

Die Entdeckung der Telomerase: vom Vergnügen, Teile des Puzzles zusammenzufügen (Nobel-Aufsatz)**

Carol W. Greider*

DNA · Nobel-Vortrag · Telomerase · Telomere

Autobiographie

Ich wurde 1961 im kalifornischen San Diego geboren, ein Jahr nach meinem Bruder Mark. Mein Vater Kenneth Greider war Physiker und hatte, als ich auf die Welt kam, gerade



an der University of California in Berkeley promoviert. Meine Mutter Jean Foley Greider promovierte ebenfalls in Berkeley in Botanik. Mein Vater arbeitete als Kernphysiker, und meine Mutter war Mycologin und Genetikerin. Nachdem beide 1962 ihre Postdoc-Studien in San Diego absolviert hatten, folgte mein Vater einem Ruf an das Physik-Department in Yale, und so zog unsere Familie nach New Haven in Connecticut um. Meine Mutter begann ein neues Postdoktorat in Yale in der

Gruppe von Norman Giles, wo sie an *Aspergillus* und anderen Pilzspezies arbeitete. Ein paar Jahre später, es war 1965, wechselte mein Vater an das Physik-Department der UC Davis, sodass wir wieder zurück nach Kalifornien zogen. Meine Mutter arbeitete nun als Lehrerin, zuerst am Gemeindecollege in Sacramento und dann am American River College außerhalb Sacramentos.

Davis

Mark und ich wuchsen in Davis auf, wo wir zu Fuß zur Schule laufen konnten. Meine Eltern bauten ein Haus in einer Siedlung im Westen von Davis. Die Straße, wo unser Haus stand, lag bequemerweise nur vier Blocks entfernt von der West Davis Elementary School (erste bis vierte Klasse) und einen halben Block von der West Davis Intermediate School (fünfte und sechste Klasse). Mark und ich liefen als Kinder gemeinsam zur Schule, später fuhren wir dann auch mit dem Fahrrad zur Highschool. Den Schulweg selbst zurückzulegen, gab uns ein Gefühl der Unabhängigkeit. Die Vorstellung, dass Eltern ihre Kinder zur Schule fahren, war mir vollkommen fremd, bis ich dann später, als ich selbst Kinder hatte, an die Ostküste kam. Diese frühe Verantwortung hat gewiss meinen Sinn für Unabhängigkeit geschärft. Die Schule war etwas, für das ein Kind selbst zuständig war. Eltern hatten nicht wirklich etwas damit zu tun.

Im Dezember 1967 starb meine Mutter als ich in die erste und Mark in die zweite Klasse ging. Wenn ich im Nachhinein darüber nachdenke, dann hatte dieses Ereignis einen großen Einfluss darauf, dass ich lernte, für mich selbst verantwortlich zu sein. Mark und ich gingen weiter allein zur Schule und versuchten, das Beste aus unserem Leben zu machen. Die Schule war nicht leicht für mich. Ich kam in eine Förderklasse, weil ich Wörter so schlecht artikulieren konnte. Ich erinnere mich an einen speziellen Lehrer, der jede Woche in das Klassenzimmer kam und mich zum Buchstabierunterricht mitnahm. Es war mir sehr peinlich, ausgesondert und aus der Klasse herausgenommen zu werden. Als Kind hielt ich mich für „dumm“, weil ich Nachhilfe brauchte. Erst sehr viel später wurde mir bewusst, dass ich Legasthenikerin war und dass meine Schwierigkeiten beim Artikulieren von Wörtern nicht bedeuteten, dass ich dumm war. Dennoch habe ich diese frühen Eindrücke lange in mir getragen, und sie bestimmten für eine lange Zeit meine Welt.

Heidelberg

1971 wurde mein Vater zu einem Sabbatical an das Max-Planck-Institut für Kernphysik in Heidelberg eingeladen. Wir zogen für das Jahr nach Deutschland, und Mark und ich gingen an eine Privatschule, das „Englische Institut“. Trotz seines Namens war es ein typisches deutsches Gymnasium, und der ganze Unterricht fand auf Deutsch statt. Mark und ich nahmen jeden Tag den Stadtbus zur Schule, und wir lernten schnell, uns zurechtzufinden – in der Stadt und der Schule, mit der neuen Sprache und neuen Kultur. Von Davis her waren wir es gewohnt, selbstständig zur Schule zu gehen, und wir waren froh, das auch hier tun zu können. Es machte uns großen Spaß, eine für uns völlig neue Umgebung in einer vollkommen anderen Kultur zu erkunden.

Ich erinnere mich, dass meine Noten in dieser Schule, und vor allem in Englisch, sehr schlecht waren. Der Unterricht lief

[*] Prof. C. W. Greider

Daniel Nathans Professor and Director
Department of Molecular Biology and Genetics
Johns Hopkins University School of Medicine
725 N. Wolfe Street, Baltimore MD 21205 (USA)
E-Mail: cgreider@jhmi.edu

[**] Copyright© The Nobel Foundation 2009. Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Abdruck einer deutschen Fassung des Vortrags.

so ab, dass uns die Englischlehrerin etwas diktierte und wir hinschreiben sollten, was sie sagte. Mir schien das allzu simpel und nutzlos, aber als ich meine benoteten Hefte zurückbekam, hatte ich für gewöhnlich Vieren oder Fünfen, weil jedes zweite Wort falsch buchstabiert war. Wenn ich mir später diese Hefte anschauten, erkannte ich die charakteristischen Muster von rückwärts geschriebenen Wörtern und Buchstaben und groben Buchstabierfehlern, was mich ahnen ließ, dass ich Legasthenikerin war. Die andere Sache an der Schule, die für mich verwirrend war, war die Religionsklasse. Man musste sich erklären, ob man katholisch oder evangelisch war (als ob dies die einzige Wahl wäre), und jede der beiden Gruppen hatte dann ihren eigenen Unterricht. Zuhause in Amerika war mein Vater Dirigent in der Unitarian Church, als Kinder gingen wir aber nur selten zur Kirche. Es war zu schwierig, den Deutschen zu übersetzen, was Unitarier bedeutete, und so bat mein Vater die Schule, mich von den Religionsstunden zu befreien. Stattdessen hatte ich dann eine Freistunde, in der ich meine Hausaufgaben machte. Dort lernte ich auch meine Freundin Jiska kennen, die eines der wenigen jüdischen Kinder an der Schule war und auch von Religion befreit war. Jiska und ich waren beide anders als der Rest, und so begann ich, eine gewisse Sympathie für Menschen zu entwickeln, die anders waren als die anderen. Dieses Zugehörigkeitsgefühl zu Menschen abseits der breiten Masse war mir später im Leben sehr dienlich. In der Highschool und im College hatte ich nie das Bedürfnis, in einer beliebten Clique zu sein, vielmehr suchte ich mir meine Freunde immer nach ihren persönlichen Qualitäten aus. Es kann gut sein, dass diese Sympathie für Außenseiter viele Entscheidungen in meinem Leben mitgeprägt hat – z.B. die, an dem ungewöhnlichen Organismus *Tetrahymena* zu arbeiten.

In Heidelberg verbrachte ich viel Zeit allein. Oft spielte ich am Neckar nahe bei unserem Haus oder fuhr mit dem Rad hinauf auf den Boxberg. Ich fuhr allein mit dem Bus in die Stadt und begann zu reden und mich zu kleiden wie eine Deutsche. In der Stadt gab es eine große US-Kaserne, und ich wollte nicht mit einem Army-Kind verwechselt werden. Ich wollte lieber ungewöhnlich sein: ein amerikanisches Kind, das die deutsche Kultur begreift. Bis Mitte des Jahres hatte ich Deutsch gelernt und konnte fließend sprechen und lesen, aber erneut blieben mir das Schreiben und die Grammatik versagt. Mark und ich hatten einige deutsch-amerikanische Freunde, die ein paar Stockwerke über uns wohnten und mit denen wir uns allerlei Zeitvertreibe ausdachten. Wir klopften uns verschlüsselte Botschaften auf den Heizkörpern zu und ließen Zettelchen an einer Schnur aus dem Fenster. Derlei Dinge störten die anderen Bewohner und hatten zur Folge, dass der Hausverwalter kam, um mit meinem Vater zu sprechen. Wir waren typische Teenager, brachen die ein oder andere Regel, gingen dabei aber nie zu weit.

Davis – Teil II

Als wir aus Deutschland zurückkehrten, kam ich in die 6. Klasse. Es war ein Übergangsjahr und das letzte in der Mittelschule, bevor ich auf die Junior Highschool kam. Ich verbrachte viel Zeit damit, mich in der alten Umgebung wieder

einzufinden und neue Freundschaften zu schließen. Anders als viele andere Wissenschaftler war ich kein Kind, das schon früh wusste, dass es in die Wissenschaften gehen würde. Eine Sache, die ich mir schon als junger Mensch angewöhnte, war, dass ich mich auf eine gerade anstehende Aufgabe voll konzentrierte und alles andere um mich herum außen vor lassen konnte – so wie z.B. das Deutschlernen in Heidelberg. Diese Überlebensstrategie war mir in späteren Jahren sehr dienlich. Den Blick auf ein bestimmtes Ziel zu richten und Hemmnisse zu ignorieren, war eine natürliche Sache für mich.

In der Highschool merkte ich, dass ich gut in der Schule sein konnte. Ich erinnere mich, dass ich es mochte, meine Klassen frei wählen zu können und dass mir das Lernen Spaß machte. Meiner Beharrlichkeit und meiner Liebe zum Lesen war es zu verdanken, dass ich viele Nachteile, die von meiner Legasthenie herrührten, vergessen ließ. In meiner Freizeit las ich viele Bücher. Ich fand heraus, dass ich Wörter zum Buchstabieren auswendig lernen musste, weil das Artikulieren fremder Wörter bei mir nicht funktionierte. Dieser Bewältigungsmechanismus hatte auch sein Gutes, denn mir fiel bald das Aufwendiglernen auch in anderen Fächern, etwa Biologie und Geschichte, sehr leicht. Mein Vater spornte uns an, gut in der Schule zu werden, um unserer selbst willen. Es würde uns Türen öffnen, und er hob immer wieder darauf ab, wie wichtig es sei, frei und selbstständig wählen zu können, was man im Leben tun wollte. Ich entdeckte auch, dass es mir Vergnügen bereitete, für meine guten Noten Anerkennung zu erhalten. Ich fühlte mich dadurch gut, und ich bekam viel Lob von Menschen außerhalb meiner Familie.

In der Highschool konzentrierte ich mich darauf, gute Leistungen zu bringen und eine Gruppe von Freunden zu finden, die mich darin unterstützten. In der Junior High fühlte ich mich noch zu Außenseitern hingezogen, womöglich wegen meiner Erfahrungen in Deutschland. Allerdings war die Außenseitergruppe, in die ich an der Junior High geriet, weniger an der Schule interessiert, als ich es war. Als ich von der Emerson Junior High an die Davis Senior High wechselte, nutzte ich die Gelegenheit und suchte mir einen neuen Freundeskreis. Ich begegnete Lori Lopez und Resi Zapf in den ersten Wochen an der Highschool bei einem Treffen des Austauschclubs (American Field Service; AFS), und die beiden wurden schnell meine Freundinnen. Resi war Austauschschülerin aus Österreich, und Lori war die Clubpräsidentin des AFS. Loris Familie und Resis Gastfamilie, die Robertsons, wurden wie eine zweite Familie für mich. Ich mochte die ausländischen Studenten in der AFS-Gruppe. Die amerikanischen Jugendlichen, die sich in dieser Gruppe engagierten, waren nicht daran interessiert, sich bei der breiten Masse beliebt zu machen. Ich engagierte mich in der AFS während meiner gesamten Highschoolzeit und war in meinem Abschlussjahr sogar Clubpräsidentin. Ich setzte an der Highschool keinen Schwerpunkt auf Naturwissenschaften oder schloss mich irgendwelchen Wissenschaftsgruppen an, obwohl ich weiterhin in allen Klassen gut war; ich betrachtete es als Herausforderung, nur Einsen zu bekommen. Ich sah mich nie als eines der smarten Kids, die so selbstsicher und zielstrebig waren. Mir machte es nur Spaß, zu lernen und Zeit mit meinen Freunden zu verbringen.

Nach meinem ersten Jahr an der Highschool musste ich mir Gedanken über mein künftiges College machen. In der Schule war ich recht gut in Biologie, und ganz besonders fesselnd fand ich die Physiologiestunden bei einem sehr motivierten Biologielehrer, der promoviert hatte. Ich liebte es, neuen Stoff zu lernen und entschloss mich, Biologie als Hauptfach im College zu studieren. Viele meiner Mitschüler wollten an nahegelegenen Unis studieren, entweder an der UC Davis oder der UC Berkeley. Mich reizte keine der beiden. Ich wollte etwas anderes tun als die anderen, wollte hinausgehen und neue Erfahrungen sammeln. Meine Freundin Alyssa Ingalls, die ich seit der sechsten Klasse kannte, schaute sich mit ihrer Familie mehrere Universitäten an, und sie luden mich ein, auf ihre Universitäts-Tour mitzukommen. Wir besuchten die Universitäten in Santa Cruz, Los Angeles und Santa Barbara.

An der Universität von Santa Barbara (UCSB) gab es Beatrice Sweeney, die dort Professorin war und noch meine Mutter aus Yale kannte. Mein Vater stellte für mich den Kontakt mit „Beazy“ her – so nannte man sie –, und sie machte mit uns einen Rundgang über den Campus. Beazy war Zellbiologin von Beruf, im Herzen aber war sie Naturforscherin. Sie lud uns auf einen Spaziergang zum Strand nahe bei ihrem Haus ein und erzählte uns faszinierende Geschichten über die Biologie all jener Meeresgeschöpfe, an denen wir vorbeigingen. Ich war gefesselt von ihr und von dem herrlichen Campus der UCSB. Ich entschied, dass ich Meeresökologie an der UCSB studieren wollte.

Santa Barbara

Beazy arbeitete an der Fakultät des College of Creative Studies, einem kleinen College innerhalb der UCSB, das von dem Englischprofessor Marvin Mudrick unter dem Leitgedanken gegründet wurde, unabhängiges Lernen und das Zusammenspiel zwischen den Disziplinen zu fördern. Die CCS hatte selektivere Zulassungsbeschränkungen als die UCSB. Meine Noten waren insgesamt sehr gut, aber beim SAT-Test (ein standardisierter Aufnahmetest für Colleges in den USA) schnitt ich schlecht ab. Ich hatte nie für Standardtests geübt, und meine Legasthenie machte diese Tests sehr schwer für mich. Ich war sehr glücklich, als die CCS mir die Zulassung gab, und dann konnte es losgehen nach Santa Barbara.

Das wichtigste an der CCS war, dass mich Beazy ermunterte, schon in meinem ersten Jahr mit einem Laborprojekt zu beginnen. Ich befürchtete, dass ich mehr Eingewöhnungszeit brauchen würde, aber sie meinte, ich solle so bald als möglich anfangen. Mein erstes Projekt machte ich bei Adrian Wenner, und es bestand im Studium der Sandkrabbenpopulationen in Santa Barbara. Obwohl ich ja eigentlich Meeresökologin werden wollte, fand ich das Projekt nicht wirklich spannend. Die Wissenschaft bestand hauptsächlich aus Statistiken, die ich weder verstand noch interessant fand. Beazy blieb in engem Kontakt mit mir und merkte wohl, dass ich eine andere Erfahrung brauchte. Gemeinsam mit einem von Beazys Postdocs untersuchte ich nun die Bewegungen von Chloroplasten während der Tag-Nacht-Zyklen in *Pyrocystis*, einem Geißeltierchen. Mir machte die Arbeit im Labor Spaß. Es

gefiel mir, meine eigenen Experimente zu machen, und ich war richtig herausgefordert, als Beazy meinte, ich müsse mir etwas Eigenes einfallen lassen, wie ich meine Experimente auftragen und beschreiben würde.

Es machte mir Spaß, die Zellen zu beobachten und ihre Tag-Nacht-Rhythmen zu beschreiben, nach einer Weile aber fand ich, dass die Arbeit zu deskriptiv war. Also brachte mich Beazy als nächstes in Les Wilsons Gruppe unter, wo ich die Dynamik von Mikrotubuli untersuchte. Ich bin mir nicht sicher, ob es das Thema oder die Persönlichkeiten waren, die mich mehr fesselten – wahrscheinlich beides. Ich arbeitete erst mit Kevin Sullivan und später mit David Asai über mikrotubuliassoziierte Proteine. Das Hauptaugenmerk des Labors lag darauf, Moleküle und ihre Wechselwirkungen und ihr Verhalten zu verstehen. Wir untersuchten, wie schnell sich die Mikrotubuli aus den Tubulinbausteinen zusammenlängten, änderten dann die Tubulinstrukturen und beobachteten, wie dies die Ergebnisse beeinflusste. Es machte großen Spaß, mit Kevin, David und den anderen im Labor zu diskutieren. Die Leute kannten sich alle gut und waren immer zu Scherzen aufgelegt. In meinem zweiten Studienjahr studierte ich dann mit Kevin die Aggregationskinetik von Mikrotubuli aus Hühnerhirn unter verschiedenen Bedingungen. Die Erfahrungen, die ich in den verschiedenen Projekten an der CCS machte, bestärkten mich darin, dass mir mechanistisches Denken gut lag und biochemische Experimente ganz meine Sache waren. Indem ich verschiedene Arbeitsgruppen miteinander vergleichen konnte, merkte ich leicht, was mir Spaß machte und was nicht. Ich verstand, dass es bei der Laborforschung ebenso gut um Menschen und ihr Zusammenspiel ging wie um die Wissenschaft.

Göttingen

Mein drittes Studienjahr verbrachte ich an der Universität Göttingen in Deutschland. Schon seit meiner Zeit in Heidelberg und meinen Besuchen in Österreich bei Resi Zapfel (heute Schmall) war ich neugierig zu erfahren, wie es war, als Student in einem fremden Land zu leben. Das Studium in Deutschland wurde mir durch das Auslandsstudienprogramm der University of California ermöglicht. Bevor ich ging, ermunterten mich Kevin Sullivan und Les Wilson, die Laborarbeit in Deutschland fortzusetzen. Sie kontaktierten Klaus Weber, der eine Arbeitsgruppe am Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie leitete, und er war einverstanden, dass ich bei ihm arbeitete. Ich teilte meine Zeit auf zwischen Vorlesungen an der Universität, etwa in Biochemie und Genetik, und Experimenten an intermediären Filamenten in Webers Labor. Ich schloss außerdem enge Freundschaft mit einigen Amerikanern, die auch in Göttingen studierten.

Zu Beginn des zweiten Semesters suchte ich im Vorlesungsverzeichnis nach Biologiekursen und fand einen Kurs über Chromosomen, der interessant schien. Als ich zur richtigen Zeit in dem angegebenen Hörsaal auftauchte, stellte sich heraus, dass es sich um das Arbeitskreisseminar von Professor Ulrich Grossbach handelte. Professor Grossbach hatte sein Seminar als Kurs gelistet, damit seine Studenten ihn angerechnet bekamen. Es war mir peinlich, in ein „privates“

Seminar zu tappen, aber die Leute waren alle sehr nett und baten mich, zu bleiben. Michel Robert-Nicoud, ein Doktorand aus der Gruppe, nahm mich unter seine Fittiche und fragte mich, ob ich ihm bei einer Studie der Polytäuchromosomen aus *Chironomus*, einem mit *Drosophila* verwandten Zweiflügler, helfen wolle. Ich lernte, wie man die Speicheldrüsen präparierte und betrachtete das riesige Polytäuchromosom unter dem Mikroskop. Ich beendete die Arbeiten, die ich in Webers Labor begonnen hatte, und arbeitete nun mit Michel in Grossbachs Gruppe.

Michel arbeitete in einem gemeinsamen Projekt mit Tom und Donna Jovin, die ebenfalls am MPI für Biophysikalische Chemie waren, über eine ungewöhnliche linkshelicale Form der DNA, die Z-DNA. Tom und Donna hatten die Biophysik von Sequenzen untersucht, die diese ungewöhnliche DNA-Struktur bilden können. Sie hatten Antikörper für Z-DNA entwickelt, mit denen sie herausfinden wollten, ob Z-DNA in natürlichen Chromosomen vorkommt und wo sie sich aufhalten könnte.

Der Ansatz bestand darin, das Polytäuchromosom aus *Chironomus* mit den Antikörpern anzufärben. Es gab damals Kontroversen darüber, ob Z-DNA in oder zwischen den Chromosomenbändern lokalisiert ist. Es wurde auch diskutiert, ob die mit den Antikörpern angefärbten Bereiche im Normalzustand Z-DNA aufweisen oder ob erst die Bindung des Antikörpers die Z-DNA in einer Region konjugierte, an der sie normalerweise nicht vorkam. Es gab in der Gruppe viel Begeisterung über dieses Projekt, und Donna Jovin bereitete ein Paper über die Befunde vor. Ich fand es aufregend, dass meine Arbeit, das Anfärben von Chromosomen, für echte Experimente von Nutzen war – und nicht etwa nur Arbeitsbeschaffung – und Teil einer Veröffentlichung werden konnte. Es kann gut sein, dass ich durch diese Arbeiten meine Zuneigung für Chromosomen entwickelte, die ich Jahre später, als ich das erste Mal Liz Blackburn begegnete, noch immer in mir trug.

Santa Barbara – Teil II

Für mein Abschlussjahr kehrte ich nach Santa Barbara in Wilsons Arbeitsgruppe zurück. Kevin Sullivan schrieb an seiner Dissertation und hatte Pläne für ein Postdoktorat. Er gab mir den Rat, mit David Asai zu arbeiten, der wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Wilson war. Kevin war sehr aufgeregt wegen seiner zukünftigen Studien an den Tubulin-Genen und meinte, dass Gene und DNA das ganz große Thema waren. Ich arbeitete hart in meinem Abschlussjahr, und da mir die CCS meine Kurse in Deutschland anerkannte, schaffte ich es, mein Studium in vier Jahren abzuschließen.

Ich absolvierte den GRE-Test (ein standardisierter Test für die Zulassung an amerikanischen Graduate Schools) und schaffte dabei, ähnlich wie beim SAT-Test, nicht gut ab. Ich bewarb mich bei acht Graduate-Programmen um eine Zulassung, schaffte es aber nicht über die Norm. Ich erhielt viele Absagebriefe, aber zwei Unis luden mich dennoch zu einem Vorstellungsgespräch ein. Für Leute, die meine Bewerbung tatsächlich gelesen hatten, statt nur auf die Testergebnisse zu schauen, schien ich ein interessanter Fall zu sein. Ich hatte

einen GPA von 3.9 (der GPA ist ein amerikanischer Notendurchschnitt; ein GPA von 4.0 entspricht einem deutschen Notendurchschnitt von 1) mit A+ in organischer Chemie, physikalischer Chemie und Pharmazie, verfügte außerdem über viel Laborerfahrung, wies aber schlecht GRE-Ergebnisse vor. Das California Institute of Technology bot mir ein Vorstellungsgespräch, und jeder der zehn Professoren, mit denen ich mich unterhielt, sprach mich auf meine schlechten GRE-Resultate an. Ich legte jedem dar, dass ich wegen meiner Legasthenie mit standardisierten Tests Probleme hatte. Nach den Gesprächen erhielt ich die Zulassung am Cal Tech. Auch die UC Berkeley bat mich zu einem Vorstellungsgespräch, und es war während dieses Gesprächs, dass ich Elizabeth (Liz) Blackburn kennenlernte. Ich spürte, dass ihre Begeisterung für Chromosomen und Telomere ansteckend war. Ich wollte Genaueres wissen und kam deshalb eine Woche darauf wieder zu ihr, um mehr über ihre Arbeiten am Telomer zu erfahren. Nach diesem Gespräch entschied ich, nach Berkeley zu gehen und mit Liz zu arbeiten.

Beide meine Betreuer an der UCSB, Bea Sweeney und David Asai, empfahlen mir stattdessen ans Cal Tech zu gehen. Davis hatte dort promoviert und wollte, dass auch ich dort hingehe. Beazy wollte nicht, dass ich nach Berkeley gehe, „nur weil meine Eltern auch dort hingegangen sind.“ Auf irgendeine Art war mein Interesse an einer möglichen Zusammenarbeit mit Liz groß genug, um entgegen der Ratsschläge zweier Mentoren nach Berkeley zu gehen. Also schrieb ich mich als Doktorand am Department of Molecular Biology in Berkeley ein.

UC Berkeley

Als ich nach Berkeley kam, hatte ich die Orientierungswoche für die neuen Studenten verpasst, weil ich bei der Hochzeit meiner Freunde Monica und Chris Morakis war, die ich in Göttingen kennengelernt hatte. Meine ersten Wochen in Berkeley fühlten sich überwältigend an. Ich hatte zwar Biochemie studiert, aber keinerlei Kurse in Molekularbiologie belegt und niemals mit DNA gearbeitet. Meine Klassenfreunde waren beeindruckend gut in Molekularbiologie, und es schien, als wären alle klüger und besser vorbereitet als ich. Es war packend, Teil einer solch eindrucksvollen Gruppe von interessanten Leuten zu sein, und bald wurden wir alle sehr enge Freunde.

Obwohl ich nach Berkeley gekommen war, um mit Liz Blackburn zu arbeiten, war es üblich, dass Neulinge zunächst für zwei bis drei Monate durch drei Arbeitskreise „rotieren“ mussten, bevor eine Entscheidung getroffen wurde, wohin es endgültig gehen sollte. Meine erste Station war bei Richard Calendar, wo ich Wechselwirkungen zwischen den Phagen P2 und P4 untersuchte. Ich hatte großes Glück, dass in jenem Jahr zwei von uns Neulingen zur gleichen Zeit Richs Gruppe zugeteilt wurden. Mein Kompagnon, Jeff Reynolds, war sehr smart, sehr freundlich, und es schien, dass er alles über DNA wusste. So konnte ich mich bei Jeff und seinem Wissen anlehnen, um in Berkeley in Tritt zu kommen. Jeff wurde in dieser Zeit zu einem meiner besten Freunde, und er ist es noch immer.

Mein zweites Projekt war bei Liz Blackburn. Es gab stets eine gewisse Sorge unter den Neulingen, weil die Arbeitsgruppen nicht frei gewählt werden konnten; die Zuteilungen wurden durch den Leiter des Departments, Nick Cozarelli, gemacht. Ich war sehr glücklich, dass ich Liz zugeteilt wurde, denn ich hatte ja großes Interesse, mit ihr zu arbeiten. Bei meinem Projekt klonierte ich Telomere aus Trypanosomen und der verwandten Spezies *Leishmania*. Zu der Zeit hatten Liz und Jack Szostak bereits gezeigt, dass Telomere aus *Tetrahymena* auch in Hefe als Telomere agieren. Dies war unglaublich, weil *Tetrahymena* und Hefe zu phylogenetisch verschiedenen Organismenreichen gehören. Sie hatten gezeigt, dass Plasmide, an deren beiden Enden Telomere aus *Tetrahymena* ligiert wurden, als ein lineares Chromosom in Hefe wachsen. Durch Entfernen eines der *Tetrahymena*-Telomere konnte ein funktionelles Hefe-Telomer kloniert werden. Ich verwendete diese Technik, um zu versuchen, Telomerfragmente aus Leishmanien zu erhalten. Die Arbeit machte mir großen Spaß, und aus vielen Gesprächen entwickelte ich langsam ein Gefühl dafür, welche Projekte die interessantesten waren. Ich war fasziniert von der Frage, wie Telomere verlängert werden.

Im zweiten Quartal belegte ich ein von Liz gehaltenes Seminar über Chromosomen. Ein Bestandteil des Seminars war, dass man eigens zugeteilte Veröffentlichungen vor der gesamten Klasse referieren musste. Mir wurde das 1982 in *Cell* erschienene Paper von Szostak und Blackburn über Hefe-Telomere zugeteilt. Ich war wie versteinert, hatte ich doch nie zuvor ein Referat vor einer großen Gruppe gehalten. Ich studierte das Paper in- und auswendig. Ich hatte einerseits Angst, war dabei aber auch voller Energie und gefesselt davon, das Paper zu präsentieren. Ich fand es befriedigend, dass ich meine Begeisterung für Telomere an meine Mitstudenten weitergeben konnte.

Janice Shampay, eine Studentin aus Liz' Gruppe, hatte kurz zuvor ein wichtiges Folgepaper zur *Cell*-Arbeit veröffentlicht. Darin wurde gezeigt, dass das *Tetrahymena*-Telomer Hefe-Sequenzen anfügt, wenn das lineare Plasmid in Hefe gebracht wird. Daraus ergab sich die aufregende Idee, dass diese Telomersequenzen in irgendeiner Form an die Enden der Chromosomen angefügt werden mussten. Ein Freund von mir, Jim Bliska, hatte bei seinem Projekt in Liz' Gruppe nach einer Aktivität gesucht, die Telomere verlängern könnte. Nach dem, was ich über Telomere wusste, erschien mit dieses Projekt als aufregend, weil es direkt am Kern der ganz großen Frage ansetzte, nämlich wie Telomere verlängert werden.

Ich musste mein drittes Projekt abwarten, bevor ich Liz fragen konnte, ob ich bei ihr arbeiten darf. Gegen Ende dieser dritten Station vereinbarte ich einen Termin mit Liz. Als ich in ihr Büro ging, war ich verängstigt und aufgereggt zugleich. Ich fragte sie zuerst, ob ich in ihre Gruppe kommen könne, und als zweites, ob ich am Telomerverlängerungsprojekt arbeiten dürfte. Ich war ganz und gar begeistert, als sie zu beidem „ja“ sagte. Ich glaube, dass die Unterhaltung gerade mal eine Minute dauerte, aber es war eine sehr folgenschwere und denkwürdige Minute für beide von uns.

Die Blackburn-Gruppe

Ich schloss mich Liz' Arbeitsgruppe im Mai 1984 an und begann sogleich mit der Suche nach biochemischen Hinweisen für die Telomerverlängerung in *Tetrahymena*. Liz hatte zunächst Telomere in *Tetrahymena* sequenziert, und sie argumentierte, dass diese einzelligen Wimpertierchen eine gute Quelle für eine Telomerverlängerungsaktivität wären. Jede Zelle enthält über 40 000 Telomere, und – was vielleicht noch wichtiger ist – es gibt im Lebenszyklus einen Schritt, in dem neue Telomere an fragmentierte Chromosomen angefügt werden. Ich stellte Extrakte aus *Tetrahymena*-Zellen her und untersuchte, ob künstliche Telomere durch im Extrakt vorliegende Enzyme verlängert werden könnten. In meinem Nobelpreisvortrag sind diese Experimente im Detail beschrieben.

Nach neun Monaten, in denen wir diverse experimentelle Varianten probierten, fanden wir die ersten starken Hinweise für eine Telomerverlängerung. Ein aus 18 Nukleotiden bestehender Telomer-„Keim“ wurde mit einer sechs Basen langen Wiederholungssequenz verlängert, was exakt der Länge der TTGGGG-Wiederholungssequenz des *Tetrahymena*-Telomers entsprach. Damit hatten wir nun einen biochemischen Test zur Verfügung, mit dem wir bestimmen konnten, ob dies ein neuer Mechanismus der Telomerverlängerung war. Wir begannen sogleich zu untersuchen, ob die Anknüpfung der sechs Basen tatsächlich auf eine neue Aktivität zurückzuführen war oder ob es sich vielleicht um eine wohlbekannte Polymerase handelte, die uns einen Streich spielte. Liz und ich arbeiteten gut zusammen. Wir sprachen jeden Tag über das Projekt und planten gemeinsam, was als nächstes zu tun war. Oft waren wir gleicher Meinung, manchmal aber auch nicht, und dann versuchten wir, den anderen für unsere Argumente zu überzeugen. Ich erinnere mich, dass wir einmal lange über ein Experiment sprachen und keiner von uns seinen Standpunkt aufgeben wollte. Es war eine richtiggehende Hängesitzung – als ich dann aber am nächsten Tag ins Labor kam, hatten wir beide die Seiten gewechselt und waren nun von den Argumenten des jeweils anderen überzeugt. Ich entschloss mich nun, das von Liz zuerst vorschlagene Experiment zu machen.

Ich lernte viele wichtige Lektionen in diesem ersten Jahr nach der Entdeckung der Telomerase. Die vielleicht größte Lektion war, dass man seine eigenen Hypothesen stets hinterfragen muss. Wir machten uns nicht daran, den Nachweis zu erbringen, dass wir ein neues Enzym hatten – vielmehr malten wir uns all die Möglichkeiten aus, wie uns unsere eigenen Gedankengänge in die Irre führen könnten. Ich lernte, dass es wichtiger ist, die *richtige* Antwort zu bekommen, als eine Antwort, auf die man vielleicht nur gehofft hat. Ich lernte, mein eigenes Ich außen vor zu lassen und die gewonnenen Daten durch die Augen eines Skeptikers anzuschauen. Wir arbeiteten ein ganzes Jahr lang, bevor wir uns selbst davon überzeugt hatten, dass die Telomerase tatsächlich eine spezifische Aktivität war. Die ursprüngliche Entdeckung hatten wir im Dezember 1984 gemacht, und das Paper wurde im Dezember 1985 in *Cell* publiziert.

Der Kälterraum in Stanley Hall, UC Berkeley

Wir bezeichneten die Aktivität, die wir identifiziert hatten, zunächst als „telomer terminal transferase“, weil sie Telomersequenzen zu den Endstücken transferierte, verkürzten den Begriff aber später zu „Telomerasen“. Meine Freundin Claire Wyman hatte zu Bedenken gegeben, dass Telomerenden-Transferase zu lang war, und wir dachten uns zahlreiche lustige Namen als Alternativen aus. Und tatsächlich hatte Clair den Begriff Telomerase ursprünglich nur im Scherz vorgeschlagen. Sie dachte, er sei lustig, aber Liz und ich mochten ihn beide.

Die nächste überaus spannende Frage war: Woher kommt die Information für die Anknüpfung der TTGGGG-Wiederholung? Ich fragte mich, ob es eine RNA-Komponente gab, die die angefügten TTGGGG-Sequenzen spezifizierte. Um dies herauszufinden, behandelte ich den *Tetrahymena*-Extrakt vorab entweder mit DNase oder RNase. Außerdem machte ich ein Kontrollexperiment ohne diese Zusätze. Ich erinnere mich, dass Tom Cech an diesem Tag in Berkeley zu Besuch war, um einen Seminarvortrag zu halten. Tom hatte ein langwährendes Interesse sowohl an Telomeren als auch an der Biologie der RNA. Liz und ich trafen uns morgens mit Tom und beschrieben ihm meine Idee, nämlich zu testen, ob die Aktivität von einer Behandlung mit RNase abhing. Er stimmte zu, dass es ein interessantes Experiment war. Tom wurde den ganzen Tag über im Institut herumgeführt und kam später auch bei uns vorbei, um nachzuschauen, wie das Experiment voranging. Wir fanden, dass die vorherige Behandlung des *Tetrahymena*-Extrakts mit RNase tatsächlich die Elongation blockierte. Der Befund, dass RNA für die Elongation gebraucht wurde, war ein entscheidender Hinweis: Wir konnten nun über mögliche Mechanismen nachdenken, durch die das Enzym die anzufügenden TTGGGG-Wiederholungen spezifizierte.

Die RNase-Experimente ergaben, dass beim Abbau von RNA Aktivität ausgeschaltet wurde, was bedeutete, dass es eine RNA-Komponente geben musste. Nach unserer Überlegung bestand der beste Weg, um die Beteiligung einer RNA nachzuweisen, darin, die eigentliche RNA zu finden. Also ging ich in den Kälterraum und versuchte, das Enzym aufzurütteln. Ich las so viele Bücher über biochemische Aufreinigung wie ich nur konnte, und machte mich daran, Telomerase zu isolieren. Als eine völlige Anfängerin verbrachte ich eine unmäßige Menge Zeit in der Kältekammer, um mithilfe von Chromatographiesäulen unsere Telomerase zu isolieren. Ich trug dabei meine dicke Jacke und darüber noch einen extragroßen Laborkittel. Meine Freunde scherzten, ich würde wie das Frisch-Männchen aus der Werbung aussehen.

Mit meinen Freunden in Stanley Hall waren wir eine eingeschworene Truppe. Wir trafen uns oft in der Cafeteria, unterhielten uns über Wissenschaftliches, machten Scherze, zogen uns gegenseitig auf und klagten uns unser Leid über fehlgeschlagene Experimente. Es gab viele Streiche, die wir uns gegenseitig spielten. Ich hatte einmal Ärger mit einem Experiment und klagte bei Jeff, dass ich „gelangweilt“ sei. Also packte mir Jeff abends selbstgemachtes Konfetti in meinen Schirm mit dem Wort *bored* auf jedem Fitzel. Am nächsten Tag kam ich gerade aus der Genetik-Vorlesung, ich

spannte meinen Schirm auf und Tausende von Papierfetzen fielen heraus. Das schrie nach Vergeltung. Am nächsten Tag war ich sehr früh im Labor. Ich ging zu Jeffs Laborbank, wo er 40 Flaschen mit Chemikalien auf dem Regal stehen hatte. Es waren alles Glasflaschen mit klarer Flüssigkeit, und ich riss die säuberlich aufgeklebten Etiketten ab (ich markierte die Flaschenböden mit Nummern, die ich mir notierte). Als Jeff dann ins Labor kam und sich an sein geplantes Experiment machen wollte, langte nach seinem TE-Puffer und fand 40 identische, unbeschriftete Flaschen vor. Er war erst geschockt, sah dann aber die kleinen Zahlen auf den Flaschenböden und begriff, was ich getan hatte. Er kam in unser Labor und sagte „Okay, also wo ist der Schlüssel?“ Ich tat so, als wüsste ich nicht wovon er sprach, freute mich aber innerlich, als er zugeben musste, dass ich es ihm gut heimgezahlt hatte. Diese Art Scherze waren in Stanley Hall üblich. Sehr beliebt war es, Trockeneis in Plastikschläuche zu tun, die dann explodierten und ein Geräusch machten, als ob eine Bombe in einer Metalltonne hochgeht.

Nach vier Jahren an der Graduate School befand das Promotionskomitee, dass ich meine Dissertation abschließen und mich nach einem Postdoktorat umsehen sollte. Ich erinnere mich, dass Jasper Rine mir ausdrücklich sagte, dass ich genug Material hätte, um meine Dissertation zusammenzuschreiben, also warum sollte ich nicht schnell fertig werden. Mike Botchan, der auch im Komitee saß, gab mit die starke Empfehlung, mich um ein Postdoktorat am Cold Spring Harbor Laboratory zu bewerben, wo er vor seiner Zeit in Berkeley einige Jahre geforscht hatte. Also schickte ich Bewerbungsbriefe an vier Leute am CSH, nämlich Bruce Stillman, Yasha Gluzman, Doug Hanahan und Mike Wigler, und wurde zu einem Vorstellungsgespräch eingeladen.

Cold Spring Harbor Laboratory

Ich meine mich zu erinnern, dass bei meinem Bewerbungsvortrag am CSH nur acht oder zehn Leute im Hörsaal saßen. Ich hielt einen Vortrag über Telomeraseaktivität in der James-Bibliothek. Anwesend waren die vier Gruppenleiter, bei denen ich mich beworben hatte, sowie Jim Watson, den ich vorher noch nie getroffen hatte. Es war ein kalter und regnerischer Tag, und Jim Watson lud mich hinterher zum Mittagessen ein. Bei Tisch war ich sehr aufgereggt und furchtbar verängstigt zugleich und wusste nicht, was ich sagen sollte – aber er war eindeutig an der Telomerase interessiert. Wieder zurück in Berkeley erhielt ich einen Anruf von Bruce Stillman. Er sagte, dass er mich gerne als Postdoc in seiner Gruppe hätte, sprach aber auch von der Möglichkeit, eine unabhängige Forschungsstelle am CSH anzutreten. Ich war überrascht, denn von einer unabhängigen Stelle hatte ich nie gehört, geschweige denn mich darum beworben. Später fand ich heraus, dass Mike Botchan mich ohne mein Wissen stillschweigend nominiert hatte. Bei dem Telefonat sagte ich Bruce noch, dass ich als Postdoc mit ihm arbeiten würde; aber dann dachte ich eine Woche lang über die Sache nach und realisierte, dass es so viele interessante Fragen zu Telomeren gab, dass ich liebend gerne auf eigene Faust darüber forschen würde. Also rief ich Bruce zurück und sagte ihm, dass ich die

unabhängige Stelle gerne annehmen würde. So schloss ich meine Dissertation im November 1987 ab und begann am 1. Januar 1988 am Cold Spring Harbor Laboratory.

Mein alleroberstes Forschungsziel am CSHL war die Identifizierung des für die Telomerase kodierenden Gens. Ich hatte bereits mehrere Teilsequenzen durch direkte RNA-Sequenzierung mit spezifischen RNAs erhalten. Ich stellte kurze, komplementäre Oligonukleotide für die einzelnen Bereiche der RNA-Sequenz her und benutzte sie, um Genbibliotheken aus *Tetrahymena* zu sondieren. Nach vielem Suchen fand ich einen Klon, dessen Sequenz zur RNA-Teilsequenz passte und auch die Sequenz CAACCCCAA enthielt, die zur TTGGGG-Telomersequenz komplementär war. Ich war aufgeregzt und berichtete meinen Freunden am Institut über die Sequenz. Ich war sehr überrascht, als ich beim Mittagessen in der Blackford Hall hörte, dass viele andere Leute von dem Ergebnis wussten. Ein paar Stunden später hielt mich Bruce Stillman auf der Straße an und meinte, ihm sei zu Ohren gekommen, dass ich ein großartiges Ergebnis erzielt hatte. Nachrichten verbreiteten sich schnell am CSHL, und die Leute interessierten sich wirklich dafür, was andere taten. Es war schön, auch hier wieder unter Menschen zu sein, die sich füreinander interessierten.

Einen Klon mit einer Telomerwiederholung zu haben, war extrem verlockend – aber wie konnte ich nachweisen, dass dieser Klon für die Telomeraseaktivität benötigt wurde? Ich entwarf eine Serie von Experimenten mit Antisense-Oligonukleotiden und RNase H, um zu zeigen, dass diese RNA tatsächlich für die Telomeraseaktivität benötigt wurde. Ich schrieb einen Entwurf für ein Paper und schickte ihn Liz, denn schließlich hatte ich ja meine Sequenzierungen noch in ihrem Labor angefangen. Ich präsentierte meine Arbeit in Bruce Stillmans Laborseminar, und er meinte, ich solle in dem Paper ein Modell für die Funktionsweise des Enzyms vorschlagen. Dieses Modell, das ich in sehr grober Form auf einem Macintosh SE malte, sollte sich im Laufe der Zeit tatsächlich bewähren, denn die Telomerwiederholungen werden genau in der Weise durch Kopieren der RNA-Matrize erzeugt, wie ich es ursprünglich angenommen hatte. Ich schickte Liz den Klon, der die RNA-Komponente kodiert, bevor unser Paper veröffentlicht wurde, und es gelang ihr, gemeinsam mit ihrem Studenten Gou-Liang Yu, eine Telomerase-RNA mit einer veränderten Matrizensequenz in *Tetrahymena* zu exprimieren und zu zeigen, dass dieser veränderte Teil in die Telomerwiederholungen eingebaut wurde. Dies war der definitive Beweis für das vorgeschlagene Matrizenmodell.

Der rasche Erfolg bei der Klonierung der Telomerase bedeutete für mich einen großartigen Start an der CSHL. Schon bald hatte ich meine erste Doktorandin, Lea Harrington, und ich stieg zügig in der Hierarchie auf. Wir setzten unsere Studien zur Funktion der Telomerase und ihrer Rolle in der Zelle weiter fort; mehr zu diesen Studien ist im Nobelpreisvortrag beschrieben. 1993 heiratete ich Nathaniel Compton, den ich kennenlernte, als er als Wissenschaftstexter in der Abteilung für Öffentlichkeitsarbeit am CSHL arbeitete. 1996 wurde unser Sohn Charles geboren. Nathan promovierte in Wissenschaftsgeschichte an der University of Stony Brook im Jahr 1997 und bekam eine Stelle an der George

Washington University angeboten. Ich erhielt gleichzeitig ein Angebot für eine Stelle in Tom Kellys Abteilung für Molekularbiologie und Genetik an der Johns Hopkins University. So zogen wir nach Baltimore, als Charles ein Jahr alt war, um dort ein neues Leben anzufangen.

Johns Hopkins University School of Medicine

Am Johns Hopkins erwartete mich ein äußerst interaktives und eng verflochtes Department. Obwohl die Einrichtung insgesamt viel größer ist als das CSHL, fühlte ich mich in der Abteilung für Molekularbiologie und Genetik genauso heimisch wie zuvor. Ich hatte das Glück, dass herausragende Studenten und Postdocs in meine Arbeitsgruppe kamen. Ich trennte meine Genetikstudien in zwei Forschungszweige, mit Studien an Hefe und an Mäusen. Mich interessierte nun, was mit Zellen passieren würde, die keine Telomerase enthielten. Es war wundervoll, all die Leute um sich zu haben, die die Arbeit an Telomeren ebenso aufregend fanden wie ich.

Zwei Jahre nach unserem Umzug nach Baltimore wurde meine Tochter Gwendolyn geboren. Ein Vollzeitjob mit zwei Kindern ist eine Herausforderung. Aber Charles und Gwendolyn zu haben, ist das beste, was mir je passiert ist. Meine Mitarbeiter wissen, dass ich als allererstes Mutter bin. Die akademische Wissenschaft bietet genügend Flexibilität, um Karriere und Familie unter einen Hut zu bringen. Ich kann nach Hause gehen, wann immer ich gebraucht werde, oder auch am helllichten Tag eine Schulaufführung besuchen und meine Arbeit dann später erledigen. Auch kann ich zu Hause am Computer arbeiten.

Im Jahr 2002 erfuhr ich von Tom Kelly, dem Leiter des Departments, dass er das Johns Hopkins verlassen würde, um eine Stelle am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center in New York anzutreten. Den Notizzettel meiner Sekretärin mit dem Vermerk, Tom Kelly wolle mit mir sprechen, hob ich auf – und markierte ihn als Schwarzen Tag. Und wirklich kamen mir die Tränen, als er mir von seinem Abschied erzählte. Tom war ein idealer Leiter des Departments. Er kümmerte sich um jeden und arbeitete hart daran, diese besondere kollegiale Umgebung zu schaffen, die so viele Top-Wissenschaftler anzog. Nach einem zweijährigen Suchverfahren wurde ich zur Daniel Nathans-Professorin und Leiterin des Departments für Molekularbiologie und Genetik ernannt. Ich bin extrem geehrt, den Daniel Nathans Chair zu halten. Dan Nathans, der 1999 verstarb, war eine Verkörperung an Bedachtsamkeit, Fürsorge und vor allem Integrität.

Mir war bewusst, dass ich Tom Kellys oder Dan Nathans' Fußstapfen nicht ausfüllen kann. Nichtsdestotrotz versuchte ich, meinen eigenen Führungsstil am Department einzubringen. Die großartigen Mitarbeiter des Departments machen mir meine Führungsaufgabe leicht; die Wissenschaft ist herausragend, und jeder kümmert sich um jeden. Die traditionell flache Hierarchie des Departments sorgt dafür, dass ein jeder eine Stimme hat. Entscheidungen werden diskutiert und per Konsens getroffen, nicht etwa von oben herab.

Mentoren, Freunde und Lektionen

Eine der Lektionen, die ich in den verschiedenen Stufen meiner Laufbahn gelernt habe, ist, dass man Wissenschaft nicht alleine betreibt. Forschungen, denen wir heute nachgehen, bauen auf Arbeiten vieler anderer Forscher auf, und oft werden Experimente von Freunden und Kollegen entweder direkt oder indirekt angeregt. Ideen entstammen nicht immer den Gedanken eines einzelnen, sondern resultieren oftmals aus dem gegenseitigen Austausch zwischen Menschen; neue Ideen werden schnell zu einem Teil des kollektiven Bewusstseins. Dies ist die Art, wie sich die Wissenschaft nach vorne entwickelt und wie wir neues Wissen generieren.

Ich danke den vielen Wissenschaftlern, die mich in meinem Leben beeinflusst und mir geholfen haben: Bea Sweeney, Michel Robert, Kevin Sullivan, David Asai, Les Wilson, Elizabeth Blackburn, Jasper Rine, Mike Botchan, Bruce Stillman, Rich Roberts, Dan Nathans, Tom Kelly. Ohne all die Studenten, Postdocs und wundervollen Laboranten, die ihre Energie und Ideen eingebracht haben, hätte ich nie vermocht, meine Wissenschaft auszuüben. Großer Dank schließlich auch an all die engen Freunde in Davis, Berkeley, CSHL und Baltimore, die mich immer unterstützt haben.

Nobel-Vortrag

Die Geschichte der Entdeckung der Telomerase erzählt von dem Vergnügen, das es bereitet, Teile eines Puzzles zu etwas ganz Neuem zusammenzufügen. Sie kann als ein Musterbeispiel für „neugiergetriebene“ Forschung dienen, und wie viele andere Geschichten über fundamentale Entdeckungen zeigt sie, dass wichtige Erkenntnisse aus ganz unwahrscheinlichen Richtungen stammen können. In diesem Vortrag beschreibe ich den Prozess wissenschaftlicher Entdeckungen – die manchmal frustrierend sind, manchmal in die Irre führen, aber dann manchmal auch wunderbar aufregend sein können. Es sind mehrere Faktoren, die bei einem solchen Erkenntnisgewinn zusammenwirken: ein offener Geist und die Bereitschaft, unbekannte Gebiete zu betreten und etwas Neues auszuprobieren – im Verbund mit Geduld und Hingabe. Diese Geschichte zeigt, wie Neugierde und eine Begeisterung für das Lösen von Problemen zu aufregenden Entdeckungen führen können.

Erkennen des Rätsels: Bestimmung von Telomerasequenzen

Telomere haben Biologen lange Jahre ein Rätsel aufgegeben: Es war klar, dass sich ein Chromosomenende von einem Chromosomenbruch unterschied – aber wie? In den 1930er Jahren zeigten Hermann Müller und Barbara McClintock, dass natürliche Chromosomenenden spezielle Eigenschaften haben, die für ihren Schutz sorgen; für diese natürlichen Chromosomenenden prägten sie das Wort *Telomer* aus dem Griechischen *telos* = Ende und *meros* = Teil.^[1-3] Die Frage, wie diese Enden arbeiten, blieb für viele Jahre ungelöst, bis dann schließlich ihre molekulare Struktur bestimmt wurde.

Im Jahr 1978 identifizierten Blackburn und Gall die erste Telomerasequenz, und zwar die des Wimpertierchens *Tetrahymena*, das 40000 Telomere enthält. Sie fanden, dass das Chromosomenende aus konsekutiven Tandemwiederholungen der einfachen Sequenz CCCCAA besteht.^[4] Ihre Entdeckung dieser einfachen Wiederholungssequenz erwies sich als der Schlüssel für das Verständnis der Telomerkontrolle.

Nach den ursprünglichen Arbeiten an *Tetrahymena*-Telomeren wurden sehr ähnliche Tandemwiederholungen in den Telomeren anderer Organismen identifiziert, darunter *Oxytricha*, *Physarum*, Hefe und Trypanosomen.^[5-8] Die Tatsache, dass Telomerasequenzen über eine breite Vielfalt von Organismen konserviert waren, legte unmittelbar den Schluss nahe, dass auch die Funktion der Telomere in diesen Spezies sehr ähnlich war. Es lag außerdem nahe, dass Telomere und ihre Funktion – der Schutz der Chromosomenenden – zu einem frühen Zeitpunkt der Evolution entstanden sind, sodass alle Spezies mit linearen Chromosomen mit dem im Prinzip gleichen Schutzmechanismus evolvierten.

Eigentümliche Fakten über Telomere: erste Teile des Puzzles

Liz Blackburn und andere waren an der Frage interessiert, wie die einfachen Wiederholungseinheiten arbeiteten, um als Telomere ein Chromosomenende zu schützen. Schon bald nach der ersten Identifizierung der Telomerasequenz kamen einige sonderbare Fakten zum Vorschein. Zunächst waren Telomere heterogen bezüglich ihrer Länge: In einer Population von Zellen trugen Chromosomenenden Telomere mit unterschiedlicher Zahl an Wiederholungseinheiten.^[4] Wie kam es dazu? Wenn eine Population von Telomeren mithilfe von Restriktionsenzymen verdaut wurde, fanden sich nach Elektrophorese in Agarosegel verschmierte Banden (Abbildung 1). Warum war das so? Die verschiedenen langen Telomere hatten heterogene Fragmentlängen erzeugt, die alle zu etwas anderen Positionen im Agarosegel wanderten und so die verschmierten Banden ergaben – ganz im Gegensatz zu den scharfen Banden, wie sie für Restriktionsenzyme, die alle eine ähnliche Größe haben, typisch sind.

Ein zweiter sonderbarer Befund war, dass die Telomere in Trypanosomen während der Zellkultivierung immer länger wuchsen.^[5] Das gleiche überraschende Ergebnis wurde gefunden, wenn ähnliche Experimente mit *Tetrahymena* ausgeführt wurden: Auch hier wuchsen die Telomerfragmente kontinuierlich, wenn sie unter logarithmischen Wachstumsbedingungen gehalten wurden (Abbildung 1).^[9] Dieses Verhalten war unerwartet, und tatsächlich widersprach es Voraussagen, die man auf der Grundlage von Modellen der Telomer-Replikation getroffen hatten. Basierend auf dem Mechanismus, mit dem die DNA-Polymerase DNA während der Zellteilung repliziert, schlug James Watson 1974 vor, dass ein lineares Chromosom mit der Zellteilung kürzer werden sollte.^[10] Eine ähnliche Idee wurde auch von Alexi Olovinkov formuliert, der vorschlug, dass Chromosomenenden im Zuge der DNA-Replikation gekürzt wurden.^[11,12] Warum wurden dann die Telomere länger? Und warum waren ihre Banden verschmiert?

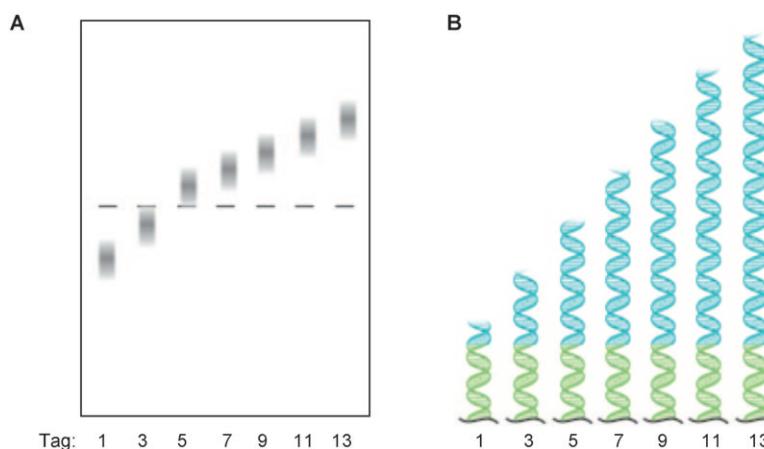


Abbildung 1.

Telomerverlängerung in Trypanosomen und in *Tetrahymena*. Bei Zellen, die unter logarithmischen Wachstumsbedingungen gehalten werden, wird eine kontinuierliche Verlängerung der Telomere beobachtet. A) Gelelektrophorese von Telomeren aus *Tetrahymena*: Die Telomere zeigen unterschiedliche Längen. Jede Spur entspricht einer zunehmenden Zahl an Zellteilungen. B) Schematische Darstellung der im Gel beobachteten Telomerverlängerung.

Mehr Teile des Puzzles: Anbindung an Telomersequenzen

Als sich Liz Blackburn und Jack Szostak das erste Mal auf einer Tagung begegneten, waren beide an DNA-Enden interessiert. Sie wussten um die Struktur und das merkwürdige Verhalten der Telomere, und sie sahen einen Weg, die Teile des Puzzles zu benutzen, um ein aussichtslos scheinendes Experiment auszuführen: nämlich zu prüfen, ob *Tetrahymena*-Telomere auch in Hefe als Telomere agieren könnten. Das Experiment schien deshalb aussichtslos, weil die beiden Sepzies nur sehr entfernt verwandt sind und vor Millionen von Jahren von einem gemeinsamen Urahnen divergierten. Auch wenn das Experiment aussichtslos schien, so war es doch eines, das man ausführen konnte – und so ging es also voran.

Blackburn und Szostak nahmen ein zirkuläres Hefeplasmid und schnitten es mit einem Restriktionsenzym in zwei lineare Stücke. Jack wusste aus seinen früheren Experimenten mit Hefe, dass diese lineare DNA schnell abgebaut wurde, wenn man sie in Hefezellen brachte. Die Frage war nun, ob das Anknüpfen von *Tetrahymena*-Telomeren an diese lineare DNA zu einer Schützung der DNA-Enden führen würde – wie es in *Tetrahymena* passiert –, sodass der normalerweise schnelle Abbau der DNA durch den Transfer in Hefezellen verhindert wird. Liz reinigte die *Tetrahymena*-Telomere, und Jack ligierte sie an das linearisierte Hefeplasmid (Abbildung 2). Als sie dieses Konstrukt in Hefe transferierten, war es stabil: Es wurde repliziert und in Form eines linearen Chromosomenfragments stabilisiert.

Diese Stabilisierung des linearen Plasmids war ein verblüffendes Ergebnis: Es deutete darauf hin, dass die *Tetrahymena*-Telomere auch in dem sehr entfernt verwandten Organismus Hefe funktionell waren und DNA-Enden schützten.^[8] Der nächste Schritt war, dass Liz und Jack mit einem Male realisierten, dass sie eine Methode zur Hand hatten, um die Sequenz natürlich vorkommender Hefe-

Telomere zu bestimmen: Statt *Tetrahymena*-Telomere zum Zweck der Schützung an das lineare Plasmid zu knüpfen, bestand die Idee nun darin, diejenigen Teile des Hefe-Genoms zu finden, die das Plasmid in der gleichen Weise schützen und also das Hefe-Telomer enthalten. Um dies zu tun, entfernten sie ein Ende des linearen Plasmids, an das *Tetrahymena*-Telomere angefügt worden waren, und ligierten zufällige Genomfragmente der Hefe-DNA an die freien Enden. Diese zufälligen Fragmente stabilisierten das lineare Plasmid.

Bei diesen Experimenten stießen Liz und Jack auf einen anderen merkwürdigen Befund: Die *Tetrahymena*-Telomere am in Hefe gehaltenen Plasmid waren länger als zu Beginn der Experimente. Warum war das so? Um diese Frage zu klären, sequenzierten Liz und Jack, zusammen mit Janice Shampay, die klonierten Hefe-Telomere und die Telomer-Enden aus *Tetrahymena*. Sie fanden, dass das Hefe-Telomer die gleiche Art von Tandemwiederholungen aufwies, wie sie in allen anderen bis dahin untersuchten Organismen gefunden wurden. Noch verblüffender war, dass die Sequenzen der *Tetrahymena*-Telomere am linearen Plasmid länger waren: Die ursprünglichen *Tetrahymena*-Telomere waren durch terminale Anbindung hefespezifischer Sequenzen verlängert worden (Abbildung 2).^[13]

Dieses letzte Puzzlestück war ein sehr wichtiges. Es waren Modelle für die Aufrechterhaltung und Verlängerung der Telomerase vorgeschlagen worden, die eine Telomer-Telomer-Rekombination umfassten (Abbildung 3 A). Jack und Liz erkannten jedoch, dass die Anknüpfung von hefespezifischen Sequenzen an die *Tetrahymena*-Enden mit den Modellen nicht erklärt werden konnte. Stattdessen wiesen die Daten auf die Existenz eines aktiven Verlängerungsmechanismus in der Hefe hin, nach dem DNA *de novo* erzeugt wird und nicht etwa als Ergebnis eines Rekombinationseignisses entsteht (Abbildung 3 B). Sie schrieben in ihrem Paper, dass „*wir den Vorschlag machen, dass terminale Transferase-artige Enzyme für die Verlängerung der G + T-reichen Stränge der Hefe-Telomere verantwortlich sind*“. Sie kamen zu dem Schluss, dass kein bekanntes Enzym die Anknüpfung bewerkstelligen konnte, und schlugen anstelle dessen vor, dass es ein unbekanntes Enzym sein musste, das die Telomersequenzen anknüpft.

Telomerverlängerung: der Rahmen des Puzzles

Als ich im Mai 1984 in Liz' Gruppe kam, begann ich nach diesem unbekannten Enzym zu suchen. Wir wollten sehen, ob es uns mithilfe der Biochemie gelingen würde, ein Enzym auszumachen, das Telomere verlängern konnte. Es gab kein etabliertes Protokoll für das Auffinden eines unbekannten Enzyms, also entwickelten wir selbst eines. Genauer gesagt entwickelten wir fortlaufend neue Protokolle, und dies mit einem hohen Maß an biochemischer Improvisation: So begannen wir etwa mit einem bestimmten Test, der uns erlaubte,

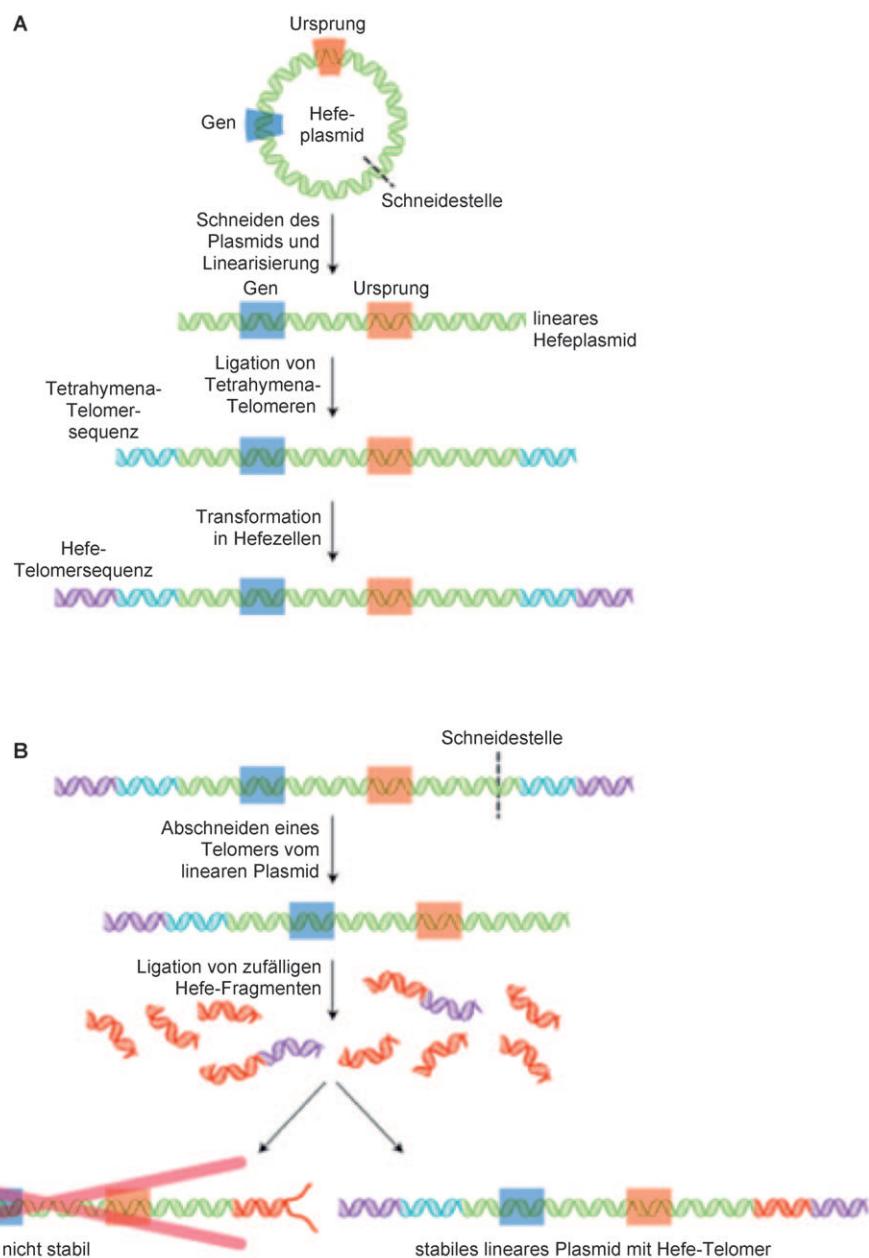


Abbildung 2. Experimentelle Hinweise für die Telomerverlängerung: A) Telomere aus *Tetrahymena* werden auch in Hefezellen verlängert. Ein ringförmiges Hefeplasmid wurde an einer spezifischen Stelle geschnitten und linearisiert, anschließend wurden *Tetrahymena*-Telomere an das Plasmid angefügt. Die erhaltene DNA wurde in Hefezellen transferiert und war dort stabil. In der Hefezelle wurde die DNA durch Anfügen von Telomersequenzen der Hefe verlängert. B) Klonierung eines Hefe-Telomers. Vom linearen Plasmid aus (A) wurde ein Ende abgeschnitten, und zufällige Bruchstücke des Hefe-Genoms ligierten an die Schnittstelle. Diejenigen Produkte, an die interne Hefe-DNA addierte, waren nicht stabil (Abbau durch Nukleasen). Wurde jedoch ein DNA-Stück ligiert, das ein Telomer enthielt, war das Plasmid stabil und propagierte in Form eines linearen Plasmids. Telomerfragmente der Hefe wurden erstmals mithilfe dieser Strategie identifiziert.

die Anknüpfung an Telomere nachzuweisen, und nahmen dann nach jedem Satz von Experimenten Modifizierungen am Protokoll vor. Wir änderten die Reaktionsbedingungen, die Substrate und sogar die Nachweismethode. Nach neun Monaten fanden wir etwas, und so hatten wir ein weiteres Puzzlestück. Was aber ereignete sich in dieser neuromonatigen Suche nach diesem Puzzlestück?

Als erstes brauchten wir einen Test – eine Methode, um nachzuweisen, ob eine Telomerverlängerung stattfand. Der

erste Test, den wir probierten, sollte feststellen, ob ein Stück DNA, das eine Telomersequenz enthielt, DNA-Vorstufen leichter einbaut als ein Stück DNA, das nicht-telomatische Sequenzen enthielt. Die Idee war folgende: Wenn es ein Enzym gab, das aktiv Telomere verlängerte, dann würden wir in der Lage sein, es anhand seiner Aktivität gegenüber der Telomer-DNA nachzuweisen. Für diesen Test entwickelten wir ein Substrat, das ein Telomer in der Zelle nachahmen sollte: ein lineares DNA-Fragment, das am einen Ende eine

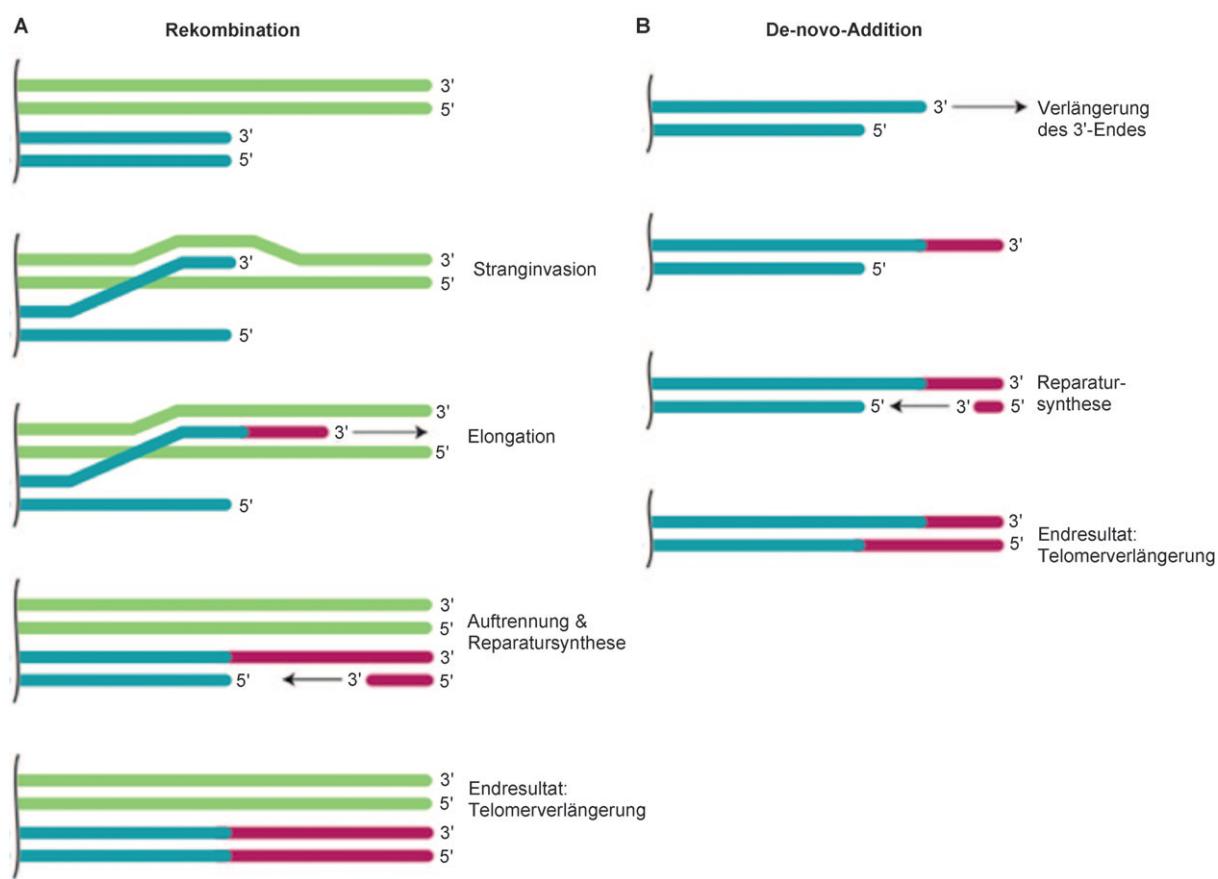


Abbildung 3. Zwei Modelle für die Telomerverlängerung: A) Durch Rekombination können Telomere verlängert werden. Da die telomeren Wiederholungssequenzen an allen Chromosomenenden homolog sind, kann der Fall eintreten, dass bei der Rekombination durch Genkonversion ein kurzes Telomer von einem langen Telomer abkopiert wird. Das 3'-Ende des kurzen Telomers geht eine Basenpaarung mit dem längeren Telomer ein und wird anschließend durch eine Polymerase verlängert. Der andere Strang kann durch normale Polymeraseaktivität kopiert werden. Unterm Strich führt der Vorgang zu einer Verlängerung des kurzen Telomers, während das lange Telomer seine Länge beibehält. B) In einem alternativen Modell für die Telomeraseverlängerung werden Telomere de novo verlängert. Die Entdeckung der Telomerase zeigte, dass dieser Mechanismus bei den meisten Spezies der vorherrschende Mechanismus der Telomerverlängerung ist.

Telomersequenz enthielt und am anderen Ende nicht (Abbildung 4). Ich inkubierte dieses lineare DNA-Fragment mit den Nukleotiden dA, dC, dG und dT – den Bausteinen der DNA –, die mit dem radioaktiven Isotop ^{32}P markiert waren. Unsere Überlegung war, dass ein Elongationsenzym bevorzugt dasjenige Ende des DNA-Fragments verlängern würde, das die Telomersequenz enthielt; falls das der Fall wäre, würden wir mehr ^{32}P an diesem Ende finden als am telomerfreien Ende.

Ich inkubierte die lineare DNA in einem aus Zellkernen von *Tetrahymena* hergestellten Extrakt. Der Extrakt war so präpariert, dass wir hoffen durften, dass all die Enzyme, die normalerweise in den Zellkernen vorkommen, auch wirklich aktiv sind. Als DNA-Vorstufen fügten wir außerdem radioaktiv markiertes dCTP und dGTP sowie nichtmarkiertes dATP und dCTP hinzu. Nach einstündiger Inkubation isolierte ich das lineare Fragment aus dem Extrakt und untersuchte, was mit den Enden geschehen war. Ich schnitt das DNA-Fragment in zwei verschiedene große Fragmente, um die telomerischen und nicht-telomerischen Enden auseinanderzuhalten (das kleinere der beiden Stücke enthielt das telomatische Ende). Anschließend konnten wir die beiden ver-

schieden großen Fragmente in einem Agarosegel auftrennen und identifizieren.

Nach der Auf trennung der beiden Stücke setzten wir das Gel einem Röntgenfilm aus, denn die Fragmente, die die ^{32}P -markierte Vorstufe eingebaut hatten, würden eine dunkle Bande auf dem Film erzeugen, an der wir sie identifizieren konnten. Dann schauten wir, ob das Fragment mit dem Telomerende mehr von dem radioaktiven Marker eingebaut hatte als das Fragment ohne Telomerende (Abbildung 4). Leider wiesen beide Fragmente stets die gleichen Mengen des Markers auf, ganz gleich wie wir den Extrakt präpariert hatten. Das bedeutete, dass wir das Problem auf andere Weise angehen mussten.

Eine Strategie zur Lösung des Puzzles: das richtige Testsystem

Am besten löst man ein Puzzle, indem man die richtige Strategie anwendet. Da wir nicht genau wussten, wonach wir suchten, probierten wir eine Reihe verschiedener Ansätze aus, um zu sehen, welcher Plan erfolgreich sein könnte. Nach jedem Experiment überlegten wir uns dann, wie wir das

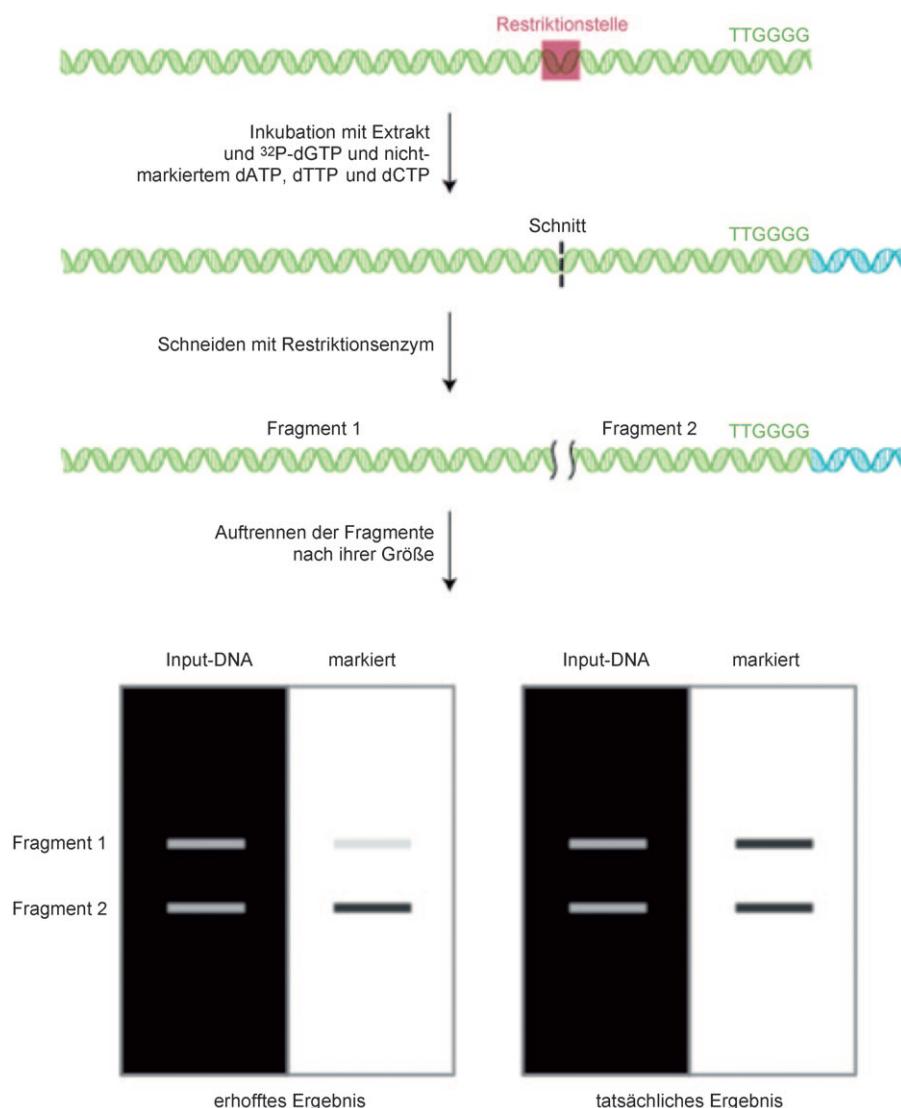


Abbildung 4. Ursprünglicher experimenteller Ansatz zum Nachweis einer telomerspezifischen Markierung von Chromosomenenden. Ein Restriktionsfragment wurde aus einem Plasmid aufgereinigt. Das Fragment wies telomatische DNA am rechten Ende und nicht-telomatische DNA am linken Ende auf und enthielt eine spezifische Schnittstelle für ein Restriktionsenzym, um zwei unterschiedlich große Stücke (Fragment 1 und Fragment 2) zu erzeugen. Nach Inkubation mit ^{32}P -dGTP und ^{32}P -dCTP sowie unmarkiertem dATP und dTTP wurde das Fragment aufgereinigt und mit dem Restriktionsenzym geschnitten. Die Produkte wurden an Agarosegel getrennt, und das Gel wurde anschließend einem Röntgenfilm ausgesetzt. Das erwartete Ergebnis war, dass das Fragment 1 mit dem telomatischen Ende bevorzugt markiert würde (Bild links unten). Das tatsächliche Ergebnis war, dass beide Enden gleichmäßig markiert wurden (Bild rechts unten). Das Experiment wurde daraufhin revidiert.

Protokoll für das nächste Experiment abwandeln konnten. Zwei der vielen Anwendungen, die wir probierten, erwiesen sich als wichtig: die Verwendung von Sequenzierungsgels, um die DNA-Fragmente nach der Inkubation aufzutrennen, und die Verwendung von synthetischen Oligonukleotiden als Telomersubstrate anstelle der großen Restriktionsfragmente. Welche Folgen hatten diese Abwandlungen für den Ausgang unserer Experimente?

Nach unseren anfänglichen Versuchen, die ich oben beschrieben habe, rätselten wir über die Tatsache, dass sowohl die telomerisierten als auch die nicht-telomerisierten Enden

den radioaktiven Marker eingebaut hatten. Wir kamen auf die Idee, dass Exonukleasen, die im Extrakt vorhanden sein sollten, sehr wahrscheinlich einzelsträngige DNA-Sequenzen innerhalb des linearen DNA-Fragments erzeugten; Reparaturpolymerasen würden dann die Einzelstrangregion ausfüllen und dafür sorgen, dass radioaktive Marker in beide Enden des Fragments eingebaut werden. Wir machten uns viele Gedanken darüber, wie wir mit diesem Problem fertig würden. Als Erstes änderten wir die Herangehensweise: Statt nach einem vermehrten Einbau des Markers zu schauen, suchten wir nun nach Änderungen in der Größe des Fragments. Falls es ein Enzym gab, das Telomere verlängerte, dann sollten die Telomere nicht nur mit den radioaktiven Vorstufen markiert werden, sondern es sollte sich mit länger werdendem Telomer auch die Größe des Fragments ändern. (Die vorhandenen Reparaturpolymerasen, die die Markierung sowohl der telomerisierten als auch der nicht-telomerisierten Enden verursachen konnten, können keine DNA erzeugen, die länger ist als die im Testsystem eingesetzten Fragmente.)

Um die Größenänderung eines Fragments zu sehen, brauchten wir ein kurzes Fragment: Kleine Größenänderungen eines großen Fragments wären schwer nachzuweisen, während man bei einem kleinen Fragment einen sehr merklichen Unterschied sehen würde. Wir wiederholten das Experiment wie oben beschrieben, schnitten diesmal aber das Fragment sehr nah am telomerisierten Ende, um ein nur 34 Basenpaare langes Telomerfragment zu erzeugen. Die nicht-telomerisierten und telomerisierten Fragmente wurden in einem Gel getrennt, das üblicherweise für die Sequenzanalyse von DNA verwendet wurde und Fragmente auseinanderhalten konnte, die sich in ihrer Länge nur um ein Basenpaar unterschieden.

Ich arbeitete von Mai bis Dezember, wobei ich verschiedene Varianten dieses Experiments probierte. Trotz aller Anstrengungen beobachtete ich aber keine nennenswerten Änderungen in der Fragmentgröße, die mich überzeugt hätten. Also entschlossen wir uns im Dezember 1984, den Test abermals abzuwandeln: Wir wechselten das Substrat, das wir der Reaktion zufügten. Statt eines langen linearen DNA-

Fragments probierte ich das synthetische, aus 18 Nukleotiden bestehende Oligonukleotid (TTGGGG)₄ als Substrat aus. Eric Henderson, ein Postdoc in unserer Gruppe, untersuchte damals die ungewöhnliche Struktur von DNA-Oligonukleotiden bestehend aus diesen G-reichen Telomersequenzen, und er stellte mir eine brauchbare Menge seines synthetischen Oligonukleotid zur Verfügung, das ich anstelle des DNA-Restriktionsfragments verwenden wollte, um zu sehen, ob es verlängert wurde.

So begann ich dann, die Verlängerung des telomerisierten Oligonukleotids zu untersuchen. Ich stellte Zellextrakte von *Tetrahymena* her und inkubierte sie mit dem Oligonukleotid und den radiomarkierten Nukleotid-Vorstufen (Abbildung 5 A). Es dauerte über eine Woche, um das Experiment vorzubereiten, die Reaktionen auszuführen und dann das Sequenzierungsgel anzuwenden. Um das vom radioaktiven Marker erzeugte Signal zu maximieren, setzte ich das Gel drei Tage lang einem Röntgenfilm aus. Schon beim Entwickeln des Röntgenfilms sah ich das faszinierende Muster der verlängerten Produkte, die sich im Gel ausbreiteten (Abbildung 5 B). Das Oligonukleotid wurde zu Produkten verlängert, die sich um sechs Basen unterschieden und die charakteristischen Muster bildeten, die man im Gel klar sehen konnte. Dies war das erste Mal, dass die Aktivität von Telomerasen sichtbar gemacht wurde.

Probe aufs Exempel: Passen die Teile wirklich oder zwingen wir sie dazu?

Am nächsten Tag sprach ich mit Liz und zeigte ihr das Gel. Wir redeten beide durcheinander, als wir versuchten, uns die Bedeutung des Musters zu erklären. Wir wussten, dass es das Ergebnis der Enzymaktivität sein konnte, nach der wir gesucht hatten, wollten aber auch sichergehen, dass das Muster tatsächlich von einem neuen Enzym erzeugt wurde. Sahen wir wirklich etwas Neues oder führte uns unser Wunschenken auf eine falsche Fährte?

Um Gewissheit zu bekommen, spielten wir verschiedene alternative Erklärungen durch, wie ein solches Muster sonst zustande kommen könnte. Zum Beispiel überlegten wir, dass der TTGGGG-Primer mit doppelsträngiger genomicscher DNA verschmelzen könnte, die womöglich als Verunreinigung vorlag. Eine konventionelle Polymerase könnte dann bei der DNA-Replikation die Anbindung der TTGGGG-Gruppierung bewirken (Abbildung 6 A). Oder aber die Primer könnten miteinander verschmelzen und ein doppelsträngiges Substrat erzeugen, das dann von einer konventionellen Polymerase kopiert wird (Abbildung 6 B).

Um diese und andere Bedenken anzugehen, entwickelten wir einen stetig anwachsenden Satz von Kontrollexperimenten, um herauszufinden, ob die Anbindung der Wiederholungseinheiten aus der Aktivität eines vorher identifizierten Enzyms resultierte. Zum Beispiel behandelten wir die Proben

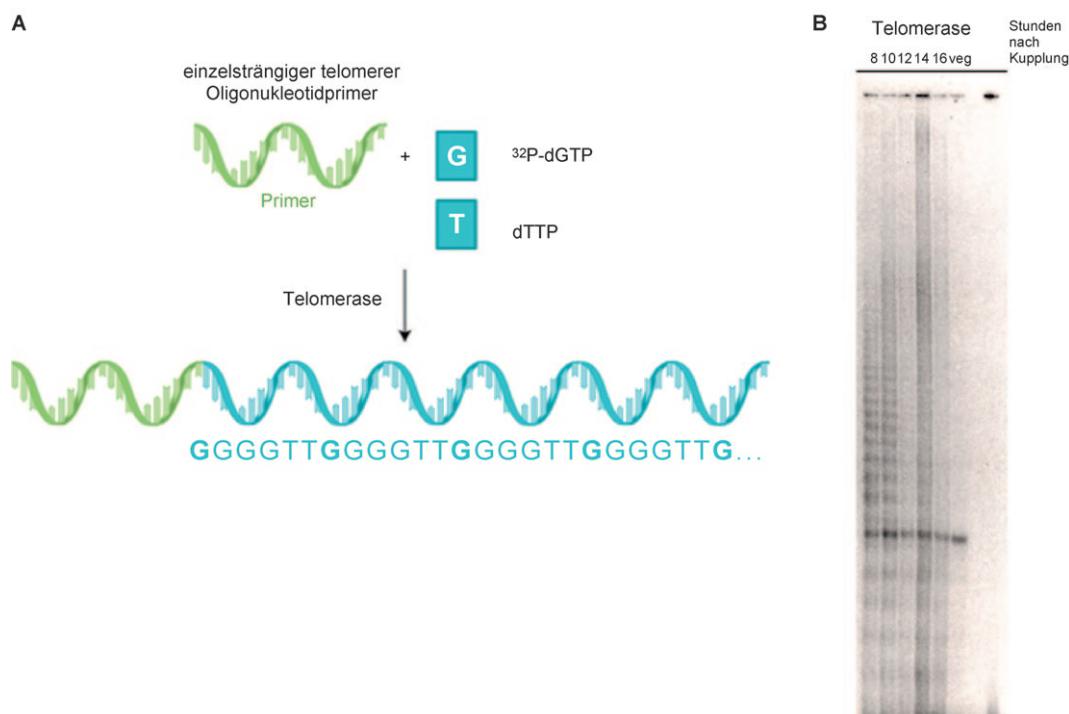


Abbildung 5. Testsystem für den Nachweis von Telomeraseaktivität: A) Experimenteller Ansatz für die Primerverlängerung: Ein einzelsträngiges DNA-Oligonukleotid mit der Sequenz TTGGGGTTGGGTTGGG wurde mit ³²P-dGTP und nichtmarkiertem dTTP behandelt und in Zellextrakten von *Tetrahymena* inkubiert, von denen wir uns erhofften, dass sie Telomeraseaktivität enthielten. Der Primer wurde um eine Sechs-Basen-Wiederholungssequenz verlängert. B) Telomeraseverlängerung eines telomerischen Primers: Zu bestimmten Zeitpunkten der Entwicklung wurden *Tetrahymena*-Extrakte präpariert (obere Reihe in Stunden); außerdem wurden Extrakte aus vegetativ wachsenden Zellen (veg) präpariert. Das Bandenmuster entspricht der Sechs-Basen-Wiederholungssequenz GGGGTT, die an den Primer angefügt wird. Dieses Autoradiogramm war das allererste Experiment, bei dem eine Telomeraseaktivität zu sehen war (25. Dezember 1984).

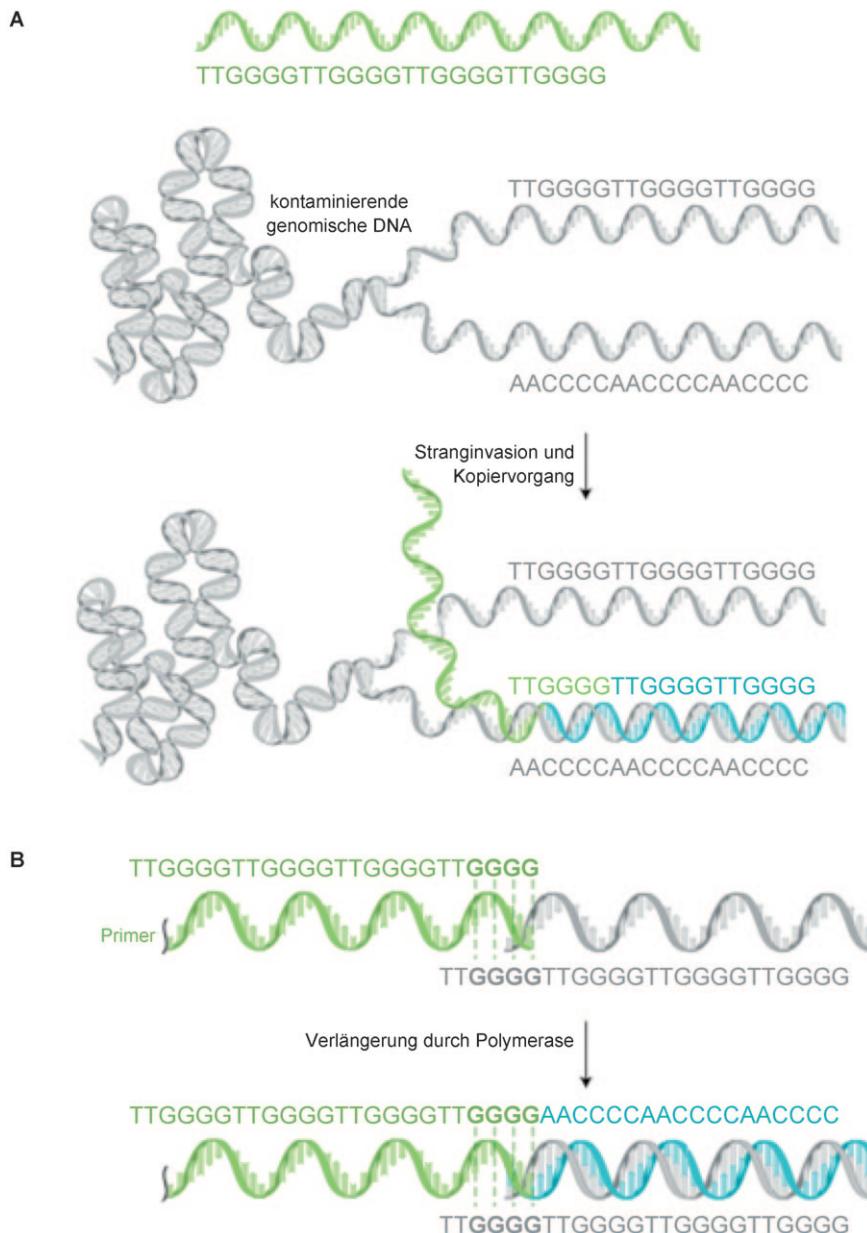


Abbildung 6. Mögliche Artefakte, die eine Telomerverlängerung vortäuschen könnten: A) Falls der Telomerase-Primer an DNA-Kontaminationen im Extrakt bindet, könnte jede normale DNA-Polymerase die Telomerase-Sequenz kopieren und das Sechs-Basen-Muster erzeugen. B) Zwei Telomerase-Primers könnten über eine G-G-Basenpaarung miteinander verschmelzen. Bei Verlängerung dieser „Primer-Dimere“ könnte ebenfalls ein Sechs-Basen-Muster resultieren.

mit Aphidicolin, das konventionelle DNA-Polymerasen hemmt. Noch wichtiger war ein Test, bei dem wir einen CCCCAA-Primer verwendeten, von dem zu erwarten war, dass er verlängert wird, wenn ein einfaches Kopieren der Telomerase-Wiederholungen durch DNA-Polymerase stattfand (und keine de novo stattfindende Anbindung von Nukleotiden). Die Tatsache, dass der CCCCAA-Primer nicht verlängert wurde, schloss die triviale Erklärung aus, dass das Muster von einem Kopieren von endogener DNA herrührte.

Es war eine aufregende Zeit. Nachdem wir wiederholt die Verlängerung des Primers sehen konnten, begannen wir bald

auf verschiedene Weise auszuprobieren, wie diese Aktivität zustande kommen könnte. Ich kam jeden Tag mit großer Vorfreude ins Labor, um den nächsten Satz von Experimenten anzusetzen und wieder etwas Neues zu finden. Den letzten Hinweis, der Liz und mich davon überzeugte, dass wir etwas ganz Neues hatten, erhielt ich, indem ich das umgekehrte Experiment durchführte wie das von Liz und Jack Szostak, das sie 1982 in *Cell* veröffentlicht hatten. Sie hatten damals *Tetrahymena*-Telomere in Hefezellen eingeschleust und gezeigt, dass eine Telomerase-Sequenz der Hefe an die Enden der *Tetrahymena*-Telomere angefügt wurde. Wir stellten nun umgekehrt einen synthetischen Hefe-Telomerase-Primer her und gaben ihn *Tetrahymena*-Extrakten zu – und fanden, dass die Telomerase-Wiederholungen von *Tetrahymena* an die Hefe-Telomere angefügt wurden.

Wie konnten wir wissen, dass *Tetrahymena*- und nicht etwa Hefe-Telomere angefügt wurden? Der Primer der Hefesequenz besaß drei G an seinem Ende, die *Tetrahymena*-Sequenz dagegen vier. Die Banden der an den Hefe-Primer angefügten Sequenzen zeigten eine Base mehr an, als wenn Hefe-Sequenzen angefügt worden wären: Diese zusätzliche Base war das vierte G, das notwendig war, um die in der *Tetrahymena*-Sequenz gefundene GGGG-Tetrade zu vervollständigen. Dieses Ergebnis war ziemlich verblüffend. Die Verschiebung im Bandenmuster überzeugte uns davon, dass ein neues Enzym am wirken war: Wir konnten uns nicht vorstellen, wie konventionelle Polymerasen eine Hefe-Sequenz mit *Tetrahymena*-Wiederholungen verlängern sollten. Die Ergebnisse wurden in einem im Dezember 1985 in *Cell* erschienenen Paper veröffentlicht.^[14]

Der nächste Teil des Puzzles: Sequenzinformation

Die nächste große Frage war, wo die Information für das Anknüpfen der TTGGGG-Wiederholungen herkam. Liz und ich diskutierten mehrere Modelle. Meine allererste Vermutung war, dass es eine RNA-Komponente gab, die an die Chromosomen angefügten Sequenzen spezifiziert. Ich begann ein Experiment, bei dem ich den Extrakt vorab entweder mit DNase (die DNA verdauen würde) oder RNase (die RNA

verdauen würde) versetzte, um zu sehen, ob diese Vorbehandlung einen Einfluss auf die Aktivität der Telomerase hatte. Außerdem führte ich natürlich ein Kontrollexperiment ohne diese Zusätze aus. An dem Tag, an dem ich das Experiment ausführte, kam Tom Cech, der sich schon lange mit Telomeren und RNA befasste, zu einem Vortrag nach Berkeley. Liz und ich trafen uns morgens mit Tom und beschrieben ihm meine Idee, nämlich zu testen, ob die Aktivität von einer Behandlung mit RNase abhing. Er pflichtete bei, dass es ein interessantes Experiment war.

Tom wurde den ganzen Tag über im Institut herumgeführt und kam später auch bei uns vorbei, um nachzuschauen, wie das Experiment voranging. Wir fanden, dass die vorherige Behandlung des *Tetrahymena*-Extrakts mit RNase tatsächlich die Elongation blockierte. Der Befund, dass RNA für die Elongation gebraucht wurde, war ein entscheidender Hinweis: Wir konnten nun über mögliche Mechanismen nachdenken, durch die das Enzym die anzufügenden TTGGGG-Wiederholungen spezifizierte.

Gibt es eine Matrize?

Die Tatsache, dass Telomerasen durch Behandlung mit RNase inaktiviert wurden, führte zu einer klaren Hypothese: Die TTGGGG-Wiederholungen werden durch einen Kopiervorgang an einer RNA-Matrize erzeugt, die ein Bestandteil der funktionellen Telomerase ist. Der beste Weg, um diese Hypothese zu prüfen, bestand darin, die eigentliche RNA-Matrize zu finden. Um einen Bestandteil der Telomerase zu isolieren, mussten wir zuerst das Enzym aus all den anderen Proteinen im Rohextrakt isolieren. Ich entwickelte ein mehrstufiges Reinigungsprotokoll für die Telomerase, wobei eine konventionelle Säulenchromatographie zum Einsatz kam (Abbildung 7A). Ich trennte den Extrakt in Fraktionen und testete jede Fraktion auf Aktivität, um die Fraktion mit der Telomerase zu identifizieren. Dann nahm ich die aktiven Fraktionen und unterwarf sie einem weiteren, anderen Trennschritt. Ich verwendete Größenausschluss-, Ionentauscher-, Farbstoff- und Heparin-Säulen, und tatsächlich gelang so die Aufreinigung der Telomerase (Abbildung 7B). Ich suchte nun in der aktiven Fraktion nach einer RNA, die beim Vorliegen einer aktiven Telomerase in Begleitung vorliegen musste. Ich reinigte die RNAs aus den

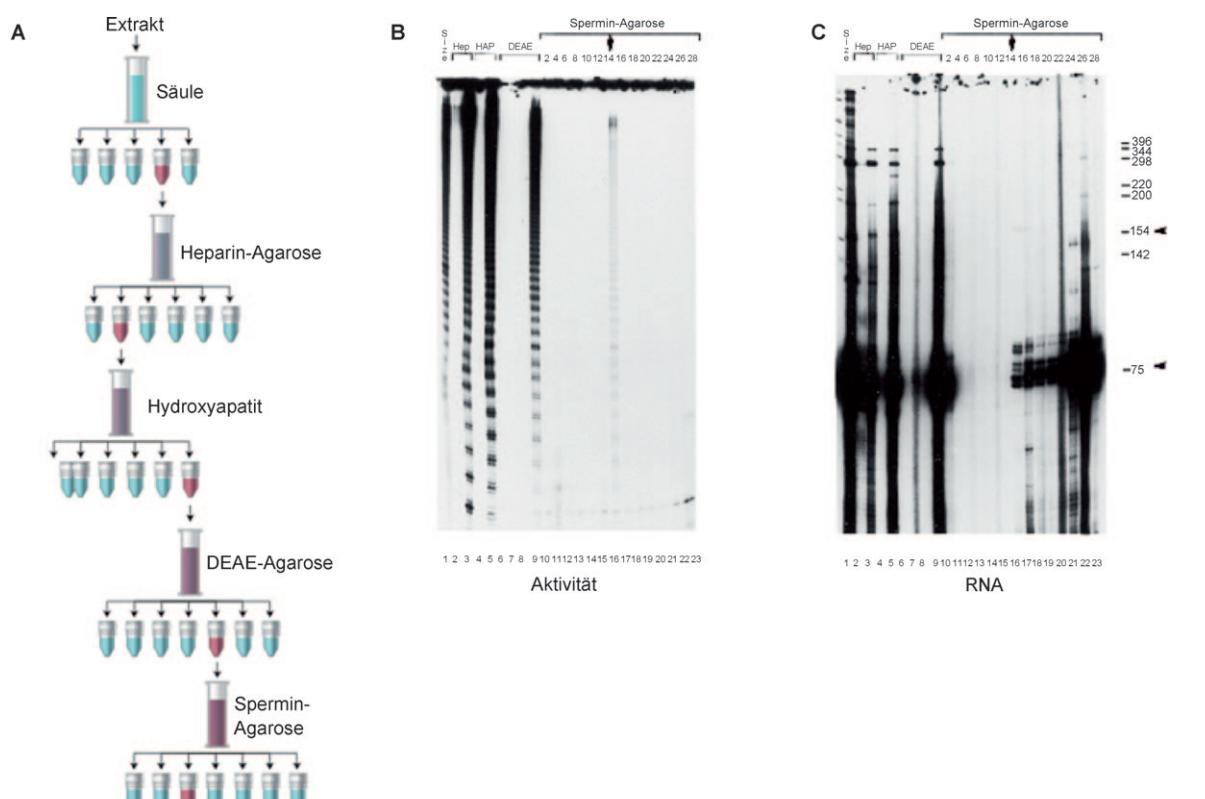


Abbildung 7. Aufreinigung der Telomerase und Identifizierung der mitaufgereinigten RNA: A) Die Extrakte wurden zunächst an einer Größenausschlussäule fraktioniert. Anschließend wurden die Fraktionen auf Aktivität getestet und die aktiven Fraktionen nochmals an einer Heparin-Agarose-Säule fraktioniert. Die weitere Aufreinigung wurde in der gleichen Weise durchgeführt, d. h., nach jeder Säule wurden die aktiven Fraktionen auf eine weitere Säule gegeben (Hydroxyapatit, DEAE-Agarose und schließlich Spermin-Agarose). B) Aufnahme eines Gels, das für jede der Säulen aus Teilbild (A) die aktiven Fraktionen zeigt. C) Um die mitaufgereinigten RNAs zu identifizieren, wurden alle RNAs aus den aktiven Fraktionen an ihren Enden mit ^{32}P markiert und durch Gelelektrophorese getrennt. Die schwache RNA-Bande in den Spuren 6 und 7, die mit dem 154-Basen-Marker (rechts angezeigt) wanderte, wurde später als die Telomerase-RNA identifiziert. Wiedergabe von (A) und (B) nach Lit. [15] mit Genehmigung von Elsevier.

aktiven Fraktionen und markierte sie mit ^{32}P (Abbildung 7C); dann engten wir den Kreis an möglichen Kandidaten ein, indem wir bestimmten, welche RNAs beim Aufreinigen stets im Verbund mit Telomerase anfielen.

An diesem Punkt bekamen wir es mit der nächsten Herausforderung zu tun: Wir brauchten die Sequenz der RNA-Komponente, um bestimmen zu können, ob tatsächlich ein Templatmechanismus vorlag. Wir probierten eine Reihe von Methoden, um die RNA-Sequenz zu erhalten, einschließlich der damals sehr neuen Methode der Polymerasekettenreaktion (PCR), von der wir gehört hatten, die aber noch nicht publiziert war.

Nachdem wir einige Monate vergeblich versucht hatten, eine Sequenz zu erhalten, entschloss ich mich für einen direkteren Ansatz: Ich benutzte direkte Sequenzierungstechniken, um von denjenigen RNAs, die sich als gute Kandidaten herauskristallisierten, eine Teilsequenz zu bestimmen. Um dies zu tun, wurden die betreffenden RNAs aus einem hochauflösenden Gel geschnitten und sequenziert. Diese Sequenzierung offenbarte, dass die sehr kleinen RNAs, die gemeinsam mit der Telomeraseaktivität aufreinigten, in Wirklichkeit tRNA-Verunreinigungen waren, die durch das hohe Vorkommen von tRNA in der Zelle in den aktiven Fraktionen vorhanden waren. Zum Beispiel sequenzierte ich eine RNA, die neben einem 175 Basen langen Marker lief, und fand, dass sie mit der 7SL-RNA verwandt war, die erst kurze Zeit zuvor mit dem an der Ribosomenfunktion beteiligten Signalerkennungspartikel in Verbindung gebracht wurde. Dass wir bekannte RNAs fanden, gab uns eine gewisse Sicherheit, denn es bestätigte uns, dass die Sequenzierungstechnik funktionierte. Allerdings waren die Versuche insgesamt etwas enttäuschend, hatten wir doch gehofft, eine neue RNA auszumachen, die als Matrize für die Telomerase dienen würde.

Eine bestimmte RNA, auf die ich nach zahlreichen Aufreinigungsexperimenten ein Auge geworfen hatte, lief neben dem 154-Basen-Marker. Es war keineswegs so, dass ein einzelnes Experiment diese RNA als den besten Kandidaten angezeigt hätte – es war eher aus einem Bauchgefühl heraus, denn mir war diese RNA wiederholt in meinen Experimenten begegnet. Ich entschloss mich zu einer genaueren Prüfung, allerdings erwies sich die „154-Basen-RNA“, wie ich sie nannte, als schwer sequenziert. Ich konnte nur Teilesequenzen aus unterschiedlichen Regionen der RNA erhalten, jedoch enthielt keine dieser Teilesequenzen eine Telomerwiederholung, wie man es für eine Matrize erwartet hätte – und die Volllängen-RNA erwies sich als unsequenziert.

All die Hinweise, die sich angesammelt hatten, wiesen darauf hin, dass es eine Matrize geben musste, aber uns fehlte noch das letzte Stück des Puzzles. Da die Telomerase ein interessantes Enzym war und unsere Experimente klar anzeigen, dass eine RNA beteiligt war, entschieden wir uns, ein Paper zu schreiben, um unsere bisherigen Befunde zur Telomerase mitzuteilen – auch wenn wir die eigentliche RNA noch nicht gefunden hatten. Wir berichteten in diesem Paper über die biochemische Charakterisierung der Telomerase und schrieben, dass es vermutlich eine RNA-Komponente gab; die Arbeit wurde 1987 in *Cell* publiziert.^[15] Rückblickend ist es klar, dass viele der in diesem Paper beschriebenen Expe-

ri mente später als Grundlage für die Identifizierung von Telomerasen in anderen Organismen dienten. Nach der Identifizierung der *Tetrahymena*-Telomerase wurden Telomerase-enzyme aus anderen Organismen wie *Euplotes*, *Oxytricha* und dem Menschen durch andere Arbeitsgruppen charakterisiert.^[16–19]

Perspektivwechsel: das Puzzle aus anderer Richtung betrachtet

Ich schloss meine Promotion in Berkeley im November 1987 ab und nahm im Januar 1988 eine Forschungsstelle am Cold Spring Harbor Laboratory an. In Cold Spring Harbor galt meine Aufmerksamkeit nach wie vor der Suche nach der geheimnisvollen RNA, jetzt aber mit einer anderen Herangehensweise. Statt weitere Sequenzierungen zu versuchen, wollte ich nun sehen, ob ich das RNA-Gen direkt aus der partiellen Sequenzinformation, die ich bis dahin erhalten hatte, klonieren konnte.

Ich entwarf mehrere Oligonukleotide, die komplementär zu den Regionen meiner partiellen RNA-Sequenz waren und stellte grösselektierte Genombibliotheken her, die um Sequenzen angereichert wurden, die mit diesen Oligonukleotiden hybridisierten. Nach etlichen Versuchen erhielt ich einen Klon, der sowohl die korrekte Teilsequenz als auch die Sequenz CAACCCCAA prozessierte. Dieser Befund war aufregend, denn genau dieses erwartete man, wenn die Te-

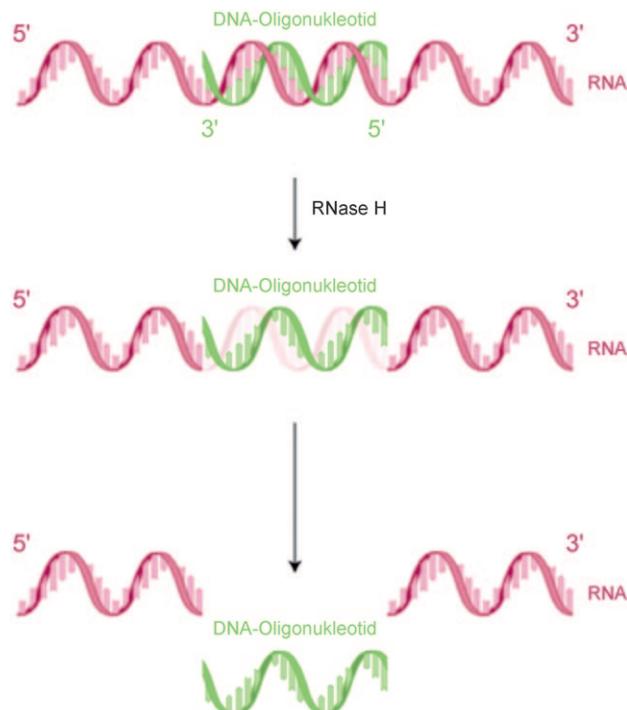


Abbildung 8. RNase H spaltet die RNA eines DNA-RNA-Doppelstrangs. Einzelsträngige Bereiche der RNA hybridisieren an komplementäre einzelsträngige Oligonukleotide. Wenn solche Hybride mit RNase H inkubiert werden, wird der RNA-Teil des Doppelstrangs nur in der komplementären Region abgebaut. In diesem Beispiel wird die RNA in der Mitte gespalten, wobei die beiden RNA-Hälften intakt bleiben.

lomerase einen Templatmechanismus für die TTGGGG-Anknüpfung verwendete. Dieser Klon war ganz klar ein zentrales Teil des Puzzles. Als nächstes verifizierte ich, dass diese RNA in *Tetrahymena* exprimiert wurde und eine Länge von ungefähr 160 Nukleotiden hatte. Alle Anzeichen sprachen dafür, dass mein Bauchgefühl, demzufolge die „154-Basen-RNA“ eine Schlüsselrolle spielt, stimmte.

Ist es das richtige Teil des Puzzles?

Es war erhebend, die Sequenz der RNA in Händen zu haben, die vermutlich die RNA-Komponenten unserer Telomerase kodierte. Aber ich brauchte einen Beweis, dass diese RNA wirklich die Matrize war. Auch diesmal gab es für die Experimente, die ich probieren wollte, keine Beispiele. Es war aufregend, kreativ zu sein und sich Methoden auszudenken, mit denen man testen konnte, ob diese RNA der richtige Kandidat war. Ich sprach mit meinen Freunden in Cold Spring Harbor, folgte ihren Ratschlägen und machte mich über andere Enzyme kundig und wie man funktionelle RNAs identifizierte.

Mein nächster Schritt bei der Charakterisierung der Telomeraseaktivität war, die Funktion meiner mutmaßlichen RNA-Matrize zu testen. Um dies zu tun, verwendete ich die Oligonukleotide, die ich in den Klonierungsexperimenten eingesetzt hatte (die komplementär zur Telomerase waren). Mein Gedanke war folgender: Wenn ich das Enzym durch spezifische Spaltung der RNA inaktivieren könnte, hätte ich einen starken Beweis für die Beteiligung dieser spezifischen RNA an der Telomeraseaktivität. Ich glaube, es war Adrian Krainer, ein Kollege am CSH, der den Vorschlag machte, RNase H für dieses Experiment zu verwenden. RNase H ist eine spezifische RNase, die RNA eines DNA-RNA-Doppelstrangs spalten kann. Die Überlegung war: Wenn das Oligonukleotid spezifisch mit Regionen komplementärer

RNA in Telomerasen hybridisieren würde und eine anschließende Spaltung durch RNase H die Telomerase inaktiviert, dann hätten wir den Beweis für die Beteiligung dieser RNA an der Telomerase-vermittelten Telomererlängerung (Abbildung 8).

Wie es in den Wissenschaften oft der Fall ist, lieferten unerwartete Ergebnisse die wichtigsten Teile des Puzzles. Das Experiment mit RNase H war darauf angewiesen, dass das Oligonukleotid Zugang zur RNA hat, um mit ihr hybridisieren zu können – und dies selbst dann, wenn die RNA durch Telomeraseproteine gebunden wäre. Da dies nicht immer der Fall war, zeigten einige der Oligonukleotide keine Wirkung.

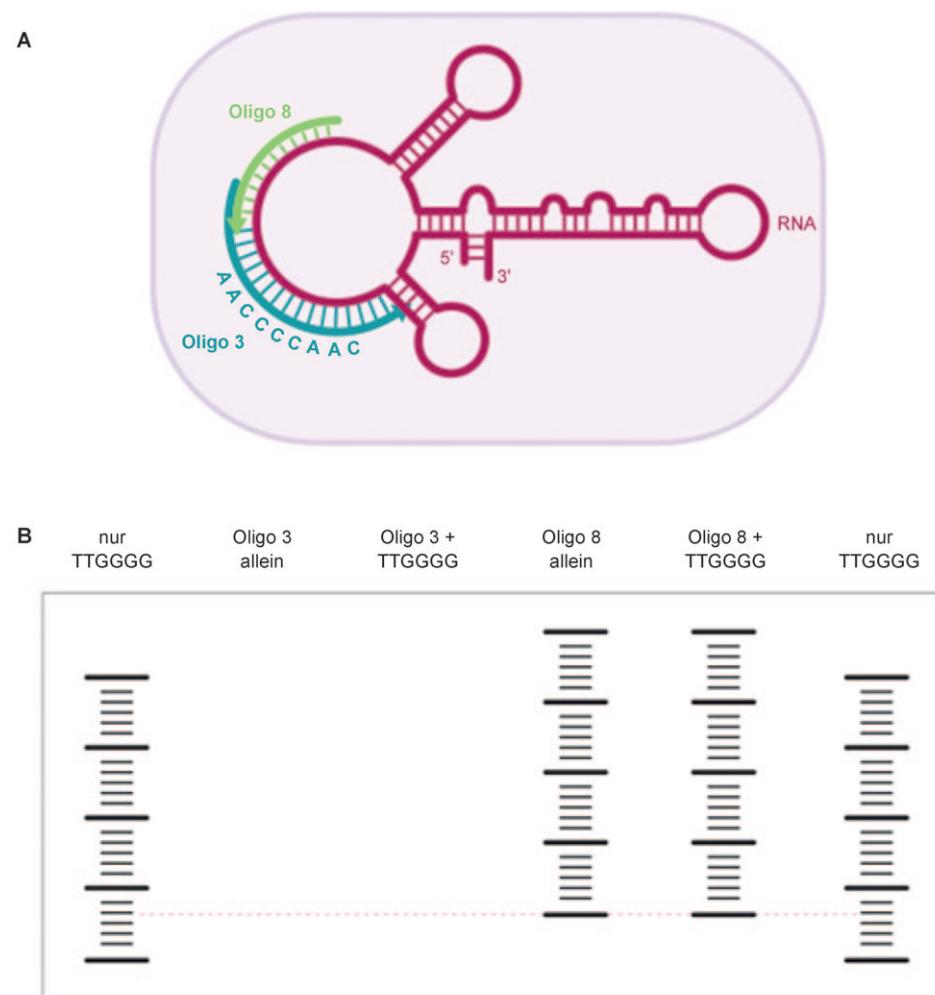


Abbildung 9. Verlängerung der zur Telomerase-RNA komplementären Oligonukleotide. Oben: Die Sekundärstruktur der *Tetrahymena*-Telomerase. Oligo 8 hybridisiert direkt in Nachbarschaft zur Matrizenregion, und zwar so, dass das 3'-Ende eine Base vor der Matrize positioniert wird. Oligo 3 hybridisiert ebenfalls in Nachbarschaft zur Matrize, dehnt sich aber über die Matrizenregion aus. Unten: Schema des Gels, das den Effekt von Oligo 3 und Oligo 8 auf die Telomeraseaktivität zeigt. Spur 1: Telomerase verlängert den (TTGGGG)₃-Primer, wenn dieser allein zugegeben wird. Spur 2: Oligo 3 allein wurde nicht verlängert, obgleich dessen 3'-Ende die TTGGGG-Sequenz enthält. Spur 3: Oligo 3 zusammen mit TTGGGG bleibt ohne Aktivität, weil Oligo 3 in das aktive Zentrum der Telomerase bindet und es damit blockiert. Diese Inhibition ist die Basis für den ersten Telomeraseinhibitor, der in klinischen Tests gegen Krebs erprobt wurde (GRN163).^[22] Spur 4: Allein zugegebenes Oligo 8 wird durch Telomerase verlängert und erzeugt ein charakteristisches Bandenmuster. Spur 5: Wenn sowohl Oligo 8 als auch der TTGGGG-Primer zugefügt wurden, konnte das Bandenmuster von Oligo 8 beobachtet werden. Oligo 8 schlägt den TTGGGG-Primer aus dem Feld, indem es mit der Telomerase-RNA hybridisieren kann. Wie dargebaut nach Lit. [20].

Zwei Oligonukleotide gaben jedoch gänzlich unerwartete Ergebnisse. Beim Inkubieren der Telomerase mit *Oligo3* wurde die Telomerase schon vor der Zugabe der RNase H inaktiviert, während erstaunlicherweise Inkubieren mit *Oligo8* zu einer Elongation von *Oligo8* führte (Abbildung 9). Ich musste mich hinsetzen und darüber nachdenken, was dies bedeutete.

Auf den ersten Blick war es frustrierend: Wenn die Telomerase bereits durch *Oligo3* inaktiviert wurde und eine Zugabe von RNase H keine weitere Wirkung hatte, wie konnte ich dann das Experiment machen? Die Enttäuschung ließ aber bald nach, und nachdem ich mit meinen Freunden über die Ergebnisse gesprochen hatte, wurde mir klar, dass es eine sehr viel interessantere Erklärung für die Ergebnisse gab: Ich hatte durch reines Glück zusätzliche Beweise für eine Rolle der 159 Nukleotide langen RNA in der Telomerasereaktion gefunden. *Oligo3* war insofern einzigartig, als es an meine 159-nt-RNA in einer Region direkt neben der Matrizenregion und auch in diese Region hinein hybridisierte (Abbildung 9 A). Das so an die RNA verankerte Oligonukleotid blockierte die Bindung des TTGGGG-Substrats und somit auch die Telomeraseaktivität (Abbildung 9). Nachfolgende Arbeiten zeigten, dass RNase H nach Inkubieren mit *Oligo3* die 150-nt-RNA spaltet, was zeigte, dass *Oligo3* tatsächlich mit der 150-nt-RNA als Teil der Telomerase hybridisierte.

Das andere ungewöhnliche Puzzleteil war *Oligo8*, das eine ähnliche Sequenz wie *Oligo3* aufweist, dessen 3'-Ende aber genau vor der Matrizenregion aufhört. Dieses Oligonukleotid hybridisierte ebenfalls mit der 159-nt-RNA, und das 3'-Ende wurde in genau der richtigen Position platziert, um durch eine Telomerase verlängert zu werden (Abbildung 9 A). Dies bedeutete, dass die CA-ACCCCA-Sequenz in der mutmaßlichen RNA tatsächlich als eine Matrize für das Anknüpfen der TTGGGG-Wiederholung dient. All diese Befunde machten mich äußerst zuversichtlich, dass es sich bei

der klonierten RNA um die RNA-Komponente der Telomerase handelte.

Modelle können die Lösung des Puzzles aufzeigen

Als ich das Paper über die Identifizierung der Telomerase-RNA schrieb,^[20] empfahl mir Bruce Stillman, ein schematisches Modell einzufügen, das zeigt, wie das Enzym meiner Meinung nach arbeitet. Ich war so in meinen Daten verfangen, dass ich das Zeichnen eines Modells nicht zu allererst im Sinn hatte. Ich fand dann aber, dass eine bildliche Darstellung

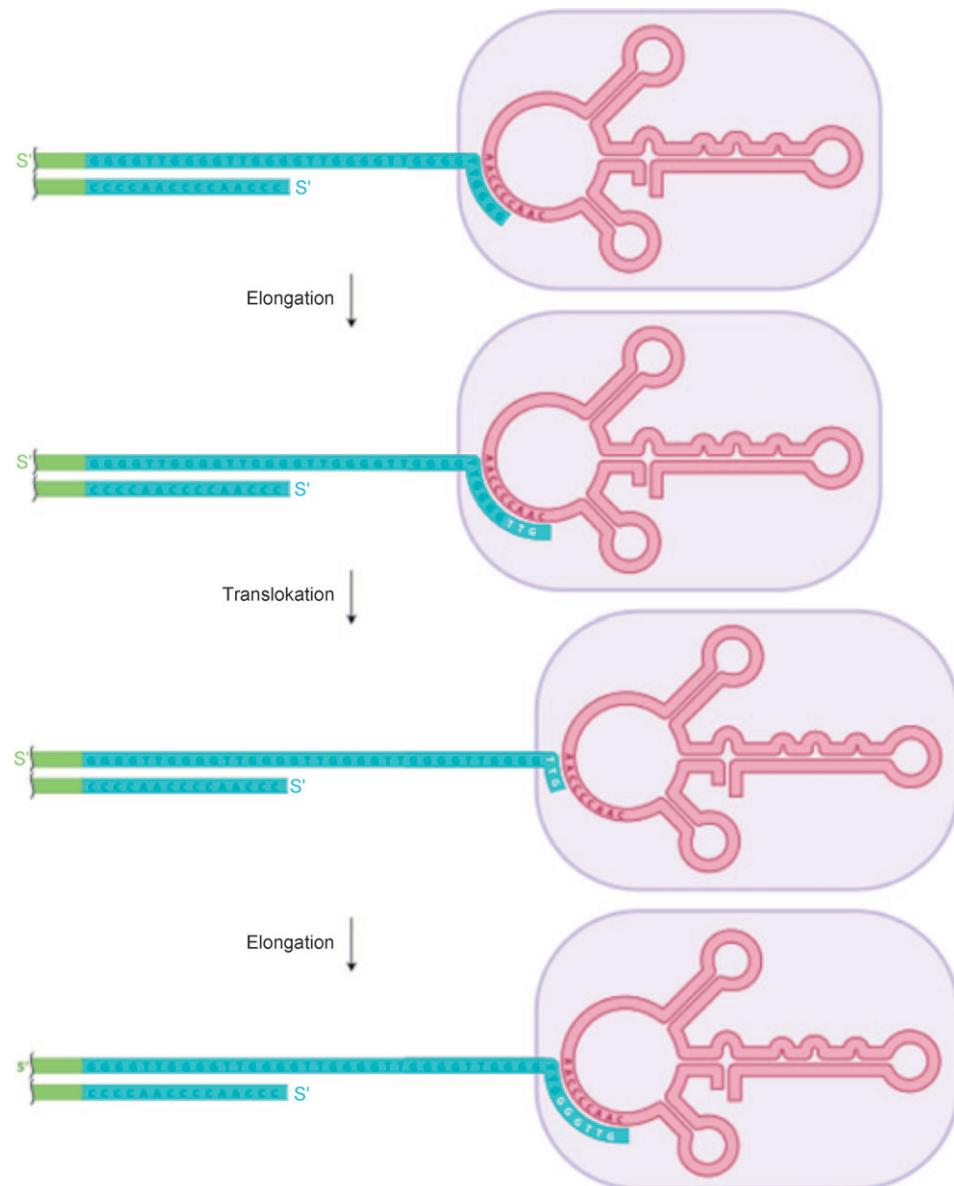


Abbildung 10. Modell für die Telomerverlängerung durch Telomerase: Die Sequenz AACCCCAAC in der Telomerase-RNA dient als Matrize für die Verlängerung des TTGGGG-Strangs des Telomers. Die terminale TTGGGG-Sequenz des Telomers kann eine Basenpaarung mit der AACCCCA-Sequenz der RNA eingehen. Hierdurch bleiben drei Basen übrig, die als Matrize für die Verlängerung dienen können. Die Telomerase fügt TTG an, und das Ende der Matrize ist nun erreicht. Eine Translokation kann das 3'-Ende in der Weise neu positionieren, dass die Basenpaarung zwischen dem terminalen TTG und der Telomerase-RNA bestehen bleibt.

meiner Interpretation der Ergebnisse alles viel klarer werden ließ. Wir wussten von unseren früheren Experimenten her, dass es in der Telomerase zusätzlich zur RNA eine Proteinkomponente geben musste. Ich wusste nicht, wieviele Proteininkomponenten es geben mochte, entschied mich aber der Einfachheit halber, nur eine zu zeichnen. Die CAACCCAA-Sequenz in der RNA entsprach anderthalb Kopien des komplementären Strangs der TTGGGG-Wiederholungssequenz. Also enthielt mein Modell die Sequenz GTTGGG in Basenpaarung mit CAACCC, wodurch in der zu kopierenden Matrizensequenz eine CAA-Folge frei blieb (Abbildung 10). Auf dieser Grundlage schlug ich vor, dass die Telomerase eine Elongationsphase besitzt, in der das CAA-Motiv kopiert wird, und daraufhin eine Translokation die wachsende Sequenz für eine neue Runde der Elongation umpositioniert. Ich schrieb die Ergebnisse nieder und veröffentlichte zusammen mit Liz Blackburn, in deren Gruppe ich die Sequenzierung begonnen hatte, ein Paper in *Nature* mit der Beschreibung der RNA.^[20]

Die Lösung eines Rätsels kann neue, interessantere Fragen aufwerfen

Während ich das Modell der Telomerverlängerung zeichnete, wurden mir etliche Dinge zunehmend klarer, aber es traten sogleich auch neue Fragen auf, die meine Neugierde weckten. Fand z.B. der vorgeschlagene Translokationsschritt wirklich statt? Oder anders gefragt: Bleibt die Telomerase eine Zeit lang an ihrem Substrat gebunden? Oder addiert ein einzelnes Enzymmolekül immer nur eine Wiederholungssequenz, und eine zweite Wiederholungssequenz wird dann in einer zweiten Verknüpfungsrunde durch ein eigenes Enzymmolekül angefügt? Diese Frage, über die ich vor dem Zeichnen des Modells nie nachgedacht hatte, interessierte mich unplötzlich brennend, und ich ging auch in einem späteren Paper auf dieses Thema ein.^[21] Viele andere Fragen tauchten auf, während wir unsere Arbeiten über die Telomerase weiterführten. Die vielen unterschiedlichen Richtungen, die unsere Forschung nahm, wie auch unser späterer Fokus auf dem Zusammenhang zwischen Telomeren und Krebs sowie anderen Krankheiten, sind in meiner Nobel-Präsentation auf der Website der Nobel-Stiftung beschrieben.

Die Teile eines Puzzles zusammenzusetzen, ist herausfordernd, vergnüglich und extrem befriedigend, vor allem dann, wenn es zu einem neuen Verständnis in der Biologie führt. Dieser Prozess des wissenschaftlichen Erkenntnisgewinns ist nicht geradlinig, und es gibt viele Abzweigungen und Wendungen. Der Schlüssel zum Erfolg ist, dass man sich seine Begeisterung bewahrt und denjenigen Hinweisen nachgeht, die am lohnendsten scheinen. Dies war die Lektion, die ich in den ersten sechs Jahren meiner Arbeiten über die Telomerase gelernt habe, und tatsächlich habe ich diese Herangehensweise bis heute beibehalten. Oft tauchen viele neue Fragen auf, wenn ein Teil eines Puzzles gelöst ist; das Befriedigende an neugiergetriebener Wissenschaft ist, dass ich die Freiheit habe, diejenigen neuen Fragen herauszuholen, die mir am interessantesten scheinen.

Danksagung

Ich danke all den Wissenschaftlern, mit denen ich über die Jahre zusammengearbeitet habe, für ihre Energie und ihre Ideen, die das Lösen der Rätsel zu einem großen Vergnügen gemacht und neue Rätsel aufgezeigt haben. Ich danke außerdem Jonathan Crowe und Mary Armanios für Hilfe mit dem Manuskript sowie David Robertson für hilfreiche Ratschläge zur Autobiographie. Jennifer Fairman danke ich für die Abbildungen in diesem Manuskript und Bang Wong für die in der Powerpoint-Präsentation meines Nobelpreistrags verwendeten Abbildungen.

Eingegangen am 23. April 2010

-
- [1] „The behavior in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis“: B. McClintock, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1939**, 25, 405–416.
 - [2] „The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*“: B. McClintock, *Genetics* **1941**, 26, 234–282.
 - [3] „The remaking of chromosomes“: H. J. Müller, *Collecting Net* **1938**, 13, 181–198.
 - [4] „A Tandemly Repeated Sequence at the Termini of the Extrachromosomal Ribosomal RNA Genes in *Tetrahymena*“: E. H. Blackburn, J. G. Gall, *J. Mol. Biol.* **1978**, 120, 33–53.
 - [5] „Growth of chromosomal ends in multiplying trypanosomes“: A. Bernards, P. A. M. Michels, C. R. Lincke, P. Borst, *Nature* **1983**, 303, 592–597.
 - [6] „Inverted terminal repeats are added to genes during macronuclear development in *Oxytricha nova*“: R. E. Boswell, L. A. Klobutcher, D. M. Prescott, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, 79, 3255–3259.
 - [7] „A Family of Inverted Repeat Sequences and Specific Single-Strand Gaps at the Termini of the Physarum rDNA Palindromes“: E. M. Johnson, *Cell* **1980**, 22, 875–886.
 - [8] „Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors“: J. W. Szostak, E. H. Blackburn, *Cell* **1982**, 29, 245–255.
 - [9] Dynamics of telomere length variation in *Tetrahymena thermophila*; D. D. Larson, E. A. Spangler, E. H. Blackburn, *Cell* **1987**, 50, 477–483.
 - [10] „Origin of concatameric T7 DNA“: J. D. Watson, *Nature New Biol.* **1972**, 239, 197–201.
 - [11] „Telomeres and senescence: the history, the experiment, the future“: C. W. Greider, *Curr. Biol.* **1998**, 8, R178–181.
 - [12] „A theory of marginotomy“: A. M. Olovnikov, *J. Theor. Biol.* **1973**, 41, 181–190.
 - [13] „DNA sequences of telomeres maintained in yeast“: J. Shampay, J. W. Szostak, E. H. Blackburn, *Nature* **1984**, 310, 154–157.
 - [14] „Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts“: C. W. Greider, E. H. Blackburn, *Cell* **1985**, 43, 405–413.
 - [15] „The telomere terminal transferase of *Tetrahymena* is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity“: C. W. Greider, E. H. Blackburn, *Cell* **1987**, 51, 887–898.
 - [16] „Purification of telomerase from *Euplotes aediculatus*: requirement of a primer 3' overhang“: J. Lingner, T. R. Cech, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 10712–10717.
 - [17] „Telomerase RNAs of different ciliates have a common secondary structure and a permuted template“: J. Lingner, L. L. Hendrick, T. R. Cech, *Genes Dev.* **1994**, 8, 1984–1998.
 - [18] „The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats“: G. B. Morin, *Cell* **1989**, 59, 521–529.

- [19] „Telomere terminal transferase activity from *Euplotes crassus* adds large numbers of TTTTGGGG repeats onto telomeric primers“: D. Shippen-Lentz, E. H. Blackburn, *Mol. Cell. Biol.* **1989**, *9*, 2761–2764.
- [20] „A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis“: C. W. Greider, E. H. Blackburn, *Nature* **1989**, *337*, 331–337.
- [21] „Telomerase is processive“: C. W. Greider, *Mol. Cell. Biol.* **1991**, *11*, 4572–4580.
- [22] „A novel telomerase template antagonist (GRN163) as a potential anticancer agent“: A. Asai, Y. Oshima, Y. Yamamoto, T. A. Uochi, H. Kusaka, S. Akinaga, Y. Yamashita, K. Pongracz, R. Pruzan, E. Wunder, M. Piatyszek, S. Li, A. C. Chin, C. B. Harley, S. Gryaznov, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 3931–3939.