

Premis Nobel 2012

EL PREMI NOBEL DE QUÍMICA 2012

En la concessió dels Premis Nobel de l'any 2012 es va produir un fet que ja s'havia donat en altres convocatòries anteriors: les persones guardonades amb el Premi Nobel de Química podien perfectament haver rebut el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina. Doncs la recerca per ells desenvolupada ha tingut una repercussió excepcional en el desenvolupament d'àrees fonamentals de la moderna Biomedicina. Per això, en els articles que segueixen es comenten els premis corresponents a les dos àrees del coneixement esmentades.

Josep Saura

Doctor en Ciències Biològiques. Professor Agregat de la Unitat de Bioquímica i Biologia Molecular, Departament de Ciències Fisiològiques I, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona

Hi ha preguntes que ens informen de l'edat de qui contesta a partir de la seva resposta. Si a un metge li fem la pregunta "Li van explicar els receptors acoblats a proteïnes G durant la carrera?" i la seva resposta és No, podem deduir que segurament va fer la carrera abans de 1990 i per tant molt probablement té més de 40 anys. I és que els descobriments en els anys 80 sobre aquests receptors van fer que aquestes molècules fossin introduïdes amb entusiasme en els plans d'estudi de les facultats de Medicina i Biologia d'arreu del món. Responsables principals d'aquest entusiasme foren Robert Lefkowitz i Brian Kobilka, guardonats enguany amb el Premi Nobel de Química pels seus treballs sobre els receptors acoblats a proteïnes G. No es tracta d'un premi atorgat per reconèixer una idea genial o un descobriment trencador. En aquest cas el premi reconeix una molt sòlida carrera investigadora, desenvolupada al llarg de més de 40 anys, en la que trobem una sèrie ininterrompuda de treballs molt meritoris juntament amb 3 ó 4 descobriments realment cabdals que han suposat una empena decisiva en el camí cap a la comprensió de l'estructura molecular i la funció d'aquests receptors, absolutament essencials en la majoria de processos fisiològics.

ELS ANYS INICIALS DE LEFKOWITZ

Robert J Lefkowitz va néixer el 1943 a New York. Llicenciat en Medicina per la universitat de Columbia, va iniciar la seva carrera investigadora al NIH (1967-70), que va continuar al Massachusetts General Hospital (1970-73) per incorporar-se al 1973 a la universitat de Duke on ha dut a terme la seva activitat científica des d'aleshores.

Quan Lefkowitz inicia la seva carrera hi ha evidències experimentals de que estímuls extracel·lulars que no travessen la membrana plasmàtica poden provocar canvis intracel·lulars, però malgrat molts esforços no s'aconsegueix identificar qui són, com són els elements capaços de fer aquesta transducció, els elusius receptors dels senyals extracel·lulars. L'eminent farmacòleg americà Raymond Ahlquist que a finals dels anys 40 havia caracteritzat amb eines farmacològiques els receptors α - i β -adrenèrgics expressava al 1973 el seu escepticisme sobre la realitat física d'aquests receptors: "Per a mi [els receptors α - i β -adrenèrgics] són un concepte abstracte, concebut per a explicar els efectes observats en els teixits en resposta a diversos tipus de molècules" (Ahlquist, 1973). En els seus primers anys de carrera investigadora Lefkowitz va ser pioner en utilitzar molècules marcades radioactivament, els radiolligands, per a caracteritzar la unió lligand-receptor, estudiant primer els receptors de corticotropina i poc després els receptors adrenèrgics, un tema central al llarg de tota la seva carrera. A Lefkowitz li devem els primers estudis d'unió de radiolligands o "binding", una tècnica que va suposar una autèntica revolució en l'estudi de tot tipus de receptors i de fàrmacs, encara vigent 40 anys després. Fruit d'aquests estudis Lefkowitz i els seus col·laboradors van proposar el model de complex ternari dels receptors β -adrenèrgics (Lean et al, 1980), una aproximació teòrica al funcionament dels receptors acoblats a proteïnes G, formulada abans de conèixer tots els elements d'aquest complex, i que els resultats obtinguts posteriorment han validat.

L'ús dels radiolligands va permetre a Lefkowitz obtenir un dels seus resultats més espectaculars, la solubilització i l'aïllament per primera vegada del receptor adrenèrgic β_2 (Benovic et al, 1984), tremendament meritòria des d'un punt de vista tècnic tenint en compte la baixa concentració d'aquest receptor en els teixits i les eines utilitzades. L'aïllament dels diversos receptors adrenèrgics va anar seguit per

experimentos de reconstitució dels receptors aïllats en cèl·lules mancades d'aquests receptors que aleshores es tornaven responsives al lligand corresponent. Aquests experiments demostraven inequívocament l'existència física dels receptors com a molècules transductores dels senyals extracel·lulars en efectes intracel·lulars. Ahlquist podia dormir tranquil, els receptors existien.

WHEN KOBILKA MET LEFKOWITZ

El 1984 Brian Kobilka, nascut el 1955 a Little Falls, Minnesota, i llicenciat en Medicina per la universitat de Yale, s'incorpora com a "post-doc" al laboratori de Lefkowitz on s'embarca en l'arriscat projecte de clonar els gens dels adrenoreceptors. La prèvia purificació d'alguns d'aquests receptors en el grup de Lefkowitz els permet seqüenciar petits pèptids a partir dels quals dissenyen oligonucleòtids degenerats amb els que intenten trobar el fragment del genoma responsable de la síntesi d'aquells pèptids i per extensió el gen sencer. Són temps heroics on calen noves idees i molt enginy, però l'esforç es veu recompensat i en un parell d'anys, 1986-88, descriuen el clonatge de diversos receptors adrenèrgics i serotoninèrgics humans i d'altres espècies (Dixon et al, 1986). El clonatge els permet desxifrar l'estructura primària de la proteïna i aquí arriba un dels moments segurament més excitants de les seves carreres. Observen que aquests receptors tenen una estructura amb 7 hèlix hidrofòbiques molt similar a la rodopsina, seqüenciada un any abans. Per aquell temps ja s'ha descrit que molts receptors exerceixen els seus efectes a través de proteïnes G. El fet de que tant els receptors clonats per Kobilka i Lefkowitz com la rodopsina estiguin acoblats a proteïnes G heterotrimeriques els porta al descobriment d'una gran família de receptors amb una estructura molecular i un mecanisme de transducció comú, els receptors acoblats a proteïnes G (GPCR) també anomenats receptors amb 7 dominis transmembrana (7TM). El temps ha demostrat l'extraordinària importància d'aquesta família de receptors. El genoma humà codifica per a més de 800 receptors diferents d'aquesta família, és a dir suposen aproximadament el 4% dels gens que codifiquen per proteïnes en el nostre genoma. Aquest tipus de receptors són la diana del 30-40% dels fàrmacs utilitzats en l'actualitat la qual cosa es deu a que molts dels receptors de les principals hormones i neurotransmissors pertanyen a aquesta família i són també receptors acoblats a proteïnes G molts dels receptors visuals, gustatius i olfactius. És interessant remarcar l'existència de nombrosos receptors orfes, és

a dir, sense un lligand endogen conegut.

LES CARRERES INDEPENDENTS

L'any 1989 Kobilka s'independitza i crea el seu propi grup al Howard Hugues Medical Institute de la universitat de Stanford on ha dut a terme la seva carrera investigadora fins a l'actualitat. Des de la marxa de Kobilka els dos grups de recerca han continuant treballant en la biologia dels receptors acoblats a proteïnes G, el grup de Lefkowitz més centrat en el mecanisme de transducció i el grup de Kobilka en aspectes més estructurals. Ambdós grups han estat capdavanters en el camp, però les col·laboracions científiques entre els dos han estat molt esporàdiques, tot i mantenir Lefkowitz i Kobilka una bona relació personal

El grup de Lefkowitz ha mantingut un nivell de producció enorme, Lefkowitz és autor de més de 700 articles. Entre altres fites, ha estat pioner en elucidar els mecanismes moleculars de dessensibilització dels receptors acoblats a proteïna G. Així, ha identificat diverses quinases d'aquests receptors (GRK) que fosforil·len el receptor quan aquest es troba activat per efecte de l'agonista. Això permet la unió d'una segona classe de proteïnes, les arrestines, descobertes també per Lefkowitz i els seus col·laboradors (Lohse et al, 1990) que han demostrat a més que la unió de les arrestines al receptor fosforil·lat facilita la dessensibilització del receptor per mecanismes diversos com ara l'impediment de la unió de la proteïna G al receptor, el reclutament d'enzims que degraden segons missatgers o el reclutament de la maquinària molecular que indueix l'endocitosis del receptor. Un altre descobriment important de Lefkowitz en els últims anys ha estat l'existència de mecanismes de transducció en aquests receptors que són independents de proteïna G (Luttrell i Lefkowitz, 2002) per la qual cosa alguns autors prefereixen la denominació 7TM (receptor amb 7 dominis transmembrana) a GPCR (receptors acoblats a proteïna G).

Per la seva banda Kobilka ha dirigit una línia de recerca centrada en desxifrar els detalls estructurals que acompanyen els canvis conformacionals en l'activació dels receptors acoblats a proteïna G. Ha publicat més de 150 articles, la majoria d'ells com a investigador principal. Tot i això, la seva carrera científica es troba segurament en un dels moments de màxima creativitat. L'any passat va aconseguir mostrar, mitjançant

experimentos de cristal·lografia de raigs X, l'estructura amb alta resolució del receptor $\beta 2$ adrenèrgic humà en estat activat, és a dir, en el precís instant en el qual l'agonista s'ha unit al receptor i això ha permès la unió de la proteïna G heterotrimèrica (Rasmussen et al, 2011). En condicions fisiològiques aquest complex ternari és tremendament inestable. Una combinació d'estratègies bioquímiques assolides amb gran perseveració al llarg de més d'una dècada ha permès l'estabilització del complex per assolir-ne el grau necessari de puresa per a la seva cristal·lització. El resultat, qualificat per alguns com a un Sant Greal, és una imatge que parla per sí sola, una imatge que molts estudiants de medicina nascuts després del 1994 veuran a les classes de Biologia Molecular, si més no a les meves. Aquesta imatge mostra com la unió de l'agonista al receptor provoca un desplaçament en una de les hèlix transmembrana del receptor la qual cosa obra una butxaca hidrofòbica en la part intracel·lular del receptor. Això permet la unió de la subunitat $G\alpha$ a aquesta butxaca i l'activació de la proteïna G heterotrimèrica. Novament, la mestria tècnica de Kobilka i Lefkowitz han obert una porta fins ara tancada. Com va passar amb els experiments d'unió de radiol·ligands, amb la solubilització i aïllament de receptors o amb el clonatge de receptors, aquests experiments serviran per a que investigadors de tot el món apliquin aquestes noves eines i estratègies a l'estudi de tot tipus de receptors. De fet, només en el primer semestre de 2012, el grup de Kobilka ha publicat 4 articles a la revista *Nature* on descriuen mitjançant aquesta estratègia l'estructura amb alta resolució de diversos receptors opioides i muscarínics activats.

UN PREMI MERESCUT

En resum, es tracta d'un premi Nobel indubtablement merescut, atorgat a dos científics infatigables i fascinants. Robert Lefkowitz, amb un inici fulgurant, home extravertit i líder, considerat per molts l'autèntic pare del camp dels receptors acoblats a proteïnes G (Williams, 2010), mentor de moltes de les figures actuals. I Brian Kobilka, un corredor de fons, perseverant, genial en les seves innovacions tècniques, més introvertit, però molt apreciat pels seus col·legues com ho demostra la declaració del professor Anthony Watts de la universitat d'Oxford "Aquest Nobel no havia pogut anar a una millor persona". Gràcies a l'esforç i el geni d'aquests dos investigadors coneixem avui molt més bé com són, com s'activen i inactiven i com estudiar els receptors acoblats a proteïnes G, fonamentals en tota mena de processos fisiològics, des de la visió, al batec

cardíac, des de la contracció muscular a la memòria. Només el coneixement científic sòlid com l'aportat per Lefkowitz i Kobilka ens permetrà imaginar noves estratègies terapèutiques per a intentar solucionar disfuncions en qualsevol d'aquests processos.

REFERÈNCIES

- Ahlquist RP (1973) Adrenergic receptors: a personal and practical view. *Perspect Biol Med* 17: 119–122.
- Benovic JL, Shorr RG, Caron MG, Lefkowitz RJ (1984) The mammalian beta 2-adrenergic receptor: purification and characterization. *Biochemistry* 23: 4510-8.
- De Lean A, Stadel JM, Lefkowitz RJ (1980) A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 255: 7108-17.
- Dixon RA, Kobilka BK, Strader DJ, Benovic JL, Dohlman HG, Frielle T, Bolanowski MA, Bennett CD, Rands E, Diehl RE, Mumford RA, Slater EE, Sigal IS, Caron MG, Lefkowitz RJ, Strader CD (1986) Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 321: 75-9.
- Lefkowitz RJ (2007) Seven transmembrane receptors: a brief personal retrospective. *Biochim Biophys Acta* 1768: 748-55
- Lohse MJ, Benovic JL, Codina J, Caron MG, Lefkowitz RJ. beta-Arrestin: a protein that regulates beta-adrenergic receptor function (1990) *Science* 248: 1547-50.
- Luttrell LM, Lefkowitz RJ (2002) The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J Cell Sci* 115: 455–465.
- Rasmussen SG, DeVree BT, Zou Y, Kruse AC, Chung KY, Kobilka TS, Thian FS, Chae PS, Pardon E, Calinski D, Mathiesen JM, Shah ST, Lyons JA, Caffrey M, Gellman SH, Steyaert J, Skinotis G, Weis WI, Sunahara RK, Kobilka BK (2011) Crystal structure of the $\beta 2$ adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* 477: 549-55.
- Snogerup S (2012) Scientific Background on the Nobel Prize in Chemistry 2012. Studies of G-protein-coupled receptors. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/advanced-chemistryprize2012.pdf
- Williams R (2010) Robert Lefkowitz: godfather of G protein-coupled receptors. *Circ Res* 106: 812-4.
- Altres fonts
- Entrevista telefònica amb Brian Kobilka amb motiu de la concessió del premi. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/kobilka-telephone.html
- Entrevista telefònica amb Robert Lefkowitz amb motiu de la concessió del premi. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/lefkowitz-telephone.html#
- Expert reaction to Nobel prize for chemistry awarded to Lefkowitz and Kobilka. [http://www.sciencemediacentre.org/expert-reaction-to-nobel-prize-for-chemistry-awarded-to-lefkowitz-and-kobilka/\(11,981/14055\)](http://www.sciencemediacentre.org/expert-reaction-to-nobel-prize-for-chemistry-awarded-to-lefkowitz-and-kobilka/(11,981/14055))