



Øivind Nilssen,  
Forskningsgruppe nevromuskulære sykdommer,  
Institutt for klinisk medisin,  
9037 Universitetet i Tromsø.

Tromsø 28/4-10

Fondet for forskning om muskelsykdommer  
v/Foreningen for muskelsyke,  
Brynsveien 96  
1352 Kolsås.

### **Rapport og regnskap for prosjekt:**

#### **Molekylærbiologisk studie av FKRP-relatert Limb Girdle muskeldystrofi (LGMD2I).**

Deres referansenummer er 13/09 f

Prosjektleder: Øivind Nilssen

Tildelte midler for 2009:

Helse Nord HF: 650 000.- (stipendiatlønn)

Foreningen for muskelsyke: 80 000.- (driftsmidler).

Personell i 2009/2010:

Øivind Nilssen professor/prosjektleder. Medarbeidere: Marijke van Ghelue, Forsker (20%); Vigdis Brox, spesialbioingeniør; Elisabeth Kjeldsen Buvang, overingeniør; Maisoon Alhamidi, stipendiat; Sigurd Lindal, overlege/professor. Samarbeidspartnere utenom UNN/UIT: Jean-Claude Michalski, professor Lille, Frankrike.

#### Molekylær etiologi ved Limb Girdle Muskeldystrofi type 2I

Limb-Girdle muskeldystrofi (LGMD) er en gruppe arvelige, progressive muskeldystrofier som primært rammer de store proksimale muskelgrupper – skuldre, overarmer, bekken og lår. LGMD type 2I skyldes mutasjoner i FKRP genen. Ved bruk av molekylærbiologiske metoder søker vi å

#### **DET HELSEVITENSKAPELIGE FAKULTET**

**INSTITUTT FOR KLINISK MEDISIN**

**Nevromuskulær Forskningsgruppe**

Universitetet i Tromsø, N-9037 Tromsø, tlf 77 64 54 21, telefaks 77 64 54 30

Øivind Nilssen, professor, e-mail: Oivind.Nilssen@uit.no

identifisere og karakterisere FKRP's rolle i normal og affisert muskel. Kunnskap om FKRP's struktur og funksjon vil kunne gi oss muligheten til å forstå årsaken, ikke bare til LGMD2I, men også den store kliniske variasjonen blant pasienter med mutasjoner i FKRP genen.

LGMD type 2I, som skyldes mutasjoner i *FKRP* genen (Fukutin Relatert Protein), utgjør den desidert største gruppen av LGMD pasienter i Norge (minimum prevalens  $>1/54000$ ). Mutasjoner i *FKRP* genen kan også forårsake langt mer alvorlige nevrologiske sykdommer som WWS (Walker-Warburg syndrom) og MEB (Muscle Eye Brain disease). Inngående kunnskap om årsaksforhold på molekylært nivå er nødvendig for god diagnostikk og fremtidig behandling av LGMD2I. Det er tidligere vist at pasienter med LGMD2I har mangelfull glykosylering (påkobling av spesifikke sukkermolekyler) av membran/ECM-proteinet alfa-dystroglycan (DAG1). Utover dette finnes det ingen kunnskap om FKRP's cellulære funksjon og biologiske rolle. I dette prosjektet søker vi å identifisere FKRP's *i*) intracellulære lokalisasjon, *ii*) biokjemiske sammensetning og *iii*) interaksjon med andre proteiner som kan være involvert i muskeldystrofi.

#### *i) Intracellulær lokalisering:*

FKRP's intracellulære lokalisasjon er kontroversiell. Tre lokalisasjoner er publisert i til sammen syv arbeider. Alle disse studiene er basert på immunfluorescens og lysmikroskopi. Vi har benyttet høyoppløselig elektronmikroskopi i kombinasjon med anti FKRP-antistoffer, og sekundære gullmerkede antistoffer. Vi har lokalisert FKRP spesifikke signaler i ultratynne snitt fra muskel. FKRP er lokalisert til Golgiapparatet, mellom myofibrillene i muskelcellene.

#### *ii): FKRP og biokjemisk sammensetning:*

Ved bruk av kjemiske kryssbinding, parvis gjær-to-hybrid analyse og immunpresipitering, kombinert med Western blot analyse, har vi vist at FKRP danner homo-di-merer samt at FKRP sannsynligvis inngår i større komplekser med andre proteiner i muskelcellen. FKRP inneholder N-glycan (sukker-molekyler) og homo-di-meren er bundet sammen ved disulfid-bruer. Vi har identifisert disse kjemiske bindingene.

#### *iii) Interaksjon med andre LGMD proteiner*

Ved ytterligere gjær-to-hybrid analyser (Y2H) har vi identifisert muskelproteiner som binder seg til FKRP og som muligens er nødvendige for FKRP's funksjon. Et av disse proteinene er involvert i en annen form for LGMD (LGMD/EB) og interaksjonen vil bli studert videre ved bruk av immunologiske metoder.

I en annet relatert arbeid har vi undersøkt sykdomsutvikling hos norske pasienter med LGMD2I. Undersøkelsen er basert på spørreskjema og rapportering av subjektiv oppfatning av egen sykdom.

Vi har her gjort en korrelasjonsstudie som viser at den vanligste norske mutasjonen gir senere debutalder og mildere forløp.

### **Publikasjoner 2009/2010:**

Poster: Molecular Characterization of FKRP related Limb-Girdle type 2I Muscular Dystrophy  
<sup>1,2</sup>Alhamidi M, <sup>2</sup>Kjeldsen Buvang E, <sup>1</sup>Fagerheim T, <sup>1</sup>Brox V, <sup>1</sup>van Ghelue M and <sup>1,2</sup>Nilssen Ø.  
Department of Medical Genetics, <sup>1</sup>University Hospital of North-Norway, NO-9038, Tromsø, Norway and <sup>2</sup>Institute of Clinical Medicine, NO-9037 University of Tromsø, Norway. HelseNords forskningskonferanse, Tromsø, Mars, 2009.

Poster: WMS møte I Geneve. Abstract i Neuromuscular disorders:EM.P.2.09 Spectrum of mutations and phenotypic variability in FKRP-related disease in Norway  
E. Stensland, S. Lindal, C. Jonsrud, T. Torbergsen, M. Rasmussen, L. Bindoff, F.M. Thyssen, Ø. Nilssen Neuromuscular Disorders , September 2009 (Vol. 19, Issue 8, Page 554)

Foredrag: Molecular Characterization of FKRP related Limb-Girdle type 2I Muscular Dystrophy.  
<sup>1,2</sup>Nilssen Ø, <sup>1,2</sup>Alhamidi M, <sup>2</sup>Kjeldsen Buvang E, <sup>1</sup>Fagerheim T, <sup>1</sup>Brox V, <sup>1</sup>van Ghelue M and.  
Department of Medical Genetics, <sup>1</sup>University Hospital of North-Norway, NO-9038, Tromsø.  
Fagkonferanse om nevrologiske sykdommer, Tromsø, 24.-25.juni 2009

Artikkel under utarbeidelse: Analysis of the Intracellular localization, the Multimeric Structure and the Intermolecular Interactions of fukutin-related protein (FKRP). <sup>1,2</sup>Alhamidi M, <sup>2</sup>Kjeldsen Buvang E, <sup>1</sup>Fagerheim T, <sup>1</sup>Brox V, Lindal S, <sup>1</sup>van Ghelue M and <sup>1,2</sup>Nilssen Ø. Department of Medical Genetics, <sup>1</sup>University Hospital of North-Norway, NO-9038, Tromsø, Norway and <sup>2</sup>Institute of Clinical Medicine, NO-9037 University of Tromsø, Norway.

Artikkel klar til innsending: Prevalence, spectrum of FKRP-mutations and phenotypic variability in Norwegian patients with Limb Girdle Muscular Dystrophy type 2I (LGMD2I), Eva Stensland <sup>a, b</sup>, Sigurd Lindal <sup>c, d</sup>, Christoffer Jonsrud <sup>e</sup>, Torberg Torbergsen <sup>a</sup>, Laurence A. Bindoff <sup>f</sup>, Magnhild Rasmussen <sup>g</sup>, Arve Dahl <sup>h</sup>, Frances Thyssen <sup>e</sup> and Øivind Nilssen <sup>b, e</sup>

### **Regnskap:**

Regnskap for 2009 og 2010 er vedlagt som 2 separate pdf filer. Post 5078 (1500.-) skal omposteres til annuum og skal ikke tas med her. Vi har da til rest 21 873 kroner. Nye bestillinger på PDVF membraner, acrylamide geler og antistoffer, tilsvarende dette beløpet vil bli utført i løpet av mai, 2010.

Mvh og tusen takk for støtten

Øivind Nilssen. Prof.