



# VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

*Laudatio* pronunciada pel prof.  
Dr. Ismael Mingarro en l'acte  
de nomenament del prof. Dr.  
Gunnan von Heijne com a  
Doctor 'Honoris Causa' per la  
Universitat de València.

València, 29 de març de 2019

És per a mi un gran privilegi assumir la responsabilitat de presentar davant del Claustre de Doctors de la Universitat de València al Doctor Gunnar von Heijne, un reconegut bioquímic i mestre de molts de nosaltres. Vull donar les gràcies públicament a l'Estructura de Recerca Interdisciplinar en Biotecnologia i Biomedicina per haver fet la proposta de nomenament al Rectorat i a la Facultat de Ciències Biològiques, a la Facultat de Ciències Químiques, a l'Institut de Biologia Integrativa i de Sistemes de la nostra Universitat i el CSIC, i a l'Institut de Biomedicina de València del CSIC per haver donat suport aquesta proposta, però sobretot per oferir-me l'oportunitat de llegir aquesta Laudatio. L'Escola de Doctorat i el Consell de Govern conegueren també els seus mèrits acadèmics i humans, així com les relacions científiques del Doctor von Heijne amb la Universitat des de fa més de vint-i-cinc anys, i aprovaren el nomenament que hui coronem amb aquest acte acadèmic en el Paranimf.

Vull començar la meua intervenció recordant quin és l'objecte d'estudi de la Bioquímica. Si busquem una definició acadèmica de Bioquímica podem arribar al consens que la Bioquímica és la branca de la Ciència que estudia els processos químics que ocorren als éssers vius, és a dir als processos que donen lloc a la complexitat de la vida. Si alguna cosa tenen en comú totes les formes de vida que coneixem és que estan organitzades en unitats que anomenem cèl·lules. Aquest fet, que va quedar establert al segle dinou en el que coneixem com a 'Teoria Cel·lular', ens porta de forma implícita a l'observació que totes les cèl·lules presenten un embolcall que les separa de la resta de l'Univers, la membrana cel·lular. Donada la natura aquosa de l'entorn en el que es desenvolupa la vida, a principis del segle vint es va proposar que les cèl·lules estaven rodejades per una fina barrera oliosa. Poc després, es varen fer les primeres mesures experimentals utilitzant eritròcits que establiren el gruix de les membranes cel·lulars en 3,3 nm. Tot i que aquestes dades són ben acurades, inicialment es varen interpretar incorrectament i es va proposar que les membranes cel·lulars estaven formades per una monocapa molecular. L'estudi dels lípids dels eritròcits amb balances de pressió superficial permeteren a Gorter i Grendel (Universitat de Leiden) als anys vint deduir que les membranes cel·lulars estan formades per bicapes lipídiques, cosa que va ser confirmada als anys cinquanta del segle passat per microscòpia electrònica. En eixes primeres imatges s'observaren dues bandes fosques amb elevada densitat electrònica formades pels caps polars de dues monocapes lipídiques enfrontades que serviren a J. David Robertson per a proposar, per primera vegada, la membrana com a 'unitat' i la seua estructura en bicapa com un tret universal i comú per a totes les membranes cel·lulars així com per a les membranes dels orgànuls subcel·lulars.

Aquestes dues línies, derivades de l'elevada densitat electrònica, han estat amplament utilitzades per a simbolitzar les membranes biològiques però, parafrasejant al Prof. von Heijne, calia 'llegir entre línies'.

L'any 1972 Seymour J. Singer i Garth L. Nicolson publicaren un article seminal on proposaren un model estructural per a l'organització de les membranes biològiques, el 'model del mosaic fluid'. El model del mosaic fluid explica l'estructura funcional de les membranes cel·lulars i les defineix com una bicapa lipídica en la que estan incrustades molècules de proteïnes i de carbohidrats. La bicapa lipídica dóna fluïdesa i elasticitat a la membrana, alhora que aïlla de manera selectiva la cèl·lula del món exterior. En el model de Singer i Nicolson es descrigué la membrana cel·lular com un líquid bidimensional que restringia la difusió lateral dels components de la membrana. La visió actual de la membrana cel·lular ens presenta un model més mosaic que fluid, en el sentit que, com ara sabem, la presència de proteïnes és molt més elevada del que es pensava inicialment, les quals participen en un gran nombre de processos cel·lulars, com ara la comunicació cel·lular, la generació d'energia, l'apoptosi o mort cel·lular programada, la divisió cel·lular, la gemmació i la fusió de membranes, etc.

Després de fer un màster en Enginyeria Química a l'Institut Reial de Tecnologia d'Estocolm (KTH), el Professor von Heijne va realitzar la seua tesi doctoral en Física Teòrica al mateix institut estudiant l'estructura, la funció i l'evolució de les proteïnes. La seua curiositat juntament amb els seus coneixements profunds de les proteïnes, i la constatació que l'elevada hidrofobicitat de la membrana representava una barrera, el portaren a llegir el treball de Blobel i Dobberstein on reconstituïren in vitro el sistema de translocació de proteïnes en membranes derivades del reticle endoplasmàtic (RE) i proposaven la "Hipòtesi de la Senyal". Segons aquesta hipòtesi les proteïnes tenen unes seqüències curtes que serveixen de senyals per a ser dirigides a les seues destinacions en les cèl·lules, entre elles la membrana. Cal mencionar que per aquest treball Günter Blobel, recentment desaparegut, va ser guardonat amb el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina l'any 1999. Inspirat per la translocació de proteïnes i l'existència de 'pèptids senyal', i després de llegir el poquet que n'hi havia publicat en aquell moment sobre hidrofobicitat aplicada a les interaccions pèptid-lípid, el Professor von Heijne va calcular l'energia necessària per a que un polipèptid desplegat pugua ser inserit en la bicapa lipídica. Però, el que va ser molt important per a qui en aquell moment treballava en un departament de Física Teòrica, fou la irrupció dels mètodes de seqüenciació de DNA, que de sobte li va proporcionar una gran quantitat de seqüències de pèptids senyal a partir de les seqüències de DNA, sense haver de seqüenciar les proteïnes, cosa molt més laboriosa. Durant un parell de setmanes tancat a la biblioteca —els més majors en aquest Paranimf recordaran bé el tacte delicat dels llibrets del Science Citation Index— el Prof. von Heijne va recollir gairebé un centenar de seqüències de pèptids senyal amb les que va fer el primer algoritme per a predir i identificar el lloc de tall de la peptidasa del pèptid senyal, l'enzim que hidrolitza el pèptid senyal en la membrana per a donar lloc a la proteïna madura. Aquest algoritme inicial ha estat implementat diverses vegades, i actualment la versió disponible (SignalP 5.0) és una de les ferramentes en línia més utilitzada en el món de les proteïnes.

Què sabem hui en dia dels pèptids senyals? Doncs, en primer lloc que n'hi han molts més tipus a més de l'inicialment descobert per Blobel per l'orientació de les proteïnes cap la membrana del RE en eucariotes i a la membrana interna en bacteris: ara sabem que n'hi ha pèptids que dirigeixen proteïnes al mitocondri, als cloroplasts, als peroxisomes, al nucli, etc. Tots aquests pèptids senyal son actualment identificats a partir de les seqüències d'aminoàcids amb una elevada eficiència, i s'han identificat molts dels components cel·lulars implicats en el seu reconeixement i translocació. Però, tot i que els pèptids senyal foren el punt d'entrada del Prof. von Heijne en la bioinformàtica, un terme que ni tan sols s'havia inventat en aquells moments, ràpidament el seu interès va ser captat per les proteïnes de membrana, les que estan inserides en les membranes biològiques. Amb una composició semblant en hidrofobicitat als pèptids senyal, a l'analitzar les seqüències de les primeres proteïnes de membrana amb topologia definida, es va adonar que eixes regions hidrofòbiques presentaven un balanç de càrrega esbiaixat, amb una preferència de residus carregats positivament a la part citoplasmàtica de la membrana. Així va proposar el que hui coneixem com el 'positive inside rule'. Aquesta 'regla del positiu dins' va suposar un impuls significatiu en els algorismes de predicció de proteïnes de membrana augmentant l'eficiència de les prediccions fins arribar als mètodes bioinformàtics moderns basats en 'maching learning' que encara apliquen els mateixos principis, tot i que amb una major eficiència.

Però, no content amb això, va decidir demostrar experimentalment que hom podia modificar la topologia d'una proteïna de membrana alterant la seua distribució dels residus carregats positivament. En un semestre sabàtic al laboratori de Bill Wickner (aleshores en la Universitat de Califòrnia a Los Angeles) va passar dels algorismes de predicció a aprendre les, en aquells moments, incipients tècniques de mutagènesi dirigida i a expressar in vitro en presència de membranes microsomals proteïnes marcades amb 35S. El laboratori de Wickner acabava de descobrir la proteïna que s'encarrega d'eliminar el pèptid senyal en les proteïnes de secreció, la 'leader peptidase', Lep. Amb aquesta proteïna, el Prof. von Heijne va ser capaç de demostrar que es podia invertir la topologia d'una proteïna només alterant la seua distribució de residus carregats en un feliç descobriment que sens dubte va impulsar la seua carrera definitivament, establint el seu laboratori a Estocolm com un pol de referència mundial en l'estudi de les proteïnes de membrana.

Des d'aleshores el seu laboratori ha estudiat no solament la topologia de les proteïnes de membrana amb aproximacions de tot el proteoma (proteome-wide), d'una banda utilitzant fusions de proteïnes indicadores ('reporter'), com ara la GFP (proteïna de fluorescència verda), a totes les proteïnes de membrana del genoma d'*Escherichia coli* definint així la seua orientació i millorant de manera significativa la capacitat predictiva dels algorismes de predicció computacional; sinó que també, ha participat en la primera edició d'un Atlas del Proteoma Humà, un programa de base a Suècia iniciat el 2003 amb l'objectiu de cartografiar l'expressió de totes les proteïnes humanes

als diferents tipus cel·lulars, teixits i òrgans utilitzant diverses tecnologies òmiques com ara tècniques d'imatge amb anticossos específics, tècniques proteòmiques basades en espectrometria de masses, transcriptòmica i biologia de sistemes.

Però, sens dubte, l'aportació més significativa i de major impacte de les últimes dues dècades han sigut els seus estudis sobre l'energètica del procés d'inserció de les regions transmembrana (TM) en les membranes biològiques, procés que a les membranes de tots els éssers vius el realitza un complex multiproteic que anomenem translocó. En un conjunt de treballs sistemàtics realitzats en la primera dècada del present segle, el laboratori del Prof. von Heijne en col·laboració amb el laboratori d'Steve White (Universitat de Califòrnia a Irvine), va establir les bases per comprendre des del punt de vista biofísic el procés d'inserció de les regions TM mitjançant el translocó, establint una escala d'hidrofobicitat biològica (biological hydrophobicity scale) per als aminoàcids que formen part de les proteïnes. Això, sens dubte, ha suposat un pas gegantí en la nostra comprensió actual de les membranes biològiques donada la complexitat del sistema i ha permès, per primera vegada, atrevir-nos amb el disseny de novo d'aquest important grup de proteïnes.

Més recentment, el seu laboratori ha viscut un altra fita en utilitzar seqüències peptídiques que una vegada sintetitzades pels ribosomes alenteixen el procés de la traducció de les proteïnes. Aquests elements de control, 'arrested peptides', serveixen per a regular la translocació de les proteïnes de secreció a través de la membrana bacteriana on són identificats per la maquinària de secreció que exerceix una força que permet 'estirar' la cadena naixent per fer-la emergir del ribosoma. Al laboratori del Prof. von Heijne han utilitzat aquests 'sensors de força' per estudiar el plegament cotraduccional de proteïnes, tant de membrana com solubles, el que els ha permès plantejar-se les diferències entre els estudis clàssics de plegament in vitro de proteïnes i el que realment ocorre en les cèl·lules in vivo. El que em porta a l'última part d'aquest breu resum de la biografia científica del nostre guardonat, relativa a la utilització de la crio-microscòpia electrònica per a l'estudi del plegament cotraduccional de les proteïnes. Les millores tècniques ocorregudes en aquest tipus de microscòpia a les últimes dècades i sobretot als darrers sis o set anys, han permès la resolució estructural a escala atòmica d'un gran nombre de macromolècules, el que no ha passat desapercebut de cap manera per al Prof. von Heijne que ha liderat un consorci per a establir una gran 'facility' en Estocolm dedicada exclusivament a la implementació d'aquesta tecnologia que ja està donant els seus primers fruits.

Per posar en evidència l'impacte de tots aquests descobriments només vull mencionar que, sense ser molt prolífic, les publicacions del Prof. von Heijne estan a punt de sobrepassar les 100.000 citacions.

Let me finish with a few words in our common language to put on scene two last items from Prof. von Heijne, which I want to share with you. There are a great bunch of stories that I can recall but since we have been wearing our academic dresses for a while already, and I know that Prof. von Heijne feels uncomfortable wearing anything but T-shirts, I will be brief.

The first is related to his strong compromise with our world. Back in the early nineties when the first postdoctoral students started to arrive at Gunnar's lab. At that time the internet was only in its infancy, so it was not easy to know what your supervisor looks like before travelling, and Professor von Heijne went to the Arlanda airport in Stockholm to pick up one of his first postdocs. After luggage claim the postdoc arrived in the waiting hall and found a young Swedish man reading a book while waiting for him, he looked so young that the postdoc immediately thought that Gunnar sent someone else from his lab to pick up him, then he said:

- Oh!, I see, Gunnar couldn't come?
- Oh yes, this is Gunnar!

Then, he realized that the unexpectedly 'young' Prof. von Heijne was not reading a conscientious scientific paper but instead he was reading a book on 'climate change'. Reading a book on climate change twenty-five years ago was not actually common, and lets us see the top-class person that Prof. von Heijne actually is, not only the brilliant scientist that I just had the honour to introduce. Nowadays, a lot of discussions focus on our worldwide climate change problem, and again we all have to learn from the Swedish people. As you all know a global student's strike movement #FridaysForFuture has just recently started lead by a young Swedish girl Greta Thunberg, who started a protest seeking to stop global warming and climate change and became a prominent figure for starting the first school strike for climate outside the Swedish parliament building. Interestingly, Greta is a distant relative of Svante Arrhenius, the great Swedish scientist that named the building where Professor von Heijne settled his lab in the nineties, the Arrhenius Laboratories at Stockholm University, where I had the privilege of working.

The second story is related to Prof. von Heijne's teaching abilities. One of his preferred wise sayings can be summarized in three words: read, read, read. To promote reading, his lab, as many others, organized the traditional Journal Club activity, in which one of the lab members selected a publication to be presented and discussed in a thoughtful manner weekly in a lab seminar. So, I remember the first Journal Club arranged by Gunnar after my arrival because I came to my lab-mates a few days before and asked if they had already gone through the paper that Gunnar selected. All them, turned their heads to me and said, are you joking? Gunnar will explain it in such a great detail that you do not need to read it ahead. And it was actually true, as many of us had the opportunity to attend his conference yesterday in our Campus at Burjassot, he can

explain any experiment in such a great detail with simplicity that cope up with the more complicated ones. So, Gunnar, I am sorry but I must tell you that no one read the papers you selected for journal club, instead everybody was delighted with your presentations.

Finally, I want to leave the lectern with two reflections that I learned from you, which I think would be of great help especially for the young scientists in the audience. The first one is that “collaboration is more fun than competition”. In this current scientific world in which we are all the time competing for funding, publishing, etc., I have never heard anybody complaining about Prof. von Heijne but willing to collaborate with him, and that is not easy nowadays.

And the last reflection I want to share with you all it is related to some advice that Gunnar gave to me while being in his lab: “don’t make your papers longer than necessary”. Remember Samuel Beckett: “Every word is an unnecessary stain on silence and nothingness.” Maybe I should just stay quiet now . . .

Thank you.



VNIVERSITAT D VALÈNCIA