Solemne investidura com a Doctor Honoris Causa
del professor

Alfred Lewis Goldberg



Discurs de presentació del professor

Josep M. Argilés i Huguet

Textos en català
English texts

JUNY DEL 2014

UNIVERSITAT DE BARCELONA

Solemne investidura com a Doctor Honoris Causa
del professor

Alfred Lewis Goldberg



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Solemne investidura com a Doctor Honoris Causa
del professor

Alfred Lewis Goldberg

Discurs de presentació del professor

Josep M. Argilés i Huguet

JUNY DEL 2014

Rector
Dídac Ramírez i Sarrió

President del Consell Social
Salvador Alemany Mas

© Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona
Adolf Florensa, s/n, 08028 Barcelona, tel.: 934 035 430, fax: 934 035 531,
comercial.edicions@ub.edu, www.publicacions.ub.edu

Disseny de la col·lecció: Azcunce | Ventura
Fotografia de la coberta: Claustre de l'Edifici Històric

Dipòsit legal: B-15.928-2014

Índex

Protocol de l'acte — 11

Discurs de presentació del professor Josep M. Argilés i Huguet — 15
Sponsor's speech Professor Josep M. Argilés i Huguet — 21

Discurs del professor Alfred Lewis Goldberg — 29
Speech Professor Alfred Lewis Goldberg — 45

Protocol de l’acte

Investidura del professor Alfred Lewis Goldberg com a Doctor Honoris Causa

1. S'entra en processó mentre el Cor de la Universitat de Barcelona interpreta el cant d'entrada.
2. El rector, Dr. Dídac Ramírez i Sarrió, explica l'objectiu de la sessió acadèmica.
3. El rector dóna la paraula a la secretària general, Dra. Isabel Miralles, la qual llegeix l'acta del nomenament de Doctor Honoris Causa a favor del professor Alfred Lewis Goldberg.
4. El rector invita el degà de la Facultat de Biologia, Dr. Joaquim Gutiérrez Fruitós, i el professor padrí, Dr. Josep M. Argilés i Huguet, a anar a cercar el doctorand i acompanyar-lo fins al Paranimf.
5. Intervenció del Cor de la Universitat de Barcelona.
6. El rector dóna la benvinguda al professor Alfred Lewis Goldberg, el qual s'asseu al lloc que li ha estat reservat.
7. El professor padrí llegeix el discurs en el qual presenta els mèrits del seu patrocinat.
8. El rector demana al padrí i al degà de la Facultat de Biologia que acompanyin el doctorand a la presidència.
9. El rector pronuncia les paraules d'investidura:

Pel Consell de Govern de la Universitat de Barcelona, i d'acord amb la proposta de la Facultat de Biologia, heu estat nomenat Doctor Honoris Causa en testimoniatge i reconeixença dels vostres mèrits rellevants.

En virtut de l'autoritat que m'ha estat conferida, us faig lliurament d'aquest títol i —com a símbol— de la birreta llorejada, antiquíssim i venerat distintiu del magisteri. Porteu-la com a corona dels vostres mereixements i estudis.

Rebeu l'anell que l'antiguitat tenia el costum de lliurar, en aquesta venerada cerimònia, com a emblema del privilegi de signar i segellar els dictàmens, consultes i censures escaients a la vostra ciència i professió.

Rebeu també aquests guants blancs, símbol de la puresa, que han de servar les vostres mans, signes, uns i altres, de la distinció de la vostra categoria.

Perquè us heu incorporat en aquesta Universitat, rebeu ara, en nom del seu Claustre, l'abraçada de fraternitat dels qui s'honoren i es congratulen d'ésser els vostres germans i companys.

10. El rector dóna la paraula al nou doctor Alfred Lewis Goldberg, el qual és acompanyat a l'estrada pel professor padrí i el degà de la Facultat de Biologia.
11. Intervenció del doctor Alfred Lewis Goldberg.
13. Un cop acabada la intervenció, el professor padrí i el degà de la Facultat de Biologia esperen el doctor Alfred Lewis Goldberg al peu de l'estrada i l'acompanyen a la mesa presidencial.
14. Lliurament del Premis Extraordinaris de Doctorat i Màster 2011-2012, i XVII Premi Claustre de Doctors 2013 de la Universitat de Barcelona.
15. Discurs del rector.
16. Cant de l'himne *Gaudeamus igitur* per tots els assistents a l'acte.

Gavdeamvs igitvr
Gaudeamus igitur,
Iuuenes dum sumus. [Bis]
Post iucundam iuuentutem,
Post molestam senectutem,
Nos habebit humus. [Bis]
Vbi sunt qui ante nos
In mundo fuere? [Bis]
Adeas ad inferos,
Transeas ad superos,
Hos si uis uidere. [Bis]
Viuat Academia,
Viuant professores. [Bis]
Viuat membrum quodlibet,
Viuant membra quaelibet;
Semper sint in flore. [Bis]

17. El rector aixeca la sessió.

Discurs de presentació del professor Josep M. Argilés i Huguet /

Sponsor's speech Professor Josep M. Argilés i Huguet

Magnífic Senyor Rector,
Autoritats acadèmiques i polítiques,
Benvolguts companys i alumnes,
Senyores i senyors,

Per a la Facultat de Biologia és un honor i un privilegi que la Junta de Govern de la nostra Universitat hagi acceptat concedir el títol de Doctor Honoris Causa al professor Alfred Lewis Goldberg.

Puc ara comprovar que el moment més important d'un universitari no és quan defensa la tesi doctoral o quan guanya unes oposicions, sinó quan pot proclamar a *viva voce* la importància d'un dels seus mestres.

Fer aquesta *laudatio* del professor Alfred Goldberg és, a més d'un honor immerescut, una tasca gens fàcil. D'una banda, per la dificultat que comporta sintetitzar, en pocs minuts, sense deixar elements importants, els mèrits que justifiquen la concessió d'aquest doctorat. De l'altra, perquè del que realment estic temptat és d'escoltar les experiències i els consells que el Dr. Goldberg podria oferir a la nostra Facultat de Biologia.

La presència del professor Goldberg honra la nostra Universitat, que troba en ell aspectes molt difícils de recollir en una sola persona: excel·lència personal, excel·lència humana i excel·lència com a biòleg, com a investigador i com a docent, en l'ampli sentit del terme.

Resulta ben clar que no es tracta d'un personatge que ja hagi complert un recorregut i que es permeti contemplar de lluny l'escena del progrés científic, sinó d'un protagonista i motor de grans projectes de recerca en marxa, que ocupa, a més, llocs de màxima responsabilitat en institucions del més alt rang científic mundial.

És per això que en aquest breu parlament no faré un recorregut fil per randa per la seva fecunda trajectòria cientificoprofessional, sinó que intentaré destacar només alguns aspectes de la seva experiència vital.

El professor Goldberg és un home de Harvard. Excepte per un parell d'anys sabàtics a la Universitat de Califòrnia a Berkeley i a l'Institut Pasteur de París, tota la seva tasca universitària s'ha desenvolupat a la prestigiosa universitat americana. Llicenciat el 1963 en Bioquímica, va llegir la seva tesi doctoral en Fisiologia el 1968. Possiblement la combinació d'aquestes dues disciplines —bioquímica i fisiologia— li ha permès comprendre millor mecanismes moleculars i, alhora, desenvolupar estratègies terapèutiques aplicables a humans. En l'actualitat és catedràtic de Biologia Cel·lular a l'Escola de Medicina de Harvard.

Entre les distincions més importants que ha rebut el professor Goldberg cal destacar, el 1998, el Premi Novartis-Dew de Recerca Biomèdica; el 2004, el Premi Severo Ochoa (Universitat de Nova York); el 2007, el Premi Knobil (Universitat de Texas), i el 2008 el Premi Gabbay en Biotecnologia i Medicina (Universitat Brandeis). El 2012 rebé el Premi Warren Alpert de Recerca Biomèdica, atorgat per la Universitat de Harvard per les seves aportacions sobre el fàrmac Velcade, del qual parlaré més endavant.

Ha pronunciat conferències en llocs molt prestigiosos: al Forum Nobel (Institut Karolinska), la conferència Fay (Universitat de Massachusetts), la Da Vinci (Universitat de Milà), la Rothchild (Israel Academy of Sciences and Humanities) o la conferència del centenari de la Biochemical Society. A més, li atorgaren el doctorat honorari en ciències tant l'escola Watson del Cold Spring Harbor Laboratory (2009) com la Universitat de Maastricht (2011).

El 2005 va ser elegit membre numerari de l'Acadèmia Americana de les Arts i de les Ciències. I el 2004 vaig tenir personalment, com a director de la Societat Internacional de Caquèxia i Sarcopènia, l'honor d'organitzar un simposi especialment dedicat a la seva figura i aportacions científiques en el camp de l'atròfia muscular.

Durant més de quaranta anys, el professor Goldberg ha estat líder mundial en el camp de la degradació de les proteïnes musculars. Per posar en perspectiva la seva trajectòria científica, cal dir que ha publicat més de quatre-cents treballs i que figura entre l'1 % dels autors més citats en recerca biomèdica: 56.092 citacions a dia d'avui, amb un índex *h* de 130.

A més de la seva vàlua científica, cal destacar l'impacte que ha tingut en les carreres d'altres investigadors. El 14 de setembre de 2012 tingué lloc un simposi organitzat per l'Escola de Medicina de Harvard, en honor seu, amb el títol «43 anys de degradació proteica». Molts investigadors d'arreu

del món van assistir-hi per presentar contribucions científiques relacionades amb la degradació de proteïnes.

Les seves aportacions en el camp de la ciència se centren especialment en els mecanismes fisiològics de degradació de proteïnes, un dels camps més complexos del metabolisme. Les proteïnes al nostre organisme són constantment sintetitzades i degradades a aminoàcids. A primera vista, la degradació constant d'aquests principis immediats sembla un xic absurda i fútil, almenys des d'un punt de vista energètic: serveix per eliminar les proteïnes malmeses. Però, a més, serveix per proporcionar aminoàcids, molt útils en situacions de dejuni cel·lular.

El laboratori del professor Goldberg estudià per què el nostre organisme només degrada les proteïnes malmeses deixant de costat les que funcionen correctament. Així mateix, el seu laboratori estudià la importància del sistema de degradació de proteïnes en la resposta immunològica i per què en determinades situacions patològiques s'activa la degradació de proteïnes musculars i com es pot aturar.

L'any 2004 el Premi Nobel de Química s'atorgà als investigadors Aaron Ciechanover, Avram Hershko i Irwin Rose pel descobriment del sistema proteolític dependent d'ubiqüitina i que involucra el proteasoma. No va ser un descobriment basat en serendipitat, al contrari: és important destacar que va ser precisament una observació del professor Goldberg, qui el 1977, utilitzant reticulòcits —els quals no tenen lisosomes—, va poder comprovar l'existència d'un sistema proteolític distint al de les catepsines lisosòmiques. Posteriorment, el 1983, el va identificar anomenant-lo *sistema proteolític no lisosòmic dependent d'ATP*. Aquest és el sistema que avui coneixem com a *dependent d'ubiqüitina i del proteasoma*. De fet, els seu estudis van demostrar que tant el proteasoma 20S com el 26S estan involucrats en la degradació de les proteïnes musculars.

L'equip del professor Goldberg també ha demostrat que el sistema de la ubiqüitina és present en moltes malalties que porten a l'atròfia muscular, com ara la infecció crònica, l'acidosi o el càncer.

També cal mencionar els estudis del professor Goldberg sobre la importància de la proteòlisi dependent d'ubiqüitina en el sistema immunitari, concretament en el mecanisme de presentació d'antígens.

Resulta particularment interessant destacar la tasca del professor Goldberg en el desenvolupament d'inhibidors del sistema de la ubiqüitina, que

en determinades ocasions es poden utilitzar com a estratègia terapèutica. En aquest sentit, el fàrmac anomenat bortezomib —també conegut com a Velcade— s'utilitza amb èxit en el tractament del mieloma múltiple. Aquest fàrmac va néixer al laboratori del professor Goldberg. Considero que aquest és possiblement un dels mèrits més importants d'un investigador: identificar els mecanismes moleculars que hi ha al darrere d'una determinada malaltia; caracteritzar-los, dissenyar inhibidors que puguin bloquejar-los, i finalment validar-ne l'ús clínic. És un exemple de recerca que va des de la taula de laboratori fins al llit hospitalari. Sense cap mena de dubte, aquest tipus de recerca és el més satisfactori: arribar a «guarir» des del laboratori pot ser l'element més important del currículum d'un investigador.

En aquest sentit, cal dir que el professor Goldberg ha participat en nombroses accions de transferència i innovació tecnològica —té deu patents—, que és membre consultiu d'un elevat nombre d'empreses de biotecnologia i que ha participat en la cofundació d'empreses com Proteostasis o ProScript.

Per concloure, només dir que podria haver optat en aquesta breu reflexió per un camí diferent. Podria haver parlat d'altres aspectes que donessin al personatge una dimensió més àmplia, però he optat —sembla evident— per situar-ne algunes imatges, que són les que m'inspiren més admiració, les que em permeten situar el perfil d'un mestre en una perspectiva científica, que és on pot ser més útil.

El valor ampli i qualitatiu de la seva tasca científica, que és molt gran, és tot i així més petit que l'actitud humana i formativa que ha mantingut sempre. La universitat actual, de vegades tan injuriada, necessita més que lleis imposades, necessita estímuls perquè es desenvolupin figures que siguin el que Alfred Goldberg simbolitza: un home que viu amb saviesa, treball i sentit de l'humor en què ens ha format a molts i ens ha prestat la seva atenció, la seva paraula i el seu afecte.

Fred, you have been an example for many of us: a truly exceptional scientist, your wisdom has been paramount for many of us. Your intelligence and your ability to ask seemingly simple, yet overwhelmingly important questions have allowed you to excel in a wide range of scientific fields. It is for us, and for our University, a great honour and a pleasure to award you to this highest academic distinction.

Concloc amb la fórmula habitual i obligatòria d'una *laudatio*: considerats i exposats aquests fets, digníssimes i il·lustríssimes autoritats acadèmiques, sol·licito, amb tota consideració, que s'atorgui a Alfred Lewis Goldberg, exemple viu de la creativitat científica, el grau suprem de Doctor Honoris Causa per la Universitat de Barcelona.

Rector,
Dignitaries from academia and government,
Colleagues and students,
Ladies and gentlemen,

For the Faculty of Biology, it is an honour and a privilege that the governing body of our University has decided to bestow an honorary doctorate on Professor Alfred Lewis Goldberg.

I can now tell you without a doubt that the most important moment in an academic's career is not when he defends his doctoral thesis or succeeds in obtaining a chair, but when he is given the opportunity to speak *viva voce* about the great importance of one of his teachers.

Delivering this *laudatio* for Professor Alfred Goldberg is not only an undeserved honour, but also no easy task. For one thing, it is difficult to summarize, in a few minutes, the achievements that justify the awarding of this doctorate without leaving out many of genuine significance. And for another thing, what I am most tempted to do is to sit and listen to the experiences and advice that Dr. Goldberg himself will offer to us here today at the Faculty of Biology.

The presence of Professor Goldberg honours our University, which recognizes qualities in him that are extremely hard to find together in one person: personal excellence, human excellence and excellence as a biologist, as a researcher and as a teacher, in the broadest sense of the word.

It is very clear that we are not talking about a figure who has come to the end of a career and can look back from a distance upon the scientific progress achieved. Rather, we are talking about a key driving force behind major research projects that are currently underway, and a man who still holds leadership positions in the foremost scientific institutions on the planet.

This is why, in such a brief address, I will not give a detailed account of his long and successful career as a scientist and a professional, but will single out only a few highlights.

Professor Goldberg is a Harvard man. Except for a few years on sabbatical at the University of California, Berkeley, and at the Pasteur Institute in Paris, he has pursued his entire university career at that prestigious Ivy League university. In 1963, he earned his undergraduate degree in Biochemistry and then, in 1968, he completed his doctoral dissertation in Physiology. It is likely that the combination of these two disciplines —biochemistry and physiology— is what has enabled him to gain such deep insight into molecular pathways and, at the same time, develop therapeutic strategies that can be applied to human beings. Currently, he is professor of Cell Biology at Harvard Medical School.

Among the most prominent distinctions that Professor Goldberg has received, we must mention: the Novartis-Dew Award for Biomedical Research, in 1998; the Severo Ochoa Award (New York University), in 2004; the Knobil Award (University of Texas), in 2007; and the Gabbay Award in Biotechnology and Medicine (Brandeis University), in 2008. In 2012, he was the recipient of the Warren Alpert Prize for Biomedical Research, given by Harvard University for his contributions to the drug Velcade, of which I will speak again later.

He has given lectures in the most prestigious places: at the Nobel Forum at the Karolinska Institute, the Fred Fay Lecture at the University of Massachusetts, the Leonardo da Vinci Lecture at the University of Milan, the Rothschild Lecture at the Israel Academy of Sciences and Humanities, and the centenary lecture of the Biochemical Society. In addition, he is the recipient of an honorary doctorate in sciences from the Watson School at Cold Spring Harbor Laboratory (2009) and another one from Maastricht University (2011).

In 2005, he was elected as a member of the American Academy of Arts and Sciences. And in 2004, as director of the Society for Sarcopenia, Cachexia and Wasting Disorders, he received the personal honour of a symposium organized to celebrate his scientific efforts in the field of muscle atrophy.

For over forty years, Professor Goldberg has been a world leader in the field of degradation of muscle proteins. To put his scientific career

in perspective, he has published more than 400 papers and he figures among the top 1% of most frequently cited authors in biomedical research: 56,092 citations to date, with an *h*-index of 130.

In addition to the value of his scientific contributions, he has had an enormous impact on the careers of his fellow researchers. On 14 September, 2012, a symposium in his honour was organized at Harvard Medical School under the title "43 Years of Protein Degradation". Many researchers from around the world attended and presented scientific contributions relating to protein degradation.

His contributions to science focus especially on the physiological pathways of protein degradation, one of the most complex fields of metabolism. The proteins in our bodies are constantly synthesized and broken down into amino acids. At first glance, the constant degradation of proteins looks a bit absurd and pointless, at least from the standpoint of energy: the process eliminates damaged proteins. However, it also supplies amino acids, which are much more useful in situations of cell starvation. In Professor Goldberg's lab, they have studied why our bodies only break down damaged proteins and do not touch proteins that are working correctly. They have examined the importance of the protein degradation system in immune response and why in given pathological situations the degradation of muscle proteins is activated and how it can be halted.

In 2004, the Nobel Prize in Chemistry was awarded to the researchers Aaron Ciechanover, Avram Hershko and Irwin Rose for their discovery of ubiquitin-mediated protein degradation involving proteasome. Their discovery was not a case of serendipity. Quite to the contrary, it grew out of an observation made by Professor Goldberg. Working with reticulocytes, which do not have lysosomes, he was able, in 1977, to establish the existence of a proteolytic system distinct from the lysosomal catepsin system. Then, in 1983, he identified this system and named it the *non-lysosomal ATP-dependent proteolytic system*. This is the system that we know today as the *ubiquitin-proteasome system*. Indeed, his studies showed that proteasome 20S and proteasome 26S are involved in breaking down muscle proteins.

Professor Goldberg's team has also showed that the ubiquitin system is present in many diseases that lead to muscle wasting, such as chronic infection, acidosis and cancer.

We should also mention Professor Goldberg's research on the importance of ubiquitin-mediated proteolysis in the immune system, specifically in the antigen-presenting mechanism.

It is particularly interesting to look at Professor Goldberg's efforts in the development of ubiquitin inhibitors, which can be used in some cases as a therapeutic strategy. In this respect, the drug *Bortezomib*, which is also known as Velcade, is being used successfully in the treatment of multiple myeloma. This drug was created in Professor Goldberg's lab. In my view, this ranks quite possibly among a researcher's most significant achievements: identifying the molecular pathways that underlie a given disease; characterizing them; designing inhibitors to block them, and ultimately validating their clinical use. It is an example of research that goes from the lab bench to the hospital bed. There is absolutely no doubt that this type of research is the most satisfying: "healing" patients from the lab can be one of the most important items on a researcher's CV.

Along the same lines, Professor Goldberg has taken part in numerous activities involving technology transfer and innovation. He holds ten patents. He is an advisor to a large number of biotech companies. And he has helped to co-found firms like Proteostasis and ProScript.

To conclude, I could have chosen a different path in this brief overview. I could have spoken of other aspects that would paint a broader picture of Professor Goldberg. The few images that I have chosen, however, are among those that most arouse my admiration. They convey a teacher busy at work in a scientific setting, which may well be where he can do the greatest good.

The breadth and calibre of his scientific efforts, enormous though they are, are nonetheless small in comparison to his unflagging qualities as an instructor and as a human being. What today's oft-criticized universities need is not more legislation. Rather, they need more encouragement and motivation to develop figures of the kind that Alfred Goldberg symbolizes: a person whose life is dedicated to wisdom, hard work and good humour. So many of us have learned from the example he has set. So many of us have benefited from his attentiveness, his words and his warmth.

Fred, you have been an example for many of us: a truly exceptional scientist, your wisdom has been paramount for many of us. Your intelligence and your ability to ask seemingly simple, yet overwhelmingly important questions have allowed

you to excel in a wide range of scientific fields. It is for us, and for our University, a great honour and a pleasure to award you to this highest academic distinction.

Let my conclude with the customary and obligatory formula of a *laudatio*: honoured and esteemed academic dignitaries, I ask you with all due consideration to award Alfred Lewis Goldberg, a living example of scientific creativity, with the highest degree of Doctor Honoris Causa of the University of Barcelona.

Discurs del professor Alfred Lewis Goldberg /

Speech Professor Alfred Lewis Goldberg

Magnífic Senyor Rector,
Autoritats acadèmiques i polítiques,
Benvolguts companys i alumnes,
Senyores i senyors,

Estic molt agraït a la Universitat de Barcelona i al professor Argilés per aquest títol honorífic, pel reconeixement a la feina de tota una vida i per la hospitalitat amb què m'han acollit. Evidentment, no ens dediquem a la recerca científica amb l'objectiu d'aconseguir reconeixements, però rebre'n és fantàstic.

Durant la meva trajectòria acadèmica, he tingut molta sort de poder contribuir a l'estudi de com funcionen les cèl·lules i els organismes i també de poder constatar que els nostres descobriments bàsics han donat lloc a noves teràpies per alleujar les malalties de les persones. Avui voldria parlar-vos d'alguns dels descobriments clau i com es van descobrir. Durant més de quaranta anys, la major part de la meva recerca ha estat relacionada directament o indirectament amb la degradació de les proteïnes en les cèl·lules. Arran de la introducció dels marcadors isotòpics els anys quaranta i cinquanta, va resultar evident que les proteïnes de les nostres cèl·lules són molt dinàmiques, atès que no només es produeixen durant els períodes de creixement, sinó que en nosaltres —adults que no estem en fase de creixement—, les proteïnes de les cèl·lules se sintetitzen contínuament a partir dels aminoàcids i, en diferents graus, es tornen a degradar completament als aminoàcids que les han formades (vegeu les figures).

No cal ser biòleg per adonar-se que aquesta descomposició continuada dels components cel·lulars ens pot fer plantejar diverses preguntes:

1) Per què les cèl·lules estan implicades en aquest procés aparentment ineficient de destrucció de proteïnes, quan és tan difícil sintetitzar-les i plegar-les correctament? D'entrada, aquesta degradació de proteïnes que costen tant de produir podria semblar ineficient i con-

trària a l'evolució, excepte si això generés un avantatge important de selecció...

2) En quina part de la cèl·lula es destrueixen les proteïnes?
3) Com té lloc exactament aquest procés i per quins enzims? Trencar els elements cel·lulars pot ser molt perillós i si es fa de manera inespecífica i sense regulació, el resultat podria ser terrible. La degradació de les proteïnes ha d'implicar mecanismes molt diferents d'aquells enzims catalítics i no específics que els bioquímics han caracteritzat amb anterioritat —els enzims proteolítics del nostre pàncrees que destrueixen completament les cèl·lules del bistec que hem menjat per sopar o els que destrueixen els eritròcits dins els macròfags—. Dins les nostres cèl·lules, la destrucció de les proteïnes ha de ser extremadament específica, atès que es degraden en diversos graus i, evidentment, aquest procés ha de ser molt selectiu per tal de no destruir l'arquitectura i la funció cel·lulars.
4) Aquesta degradació continuada de les cèl·lules també provoca diverses possibilitats reguladores; és a dir, les cèl·lules poden augmentar el contingut d'una proteïna en concret, ja sigui accentuant-ne l'expressió o alentint-ne la destrucció. Pel que fa a tota la cèl·lula o teixit, les cèl·lules es poden fer més petites si alenteixen la producció de noves proteïnes o si augmenten la degradació de la proteïna en general.

Permeteu-me que us expliqui com té lloc exactament aquest procés. Durant molt de temps va ser un camp d'estudi oblidat, principalment perquè fins fa poc es creia que no era gaire important fisiològicament i perquè no resulta tan interessant ni tan atractiu com l'estudi de l'expressió genètica que acaba conduint a la síntesi proteica. De fet, em vaig interessar per aquest fenomen mentre era oficialment estudiant de medicina a l'Escola de Medicina de Harvard i tenia temps per dedicar-me a la recerca, en el mateix edifici on he treballat durant gairebé cinquanta anys. Ara bé, cal dir que jo no era un estudiant de medicina típic. Ja des d'abans d'anar a la universitat, tenia molta curiositat per la ciència i per temes relacionats amb la biologia i la química. Havia guanyat diverses competicions científiques estatals i nacionals, en què els estudiants de secundària presentaven projectes individuals. El meu interès per la ciència va augmentar quan vaig ser

estudiant a la Universitat de Harvard i per les portes que això em va obrir. Un estiu em van escollir per dur a terme un projecte de recerca al Cold Spring Harbor Laboratory, on l'entusiasme per la biologia molecular es respirava en l'ambient. Per graduar-te amb mèrits a Harvard havies de fer un projecte de recerca, i vaig poder desenvolupar el meu al laboratori de James Watson, l'investigador que va revolucionar la biologia amb el descobriment de l'estructura de l'ADN. Vaig aconseguir conèixer el Jim perquè li havia anat a fer moltes preguntes després de les classes, i em va convidar a treballar al seu laboratori. Tot i que el meu primer treball publicat tractava sobre aquesta recerca, no va tenir cap conseqüència per a la ciència, però per a un jove de divuit o vint anys va ser l'oportunitat de conèixer un gran nombre de personalitats de la biologia moderna, cosa que va ser, per descomptat, estimulant i atractiva. Watson va rebre el Premi Nobel durant el primer estiu que vaig passar al laboratori, i dos companys becaris el van rebre anys després. Després de la universitat, em van seleccionar com a becari a la Fundació Winston Churchill per estudiar a la Universitat de Cambridge, on vaig decidir estudiar la fisiologia dels mamífers. Gràcies a aquestes experiències estimulants, vaig poder relacionar-me amb grans ments científiques i em vaig adonar que alguns problemes tenen una importància real i cal treballar-hi, mentre que d'altres, no.

De tota manera, em sentia dividit entre l'entusiasme vertiginós de la biologia molecular i el món poc comprès de la fisiologia i la medicina (encara ara, cinquanta anys després, he d'enfrontar-me amb aquesta divisió d'interessos). Així doncs, vaig tornar als Estats Units i vaig estudiar medicina a Harvard. Encara que aquests estudis em van proporcionar una base important sobre biologia i malalties, els aspectes mèdics em van avorrir de seguida. Gràcies al suport d'una facultat en concret, vaig tenir l'oportunitat de fer recerca de manera independent, i, al cap de dos anys, vaig demanar una excedència per poder estudiar altres aspectes en profunditat. Cinquanta anys més tard, encara sóc oficialment un estudiant de medicina amb una excedència. Mentrestant, vaig doctorar-me i em van convidar a unir-me a l'Escola de Medicina de Harvard, on he continuat estudiant alguns dels mateixos aspectes de fisiologia i mecanismes moleculars.

Entendre la degradació proteica a partir de l'atròfia muscular

Vaig començar a estudiar la degradació de les proteïnes arran d'uns treballs sobre fisiologia que vaig fer mentre estudiava, investigant per què els músculs es fan més petits si no s'utilitzen. Aparentment, ningú no sabia per què els músculs es tornaven més petits. Pel que semblava, era un problema relacionat amb el fet que la manca d'activitat reduïa la síntesi de proteïnes, o això és el que jo pensava. La diapositiva següent mostra algunes de les dades que vaig obtenir fa gairebé cinquanta anys. Quan vaig tallar el nervi ciàtic de la pota d'una rata jove, els músculs de les potes del darrere van deixar de créixer (acumular proteïnes), tal com m'esperava, i amb el pas dels dies es van fer més petits que els de l'altra pota. Tanmateix, quan vaig mesurar la síntesi de proteïna en els músculs en creixement i en els atrofiats, vaig descobrir, sorprès, que els nivells de proteïna eren els mateixos. La raó per la qual aquells músculs havien perdut pes era un misteri. L'única explicació possible era que les proteïnes d'aquell múscul s'havien degradat molt més ràpidament i vaig aconseguir dissenyar mètodes d'anàlisi *pulse-chase* per demostrar que l'acceleració general de la degradació proteica era la causa de la pèrdua de pes pel desús o pel dejú. Aquestes observacions van ser la primera prova per demostrar que els nivells generals de degradació molecular en un teixit estan regulats, un procés que encara estem intentant entendre en termes bioquímics.

Personalment, aquests descobriments van ser suficients per convèncer-me de la importància d'entendre com funciona la degradació de les proteïnes en les cèl·lules i com es deu regular. Aquestes qüestions eren més interessants que tot el que hauria pogut fer si hagués tornat a l'Escola de Medicina. Així doncs, un any més tard, quan em van nomenar professor, vaig decidir centrar-me en la recerca dels mecanismes de la degradació proteica. Tot i que la majoria de membres del meu laboratori es van centrar en sistemes més simples, una part del laboratori continua treballant en la regulació de la degradació proteica en els músculs, encara que cada any els nivells d'anàlisi es tornen més mecànics i moleculars. Per entendre un procés, cal poder mesurar-lo realment, cosa que sempre ha estat difícil en aquest àmbit. A principi dels anys setanta, es van descriure alguns mètodes simples per

mesurar els nivells generals de degradació proteica en músculs de rosegadors mantinguts *in vitro* en unes condicions definides. Aquests estudis van demostrar que els nivells generals de degradació proteica quedaven suprimits per la insulina i, al contrari, s'activaven en una sèrie de condicions fisiològiques o patològiques, quan el múscul perdia pes: inactivitat, diabetis no tractada, insuficiència renal, sèpsia (o sida) i especialment càncer (vegeu la diapositiva). La pèrdua de proteïna del múscul és l'àrea de coneixement en què el professor Argilés ha fet més aportacions.

D'altra banda, va resultar evident que aquesta degradació proteica excessiva del múscul és una adaptació a les condicions d'estrès. El múscul és la reserva més gran de proteïnes, i la degradació de les seves proteïnes és una resposta curosament programada que ha evolucionat com a resposta a la inanició (baix nivell d'insulina o hormones de l'estrès), per tal de proporcionar una font d'aminoàcids i generar glucosa, durant el dejú o la malaltia, per al cervell o noves proteïnes (per exemple, regenerar danys). Encara que els metges actuals no han trobat una manera clara de prevenir aquesta pèrdua progressiva, s'estan fent proves clíniques amb alguns fàrmacs estimulants que tenen la capacitat de mantenir la força malgrat el procés patològic.

La degradació selectiva de les proteïnes mal plegades

Personalment, aquests estudis sobre músculs, tot i la seva importància mèdica i fisiològica, em resultaven insatisfactoris perquè eren descriptius i no explicaven què passava amb les cèl·lules. En aquella època, no se sabia pràcticament res sobre els mecanismes d'aquest procés en les cèl·lules. Aquesta qüestió era important, tot i que els biòlegs l'havien ignorada, i jo pensava que era molt més interessant que tornar a l'Escola de Medicina i que probablement valia la pena dedicar la vida a resoldre-la. Així, quan vaig crear el meu propi laboratori el 1969, mentre continuava estudiant els músculs, vaig decidir centrar la meva recerca en qüestions bioquímiques més fonamentals relacionades amb aquesta ruta de degradació, mitjançant estudis sobre cèl·lules més simples: *Escherichia coli*, al principi, i reticulòcits dels mamífers, més endavant, que permetien experimentar més.

En aquell moment, els biòlegs, com ara jo mateix, crèiem ingènuament que si enteníem la cèl·lula *E. coli* també podríem entendre les nostres

cèl·lules, cosa que no era certa. També semblava que eren ideals per estudiar la degradació proteica perquè els bacteris no tenen lisosomes. Als anys seixanta, es creia que les cèl·lules dels mamífers contenien enzims proteolítics només en unes vesícules anomenades *lisosomes*, les quals podien digerir les proteïnes si aquestes proteïnes de les nostres cèl·lules podien accedir-hi d'alguna manera (aquest procés ara l'anomenem *autofàgia*). Ara bé, estava convençut que aquests orgànuls no eren representatius de l'extrema especificitat de la proteòlisi intracel·lular, i els bacteris no tenen lisosomes. De fet, estudiar els bacteris era estrany perquè aleshores s'ensenyava que els bacteris no degradaven les seves pròpies proteïnes en créixer, però sí que ho feien quan estaven privats d'aliment. Per aquest motiu, inicialment em vaig centrar a estudiar la manera com la degradació de les proteïnes normals s'activava en les cèl·lules privades de nutrients essencials, perquè aquests resultats eren semblants als obtinguts a partir de l'estudi dels músculs atrofiats.

Vaig continuar investigant la qüestió general sobre per què les cèl·lules destrueixen les seves pròpies proteïnes. Una de les raons possibles era que aquest procés servís per eliminar proteïnes malmeses o mal plegades, l'acumulació de les quals podria resultar tòxica. Vaig aconseguir demostrar que, encara que les proteïnes són molt estables en les cèl·lules en creixement, si no aconsegueixen plegar-se correctament s'eliminen en qüestió de minuts. Aquests experiments van demostrar que la degradació proteica funciona com un procés de control de qualitat. En aquella època, només disposàvem de mètodes primitius per generar proteïnes mal plegades. Per exemple, vam jugar amb els bacteris i els vam donar anàlegs dels aminoàcids naturals, els quals vam incorporar en lloc dels residus normals, però això va provocar que no es pleguessin correctament. Això provocava que les cèl·lules cometessin errors en la síntesi proteica o que no es completés perquè acabava prematurament. Aquestes proteïnes incompletes o mal plegades es degradaven ràpidament, i vam descobrir amb sorpresa que aquest procés requeria energia cel·lular, ATP.

Actualment podem trobar milers d'exemples de casos en què la degradació proteica és important per prevenir la producció de proteïnes mal plegades en el nucli, citoplasma o fins i tot orgànuls com ara el reticle endoplasmàtic. Com que aquest procés és tan eficient, podem viure molts anys encara que, dins de les cèl·lules, les proteïnes s'estiguin fent malbé con-

tínuament. En el procés de producció de proteïnes poden tenir lloc molts tipus de mutacions i errors en l'entorn més immediat de la cèl·lula (per exemple, de radicals d'oxigen) i, per tant, la degradació proteica és bàsica en la defensa de les cèl·lules. Possiblement aquesta és la raó principal per la qual aquests mecanismes evolucionen i són essencials per a la vida. En les cèl·lules humanes aquest procés permet combatre malalties en les quals es produeix un mal plegament de proteïnes principals, mentre que una destrucció excessiva de les proteïnes mutades en provoca d'altres (per exemple, la fibrosi quística). Fa quaranta anys va tenir lloc un descobriment molt important: les proteïnes anormals tendeixen a ajuntar-se i a crear petites inclusions intracel·lulars abans de degradar-se ràpidament. Aquest és un procés important en les malalties neurodegeneratives principals: Alzheimer, Parkinson, esclerosi lateral amiotròfica. En el cas d'aquestes malalties, les proteïnes mal plegades s'acumulen i tendeixen a associar-se amb els components clau de la maquinària de degradació, ubiqüitina i proteasomes. Per alguna raó que encara no es coneix, no aconsegueixen degradar-se en el cas de persones velles, mentre que són capaces de destruir-se en els individus joves. De fet, ara s'ha demostrat en animals que els proteasomes de les cèl·lules són defectuosos en aquestes malalties, i un dels objectius principals d'aquesta investigació és descobrir si podem estimular aquesta maquinària de degradació com a tractament potencial.

Finalment, vam continuar intentant reconstituir aquesta degradació selectiva de proteïnes anormals en extractes lliures de cèl·lules i vam descobrir un nou tipus d'enzim: les proteases dependents d'ATP, crucials per a la degradació de les proteïnes mal plegades. De manera sorprenent, va resultar que aquests descobriments bioquímics tan bàsics, als anys vuitanta i noranta, es van poder aplicar en situacions que no ens hauríem pogut imaginar mai. Els avenços revolucionaris en matèria de biologia molecular dels anys setanta i vuitanta van donar lloc a la creació de la tecnologia de l'ADN recombinant i al desenvolupament de mètodes per introduir i expressar gens d'*E. coli* en proteïnes importants des d'un punt de vista mèdic, com ara la insulina. Un dels obstacles principals amb què ens vam trobar a l'hora de produir grans quantitats de proteïnes alienes era que els bacteris les reconeixien com a anormals i les degradaven ràpidament. La informació que vam obtenir sobre la formació d'inclusió, els enzims degradats i les soques mutants d'*E. coli* —la degradació proteica

dels quals era defectuosa— va ser molt útil per produir aquestes proteïnes.

Aquest és un exemple excel·lent dels beneficis imprevisibles de la recerca bàsica. Personalment, gràcies a aquests descobriments em vaig convertir en conseller de companyies biotecnològiques, una funció que vaig trobar intel·lectualment estimulant i que considero una extensió natural de la meva tasca acadèmica.

El descobriment de la ruta ubiqüitina-proteasoma

També vaig decidir estudiar la degradació de proteïnes mal plegades en els reticulòcits, els precursors dels eritròcits, atès que eren molt més senzills i no tenien lisosomes. Vam confirmar que aquestes cèl·lules tan simples duen a terme la degradació selectiva de proteïnes anormals, fet que més endavant va corroborar la meva sospita que hi havia un sistema enzimàtic que encara no coneixíem i que era el responsable d'aquest procés i de la degradació ràpida de proteïnes reguladores molt importants, com ara els enzims limitants encarregats de la regulació dels factors de transcripció o els oncogens, els quals són regulats a través d'una degradació ràpida. El fet de descobrir que la degradació de proteïnes a les cèl·lules animals i bacterianes necessita ATP va ser la clau que ens va permetre trobar aquest nou sistema, ja que era diferent dels processos intracel·lulars catalitzats per enzims coneguts i implicava nous mecanismes bioquímics. Aquest requeriment d'energia, però, va ser l'element més desconcertant perquè, des d'un punt de vista termodinàmic, la hidròlisi de l'enllaç peptídic no el justificava. Cap de les proteases conegudes fins aleshores no necessitava aquest requeriment energètic. Per aquest motiu, vam cercar un sistema semblant en extractes lliures de cèl·lules de reticulòcits i d'*E. coli* i vam ser capaços de demostrar la presència d'un sistema soluble i no lisosòmic (pH neutre òptim) que provocava la degradació selectiva de proteïnes quan es proporcionava ATP. L'anàlisi bioquímica d'aquest sistema es va centrar a entendre les bases moleculars d'aquest requeriment misteriós d'ATP i ho continua fent avui dia.

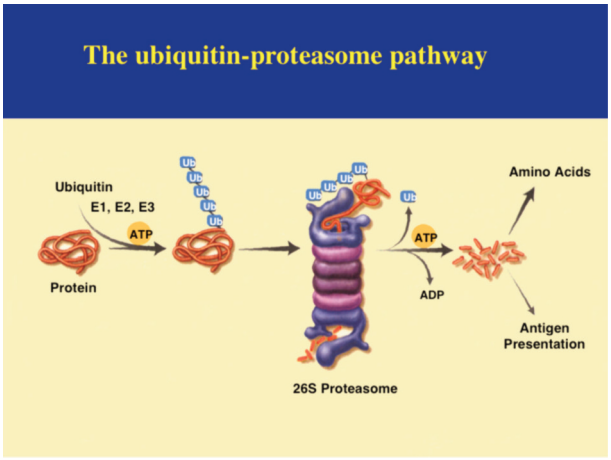
L'anàlisi d'aquest sistema que van fer els nostres competidors Avram Hershko, Aaron Ciechanover i Irwin «Ernie» Rose a Israel i als Estats Units

va comportar un avenç molt important, perquè van descobrir el paper de la ubiqüitina en tot aquest procés; un descobriment pel qual van rebre l'any 2004 el Premi Nobel de Química. Van demostrar que aquest procés de degradació necessitava una proteïna petita que actua com a cofactor i que, posteriorment, altres autors van anomenar *ubiqüitina*. El seu treball fonamental, publicat entre els anys 1979 i 1982, va determinar que l'ATP era necessari per a la unió de la ubiqüitina a les proteïnes, a les quals etiqueta perquè es degradin ràpidament. Aquests investigadors van identificar també tres tipus d'enzims que hi intervenen: l'enzim activador d'ubiqüitina o E1, l'enzim conjugador d'ubiqüitina o E2 i la ubiqüitina:proteïna-ligasa o E3. Ara sabem que les cèl·lules dels mamífers contenen al voltant de vint o trenta tipus d'E2 diferents i més de sis-centes ubiqüitina:proteïna-ligases (E3s), que catalitzen la degradació de diferents proteïnes cel·lulars o en condicionen la funció en unes determinades condicions. Per exemple, n'hem trobades algunes que intervenen específicament en l'atròfia muscular. Així doncs, aquests enzims proporcionen una ruta molt específica cap als processos de degradació i alhora esdevenen dianes susceptibles de ser abordades farmacològicament.

Tanmateix, vam demostrar ràpidament que el procés d'ubiqüitinació no explica de debò el requeriment energètic. En els estudis fets en bacteris, en els quals no hi ha ubiqüitina, vam detectar un nou tipus d'enzim proteolític, essencial per a la degradació de proteïnes anormals. Els bacteris no contenen ubiqüitina, però sí que tenen complexos molt llargs (entre vint i cent vegades la mida de les proteases típiques) que són alhora proteases i ATPases. Finalment, vam descobrir diverses proteolases dependents d'ATP que hidrolitzen ATP i proteïnes en un procés estretament relacionat. Encara estem estudiant aquest tipus d'enzim perquè creiem que podria ser una diana atractiva per als fàrmacs antituberculosos.

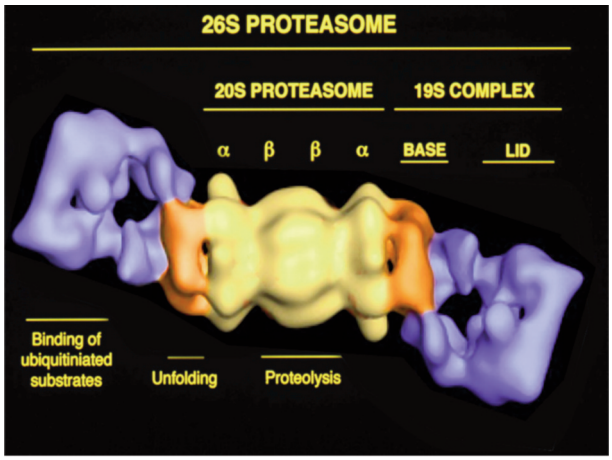
El treball de Hershko i el nostre, per tant, suggerien dues explicacions diferents per al requeriment d'ATP. No obstant això, els estudis fets més endavant van mostrar que els dos mecanismes funcionen en les cèl·lules dels mamífers i que la degradació de proteïnes ubiqüitinades encara requereixen ATP. Finalment, l'any 1987, Rechsteiner i jo mateix vam ser capaços d'isolar d'aquestes cèl·lules un gran complex que degradava les proteïnes ubiqüitinades en un procés dependent d'ATP. Posteriorment el vaig anomenar *proteasoma*, atès que és alhora una proteasa i una partícula. En alguns

aspectes, el proteasoma 26S i les proteases dependents d'ATP bacterianes funcionen a través de mecanismes semblants, malgrat que, durant l'evolució, el mecanisme del proteasoma es va associar al procés d'ubiqüitinació, el qual va dotar les nostres cèl·lules de grans oportunitats per a l'especificitat i regulació de la degradació de proteïnes.



El proteasoma 26s: el lloc principal per a la degradació de proteïnes

Gràcies a la feina de molts investigadors, s'ha après molt sobre les funcions, l'estructura i l'assemblatge del proteasoma 26S. Aquest complex molecular està compost, pel cap baix, per seixanta subunitats, i les proteïnes són degradades pel nucli 20S. Aquest complex, organitzat en quatre anells que s'apilen per formar una estructura en forma de barril, conté tres tipus de llocs catalítics que s'uneixen a diferents tipus d'enllaços peptídics. A cada extrem del nucli catalític 20S hi ha el complex regulador 19S, el qual s'uneix al substrat d'ubiqüitina i té tres enzims que desassemblen la cadena polipeptídica, de manera que l'ubiqüitina es pugui tornar a utilitzar per degradar altres proteïnes.



El complex 19S conté un anell de sis ATPases, que despleguen del substrat de proteïna i el canvi conformacional del canal d'entrada cap al nucli catalític. Els nostres estudis més recents indiquen que la regulació i l'estructura són molt més complexos del que ens pensàvem. Per exemple, la seva maquinària enzimàtica només s'activa quan s'uneix a la proteïna ubiqüitinada adequada i la seva capacitat catalítica disminueix en les malalties neurodegeneratives.

El sentit molecular del desgast muscular

Havíem estudiat el sistema ubiqüitina-proteasoma sense parar atenció que no només elimina proteïnes mal plegades o proteïnes reguladores, sinó que també és la via principal de degradació de la majoria de proteïnes cel·lulars. Hem trobat finalment que el sistema també estava activat i era responsable de bona part de la degradació proteica en l'atròfia muscular. Arran dels grans avenços que vam fer en la comprensió sobre com els gens s'expressen en les cèl·lules dels mamífers, a finals dels noranta, vam poder emprar aquests nous enfocaments per analitzar les bases bioquímiques de la degradació excessiva de proteïnes en totes les condicions que causen l'atròfia muscular. Vam demostrar un programa comú de canvis en l'expressió gènica que condueix a l'acceleració de la degradació de proteïnes; per exemple, els

músculs augmentaven l'expressió de gens per als components clau de la UPS. Per aquest motiu, vam fer la hipòtesi i després vam identificar un conjunt d'aproximadament 120 gens relacionats amb l'atròfia (*atrogens*), l'expressió augmentada o disminuïda dels quals duia a una pèrdua de massa muscular.

També en aquesta època, els biòlegs cel·lulars han fet grans avenços per entendre com les hormones o els factors de creixement alteren el metabolisme cel·lular i l'expressió gènica a través de la fosforilació de proteïnes reguladores importants. Mitjançant l'aplicació d'aquests coneixements sobre el múscul, vam ser capaços d'identificar la cascada de senyals que desencadena la degradació de proteïnes en aquestes diverses condicions. Ara coneixem la família de factors de transcripció específics, anomenats *FoxOs*, que causen que el múscul s'afebleixi i es faci més petit. Per tant, ara tenim una idea molt completa sobre com aquests mecanismes de la malaltia activen els gens per promoure la degradació proteica i la causa de la pèrdua de força i, fins i tot, sobre com l'exercici protegeix d'aquest procés. De fet, per a mi ha estat molt satisfactori poder veure aquest gran seguit d'avenços en un camp en què quan vaig començar la meva recerca amb prou feines es podia dir res amb sentit. Ara considerem aquesta informació com un nucli de coneixement que puc ensenyar als meus estudiants de medicina.

Però encara és més important el fet que la comprensió d'aquests mecanismes ha obert un gran ventall d'oportunitats terapèutiques per millorar la qualitat de vida dels pacients amb càncer o de la gent gran. En molts d'aquests casos, els factors circulants (miostatina o el seu homòleg Activin A) són produïts per càncers que despleguen els gens relacionats amb l'atròfia (atrogens). Nombroses companyies farmacèutiques tenen compostos en assajos clínics que bloquen aquesta senyalització i desgast muscular. Aquests tractaments prometedors són, sens dubte, emocionants. Aquest entusiasme és una de les raons per les quals continuo fent recerca.

El desenvolupament dels inhibidors del proteasoma per al tractament del càncer

Potser l'àmbit en què la nostra feina ha tingut una influència més important ha estat a través del desenvolupament d'inhibidors del proteasoma, que

s'han utilitzat com a fàrmacs en més de 400.000 pacients en el tractament de neoplàsies hematològiques, sobretot en el mieloma múltiple. Tanmateix, han estat també molt útils com a eines científiques que han estat emprades en milers d'estudis per analitzar els diversos papers que té la UPS en la biologia. Recentment he resumit aquesta història (*J. Cell Biology*, 2012, 199, 583-599) i l'he recomanada a tots aquells que estan interessats en el desenvolupament de fàrmacs. Permeteu-me que us en faci un breu resum.

En un principi, per intentar desenvolupar inhibidors del proteasoma, tenia la ingènua esperança que, en inhibir-lo, podríem reduir la degradació excessiva de proteïnes que es produeix en l'atròfia muscular i la caquèxia. Vaig decidir fundar una companyia de biotecnologia perquè no hi havia cap mecanisme dins la universitat que permetés aplegar un grup de científics amb prou experiència en química, bioquímica, farmacologia i medicina per desenvolupar un fàrmac. D'aquesta manera, vaig ser capaç de convèncer un grup talentós de col·legues de Harvard i alguns inversors per ajudar a fundar una petita companyia, anomenada MyoGenics, amb l'objectiu principal de reduir el desgast muscular. (L'altra motivació que em va dur a fer-ho va ser la constatació que els inhibidors selectius serien eines valuoses per abordar el problema de les funcions d'aquesta estructura.)

L'èxit en la producció d'inhibidors va arribar ràpidament. No a través de la detecció de grans obres de química, sinó aprofundint en coneixement bioquímic sobre l'especificitat del nucli catalític més important del proteasoma. Mitjançant la síntesi d'anàlegs amb afinitat pel nucli semblant a la quimotripsina del substrat, vam generar aldehids peptídics, com ara el MG132, que podia penetrar dins les cèl·lules i inhibir la degradació de proteïnes. Vam ser capaços de captar científics molt importants a la companyia, incloent-hi Julian Adams, que va dirigir els nostres esforços en el camp de la química mèdica i va convertir aquests composts inicials en un compost molt més selectiu: el pèptid boronat bortezomib (Velcade).

En col·laboració amb Tom Maniatis, vam demostrar que els inhibidors de proteasoma blocaven l'activació del factor de transcripció, NFkB, el qual té un paper cabdal en les malalties inflamatòries i en la viabilitat de molts càncers. Com que es tractava de dianes terapèutiques ben acceptades i els nostres inhibidors eren efectius contra models de malalties, incloent-hi els càncers, la companyia va canviar el seu focus de la malaltia. El fàrmac bor-

tezomib finalment va entrar en els assajos clínics de fase I contra diversos tipus de càncer. A causa dels efectes devastadors en alguns pacients amb mieloma múltiple (un càncer de les cèl·lules plasmàtiques productores d'anticossos), diversos assajos clínics es van centrar en aquesta malaltia i van dur a l'aprovació ràpida del bortezomib. D'aleshores ençà, nous règims farmacològics i barreges d'altres fàrmacs en les quals s'incloïa també el bortezomib n'han millorat la teràpia. També ha estat aprovat un altre inhibidor del proteasoma, el carfilzomib, i n'hi ha tres més que s'estan assajant en humans.

Malgrat que amb aquesta explicació sembla que aquest projecte ha estat directe i sense problemes, el camí no va ser gens fàcil i, en molts punts, el procés gairebé es va aturar. La nostra empresa es va quedar sense fons, sobretot perquè cap de les grans companyies va pensar que de la inhibició del proteasoma se'n pogués sintetitzar un fàrmac. Els inversors la van vendre per uns quants milions de dòlars, però ara les vendes anuals superen els dos bilions. Ni tan sols els que ens van donar crèdit per tirar endavant el projecte no van predir la sensibilitat especial de les cèl·lules de mieloma. Aquesta mena de càncers són particularment sensibles als inhibidors de proteasoma perquè més del 70 % de les proteïnes que sintetitzen són immunoglobulines anormals, moltes de les quals són dirigides al proteasoma per tal de ser destruïdes. Quan aquest mecanisme de control està blocat parcialment, aquestes proteïnes anormals s'acumulen fins a assolir nivells tòxics. A més, la viabilitat de les cèl·lules de mieloma depèn especialment del factor NFkB, la producció del qual bloquen aquests compostos. No obstant això, tots aquests coneixements sobre el mecanisme es van descobrir més tard a través de diferents estudis en què s'usaven els inhibidors de proteasoma. De fet, aquestes substàncies van permetre molts avenços científics importants. Per exemple, tan bon punt van estar disponibles l'any 1994, vam ser capaços de demostrar que el proteasoma era l'element cel·lular més important per a la degradació de proteïnes i també un dels antígens (peptídics) principals de la superfície cel·lular i que el sistema immunitari utilitza per detectar virus i càncers. El punt més important, però, és que el progrés biològic i els avenços mèdics van junts i que la recerca bàsica i aplicada no són gaire diferents.

Finalment, moltes gràcies

Gràcies a tots una altra vegada per aquest gran honor, però volia dir-vos que reconeixent la meva feina realment esteu reconeixent la feina de molts científics joves que han vingut a fer pràctiques al meu laboratori i que han dut a terme la majoria d'aquests descobriments. Per a mi ha estat molt gratificant veure com molts d'aquests estudiants de pràctiques han fet aportacions importants a la ciència. Ells, juntament amb la meva dona, la doctora Joan Goldberg, a qui agraeixo la seva comprensió al llarg dels anys, realment han fet possible aquests avenços. La ciència és un esforç d'equip i, encara que jo hagi iniciat el projecte o l'hagi guiat, sempre estic creant coneixement a partir de conceptes, fets o mètodes desenvolupats per investigadors anteriors. El coneixement biomèdic és una piràmide i fins i tots els investigadors que fan descobriments amb més impacte només estan generant una petita part del conjunt. Us estic molt agraït per haver reconegut la petita aportació que hem fet les persones que han treballat amb mi i jo mateix.

Rector,
Dignitaries from academia and government,
Colleagues and students,
Ladies and gentlemen,

I am very grateful to the University of Barcelona and to Professor Argiles for this singular honor, this recognition of my life's work, and the warm hospitality that we have received. One certainly does not pursue a scientific career in search of honors, but they are truly wonderful to receive.

I have been very fortunate in my career to have been able to contribute both to our basic knowledge about how cells and organisms function and to some of the basic findings that have led to new therapies to alleviate human disease. Today I'd like to tell you about some of the key insights gained, and how they were made. Most of my research for over 40 years has concerned, directly or indirectly, the degradation of proteins in cells. With the introduction of isotopic tracers in the 1940s and 1950s, it became clear that the proteins in our cells are highly dynamic. These proteins are not just made during periods of growth, but even in us non-growing adults, they are continually being synthesized from amino acids, and at different rates they are being completely degraded back to their constituent amino acids. (Figures.)

One does not have to be a biologist to realize that this continual breakdown of cell constituents raises many questions.

1) Why do cells engage in this seemingly wasteful process of destroying proteins, which are expensive to synthesize and to fold up correctly? At first glance, this degradation of proteins which are difficult to make seems highly wasteful and not the kind of thing that evolution would favor, unless it provided strong selective advantage...
2) Where in the cell are proteins being destroyed?
3) How does this process actually take place and by what enzymes? Breaking down the constituents of cells can be very dangerous, and

if it is nonspecific or unregulated, the results can be terrible. The machinery required for protein breakdown in cells has to very different from the kinds of nonspecific unregulated degradative enzymes biochemists had previously studied: the proteolytic enzymes in our pancreas that completely destroy the cells in our steak dinner, or the red cells inside a macrophage. Within our cells, protein destruction must be exquisitely selective because different proteins are degraded at very different rates, and certainly this process must be so selective enough not to destroy cell architecture and function.

4) This continual degradation of cell proteins also raises many regulatory possibilities. It means that cells can raise their content of a specific protein by either enhancing its expression or slowing its destruction; and at the whole cell or tissue level, it means that cells can get smaller by slowing the production of new proteins or by enhancing protein degradation generally.

So let me tell you about how this process actually occurs. For a long time it was a neglected field, mainly because it was not believed to be very important physiologically and it lacked the broad interest and "sex appeal" inherent in studying gene expression leading to protein synthesis. I actually became interested in this phenomena when I was officially a medical student at Harvard Medical School, taking time off to do research, actually in the same building where I have worked for almost 50 years. However, I was certainly not a typical medical student. I had become particularly intrigued by science and aspects of biology and chemistry before university. I had won a number of state and national Science Fair competitions, where high school students did individual projects. My interest in science was reinforced when I was an undergraduate at Harvard College, by the special opportunities that opened up for me. One exciting summer I was one of a few undergraduates chosen to do a research project at Cold Spring Harbor Laboratories, where the excitement of molecular biology filled the air. To graduate with honors from Harvard, one had to do a research project, and I was able to do mine in the laboratory of James Watson, who revolutionized biology by solving the structure of DNA. I had gotten to know Jim mainly because I had asked many questions after his lectures, and he invited me to join his lab. When I published my first paper on that work,

it was certainly of no consequence for science; but the opportunity for an 18- or 19-year-old to experience contact with some of the great figures of modern biology was certainly stimulating and seductive. Watson received the Nobel Prize during my first summer in the lab, as did two of my fellow trainees in later years. Also after college I was selected as a Churchill Scholar to study science at Cambridge University, where I actually decided to study mammalian physiology. These exciting experiences also brought me closer to a number of great scientific minds and the realization that some problems were of real importance to work on, and some were not.

However, I was torn between the fast-paced excitement of molecular biology and the poorly understood world of physiology and medicine—and I still face these divided interests 50 years later. So I returned to the United States and became a medical student at Harvard. Although it provided me with a solid foundation in conventional biology and in disease, I quickly became bored with the medical aspects; and with much encouragement from certain faculty, it became possible for me to do independent research and, after two years, to go on leave of absence to pursue certain questions in depth. Fifty years later, I am still officially a medical student on leave of absence. In the meantime, I received a PhD for my efforts and was invited to join the faculty at Harvard, where I have continued to pursue some of the same questions at the physiological level, focusing on their molecular mechanisms.

From muscle atrophy to protein breakdown

My entry into the study of protein breakdown came from my physiological studies as a student, investigating how muscles get smaller if they are not used. No one seemed to know how muscles got smaller, and it seemed to be a simple problem of how inactivity reduced protein synthesis, or so I thought. The next slide shows some data I obtained almost 50 years ago. When I severed the sciatic nerve in the hind leg of a young rat, the muscles stopped growing, as one would expect (meaning that the stopped accumulating protein), and within days these muscles much smaller than those on the other leg. However, when I then measured protein synthesis in the growing and atrophying muscles, to my surprise, the rates of synthesis were

the same. Why these muscles should lost weight was a mistery. The only explanation was that the proteins in the muscle were being degraded much faster, and I was able to design pulse-chase methods to show that the loss of weight with disuse and also during fasting was due to a general acceleration of protein breakdown. These observations were the first evidence that overall rates of protein breakdown in a tissue were regulated, a process we and others are still trying to understand at the biochemical level.

On a personal level, these findings were enough to convince me of the importance of understanding how protein breakdown actually occurs in cells and how it might be regulated. These issues were more interesting than anything I would have done if I had returned to medical school. So one year later, when I became faculty, I decided to focus on exploring the mechanisms of protein breakdown. Although most of my lab concentrates on simpler systems, to this day part of our work focuses on the regulation of protein breakdown in muscle, although each yearour levels of analysis become more mechanistic and molecular. To understand a process, one really has to be able to measure it, which has always been difficult in this area. In the early 1970s, we described some simple methods to measure overall rates of protein breakdown in rodent muscles maintained in vitro under defined conditions. These studies showed that overall rates of protein breakdown, were suppressed by insulin and, conversely were activated in a variety of physiological or disease-like conditions when muscle lost weight because of inactivity, untreated diabetes, renal failure, sepsis (or AIDS), and especially in cancer, when muscle protein degradation generally accelerates (SLIDE). This loss of muscle protein in cancer has been the area where Professor Argiles has made many important contributions.

Moreover, it became clear that this excessive protein breakdown in muscle was an adaptation to stressful conditions. Muscle is our main reservoir for proteins, and the breakdown of muscle protein is a carefully programmed response that has evolved as a response to starvation (low insulin levels or stress hormones) to provide the organism during fasting and disease with a supply of amino acids to make glucose for the brain or new proteins (e.g., for wound repair). Although at the present time physicians have no clear means of preventing this progressive loss, clinical trials are currently being conducted to test a number of drugs for their very interesting capacity to maintain strength despite the disease process.

The selective degradation of misfolded proteins

To me personally and despite their medical and physiological relevance, these studies on muscle were basically unsatisfying because they were still descriptive and did not explain what was happening within the cells themselves. At that time, virtually nothing was known about the mechanisms for this process in cells. This question was clearly an important one, although largely ignored by biologists, and to me it was far more interesting than returning to medical school, and probably worth devoting one's life to. Therefore, when I started my own laboratory in 1969, although I continued to study muscle, I decided to focus my research on answering some of the more fundamental biochemical questions about this degradative pathway; and the laboratory did this through studies in simpler cells, initially Escherichia coli and then mammalian reticulocytes, which offered many experimental advantages.

In those days it was naively assumed by biologists, like myself, that if one understood E. coli, one could understand our cells. This is certainly not true. They also seemed to be an excellent place to study protein degradation because bacteria lacked lysosomes. In the 1960s, it was believed that mammalian cells contained proteolytic enzymes only in vesicles called lysosomes, which could digest proteins if somehow the proteins in our cells could get into them (the process we now call autophagy). However, I was convinced that these organelles could not account for the extreme selectivity of intracellular proteolysis, and bacteria lacked lysosomes. At that time the system of bacteria was a strange one to study, because it was taught that growing bacteria do not degrade their own proteins, but do so when starved. So I initially focused on how the breakdown of normal proteins was activated in cells deprived of key nutrients, because it resembled the responses I had uncovered in atrophying muscle.

But I went on to investigate the more general question of why cells destroy their own proteins. One possible reason was that this process might remove misfolded or damaged proteins, whose accumulation might be toxic. I was able to show that although normal proteins are very stable in growing cells, if they fail to fold normally, they are degraded within minutes. These experiments proved that protein breakdown serves as a quality control process. In those days, we only had primitive methods to generate mis-

folded proteins. For example, we fooled the bacteria by feeding them analogs of the natural amino acids, which were incorporated in place of the normal residues, but did not allow proper folding, or we used strategies that caused cells to make errors in protein synthesis or cause premature termination of proteins. Such incomplete or misfolded proteins were degraded rapidly, and we made the surprising discovery that this process required cellular energy, or ATP.

Incidentally, there are now thousands of examples where protein breakdown is important in preventing the buildup of misfolded proteins in the nucleus, cytoplasm or even organelles like the endoplasmic reticulum. Because this process is so efficient, we are able to live many years even though inside cells, proteins are constantly getting damaged or denatured. Many types of mutations and errors can occur in protein production in the harsh environment of the cell (e.g., from oxygen radicals) and protein breakdown is therefore critical in cell defense. This is probably the most fundamental reason why these mechanisms evolved and are essential for life. In human cells this process continues to combat many dominant protein folding diseases and too vigilant destruction of the mutant protein actually causes others (e.g. Cystic Fibrosis.). One very important discovery 40 years ago was that such abnormal proteins tend to aggregate and form small intracellular inclusions before being rapidly degraded. This is an important process in major neurodegenerative diseases like Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amylotrophic Lateral Sclerosis, where misfolded proteins accumulate and form aggregates, and tend to be associated with key components of the degradative machinery: ubiquitin and proteasomes. For reasons that are not clear they fail to be degraded in elderly people but are successfully destroyed in younger individuals. In fact, we now have very strong evidence in animal models that the cell's proteasomes become defective in these diseases, and a major goal of our present research is to stimulate this degradative machinery as a potential treatment.

Eventually, we went on to reconstitute this selective degradation of abnormal proteins in cell-free extracts and discovered a new type of enzyme: ATP-dependent proteases. These are large compartmental proteases that are critical in degrading misfolded proteins. Surprisingly, these very basic biochemical findings had major practical applications in the 1980 and 1990s in ways that we had never anticipated. The revolutionary advances in molec-

ular biology in the 1970s and 1980s led to the formation of recombinant DNA technology and the development of methods to introduce and express in E coli genes for medically important human proteins, like insulin. A major barrier encountered in producing large amounts of foreign proteins is that they were recognized as abnormal by the bacteria and were rapidly degraded. The information we had obtained about inclusion formation, the degradative enzymes and mutant E. coli strains that we showed to be defective in protein breakdown have been widely used to produce such proteins. It is an excellent example of the unpredictable benefits of basic research. Personally, these developments also meant that I became involved as an adviser to biotech companies, a role that I have found intellectually stimulating and that has become a natural extension of my academic activities.

Discovery of the ubiquitin proteasome pathway

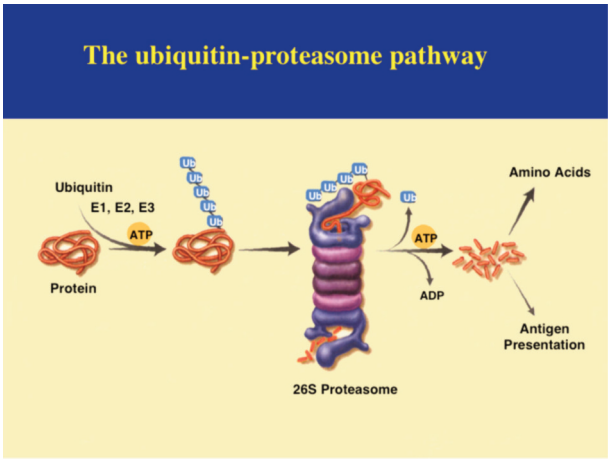
I also decided to study the degradation of misfolded proteins in reticulocytes, the precursors to red cells, because of their simplicity and lack of lysosomes. We confirmed that these simple cells carry out the selective degradation of abnormal proteins; and this further confirmed my belief that an unknown enzyme system was actually responsible for this process and for the rapid degradation of many crucial regulatory proteins, such as rate-limiting enyzmes or transcription factors, or oncogenes, all of which are regulated through rapid degradation. The breakthrough came with our finding that protein breakdown in animal and bacterial cells required ATP, which clearly distinguished the intracellular process from known enzymes and implied novel biochemical mechanisms. This energy requirement was at the time most puzzling, because there was clearly no thermodynamic necessity for energy to support peptide bond hydrolysis. None of the known proteases had such a requirement. We therefore searched for such a system in cell-free extracts of reticulocytes and E. coli, and were able to demonstrate a soluble, non-lysosomal (neutral pH optimum) system that carried out the selective degradation of abnormal proteins when provided ATP. The biochemical dissection of this system focused on understanding the molecular basis for this mysterious ATP requirement and continues to this day.

A very important advance came from the analysis of this degradative system by our competitors, Avram Hershko, Aaron Ciechanover, and Irwin "Ernie" Rose in Israel and the US, who discovered the involvement of ubiquitin in this pathway (for which they received the Nobel Prize in Chemistry in 2004). They demonstrated that the degradative process required the small protein cofactor, subsequently identified by others to be ubiquitin. Their seminal work between 1979 and 1982 established that ATP was necessary to link ubiquitin to protein substrates, which marks them for rapid degradation. They also identified the three types of enzymes that are involved in the activation (E1), transfer (E2), and ligation (E3) of the ubiquitin to the substrate. We now know that mammalian cells contain at least 20–30 different E2s and over six hundred ubiquitination ligases (E3s), which catalyze the degradation of different cell proteins or function under special conditions. For example, we have found ones specifically functioning in muscle atrophy. These enzymes thus provide exquisite selectivity to this degradative pathway and hold enormous promise as very attractive drug targets.

However, we soon showed that ubiqutination does not really explain the energy requirement. In our studies in bacteria, which lack ubiquitin, we discovered a new type of proteolytic enzyme which is critical for degradation of abnormal proteins. Bacteria do not contain ubiquitin, but they do contain large complexes (20–100 times the size of typical proteases) that are both proteases and ATPases. We eventually discovered several such ATP-dependent proteolases, which hydrolyze ATP and proteins in a linked process. Incidentally, we are still studying one such enzyme, because we believe it could be an attractive target for drugs against tuberculosis.

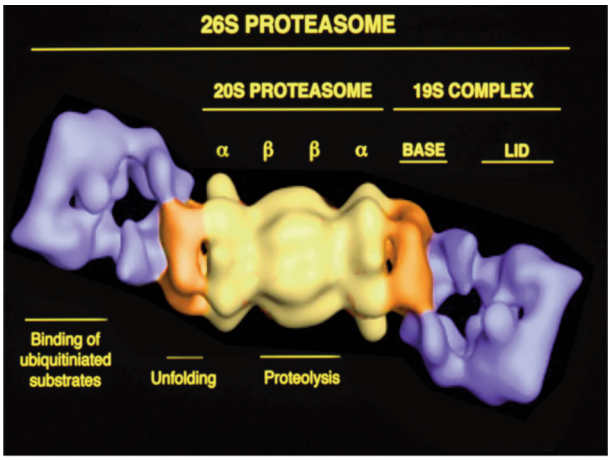
Our work and Hershko's thus initially suggested two very different explanations for the ATP requirement. However, our subsequent studies showed that both mechanisms function in mammalian cells and that the degradation of ubiquitinated proteins still requires ATP. Finally, in 1987, Rechsteiner's laboratory and my own were able to isolate from these cells a huge complex that degraded ubiquitinated proteins in an ATP-dependent manner. I subsequently named it the proteasome, because it is both a protease and a particle. In some respects 26S proteasome and bacterial ATP-dependent proteases function through similar mechanisms, although during evolution, the proteasome mechanism became linked to ubiquitination,

which clearly provided our cells with enormous opportunities for great selectivity and regulation of protein degradation.



The 26s proteasome: the main site for protein breakdown

Thanks to the work of many investigators, much has been learned about the functions, structure, and assembly of the 26S proteasome. This complex molecular machine contains at least 60 subunits, and proteins are broken down within the core 20S proteasome. This hollow, barrel-shaped, 4-ring structure contains three types of active sites which cleave different types of peptide bonds. At either end of the 20S particle is the 19S regulatory complex, which binds the ubiquitinated substrate and has three enzymes that disassembles the chain, so that the ubiquitins can be reutilized in degrading other proteins.



It contains a ring of six ATPase molecules, which unfold the protein substrate and translocate through the entry channel into the core particle. Our most recent studies indicate that the proteasome is a much more tightly regulated and sophisticated structure than we had believed. For example, its enzymatic machinery becomes activated only when it binds an appropriate ubiquitinated protein, and its functional capacity decreases in neurodegenerative diseases.

Molecular understanding of muscle wasting

We originally studied the ubiquitin proteasome system without realizing that it not only eliminates misfolded or regulatory proteins, but is also the major pathway for the degradation of the bulk of cell proteins. Eventually we found that this system was also activated and responsible for most of the degradation in muscle atrophy. Because enormous advances were made in understanding how genes are expressed in mammalian cells, by the late 1990s we could employ these new approaches to analyze the biochemical basis for this excessive protein breakdown in all these conditions that cause muscle atrophy. We demonstrated a common program of changes in gene expression leading to an acceleration in protein degradation. For example, the muscles increased the expression of genes for key components of

the UPS. Therefore, we hypothesized and then identified a set of about 120 atrophy-related genes, or atrogenes, whose expression increased or decreased similarly in these diverse wasting conditions leading to muscle wasting.

By this time, enormous advances had also been made by cell biologists in understanding how hormones or growth factors alter cell metabolism and gene expression through the phosphorylation of key regulatory proteins. By applying these insights to muscle, we were able to identify the signalling cascade that triggers the enhanced protein breakdown in these diverse conditions. We now know the specific family of transcription factors, termed FoxOs, which cause muscle to decrease in size. Thus, we now have a very clear picture of how these disease mechanisms activate genes to promote breakdown and cause loss of strength, and even how exercise protects against this process. It has indeed been satisfying for me to witness so many advances in an area where nothing interesting could be said when I first began my research. Now this information is considered core knowledge that I can teach to our medical students.

Even more importantly, understanding these mechanisms has opened up therapeutic opportunities to improve the quality of life of cancer patients and of the aged. In many of these conditions, circulating factors (Myostatin or its homolog Activin A) are produced by the cancers that trigger the atrogene program and muscle atrophy. Several pharmaceutical companies now have agents in trials that block this signaling and the muscle wasting. These very promising treatments are indeed exciting. This excitement is one of the reasons why I continue to do research.

Development of proteasome inhibitors for treatment of cancer

Perhaps the area where our work has had its broadest influence is in our development of proteasome inhibitors, which have now been used as drugs for the treatment of over 400,000 patients with hematological malignancies, primarily multiple myeloma. However, they have also been extremely useful as scientific tools used in thousands of studies to dissect the diverse

roles of the UPS in biology. I recently summarized this story (J. Cell Biology, 2012, 199, 583-599), and recommend it to anyone interested in drug development. Let me quickly summarize our development of proteasome inhibitors.

My original rationale for trying to make proteasome inhibitors was the naïve hope that by partially inhibiting the proteasome, we could reduce the excessive protein degradation during muscle atrophy and cachexia. I decided to found a biotech company because there was no mechanism within the university to bring together a group of scientists with the expertise they needed in chemistry, biochemistry, pharmacology, and medicine to develop a drug. So I was able to convince a talented group of Harvard colleagues and some venture capitalists to help found a small company, optimistically named MyoGenics, with the initial prime goal of reducing muscle wasting. (My other motivation was the realization that selective inhibitors would be valuable tools to problem the functions of this structure.)

Success in producing inhibitors came rapidly, not through screening enormous chemical libraries but by building on simple biochemical knowledge about the specificity of the proteasome's main active site. By synthesizing analogs of the preferred substrate of its chymotrypsin-like site, we generated peptide aldehydes, like MG132, that could enter cells and potently inhibit protein breakdown. We were able to attract some very important scientists to the company, including Julian Adams who led our medicinal chemistry efforts, and we were able to convert these initial compounds into the much more selective agent, the peptide boronate Bortezomib/Velcade.

In a collaboration with Tom Maniatis, we showed that the proteasome inhibitors, blocked the activation of the transcription factor, NFkB, which was critical in inflammatory diseases and for viability of many cancers. Because these were well accepted drug targets and our inhibitors were effective against disease models (including cancers), the company changed its disease focus. Bortezomib eventually entered Phase I trials against various cancers. Because dramatic responses were seen in some patients with Multiple Myeloma (a cancer of the antibody-producing plasma cells), further clinical trials focused on that disease and led to Bortezomib's rapid approval. Since then, new drug regimens and cocktails combining Bortezomib with other agents have improved therapy. Another proteasome

inhibitor, Carfilzomib, has also been approved, and three others are in human trials.

My coverage here has made our progress seem direct and untroubled. In fact, the path was a difficult one, and at many points its development almost stopped.

Our company ran out of funds, mainly because none of the larger companies thought that inhibiting the proteasome could be a drug. Our company was sold by the venture capitalists for a few million dollars, but now annual sales are more than 2 billion dollars. Even those of us given credit for it did not predict the special sensitivity of myeloma cells. These cancers are particularly sensitive to proteasome inhibitors, because over 70% of the proteins they synthesize are abnormal immunoglobins, many of which are targeted to the proteasome for destruction. When this quality control process is partially blocked, such abnormal proteins accumulate to toxic levels. In addition, myeloma cell viability depends especially on NFkB, whose production is blocked by these agents. But these mechanistic insights were only gained later through studies using proteasome inhibitors. In fact, these agents enabled many key scientific advances. For example, as soon as they became available in 1994, we were able to demonstrate that the proteasome was the major site for protein breakdown in cells and also the primary source of the antigenic peptides presented on cell surface and used by the immune system to screen for viruses and cancers. The important point is that biological progress and medical advances go hand-in-hand, and that basic and applied research are not that distinct.

Finally. Moltes gràcies

Thank you again for this great honor, but in honoring me, you are really honoring the many young scientists who have come to my lab for training and who made most of these discoveries. It has been truly rewarding to see many of these trainees go on to make their own important contributions to knowledge. They and my wife Dr. Joan Goldberg, through her special understanding over the years, have really made these advances possible. Science is a team effort, and even if I may have initiated a project or guided it, I am always building on the wealth of concepts, facts, and methods devel-

oped by prior investigators. Biomedical knowledge is a pyramid and even those investigators whose work has a major impact, are only providing a small part of the construct. Thank you very much for honoring the small contribution that my colleagues and I have made.


Universitat de Barcelona

Publicacions i Edicions