

Sono onorato di essere stato scelto per il Premio Pezcoller-AACR 2018, in particolare la 21esima edizione e non mi sento all'altezza dei precedenti vincitori.

La mia storia ha inizio nel 1943 nel mezzo della seconda guerra mondiale ad Ashford, una cittadina a sud-est dell'Inghilterra, vicino a Canterbury e a 10 miglia dal Canale della Manica. Mio padre era un medico chirurgo nell'ospedale locale. Mia madre, casalinga si prendeva cura di me, di mia sorella più giovane di tre anni e di mio padre che era sempre impegnato con la sua professione. Ho avuto una infanzia piacevole e i miei genitori ci tenevano che noi avessimo tutto, compresa la scuola privata, la Friars School, dove ho appreso le prime nozioni di matematica e di lingue straniere, compresi latino e greco, ma non avevo lezioni di materie scientifiche. All'età di 13 anni mi "mandarono alla Felsted School, un collegio nell'Essex, fondato nel 1564. Ho vinto una borsa di studio e grazie a questo mi hanno subito inserito al secondo anno, dove era già richiesto che io indicassi l'argomento della mia specializzazione. Dopo due settimane che ero lì, mio padre parlò con il Preside e decisero che dovevo specializzarmi in scienze. Credo che ciò dipendesse dal fatto che mio padre era laureato in medicina. Avevo certamente predisposizione per le scienze (nonostante non fossi molto forte in matematica) e quindi è stata probabilmente una buona decisione. Io non ne ero conscio ma lì è iniziata la mia carriera come scienziato. Nella mia famiglia non ci sono scienziati o accademici di grido: mio nonno paterno era un dentista e mio padre un medico, laureato all'Università di Cambridge e specializzato come chirurgo all'Ospedale di Londra. Parlandomi delle sue esperienze mediche, mio padre ha certamente suscitato in me l'interesse per la scienza e su come funziona il corpo umano. Aveva una grande abilità manuale e mi ha insegnato a fare molte cose, aiutandomi nella mia carriera come scienziato sperimentale. All'età di 16 anni presi "A"(Avanzato) negli esami di Fisica, Chimica e Biologia, per accedere all'università. Rimasi un altro anno al collegio di Felsted, concentrandomi sullo studio della biologia. Mi piaceva la scienza e la trovavo piuttosto facile, tanto la matematica che è sempre stata ostica per me. Sono stato influenzato da alcuni insegnanti, ma il più importante è stato il mio insegnante di biologia, David Sturdy, che mi ha inculcato la passione per la biologia, dandomi anche lezioni private, e le prime nozioni di biochimica. Mi ha incoraggiato anche a fare i miei primi esperimenti, che sono risultati però un totale fallimento. E' stata senz'altro la sua influenza che mi ha portato a "studiare" (cioè a specializzarmi in) biochimica a Cambridge.

La Biochimica a quei tempi era un'area molto affascinante delle scienze, che coniugava le meraviglie della biologia con il rigore della chimica. Vi ricordo che

quando io iniziai come specializzando nel 1965, il codice genetico era ancor agli inizi e la biologia molecolare era nella sua infanzia!

Poiché mio padre era un ex-alunno della Università di Cambridge era ovvio che dovessi andarci anche io e nell'autunno del 1960 feci l' esame di ammissione e vinsi la borsa di studio per il college di mio padre, il Gonville e Caius College, probabilmente perché avevo risposto molto bene alle domande di scienza all'esame. Lasciai Felsted nel 1961 e feci un anno sabbatico. Nei primi tre mesi del 1962 andai in un piccolo villaggio a sud della Germania per studiare il tedesco, poi lavorai in un laboratorio di chimica organica al Wye College (che fa parte dell'Università di Londra) nell'ottobre del 1962 cominciai a Cambridge. Ho seguito il corso di laurea in Scienze Naturali – per i primi due anni feci corsi di Biochimica, Chimica Organica e Inorganica, Zoologia degli Invertebrati e Psicologia Sperimentale. L'argomento più eccitante (e popolare) era la biochimica alla quale ho dedicato il mio ultimo anno interamente il mio ultimo anno terminando con una laurea di primo grado nel giugno 1965. Avevamo docenti eccellenti, ma i più interessanti erano Fred Sanger, Max Perutz e Sydney Brenner. La classe di 40 studenti Parte II del 1965 includeva Bruce Ponder e Andrew McMichael, ambedue in seguito eletti nella Royal Society.

Non avevo pensato a cosa fare dopo la laurea ma verso la fine del mio ultimo anno nel Dipartimento di Biochimica uno dei docenti mi ha suggerito di fare la domanda come docente per il corso di laurea di quel Dipartimento, dicendomi che sarei stato ammesso se avessi ottenuto un voto finale eccellente. I neolaureati dovevano scegliere un consulente di tesi prima di iniziare e io scelsi di lavorare con Asher Korner, che ci aveva fatto alcune delle lezioni più interessanti e che era l'unico membro della facoltà nel dipartimento ad occuparsi di biologia molecolare. Stava cercando di capire come l'ormone della crescita aumenta il tasso di sintesi proteica nel fegato. Nell'ottobre del 1965, dopo un viaggio di 10 settimane da Londra attraverso la Turchia, la Siria, il Libano, la Giordania, l'Iraq, il Kuwait, l'Iran e ritorno, entrai nel laboratorio di Asher, che aveva altri 8 neolaureati - tra questi Tim Hunt (futuro vincitore del premio Nobel e membro della Royal Society), Brigid Hogan (futuro membro della Royal Society) e Richard Jackson (futuro membro della Royal Society), che lavoravano tutti su diversi aspetti della sintesi proteica - è stato un fantastico ambiente intellettuale in cui iniziare la mia carriera scientifica.

Il mio progetto di tesi era di indagare i meccanismi attraverso i quali le cellule dei mammiferi producono proteine e una parte importante della mia ricerca è stata fatta insieme al mio compagno Tim Hunt che lavorava sui reticolociti di coniglio come

sistema modello semplificato. Verso la fine del mio lavoro di specializzazione nel 1968, sono stato incoraggiato a fare domanda per una borsa di studio presso il mio college (Gonville e Caius) e al Christ's College ed ho avuto la fortuna di ottenere una borsa di ricerca quadriennale al Christ's College, che mi ha permesso di vivere all'università, e di continuare la ricerca indipendente nel Dipartimento di Biochimica per i successivi quattro anni, gestendo il mio (piccolo) laboratorio. Il passaggio formativo nella mia carriera è stato quando ho preso una pausa di due anni dalla mia borsa di studio per unirmi al laboratorio di Walter Eckhart al Salk Institute di La Jolla come ricercatore nel 1971. La mia prima moglie, Pippa Marrack, una studentessa laureata nel laboratorio di Alan Munro, aveva organizzato un postdoc con Dick Dutton, un immunologo del Dipartimento di Biologia della Università di California, San Diego di fronte all'Istituto Salk, e Alan, che aveva fatto un anno sabbatico nell'allora nuovo Salk Institute nel 1966, aveva suggerito di entrare nel laboratorio di Walter. Walter stava usando il virus del tumore del DNA del polioma, che causa il cancro nei roditori, come un modello di cancro nella speranza che potesse fornire indicazioni su come le cellule normali diventano cellule tumorali. È stata una grande esperienza e il mio primo ingresso nella biologia del cancro, anche se devo ammettere che il passaggio da Cambridge con tutta la sua storia a una California libera negli anni '70 è stato uno shock culturale, ma presto mi sono adattato (e mi sono fatto crescere i capelli) . Alla fine dei due anni, Pippa e io ci siamo lasciati, e sono tornato a Cambridge da solo per l'ultimo anno della mia borsa di studio, mentre lei è rimasta negli Stati Uniti (anche lei è diventata membro della Royal Society!). Tornato a Cambridge nel 1973, ho ricominciato a lavorare sulla sintesi proteica e ho iniziato a fare domanda per insegnare in facoltà. Sia il Dipartimento di Biochimica che l'Imperial Cancer Research Fund (ICRF) di Londra mi hanno respinto (anche se avevo pubblicato tre lavori su Nature e due lavori sul Journal of Molecular Biology, oltre ad altri), ma per fortuna il Salk Institute, che aveva solo 7 anni di vita, aveva appena iniziato a nominare il suo primo gruppo di Professori Associati. Mi era stata offerta una di queste posizioni (senza alcuna intervista!) prima di partire, e alla fine non avendo in vista alcun lavoro nel Regno Unito sono tornato in California, dove ho iniziato come professore associato nel 1975, e ho iniziato a lavorare di nuovo sui virus tumorali. Da allora sono sempre stato al Salk Institute, e non ho mai rimpianto di aver lasciato il Regno Unito!

Quando nel 1975 sono tornato all' Istituto Salk, entrai a far parte del Laboratorio di Virologia dei Tumori (TVL), che era un luogo fantastico di intensa discussione e collaborazione scientifica, anche perché eravamo pochi. Ho trovato naturale continuare lo studio del virus polyoma ed ho cominciato ad usare i metodi biochimici che avevo appreso a Cambridge, per identificare le proteine, codificate dai virus, che trasformano le cellule normali in cellule cancerose, chiamate antigeni T. Assieme a Walter Eckhart e Ted Friedmann, abbiamo scoperto che il virus del polioma utilizza in tre modi diversi un singolo RNA virale, per formare tre antigeni T: uno grande, uno medio e uno piccolo. Il più importante si è rivelato essere il T medio.

Nel 1976 Karen Beemon è arrivata in laboratorio come mio primo post-doc, dopo aver completato il suo dottorato sulla struttura dell'RNA del virus del sarcoma di Rous (RSV), un altro virus del tumore animale. Karen ha portato con sé le sue scorte di RSV e abbiamo cercato di identificare la proteina trasformante di RSV. Siamo riusciti a identificare le forme troncate del prodotto del gene src, ma siamo stati anticipati nella scoperta della proteina v-Src da Joan Brugge e Ray Erikson di Denver.

Tuttavia, il mio laboratorio era ormai saldamente radicato nel campo RSV e nei due anni successivi, in gran parte in collaborazione con Bart Sefton, abbiamo caratterizzato la proteina v-Src.

Nel 1978, Marc Collett e Ray Erikson fecero la fondamentale scoperta che v-Src aveva un'attività di proteina chinasi, in grado cioè di aggiungere fosfato alle proteine. Questa scoperta implicava il fatto che la trasformazione maligna delle cellule, mediante RSV, comportava la fosforilazione delle proteine aberranti.

È stata questa una scoperta così straordinaria, che immediatamente ogni gruppo al mondo che lavorava con proteine di trasformazione virale, ha cominciato a testare la propria proteina per vedere se avesse un'attività di protein chinasi. Noi non abbiamo fatto eccezione e siamo andati a vedere se gli antigeni T del virus del polioma avessero un'attività di protein chinasi. All'inizio del 1979, Walter Eckhart e io scoprimmo che l'antigene T medio diventava effettivamente fosforilato. Questo ha suggerito che T medio potesse anche essere una proteina chinasi. **Fu nel corso della determinazione di quale aminoacido fosse fosforilato nel T medio, che feci la scoperta inaspettata che il fosfato veniva legato non alla serina o alla treonina come tutti credevano, ma invece alla tirosina.** Come alcuni di voi sanno, questa scoperta è stata del tutto casuale, e derivata dal fatto che per pigrizia avevo utilizzato un reagente per elettroforesi ormai vecchio. **Nell'esperimento in cui ho analizzato quale aminoacido venisse fosforilato nel T medio, è apparso un punto**

radioattivo inatteso, e la mia preparazione biochimica mi ha indotto a pensare che questa potesse essere la tirosina fosforilata, come si è effettivamente rivelata. Come si dice, il caso favorisce una mente preparata.

La scoperta che il polyoma T medio ha un'attività tirosina chinasi, è stata rapidamente seguita da un'altra nostra scoperta, che anche la proteina RSV v-Src è una tirosina chinasi. Anche questa scoperta è stata fatta per caso: stavo usando v-Src come il campione di controllo che avrebbe dovuto fosforilare la treonina, ed invece con mio grande stupore aveva fosforilato la tirosina. Con la preziosa collaborazione di Bart Sefton, abbiamo rapidamente dimostrato che **la fosfotirosina è presente nelle proteine in tutte le cellule di mammifero, che v-Src stesso è fosforilato sulla tirosina e che le cellule trasformate da RSV hanno livelli notevolmente elevati di fosfotirosina.** Poco dopo, Owen Witte e David Baltimore hanno scoperto che anche la proteina trasformante del virus della leucemia murina di Abelson ha un'attività tirosin-chinasica. Questo è stato rapidamente seguito da segnalazioni di altri gruppi, che molte altre proteine di trasformazione virale avevano un'attività simile alla tirosina chinasi e che anche il recettore EGF (Recettore che regole la proliferazione cellulare) è una tirosina chinasi. In pochi anni, sono stati poi scoperti gli oncogeni umani che codificano le tirosin-chinasi, i quali, come v-Src, sono costitutivamente attivi. **Ora noi sappiamo che circa la metà di tutte le 90 tirosinchinasi umane hanno un ruolo nel cancro.** Ciò ha portato inevitabilmente allo sviluppo di una nuova classe di farmaci antitumorali, denominati Inibitori di Tirosina Kinasi (TKI), che inibiscono le tirosin-chinasi codificate dagli Oncogeni. Il primo farmaco TKI approvato per la terapia del cancro umano è stato **Gleevec**, un inibitore della tirosina chinasi BCR-ABL che causa la leucemia mieloide cronica. Gleevec ha dimostrato di essere un farmaco miracoloso e molti dei pazienti trattati con LMC che sono andati in remissione nel 2001 stanno ancora assumendo Gleevec. Questo straordinario successo ha portato l'industria farmaceutica a sviluppare numerosi altri TKI, che bloccano altre tirosine chinasi oncogeniche specifiche per altri tumori: fino allo scorso mese erano già 32 i TKI approvati per la terapia del cancro. Questo è il risultato straordinario delle scoperte fatte con due semplici virus tumorali e una forte giustificazione per continuare a finanziare la ricerca di base.

La scoperta della fosforilazione della tirosina nel 1979 ha rappresentato il punto di svolta della mia carriera e ha avuto una grande influenza su ciò che ho fatto nei 40 anni successivi. Mi sono interessato non solo al ruolo della fosforilazione della tirosina nella regolazione della funzione cellulare e della trasformazione tumorale, ma anche

della fosforilazione delle proteine in generale. Abbiamo continuato a studiare molti tipi di protein chinasi ed i loro bersagli. Abbiamo clonato nuove tirosina chinasi e fosfotirosina fosfatasi e caratterizzato le loro funzioni. Abbiamo lavorato molto per identificare i substrati per le tirosine chinasi del Recettore del Fattore di Crescita, mappare le tirosine che sono fosforilate nelle proteine bersaglio e tentare di chiarire cosa comportano questi eventi di fosforilazione della tirosina. Con l'aiuto di Jon Pines, un post doc che è venuto da me dal gruppo di Tim Hunt, abbiamo cominciato ad occuparci anche del ciclo cellulare, arrivando a clonare nel 1989 le prime cicline umane. Curiosamente, questo ci ha portato nuovamente nel campo della fosforilazione delle proteine, quando è stato scoperto che le cicline sono subunità dei regolatori chiave del ciclo cellulare, le chinasi ciclino dipendenti. Il nostro lavoro più recente è su un altro tipo chinasi che fosforila l'istidina nelle proteine, e abbiamo da poco dimostrato che anche questo può avere un ruolo nel cancro.

Guardando indietro, non c'è stato un momento preciso nella mia vita che mi ha portato a diventare uno scienziato. Mio padre mi aveva interessato alle scienze biomediche, ma mi aveva dissuaso dal diventare un medico, perché era critico nei confronti del sistema sanitario nazionale nel Regno Unito, che riteneva non ricompensasse l'iniziativa e l'eccellenza. Come appare dalla mia storia, la mia scelta di diventare un ricercatore non è stata guidata da un desiderio ardente di fare ricerca o curare le malattie, ma per molti versi è stato fortuito e dovuta in gran parte dall'essere nel posto giusto al momento giusto, avendo un certo talento, e la fortuna di avere dei mentori che raccomandavano quali passi fare. Certamente, non sarei stato coinvolto nella ricerca sul cancro, se non fossi andato al Salk Institute, e questo è successo solo perché ho seguito la mia prima moglie a San Diego! Certamente non ho rimpianti: tutto questo ha funzionato!

Permettetemi di concludere ringraziando tutte le persone che mi hanno aiutato e guidato sia nella vita che nella scienza. In primo luogo, mia moglie Jenny e i nostri due figli Sean e James, per avermi supportato e aver sopportato le mie lunghe ore in laboratorio e le mie numerose assenze da casa per partecipare a riunioni e comitati in tutto il mondo. Poi, naturalmente, Alan Munro e Walter Eckhart che mi hanno influenzato a diventare un biologo del cancro - Alan è stato mio secondo consigliere e mi ha suggerito di venire al Salk Institute, e Walter che mi ha portato a vedere inosservato come post-doc, e poi mi ha dato il mio primo lavoro. Inoltre, sono in debito con i miei numerosi colleghi scientifici del Salk, tra cui Karen Beemon, Walter Eckhart, Bart Sefton, Jon Cooper, Gernot Walter, Inder Verma. Tutti hanno avuto un ruolo

chiave all'inizio della mia carriera e nella scoperta della fosfotirosina, per la quale ricevo il 21 ° Premio Pezcoller-AACR.

Sembra così lontano il tempo da quando ho scoperto la fosforilazione della tirosina 40 anni fa, ma da allora tanto si è appreso sull'importanza di questo processo, e la ricompensa in termini di maggior comprensione e miglior trattamento della malattia umana è stata grande e gratificante.

Lasciatemi concludere ringraziando nuovamente la Fondazione Pezcoller.