

Dieter O. Fürst

Titin, ein molekularer Gigant regiert im quergestreiften Muskel

Titin, a molecular giant rules cross-striated muscles

Universität Potsdam, Abt. Zellbiologie

Zusammenfassung

Lange Zeit galt das „Zwei-Filament-Sarkomermodell“ als die Ultima Ratio zur Erklärung des hochgeordneten Aufbaus des kontraktiven Apparates der quergestreiften Muskulatur. Eine Vielzahl von Arbeiten der letzten etwa 10 Jahre machte jedoch deutlich, daß eine Reihe von Strukturproteinen von grundlegender Bedeutung für den Zusammenbau und den Erhalt der Sarkomerstruktur sowie für einige physiologische Beobachtungen sind. Die zentrale Rolle dieser Proteine, die unter dem Begriff „endosarkomeres Zytoskelett“ zusammengefaßt werden, kommt dem Titin - dem größten bisher beschriebenen Polypeptid zu. Zusammen mit seinen Bindungspartnern determiniert es wahrscheinlich die Länge der dicken Filamente, organisiert diese zu geordneten A-Banden, verbindet sie elastisch mit den Z-Scheiben und bestimmt den physiologischen Arbeitsbereich der jeweiligen Muskelfaser. Eine der größten Herausforderungen für die nächsten Jahre wird sein, die Regulationsvorgänge zu verstehen, die diese beeinflussende Self-Assembly steuern.

Schlüsselwörter: Titin, Myofibrillogenese, sarkomeres Zytoskelett

Summary

For a long time the „Two-Filament sarcomere model“ was considered the last resort for explaining the highly ordered structure of the contractile apparatus of crossstriated muscle. The work of the last

10 years or so, however, revealed the fundamental importance of a number of structural proteins for the assembly and maintenance of sarcomere structure and for certain physiological observations. The central role of these proteins, summarized under the term „endosarcomeric cytoskeleton“, is taken by titin, the longest polypeptide described to date. Together with its binding partners, it seems to determine thick filament length, organizes the into ordered A-Bands, links those in an elastic fashion to Z-discs and determines the physiological working range of the respective myofiber. One of the major tasks of the next years will be to unravel the regulatory mechanisms that drive this impressive self-assembly process.

Keywords: Titin, myofibril formation, sarcomere cytoskeleton

Einleitung

Die extrem hochgeordnete und regelmäßig aufgebaute Struktur der quergestreiften Muskulatur ist in einem Evolutionsprozeß entstanden, der darauf ausgerichtet war, schnelle und zielgerichtete Bewegungen zu ermöglichen. Seit etwa 45 Jahren ist klar, daß die Wechselwirkung zweier Protein-Filamentsysteme die molekulare Grundlage für den Kontraktionsvorgang darstellt: Auf der einen Seite sind dies die etwa 1 µm langen, dünnen Filamente, die aus Actin und daran gebundenen Proteinen bestehen und die in der Z-Bande der Sarkomere verankert sind. Auf der anderen Seite sind es die 1,6 µm langen, dicken Filamente, die aus Myosin und

mehreren akzessorischen Proteinen bestehen und die in ihrer Mitte in der M-Bande zusammengehalten werden. Die exakte Struktur der Filamente und die molekularen Details des Kontraktionsvorganges werden in immer größerer Präzision bekannt. Trotzdem bleibt dieses „klassische Zwei-Filament-Sarkomermodell“ die Erklärung für einige grundlegende Fragen schuldig:

- Was ist die molekulare Basis für die elastischen Ruhekräfte, die von Physiologen gemessen werden?
- Was ist dafür verantwortlich, daß die genannten Filamentsysteme exakt die beschriebenen Längen besitzen?
- Warum kommt es nicht zur völligen Desintegration der Struktur der Muskelfasern, wenn durch Lösungen hoher Ionenstärke die dicken Filamente extrahiert werden?
- Wie werden der Auf- und Umbau der regelmäßigen Myofibrillenstruktur kontrolliert?

Diese und weitere Fragen hatten bereits frühzeitig dazu geführt, daß die Existenz weiterer Strukturproteine postuliert wurde, die hauptsächlich zwei Eigenschaften haben müssen: Erstens sollten sie elastisch sein, damit Kontraktion und Relaxation im normalen Arbeitsbereich des Muskels nicht behindert werden. Zweitens sollten sie in irgendeiner Art und Weise die dicken und dünnen Myofilamente miteinander verknüpfen können.

Erst vor 20 Jahren gelang durch zwei Teams fast zeitgleich die Entdeckung eines Proteins, das genau diesen beiden Anforderungen gerecht wird: aufgrund seiner „titanischen Größe“ wurde es Titin genannt (38); andererseits gab man ihm aufgrund seiner Eigenschaft, die kontraktiven Filamente zu verbinden, die Bezeichnung Connectin (22). Wegen der exakteren proteinchemischen Charakterisierung in der erstgenannten Arbeit, und weil es ein Protein der extrazellulären Matrix gibt, das ebenfalls Connectin heißt, hat sich weitgehend der Name Titin durchgesetzt.

In den letzten Jahren gab es enorme Fortschritte zunächst in der Charakterisierung des Titins und danach in der Beschreibung seiner Verknüpfungen mit anderen Sarkomerproteinen (eine ausführlichere zusammenfassende Darstellung des aktuellen Wissensstandes findet sich in Re-

ferenz 8). Die derzeit wohl spannendste Frage ist die, wie weit Titin die Morphogenese der Myofibrillen steuert.

Die räumliche Anordnung und Struktur des Titins

Mit Hilfe von Antikörpertechniken in der Elektronenmikroskopie ist es gelungen, sich ein sehr genaues Bild der räumlichen Anordnung des Titins zu verschaffen: zunächst war der Nachweis wichtig, daß sich die einzelnen Titin-Moleküle über den gesamten Bereich eines Halbsarkomers (also von der Z-Linie bis zur M-Bande) erstrecken (5, 7). Im Anschluß an die Entschlüsselung der Primärstruktur (18; siehe unten) war es sogar möglich, genau definierte Sequenzabschnitte bestimmten

globulin-artigen (Ig-) Domänen und zweitens die Fibronectin Typ III (Fn-) Domänen, wobei beide annähernd globuläre Struktur besitzen (15, 25). Dadurch ist erklärbar, daß Titin in elektronenmikroskopischen Bildern ähnlich einer Perlenkette erscheint (34). Größere Unterbrechungen durch nicht-modulare Sequenzabschnitte findet man nur im Bereich der Z-Scheibe (10, 18, 29) und der M-Bande (11) sowie in der zentralen I-Bande (18).

Aufgrund erster funktioneller Studien zeichnet sich ab, daß die jeweilige Anordnung der Ig- und Fn-Domänen sowie der nicht-modularen Bereiche jeweils sehr gut mit der Organisation bestimmter Teilbereiche der Myofibrille korreliert. Noch steht man gewissermaßen vor einem „Henne-Ei-Problem“, das heißt, es kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob Titin die Struktur der Myofibrille determiniert oder ob es nur deren Verhältnisse reflektiert. Es sollen nur die wichtigsten Daten dieser Art im Überblick dargestellt werden:

A-Bande: Titin-Moleküle überspannen etwas mehr als eine halbe A-Bande, also ein halbes dickes Filament. Im Bereich der Region der Myosin-Köpfchen sind

die Ig- und Fn-Domänen in zwei unterschiedlichen, sich mehrfach wiederholenden Mustern angeordnet („Super-Repeats“; 17). Bereits die Anzahl der Wiederholungen der beiden Repeats korreliert ausgezeichnet mit der Geometrie der Myosin-Köpfchen im Filament. Die Anordnung des einen der beiden Repeats paßt darüber hinaus ausgezeichnet zur Lokalisation zweier Myosin-assoziiierter Proteine, dem C-Protein und dem H-Protein (5, 17; siehe unten). Der mit dem Ende des dicken Filaments assoziierte Bereich des Titins ist wiederum anders organisiert, was der deutlich unterschiedlichen Position der letzten Querbrücke entspricht (2).

Ein völlig anderes Bild bietet sich in der **M-Bande**. Dieser Abschnitt des Titins beginnt mit einer Kinase-Domäne (23), gefolgt von 10 Ig-Domänen, die wiederum von nicht-modularen Sequenzen zum Teil

erheblicher Größe unterbrochen sind (11). Hier befinden sich Bindungsstellen für zwei weitere myofibrilläre Proteine, Myomesin und M-Protein (siehe Übersichtsartikel 6). Immunelektronenmikroskopische Untersuchungen, die zum Teil auch proteinbiochemisch untermauert werden konnten, lieferten ein recht detailliertes Modell der M-Bande auf molekularer Ebene (27, 28). Interessanterweise ist die M-Bande der einzige Bereich des dicken Filaments, in dem die Titin-Moleküle benachbarter Sarkomerhälften überlappen, was neben intra-molekularen auch intermolekulare Protein-Protein-Wechselwirkungen erlaubt. Es bleibt noch zu erwähnen, daß (bis auf eine ganz kurze M-Bandensequenz) der in der A-Bande lokalisierte Bereich des Titins keinerlei Variabilitäten in seiner Länge aufweist (16) – ebenso wie das dicke Filament. Diese Tatsache kann als Indiz dafür gewertet werden, daß die Länge des dicken Filaments durch das Titin determiniert wird („ruler hypothesis“; 33).

I-Bande: Der im Bereich der I-Bande lokalisierte Teil des Titins weist, je nach untersuchtem Muskel, bedeutende Größenunterschiede auf. Da es bei Säugern nur ein Gen für Titin pro Genom gibt, sind die Unterschiede auf differentielles Splicing der mRNA zurückzuführen. Auf Proteinebene besteht diese Region aus zwei großen Blöcken von Ig-Domänen, die von einem Abschnitt unterbrochen sind, in dem die Aminosäuren Prolin (P), Glutamat (E), Valin (V) und Lysin (K) ungewöhnlich zahlreich auftreten (daher die Bezeichnung „PEVK-Region“; 18). Interessanterweise korreliert die Größe dieser Region des Titins, die zwischen 700 kDa und 1,5 MDa schwanken kann, sehr gut mit mechanisch-physiologischen Parametern der jeweiligen Muskelfasern. Es zeigte sich z.B., daß die Länge der exprimierten I-Banden-Region des Titins direkt proportional zum physiologischen Arbeitsbereich der jeweiligen Muskelfaser ist (zusammengefaßt in 14). Interessant ist auch ein Befund zur spezifischen Verteilung von Isoformen in Cardiomyocyten bzw. in den Zellen des Atrioventrikularknotens und des Hischen Bündels. Da das zuletzt genannte Erregungsleitungs-System nicht direkt an der Krafterzeugung beteiligt ist, wurde vorgeschlagen, daß die I-Banden-Region

Tabelle 1: Titin-bindende Proteine

Name des Proteins	Lokalisation	Referenzen
α -Actinin	Z	29, 30, 39
Telethonin	Z	13, 21, 23
Actin	Z-I	19
Calpain p94	I, M	31
C-Protein	A	4, 9, 32
Myomesin	M	28
M-Protein	M	26

Regionen des Sarkomers zuzuordnen (siehe z.B. 13, 27, 39). Ein wichtiges Ergebnis solcher Arbeiten war auch der Nachweis, daß das Titin im Bereich der gesamten A-Bande mit den dicken Filamenten fest verknüpft ist, und daß ein Bereich von etwa 100 nm auf beiden Seiten der Z-Scheibe ebenfalls starr verankert vorliegt. Umgekehrt bedeutet dies, daß die Eigenschaft der Elastizität des Titins in vivo auf den Bereich seiner I-Banden-Region beschränkt ist (12, 20, 21).

Die cDNA-Clonierung bewies, daß Titin tatsächlich ein einziges riesiges Polypeptid und nicht aus mehreren kleineren Untereinheiten zusammengesetzt ist (18). Mit einer Molekülmasse von etwa 3 Millionen Dalton ist es das bisher größte bekannte Protein. Etwa 90 % der Sequenz lassen sich in zwei Gruppen von Domänen einteilen, die jeweils knapp 100 Aminosäuren lang sind: erstens die Immun-

des Titins zumindest in diesem Falle als Sensor für mechanische Belastung dient. Da das Titin-Molekül mit allen anderen Regionen des Sarkomers in Verbindung steht, könnte es auch in der Lage sein, diese Information in eine Modulation der Kraftentwicklung einzubringen (12).

Z-Scheibe: Die Entwicklung der Myofibrillen beginnt im Bereich der Z-Scheibe, daher kommt dieser Region des Titins enorme Bedeutung zu. Zugleich muß beachtet werden, daß die Morphologie der Z-Scheibe je nach Fasertyp sehr stark variieren kann (37). Damit geht einher, daß diese Region des Titins einen komplexen und variablen Aufbau zeigt. Vier Ig-Domänen sind von 2 Kategorien größerer Sequenzabschnitte unterbrochen. Erstens liegt zwischen den Ig-Domänen 2 und 3 ein neuartiger Repeat von etwa 45 Aminosäuren Länge, der - je nach Fasertyp - in

lekulare Signalgeber zum geordneten Zusammenbau der Myofibrillen beitragen könnten.

Protein-Protein-Wechselwirkungen im sarkomeren Zytoskelett

Im Verlauf der letzten Jahre gelang es, eine Reihe von Proteinen zu identifizieren, die das Titin mit den „klassischen“ Myofilamenten verknüpfen (s. Tab. 1). Interessanterweise sind mehrere Proteine darunter, die zwar seit vielen Jahren als Myofibrillenproteine bekannt sind, denen aber keine echte Funktion im Zusammenhang mit dem Kontraktionsvorgang zugeschrieben werden konnte, da sie in vitro keinen wesentlichen Einfluß auf das Actomyosin zeigten. Im folgenden sollen nur die am

zwischen Z-Scheiben-Dicke und Titin-Isoform klar zu sein (24, 30). Unmittelbar an die Z-Repeats anschließend, also bereits an der Peripherie der Z-Scheibe gelegen befindet sich eine weitere Bindungsstelle für α -Actinin, diesmal aber an dessen zentral gelegene Spectrin-Repeats (39). Ebenfalls an der Peripherie der Z-Scheibe aber durch die Ig-Domänen Z1 und Z2, kommt es zu einer weiteren Protein-Protein Wechselwirkung, deren Funktion allerdings bisher noch unklar ist. Es handelt sich bei diesem Bindungspartner um ein kleines Phosphoprotein, genannt Telethonin (24, 35). Da dieses Protein auch in der M-Banden-Region Titin-Bindung zeigt (23) kann man annehmen, daß ihm eine Art Signalfunktion bei Zusammenbau der Myofibrille zukommt.

Ein sehr komplexes Bild von Wechselwirkungen bietet sich in der A-Bande. Im Zusammenhang mit der Beschreibung der

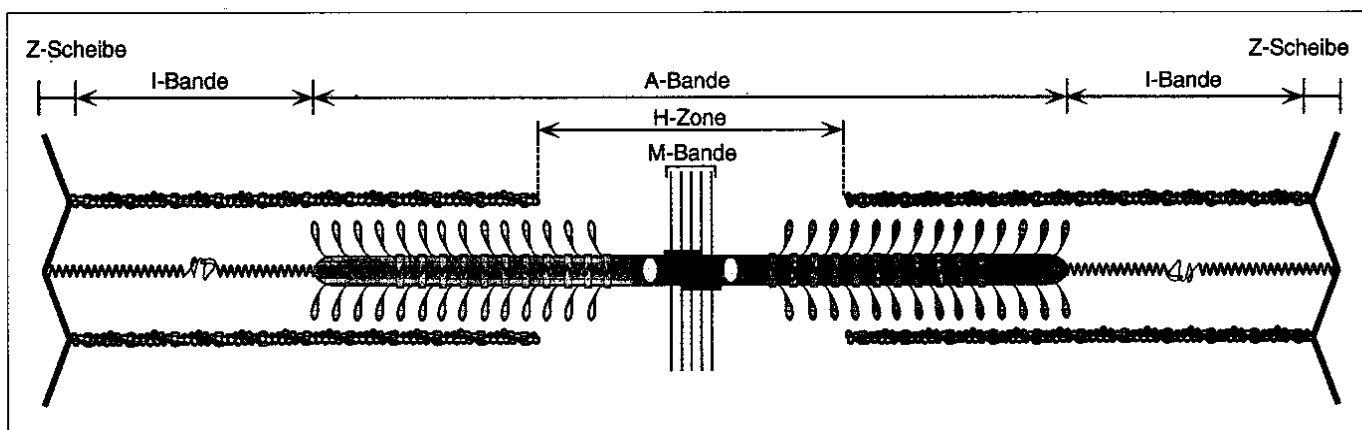


Abbildung 1: Das abgebildete Schema veranschaulicht neben den allgemein bekannten Komponenten des kontraktiven Apparates die Proteine des sarkomeren Zytoskeletts. Es wird deutlich, daß erst diese Proteine, allen voran das Titin (gelb), die Verknüpfung der Bestandteile des Sarkomers ermöglichen. Gleichzeitig muß das Titin elastisch sein, um den Kontraktionsvorgang selbst nicht zu behindern (nach 8).

4 bis 7 Kopien vorliegen kann (10). Die Repeats und die carboxyterminal daran anschließende Region binden α -Actinin (29, 30, 39). Durch das differentielle Splicing dieser Repeats entstehen also Titin-Moleküle mit einer unterschiedlichen Anzahl von Bindungsstellen für α -Actinin. Es ist sehr wahrscheinlich, daß dies eine bedeutende Grundlage für die Unterschiede in der Struktur der Z-Linien darstellt.

Zweitens findet man Sequenzmotive, die als Zielsequenzen bestimmter Protein-kinasen dienen (siehe unten). Damit verfügt die Z-Linien-Region des Titins obwohl über solche Bereiche, die unmittelbar strukturelle Informationen tragen als auch über Sequenzen, die als eine Art mo-

besten charakterisierten Wechselwirkungen näher betrachtet werden.

Im Bereich der Z-Scheibe ist α -Actinin der wahrscheinlich prominenteste Bindungspartner. Seine Bindung innerhalb der neu entdeckten sogenannten Z-repeats wurden bereits bei der Beschreibung der Struktur des Titins erwähnt. Die Versuche im Hefe-Doppelhybrid-System zeigten, daß die carboxyterminal gelegenen 10 kDa des α -Actinins die entsprechende Bindungsstelle an die Z-Repeats sind (29, 30) durch differentielles Splicing. Da die Zahl der Z-Repeats zwischen 4 und 7 variieren kann, schwankt entsprechend auch die Zahl der Bindungsstellen für α -Actinin. Damit scheint ein unmittelbarer Zusammenhang

Molekülstruktur wurde bereits erwähnt, daß im Bereich der Superrepeats aus Ig- und Fn-Domänen eine Wechselwirkung mit C-Protein auftritt. Im C-Protein wurden die Myosin-Bindungsstelle und die Titin-Bindungsstelle relativ genau bestimmt (zusammengefaßt in 1). Wie bedeutsam diese Interaktion für die Funktionalität der Myofibrille ist, wird durch die Tatsache unterstützt, daß eine Form einer schweren Herzkrankheit, der „Familiären cardialen Hypertrophie“ auf Mutationen im Gen des cardialen C-Proteins zurückzuführen ist (1).

Im Symmetriezentrum des Sarkomers, der M-Bande, treffen die Titin-Moleküle der beiden Sarkomerhälften aufeinander.

Ähnlich wie in der Z-Scheibe kommt es auch hier zur Überlappung der Titin-Moleküle (27). Am Rande der M-Bande liegt eine Kinase-Domäne, deren Struktur und grundlegende Regulation vor kurzem aufgeklärt werden konnten (23). Zur Aktivierung der Kinase-Aktivität ist erstens die Phosphorylierung eines Tyrosin-Restes nötig und zweitens muß eine Bindung von Kalzium/Calmodulin erfolgen. Es erscheint, als ob diese sehr strikte Kontrolle der Aktivität der Kinase-Domäne extrem wichtig wäre; bildlich gesprochen müssen zwei Schalter gleichzeitig gedrückt werden, um eine Lampe anzumachen. Eine derartige stringente Kontrolle der Aktivität wurde in dieser Form bisher noch bei keiner anderen Serin/Threonin-Kinase gefunden. Ein Indiz, das für die Richtigkeit dieser Annahme spricht, ist die Tatsache, daß das Vorhandensein einer unkontrolliert aktiven Kinase-Domäne die Myofibrillogenese blockiert (23). Das erste bisher identifizierte Substratprotein dieser Kinase ist das Telethonin, das bekanntlich auch eine Bindungsstelle in der Z-Scheiben-Region des Titins besitzt (13, 24). Zum richtigen Verständnis des Signalweges der Titin-Kinase fehlt vor allem noch die Kenntnis der aktivierenden Tyrosin-Kinase.

Von der Kinase-Domäne weiter in Richtung Carboxyterminus gibt es mindestens zwei weitere Regionen, die in Protein-Protein-Wechselwirkungen involviert sind. Die Ig-Domäne M4 bindet an die Myomesin-Domänen My4 bis My6 und einmal mehr wird die Bindung durch eine Phosphorylierung reguliert: die Phosphorylierung eines Serin-Restes im Myomesin durch die cAMP-abhängige Proteinkinase A inhibiert diese Interaktion (28). Zuletzt gibt es in Titin zwischen den Ig-Domänen M5 und M6 eine Region, in der mehrere Kopien des Motivs Lysin-Serin-Prolin phosphoryliert werden (11).

Insgesamt zeichnet sich also folgendes Bild ab: Titin weist als zentrales Protein des sarkomeren Zytoskeletts mehrere Bereiche auf, die direkt an Protein-Protein-Wechselwirkungen mit anderen Sarkomerproteinen beteiligt sind. Ein Teil dieser Interaktionen wird über Phosphorylierungen im Verlauf der Differenzierung der Muskelzelle reguliert, wodurch dem Titin-Molekül eine unmittelbare Rolle als Organisator des kontraktilen Apparates zukommen könnte (siehe unten).

Die Rolle von Titin

Titin als zentrales Protein des sarkomeren Zytoskeletts vereinigt auf einmalige Weise Informationen, die einerseits für die Formgebung der Myofibrille und andererseits für physiologische Abläufe von zentraler Bedeutung sind. Titin bildet am Beginn der Myofibrillogenese mit α -Actinin die Z-Scheibe, wobei die Dicke der Z-Scheibe direkt mit der Länge der exprimierten Titin-Isoform in dieser Region zu korrelieren scheint (39). Jüngste Ergebnisse weisen darauf hin, daß in der Folge das ganze sarkomere Zytoskelett einschließlich der M-Bande zusammengebaut wird, bevor Myosin die für den differenzierten Muskel charakteristischen, 1,6 μ m langen Myosin-Filamente bildet (3, 36). In diese Richtung gehende Vermutungen wurden bereits angestellt, als sich zeigte, daß die Regelmäßigkeit des Aufbaus des dicken Filamentes mit der Struktur des Titins korreliert („ruler hypothesis“; 33). Mit Sicherheit kommt den beschriebenen Phosphorylierungsstellen eine große Rolle bei diesen Vorgängen zu. Ein Beispiel, das diese zentrale Funktion illustriert, ist der Effekt der Expression einer konstitutiv aktiven Mutante der Titin-Kinase: Durch sie wird der Aufbau von Myofibrillen verhindert (23).

Neben dieser Rolle bei der Entwicklung der hochgeordneten Myofibrillenstruktur hat das sarkomere Zytoskelett mit Titin im Mittelpunkt auch eine zentrale Bedeutung im „Dauerbetrieb“ der quergestreiften Muskulatur. Zusammen mit seinen Bindungspartnern ist es für physiologisch relevante Unterschiede im Feinbau der Z-Scheibe und der M-Bande verantwortlich (siehe oben). Der in der I-Bande gelegene Teil des Titins sorgt auf der einen Seite für eine elastische Verbindung der dicken Filamente mit den Z-Scheiben und gewährleistet damit die Zentrierung der A-Bande im Verlauf von Kontraktion und Relaxation. Auf der anderen Seite wird die zentral gelegene PEVK-Region in unterschiedlichen Größenvarianten exprimiert, die sehr gut mit dem physiologischen Arbeitsbereich der jeweiligen Muskeln korrelieren (18). Im Einklang damit belegten Messungen an isolierten Myofibrillen und danach an Einzelmolekülen, daß Titin sich wie ein Federmechanismus verhält, in dem zwei Federn unterschiedlicher me-

chanischer Eigenschaften in Serie geschaltet sind (zusammengefaßt in 14).

Ausblick

Das Bild, das sich uns aufgrund der biochemischen Bindungsdaten und nach den physiologischen Messungen bietet, deutet also auf eine grundlegende Rolle des sarkomeren Zytoskeletts für den Aufbau und den Strukturerehalt der Myofibrille sowie für die physiologisch wichtige Feinabstimmung der Muskelmechanik hin. Besonders im Hinblick auf den Auf- und Umbau der hochgeordneten supramolekularen Struktur der Myofibrille ist es wichtig, daß es Protein-Protein-Wechselwirkungen gibt, die reversibel und regulierbar sind. Den beschriebenen Phosphorylierungsstellen kommt hierbei sicher eine bedeutende Rolle zu. Die Entschlüsselung der Signalkaskaden, die über das Zytoskelett die Myofibrillogenese steuern, stellt eine bedeutende Herausforderung dar.

Literatur

1. Bennett, P. M., D. O. Fürst, M. Gautel: The C-protein (myosin binding protein C) family: regulators of contraction and sarcomere function? *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 138 (1999) 203-234.
2. Bennett, P. M., M. Gautel: Titin domain patterns correlate with the axial disposition of myosin at the end of the thick filament. *J. Mol. Biol.* 259 (1996) 896-903.
3. Ehler, E., B. M. Rothen, S. P. Hämmerle, M. Komiyama, J. C. Perriard: Myofibrillogenesis in the developing chicken heart: assembly of Z-disk, M-line and the thick filaments. *J. Cell Sci.* 112 (1999) 1529-539.
4. Freiburg, A., M. Gautel: A molecular map of the interactions between titin and myosin-binding protein C. Implications for sarcomeric assembly in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Eur. J. Biochem.* 235 (1996) 317-323.
5. Fürst, D. O., R. Nave, M. Osborn, K. Weber: Repetitive titin epitopes with a 42 nm spacing coincide in relative position with known A band striations also identified by major myosin-associated proteins - an immunoelectron microscopical study on myofibrils. *J. Cell Sci.* 94 (1989) 119-125.
6. Fürst, D. O., W. M. J. Obermann, P. F. M. Van der Ven: Structure and assembly of the sarcomeric M band. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 138 (1999) 163-202.
7. Fürst, D. O., M. Osborn, R. Nave, K. Weber: The organization of titin filaments in the half-sarcomere revealed by monoclonal antibodies in immunoelectron microscopy; a map of ten non-repetitive epitopes starting at the Z line extends

- close to the M line. *J. Cell Biol.* 106 (1988) 1563-1572.
8. *Pette, D., D. O. Fürst* (Eds.): Special Issue on The Third Filament System. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* Vol. 138. Springer Verlag, Berlin, 1999.
 9. *Fürst, D. O., U. Vinkemeier, K. Weber*: Mammalian skeletal muscle C-purification from bovine muscle, binding to titin and the characterization of a full length human cDNA. *J. Cell Sci.* 102 (1992) 769-778.
 10. *Gautel, M., D. Goulding, B. Bullard, K. Weber, D. O. Fürst*: The central Z-disk region of titin is assembled from a novel repeat in variable copy numbers. *J. Cell Sci.* 109 (1996) 2747-2754.
 11. *Gautel, M., K. Leonard, S. Labeit*: Phosphorylation of KSP motifs in the C-terminal region of titin in differentiating myoblasts. *EMBO J.* 10 (1993) 3827-3834.
 12. *Gautel, M., E. Lehtonen, F. Pietruschka*: Assembly of the cardiac I-band region of titin/connectin: expression of the cardiac-specific regions and their structural relation to the elastic segments. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 17 (1996) 449-461.
 13. *Gregorio, C. C., K. Trombitas, T. Centner, B. Kolmerer, G. Stier, K. Kunke, K. Suzuki, F. Obermayr, B. Herrmann, H. Granzier, H. Sorimachi, S. Labeit*: The NH2 terminus of titin spans the Z-disc: its interaction with a novel 19-kD ligand (T-cap) is required for sarcomeric integrity. *J. Cell Biol.* 143 (1998) 1013-1027.
 14. *Horowitz, R.*: The physiological role of titin in striated muscle. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 138 (1999) 57-96.
 15. *Improta, S., J. K. Krueger, M. Gautel, R. A. Atkinson, J. F. Lefevre, S. Moulton, J. Trehwella, A. Pastore*: The assembly of immunoglobulin-like modules in titin: implications for muscle elasticity. *J. Mol. Biol.* 284 (1998) 761-777.
 16. *Kolmerer, B., N. Olivieri, C. C. Witt, B. G. Herrmann, S. Labeit*: Genomic organization of M-line titin and its tissue-specific expression in two distinct isoforms. *J. Mol. Biol.* 256 (1996) 556-563.
 17. *Labeit, S., M. Gautel, A. Lakey, J. Trinick*: Towards a molecular understanding of titin. *EMBO J.* 11 (1992) 1711-1716.
 18. *Labeit, S., B. Kolmerer*: Titins: giant proteins in charge of muscle ultrastructure and elasticity. *Science* 270 (1995) 293-296.
 19. *Linke, W. A., M. Ivemeyer, S. Labeit, H. Hinsen, J. C. Ruegg, J. C., M. Gautel*: Actin-titin interaction in cardiac myofibrils: probing a physiological role. *Biophys. J.* 73 (1997) 905-919.
 20. *Linke, W. A., M. Ivemeyer, P. Mundel, M. R. Stockmeier, B. Kolmerer*: Nature of PEVK-titin elasticity in skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 95 (1998) 8052-8057.
 21. *Linke, W. A., M. Ivemeyer, N. Olivieri, B. Kolmerer, J. C. Ruegg, S. Labeit*: Towards a molecular understanding of the elasticity of titin. *J. Mol. Biol.* 261 (1996) 62-71.
 22. *Maruyama, K., F. Murakami, K. Ohashi*: Connectin, an elastic protein of muscle. *Comparative biochemistry. J. Biochem.* 82 (1977) 339-345.
 23. *Mayans, O., P. F. M. van der Ven, M. Wilm, A. Mues, P. Young, D. O. Fürst, M. Wilmanns, M. Gautel*: Structural basis for activation of the titin kinase domain during myofibrillogenesis. *Nature*. 395 (1998) 863-869.
 24. *Mues, A., P. F. M. Van der Ven, P. Young, D. O. Fürst, M. Gautel*: Two immunoglobulin-like domains of the Z-disc portion of titin interact in a conformation-dependent way with telethonin. *FEBS Lett.* 428 (1998) 111-114.
 25. *Muhle-Goll, C., A. Pastore, M. Nilges*: The three-dimensional structure of a type 1 module from titin: a prototype of intracellular fibronectin type 111 domains. *Structure*. 6 (1998) 1291-1302.
 26. *Nave, R., D. O. Fürst, K. Weber*: Visualization of the polarity of isolated titin molecules; a single globular head on a long thin rod as the M-band anchoring domain? *J. Cell Biol.* 109 (1989) 2177-2188.
 27. *Obermann, W. M., M. Gautel, F. Steiner, P. F. M. Van der Ven, K. Weber, D. O. Fürst*: The structure of the sarcomeric M band: localization of defined domains of myomesin, M-protein, and the 250-kD carboxy-terminal region of titin by immunoelectron microscopy. *J. Cell Biol.* 134 (1996) 1441-1453.
 28. *Obermann, W. M., M. Gautel, K. Weber, D. O. Fürst*: Molecular structure of the sarcomeric M band: mapping of titin and myosin binding domains in myomesin and the identification of a Potential regulatory phosphorylation site in myomesin. *EMBO J.* 16 (1997) 211-220.
 29. *Ohtsuka, H., H. Yajima, K. Maruyama, S. Kimura*: The N-terminal Z repeat 5 of connectin/titin binds to the C-terminal region of alpha-actinin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 235 (1997) 1-3.
 30. *Sorimachi, H., A. Freiburg, B. Kolmerer, S. Ishiura, G. Stier, C. C. Gregorio, D. Labeit, W. A. Linke, K. Suzuki, S. Labeit*: Tissue-specific expression and alpha-actinin binding properties of the Z-disc titin: implications for the nature of vertebrate Z-discs. *J. Mol. Biol.* 270 (1997) 688-695.
 31. *Sorimachi, H., K. Kinbara, S. Kimura, M. Takahashi, S. Ishiura, N. Sasagawa, N. Sorimachi, H. Shimada, K. Tagawa, K. Maruyama*: Muscle-specific calpain, p94, responsible for limb girdle muscular dystrophy type 2A, associates with connectin through IS2, a p94-specific sequence. *J. Biol. Chem.* 270 (1995) 31158-31162.
 32. *Soteriou, A., M. Gamage, J. Trinick*: A survey of interactions made by the giant protein titin. *J. Cell Sci.* 104 (1993) 119-123.
 33. *Trinick, J.*: Titin and nebulin: protein rulers in muscle? *Trends Biochem. Sci.* 19 (1994) 405-409.
 34. *Trinick, J., P. Knight, A. Whiting*: Purification and properties of native titin. *J. Mol. Biol.* 180 (1984) 331-356.
 35. *Valle, G., G. Faulkner, A. De Antoni, B. Pacchioni, A. Pallavicini, D. Pandolfo, N. Tiso, S. Trevisan, G. Lanfranchi*: Telethonin, a novel sarcomeric protein of heart and skeletal muscle. *FEBS Lett.* 415 (1997) 163-168.
 6. *Van der Ven, P. F. M., E. Ehler, J.-C. Perriard, D. O. Fürst*: Thick filament assembly occurs after the formation of a cytoskeletal scaffold. *J. Muscle Res. Cell Motil.* (1999), im Druck.
 37. *Vigoreaux, J. O.*: The muscle Z band: lessons in stress management. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 15 (1994) 237-255.
 38. *Wang, K., J. McClure, A. Tu*: Titin: major myofibrillar components of striated muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76 (1979) 3698-3702.
 39. *Young, P., C. Ferguson, S. Banuelos, M. Gautel*: Molecular structure of the sarcomeric Z-disc: two types of titin interactions lead to an asymmetrical sorting of alpha-actinin. *EMBO J.* 17 (1998) 1614-1624.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. D. Fürst
Inst. für Zoophysologie u. Zellbiologie
Universität Potsdam
Lennéstr. 7a
14471 Potsdam
Tel.: 0331/9774873
Fax: 0331/9774861
e-mail: dfuerst@rz.uni-potsdam.de