

## 5 Zusammenfassung

Titin ist mit 3,7 MDa das größte Protein in Säugetieren und bildet neben Aktin und Myosin das dritte Filamentsystem im Herz- und Skelettmuskel. Das Titinmolekül erstreckt sich von der Z-Scheibe über die I- und A-Bande bis zur M-Bande des Sarkomers. Der C-Terminus enthält eine Serin-Threonin-Kinasedomäne, die in Vertebraten hochkonserviert ist. Ziel dieser Arbeit war es die Funktion der Titinkinasedomäne und deren Rolle in der Signaltransduktion zu untersuchen. Dazu wurde ein skelettmuskelspezifischer und ein induzierbarer herzspezifischer KO der Titinkinase verwendet.

Im Skelettmuskel-KO wurde das verkürzte Titin korrekt in die Z-Scheibe und I-Bande integriert, nicht jedoch in die M-Bande des Sarkomers. Die Deletion der Titinkinase führte zur Auflösung der Sarkomerstruktur zwischen dem 5. und 10. Tag nach der Geburt und zur Mislokalisierung und Akkumulation von Proteinen des Zytoskeletts. Dies weist auf eine Rolle der Titin M-Bande in der Aufrechterhaltung der Sarkomerstruktur und des Zytoskeletts hin.

Proteomanalysen zeigten, dass die Deletion der Titinkinase eine Stressantwort im Skelettmuskel und im Herzen auslöst, die zur Akkumulation von Hitzeschockproteinen und Untereinheiten des 26S-Proteasoms führt. Unterschiede zwischen Titinkinase-defizienten Herz- und Skelettmuskel konnten hingegen beim Metabolismus und der oxidativen Stressantwort detektiert werden. Die Akkumulation von Detoxifizierungsenzymen, sowie das Auftreten eines Cystein-modifizierten Proteins im Herzen, wiesen auf oxidativen Stress und erhöhte mechanische Belastung des Muskels in den Titinkinase-defizienten Tieren hin. Diese könnte einerseits durch die Disassemblierung des Sarkomers verursacht werden oder andererseits auf eine gestörte Funktion des Titinmoleküls als Dehnungssensor zurückzuführen sein. Das postulierte Titinkinasesubstrat Tcap könnte diese Funktion vermitteln, war jedoch nur im KO-Skelettmuskel erhöht exprimiert, was auf unterschiedliche Signalwege der Titinkinase im Herzen und im Skelettmuskel hindeutet.

Die Funktion von Titin im adulten Herzen wurde im Tamoxifen induzierbaren Titinkinase-region-KO untersucht. Die adulten KO-Tiere entwickelten eine schwere Herzinsuffizienz mit kardialer Hypertrophie und ödematöser Lunge. Begleitend zur Hypertrophie war die Signaltransduktion durch PKC $\delta$  in den Titinkinase-region-defizienten Tieren erhöht.

Experimente an isolierten Herzen zeigten, dass bereits vor Auftreten der Hypertrophie die kontraktile Funktion der KO Herzen eingeschränkt war, da diese weniger stark auf adrenerge

Stimulation reagierten. Die reduzierte adrenerge Signaltransduktion in den Titinkinaseregion-KO-Tieren basierte auf Veränderungen im  $\text{Ca}^{2+}$  Stoffwechsel. Calcium-assoziierte Proteine, wie die sarkoplasmatische  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase Serca2 und ihr Regulator Phospholamban, sowie Calmodulin 1 waren in den KO-Tieren runterreguliert. Damit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass Titins M-Bande nicht nur die diastolischen, sondern auch die systolischen Eigenschaften des Herzens verändern kann.