تحليل مستوى مثيلة الحمض النووي ومواقع ارتباط عوامل النسخ لمنطقة البروموتر في عائلة اسيل كو أي في أطفال التوحد

إعداد: أمل محمد القرشي

بإشراف:
د. خلود القثمي د. صفية الحازمي

يتأثر تنظيم التعبير الجيني بمثيل الحمض النووي (DNAm) وعوامل النسخ (TFs). مثيل الحمض النووي هو الآلية الأكثر دراسة لما فوق الجينات، والتي تؤثر على التعبير الجيني دون تغيير تسلسل الحمض النووي الأساسي. مثيل الحمض النووي المتضرر يدخل في أمراض بشرية مختلفة مثل السرطان واضطراب ثنائي القطب واضطراب طيف التوحد (ASD). اضطراب طيف التوحد هو اضطراب في النمو العصبي يؤثر على سلوك الشخص ومهارات التعلم والتواصل لديه. يرتبط خلل التنظيم في جين *ACSF3* بمرض combined malonic and methylmalonic aciduria والذي يظهر أعراض عصبية مثل مشاكل في الذاكرة والأمراض النفسية و / أو التدهور المعرفي على المدى الطويل. أظهرت العديد من الدراسات أن مستويات المثيلة في المناطق المحفزة لـ *ACSF3* تلعب دورًا مهمًا في تعبيرها. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد دور مثيل الحمض النووي في موقع ارتباط عامل النسخ لـ *ACSF3* في الأطفال السعوديين المصابين بالتوحد. تم استخدام تقنية RT-qPCR لتحديد مستوى التعبير لـ *ACSF3* وعامل النسخ المحتمل (SP1) بينما تم استخدام تقنية DNA methylight qPCR لتحديد مستوى مثيلة الحمض النووي في منطقة البروموتر لـ *ACSF3* في ١٩ حالة من أطفال اضطراب طيف التوحد و١٩ عينة من أشقائهم الأصحاء لتحليل ما إذا كان مثيلة الحمض النووي في موقع ربط عامل النسخ هو سبب أو نتيجة لتنظيم النسخ لـ *ACSF3*. بالإضافة إلى ذلك، تم تطبيق تسلسل منطقة البرموتر لـ *ACSF3* التي تحتوي على مواقع ربط لـ SP1 لاكتشاف الطفرة المحتملة لموقع ربط عامل النسخ. لم تحدد نتائج methylight PCR أي نمط مثيلة في منطقة البرموتر لـ *ACSF3*، بينما كشفت نتائج التعبير الجيني أن مستوى التعبير الجيني لـ *ACSF3* في مرضى اضطراب طيف التوحد كان مرتبطًا بشكل إيجابي مع مستوى التعبير لعامل النسخ (SP1). علاوة على ذلك، كانت تسلسلات العينات التي تم الحصول عليها متشابهة مع بعضها البعض، ولكن لم يكن أي منها مشابهًا للتسلسل في NCBI-BLAST وتم العثور على طفرات في موقع ربط SP1 والتي قد تكون بسبب الاختلافات الجينية المتعلقة بالسكان. على الرغم من أن هذه الدراسة لا تؤكد دور مثيلة الحمض النووي في المنطقة المستهدفة من برموتر *ACSF3* ، إلا أن هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتقييم آثار مثيلة الحمض النووي على تعبير *ACSF3* في اضطراب طيف التوحد من خلال استخدام تقنية جديدة أخرى تقيس مستويات مثيلة الحمض النووي على نطاق واسع.

Analysis of DNA Methylation Level and Transcription Factor Binding Site of Promoter Region in Acyl-CoA Synthetase Family Member 3 (*ACSF3*)Gene in Autistic Children

By: Amal Mohammed Al-Qurashi

Supervised by:

Dr. Khloud Algothmi Dr. Safiah Alhazmi

The regulation of gene expression influenced by DNA methylation (DNAm) and transcription factors (TFs). DNAm is the most studied mechanism of epigenetic, which affect gene expression without changing the underlying DNA sequence. Aberrant DNAm implicated in different human diseases such as cancer, bipolar disorder, and autism spectrum disorder (ASD). ASD is a neurodevelopmental disorder that affect a person's behavior and his learning and communication skills. *ACSF3* gene implicated in combined malonic and methylmalonic aciduria which associated with neurological symptoms such as memory problems, psychiatric disease and/or cognitive decline in the long-run. Many studies revealed that methylation levels of the promoter regions of *ACSF3* play a critical role on its expression. This study aimed to determine the role of DNAm in the transcription factor binding site of *ACSF3* in Saudi autistic children. RT-qPCR was used to determine the expression level of *ACSF3* and its potential transcription factor (SP1) while DNA methylight-qPCR was applied to detect the DNAm level in the promoter region of *ACSF3* in 19 cases of ASD children and 19 samples from their healthy-siblings to analyze whether the DNAm status of TF-binding site is a cause or a consequence of transcription regulation of *ACSF3*. In addition, analyzing the sequence of the promoter region of *ACSF3* that contains binding sites for SP1 was applied to detect the possible mutation of TF-binding site. The results of methylight PCR didn't determine any methylation pattern in the promoter region of *ACSF3*, whereas the results of the gene expression revealed that the expression level of *ACSF3* in ASD patients was moderately positively correlated with the expression level of SP1. Moreover, the analyzed sequences of the samples were similar to each other, but none have been similar to the sequence in NCBI-BLAST and mutations have been found in the SP1 binding site which might be due to genetic variation that related to population .Although this study does not confirm the role of DNAm in the target region of *ACSF3* promoter, further research is needed to assess the effects of DNAm on the *ACSF3* expression in ASD via using another new technique that measures DNAm levels at a large scale