

Herzmuskelforschung in Münster

Titan Titin

■ Titin ist mit 3-4 Megadalton ein Gigant unter den Proteinen. Nach Myosin und Aktin ist es dritthäufigster Proteinbestandteil im Skelett- und Herzmuskel. Die Gruppe um Wolfgang Linke, vor kurzem von Heidelberg an das Labor für Physiologie und Biophysik der Uni Münster umgezogen, beschäftigt sich mit Funktion und Isoformen des Titins, insbesondere dessen Rollen bei Entwicklung und Erkrankungen des Herzens.

Nach wie vor findet man in den meisten Biologie-Lehrbüchern, wie im „Campbell“ oder auch dem Standard-Zoologie-Werk „Wehner & Gehring“, dass die Kontraktion eines Muskels im Wesentlichen durch das Zusammenspiel der Aktin- und Myosinfilamente zustande kommt. Dies ist natürlich prinzipiell richtig. Vergessen wird allerdings bis heute oft ein drittes Filament, das in den 80er und 90er Jahren beschrieben wurde: Titin, welches entscheidend an Aufbau und Kontraktion des Sarkomers beteiligt ist, der kleinsten Funktionseinheit quergestreifter Muskeln.

Das dritte Filament

Neben vielen anderen beschäftigt sich die Arbeitsgruppe um Wolfgang Linke vom Zoologischen Institut der Universität

Münster mit eben diesem dritten Filament, bei dem es sich um das größte uns bekannte Protein überhaupt handelt. Einige Titin-Isoformen besitzen eine Größe von 3,7 MDa. In Anlehnung an die griechischen Titanen gab man dem Protein den Name Titin.

Wegen der Größe übersehen

„Erste Hinweise auf Titin beschrieben Huxley und Hanson bereits 1954“, erzählt Linke. „Sie entfernten aus Muskelfasern die Aktin- und Myosinfilamente, in der Erwartung, dass die Struktur des Sarkomers zusammenbricht. Wider Erwarten geschah dies aber nicht. Und so spekulierten sie, dass ein weiteres Protein am Muskelaufbau mit beteiligt sein muss.“ Da die Forscher dieses Protein damals nicht identifizieren konnten, nannten sie es „Ghost-Filament“.

Jahrzehnte später, 1977, gelang es dem Japaner Koscak Maruyama, das Ghost-Filament zu charakterisieren, und er gab ihm den Namen Connectin. Allerdings trug bereits ein Zelladhäsionsmolekül im *Drosophila*-Nervensystem den gleichen Namen, so dass sich mittlerweile fast überall der von der US-Wissenschaftlerin Ann Tu kreierte Name Titin durchgesetzt hat. Zumindest in Japan ist es aber angebracht, zu Ehren des Entdeckers die Bezeichnung „Connectin“ zu verwenden.

„Titin wurde lange Zeit einfach wegen seiner Größe übersehen“, erzählt Linke. Erstaunlich, denn das Protein kommt im menschlichen Organismus so häufig vor, dass es 400 Gramm Körpergewicht eines ausgewachsenen Mannes ausmacht. „Allerdings“, räumt Linke ein, „kann man Titin in einem normalen SDS-Gel auch gar nicht

analysieren. Um eine vernünftige Auflösung von 50 kDa zu bekommen, muss man schon Gele mit nur 2% Polyacrylamid fahren, die einfach auseinander fallen würden, wenn man sie nicht mit etwas Agarose verstärkte.“ Und nicht ohne Stolz präsentiert er ein entsprechendes Coomassie-Blue-gefärbtes Gel.

„Die tragende Rolle des Titins bei der Muskelfunktion resultiert aus dessen Zusammenspiel mit den kontraktiven Komponenten“, so Linke. Nach Dehnung eines Muskels wirkt es wie eine Rückstellfeder und bringt das Gewebe in den entspannten Zustand zurück. Die kontraktiven Einheiten, die rund 2000stel Millimeter langen Sarkomere, liegen zwischen zwei Z-Scheiben, und unzählige solcher Sarkomere sind in einem Muskel hintereinander geschaltet. Im Sarkomer sind Aktin- und Myosinfilamentsysteme quasi teleskopartig ineinander gesteckt. Bekommt der Muskel den Befehl zur Kontraktion, dann bindet das Myosin mit Hilfe seiner Köpchen an Aktin, macht einen Kraftschlag – und das Sarkomer verkürzt sich. In stark verkürzten Sarkomeren wird das Titin daher an der Z-Scheibe zusammengedrückt, was bei Relaxation aber dem Sarkomer zugute kommt, indem es durch die Titinfeder wieder in seine Ausgangslage zurückbefördert wird. Die Titin-Federspannung ist es auch, die dabei hilft, die Myosinfilamente bei der Kontraktion etwa in der Mitte des Sarkomers zu halten.

Erst schlaff, dann steif

„Das Titin ist wirklich der Titan unter den Proteinen“, schwärmt Linke. „Das Gen umfasst 294.000 Basenpaare oder



„Muskel-Männer“:
Wolfgang Linke (m.) und zwei seiner
Neu-Münsteraner Mitstreiter

Christian
Andresen

Lars-Henrik
Meyer

Wolfgang
Linke

363 Exons. Selbst die mRNA hat noch 100.000 Basen. Das Protein selbst besteht größtenteils aus zirka 300 globulären Domänen, die wie an einer Schnur angeordnet sind. Davon bilden etwa 50-100 Domänen im Sarkomer eine elastische Region, die mal länger und mal kürzer ist, je nachdem ob mehr oder weniger Domänen hinein gespleißt werden – der Muskel variiert damit seine Steifigkeit.“

Solch ein riesiges Molekül bietet zwangsläufig viel Angriffsfläche für Mutationen. Da sich aber viele Abschnitte des Titins in so genannten „Super Repeats“ wiederholen, schlagen manche Mutationen im Phänotyp nicht durch. Allerdings wurden bereits Mutationen im Titin erkannt, die bestimmte Herzerkrankungen wie die Dilatative Kardiomyopathie oder auch Skelettmuskel-Dystrophien hervorrufen können. Solche „Titinopathien“ wurden an Patienten, ebenso wie an Knock-out-Tieren nachgewiesen.

Aber auch veränderte Umweltbedingungen können Expressionsveränderungen des Titins auslösen. Linke: „Wir fanden, dass es in chronisch kranken menschlichen Herzen zu einer Verlängerung der Titinfedern in den Sarkomeren kommt – mit der Folge, dass die Gesamtsteifigkeit des Herzens absinkt“ (*Circulation* 106, S. 1333; *Circ. Res.* 95, S. 708).

Besonders eindrucksvoll ist die Isoformen-Veränderung des Titins während der Herzentwicklung. „Ein Fötus“, so erzählt Linke, „hat ein langes schlaffes Titin von 3,7 MDa. Aber schon kurz nach der Geburt findet man hauptsächlich die viel steifere und kleinere Isoform von 3 MDa Größe“ (*Circ. Res.* 94, S. 967).“

Schnelle Umwandlung

Hintergrund der Veränderung des Muskels ist wahrscheinlich, dass das Herz eines Fötus nicht soviel leisten muss wie das eines Erwachsenen. Ein kurzes, steifes Titin schützt das Herz des Neugeborenen vor Überdehnung, wenn der Blutstrom bei erhöhter Herzleistung zunimmt. Aber wie strukturieren die Muskelzellen innerhalb einer Woche eine Iso-

form von 3,7 auf 3,0 MDa um? „Mit dieser Frage beschäftigen wir uns natürlich“, so Linke, „aber selbst für das schon viel länger untersuchte Myosin ist noch relativ wenig darüber bekannt, wie bei diesem Protein die ebenfalls beobachtete Isoformen-Umwandlung reguliert wird.“

Titin sorgt für Druck

Würde man den Prozess der Herzversteifung durch Titinisoformen-Umbau besser verstehen, gäbe es womöglich auch neue therapeutische Ansätze. Die Steifigkeit der Herzwand ist entscheidend für den entstehenden Druck im Herzen. Interessanterweise enthalten die Herzen kleinerer Tiere überwiegend das 3 MDa-Titin, die Herzen großer Tiere hingegen besitzen überwiegend lange Titinisoformen. Ein großes, langsamer schlagendes Herz muss also elastischer sein als ein kleines, schnell pochendes Herz.

Herzmuskelzellen können sich allerdings, im Gegensatz zu Skelettmuskelzellen, nicht regenerieren. Nach einem Herzinfarkt kann das abgestorbene Herzmuskelgewebe nur durch Bindegewebe mit Kollagenfasern ersetzt werden, welches wenig elastisch ist und somit die Herzsteifigkeit übermäßig erhöht. „Könnte man nun regulatorisch eingreifen, so dass verbleibende Herzmuskelzellen restrukturiert werden und den Anteil an elastischem Titin erhöhen, so wäre der Herzmuskel insgesamt weniger steif – mit allen absehbaren positiven Auswirkungen auf die Schlagkraft.“

Aufgrund seiner Größe kann man davon ausgehen, dass Titin noch vielfältige weitere Funktionen ausübt. Derzeit sind etwa mehr als 15 Eiweiße bekannt, die mit Titin interagieren. Bisher wurde es im Skelett- und Herzmuskel nachgewiesen. Ob es auch in der glatten Muskulatur vorkommt, ist noch umstritten. „Titin ist eines der bestuntersuchten Moleküle im Muskel, obwohl es noch nicht lange wirklich bekannt ist“, so Linke. Doch aufgrund seiner Größe sind sicherlich noch lange nicht alle Details „des Riesen“ erforscht.

KAY TERPE