



UNIVERSITAT DE BARCELONA

SOLEMNE INVESTIDURA COM
A DOCTOR HONORIS CAUSA
del professor

Walter Jakob Gehring



Discurs de presentació del professor
Emili Saló i Boix

Gener de 2010

UNIVERSITAT DE BARCELONA

SOLEMNE INVESTIDURA COM
A DOCTOR HONORIS CAUSA
del professor

Walter Jakob Gehring

Discurs de presentació del professor
Emili Saló i Boix

Gener de 2010

Entitat editora
UNIVERSITAT DE BARCELONA

Rector
Dídac Ramírez Sarrió

President de Consell Social
Joaquim Coello

© Universitat de Barcelona
Edició: Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona
Disseny de la col·lecció: Cesca Simón
Dipòsit legal: B-8.560-2013

Família tipogràfica: Times
Motiu de la coberta: Edifici Històric. Finestres interiors del bloc central.

Administració de la publicació:
Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona
Adolf Florensa, s/n
08028 Barcelona

ÍNDIX

Protocol de l'acte	5
Discurs de presentació del professor Emili Saló i Boix	11
Discurso de presentación del profesor Emili Saló i Boix	17
Presentation speech by Professor Emili Saló i Boix	21
Discurs del professor Walter Jakob Gehring	25
Discurso del profesor Walter Jakob Gehring	35
Speech by Professor Walter Jakob Gehring	43

PROTOCOL DE L'ACTE

*Investidura del professor Walter Jakob Gehring
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 al secretari general, Dr. Jordi Garcia i Viña, el qual llegeix l'acta del nomenament de doctor honoris causa a favor del professor Walter Jakob Gehring.
4. El rector invita el degà de la Facultat de Biologia, Dr. Joaquim Gutiérrez i Fruitós, i el catedràtic padrí, Prof. Emili Saló i Boix, 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 Walter Jakob Gehring, el qual s'asseu al lloc que li ha estat reservat.
7. El catedràtic padrí llegeix el discurs en el qual presenta els mèrits del seu patrocinat.

8. El rector demana al catedràtic 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, 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 servir 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 nou doctor s'asseu entre els seus acompanyants en el lloc reservat al Claustre de Doctors.

11. El rector dóna la paraula al nou doctor Walter Jakob Gehring, el qual és acompanyat a l'estrada pel catedràtic padrí i el degà de la Facultat de Biologia.

12. Intervenció del doctor Walter Jakob Gehring.

13. Un cop acabada la intervenció, el catedràtic padrí i el degà de la Facultat de Biologia esperen el doctor Walter Jakob Gehring al peu de l'estrada i l'acompanyen al seu lloc.
14. Discurs del rector.
15. 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)

16. El rector aixeca la sessió.

DISCURS DE PRESENTACIÓ
DEL PROFESSOR
EMILI SALÓ I BOIX

Excel·lentíssim i Magnífic Senyor Rector
de la Universitat de Barcelona,
digníssimes autoritats acadèmiques,
senyores i senyors:

Com a universitari i com a biòleg és un gran honor i un motiu de viva i intensa satisfacció fer el discurs de presentació del professor Walter Gehring amb motiu de l'acte solemne d'investidura com a doctor honoris causa de la Universitat de Barcelona.

Els paràmetres emprats habitualment com a indicadors d'excel·lència científica, com el nombre i la qualitat de les publicacions, el fet de pertànyer a nombroses societats científiques internacionals i la gran quantitat de premis i honors rebuts arreu del món de manera contínua en els darrers 25 anys, ens durien a atorgar-li immediatament el nomenament de doctor honoris causa.

Per a mi, però, hi ha quelcom molt més significatiu que caracteritza tota la trajectòria científica del professor Walter Gehring i que és el lideratge en el descobriment i anàlisi de nous conceptes que han modificat la genètica del desenvolupament i l'evolució del món animal, que ja formen part dels llibres de text de zoologia, genètica i, molt especialment, del camp del desenvolupament.

Aquest és un privilegi només reservat als que han fet contribucions cabdals, especialment rellevants en el seu camp. Aquestes aportacions singulars s'han donat al llarg de la seva dilatada carrera científica de manera quasi contínua. Aquestes fites han fet que, al llarg d'un període de més de 35 anys, el seu laboratori de biologia cel·lular del Biozentrum de la Universitat de Basilea esdevingués un dels punts de referència i d'atracció de científics interessats en la genètica del desenvolupament a escala mundial. En aquest centre s'hi han format més de cent investigadors —entre els quals cal destacar dos premis Nobel de Medicina de l'any 1995, C. Nüsslein-Volhard i E. Wieschaus— i una

munió d'investigadors, alguns de gran renom internacional, que han generat al seu voltant grups de prestigi.

Walter Gehring neix a Zuric el 1939 i, amb una vocació precoç per la biologia, cursa estudis de zoologia a la Universitat de Zuric a partir de l'any 1958. Després de fer una tesina sobre la seva primera vocació que l'ha acompanyat sempre, l'estudi i migració dels ocells, inicia la tesi sobre fenòmens de transdeterminació en els discs imaginals de *Drosophila* sota la direcció d'un dels millors genetistes del desenvolupament del moment, el professor Ernst Hadorn, i es doctora l'any 1965 a Zuric. Inquiet per conèixer amb més profunditat aquests processos de desenvolupament, inicia una estada postdoctoral amb el Professor Alan Garen a la Universitat de Yale, New Haven, EUA, durant els anys 1967-1968.

L'any 1969 aconsegueix una plaça de professor associat a l'Escola de Medicina de Yale. Durant aquest període adquireix coneixements en una eina fonamental, en aquell moment en plena eclosió, la biologia molecular.

L'any 1972 esdevé catedràtic del Departament de Biologia Cel·lular del Biozentrum, de la Universitat de Basilea, ciutat on estableix la seva residència durant la resta de la seva carrera científica. Aquest any l'han nomenat Professor emèrit del mateix centre.

El professor Walter Gehring, tot i haver crescut científicament com a drosofilista, sempre ha mostrat una amplitud de mires i una gran plasticitat a l'hora d'estudiar altres organismes model. És notori constatar que en les més de 250 publicacions citades prop de 22.000 vegades, hi ha treballs sobre la majoria d'organismes representatius de l'arbre filogenètic, incloent-hi diblàstics i els tres clades de metazous triblàstics. Quines són les aportacions singulars del professor Walter Gehring a la biologia en general i a l'evolució i genètica del desenvolupament en particular?

En una primera fase es pot considerar pioner en l'aplicació d'estratègies moleculars a la comprensió de la funció dels mutants homeòtics observats durant la redacció de la seva tesi doctoral. En col·laboració amb científics de Stanford, com David Hogness, va clonar els primers gens de *Drosophila*. Posteriorment, al seu laboratori es va posar a punt un mètode de detecció de l'expressió dels gens en teixits, la hibridació in situ, mètode universal per caracteritzar l'expressió de gens en qualsevol organisme. Treballant també amb proteïnes de xoc tèrmic i alguns transposons, van desenvolupar una nova metodologia

d'atrapar estimuladors (*enhancers*). La combinació d'un profund coneixement genètic amb les noves metodologies moleculars va permetre que al seu laboratori, en paral·lel amb un altre laboratori de la Universitat d'Indiana dels Estats Units, l'any 1983 es caracteritzés la seqüència homeòtica (*homeobox*), seqüència d'ADN present en els gens homeòtics. Posteriorment es va observar que corresponia a un domini proteic present en les proteïnes homeòtiques reguladores del desenvolupament de tots els animals, fet que va representar un dels salts qualitius més importants de finals del segle XX, ja que va permetre aïllar gens del desenvolupament en altres organismes sense cap tradició genètica.

Un segon gran bloc de resultats amb una àmplia repercussió en la comunitat científica va sorgir arran de la caracterització pel seu grup del gen *Pax6* i la xarxa gènica associada, responsable de la determinació de la fotorecepció. Aquests resultats van obrir una nova manera d'entendre i analitzar l'evolució dels ulls.

Voldria destacar la publicació, en col·laboració amb el professor Wehner, de les darreres edicions d'un llibre de text clàssic sobre zoologia a Alemanya, publicat per l'editorial Georg Thieme Verlag i de gran èxit a les universitats germàniques, la primera edició del qual és de l'any 1922. En l'edició vint-i-quatrena publicada l'any 2007 es descriu la zoologia del segle XXI, plena d'estudis funcionals cel·lulars, genètics i moleculars i també d'estudis de fisiologia, ecologia i evolució. Esperem que la seva traducció a l'anglès sigui una realitat ben aviat.

Vull esmentar també les seves relacions científiques i personals amb la Universitat de Barcelona. Molts biòlegs de la nostra Universitat han conegut el professor Walter Gehring a través dels seus seminaris impartits a Barcelona i en diferents congressos internacionals, a banda de les seves publicacions. Alguns membres del Departament de Genètica han pogut visitar i fer estades al seu laboratori, i també en laboratoris d'alguns dels seus deixebles com el professor Ernst Hafen de la Universitat de Zuric, amb els quals es mantenen col·laboracions científiques vives.

Molt pocs científics comparteixen amb ell l'honor de ser membre estranger de la National Academy of Sciences i de l'Acadèmia de les Arts i les Ciències dels Estats Units, de la Royal Society de Londres, de l'Acadèmia de Ciències de França, de la Real Acadèmia de

Ciències Sueca, de l'Acadèmia Alemanya Naturalista Leopoldina i de l'Acadèmia Europea.

Per tots aquests mèrits científics, docents i humans, sol·licitem la vènia, en nom del Departament de Genètica de la Facultat de Biologia, perquè el professor Walter Gehring sigui investit doctor honoris causa de la Universitat de Barcelona.

Excelentísimo y Magnífico Señor Rector
de la Universitat de Barcelona,
dignísimas autoridades académicas,
señoras y señores:

Como universitario y como biólogo, es un gran honor y un motivo de viva e intensa satisfacción hacer el discurso de presentación del profesor Walter Gehring con motivo del acto solemne de investidura como doctor honoris causa de la Universidad de Barcelona.

Los parámetros utilizados habitualmente como indicadores de excelencia científica, como el número y la calidad de las publicaciones, la pertenencia a numerosas sociedades científicas internacionales y la gran cantidad de premios y honores recibidos por todo el mundo de manera continua en los últimos 25 años, nos llevarían a otorgarle inmediatamente el nombramiento de doctor honoris causa.

Para mí, sin embargo, hay algo mucho más significativo que caracteriza toda la trayectoria científica del profesor Walter Gehring: el liderazgo en el descubrimiento y análisis de nuevos conceptos que han modificado la genética del desarrollo y la evolución del mundo animal y que forman parte de los libros de texto de zoología, genética y, muy especialmente, del campo del desarrollo.

Éste es un privilegio reservado únicamente a los que han hecho contribuciones primordiales, especialmente relevantes en su campo, y estas aportaciones singulares se han dado a lo largo de la dilatada carrera científica de Walter Gehring de manera casi continua. Estos hitos han hecho que, en un periodo de más de 35 años, su laboratorio de biología celular del Biozentrum de la Universidad de Basilea se convirtiera en uno de los puntos de referencia y de atracción de científicos interesados en la genética del desarrollo a escala mundial. En este centro se han formado más de cien investigadores, entre los que destacan dos premios Nobel de Medicina de 1995, C. Nüsslein-

Volhard y E. Wieschaus, así como una multitud de investigadores, algunos de gran reputación internacional, que han generado a su alrededor grupos de prestigio.

Walter Gehring nace en Zúrich en 1939 y, con una vocación precoz por la biología, cursa estudios de zoología en la Universidad de Zúrich a partir de 1958. Tras terminar la tesina sobre su primera vocación, que lo ha seguido siempre (el estudio y migración de los pájaros), inicia la tesis doctoral bajo la dirección de uno de los mejores genetistas del desarrollo del momento, el profesor Ernst Hadorn, y se doctora en 1965 en Zúrich sobre fenómenos de transdeterminación en los discos imaginales de *Drosophila*. Inquieto por conocer con más profundidad estos procesos de desarrollo, inicia una estancia posdoctoral con el profesor Alan Garen, de la Universidad de Yale, New Haven, Estados Unidos, durante los años 1967 y 1968.

En 1969, consigue una plaza de profesor asociado en la Escuela de Medicina de Yale y, durante ese periodo, adquiere conocimientos en una herramienta fundamental, en aquel momento en plena eclosión, la biología molecular.

En 1972 se establece como catedrático del Departamento de Biología Celular del Biozentrum, de la Universidad de Basilea, donde fija la que será su residencia durante el resto de su carrera científica. Este año, precisamente, ha sido nombrado profesor emérito de este centro.

El profesor Walter Gehring, a pesar de haber crecido científicamente como drosofilista, siempre ha dado muestras de una importante amplitud de miras y de una gran plasticidad a la hora de estudiar organismos modelo. Es notorio constatar que entre las más de 250 publicaciones citadas cerca de 22.000 veces, hay trabajos sobre la mayoría de organismos representativos del árbol filogenético, incluyendo los diblásticos y los tres clados de metazoos triblásticos. ¿Cuáles son, pues, las aportaciones singulares del profesor Walter Gehring a la biología, en general, y a la evolución y genética del desarrollo en particular?

En una primera fase, se puede considerar pionero en la aplicación de estrategias moleculares a la comprensión de la función de los mutantes homeóticos observados durante la redacción de su tesis doctoral. En colaboración con científicos de Stanford, como David Hogness, clonó los primeros genes de *Drosophila*. Posteriormente, en su laboratorio, se creó un método de detección de la expresión de los genes

en tejidos, la hibridación in situ, método universal para caracterizar la expresión de genes en cualquier organismo. Trabajando también con proteínas de *shock* térmico y algunos transposones, desarrollaron una nueva metodología de atrapar facilitadores (*enhancers*) de la expresión de los genes. La combinación de un profundo conocimiento genético con las nuevas metodologías moleculares permitió que en 1983, en su laboratorio, en paralelo con otro laboratorio de la Universidad de Indiana de los Estados Unidos, se caracterizara la homeosecuencia (*homeobox*), secuencia de ADN presente en los genes homeóticos. Posteriormente, se observó que correspondía a un dominio proteico presente en las proteínas homeóticas reguladoras del desarrollo de todos los animales, algo que representó uno de los saltos cualitativos más importantes de finales del siglo XX, ya que permitió aislar genes del desarrollo en otros organismos sin ninguna tradición genética.

Un segundo gran bloque de resultados con una amplia repercusión en la comunidad científica surgió a raíz de la caracterización por su grupo del gen *Pax6* y la red génica asociada, responsable de la determinación de la fotorrecepción. Estos resultados ofrecieron una nueva manera de entender y analizar la evolución de los ojos.

Querría destacar también la publicación, junto con el profesor Wehner, de las últimas ediciones de un libro de texto clásico sobre zoología en Alemania, una publicación de la editorial Georg Thieme Verlag, de gran éxito en las universidades germánicas y cuya primera edición es de 1922. En su edición vigésimo cuarta, publicada en 2007, se describe la zoología del siglo XXI, repleta de estudios funcionales celulares, genéticos y moleculares y también de estudios de fisiología, ecología y evolución. Esperamos que su traducción al inglés sea próximamente una realidad.

Quiero mencionar también sus relaciones científicas y personales con la Universidad de Barcelona. Muchos biólogos de nuestra Universidad han conocido al profesor Walter Gehring en sus seminarios impartidos en Barcelona y en diferentes congresos internacionales, aparte de sus publicaciones. Algunos miembros de nuestro Departamento de Genética han podido visitar y colaborar con su laboratorio, y también con laboratorios de algunos de sus discípulos, como el del profesor Ernst Hafen, de la Universidad de Zúrich, con los cuales se mantienen colaboraciones científicas vivas.

Debo decir también que son muy pocos los científicos que comparten con él el honor de ser miembro extranjero de la National Academy of Sciences y de la Academia de las Artes y las Ciencias de los Estados Unidos, de la Royal Society de Londres, de la Academia de Ciencias de Francia, de la Real Academia de Ciencias Sueca, de la Academia Alemana Naturalista Leopoldina y de la Academia Europea.

Por todos estos méritos científicos, docentes y humanos, solicitamos la venia, en nombre del Departamento de Genética de la Facultad de Biología, para que el profesor Walter Gehring sea investido doctor honoris causa de la Universidad de Barcelona.

Rector, dignitaries, professors, ladies and gentlemen:

As an academic and a biologist it is a great honour for me, and a source of great personal satisfaction, to give the presentation speech for Professor Walter Gehring on the occasion of his investiture as a doctor *honoris causa* of the University of Barcelona.

The parameters normally used as indicators of a researcher's scientific achievement – for example, the number and quality of his publications, his membership of numerous international scientific societies, and the great quantity of prizes and honours received all over the world in the last 25 years – would immediately qualify Professor Gehring for the award of an honorary degree. For me, however, something far more significant characterizes Professor Gehring's scientific career, and that is his leading role in the discovery and analysis of new concepts that have transformed developmental and evolutionary genetics in the animal world. These concepts are now fundamental principles in textbooks in Zoology and Genetics, most especially in the field of development. This is a privilege reserved only for those who have made seminal contributions to their fields, and throughout his long scientific career Professor Gehring has made groundbreaking discoveries almost continuously. Over a period of more than 35 years, his cell biology laboratory at the Biozentrum at the University of Basel has become one of the world's reference points in developmental genetics and a magnet for scientists in the field. At this laboratory, he has trained more than a hundred researchers, among them the 1995 Nobel Prize winners for Medicine, C. Nusslein-Volhard and E. Wieschaus. Many of these scientists have earned international reputations and have set up leading research groups of their own.

Walter Gehring was born in Zurich in 1939. His vocation for biology developed early, and he began his zoology studies at the University of Zurich in 1958. After a pre-doctoral dissertation on his first vocation – the study of the migration of birds, which has remained dear to his heart – he began his PhD under the guidance of one of the best developmental geneticists of the time, Professor Ernst Hadorn. Professor Gehring presented his thesis, on phenomena of transdetermination in the imaginal discs of *Drosophila*, in Zurich in 1965. Keen to further his knowledge of these developmental processes, he took up a postdoctoral post with Professor Alan Garen at the University of Yale in 1967-1968, and in 1969 he obtained an associate professorship at the Yale Medical School. During this period he acquired knowledge in a vital area, molecular biology, which was developing rapidly at that time. In 1972 he became Professor at the Cell Biology Department of the Biozentrum of the University of Basel, where he would stay for the rest of his scientific career. In fact, he was made Emeritus Professor of this centre earlier this year.

Though Professor Gehring became an expert in *Drosophila*, he has always had a wide range of interests and has been able to apply his skills to the study of other model organisms. His more than 250 publications, quoted around 22,000 times, contain studies on most representative organisms of the phylogenetic tree, including diploblastics and the three clades of triploblastic Metazoa. So what are Professor Gehring's outstanding contributions to biology, and to developmental and evolutionary genetics in particular?

In the first stage of his career, he was a pioneer in the application of molecular strategies to understanding the function of the homeotic mutants observed during the work on his doctoral thesis. Working with David Hogness and other scientists at Stanford, he cloned the first *Drosophila* genes; later, in his laboratory, Professor Gehring perfected a method to detect the expression of genes in tissues – “in situ” hybridization, a universal method for characterizing gene expression in any organism. And working with thermal shock proteins and different transposons, together they developed a new methodology to trap enhancers, or facilitators, of gene expression. The combination of a profound knowledge of genetics and the use of new molecular methodologies allowed his laboratory, in parallel with another laboratory at the University of Indiana, to characterize the Homeobox, a DNA sequence present in homeotic genes, in 1983. Later it was observed that the Homeobox encodes a protein domain present in the homeotic

proteins that regulate the development of all animals. This discovery, one of the greatest breakthroughs of the end of the twentieth century, allowed the isolation of developmental genes in other organisms with no genetic tradition. Later, his group's characterization of the *Pax6* genes and the associated gene network, which is responsible for photo-reception, gave rise to another important set of results which had a wide repercussion in the scientific community and opened up a new way of understanding and analysing the evolution of the eye.

Together with Professor Wehner, Professor Gehring has produced the latest editions of a classical zoology textbook in Germany for the Georg Thieme Verlag publishing-house, which has been a great success in German-speaking universities. The first edition was published in 1922, and the twenty-fourth edition, published in 2007, describes the zoology of the twenty-first century, with studies of cell function, genetics and molecular biology, and studies of physiology, ecology and evolution. We hope that the book will be translated into English in the near future.

I would also like to mention Professor Gehring's scientific and personal links with the University of Barcelona. He has met many biologists at our University at the seminars he has taught in Barcelona and at international congresses. Several members of the Department of Genetics have been able to visit and study at his laboratory and at the laboratories of his disciples such as Professor Ernst Hafen at the University of Zurich, with whom they continue to work together on scientific research projects.

Very few scientists share with Professor Gehring the honour of being a foreign member of the National Academy of Sciences and the Academy of Arts and Science of the United States, the Royal Society of London, the French Academy of Science, the Swedish Royal Academy of Science, the German Academy of Sciences Leopoldina, and the European Academy.

For all these scientific and human achievements, we hereby request, in the name of the Department of Genetics at the Faculty of Biology, that Professor Walter Gehring be invested *doctor honoris causa* of the University of Barcelona.

DISCURS DEL PROFESSOR
WALTER JAKOB GEHRING

Excel·lentíssim i Magnífic Senyor Rector
de la Universitat de Barcelona,
digníssimes autoritats acadèmiques,
senyores i senyors:

La meva vida en la ciència

La meva trajectòria com a biòleg va començar quan era només un nen, en observar l'eclosió d'una meravellosa papallona del seu capoll. De seguida em van assaltar preguntes sobre la metamorfosi i el desenvolupament d'un ésser tan extraordinari com la papallona. Aquest tipus de misteris m'han perseguit durant tota la vida. Han estat l'estímul de les meves investigacions al llarg dels últims cinquanta anys i m'han permès desxifrar alguns dels grans secrets del desenvolupament i l'evolució.

Mosques amb potes al cap

Quan feia el doctorat, vaig descobrir una mutació que transforma les antenes del cap de la mosca en un parell de potes mitjanes. Aquests mutants s'anomenen *homeòtics*, i això indica que transformen una cosa a imatge i semblança d'una altra; per exemple, antenes per potes. Pel poeta alemany Christian Morgenstern —que en un dels seus poemes descrivia un animal imaginari que caminava amb el nas i que s'anomenava Nasobem—, vaig batejar aquest mutant amb el nom de *nasobemia*.

Vaig elaborar-ne el mapa genètic i vaig descobrir que la mutació s'assemblava al gen *Antennapedia*, descrit anteriorment, però en aquell moment no disposàvem de mètodes per saber si aquestes mutacions dominants afectaven els mateixos gens o dos gens diferents íntimament lligats. En un breu article vaig descriure detalladament els efectes fenotípics de la mutació, vaig presentar les dades del mapa genètic i vaig interpretar el gen afectat com un gen regulador involucrat en l'activació de tots els gens necessaris per formar una pota. Es tractava d'una conclusió audaç, però, amb el temps, s'ha vist que era

completament encertada. I des que vaig descobrir aquesta fascinadora mutació, li he tingut una especial afecció. Intuïtivament, sabia que proporcionava la clau per conèixer les decisions sobre el destí d'una cèl·lula (si s'havia de formar una cèl·lula d'antena o de pota), però aleshores semblava impossible identificar la base molecular i el mecanisme genètic d'aquell gen.

L'enfocament molecular

Quan vaig decidir investigar la base molecular de l'acció dels gens homeòtics, la majoria dels meus col·legues amb més experiència s'hi van mostrar molt escèptics. Els biòlegs moleculars consideraven que un gen que controlés un gran nombre de gens per convertir una antena en pota era un problema massa complicat de resoldre. Ells se centaven sobretot en gens individuals que codificaven un sol enzim. De fet, els biòlegs «clàssics» es mostraven crítics amb l'enfocament molecular en conjunt: consideraven que els biòlegs moleculars no plantejaven les preguntes adequades.

Malgrat tot, no em vaig deixar portar per aquells comentaris i vaig decidir traslladar-me als Estats Units, que en aquell temps era la meca de la biologia molecular, per fer-hi estudis postdoctorals. Em vaig unir a l'equip d'Alan Garen, de la Universitat de Yale, per endinsar-me en la biologia molecular. Garen tenia formació biofísica i el seu mètode era molt més rigorós i quantitatiu que el dels biòlegs clàssics. Per això, no només vaig aprendre biologia molecular, sinó que també em vaig acostumar a dissenyar i interpretar els experiments de manera més rigorosa.

Des del punt de vista de la biologia molecular, l'espècie *Drosophila* presentava un desavantatge important: era difícil d'obtenir-ne teixit en forma pura per a l'anàlisi bioquímica. Per això, vam ampliar els estudis des dels discs imaginals fins als embrions, que es poden obtenir en quantitats més grans. En dissociar els embrions en l'etapa primerenca del blastoderma, reagrupar les cèl·lules i conrear-les *in vivo*, vam poder demostrar que les cèl·lules precursors dels discs imaginals estaven determinades —programades respecte a la seva futura via de desenvolupament embrionària— ja des de l'etapa del blastoderma. Encara que el blastoderma es presenta com una capa unicel·lular homogènia, les seves cèl·lules ja estan programades i existeix un mapa invisible sobre el seu destí; és el que més tard podríem visualitzar mitjançant marcadors moleculars.

Com que el treball de François Jacob i de Jacques Monod havia revelat l'existència, almenys en els bacteris, de gens que tenen la funció de regular l'activitat d'altres gens, Alan Garen i jo vam conjecturar que els gens homeòtics, com el cas de l'*Antennapedia*, eren també gens reguladors. Walter Gilbert i Benno Müller-Hill havien aïllat el repressor de la lactosa —el més conegut d'aquests gens reguladors bacterians— i havien demostrat que es tracta d'una proteïna capaç d'unir-se a seqüències específiques d'ADN en el genoma bacterià, inhibint així els seus gens diana, per la qual cosa nosaltres ens vam concentrar en les proteïnes de fixació de l'ADN.

Mitjançant mètodes sofisticats, vam intentar trobar diferències en les característiques de les proteïnes d'unió a l'ADN en diferents tipus de discs imaginals; per exemple, entre els discs de les potes i els de les antenes o ales. No obstant això, els mètodes disponibles en aquell moment no eren prou sensibles per detectar diferències en aquestes proteïnes, que presenten una baixa concentració. Ara bé, si girem la vista enrere, és gratificant observar que anàvem ben encaminats.

L'arribada de la clonació genètica: el descobriment de l'*homeobox*

El desenvolupament de noves tècniques és extremament important en ciència, ja que obre noves perspectives davant de qüestions que abans no es podien resoldre. Em vaig enfrontar a la dificultat d'identificar el producte del gen *Antennapedia* (o nasobemia), i el fet d'intentar aïllar, d'entre milers, el producte d'un sol gen era com buscar una agulla en un paller. No obstant això, la clonació genètica em va obrir les portes.

A partir dels mètodes desenvolupats per Stanley Cohen i Herb Boyer, el meu amic David Hogness i els seus col·laboradors de la Universitat de Stanford havien aïllat els primers gens de *Drosophila*. Els primers gens aïllats estaven repetits moltes vegades en el genoma o bé s'expressaven tan clarament que el seu producte gènic es podia aïllar amb mètodes bioquímics. Tanmateix, el gen *Antennapedia* no es repetia i no teníem cap indicatiu sobre la naturalesa del seu producte gènic, excepte per la suposició que podia ser una proteïna reguladora gènica capaç d'unir-se a l'ADN dels seus gens diana. El problema era que aquestes proteïnes s'expressen normalment a concentracions molt baixes i eren difícils de purificar.

En aquell moment, David Hogness i el seu equip van desenvolupar un mètode anomenat *recorregut cromosòmic*, que permetia la clonació de qualsevol gen la posició del qual s'hagués identificat amb exactitud a partir de les mutacions corresponents. El recorregut començava amb un segment prèviament clonat d'ADN, que es cartografiava fins al més a prop possible del gen que s'havia d'aïllar, en el nostre cas l'*Antennapedia*. Progressivament, s'aïllaven segments superposats d'ADN, pas a pas, fins a assolir el gen que es volia aïllar. D'aquesta manera, David Hogness i els seus col·laboradors van clonar el gen homeòtic del complex *bithorax*, i el meu equip va emprendre un «recorregut cromosòmic» per identificar l'*Antennapedia*.

Els primers que ho van aconseguir van ser Richard Garber i Atsushi Kuroiwa, dos dels meus becaris postdoctorals. El «recorregut cromosòmic» per aïllar el gen *Antennapedia* va durar més de tres anys i mig, però finalment els esforços van donar fruit. En cartografiar els segments clonats de l'ADN en el mapa físic i comparar-los amb els del mapa genètic, Richard Garber va fer la interessant observació que un dels segments de l'ADN trobats en el gen *Antennapedia* presentava hibridació encreuada amb un gen veí, cosa que indicava que el gen *Antennapedia* i el seu gen veí compartien algunes seqüències comunes de l'ADN. Es tractava del primer indici de l'*homeobox*.

Com ocorre en molts descobriments, com ja apuntava Louis Pasteur, «en el camp de l'observació, l'oportunitat només afavoreix la ment preparada». En realitat, nosaltres buscàvem aquestes homologies perquè Ed Lewis havia proposat que els gens homeòtics, que s'agrupen en el tercer cromosoma, es podien haver originat a partir de la duplicació gènica, la qual cosa significava que compartien algunes seqüències similars. El gen veí adjacent a l'*Antennapedia* va ser identificat per Atsushi Kuroiwa com *fushi tarazu* (que significa 'segments insuficients'), un gen que controla la segmentació en l'embrió. William McGinnis va detallar la naturalesa de l'homologia entre el gen *Antennapedia* i el *fushi tarazu*. Curiosament, no es distribuïa per tot el gen, sinó que es limitava a un curt segment de 180 parells de bases. I com que també vam trobar aquest mateix segment en el gen *Ultrabithorax*, un altre gen homeòtic aïllat al laboratori de David Hogness, el vam anomenar *homeobox*.

L'*homeobox* codifica un segment específic de les proteïnes homeòtiques, que vam anomenar homeodomini. Les proteïnes homeòtiques tenen una funció reguladora gènica i utilitzen els seus homeodomini

per reconèixer els seus gens diana i unir-s'hi, a fi d'activar-los o de reprimir-los. Utilitzant l'*homeobox* com una sonda, podíem aïllar un conjunt complet d'altres gens homeòtics en l'espècie *Drosophila*, la qual cosa justificava el terme *homeobox*. Més endavant, vam demostrar de manera definitiva que els gens homeòtics tenen una funció reguladora gènica i codifiquen les proteïnes d'unió a seqüències específiques de l'ADN, com jo sempre havia sospitat. Serveixen com a gens principals (*master genes*) del control del desenvolupament i determinen el pla corporal. Aquest punt es va demostrar clarament mitjançant l'expressió en tota la mosca del gen *Antennapedia* aïllat, especialment als discs antenals de larves joves. En aquestes circumstàncies, les antenes es transformaven en potes. Aquest experiment el va fer Stephan Schneuwly, un dels meus doctorands, i va ser el nostre primer èxit de redissenyar la mosca del vinagre.

El gen *fushi tarazu* ens va proporcionar pistes fonamentals sobre l'establiment del pla corporal. En aquell moment, Ernst Hafen i Michael Levine, del meu laboratori, van fer un altre avenç tècnic important: van desenvolupar el mètode d'hibridació in situ, cosa que ens va permetre detectar, en talls de teixit, les transcripcions de l'ARN missatger de gens homeòtics com l'*Antennapedia*. Quan Atsushi Kuroiwa va aïllar el gen *fushi tarazu*, ell i Ernst Hafen van voler aplicar aquesta nova tècnica a aquest gen de segmentació. Els embrions amb el mutant *fushi tarazu* manquen de segments corporals alterns i els embrions acaben tenint només la meitat del nombre de segments, cosa que sens dubte és mortal. Aquest fet indicava que el *fushi tarazu* s'expressa normalment en segments alterns.

A fi de localitzar les transcripcions del *fushi tarazu* (ARN missatger), Atsushi i Ernst van hibridar l'ADN marcat radioactivament del *fushi tarazu* en seccions de l'embrió normal en les seves fases inicials. Mai no oblidaré el moment en què em van cridar perquè ho mirés al microscopi: s'observaven les bandes segmentals, que representaven el pla corporal de l'embrió en una etapa en què totes les cèl·lules semblaven idèntiques.

A partir d'aquell moment, vam investigar el gen *Antennapedia*, des de les potes antenals fins a arribar al nivell atòmic. En col·laboració amb Kurt Wüthrich, vam determinar l'estructura de l'homeodomini d'*Antennapedia* i de la seva unió a la regió diana de l'ADN mitjançant espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear amb resolució atòmica. Era una llarga trajectòria, des de les potes antenals fins a

l'homeodomini amb resolució atòmica. Si l'*homeobox* s'hagués trobat exclusivament en insectes, la troballa hauria tingut una repercussió escassa. Tanmateix, poc després del seu descobriment, després d'un animat debat en un seminari del departament, Eddy de Robertis i jo vam decidir esbrinar si els vertebrats també tenien *homeobox*, sabent que els vertebrats i els insectes presenten models de desenvolupament molt diferents. Al cap de poc temps, Andrés Carrasco i Bill McGinnis van clonar el primer gen d'*homeobox* de la granota *Xenopus*.

En col·laboració amb Frank Ruddle, es van clonar els primers gens amb *homeobox* de ratolins i, a partir del treball de Denis Duboule, sobretot, es va descobrir que, com a *Drosophila*, els gens homeòtics del ratolí també estan agrupats i distribuïts al llarg del cromosoma en el mateix ordre en què s'expressen en l'eix anteroposterior del cos, des del cap fins a la cua. Cada vegada hi ha més proves que en els vertebrats i invertebrats s'utilitzen els mateixos gens homeòtics per especificar el pla corporal, cosa que també és vàlida per als éssers humans. Per tant, el descobriment de l'*homeobox* va revelar un principi universal i proporciona un concepte unificat del desenvolupament.

Gens principals reguladors del desenvolupament de l'ull

En un experiment comparatiu, la meua doctoranda Rebecca Quiring va clonar un gen de *Drosophila* que és homòleg al gen *Pax6* del ratolí. El gen *Pax6* del ratolí va ser aïllat per Claudia Walther i Peter Gruss, i el gen equivalent humà, per Ton i els seus col·laboradors. Els gens clonats corresponen a les mutacions d'ull petit en el ratolí i d'anirídia en els éssers humans. En cas d'homozigosi, amb ambdues còpies del gen defectuós, els embrions mutants no tenen ulls ni nas i presenten una lesió cerebral greu, per la qual cosa moren. El gen *Pax6* conté dues seqüències, una homeoseqüència i una seqüència aparellada que codifiquen en la mateixa proteïna dos dominis diferents d'unió a l'ADN. La troballa d'un homòleg de *Pax6* en l'espècie *Drosophila* no va resultar estranya, però el fet sorprenent va ser que el gen clonat de *Drosophila*, segons va demostrar Uwe Walldorf, corresponia a la mutació sense ulls de *Drosophila*. Va ser una gran sorpresa, perquè tots els llibres expliquen que l'ull compost dels insectes i l'ull «tipus càmera» dels vertebrats van evolucionar separadament, i que els diversos tipus d'ulls trobats en diferents fílums animals tenen un origen independent en l'evolució, és a dir, segons un model polifilètic. Al contrari, les nostres dades em feien pensar que els diversos tipus

d'ulls podrien compartir bàsicament el mateix programa genètic i que el *Pax6* podria ser el gen principal regulador universal del desenvolupament de l'ull.

Quan vaig presentar aquesta idea en el congrés anual sobre *Drosophila* a Creta, els meus col·legues s'hi van mostrar reticents. Vaig proposar induir l'expressió del gen *Pax6* en altres regions del cos per descobrir si aquest gen aïllat podia donar lloc a la formació d'un ull. Vaig convèncer dos dels meus col·laboradors, Patrick Callaerts i Georg Halder, perquè duguessin a terme aquest absurd experiment, mitjançant l'expressió del gen *Pax6* de *Drosophila* en altres regions del cos de l'embrió i la larva.

Finalment, els resultats d'aquest experiment van aparèixer a la primera pàgina del *New York Times* i a la revista *Science*. Per a sorpresa de tothom, un sol gen principal regulador del desenvolupament (*Pax6*) és capaç d'induir tota una cascada de gens, uns 2.000, necessaris per a la morfogènesi de l'ull, cosa que origina un ull compost complet i funcional a les antenes, les ales o les potes de la mosca.

Noves perspectives en l'evolució de l'ull

Fins i tot el gen *Pax6* del ratolí introduït a *Drosophila* és capaç d'induir-li un ull, per descomptat un ull de *Drosophila*, ja que el gen *Pax6* del ratolí és tan sols l'interruptor principal que activa tota la cascada de gens que proporciona *Drosophila*. Més recentment, també vam aconseguir dur a terme l'experiment recíproc d'induir altres estructures de l'ull en la granota, mitjançant la injecció d'ARN misatger del gen *Pax6* de *Drosophila* en embrions de granota. Aquests resultats indiquen que els gens *Pax6* dels insectes i dels mamífers són intercanviables.

Com que també trobem un gen *Pax6* en platihelminths, nematodes, mol·luscs i molts altres filums animals, estem convençuts que els diferents tipus d'ull tenen un origen monofilètic. Aquesta idea resol l'antic problema de l'evolució de l'ull plantejat per Charles Darwin a *L'origen de les espècies*, on confessava espontàniament que «sembla completament absurd suposar que l'ull, amb totes les seves inimitables disposicions per acomodar el focus a diferents distàncies, per admetre una quantitat variable de llum i per a la correcció de les aberracions esfèrica i cromàtica, es formés per selecció natural». Tanmateix, a continuació, l'autor planteja una solució al dilema i propo-

sa un ull prototípic: «l'òrgan més senzill al qual es pot donar el nom d'*ull* consisteix en un nervi òptic —fotoreceptor— envoltat per cèl·lules pigmentàries i cobert per pell translúcida, però sense cristal·lí ni un altre cos refringent». Aquests ulls prototípics formats per un sol fotoreceptor i una sola cèl·lula pigmentària poden trobar-se en certs platihelminths i larves d'anèl·lids. Darwin sosté que «si es pot demostrar que hi ha moltes gradacions, des d'un ull senzill i imperfecte fins a un ull complex i perfecte, i cada grau és útil a l'animal que el posseeixi [...]», la teoria de la selecció natural pot proporcionar una explicació vàlida. Les nostres dades sobre l'origen monofilètic dels ulls corroboren completament l'opinió de Darwin.

Els neodarwinistes com Salvini-Plaven i Ernst Mayr han proposat que els ulls dels diferents fílums s'han transformat de manera independent d'unes 40 a 60 vegades, cosa que és incompatible amb la teoria de Darwin. La selecció natural pot actuar només com a força impulsora una vegada que l'ull prototípic s'hagi desenvolupat. Per tant, l'evolució del prototip és un esdeveniment estocàstic rar, i la probabilitat de la formació d'un prototip és molt petita.

Com que el *Pax6* és un factor de transcripció que pot regular bàsicament qualsevol gen que tingui les seqüències reguladores apropiades, no hi ha una necessitat funcional que el *Pax6* controli el desenvolupament de l'ull en tots els fílums avaluats fins ara. La raó que el *Pax6* controli el desenvolupament de l'ull ha de ser històrica, és a dir, el *Pax6* es va veure implicat en el desenvolupament de l'ull prototípic i es va conservar en els diferents tipus d'ull que s'han originat a partir d'aquest únic prototip. En l'evolució, les verdaderes noves «invencions» són rares i la diversitat de la vida es genera per allò que François Jacob ha anomenat *bricolatge de l'evolució*.

Excelentísimo y Magnífico Señor Rector
de la Universitat de Barcelona,
dignísimas autoridades académicas,
señoras y señores:

Mi vida en la ciencia

Mi trayectoria como biólogo comenzó cuando tan sólo era un niño, al observar la eclosión de una maravillosa mariposa de su capullo. Enseguida me asaltaron preguntas sobre la metamorfosis y el desarrollo de un ser tan extraordinario como la mariposa. Este tipo de misterios me han perseguido durante toda mi vida. Han sido el estímulo de mis investigaciones a lo largo de los últimos cincuenta años y me han permitido descifrar algunos de los grandes secretos del desarrollo y la evolución.

Moscas con patas en la cabeza

Cuando realizaba el doctorado, descubrí una mutación que transforma las antenas de la cabeza de la mosca en un par de patas medias. Estos mutantes se denominan *homeóticos*, lo que indica que transforman una cosa a imagen y semejanza de otra; por ejemplo, antenas por patas. Por el poeta alemán Christian Morgenstern —que en uno de sus poemas describía a un animal imaginario que caminaba con la nariz y que se llamaba Nasobem—, bauticé a este mutante *nasobemia*.

Elaboré su mapa genético y descubrí que la mutación se asemeja al gen *Antennapedia*, descrito con anterioridad, pero en aquel momento no disponíamos de métodos para saber si esas mutaciones dominantes afectaban a los mismos genes o a dos genes distintos íntimamente ligados. En un breve artículo describí detalladamente los efectos fenotípicos de la mutación, presenté los datos del mapa genético e interpreté el gen afectado como un gen regulador involucrado en la activación de todos los genes necesarios para formar una pata. Se trataba de una conclusión audaz, pero, con el tiempo, se ha visto

que estaba completamente en lo cierto. Y desde que descubrí esta fascinante mutación, le he tenido un especial apego. Intuitivamente, sabía que proporcionaba la clave para conocer las decisiones sobre el destino de una célula (si debía formarse una célula de antena o de pata), pero en aquel momento parecía imposible identificar la base molecular y el mecanismo genético de aquel gen.

El enfoque molecular

Cuando decidí investigar la base molecular de la acción de los genes homeóticos, la mayoría de mis colegas con más experiencia se mostraron muy escépticos. Los biólogos moleculares consideraban que un gen que controlara un gran número de genes para convertir una antena en pata era un problema demasiado complicado de resolver. Ellos se centraban sobre todo en genes individuales que codificaban una sola enzima. De hecho, los biólogos «clásicos» se mostraban críticos con el enfoque molecular en su conjunto: consideraban que los biólogos moleculares no planteaban las preguntas adecuadas.

A pesar de todo, yo no me dejé llevar por aquellos comentarios y decidí trasladarme a los Estados Unidos, que en aquel entonces era la meca de la biología molecular, para hacer estudios posdoctorales. Me uní al equipo de Alan Garen, de la Universidad de Yale, que tenía formación biofísica y su método era mucho más riguroso y cuantitativo que el de los biólogos clásicos. Por ello, no sólo aprendí biología molecular, sino que también me acostumbé a diseñar e interpretar los experimentos de forma más rigurosa.

Desde el punto de vista de la biología molecular, la especie *Drosophila* presentaba una desventaja importante: su tejido en forma pura para el análisis bioquímico era difícil de obtener. Por ello, ampliamos los estudios desde los discos imaginales a los embriones, que pueden obtenerse en cantidades más grandes. Al disociar los embriones en la etapa temprana del blastodermo, reagrupar las células y cultivarlas in vivo, pudimos demostrar que las células precursoras de los discos imaginales estaban determinadas —programadas respecto a su futura vía de desarrollo embrionaria— ya desde la etapa del blastodermo. Aunque el blastodermo se presenta como una capa unicelular homogénea, sus células ya están programadas y existe un mapa invisible sobre su destino; es lo que más tarde visualizaríamos mediante marcadores moleculares.

Puesto que el trabajo de François Jacob y de Jacques Monod había revelado la existencia, por lo menos en las bacterias, de genes cuya función es regular la actividad de otros genes, Alan Garen y yo conjeturamos que los genes homeóticos, como el caso del *Antennapedia*, eran también genes reguladores. Walter Gilbert y Benno Müller-Hill habían aislado el represor de la lactosa —el más conocido de estos genes reguladores bacterianos— y habían demostrado que se trata de una proteína capaz de unirse a secuencias específicas de ADN en el genoma bacteriano, inhibiendo así sus genes diana, por lo que nosotros nos concentramos en las proteínas de fijación de ADN.

Mediante sofisticados métodos, intentamos encontrar diferencias en las características de las proteínas de unión al ADN en distintos tipos de discos imaginales; por ejemplo, entre los discos de las patas y los de las antenas o alas. No obstante, los métodos disponibles en aquel momento no eran lo suficientemente sensibles para detectar diferencias en esas proteínas, que presentan una baja concentración. Con todo, volviendo la vista atrás, es gratificante observar que íbamos bien encaminados.

La llegada de la clonación genética: el descubrimiento del *homeobox*

El desarrollo de nuevas técnicas es extremadamente importante en la ciencia, puesto que abre nuevas perspectivas ante cuestiones que antes no podían resolverse. Yo me enfrenté a la dificultad de identificar el producto del gen *Antennapedia* (o nasobemia), e intentar aislar el producto de un solo gen entre otros miles era como buscar una aguja en un pajar. No obstante, la clonación genética me abrió las puertas.

A partir de los métodos desarrollados por Stanley Cohen y Herb Boyer, mi amigo David Hogness y sus colaboradores de la Universidad de Stanford habían aislado los primeros genes de *Drosophila*. Los primeros genes aislados estaban repetidos muchas veces en el genoma o bien se expresaban tan claramente que su producto génico se podía aislar con métodos bioquímicos. Sin embargo, el gen *Antennapedia* no se repetía y no poseíamos ningún indicio sobre la naturaleza de su producto génico, salvo por la suposición de que podía ser una proteína reguladora génica capaz de unirse al ADN de sus genes diana. El problema era que esas proteínas se expresan normalmente en concentraciones muy bajas y eran difíciles de purificar.

En aquel momento, David Hogness y su equipo desarrollaron un método denominado *paseo cromosómico*, que permitía la clonación de cualquier gen cuya posición se hubiera identificado con exactitud a partir de las correspondientes mutaciones. El recorrido empezaba con un segmento previamente clonado de ADN, que se cartografiaba hasta lo más cerca posible del gen que debía aislarse, en nuestro caso el *Antennapedia*. Progresivamente, se aislaban segmentos superpuestos de ADN, paso a paso, hasta alcanzar el gen que se deseaba aislar. De este modo, David Hogness y sus colaboradores clonaron el gen homeótico del complejo *bithorax*, y mi equipo emprendió un «paseo cromosómico» para identificar el *Antennapedia*.

Los primeros que lo lograron fueron Richard Garber y Atsushi Kuroiwa, dos de mis becarios posdoctorales. El «paseo cromosómico» para aislar el gen *Antennapedia* duró más de tres años y medio, pero finalmente los esfuerzos fructificaron. Al cartografiar los segmentos clonados de ADN en el mapa físico y compararlos con los del mapa genético, Richard Garber hizo la interesante observación de que uno de los segmentos de ADN hallados en el gen *Antennapedia* presentaba hibridación cruzada con un gen vecino, lo que indicaba que el gen *Antennapedia* y su gen vecino compartían algunas secuencias comunes de ADN. Se trataba del primer indicio del *homeobox*.

Como ocurre en muchos descubrimientos y haciéndonos eco de las palabras de Louis Pasteur: «en el campo de la observación, la oportunidad sólo favorece a la mente preparada». En realidad, nosotros buscábamos tales homologías porque Ed Lewis había propuesto que los genes homeóticos, que se agrupan en el tercer cromosoma, se podían haber originado a partir de la duplicación génica, lo que significaba que compartían algunas secuencias similares. El gen vecino adyacente al *Antennapedia* fue identificado por Atsushi Kuroiwa como *fushi tarazu* (que significa ‘segmentos insuficientes’), un gen que controla la segmentación en el embrión. William McGinnis detalló la naturaleza de la homología entre el gen *Antennapedia* y el *fushi tarazu*. Curiosamente, no se distribuía por todo el gen, sino que se limitaba a un corto segmento de 180 pares de bases. Y como también encontramos este mismo segmento en el gen *Ultrabithorax*, otro gen homeótico aislado en el laboratorio de David Hogness, lo denominamos *homeobox*.

El *homeobox* codifica un segmento específico de las proteínas homeóticas, al que dimos el nombre de homeodominio. Las proteínas

homeóticas poseen una función reguladora génica y utilizan sus homeodominios para reconocer sus genes diana y unirse a ellos, con el fin de activarlos o de reprimirlos. Utilizando el *homeobox* como una sonda, podíamos aislar un conjunto completo de otros genes homeóticos en *Drosophila*, lo que justificaba el término de *homeobox*. A posteriori, demostramos de manera definitiva que los genes homeóticos tienen una función reguladora génica y codifican las proteínas de unión a secuencias específicas de ADN, como yo siempre había sospechado. Sirven como genes principales (*master genes*) del control del desarrollo y determinan el plano corporal. Este punto se demostró claramente mediante la expresión en toda la mosca del gen *Antennapedia* aislado, especialmente en los discos antenales de larvas jóvenes. En estas circunstancias, las antenas se transformaban en patas. Este experimento fue realizado por Stephan Schneuwly, uno de mis doctorandos, y fue nuestro primer éxito en el rediseño de la mosca del vinagre.

El gen *fushi tarazu* nos proporcionó unas pistas fundamentales sobre el establecimiento del plano corporal. En aquel momento, Ernst Hafen y Michael Levine, de mi laboratorio, realizaron otro avance técnico importante: desarrollaron el método de hibridación in situ, lo que nos permitió detectar, en cortes de tejido, las transcripciones del ARN mensajero de genes homeóticos como el *Antennapedia*. Cuando Atsushi Kuroiwa aisló el gen *fushi tarazu*, él y Ernst Hafen quisieron aplicar esta nueva técnica a este gen de segmentación. Los embriones con el mutante *fushi tarazu* carecen de segmentos corporales alternos y los embriones terminan por poseer solamente la mitad del número de segmentos, lo que por supuesto es mortal. Este hecho indicaba que el *fushi tarazu* se expresa normalmente en segmentos alternos.

Con el fin de localizar las transcripciones del *fushi tarazu* (ARN mensajero), Atsushi y Ernst hibridaron el ADN marcado radioactivamente del *fushi tarazu* en secciones del embrión normal en sus fases iniciales. Nunca olvidaré el momento en que me llamaron para mirar en el microscopio: se observaban las bandas segmentales, que representaban el plano corporal del embrión en una etapa en que todas las células parecían idénticas.

A partir de ahí, investigamos el gen *Antennapedia*, desde las patas antenales hasta llegar al nivel atómico. En colaboración con Kurt Wüthrich, determinamos la estructura del homeodominio de *Antennapedia* y de su unión a la región diana del ADN mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear con resolución atómica.

Era una larga trayectoria, desde las patas antenales hasta el homeodominio con resolución atómica. Si el *homeobox* se hubiera encontrado exclusivamente en insectos, el hallazgo habría tenido una escasa repercusión. Sin embargo, poco después de su descubrimiento, tras un animado debate en una reunión de departamento, Eddy de Robertis y yo decidimos averiguar si los vertebrados también poseían *homeobox*, a sabiendas de que los vertebrados y los insectos presentan modelos de desarrollo muy distintos. Al cabo de poco tiempo, Andrés Carrasco y Bill McGinnis clonaron el primer gen con *homeobox* de la rana *Xenopus*.

En colaboración con Frank Ruddle, se clonaron los primeros genes con *homeobox* de ratones, y a partir del trabajo de Denis Duboule, sobre todo, se descubrió que, como en *Drosophila*, los genes homeóticos del ratón también están agrupados y distribuidos a lo largo del cromosoma en el mismo orden en que se expresan en el eje anteroposterior del cuerpo, desde la cabeza hasta la cola. Existen cada vez más pruebas de que en los vertebrados e invertebrados se utilizan los mismos genes homeóticos para especificar el plano corporal, lo que también es válido para los seres humanos. Por lo tanto, el descubrimiento del *homeobox* desveló un principio universal y proporciona un concepto unificado del desarrollo.

Genes principales reguladores del desarrollo del ojo

En un experimento comparativo, mi doctoranda Rebecca Quiring clonó un gen de *Drosophila* que es homólogo al gen *Pax6* del ratón. El gen *Pax6* del ratón fue aislado por Claudia Walther y Peter Gruss, y el gen equivalente humano, por Ton y sus colaboradores. Los genes clonados corresponden a las mutaciones de ojo pequeño en el ratón y de aniridia en los seres humanos. En caso de homocigosis, con ambas copias del gen defectuoso, los embriones mutantes carecen de ojos y nariz y presentan una lesión cerebral grave, por lo que mueren. El gen *Pax6* contiene dos secuencias, una homeosecuencia y una secuencia emparejada que codifican en la misma proteína dos dominios distintos de unión al ADN. El hallazgo de un homólogo de *Pax6* en *Drosophila* no resultó extraño, pero la sorpresa fue que el gen clonado de *Drosophila*, según demostró Uwe Walldorf, correspondía a la mutación sin ojos de *Drosophila*. Esto fue una enorme sorpresa, puesto que todos los libros explican que el ojo compuesto de los insectos y el ojo «tipo cámara» de los vertebrados evolucionaron por separado, y que los diversos tipos de ojos encontrados en diferentes filos

animales tienen un origen independiente en la evolución, es decir, según un modelo polifilético. Por el contrario, nuestros datos me hacían pensar que los diversos tipos de ojos podrían compartir básicamente el mismo programa genético y que el *Pax6* podría ser el gen principal regulador universal del desarrollo del ojo.

Cuando presenté esta idea en el congreso anual sobre *Drosophila* en Creta, mis colegas se mostraron reticentes. Propuse inducir la expresión del gen *Pax6* en otras regiones del cuerpo para averiguar si este gen aislado podía dar lugar a la formación de un ojo y convencí a dos de mis colaboradores, Patrick Callaerts y Georg Halder, para que llevaran a cabo este descabellado experimento, mediante la expresión del gen *Pax6* de *Drosophila* en otras regiones del cuerpo del embrión y la larva.

Los resultados de este experimento aparecieron en primera plana del *New York Times* y en la revista *Science*. Para sorpresa de todo el mundo, un solo gen principal regulador del desarrollo (*Pax6*) es capaz de inducir toda una cascada de genes, unos 2.000, necesarios para la morfogénesis del ojo, lo cual origina un ojo compuesto completo y funcional en las antenas, las alas o las patas de la mosca.

Nuevas perspectivas en la evolución del ojo

Incluso el gen *Pax6* del ratón introducido en *Drosophila* es capaz de inducirle un ojo, por supuesto un ojo de *Drosophila*, ya que el gen *Pax6* del ratón es tan sólo el interruptor principal que activa toda la cascada de genes que proporciona *Drosophila*. Más recientemente, también logramos llevar a cabo el experimento recíproco de inducir otras estructuras del ojo en la rana, mediante la inyección de ARN mensajero del gen *Pax6* de *Drosophila* en embriones de rana. Estos resultados indican que los genes *Pax6* de los insectos y de los mamíferos son intercambiables.

Puesto que también encontramos un gen *Pax6* en platelmintos, nematodos, moluscos y muchos otros filos animales, estamos convencidos de que los distintos tipos de ojo tienen un origen monofilético. Esta idea resuelve el antiguo problema de la evolución del ojo planteado por Charles Darwin en *El origen de la especie*, donde él confesaba espontáneamente lo siguiente: «parece completamente absurdo suponer que el ojo, con todas sus inimitables disposiciones para acomodar el foco a diferentes distancias, para admitir una canti-

dad variable de luz y para la corrección de las aberraciones esférica y cromática, se formara por selección natural». Sin embargo, a continuación, el autor planteaba una solución al dilema y proponía un ojo prototípico: «el órgano más sencillo al que se puede dar el nombre de *ojo* consiste en un nervio óptico —fotorreceptor— rodeado por células pigmentarias y cubierto por piel translúcida, pero sin cristalino ni otro cuerpo refringente». Estos ojos prototípicos formados por un solo fotorreceptor y una sola célula pigmentaria pueden encontrarse en ciertos platelmintos y larvas de anélidos. Darwin sostiene que «si se puede demostrar que existen muchas gradaciones, desde un ojo sencillo e imperfecto a un ojo complejo y perfecto, siendo cada grado útil al animal que lo posea [...]», la teoría de la selección natural puede proporcionar una explicación válida. Nuestros datos sobre el origen monofilético de los ojos corroboran completamente la opinión de Darwin.

Los neodarwinistas como Salvini-Plaven y Ernst Mayr han propuesto que los ojos de los distintos filos se han transformado de modo independiente de unas 40 a 60 veces, lo que es incompatible con la teoría de Darwin. La selección natural puede actuar solamente como fuerza impulsora una vez que el ojo prototípico se haya desarrollado. Por lo tanto, la evolución del prototipo es un acontecimiento estocástico raro, y la probabilidad de la formación de un prototipo es muy pequeña.

Puesto que el *Pax6* es un factor de transcripción que puede regular básicamente cualquier gen que posea las secuencias reguladoras apropiadas, no hay una necesidad funcional de que el *Pax6* controle el desarrollo del ojo en todos los filos evaluados hasta ahora. La razón de que el *Pax6* controle el desarrollo del ojo debe ser histórica, es decir, el *Pax6* se vio implicado en el desarrollo del ojo prototípico y se conservó en los distintos tipos de ojo que se han originado a partir de este único prototipo. En la evolución, las verdaderas nuevas «invenciones» son raras y la diversidad de la vida se genera por lo que François Jacob ha denominado *bricolaje de la evolución*.

Rector, dignitaries, professors, ladies and gentlemen:

My life in science

My journey as a biologist began when I was a small boy, watching the eclosion of a marvellous butterfly from its pupal case. Immediately, I was hooked on the problem of metamorphosis and the questions of how a creature as wonderful as a butterfly develops. These mysteries have haunted me for my entire life. They have provided the stimulus for my research over the last fifty years and have allowed me to decipher some of the great secrets of development and evolution.

Flies with legs on their heads

At the time when I was a graduate student, I discovered a mutation that transforms the antennae on the head of the fly into a pair of middle legs. Such mutants are called homeotic, indicating that they transform something into the likeness of something else: for example, antennae into legs. I called this mutant *Nasobemia*, in honour of the German poet Christian Morgenstern who, in one of his poems, had described an imaginary animal that can walk on its nose, called the *Nasobem*. I mapped it genetically and found that it is localized close to the previously described *Antennapedia* gene; but at that time there were no methods available to decide whether these dominant mutations affected the same gene or two different, closely linked genes. In a short paper I carefully described the phenotypic effects of the mutation and presented the genetic mapping data, and in the discussion I interpreted the affected gene as a regulatory gene involved in the activation of all the genes that are required to form a leg. This was a bold conclusion, but in retrospect it was absolutely correct. Ever since I found this fascinating mutant, I have been emotionally attached to it.

It was intuitively clear to me that it provided the key to the understanding of cell fate decisions – the question of whether an antennal or a leg cell should be formed – but at that time it seemed to be impossible to get at the molecular basis and the genetic mechanism by which this gene acted.

The molecular approach

When I decided to try to understand the molecular basis of homeotic gene action, most of my senior colleagues were highly skeptical. The molecular biologists thought that the idea of a gene controlling a large number of other genes to convert an antenna into a leg was much too complex a problem to solve; they were focussing mostly on single genes encoding a single enzyme. The “classical” biologists were critical of the molecular approach altogether, and thought that the molecular biologists were not asking the right questions anyway. I was not discouraged by these comments and took up a postdoctoral fellowship in the United States, the Mecca for molecular biology at that time. I joined the group at Yale run by Alan Garen; Garen was trained as a biophysicist and his thinking was much more rigorous and quantitative than that of the classical biologists. Therefore, I learnt not only molecular biology from him, but also how to design and interpret experiments more rigorously. For molecular biology, *Drosophila* had one major disadvantage: it was difficult to obtain enough tissue in pure form for biochemical analysis. Therefore, we first extended the studies from imaginal discs to embryos which can be obtained in larger quantities. By dissociating embryos at the early blastoderm stage, reaggregating the cells and culturing them *in vivo*, we could show that the imaginal disc precursor cells became determined (programmed for their future developmental pathway) as early as the blastoderm stage. Although the blastoderm appears as a homogeneous single cell layer, its cells are already programmed and an invisible fate map exists which we were later able to visualize using molecular markers.

Since the work of François Jacob and Jacques Monod had shown that genes with the function of regulating the activity of other genes exist, at least in bacteria, Alan Garen and I speculated that homeotic genes, like *Antennapedia*, were also regulatory genes. Since Walter Gilbert and Benno Müller-Hill had purified the product of the *lac* repressor gene, the best characterized of these bacterial regulatory genes, and had shown that it is a protein capable of binding to specif-

ic DNA sequences in the bacterial genome, thereby repressing its target genes, we concentrated on DNA binding proteins. By using sophisticated methods we attempted to find differences in the pattern of DNA binding proteins in different kinds of imaginal discs, for example between leg and antennal or wing discs. But the methods available at that time were not sensitive enough to detect differences in those proteins which are only present in low concentrations. However, in retrospect, it is gratifying to see that we were on the right track.

The advent of gene cloning: Discovery of the homeobox

The development of new techniques is extremely important in science, since it opens up new approaches to problems that could not be solved before. I faced the problem of identifying the product of the *Antennapedia* (or *Nasobemia*) gene; I was trying to find a needle in the haystack, that is, to isolate a single gene product among thousands of others. This became possible by using gene cloning. Based upon the methods developed by Stanley Cohen and Herb Boyer, my friend David Hogness and his collaborators at Stanford had isolated the first *Drosophila* genes. The first genes to be isolated were either repeated many times in the genome or expressed so strongly that their gene product could be isolated biochemically. However, *Antennapedia* was not repetitive and we had no clue as to what the nature of its gene product could be, except for the speculation that it might be a gene regulatory protein capable of binding to the DNA of its target genes. However, such proteins are usually expressed in very low abundance and are difficult to purify. At that time, David Hogness and his group developed a method called “walking along the chromosome”, which allowed you to clone any gene whose position was known precisely from the corresponding mutations. The walk would start from a previously cloned DNA segment, mapping as closely as possible to the gene to be isolated (in our case *Antennapedia*) and progressively isolating overlapping DNA segments, step by step, until the gene to be isolated was reached. In this way David Hogness and his collaborators cloned the homeotic *bithorax* gene, and my group embarked upon a “chromosomal walk” to find *Antennapedia*. The walk was primarily carried out by Richard Garber and Atsushi Kuroiwa, two of my postdoctoral fellows. The “chromosomal walk” to isolate *Antennapedia* took more than three and a half years, but finally it paid off. When mapping the cloned DNA segments on the physical map and comparing it to the genetic map, Richard Garber made the interesting observation that one of the DNA segments found inside the

Antennapedia gene cross-hybridized with a neighbouring gene, suggesting that Antennapedia and its neighbouring gene shared some common DNA sequences. This was the first sign of the homeobox. As with many discoveries, only the prepared mind notices it, as Louis Pasteur noted. We were in fact looking for such homologies because Ed Lewis had proposed that homeotic genes, which are clustered on the third chromosome, could have arisen by gene duplication, which implied that they shared some similar sequences. The neighbouring gene adjacent to Antennapedia was identified by Atsushi Kuroiwa as *fushi tarazu* (meaning “not enough segments”), a gene controlling segmentation in the embryo. The nature of the homology between Antennapedia and *fushi tarazu* was pinned down by William McGinnis. Interestingly, it was not distributed across the entire gene, but confined to a short 180 basepair segment. Since we also found this same segment in *Ultrabithorax*, another homeotic gene isolated in David Hogness’s laboratory, we called it the homeobox. The homeobox encodes a specific segment of the homeotic proteins which we called the homeodomain. Homeotic proteins have a gene regulatory function and use their homeodomains to recognize and bind to their target genes in order to either activate or repress them. By using the homeobox as a probe, we were able to isolate an entire set of other homeotic genes of *Drosophila*, which justified the term “homeobox”. Later we proved definitively that homeotic genes have a gene regulatory function and encode sequence specific DNA binding proteins, as I had suspected all along: they serve as master control genes specifying the body plan. This point was clearly demonstrated by expressing the isolated Antennapedia gene all over the fly, in particular in the antennal discs of young larvae. Under these conditions the antennae are transformed into legs. This experiment was carried out by Stephan Schneuwly, one of my graduate students, and represented our first successful attempt at redesigning the fruitfly.

The *fushi tarazu* gene also provided some fundamental insights into how the body plan is established. At that time, another major technical breakthrough was achieved by Ernst Hafen and Michael Levine in my laboratory; they developed the method of *in situ* hybridization to the point where we were able to detect the messenger RNA transcripts of homeotic genes like Antennapedia in tissue sections. When Atsushi Kuroiwa had isolated the *fushi tarazu* gene, he and Ernst Hafen wanted to apply this novel technique to this segmentation gene. *Fushi tarazu* mutant embryos lack every other body seg-

ment and end up as embryos with only half the number of segments, which is of course lethal. This suggested that fushi tarazu is normally expressed in every other segment. In order to localize the fushi tarazu transcripts (messenger-RNA) Atsushi and Ernst hybridized the radioactively labelled fushi tarazu DNA to sections across the early normal embryo. I shall never forget the moment when they called me over to look into the microscope, and there were the segmental stripes, representing the body plan of the embryo at a stage when all the cells looked identical.

We then followed the Antennapedia gene from antennal legs all the way to the atomic level. In collaboration with Kurt Wüthrich, we determined the structure of the Antennapedia homeodomain and its complex with the DNA target site by nuclear magnetic resonance spectroscopy at atomic resolution. It was a long journey from antennal legs to the homeodomain at atomic resolution. If the homeobox had been found exclusively in insects, it would have had little impact. However, soon after its discovery, following a lively discussion in a departmental seminar, Eddy De Robertis and I decided to find out whether vertebrates also had homeoboxes, knowing very well that vertebrates and insects have very different modes of development. Within a short period of time the first homeobox gene from the frog *Xenopus* was cloned by Andres Carrasco and Bill McGinnis.

In collaboration with Frank Ruddle, the first mouse homeobox genes were cloned, and mainly through the work of Denis Duboule it was found that, as in *Drosophila*, the homeotic genes of the mouse are also clustered and arranged along the chromosome in the same order as they are expressed along the anterior-posterior body axis from head to tail. There is accumulating evidence that the same homeotic genes are used in both vertebrates and invertebrates to specify the body plan, and the same applies to humans. Therefore, the homeobox uncovered a universal principle and provides a unifying concept of development.

Master control genes in eye development

In a control experiment, my graduate student Rebecca Quiring quite accidentally cloned a *Drosophila* gene that is homologous to the mouse *Pax6* gene. The mouse *Pax6* gene was isolated by Claudia Walther and Peter Gruss and the corresponding human gene by Ton and collaborators. The cloned genes correspond to the mutations

Small eye in the mouse and to Aniridia in humans. In homozygous condition, with both copies of the gene defective, the mutant embryos lack eyes, noses and show serious brain damage, so they die. *Pax6* contains two boxes, a homeobox and a paired box encoding two different DNA binding domains in the same protein. The finding of a *Drosophila* homolog of *Pax6* was not unusual, but the surprise was that the cloned *Drosophila* gene corresponds to the mutation *eyeless* in *Drosophila* as shown by Uwe Walldorf. This was a total surprise, since all the textbooks tell you that the compound eye of insects and the camera-type eye of vertebrates have evolved separately, and that the various eye-types found in different animal phyla originated independently in evolution, that is, polyphyletically. In contrast, our findings suggested to me that the various eye-types might share basically the same genetic program and that *Pax6* might be the universal master control gene for eye development. When I presented this idea at our *Drosophila* workshop in Crete my colleagues were highly sceptical. I proposed to induce the expression of the *Pax6* gene in other regions of body in order to find out whether this single gene can induce the formation of an eye. I convinced two of my collaborators Patrick Callaerts and Georg Halder to try this crazy experiment, and to express the *Drosophila Pax6* gene in other body regions of the embryo and larva. The results of this experiment made the front page of the “New York Times” and the journal “Science”. To everybody’s surprise, a single master control gene (*Pax6*) is capable of inducing an entire cascade of some 2000 genes required for eye morphogenesis leading to a complete and functional compound eye on the antennae, wings or legs of the fly.

New perspectives on eye evolution

Even the mouse gene *Pax6* introduced into *Drosophila* is capable of inducing an eye, of course a *Drosophila* eye, since the mouse *Pax6* gene is only the main switch turning on the entire gene cascade which is provided by *Drosophila*. More recently, we also succeeded in the reciprocal experiment of inducing additional eye structures in the frog by injecting the messenger RNA from the *Drosophila Pax6* gene into frog embryos. This indicates that the insect and mammalian *Pax6* genes are interchangeable. Since we also found a *Pax6* gene in flat worms, round worms, molluscs, and a large number of other animal phyla, we are convinced that the various eye-types are of monophyletic origin. This solves the old problem of eye evolution that was raised by Charles Darwin in “The Origin of Species”, in which he freely

confesses that “to suppose that the eye with all its inimitable contrivances for adjusting the focus to different distances, for admitting different amounts of light, and for the correction of spherical and chromatic aberration could have been formed by natural selection, seems absurd to the highest degree”. However, he then finds a way out of the dilemma by postulating a prototypic eye, “the simplest organ which can be called an eye consists of an optic nerve” (photoreceptor), “surrounded by pigment cells and covered by translucent skin, but without any lens or other retractive body”. Prototypic eyes of this kind, consisting of a single photoreceptor and a single pigment cell, are found in certain flat worms and annelid worm larvae. Darwin argues that “if numerous gradations from a simple and imperfect eye to one complex and perfect can be shown to exist, each grade being useful to its possessor...” then the theory of natural selection may provide a valid explanation. Our data on the monophyletic origin of the eyes fully support Darwin’s view.

Neo-Darwinists like Salvini-Plaven and Ernst Mayr have proposed that the eyes of the various phyla have evolved independently 40 - 60 times, which is incompatible with Darwin’s theory. Natural selection can only work as a driving force once the prototypic eye has evolved. Therefore, evolution of the prototype is a rare stochastic event, and the probability of prototype formation is very small. Since *Pax6* is a transcription factor which basically can regulate any gene with the appropriate regulatory sequences, there is no functional necessity for it to control eye development in all the phyla tested so far. The reason for *Pax6* controlling eye development must be historical; it has been involved in the development of the prototypic eye and was conserved in all the various eye-types which have originated from this single prototype. Real new “inventions” are rare in evolution and the diversity of life is generated by what François Jacob has called evolutionary tinkering.

Publicacions i Edicions



UNIVERSITAT DE BARCELONA

