet (D)  
R Zupanska (PL) as Concerted Action of the EU: *BMH4-CT97-2611(DG12-SSMI)*



## **European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) 2006**

partner society for Cytometry B journal

# 6. Future

# Concepts in cytometry

cytometric  
multiparameter  
measurement

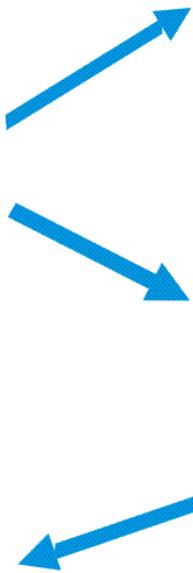
## potential of cytometry:

- disease diagnosis
- predictive medicine by cytomics
- human cytome project
- periodic system of cells

in extension of:

## cellular pathology (R.Virchow)

- disease diagnosis but no prediction



## cytometry as method:

- multiparametric discrimination of specific cell populations

## cytometry as system approach:

- exhaustive knowledge extraction from all cytometrically discernable cell populations (**cytomics**)
- **cell systems biology** for tissue, organ and organism modelling

# Outlook

Cyto2011

Cyto2012

A.Tarnok

Baltimore

Leipzig

Editor Cytometry A

„The fascination extends into the future“

val201013

Literature references:

1. **Virchow R.** Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. In: Vorlesungen über Pathologie. Vol. 1 Berlin, August Hirschwald, 1858.
2. **Grundmann E.** Deutsche Pathologie woanders. Pathologe 1999; 20:267-275.
3. **Caspersson TO.** Cell growth and cell function. 1950, WW Norton, New York
4. **Coulter WH.** Means for counting particles suspended in a fluid. US patent 2,656,658, priority Aug.27, 1949
5. **Coulter WH.** High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. Proc Natl Electronics Conf 1956 12:1034-1042.
6. **Wied GL, Bartels PH, Bahr GF, Oldfield DG.** Taxonomic intracellular analytic system (TICAS) for cell identification. Acta Cytol 1968; 12:180-204.
7. **Bibbo M, Schneider V, Bedrossian CWM.** George L Wied (1921-2004): A three part tribute. Diagn Cytopathol 2005; 33:359-363.
8. **Kamentsky LA, Melamed MR, Derman H.** Spectrophotometer: New instrument for ultrarapid cell analysis. Science 1965; 150:630-631.
9. **Melamed MR, Koss LG.** Developments in cytological diagnosis of cancer. Med Clin North America 1966; 50:651-666.
10. **Darzynkiewicz Z, Bolund L, Ringertz NR.** Actinomycin binding of normal and phythemagglutinin stimulated lymphocytes. Exp Cell Res 1969; 55:120-123.
11. **Mayall BH.** Editorial. Cytometry 1980; 1:1.
12. **Ruhstroth-Bauer G, Zang D.** Automatische Zählmethoden: Das Coulter'sche Partikelzählgerät. Blut 1960; 6:446-462.
13. **Lushbaugh CC, Maddy JA, Basman NJ.** Electronic measurement of cellular volumes. I. Calibration of the apparatus. Blood 1962; 20:233-240.
14. **Lushbaugh CC, Basman NJ, Glascock B.** Electronic measurement of cellular volumes. II. Frequency distribution of erythrocyte volumes. Blood 1962; 20:241-248.
15. **Fulwyler MJ.** Electronic separation of biological cells by volume. Science 1965; 150:910-911.
16. **Valet G.** Concepts and developments in flow cytometry and cyomics. Ed: Robinson JP. Purdue Cytometry CD Nr.10, 2007; ISBN 978-1-890473-10-5, <http://www.classimed.de/martins1.html>.
17. **Thom R, Kachel V.** Fortschritte für die elektronische Größenbestimmung von Blutkörperchen. Blut 1970; 26:48-50
18. **Zimmermann U, Pilwat G, Riemann F.** Dielectric breakdown of cell membranes. Biophys J 1974; 14:881-899.

Literature references (continued):

19. Dittrich W, Göhde W. Automatisches Meß- und Zählgerät für die Teilchen einer Dispersion. patent DE 1 815 352, priority Dec 18, 1968
20. Dittrich W, Göhde W. Impulsfluorometrie bei Einzelzellen in Suspension. Z Naturf 1969; 24b:360-361.
21. Göhde W., Dittrich W. Impulsfluorometrie – ein neuartiges Durchflußverfahren zur ultraschellen Bestimmung von Zellinhaltsstoffen. Acta Histochemica Suppl X 1969, 429-436.
22. Hulett HR, Bonner WA, Barrett J, Herzenberg LA. Cell sorting: Automated separation of mammalian cells as a function of intracellular fluorescence. Science 1969; 166:747-749.
23. Valet G, Metzger H, Kachel V, Ruhstroth-Bauer G. Der Nachweis verschiedener Erythrozytenpopulationen bei der Ratte. Blut 1972; 24:42-53.
24. Ruhstroth-Bauer G, Valet G, Kachel V, Boss N. Die elektrische Volumenmessung von Blutzellen bei der Erythropoese, bei Rauchern, Herzinfarkt- und Leukämiepatienten, sowie von Leberzellkernen. 1974; 61: 260-266.
25. Valet G, Opferkuch W. Mechanism of complement induced cell lysis. Demonstration of a three step mechanism of EAC1-8 cell lysis by C9, and of a non osmotic swelling of erythrocytes. J Immunol 1975; 115:1028-1033.
26. Mendelsohn ML. In memoriam: Sandford S Cole (1900-1986). Cytometry 1987; 8:111-113.
27. Valet G. Concept development in flow cytometry. In: eds U Sack, A Tarnok, G Rothe, Cellular diagnostics, Karger Basel 2009, p 29-52.
28. Paszek P, Ryan S, Ashali L, Sillitoe K, Harper CV, Spiller DG, Rand DA, White MRH. Population robustness arising from cellular heterogeneity. PNAS 2010; 107:11644-11649.
29. Macdonal JA, Murugesan N, Pachter JS. Endothelial cell heterogeneity of blood-brain barrier gene expression along the cerebral microvasculature. J Neuroscience Res 2010; 88:1457-1474.
30. Hoey T. Drug resistance, epigenetics, and tumor cell heterogeneity. Science Transl Med 2010; 2:28ps19.
31. Lidstrom ME, Konopka MC. The role of physiological heterogeneity in microbial population behaviour. Nature Chem Biol 2010; 6:705-712.
32. Valet G. Predictive medicine by cyomics: potential and challenges. J.Biol Regulators Homeost Agents 2002; 16:164-167.
33. Valet G. Cytomics: an entry to biomedical cell systems biology. Cytometry Part A 2005; 63A:67-68.
34. Valet G. Human cytome project, cyomics and systems biology: the incentive for new horizons in cytometry. Cytometry Part 2005; A 64A:1-2.

