تقييم مستوى مثيلة الحمض النووي ومواقع ارتباط عوامل النسخ لمنطقة البروموتر في جين RALB في أطفال التوحد السعوديين

إعداد

مريم سالم العتيبي

بإشراف:
د. خلود مبارك القثمي

المستخلص

تم مشاهدة الاختلاف في ميثلة الحمض النووي لدى المرضى المصابين باضطراب طيف التوحد. مرض التوحد هو مجموعه معقده من اضطرابات التطور العصبي تم وصفها بضعف في التواصل والاستقبال الاجتماعي، وتكرار في لغة التحدث. ميثلة الحمض النووي هي واحده من أكثر أنواع تعديل ما فوق الجينات شيوعا، والتي تلعب دور في العمليات الحيوية. تعمل على تنظيم التعبير الجيني من خلال التحكم بمواقع عوامل النسخ في بداية منطقة الجين. دراسات حالية قامت بتسجيل العديد من الجينات التي أظهرت اختلافا في مستوى التعبير الجيني لدى مرضى التوحد. معظم هذه الجينات تؤثر على العمليات الحيوية مثل توصيل الإشارات وتطوير النمو العصبي. ينتمي الجين RAS Like Proto-Oncogene B (RALB) إلى عائلة GTPase والتي تلعب دورا في العديد من العمليات الحيوية مثل الإخراج الخلوي كالنواقل العصبية، و تفرع وهجرة الخلايا العصبية. لذلك نظريتنا أن اضطراب طيف التوحد قد يكون مرتبط باختلاف ميثلة الحمض النووي في مواقع ارتباط عوامل النسخ. في هذي الدراسة تم استخدام جهاز MethyLight من أجل فحص مواقع ال CpG داخل منطقة بداية RALB. تقنية qRT-PCR قامت بقياس التعبير RALB في خلايا الدم لـ١٩ طفل مصاب التوحد و١٨ طفل طبيعي من إخوتهم. أعمار الأطفال التي تم اختيارهم تتراوح ما بين الثلاثة سنين إلى الاثنا عشرة سنة. علاوة على ذلك استخدمت قاعدة البيانات Genomatix MatInspector لتحديد عامل النسخ المعياري الملائم لوظيفة RALB. بالرغم من أن مثيلة الحمض النووي لم يتم اكتشفاها في منطقة بداية RALB، وجدنا زيادة في تعبيره في ١١ طفل متوحد نسبة إلى الطبيعيين. تم اختيار الـ E2F3 كعامل النسخ المحتمل، المثير للدهشة سبعة من العينات التي كان لديها زيادة في التعبير الجيني توافقت مع ارتفاع التعبير لعامل النسخ E2F3. الاختلاف في تعبير RALB في أطفال التوحد يمثل أدلة محتملة لاختلاف مثيلة الحمض النووي في مناطق مختلفة لـCpG والتي لديها القدرة في التحكم بارتباط E2F3 و الذي قد يكون له دور بتطور اضطراب طيف التوحد.

Assessing The CpG Methylation and Transcription Factors Binding Sites in The Promotor Region of Ras Like Oncogene B (RALB) in The Saudi Autistic Children

By

Maryam Salem Alotaibi

Supervised By

Dr. Khloud Algothmi

Abstract

Aberrant DNA methylation has been observed in patients with autism spectrum disorder (ASD). Autism is a group of complex neurodevelopment disorders described as impairment in social interaction and reciprocity, and repetitive in speech. DNA methylation (DNAm) is one of the common epigenetic modifications, which take place in biological processes. It has a crucial role in regulating gene expression through controlling transcription factor binding sites (TFBSs) within gene promoter. Recent studies have reported many genes exhibit differences in gene expression levels among autistic subjects. Most of these genes are implicated in vital biological process such as signal transduction and neurodevelopmental mechanisms. RAS Like Proto-Oncogene B (*RALB*) gene belongs to GTPase superfamily, which is involved in various cellular processes including exocytosis, neuron branching and migration. Therefore, we hypothesized that ASD could be associated with aberrant DNAm in the TFBS of *RALB* promoter. In this study, the MethyLight was used for examining the CpG site within *RALB* promoter. RT-qPCR was measured the *RALB* expression in peripheral blood mononuclear cells from siblings of 19 autistic children and 18 healthy children. The children's age is ranging from three to Twelve years old. Moreover, the Genomatix MatInspector software was used to determinate the standard transcription factor (TF) in *RALB* function. Although the DNAm undetected in *RALB* promoter, we found an increased *RALB* expression in 11 autistic subjects relative to the controls. The E2F3 was selected as a potential TF, interestingly seven of up regulated samples were consistent with up regulation of *E2F3* expression. The differentiation expression of *RALB* in autistic children represents potential evidence of the aberrant DNAm in other CpG sites has ability in regulating the E2F3 binding affinity, and this could be related to the development of ASD.