



Preisverleihung 1978

STIFTUNG
PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Heft Nr. 6

Cloning of Immunoglobulin Genes
(Klonierung von Immunglobulin-Genen)

STIFTUNG
PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Fünfte Preisverleihung

25. Oktober 1978
Basel

Heft Nr. 6 der Schriftenreihe
Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Kurhausstrasse 28, 8032 Zürich

INHALT

Begrüssung durch den Präsidenten des Stiftungsrats, Dr. Hans W. Kopp	5
Ansprache von Herrn Dr. Alfred Hartmann, Vizepräsident des Stiftungsrats, zum Gedenken an den Gründer unserer Stiftung, Herrn Dr. Antoine Cloëtta	8
Laudatio des Preisträgers, Herrn Dr. Susumu Tonegawa, durch Herrn Professor Dr. Niels K. Jerne	10
Urkunde	13
Kurzbiographie von Dr. Susumu Tonegawa	15
Einführung zum Festvortrag von Dr. Susumu Tonegawa	17
Festvortrag des Preisträgers mit dem Thema: "Cloning of Immunoglobulin Genes" (Klonierung von Immunglobulin-Genen)	19
Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta	24

BEGRÜSSUNG ZUR PREISVERLEIHUNG
VOM 25. OKTOBER 1978

Hans W. Kopp

Verehrte Anwesende,

Am 27. September 1973, also vor rund fünf Jahren, hat Herr Dr. Antoine Cloëtta in Zürich die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta gegründet. Die Stiftung dient der Unterstützung und Förderung der medizinischen Forschung und der damit zusammenhängenden naturwissenschaftlichen Disziplinen in der Schweiz und im Ausland. Mit der Schaffung des jährlich zu verleihenden Cloëtta-Preises zielte der Stifter auf die Auszeichnung schweizerischer und ausländischer Persönlichkeiten ab, die sich, wie er in der Stiftungsurkunde sagte, «in besonderer Weise um bestimmte Gebiete der medizinischen Forschung verdient gemacht haben».

Herr Dr. Antoine Cloëtta hat mit der Errichtung seiner Stiftung weitblickend und mit überlegter und überlegener Sicherheit gehandelt. Freilich war während der Aufbauphase eine praktische Arbeit erst in begrenztem Mass möglich. Aber rasch hat sich bestätigt, wie vielseitig und segensreich ein gewidmetes Vermögen mit den der Stiftung vorgegebenen Zielsetzungen sich wird auswirken können. Unsre Gegenwart ist ja nicht bloss eine Zeit der wuchernden Bürokratisierung im öffentlichen Bereich und bei den privaten Unternehmungen, der Erstickung der Regierung unter dem Gewicht der Verwaltung, der Auslieferung des Privaten in jedem Sinn und jeder Form an die Öffentlichkeit und den Staat. Die Zeit, in der wir leben, ist zu einer Zeit geworden, in der die früher einmal hart erkämpfte Freiheit und Eigenverantwortlichkeit der Forschung und Entwicklung von neuem keine Selbstverständlichkeit darstellt, in der die öffentliche Gewalt allgegenwärtig ist und jeder und alles von ihr und ihren Budgets abhängig wird, in der die schöpferischen Kräfte zu verkümmern drohen; auch wenn, wie der Pole Wieslaw Brudzinski gesagt hat, das Denken ein Laster bleibt, das man mit administrativen Mitteln schwerlich heilen kann.

Unter dem Gewicht solcher Eindrücke und Ideen, die in ihm während seiner letzten Jahre immer stärker wurden, hat Herr Dr. Antoine Cloëtta Ängstlichkeiten und Egoismen mit überhaupt jeder Versuchung kleinlichen Denkens energisch von sich geschoben und die grossen Linien für die künftige Verwendung eines grossen Vermögens mit Grossmut definiert. Er wird nicht überall verstanden werden, suchte dieses Verständnis zuletzt wohl gar nicht mehr. Er konzentrierte sich so sehr auf das eine ihm wichtig gewordene Ziel, dass er die Einsamkeit, in der er nunmehr entschied, nicht zu spüren schien. Seine Haltung und Entschlossenheit waren ein Appell, ihm zu helfen und zu folgen. Ausgesprochen, mündlich oder gar schriftlich, hat er diesen Appell nicht mehr.

Am 14. August 1978 ist Herr Dr. Antoine Cloëtta verstorben. Überraschend und viel zu früh für ihn selbst und für jedermann um ihn hat er diese Welt, an der er so sehr hing, und nicht zuletzt sein Château de Vernier für immer verlassen müssen. Sich selbst, seiner Familie, seinem Namen hat er mit der Gründung der Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta ein bleibendes grossartiges Denkmal gesetzt. Der Vizepräsident unsrer Stiftung, Herr Dr. Alfred Hartmann, wird anschliessend in einer separaten kurzen Ansprache seinen Lebenslauf skizzieren und seiner gedenken.

Nun aber darf ich mich an unseren heutigen Preisträger, Herrn Dr. Susumu Tonegawa, persönlich wenden und ihn in unsrer Mitte aufs herzlichste begrüssen.

Dear Dr. Tonegawa,

We are proud of you as one of the many guests of this country whose character, capability and personal performance set new standards for ourselves.

I readily admit that for myself, as for a few others in this room, it is not easy to understand and appreciate the unique results which you obviously did achieve in your research and underlying studies. However, let me tell you in perfect frankness that the highest terms of praise and admiration appeared to be unsatisfactory to the ones who

advised us when they recommended your nomination to us. Thus we could not be more thoroughly convinced than we are that this year the Foundation's Board of Trustees has made a particularly good choice, and that ultimately we are the ones who are honoured by the fact that you did accept the Cloëtta Award for 1978, and are with us and will speak to us later in this evening.

For many among us it is an extraordinary pleasure to greet and celebrate yourself not only as an individual, but also as a representative of one of the oldest and finest cultures and civilizations of this world. Personally I have spent quite a number of weeks in various parts of Japan, and feel enriched and inspired by many unforgettable experiences flavoured by that inimitable friendship and hospitality which is so typical of your "home base"; I would have regretted not to be able to reciprocate at least symbolically – and even so to an extremely modest extent – today.

Neben dem Preisträger heisse ich Herrn Professor Dr. Niels K. Jerne, der die Laudatio auf Herrn Dr. Susumu Tonegawa sprechen wird, besonders willkommen.

Sie nehmen es mir bitte nicht übel, wenn ich im übrigen auf namentliche Begrüssungen verzichte. Ein persönlicher Willkommgruss gelte einzig noch Frau Anne-Marie Cloëtta, der Schwester von Herrn Dr. Antoine Cloëtta, sowie seinen drei Neffen Yves, Jan und Reto Cloëtta und ihren Gemahlinnen; sie alle bezeugen die fortdauernde Verbundenheit der Familie Cloëtta mit der Stiftung, und wir sind ihnen für ihr Erscheinen ganz besonders dankbar.

Damit darf ich Herrn Dr. Hartmann bitten, die Persönlichkeit und das Wirken des Gründers unsrer Stiftung, Herrn Dr. Antoine Cloëtta selig, für uns nachzuzeichnen.

IN MEMORIAM DR. ANTOINE CLOËTTA

1902–1978

Alfred Hartmann

Vor 2½ Monaten, am 14. August 1978, ist für uns alle unerwartet der Gründer unserer Stiftung, Herr Dr. Antoine Cloëtta, gestorben. Noch Ende Juni hatte er an der Sitzung des Stiftungsrates zur Bestimmung des diesjährigen Preisträgers teilgenommen und mit uns Fragen der weiteren Ausgestaltung der Stiftung und deren Ziele besprochen. Es ziemt sich heute, da er nicht mehr unter uns ist, seiner besonders zu gedenken.

Dr. Antoine Cloëtta wurde in eine Familie geboren und wuchs in einer Umgebung auf, in der die Heilkunst seit Generationen im Mittelpunkt stand. Bereits seine beiden Grossväter hatten medizinische Lehrstühle inne. Sein Vater, Prof. Dr. Max Cloëtta, Ordinarius für Pharmakologie, experimentelle Pathologie und Therapie, war entscheidend an der Entdeckung einiger epochaler Heilmittel beteiligt. Als akademischer Lehrer verstand er es, seine zahlreichen Studenten zu begeistern: er trug viel zum Glanz der medizinischen Forschung in Zürich bei.

So ergab es sich von selbst, dass Dr. A. Cloëtta nach medizinischen und ökonomischen Studien sich für eine berufliche Laufbahn in einem pharmazeutischen Unternehmen entschied. Während beinahe dreier Jahrzehnte arbeitete er für Hoffmann-La Roche in der Schweiz und zahlreichen Ländern – sowohl in Europa wie in Übersee – und bekleidete im Mutterhaus und in ausländischen Tochtergesellschaften Direktionsposten. Damit trug er in bewegten Zeiten der 30er, 40er und 50er Jahre an vielen Orten entscheidend zum erfolgreichen Aufbau einer weltweiten Organisation bei. Seine Gewandtheit und seine Liebenswürdigkeit, seine vielseitigen Kenntnisse und Interessen schafften ihm ungezählte Freunde. Neben beruflichen Erfolgen brachte ihm seine Tätigkeit auch in hohem Masse Befriedigung.

Trotz einer zunehmend auf die Organisation und das Marketing gerichteten beruflichen Tätigkeit behielt Dr. A. Cloëtta immer ein grosses Interesse für die pharmazeutische und medizinische Forschung. Nach seinem Rücktritt von der aktiven Tätigkeit fand er in vermehrtem Masse auch Zeit, sich solchen Studien zu widmen.

Sein Vater blieb ihm zeit seines Lebens ein leuchtendes Vorbild. Zu seiner Ehre, wie auch seiner eigenen inneren Verpflichtung folgend, setzte Dr. A. Cloëtta 1973 den während Jahren mit sich getragenen Wunsch in die Tat um: Die Schaffung der «Stiftung Prof. Dr. Max Cloëtta» zur Förderung und Unterstützung der medizinischen Forschung und der damit verbundenen naturwissenschaftlichen Hilfsdisziplinen. Dieser Stiftung wendete er schon zu Lebzeiten bedeutende Mittel zu und bedachte sie in seinem Testament mit einem Teil seines Vermögens. Damit sollen medizinische Forschungsprojekte tatkräftig unterstützt und jüngere Forscher durch die Verleihung eines jährlichen Preises ausgezeichnet und ermutigt werden.

An der Verleihung der bisherigen Preise und der Festlegung der Politik der Stiftung nahm Dr. Antoine Cloëtta in den letzten Jahren lebhaft Anteil und freute sich auch über die ersten Resultate. Leider war es ihm nicht mehr vergönnt, die Realisierung grosser Forschungsvorhaben selbst zu erleben. Der Stiftungsrat, in dessen Namen ich heute des Verstorbenen gedenke und ihm danken möchte, betrachtet es als eine hohe Verpflichtung gegenüber dem hochherzigen Gründer, das von ihm gesetzte Ziel, Kranken durch Forschung Hilfe zukommen zu lassen, tatkräftig zu verwirklichen. Die Fortschritte, welche die Medizin dank seiner grosszügigen Hilfe erzielen wird, werden nicht nur seinen Namen ehren, sondern ihm auch die Dankbarkeit Ungezählter sichern. Mit der Gründung der medizinischen Stiftung hat auch Antoine Cloëtta ein Licht in dieser Welt gesetzt, das Vielen neue, berechtigte Hoffnungen schenkt.

LAUDATIO FÜR DR. SUSUMU TONEGAWA

Professor Dr. Niels K. Jerne

At the end of last century it became clear that the introduction of a foreign substance, an antigen, into animals and man leads to the production and secretion of antibody molecules that react with this antigen and not with other antigens. It followed that the number of different antibodies that one animal is able to synthesize must be enormously large. The general conclusion was that there could not exist genes for all antibody specificities.

In the 1950's, however, after the discovery of the DNA double helix and the insight that all proteins (including antibodies) are synthesized by transcription of DNA into messenger RNA and by the translation of this mRNA into polypeptide chains, a controversy arose in immunology. Does the DNA of the fertilized egg-cell (zygote) from which an animal arises really contain all genes for all antibodies, or can such genes arise during lymphocyte differentiation? It was clear that antibody specificity is determined by the amino acid sequences of the antibody polypeptide chains. The arguments in the genetic controversy made use of an analysis of these amino acid sequences, which reflect the nucleotide sequences of the corresponding genes. This question of the origin of these antibody genes had remained experimentally undecided at the time when Dr. Susumu Tonegawa joined the Basel Institute for Immunology in 1971.

Dr. Tonegawa was not an immunologist. He was interested in the transcription of messenger RNA from DNA. He knew little about the genetic controversy that excited immunologists. I remember discussing with him during his first years in Basel; I wanted to hear his opinion on the large set of different amino acid sequences in antibody polypeptide chains, and what this implied with respect to the set of corresponding genes present in germ-line cells. I was struck by his answer because of its sweeping impact on classical genetics. He said, simply: if you want to study genes, you must study DNA. And that is

what he proceeded to do. He succeeded in the very troublesome task of isolating and purifying the mRNA encoding a known antibody light chain. Together with Dr Theophil Staehelin he verified that this mRNA indeed could direct the synthesis of an antibody light chain in a cell-free system. Dr. Tonegawa then used this messenger RNA preparation in experiments designed to determine the number of corresponding genes in the genome of a cell. The quality of these experiments, the intelligence and tireless efforts devoted to them, drew the attention of many world experts in this field. At the right moment, the gene cloning technology became available, and Dr. Tonegawa immediately saw his chance of isolating and replicating actual antibody genes. And, as soon as techniques for determining nucleotide sequences in DNA were worked out, Dr. Tonegawa was again ready to analyse the DNA that codes for antibodies. At a Gordon Conference in July 1977, he was able to present the nucleotide sequence of an antibody gene. This was a world première: the first unique eukaryotic gene for which the nucleotide sequence had ever been determined. Surprising, because there are other proteins for which this would have been easier to achieve than for antibodies. It had hitherto been assumed that a gene encoding a polypeptide chain is a continuous sequence of nucleotides somewhere in the genome. Dr. Tonegawa showed that this coding sequence can be interspersed by stretches of nucleotides that are not translated into protein. Furthermore, in an antibody producing lymphocyte, parts of the genes coding for a polypeptide chain of this antibody do not occur in the same chromosomal position as in a non-lymphocyte. These findings have implications that go far beyond immunology, to other areas of biology and medicine. For example, gene-linkage data obtained by classical genetic methods do not necessarily apply to differentiated cells. Gene fragments can jump around in the genome during cell differentiation; thus the genome is not – as we believed – a static structure in ontogeny but is in a dynamic state, permitting changes in coding information as well as in gene location. These new insights will certainly have their impact also on medical genetics, as well as on practical attempts to produce important

biological substances by inserting genetic information in cells that can easily be kept multiplying.

If you ask Dr. Tonegawa, he will tell you that a considerable part of his success must be ascribed to luck: Immunology, when he approached it, had reached a stage when it appeared that antibodies would provide the most interesting gene system known; furthermore, the techniques necessary to analyse this system became available just when he needed them.

Clearly, however, science is the art of doing what is just possible at a given stage of knowledge. I should like to congratulate the Professor Dr. Max Cloëtta Foundation for having chosen, for its 1978 award, a scientist who with great passion and perseverance has shown himself a master of this art.

The very existence of antibodies in blood serum was discovered in 1890 by Shibasaburo Kitasato, a Japanese scientist working together with Emil von Behring in Germany. This discovery caused considerable excitement in the medical world, and already that same year, 1890, children were treated with horse serum containing antibodies against diphtheria toxin. Today the Professor Dr. Max Cloëtta Foundation is honouring another Japanese scientist who has come to Europe, Dr. Susumu Tonegawa, for an equally pioneering accomplishment.

FOUNDATION PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

THIS CERTIFIES THAT
THE CLOËTTA PRIZE 1978
HAS BEEN AWARDED TO

SUSUMU TONEGAWA

PH. D.

BORN 1939, PRESENTLY A MEMBER OF THE
BASLE INSTITUTE FOR IMMUNOLOGY,

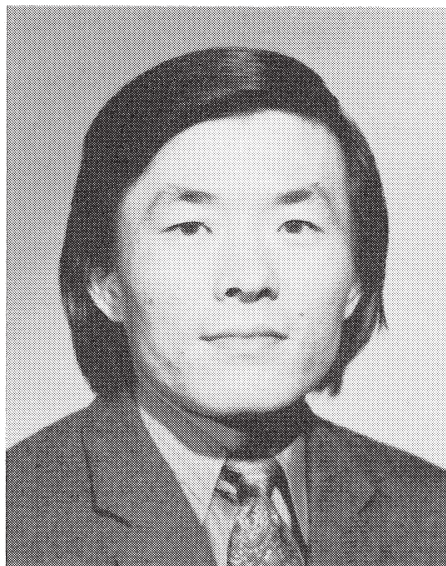
IN RECOGNITION OF
HIS PIONEERING EXPERIMENTS IN MOLECULAR GENETICS
DEMONSTRATING THAT BOTH THE POSITION
AND THE CODING INFORMATION OF GENES CAN CHANGE
DURING CELL DIFFERENTIATION.

BASLE, OCTOBER 25, 1978

THE BOARD OF TRUSTEES OF THE FOUNDATION


A. Taghian!

NA C. C. C. C.



Dr. Susumu Tonegawa

KURZBIOGRAPHIE
VON DR. SUSUMU TONEGAWA

Dr. Susumu Tonegawa is a Japanese citizen. He was born on 5th September, 1939 in the city of Nagoya. After his high school years in the famous Hibiya school of Tokyo, he went to Kyoto University where he obtained a bachelor's degree in biological chemistry and then worked in the Institute for Virus Research, in 1963. He was awarded a Fulbright fellowship to complete his post-graduate studies in the USA. Under the guidance of Professor Masaki Hayashi, he studied the regulation of genetic transcription in bacteriophage systems in the University of California at San Diego, where he received his Ph.D. degree in 1968. At that time he decided to direct his attention to eukaryotic systems, and joined the laboratory of Dr Renato Dulbecco in the Salk Institute at La Jolla. With Dr Dulbecco, he published studies on the transcription of the Simian Virus 40 genome in transformed cells. After becoming a member of the Basel Institute for Immunology in 1971, Dr. Tonegawa first continued his work on SV 40 virus, but soon realized that the advances in molecular genetics made it possible to study the genetics of the immune system in vertebrate animals on the nucleic acid level. He succeeded in isolating and purifying messenger RNA encoding a polypeptide chain of an antibody molecule. This achievement enabled him to approach one of the central problems of immunology, namely the question whether all genes encoding antibody specificity are present in the fertilized egg-cell, or whether such genes may arise by changes of the germ-line genome during cell differentiation. Dr. Tonegawa not only succeeded in proving that the latter is the case, but in the course of his studies revealed hitherto unknown dynamic properties of genes. These new insights have earned for Dr. Tonegawa the admiration of all scientists at the forefront of molecular genetics. His work

during the past three years has been recognized as crucial not only for the solution of immunological problems, but also as a pioneering advance in genetics far beyond the confines of immunology.

*Im Hinblick auf den Festvortrag
von Dr. Susumu Tonegawa
hat uns Professor Dr. Niels K. Jerne den folgenden
einleitenden Text zur Verfügung gestellt*

Alle Funktionen lebender Zellen werden von Eiweissmolekülen (Proteinen) ausgeübt oder vermittelt. Dementsprechend gibt es eine ungeheuer grosse Anzahl verschiedenster Eiweissmoleküle, die sämtlich von den Zellen gebildet werden müssen. Die benötigte Information zur Bildung bestimmter Eiweissmoleküle ist genetisch festgelegt, das heisst sie ist in der Desoxyribonukleinsäure (DNS, englisch DNA) des Zellkerns enthalten. Die gesamte DNS eines Zellkerns heisst das Genom der Zelle. Diese DNS besteht aus zwei Kopien (Doppelhelix) einer linearen Aneinanderreihung von vier verschiedenen chemischen Strukturen (Nukleotiden), denen man die vier Buchstaben C, T, A und G (Cytosin, Thymin, Adenin und Guanin) zugeordnet hat. Bei jeder Zellteilung empfangen die beiden Tochterzellen je eine Kopie des Gesamtgenoms, von der die Zelle wieder eine Kopie anfertigt. Das Genom einer Zelle, also die gesamte DNS eines Zellkerns, besteht aus einer Reihenfolge von Milliarden der vier Nukleotide (Buchstaben), und diese Reihenfolge bildet den Code (ähnlich einem Morse-Code), aus dem die Zelle wahlweise gewisse Abschnitte übersetzen kann. In einem ersten Schritt wird die in einem Gen enthaltene Information in ein Molekül überschrieben, das Messenger-Ribonukleinsäure (Messenger-RNS) genannt wird. Diese Messenger-RNS wird dann von kleinen Zellorganellen (Ribosomen) noch einmal zur Eiweissbildung übersetzt. Der Code eines Teils des von Dr. Tonegawa ermittelten Gens eines Antikörpermoleküls ist zum Beispiel: TCCAGGCTGTTGTGACTCAGGAATCT usw. usw.

Viele Probleme der Medizin und der Biologie sind im Grunde Eiweissprobleme, wie zum Beispiel die Enzymbildung, die Antikörperbildung, die Hormonbildung usw. Störungen in der Bildung

dieser lebenswichtigen Eiweissmoleküle sind meistens auf Störungen in der DNS des Zellkerns zurückzuführen, der den Code für diese Eiweissmoleküle enthält. Wenn man also medizinischen und biologischen Tatbeständen auf den Grund gehen will, muss man sich mit den dafür zuständigen Genen beschäftigen, das heisst mit dem Genom bzw. der DNS. Diese Wissenschaft nennt man die Molekulargenetik. Die verhältnismässig kurze Reihenfolge einiger Hunderter Nukleotide (ein Gen), welche den Code für ein bestimmtes Eiweissmolekül enthält, hat in der ungeheuer langen Reihenfolge des Gesamtgenoms eine gewisse Position. Dr. Tonegawa hat nun gezeigt, dass sowohl diese Position als auch die vererbte Information (die Reihenfolge der Nukleotide) eines Gens während der Zelldifferenzierung abgeändert werden können. Zelldifferenzierung bedeutet, dass aus einer befruchteten Eizelle (Zygote) viele spezialisierte Zellen entstehen, wie zum Beispiel Muskelzellen, Augenzellen, Blutzellen usw., welche verschiedene Abschnitte (Gene) des Genoms in Anspruch nehmen.

Es ist schwierig für einen Nicht-Wissenschaftler, die Reichweite solcher Erkenntnisse zu beurteilen. Es ist jedoch klar, dass viele oder fast alle Krankheiten bzw. die Anfälligkeit für bestimmte Krankheiten erblich bedingt sind, also durch die von den Eltern ererbte und im DNS-Code verschlüsselte Information. Weitere durchgreifende Fortschritte in der modernen Medizin sind deshalb auf der Grundlage besserer Erkenntnisse der Eigenschaften und Funktionen der zellulären DNS möglich.

Sinn und Bedeutung dieser Fortschritte, an denen Dr. Tonegawa massgeblich beteiligt ist, liegen also nicht im Bereich einer bestimmten Krankheit oder Krankheitsart, sondern betreffen schlechthin unser grundlegendes Verständnis in Medizin und Biologie. In diesem Zusammenhang bietet sich ein Vergleich aus der Technologie (Computer, Kraftwerke, Raketen usw.) an; hier beruhen letztlich erzielte Fortschritte auf fundamentalen Erkenntnissen in Physik und Mathematik. In ähnlicher Weise werden neue Erkenntnisse in der Genetik die Grundlage für Fortschritte in der Medizin und Biologie bilden.

CLONING OF IMMUNOGLOBULIN GENES (KLONIERUNG VON IMMUNGLOBULIN-GENEN)

Dr. Susume Tonegawa

The goal of basic immunology is to understand how the immune system works. Having been trained in the molecular biology of procaryotic genes, my curiosity about the immune system was aroused by several, seemingly unorthodox manners in which immunoglobulin genes are expressed. In the literature, it is said that a single organism can potentially synthesize during its life span millions of different proteins that share common structural and functional features as antibodies. It is further said that cells in which these protein molecules are synthesized (bone marrow derived lymphocytes) constitute a large number of clones and the cells of a single clone synthesize only one of the million different antibodies. The one clone-one antibody rule proceeds to state that only one of the two allelic antibody genes in a diploid set of chromosomes is expressed in a given lymphocyte (a phenomenon called allelic exclusion). Hitherto, no other autosomal gene behaves in this manner. Structural analysis of purified immunoglobulin chains had established that the amino acid sequence variability is highly enriched in the amino terminal portion, called the variable region (as opposed to the relatively invariable carboxyl terminal portion called the constant region). Based on this unique structural feature it had been proposed that a single immunoglobulin polypeptide chain may be under the control of two structural genes: one for the variable and the other for the constant region. This hypothesis certainly looked rather bizarre to the eyes of a molecular biologist like myself who was accustomed to the established one gene-one polypeptide chain concept.

It was with the intention of uncovering the secrets hidden under this rather unique nature of immunoglobulins and the expression of their genes that I started purifying mRNA coding for mouse light chains from plasmacytomas. Our first effort was directed to the issue of the

genetic origin of antibody diversity. The approach we employed was to count copies of immunoglobulin genes per haploid genome by nucleic acid hybridization. The principle on which this approach is based is that, if the immunoglobulin genes carried in germ cells are diversified in the coding property during differentiation of lymphocyte precursor cells such that clones of mature lymphocytes contain a large array of variant genes, then the number of immunoglobulin genes per haploid genome would be much less than the number of different immunoglobulin chains synthesized by the organism. Making use of some special situation in mouse λ type light chains, we could show the number of germ line genes (one per haploid genome) was too small to account for the diversity observed in the λ type light chains (at least 7 different λ chain variable regions were identified by protein sequencing and more are expected). Since then the analogous studies on mouse κ type chains have been carried out. The results suggest that the Balb/c mouse carries approximately 200–300 germ line V genes and each of them generates somatic variants, although extent of the somatic diversification has not yet been determined accurately.

We then turned our effort to a second problem: whether the variable and constant regions of immunoglobulin chains are indeed encoded by two separate DNA segments and if so how the genetic information in two separate DNA segments is integrated to produce a continuous polypeptide chain. To tackle these problems we needed a way to determine the arrangement of immunoglobulin genes in chromosomes. Since genetic analysis is highly limited by the paucity of useful genetic markers, the only alternative seemed to be to isolate the immunoglobulin genes and analyze them directly. However, given the enormous complexity of mammalian genomes this task seemed formidable. A mouse light chain gene composes only one five millionth of the total DNA. It is virtually impossible to purify specific DNA sequences five million fold by any conventional biochemical method. Fortunately, a revolutionary technique was developed to overcome the difficulty. The method, which is often called recombinant DNA technique, allows one to insert virtually any eucaryotic DNA frag-

ment into a self-replicating bacterial plasmid or phage DNA and amplify the inserted DNA in bacterial hosts.

Since the step in which the chimeric DNA is injected into bacteria (transfection) is carried out under the condition where only a single DNA molecule enters and subsequently multiplies, it provides us with a powerful purification procedure. With the development of suitable selection or screening procedures for a particular gene sequence one can isolate a variety of eucaryotic genes in pure form and in large quantity.

By application of the recombinant DNA technique, we could isolate various mouse DNA fragments that represent regions of chromosomes where immunoglobulin genes are located. These mouse DNA fragments were isolated in a large quantity and were characterized by electron microscopy, by digestion with sequence-specific DNAses (restriction enzymes), and by determination of nucleotide sequences. These studies established that the variable and constant regions of immunoglobulin polypeptide chains are indeed encoded in separate DNA segments in germ cells. The studies also demonstrated that during differentiation of lymphocyte precursor cells the two DNA segments are rearranged in the chromosomes such that they occupy nearby positions in immunoglobulin producing cells. There is a strict correlation between expression of a particular variable region gene and its joining with the appropriate constant region gene. This suggests that the DNA rearrangement event is directly coupled with activation of the rearranged immunoglobulin gene.

A surprising feature of the somatic DNA rearrangement is that it does not place the variable and the constant region genes in a contiguous manner. In the rearranged, active, complete gene, the two DNA segments are still one to several thousand base pairs apart. The intervening DNA segment (which we call an intron) is co-transcribed with the protein-encoding DNA segments into a continuous RNA molecule and before the RNA molecule reaches the ribosomes the two RNA segments corresponding to the variable and constant regions are "spliced" with concomitant removal of the intervening sequences. Recent studies on other eucaryotic genes and genes of animal viruses

also revealed this surprising gene constitution: protein-encoding sequences are interspersed by multiple intervening sequences. Studies on immunoglobulin genes outlined above contributed in two major aspects to our understanding of the basic nature of immunoglobulin genes and higher cell genes in general. First, these studies illuminated the dynamic behaviour of immunoglobulin genes during development of an individual organism. It is well known that the dynamic nature of the genetic material is an essential element of evolution. Genes can mutate and recombine. If they could not, there would be no higher forms of life. Both of these processes are under genetic control and are themselves subject to natural selection, i.e. a population will acquire optimal rates of mutation and recombination. But does the collection of cell populations which we call a multicellular organism utilize these processes in any meaningful way? In other words do they play an important role during development of a single individual? The behaviour of genes for ribosomal RNA had been the most sophisticated example of a somatic recombination. Our studies on immunoglobulin genes have shown that both mutation and recombination play key roles in establishment of the functional immune system. One might consider that complete immunoglobulin genes are created during ontogeny from bits of silent DNA through the dynamic nature of the genetic material. Secondly, our studies demonstrated that an active, complete immunoglobulin gene so created by somatic processes is not a continuous stretch of DNA duplex containing an uninterrupted protein-encoding sequence. Unlike in lower cells many genes in higher cells are now considered to be mosaic: sequences corresponding to expressed functions held in a matrix, the latter possibly ten or so times larger than the coding components. These models immediately resolve two puzzles. Heterogeneous nuclear RNAs would be the long transcription products from which the much smaller ultimate messengers are spliced. The extra DNA in higher cells would arise because the genes, the transcription units, are much larger than those for a single polypeptide product. Furthermore, the discovery of the intervening sequences and removal of these sequences during processing of the

primary RNA transcript opens the possibility that a single DNA piece may be used to encode more than one polypeptide chain by alternative positioning of intervening sequences at different parts within the DNA piece. If this model is correct, the one gene, one polypeptide chain dogma will disappear.

In concluding this short outline, I would like to thank my colleagues for sharing with me the agony and ecstasy that accompanied the research during the past six years. The list includes, Irene Baldi, Armando Bernardini, Nobumichi Hozumi, Gaston Matthyssens, Rita Lenhard-Schuller, Christine Brack, Minoru Hirama, Ora Bernard, Hitoshi Sakano and Richard Maki. I also thank the many technical assistants who were or have been involved in the research during the same period. I am very grateful to Renato Dulbecco in whose laboratory I was first exposed to research in higher organisms and who suggested that I go into Immunology. I also thank our Director, Niels K. Jerne, for allowing me to carry out the research as I please and Hoffmann La-Roche and Co. for generous support.

*Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen
der Schriftenreihe
Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta*

Heft Nr. 1:

Vorwort von Bundesrat Dr. Hans Hürlimann
Biographie von Professor Dr. Max Cloëtta
Übersicht über die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Ehrentafel der Preisträger

Heft Nr. 2:

Preisverleihung 1974
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Urs A. Meyer:
«Klinische Pharmakologie – eine Herausforderung für interdisziplinäre Zusammenarbeit»

Heft Nr. 3:

Preisverleihung 1975
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Hans Bürgi:
«Die Bekämpfung des Kropfes in der Schweiz. Ein Beispiel der Zusammenarbeit zwischen Grundlagenwissenschaftlern, Klinikern und Behörden»

Heft Nr. 4:

Cérémonie de remise du prix 1976
Exposé du Dr Rui C. de Sousa, sur le thème:
«La membrane cellulaire: une frontière entre deux mondes»

Heft Nr. 5:

Preisverleihung 1977
Festvortrag des Preisträgers Professor Dr. Franz Oesch:
«Chemisch ausgelöste Krebsentstehung»

