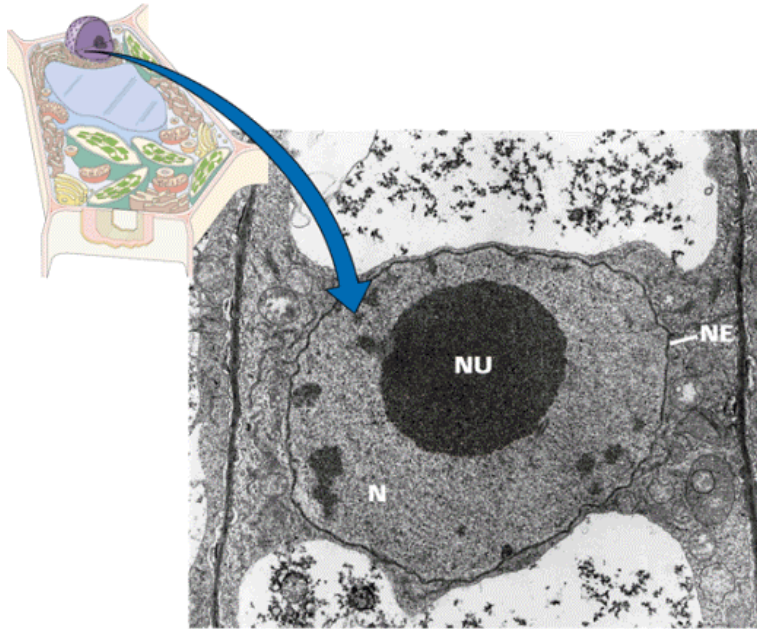


Jádro

jakožto buněčný kompartment

Struktura jádra



nuclear envelope (NE) – vnitřní a vnější jaderná membrána, jaderné póry

jaderná lamina (interakce s póry a chromatinem v interfázi)

nukleoplasma

chromatin

jadérko

funkce jádra:

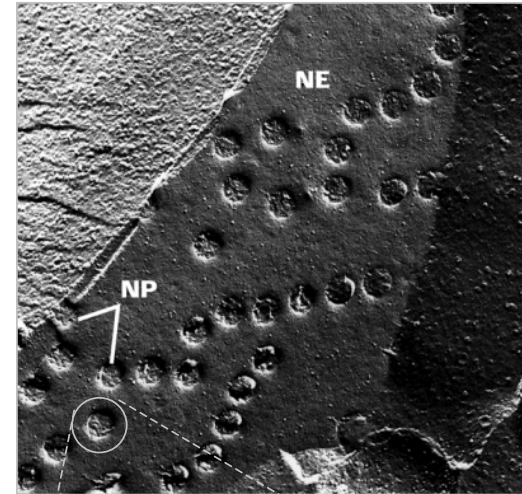
bezpečné uložení většiny genetické informace,
řídící centrum genové exprese,
„továrna na ribosomy“

Jaderné póry

8-20 % povrchu NE, 25 pórů/um²

celková hmotnost 125 MDa (živočišný),
asi 30 různých strukturních proteinů
(tzv. nukleoporiny)

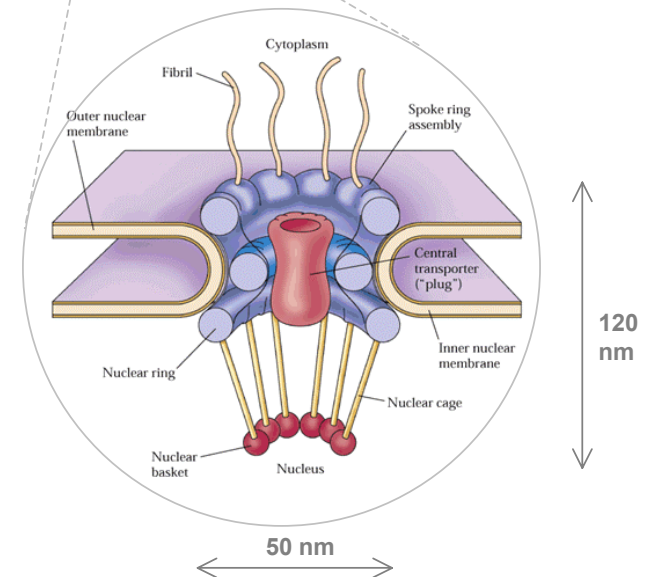
= jeden z největších komplexů v buňce
(Nuclear Pore Complex, NPC)



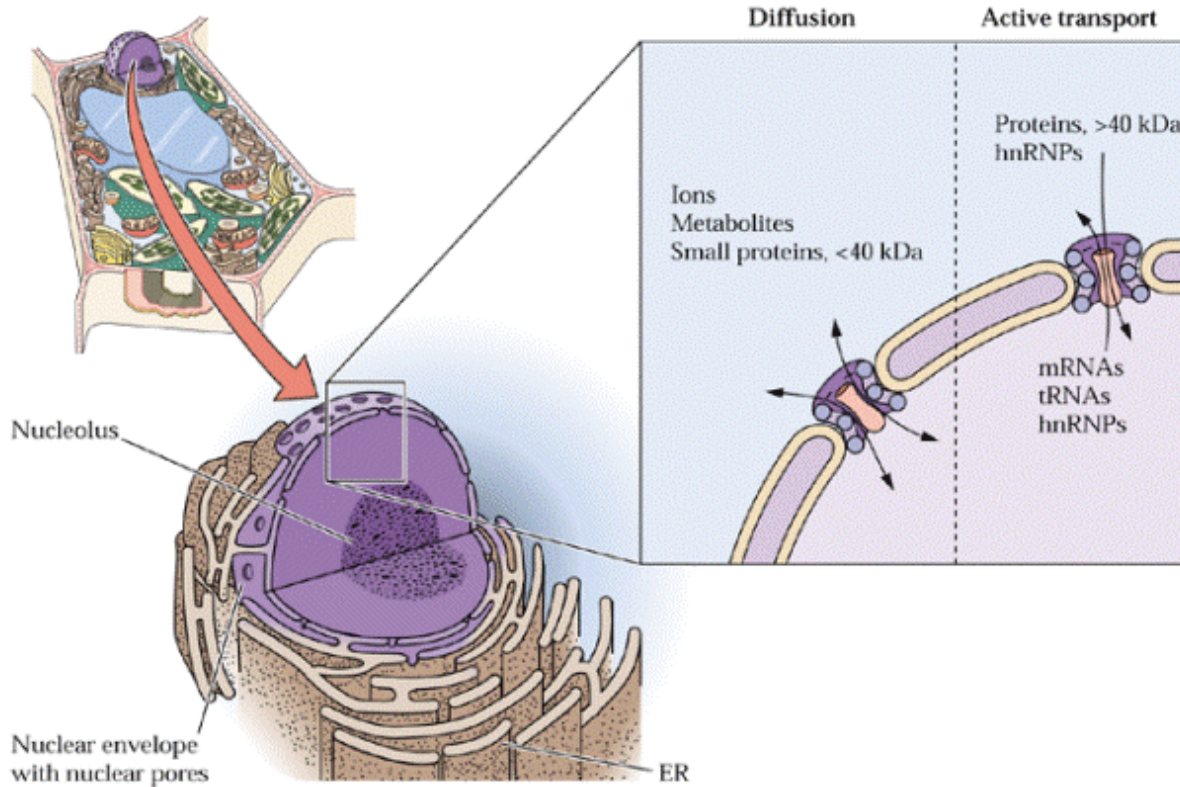
8 periferních kanálů
o průměru 9 nm

1 centrální kanál
o průměru 35 nm
(vyžaduje ATP)

(velikost ribosomu
asi 20 nm)



Jaderné póry



Jaderný pór není jen díra!

- 1) molekulární síto
- 2) transportní kanál
(rychlost asi 800 molekul 100kDa proteinu za 1 s)

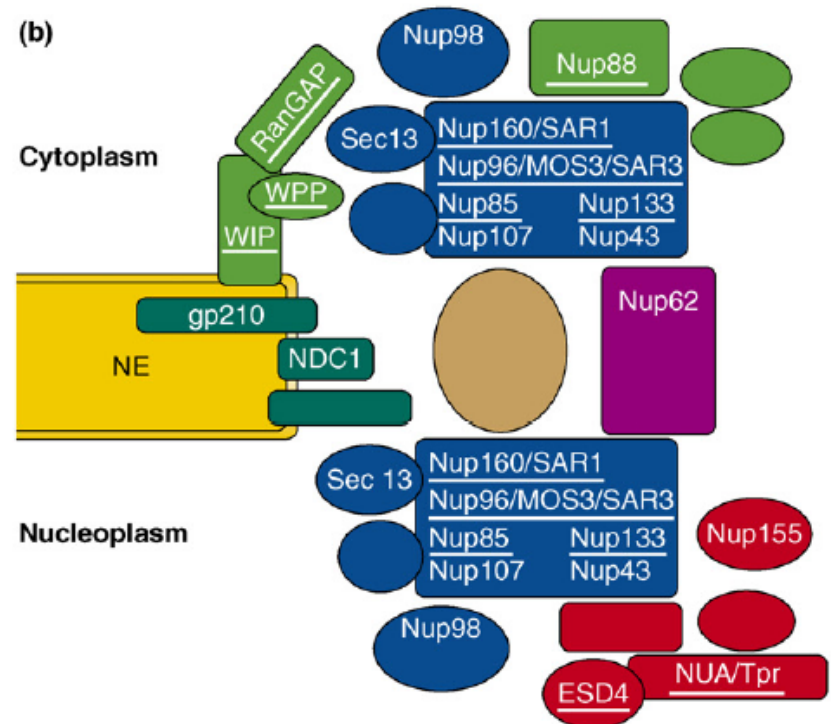
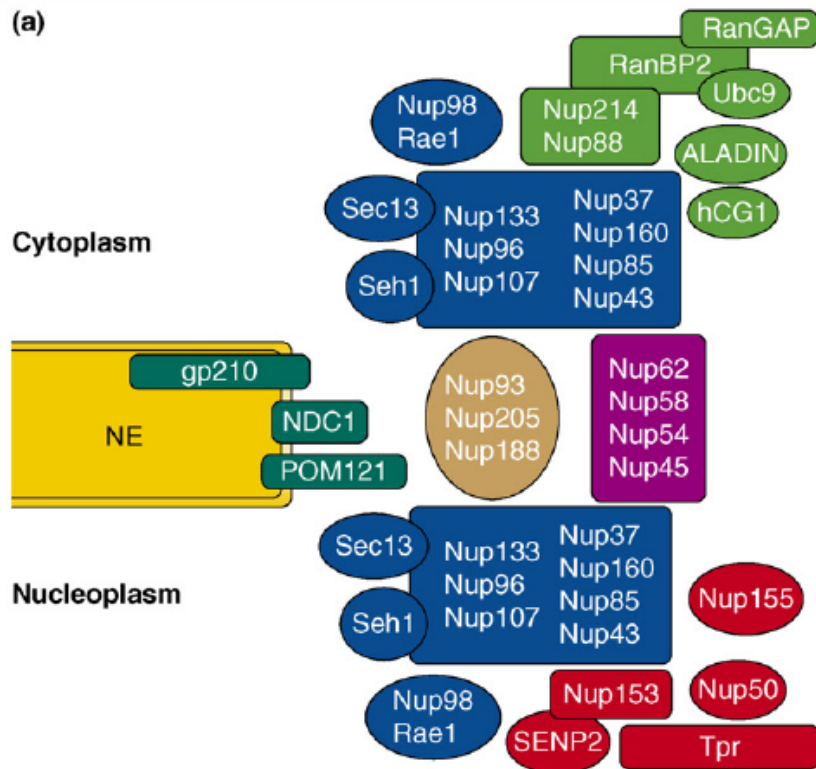
NLS = nuclear localization signal

- neexistuje přesná consensus sekvence (bohatá na Arg, Lys, Pro)
- není odštěpován (opětovný návrat proteinů do jádra např. po mitóze)

Jak konzervovaný je aparát jaderného póru?

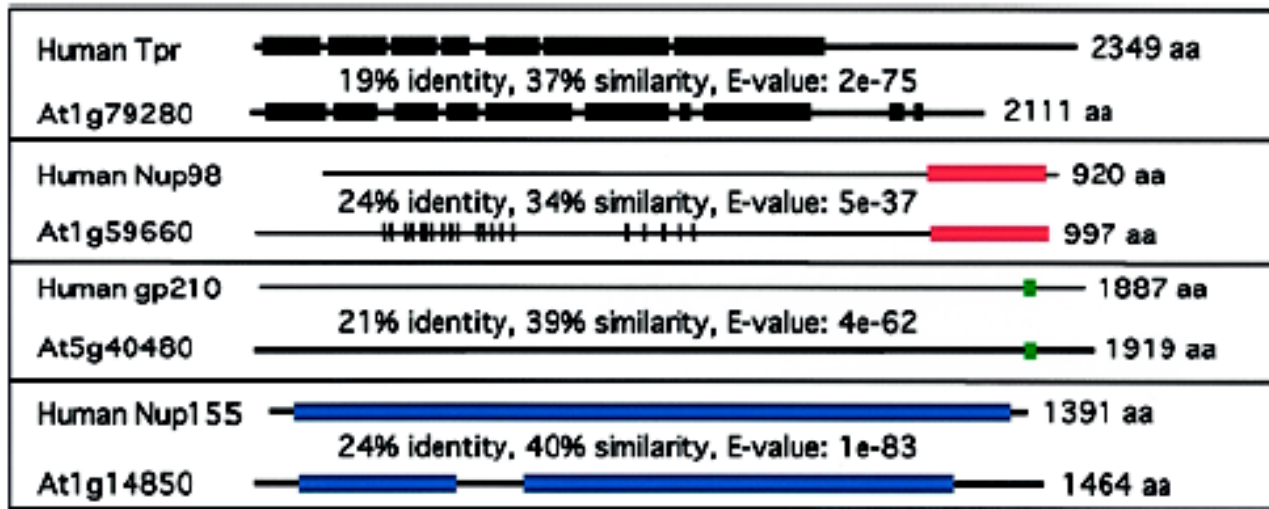
NPC dobře charakterizovaný u živočichů a kvasinek

u rostlin je studium NPC v počátcích



Jak konzervovaný je aparát jaderného póru?

Homology proteinů jaderného póru v genomu *A. thaliana*



A. thaliana:

- asi 17 importinů β
- transportin (TRN1)
- 3 exportiny (XPO1, HST, PSD)

Mechanismus transportu jaderným pórem

1) vazba proteinu k NPC

interakce proteinu
s α - a β -importinem

2) translokace skrz NPC

+) recyklace importinů
a Ran

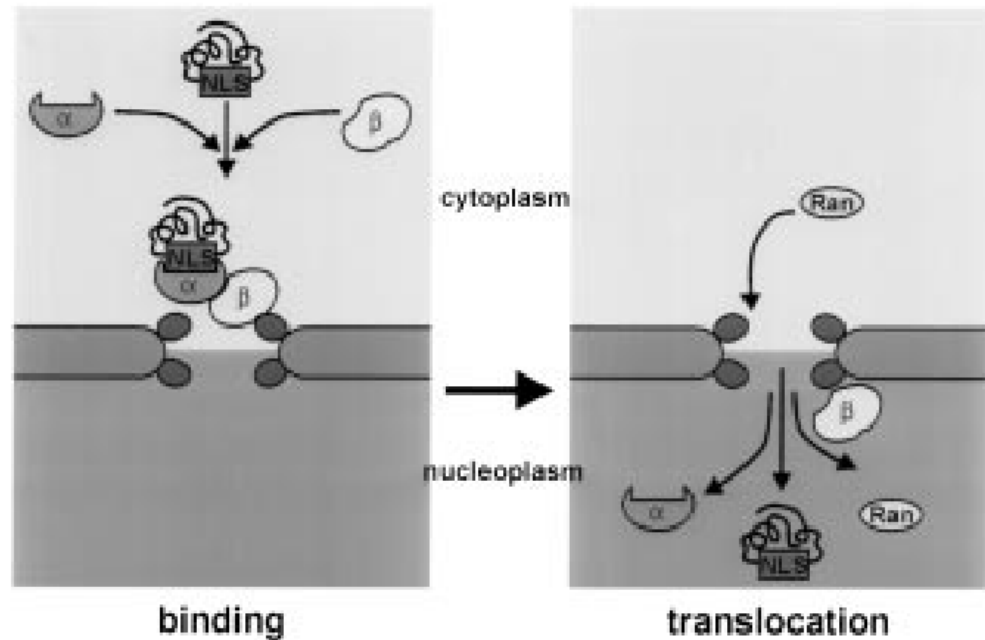
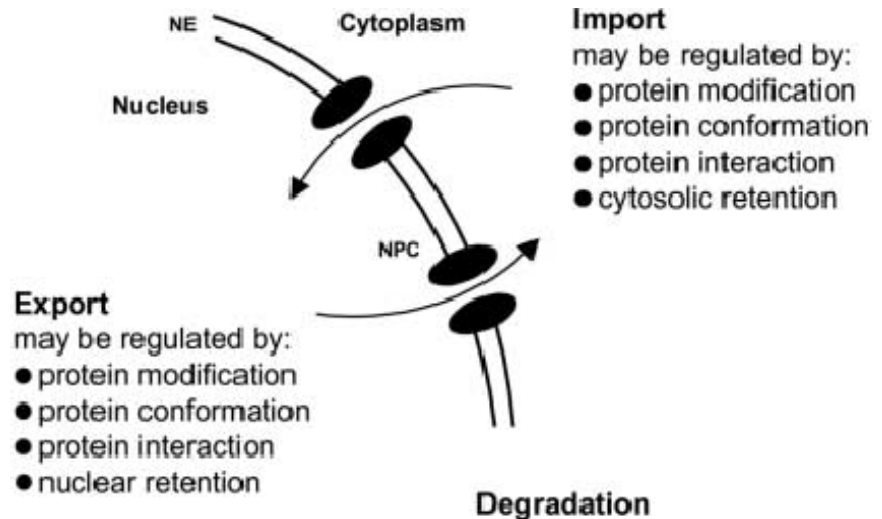


Figure 3. Nuclear import is a two-step process.

Regulace transportu jaderným pórem

Regulace transportu:

- fosforylace „nákladu“ – může bránit vazbě proteinu s karyoferiny (importiny, exportiny)
- modifikace nukleoporinů



Když něco nefunguje

mutace rostlinných nukleoporinů a karyoferinů ovlivňují:

- rezistenci k patogenům
- nodulaci
- citlivost k auxinu
- rezistenci k chladovému stresu
- indukci kvetení (časné kvetení)

Table 1. Plant mutants related to the NPC and nucleocytoplasmic transport

Mutants	Species	Mammalian homologs	Processes affected
<i>mos3/sar3</i>	<i>Arabidopsis</i>	Nup96	Basal and R-gene-mediated resistance, auxin signaling, flowering time, development
<i>nup133</i>	<i>L. japonicus</i>	Nup133	Ca ²⁺ spiking, rhizobial and fungal symbiosis, seed production
<i>nup85</i>	<i>L. japonicus</i>	Nup85	Ca ²⁺ spiking, rhizobial and fungal symbiosis, seed production
<i>sar1/atnup160</i>	<i>Arabidopsis</i>	Nup160	Auxin signaling, RNA export, cold-stress tolerance, flowering time, development
<i>nua/attpr</i>	<i>Arabidopsis</i>	Tpr	SUMO homeostasis, mRNA export, miRNA processing, flowering time, auxin signaling, development
<i>mos6</i>	<i>Arabidopsis</i>	Importin α	Basal and R-gene-mediated resistance
<i>los4</i>	<i>Arabidopsis</i>	RNA helicase	Cold-stress response, flowering time, mRNA export
<i>hasty</i>	<i>Arabidopsis</i>	Exportin 5	Phase change, development, miRNA processing
<i>paused</i>	<i>Arabidopsis</i>	Exportin-t	Phase change, development
<i>esd4</i>	<i>Arabidopsis</i>	SUMO protease	SUMO homeostasis, flowering time, development
<i>sad2</i>	<i>Arabidopsis</i>	Importin β family member	ABA- and stress-responsive gene expression, ABA sensitivity, flowering time

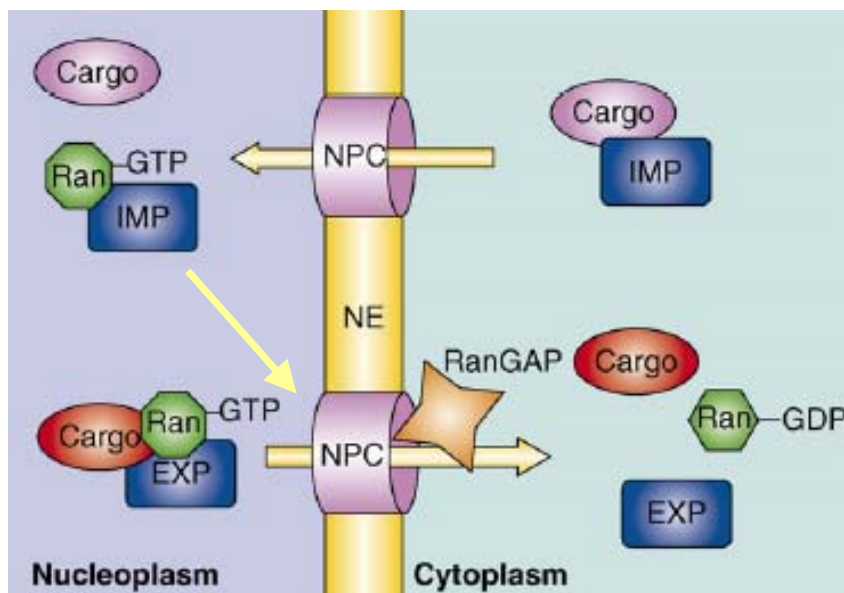
Ran GTPázy

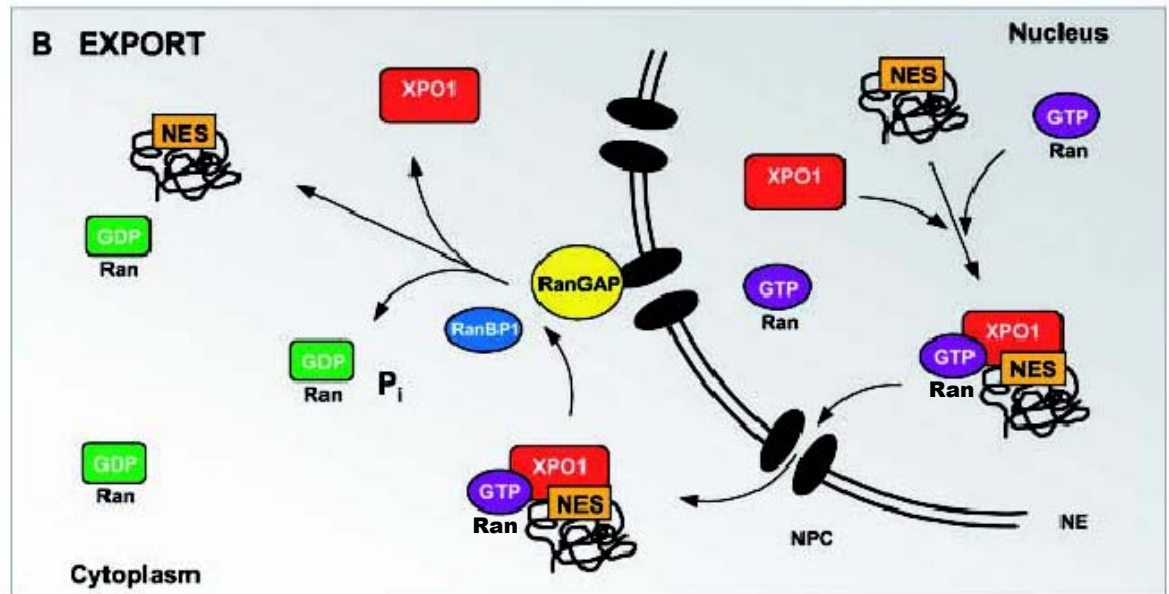
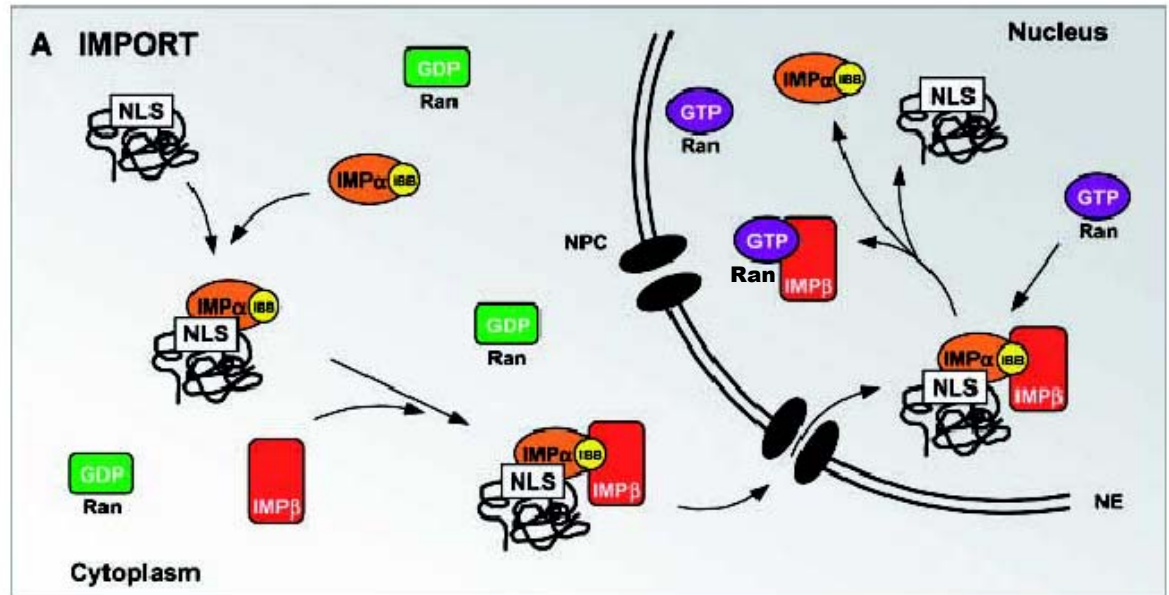
Ran-GTP spouští **uvolnění nákladu z importinu** – v jádře
Ran-GTP **stabilizuje vazbu nákladu a exportinu** – v jádře

při exportu do cytoplasmy dojde k hydrolyze **GTP na GDP** za účasti Ran GAP, což **uvolňuje náklad z exportinu**

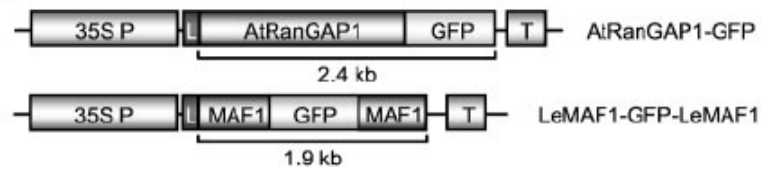
Ran GEF (RCC1 – vazaný na chromatin) v jádře katalyzuje výměnu GDP za GTP v molekule Ran GTPázy

efektivitu Ran zvyšují Ran BP (binding proteins)

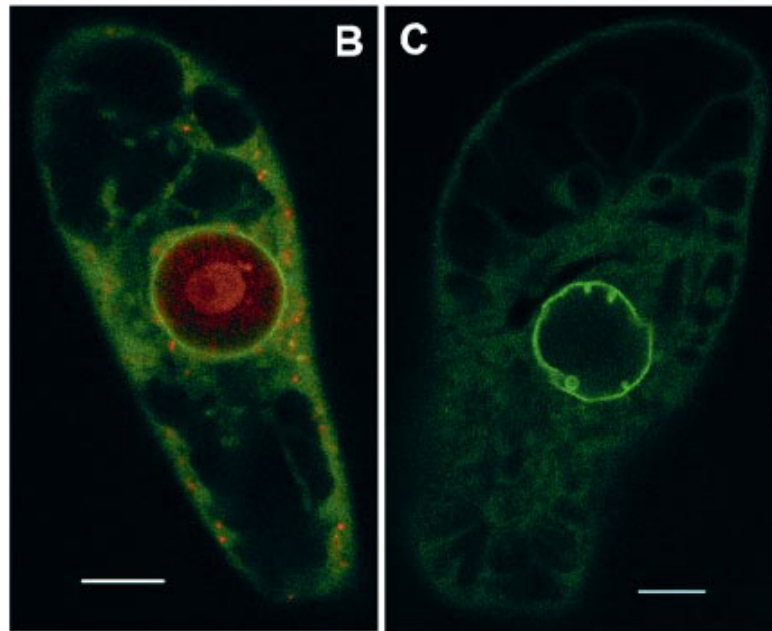




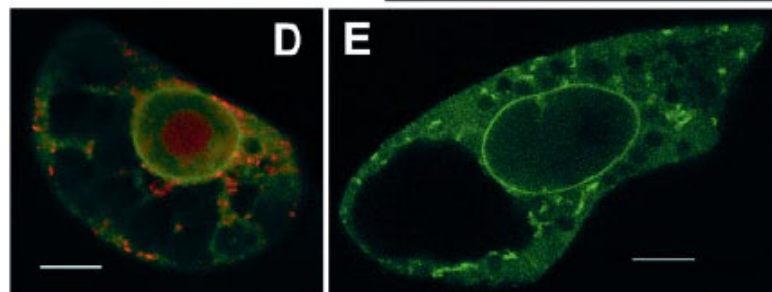
Struktura a lokalizace Ran GAP



RanGAP1



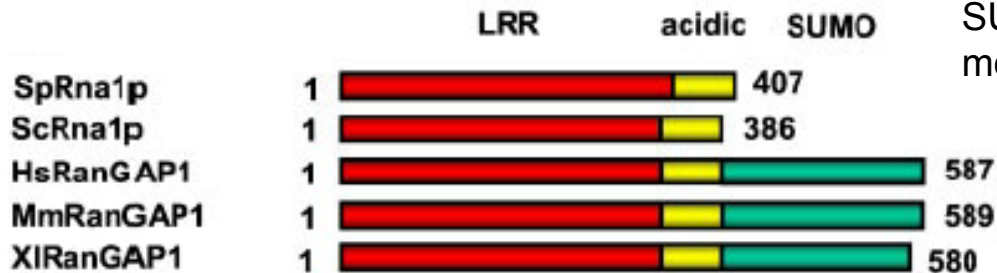
MAF1



Struktura a lokalizace Ran GAP

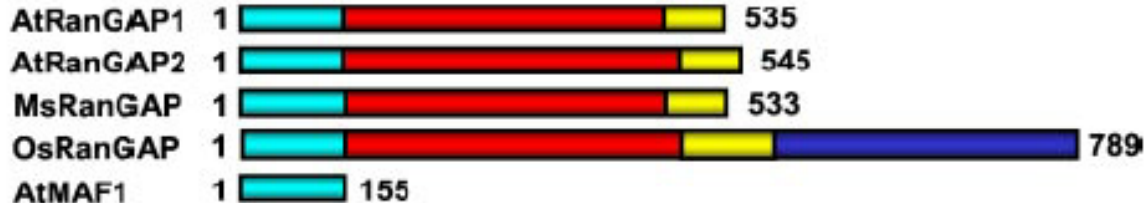
interakce RanGAP s jaderným pórem:

živočichové
kvasinky



SUMO = small ubiquitin-like
modifier

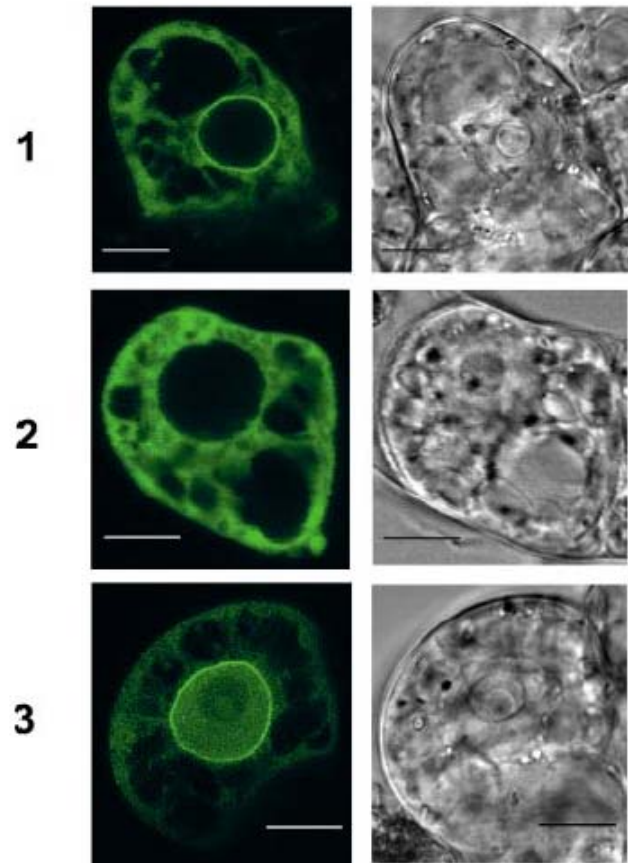
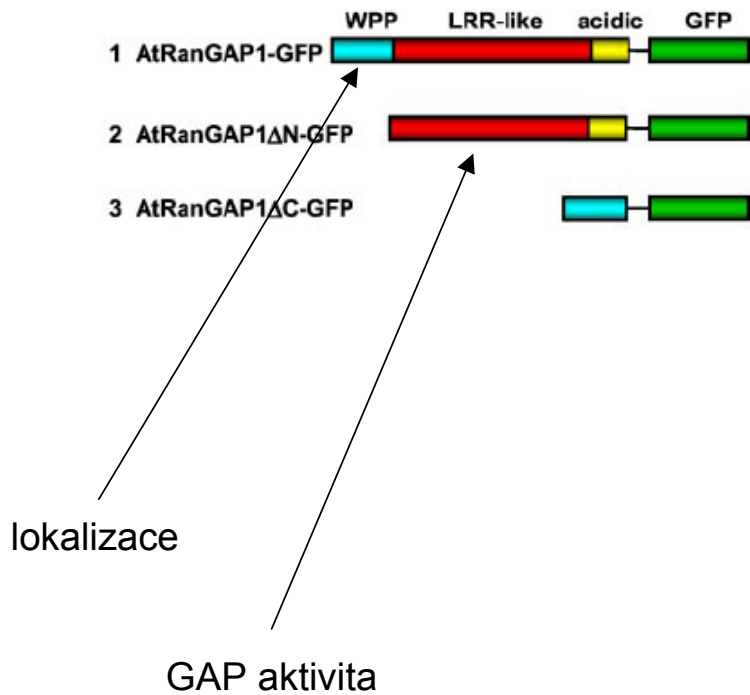
rostliny



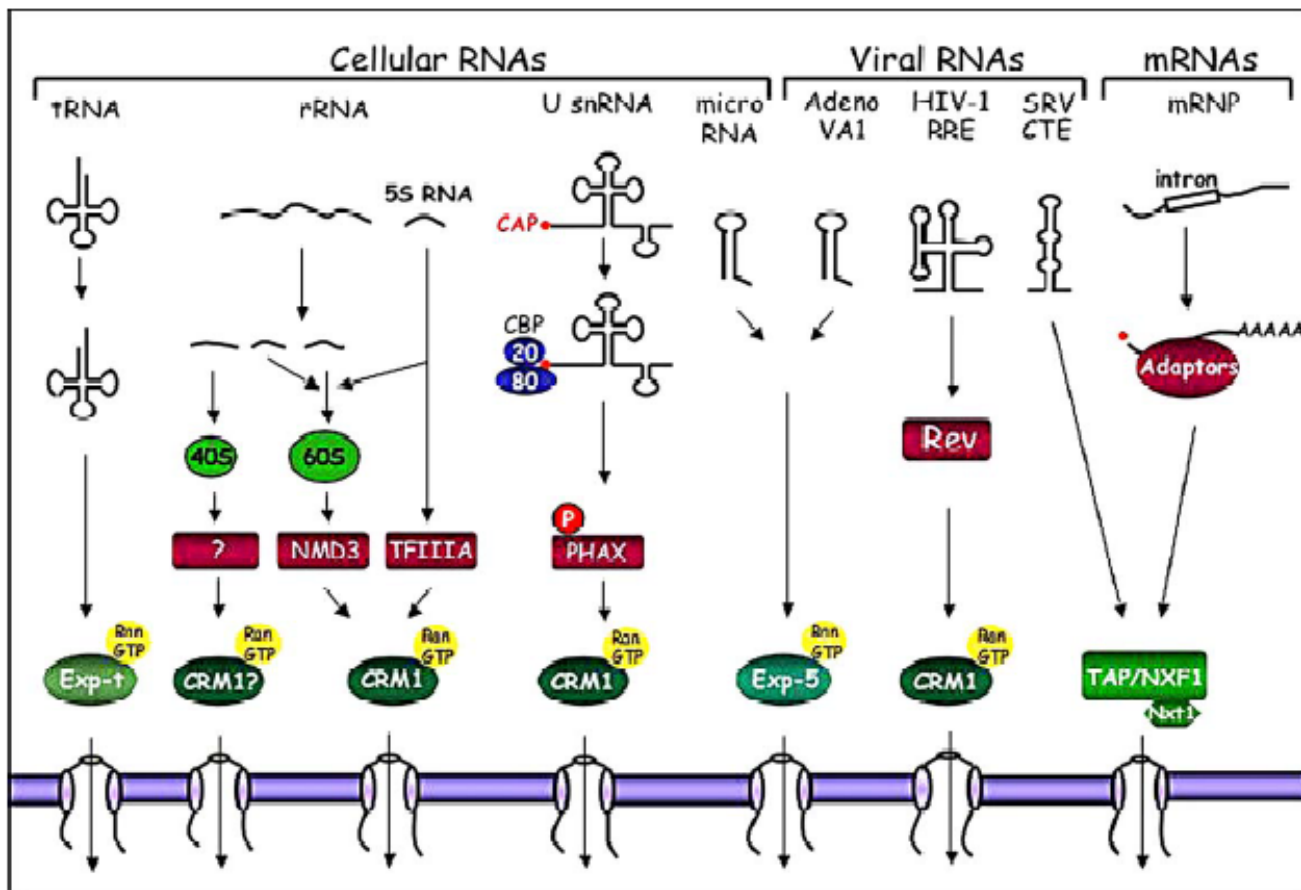
WPP doména

heterologní lokalizace, čili „prohození“ domén, nefunguje (At/HeLa – I. Meier)
= různé mechanismy interakce u rostlin a živočichů

Struktura a lokalizace Ran GAP

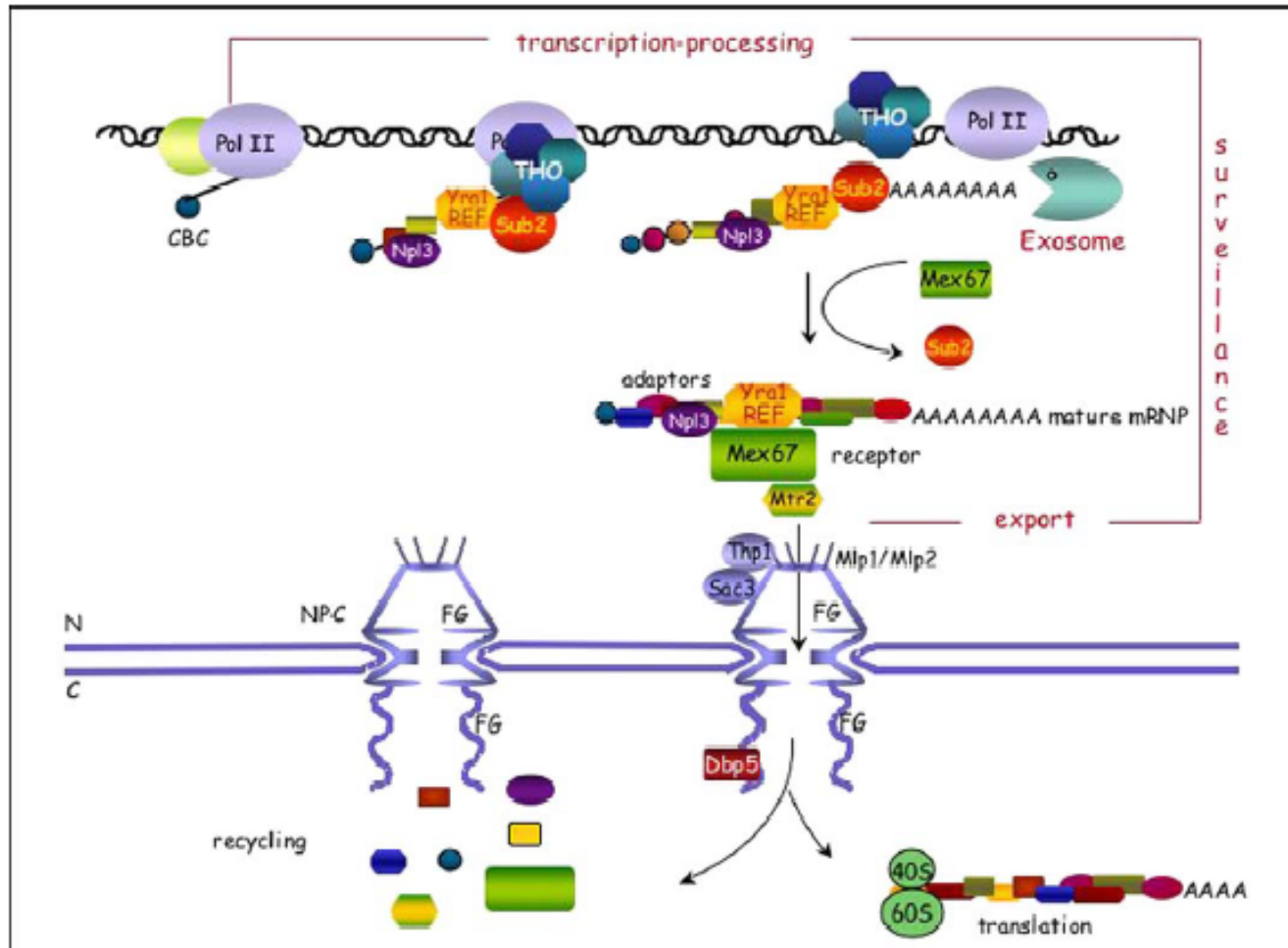


Export RNA z jádra



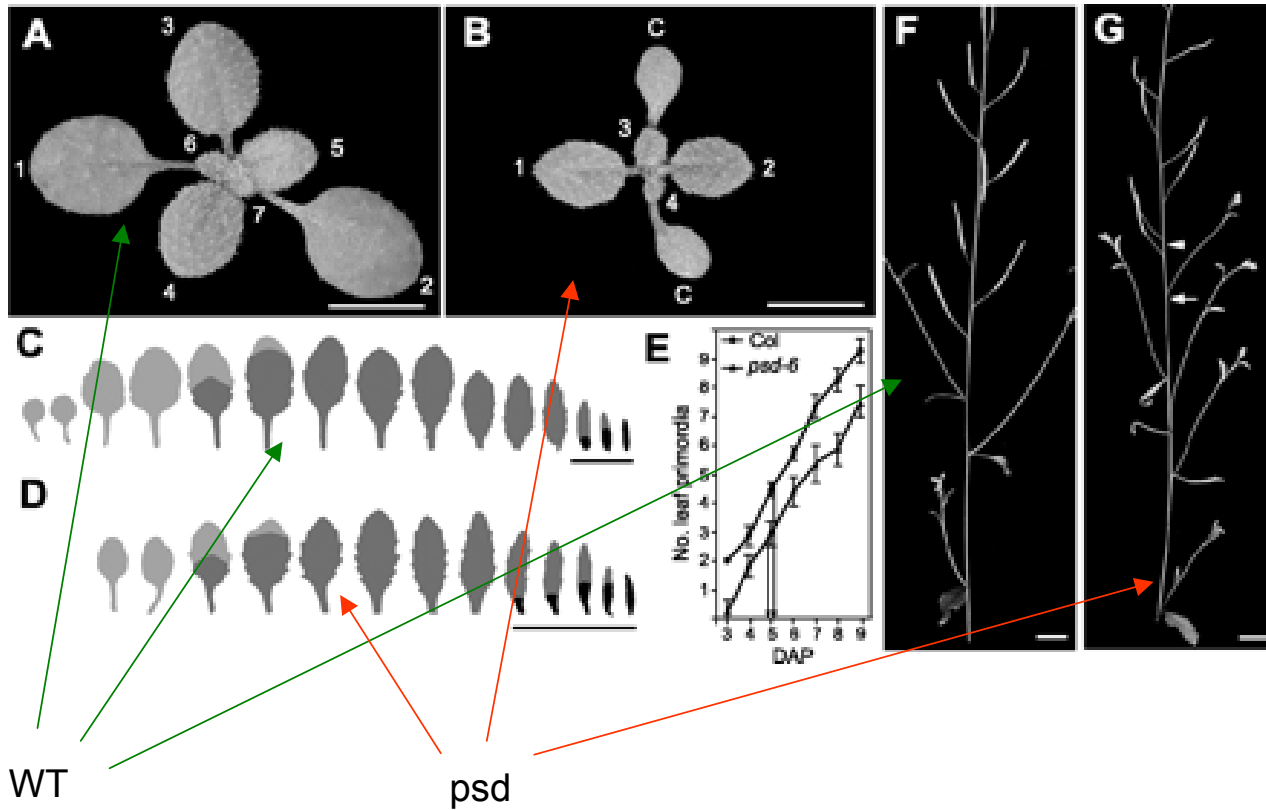
... také exportiny a RanGAP, ovšem v případě mRNA adaptory!

Export mRNA spřažený s její maturací



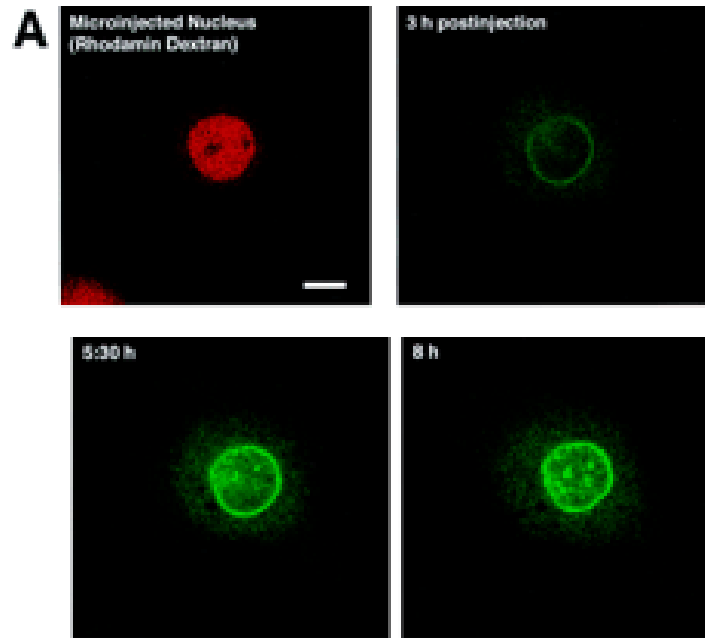
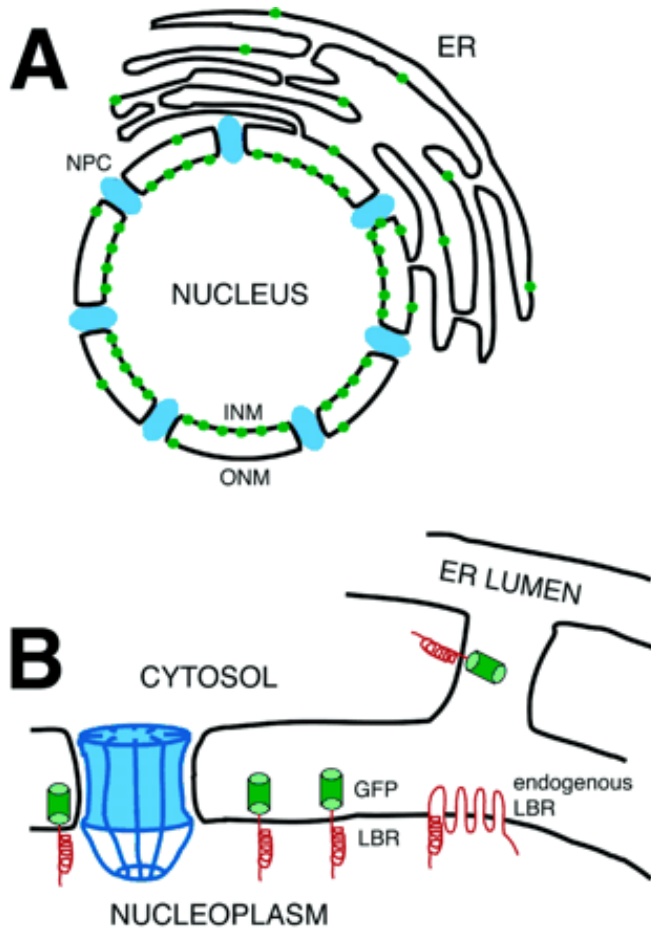
Exportiny pro tRNA a miRNA

- *HASTY* (HST)
- *PAUSED* (PSD)

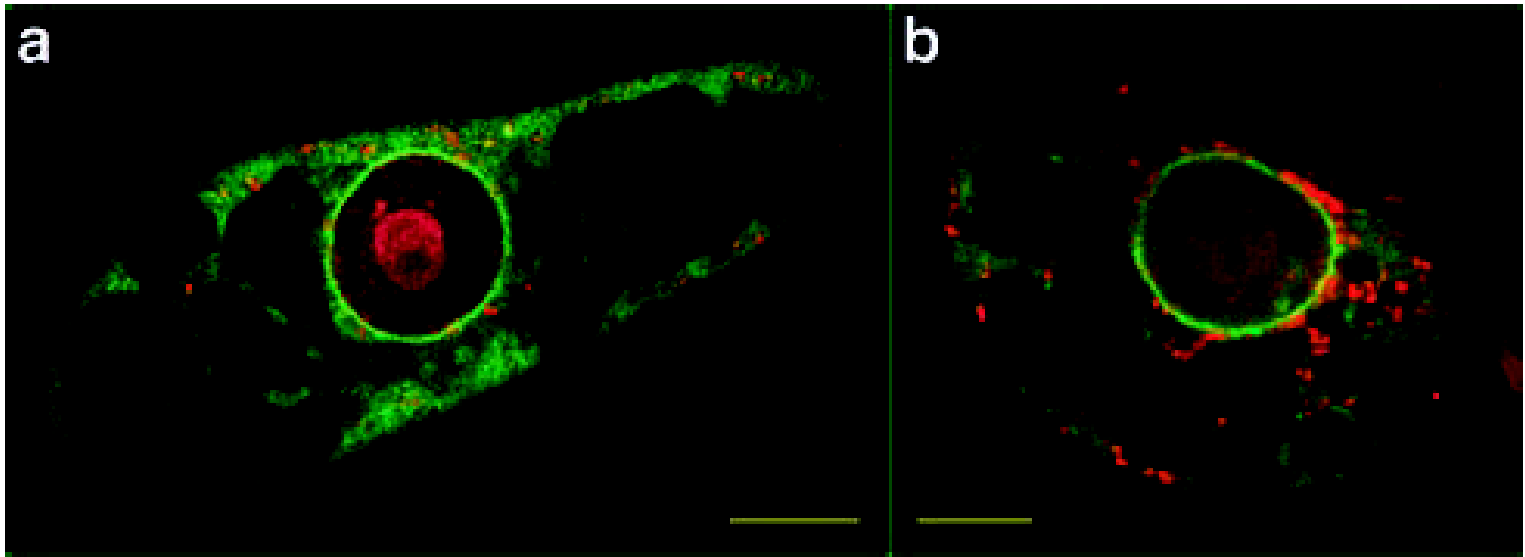


Jaderné póry

LBR (lamin B receptor) – GFP
v živ. buňkách jde do INE i bez
mitosy



(Ellenberg et al. 1997)



AtRanGAP1

LeMAF1

in BY2 (transient)

K čemu jsou tyto proteiny dobré – a co mají společného?

Experimentálně charakterizované proteiny rostlinné NE

- NMCP1 (IF- a myosin-like, kandidát na „lamin“)
- MFP1 (MAR binding filament–like protein 1)
- MAF1
- RanGAP

Jadérko

„kompartment“ bez membrány

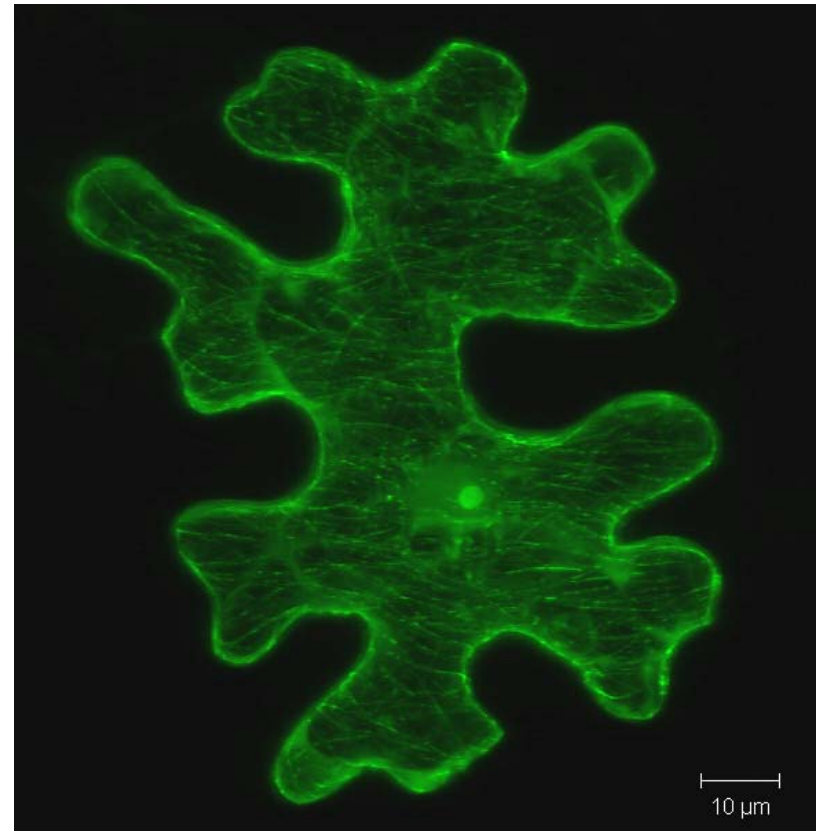
smyčky chromosomů s úseky rDNA
se sdružují do podoby jadérka

funkce:

transkripce rDNA

úprava rRNA

sestavování podjednotek ribosomů



Jadérko

„kompartment“ bez membrány

smyčky chromosomů s úseky rDNA
se sdružují do podoby jadérka

funkce:

transkripce rDNA

úprava rRNA

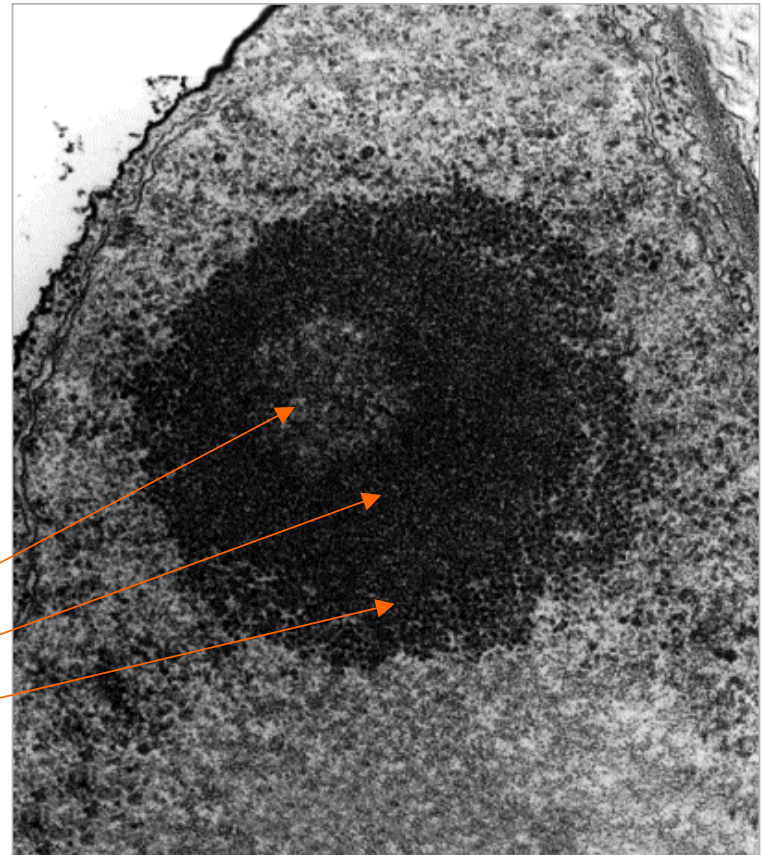
sestavování podjednotek ribosomů

morfologie:

fibrilární centrum (transkripce)

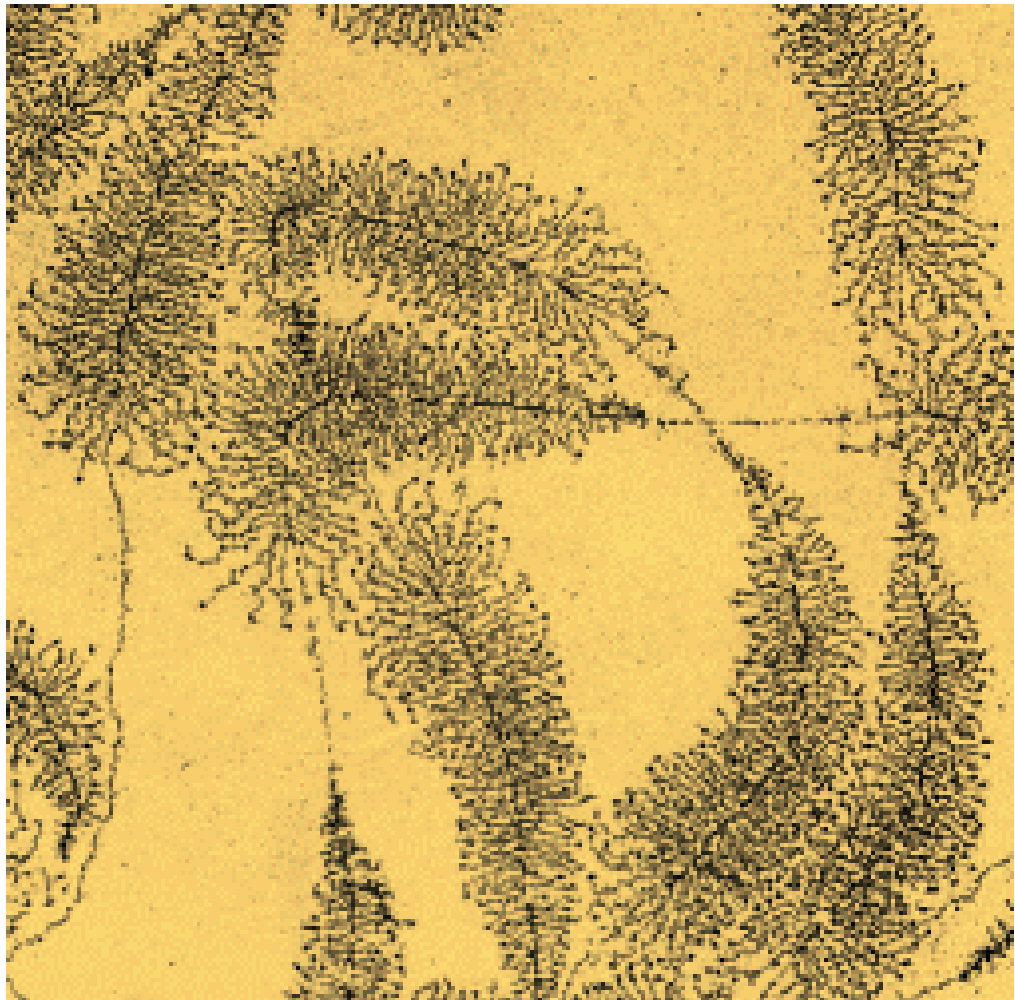
fibrilární denzní oblast okolo

granulární oblast na periferii



Jadérko

intenzivní transkripce rRNA
na úsecích rDNA
(elektronmiroskopický
snímek)



Existuje translace v jádře?

Jaderná translace možná funguje jako mechanismus, který testuje vzniklé mRNA, jestli neobsahují předčasné terminační kodóny nebo nesmyslné kodóny.

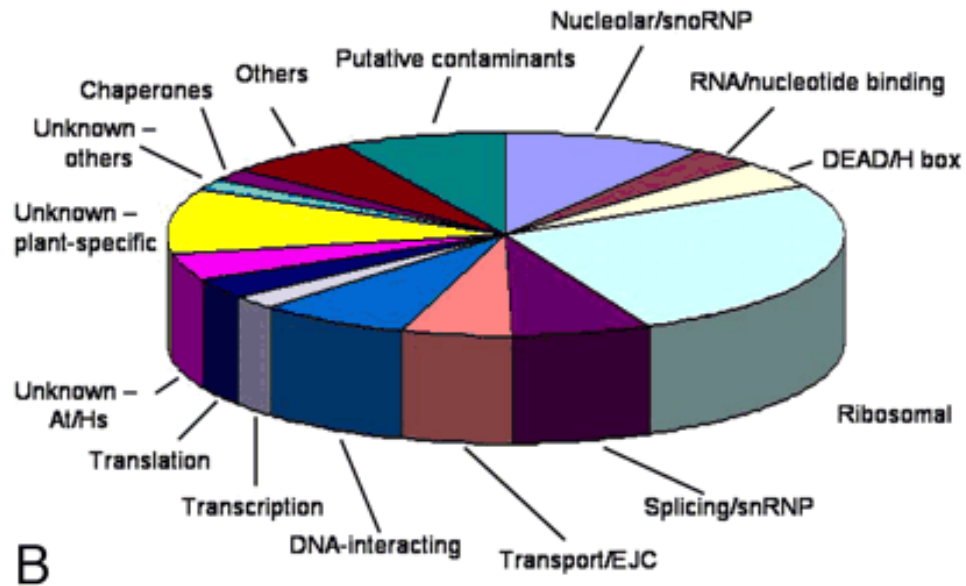
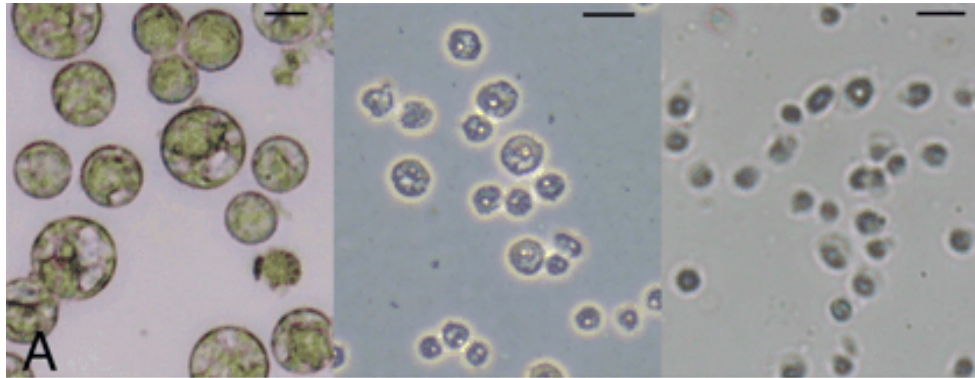
Defektní mRNA jsou pak odbourány mechanismem *nonsense-mediated mRNA decay*.

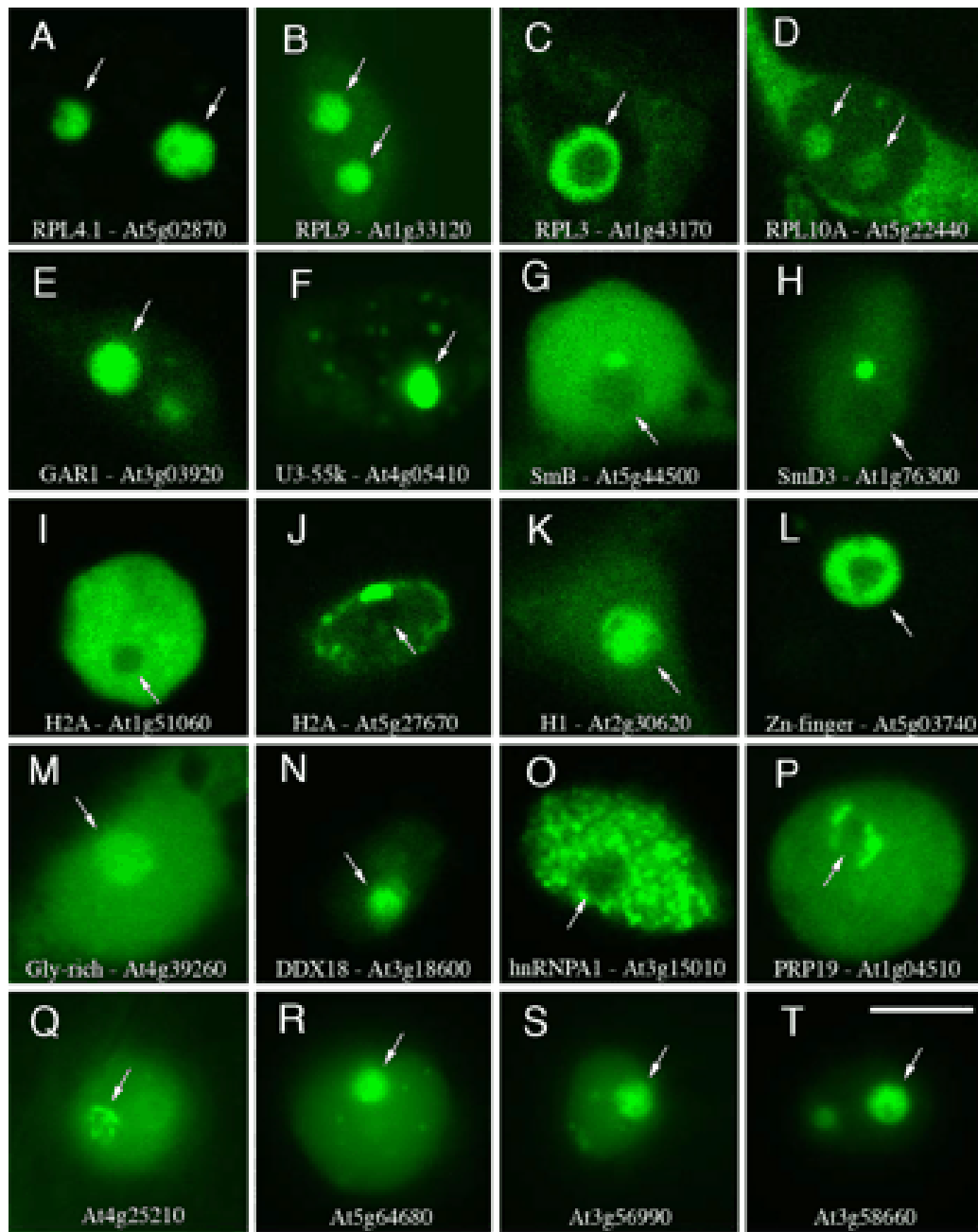
Nepotvrzeno. Stále existují alternativní teorie.

Using fluorescent lysine, Iborra et al. (2001):

- 1) They performed their experiments under conditions that allowed the incorporation of only a few amino acids into the proteins being synthesized. This minimized the number of completed proteins available for transport into the nucleus.
- 2) They were not able to detect any extranuclear or perinuclear fluorescence in purified nuclei.
- 3) Purified nuclei were just as efficient at making new proteins as the nuclei of permeabilized cells, suggesting that proteins were not being imported from the cytoplasm.
- 4) Electron microscopy revealed that nuclear translation sites were not randomly distributed but rather overlapped with transcription sites. Fluorescence in the nucleus increased when the proteasome was inhibited, suggesting that most newly made nuclear proteins are normally degraded.
- 5) Stimulating transcription by increasing nucleotide concentrations doubled the amount of nuclear fluorescence without affecting cytoplasmic fluorescence.
- 6) Stimulation of transcription by increasing the concentration of nucleotides enhances nuclear but not cytoplasmic fluorescence.
- 7) Nuclear fluorescence is not affected by blocking the import of proteins into the nucleus by thapsigargin.

Proteomika jadérka Arabidopsis





Lokalizace vybraných proteinů z jadérka

ribosomální

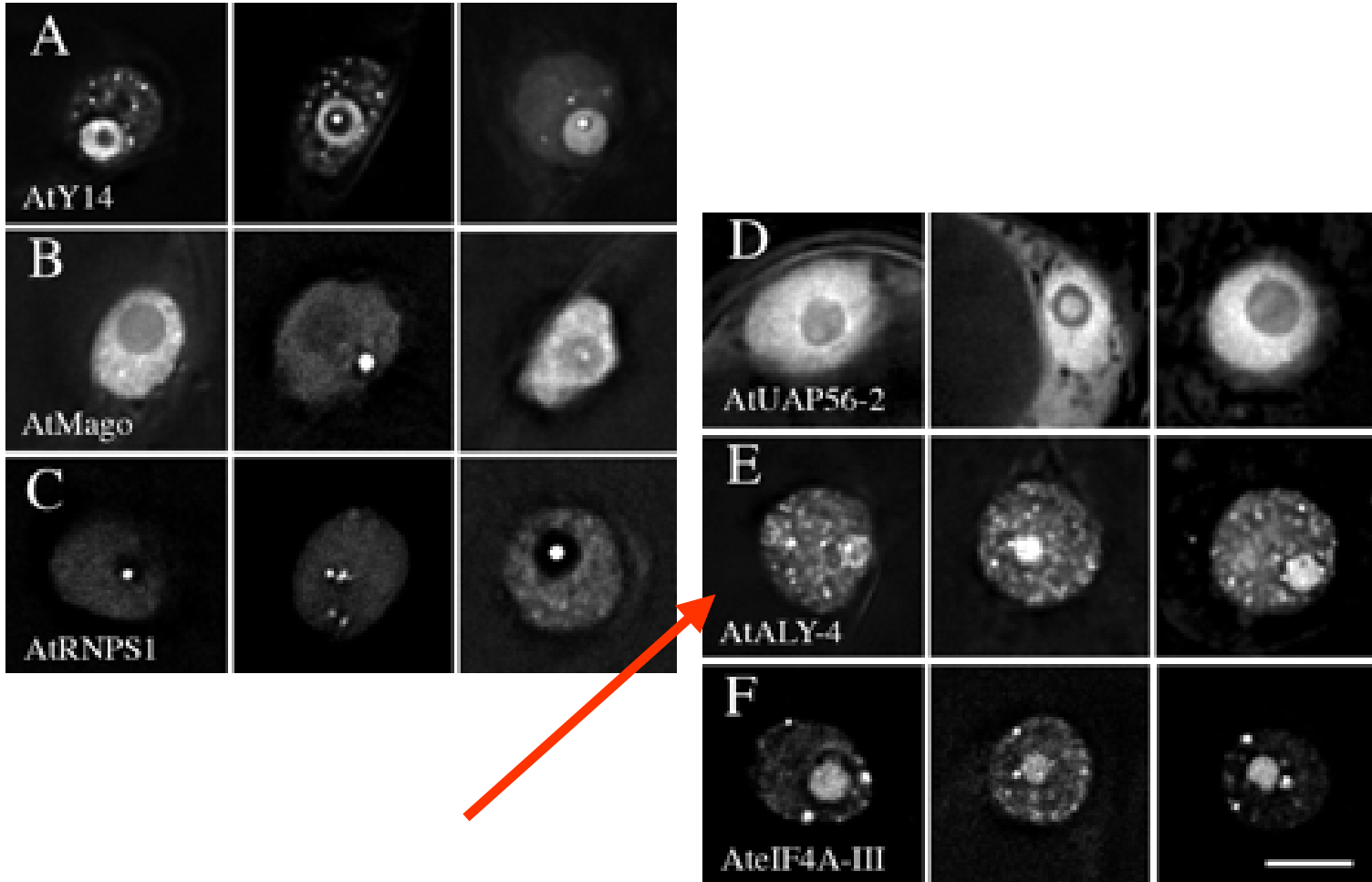
snoRNP, snRNP

DNA interacting

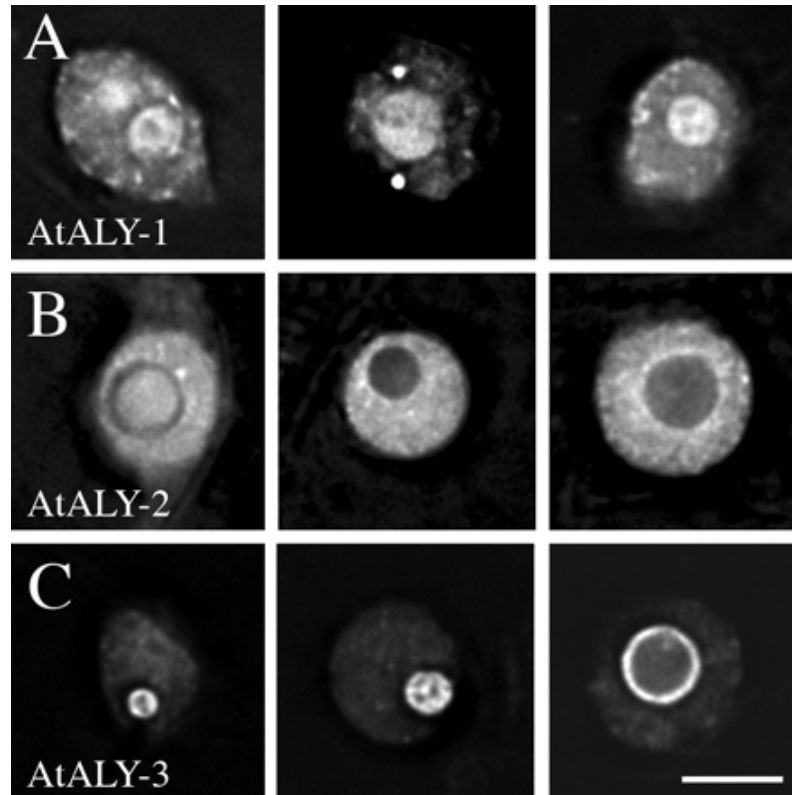
RNA interacting

unknown

EJC (*Exon Junction Complex*) proteiny i v jadérku!



... ale nejsou výhradně jadéřkové.



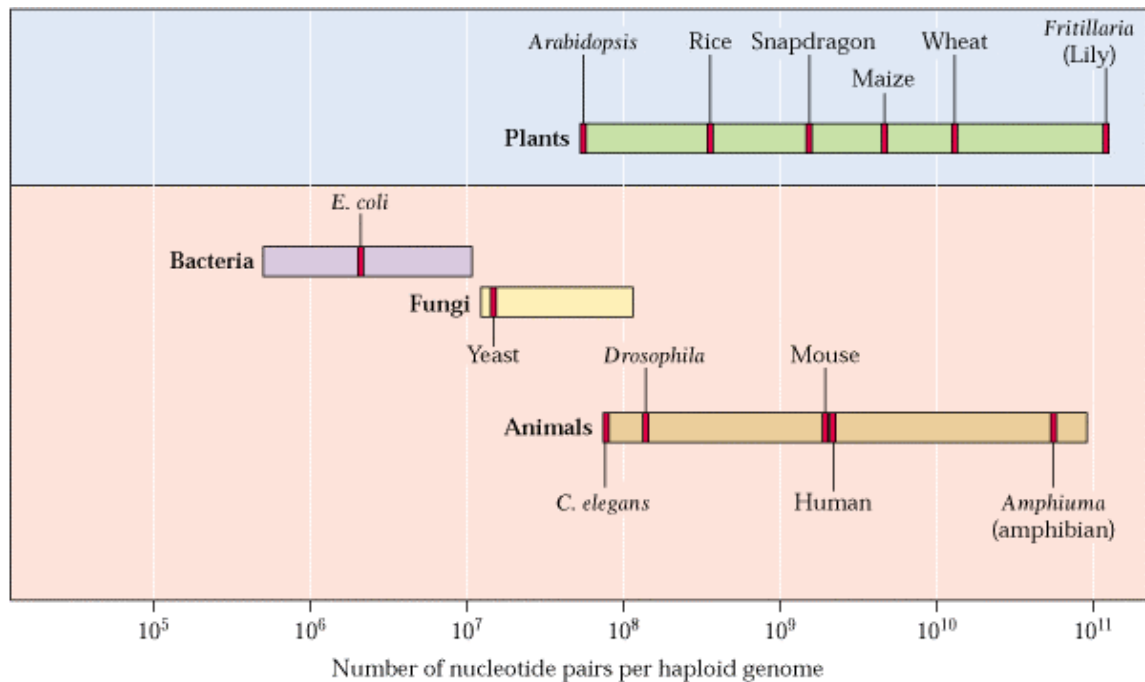
(spliceosome-associated proteins – ALY family)

Organizace genomu

Organizace genomu

obsah DNA velmi zhruba odpovídá komplexitě organismu (C-paradox)
rostliny patří mezi rekordmany v obsahu DNA (*Liliaceae* – 100 000 000 000 bp)
(plastidovou a mitochondriální DNA pomíjíme)

genom *Arabidopsis* má „pouze“ 70 000 000 bp (přes 25 000 genů)
typický gen zaujímá asi 4000 bp



Organizace genomu

úseky kódující geny (transkripce) zaujímají řádově jednotky procent eukaryotických genomů

zbytek připadá na nekódující oblasti (tandemové repetice, transpozony, atd.)

satelitní DNA (tandemové repetice) – u rostlin bohaté na GC, tvoří zejména centromery a telomery, zůstává kondenzovaná do podoby heterochromatinu

např. telomerová repetice Arabidopsis TTTAGGG

single-copy genes x **multi-copy genes** (gene families)

ribosomální geny

geny kódující proteiny potřebné ve velkém množství (např. Rubisco)

geny kódující zásobní proteiny (např. zein)

pořadí genů bývá podobné u příbuzných druhů

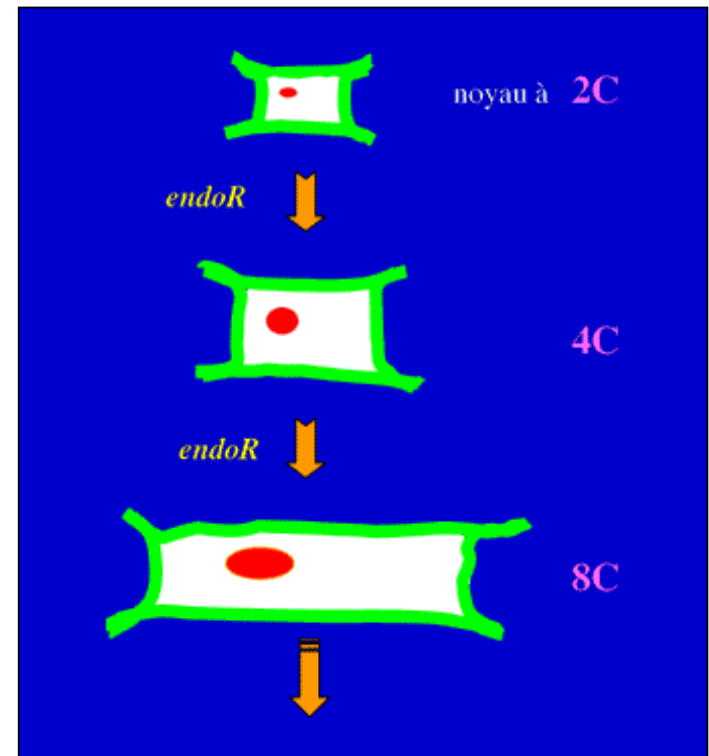
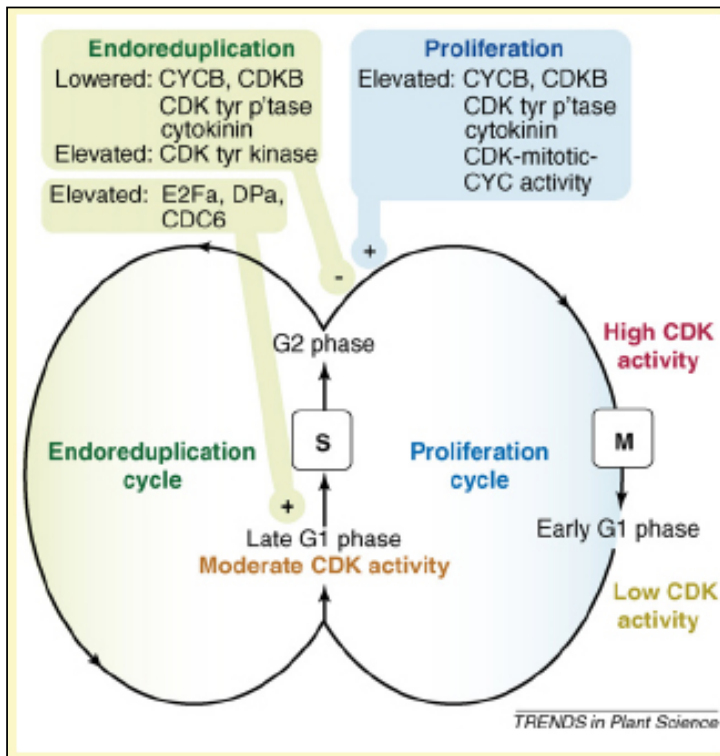
duplikace genomů – v evoluci rostlin časté

endoreduplikace somatických buněk během ontogeneze

Endoreduplikace

= duplikace genomu bez mitózy

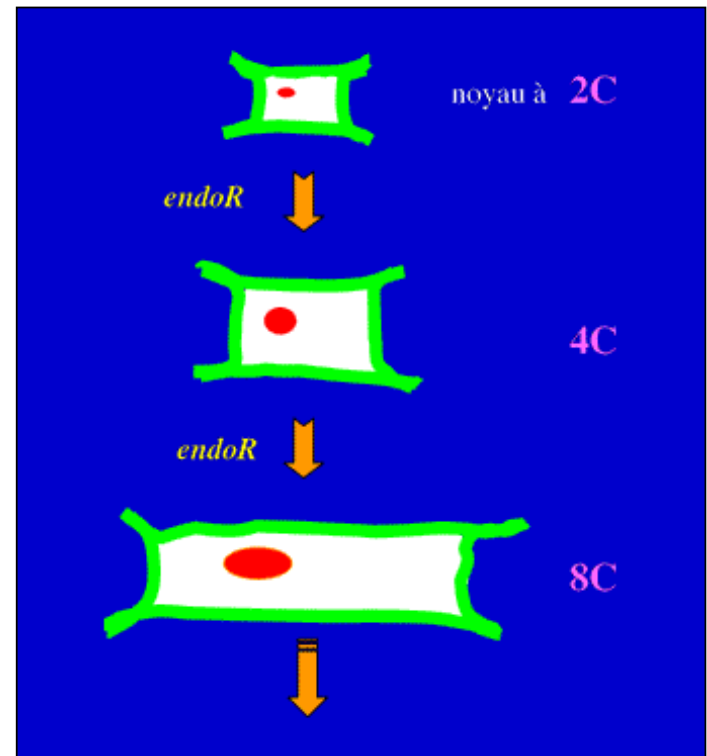
běžná u specializovaných buněk; zvětšení jádra i objemu buňky; neprobíhá separace chromatid (x endomitóza)



Endoreduplikace

u rostlin s malým genomem **většina buněk znásobí obsah DNA během vývoje:**

- listy Arabidopsis mívají obvykle 4C, 8C (16C)
- u obilnin typické pro endosperm (velké zásobní buňky v semenech) – význam pro zemědělství
- dělohy podzemnice olejně
- plody rajčete

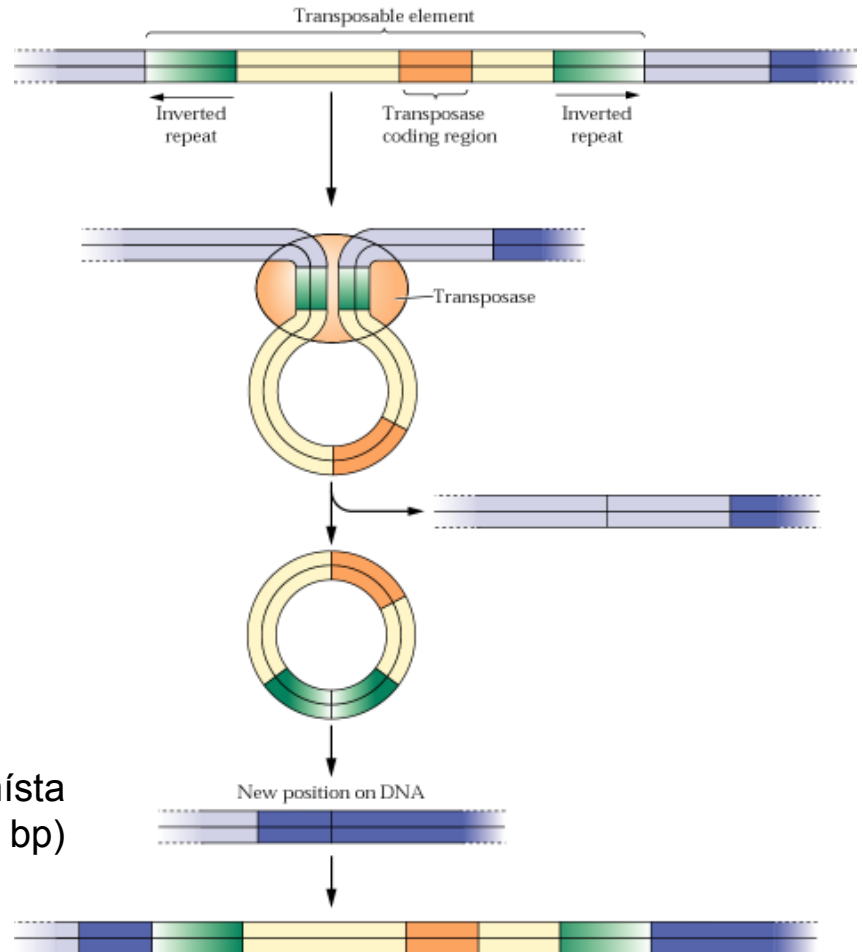


Mobilní elementy

transpozony: kódují transpozázu,
ohraňené invertovanými repetícemi
(asi 10 bp)

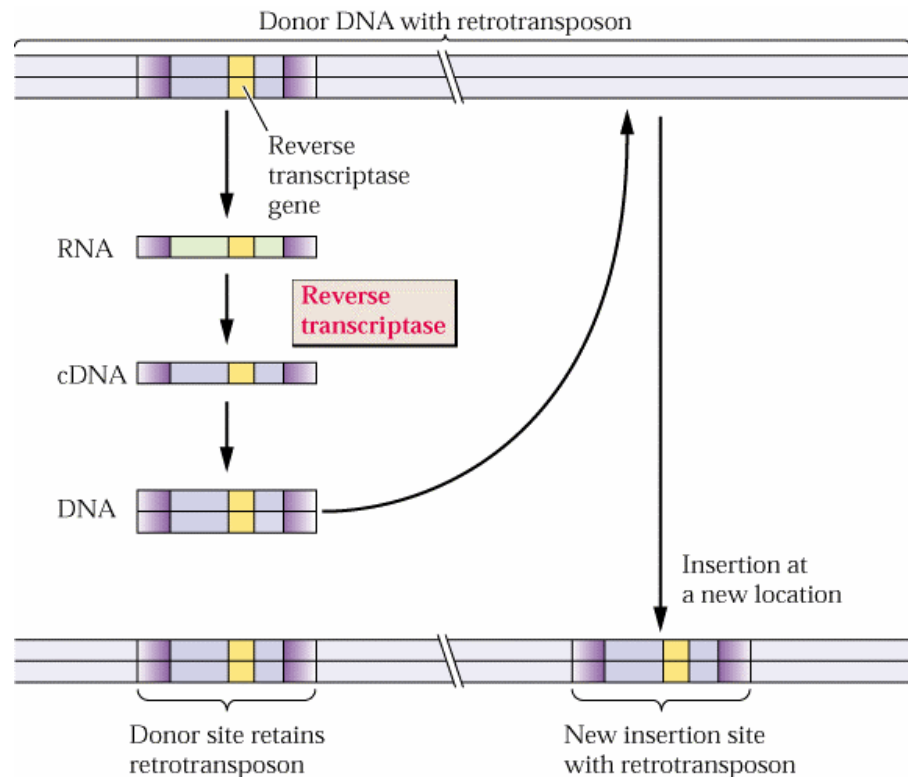
- transpozony fungují nezávisle na genetickém pozadí (horiz. přenos)
- ovlivňují genovou expresi, mohou poskytovat adaptační výhodu
- např. Ac/Ds systém transpozibilních elementů (Ac – autonomní transpozon; Dc – neautonomní transpozon, vyžaduje transpozázu Ac)

duplikace inzerčního místa
(asi 8 bp)

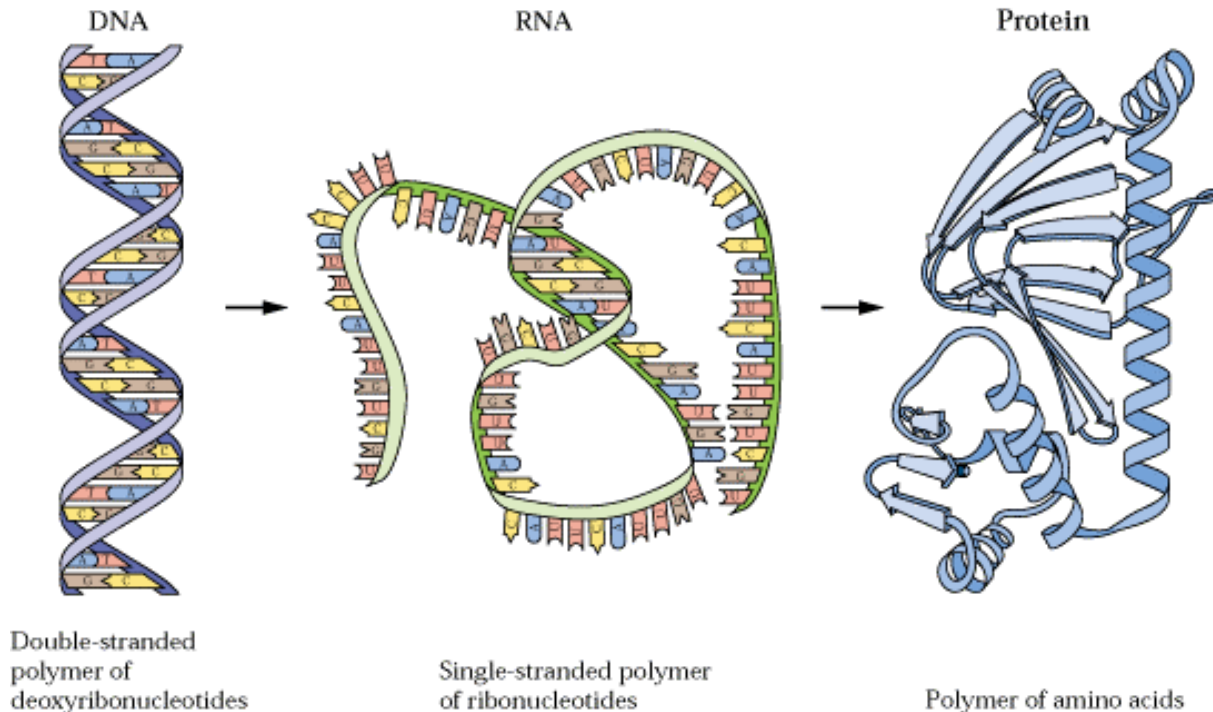


Mobilní elementy

retrotranspozony: kódují reverzní transkriptázu a integrázu (případně další proteiny), virový původ



DNA jako nosič genetické informace



typické znaky nosiče genetické informace:

- kóduje veškerou informaci nutnou pro strukturu, růst, vývoj a množení buňky
- je schopen vlastní dostatečně přesné replikace
- zároveň musí být schopen drobných změn (evoluce)

Struktura chromatinu

např. diploidní
genom kukuřice
($2 \times 10\,000\,000\,000$ bp)
má délku asi 7 m

jádro má průměr
asi $10\ \mu\text{m}$

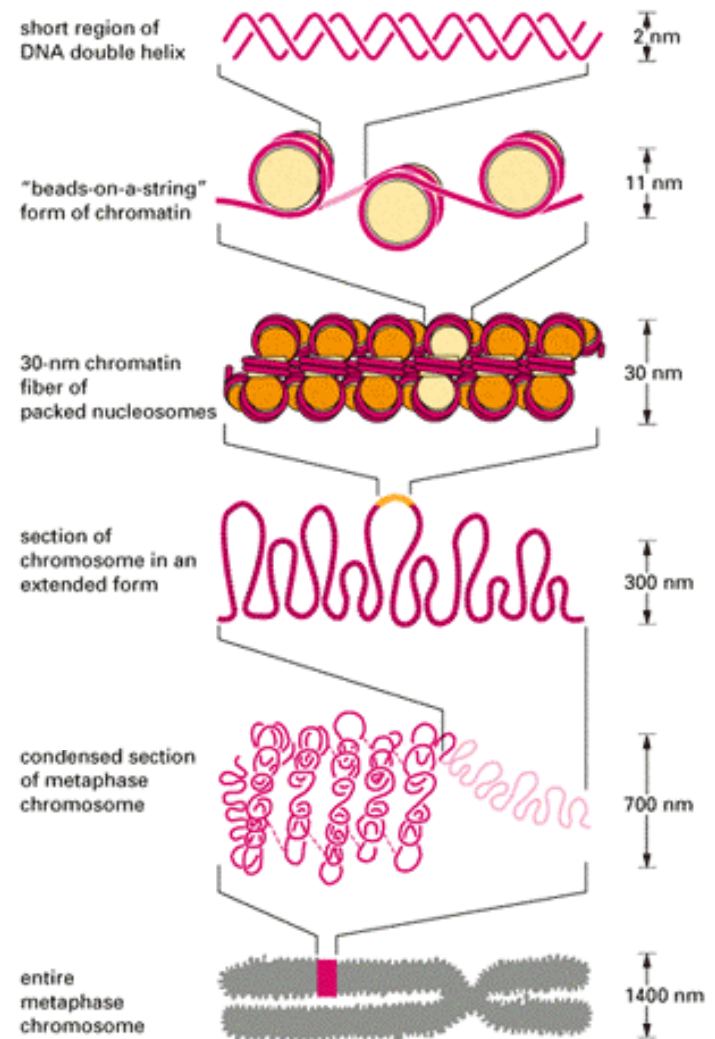
nutná kondenzace

stupeň kondenzace
závisí na transkripční
aktivitě a fázi
buněčného cyklu

chromatin = komplex
DNA a proteinů

nukleosomy

solenoid



Struktura chromatinu

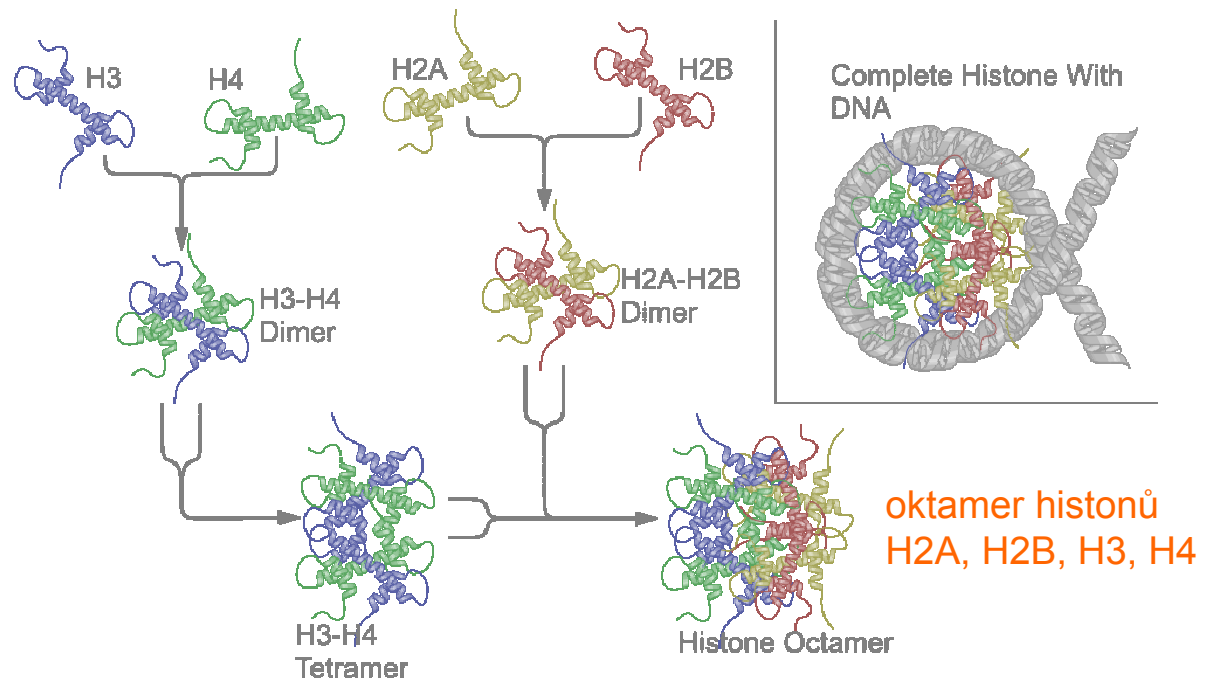
např. diploidní
genom kukuřice
(2×10^8 bp)
má délku asi 7 m

jádro má průměr
asi $10 \mu\text{m}$

nutná kondenzace

stupeň kondenzace
závisí na transkripční
aktivitě a fázi
buněčného cyklu

chromatin = komplex
DNA a proteinů

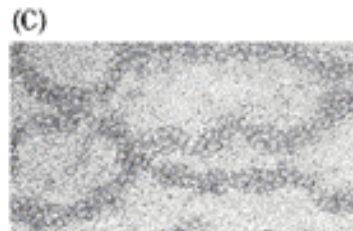
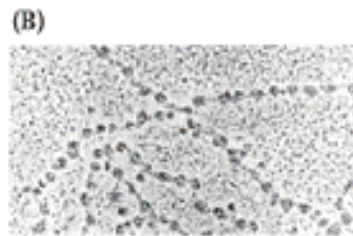
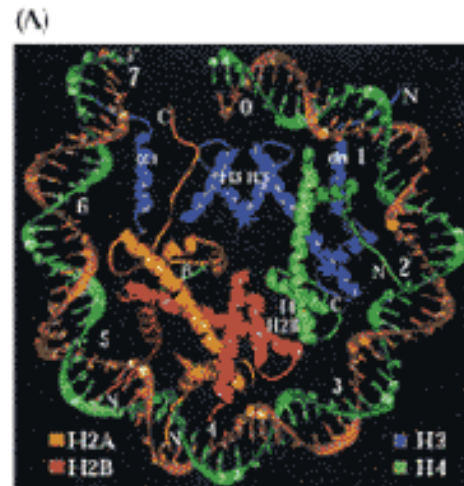


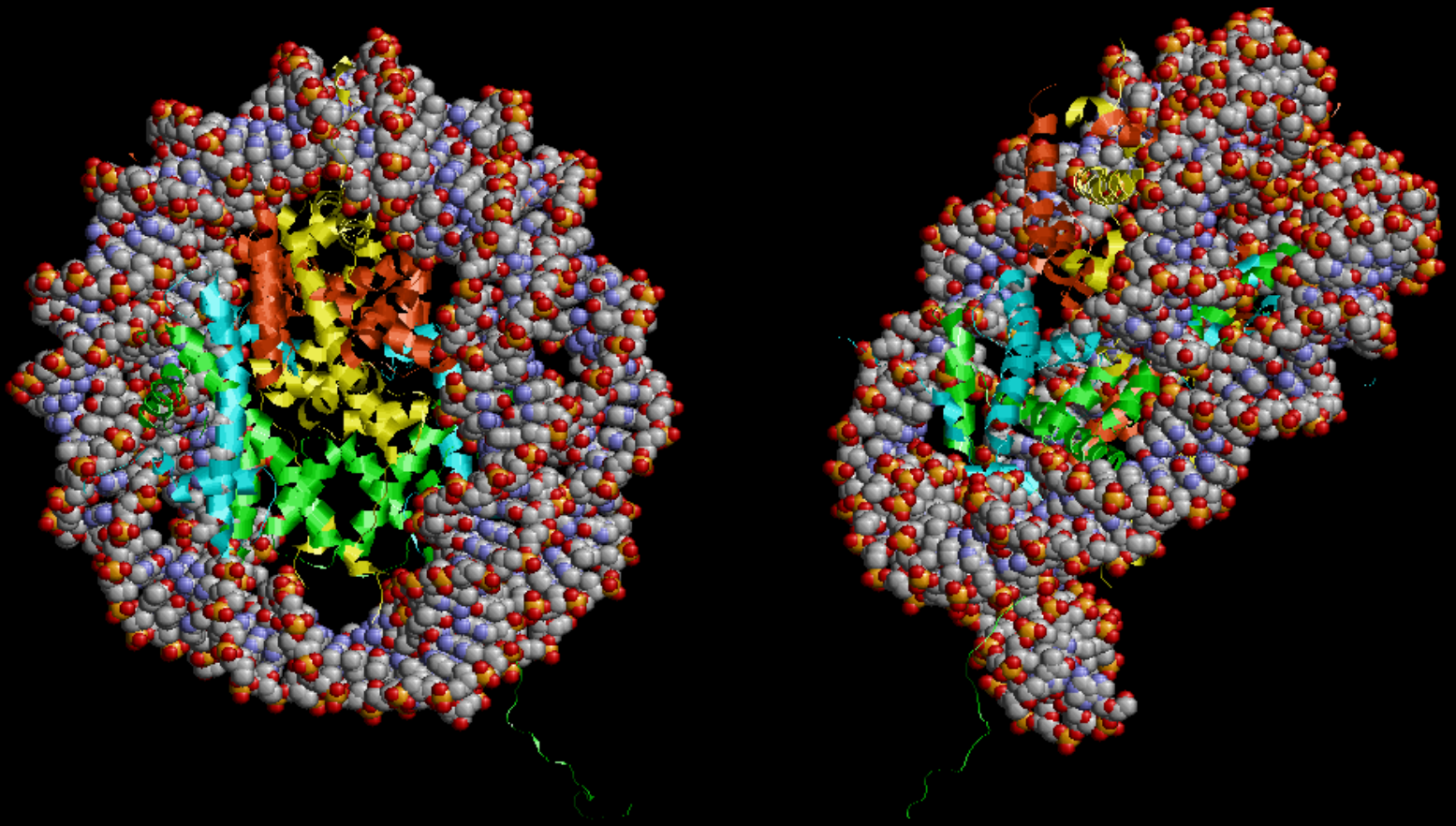
Struktura chromatinu

interakci histonového core a DNA stabilizuje ještě **histon H1**, je také zodpovědný za udržení struktury solenoidu

histony jsou bohaté na Lys a Arg – pozitivní náboj, interakce s negativně nabitými fosfáty DNA

nukleosomy
nepředstavují překážku
pro RNA polymerázu
(dokonce ani pro bakteriální, která je „nezná“)





nucleosome core particle: 146 bp of DNA wrapped almost twice around a core of histone octamer (2 molecules each of histones H2A, H2B, H3 and H4)

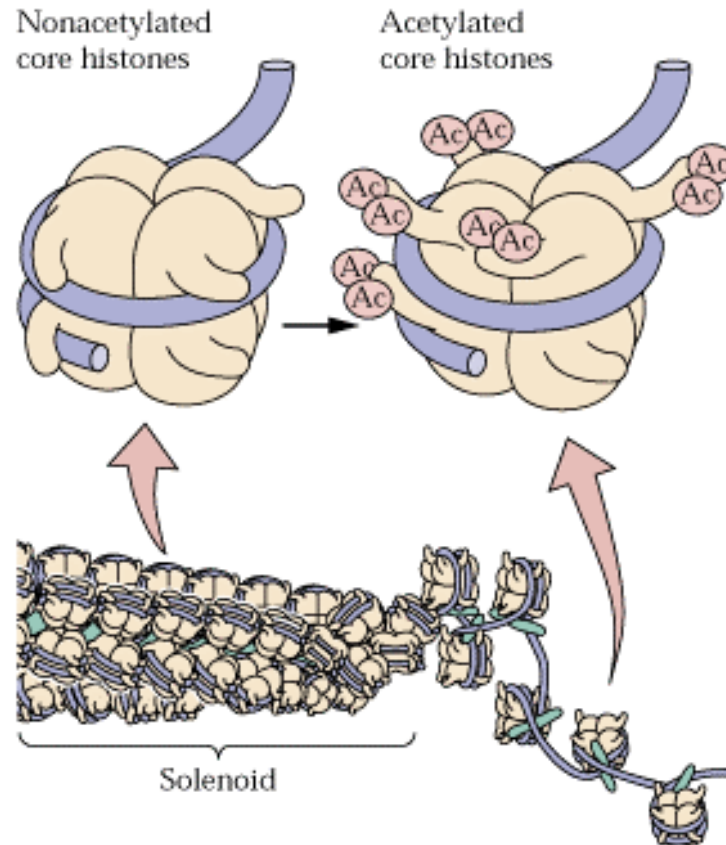
Acetylace histonů určuje stupeň kondenzace chromatinu

acetyltransferázy
x
deacetylázy

acetylace histonů probíhá na jejich N-koncích (na Lys)

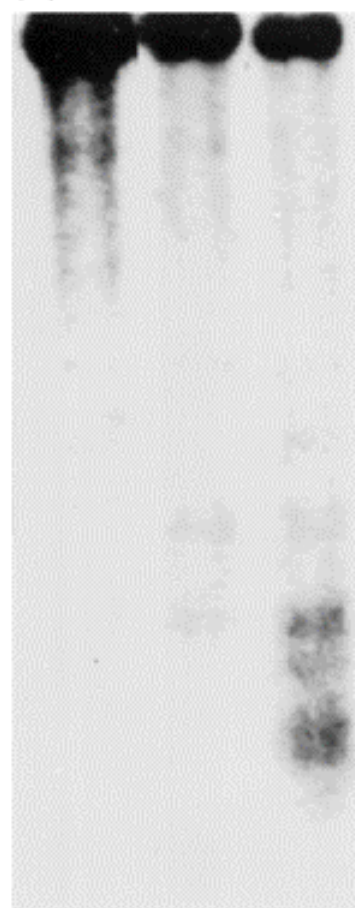
acetylace chromatinu rozvolňuje – role v regulaci genové exprese (geny jsou pak snáze přístupné transkripčním faktorům a RNA polymeráze)

chromatin remodeling



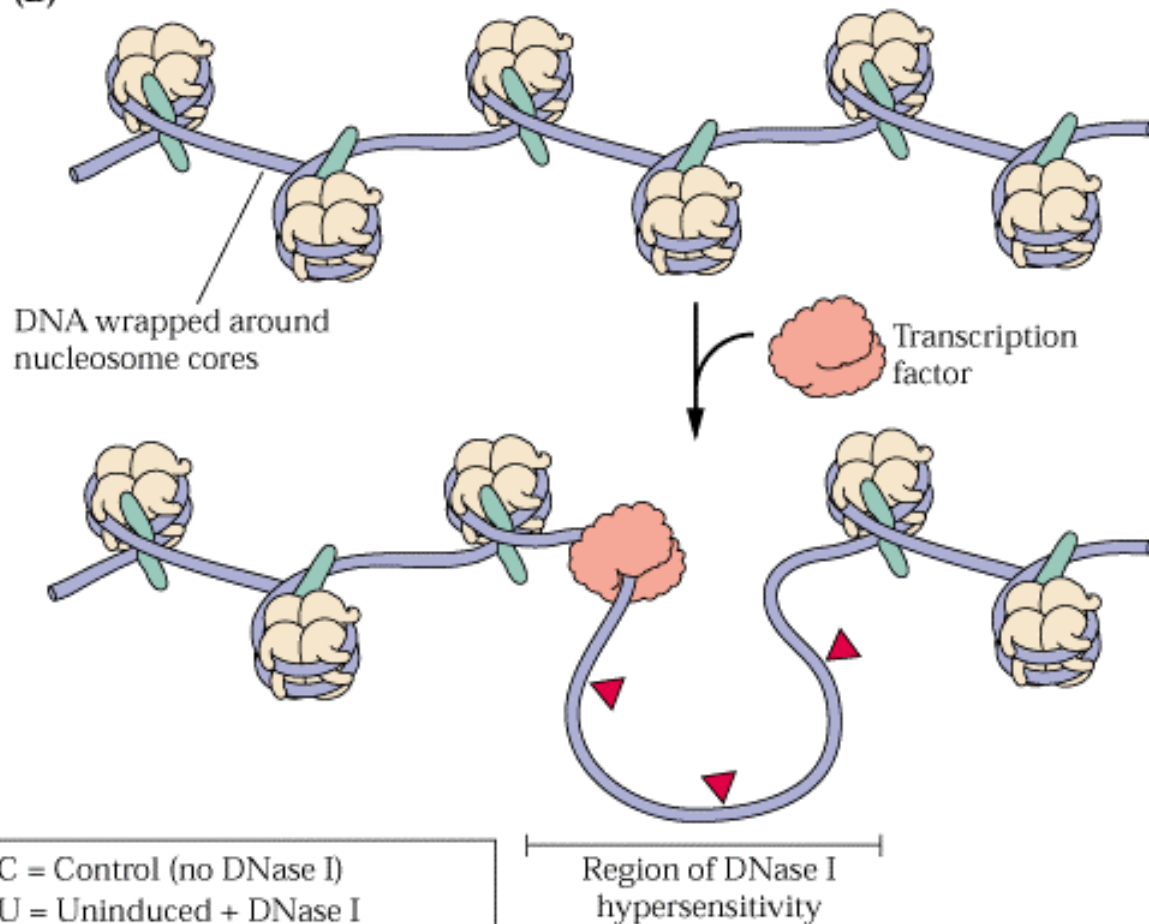
acetylace: HAT (Histone Acetyl Transferase); deacetylace - HDAC (Histone Deacetylase)

(A)



C U I

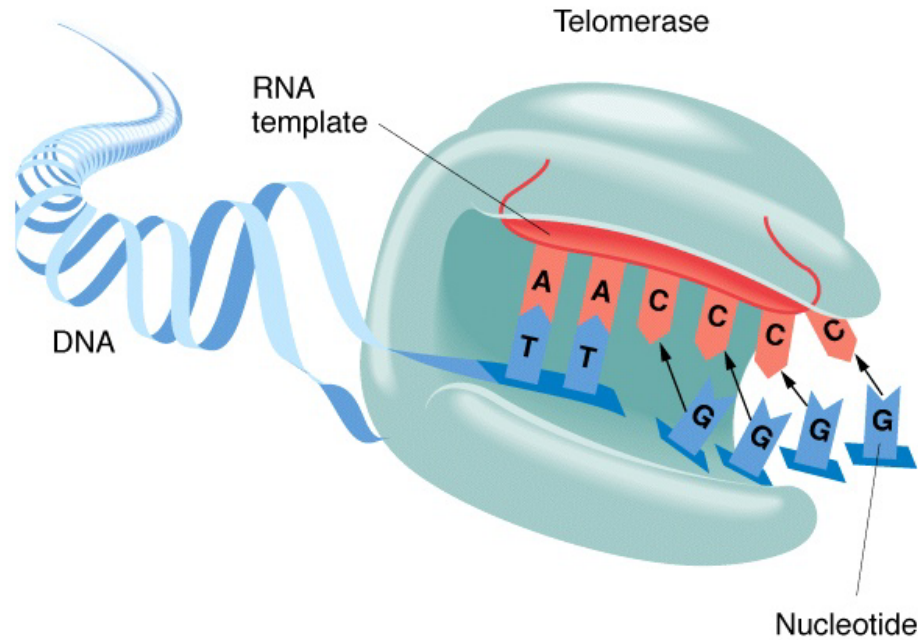
(B)



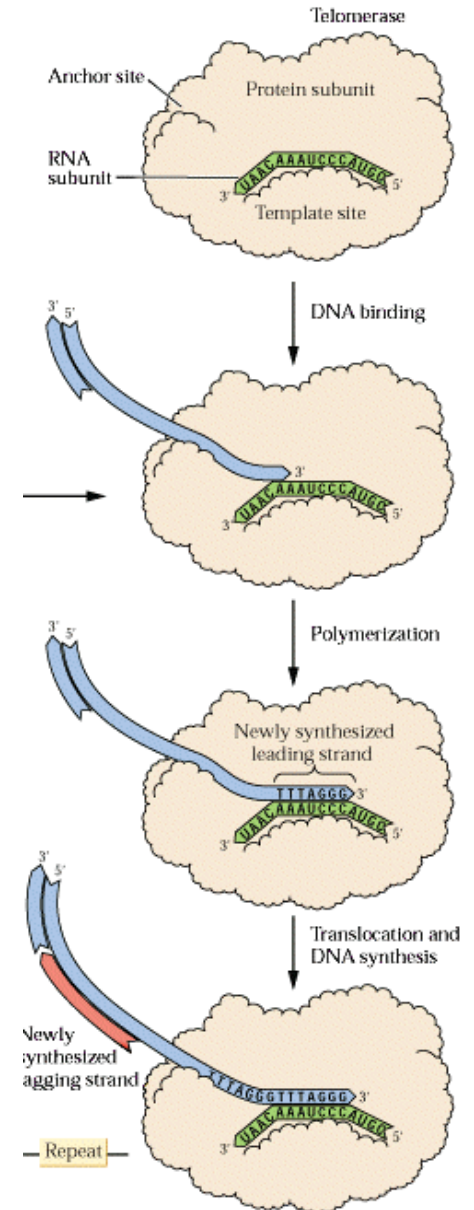
C = Control (no DNase I)
U = Uninduced + DNase I
I = Induced (*Adh* transcriptionally active) + DNase I

Region of DNase I hypersensitivity

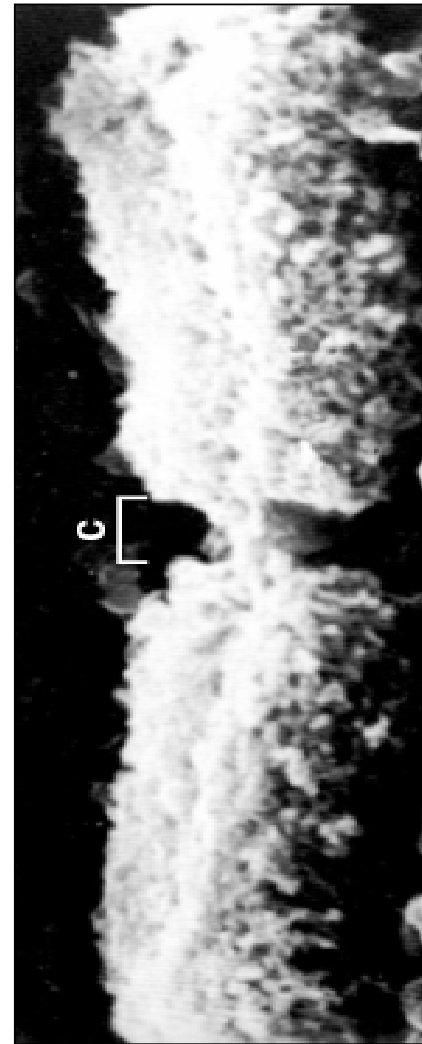
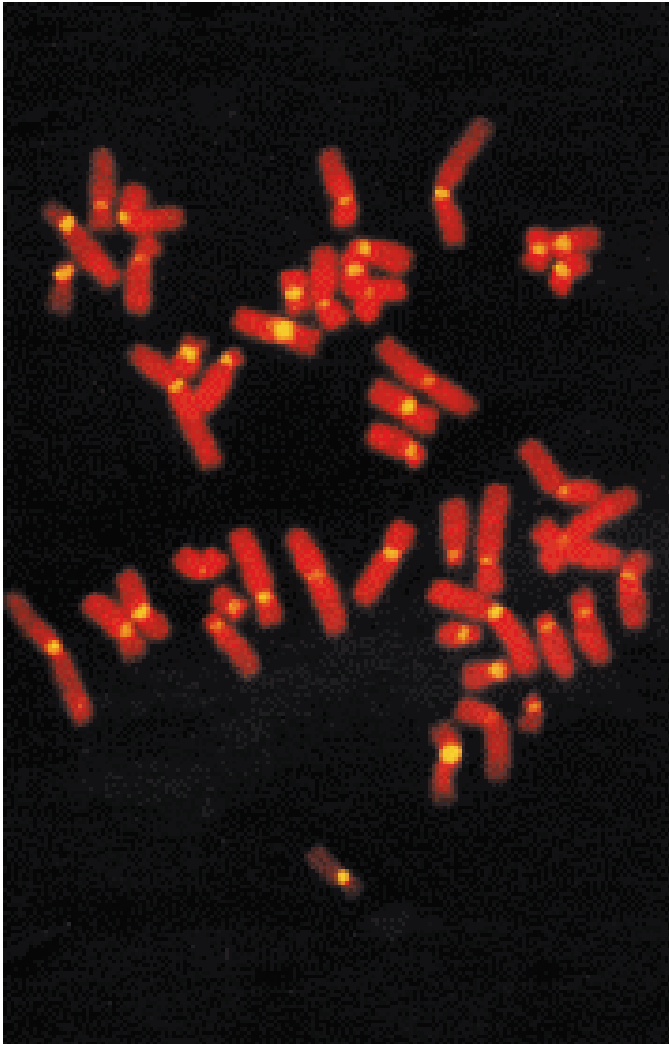
Telomery



$(TTTAGGG)_n$ 2.7 - 3.5 kb



Chromozómy



Lokalizace chromozómů v jádře není náhodná

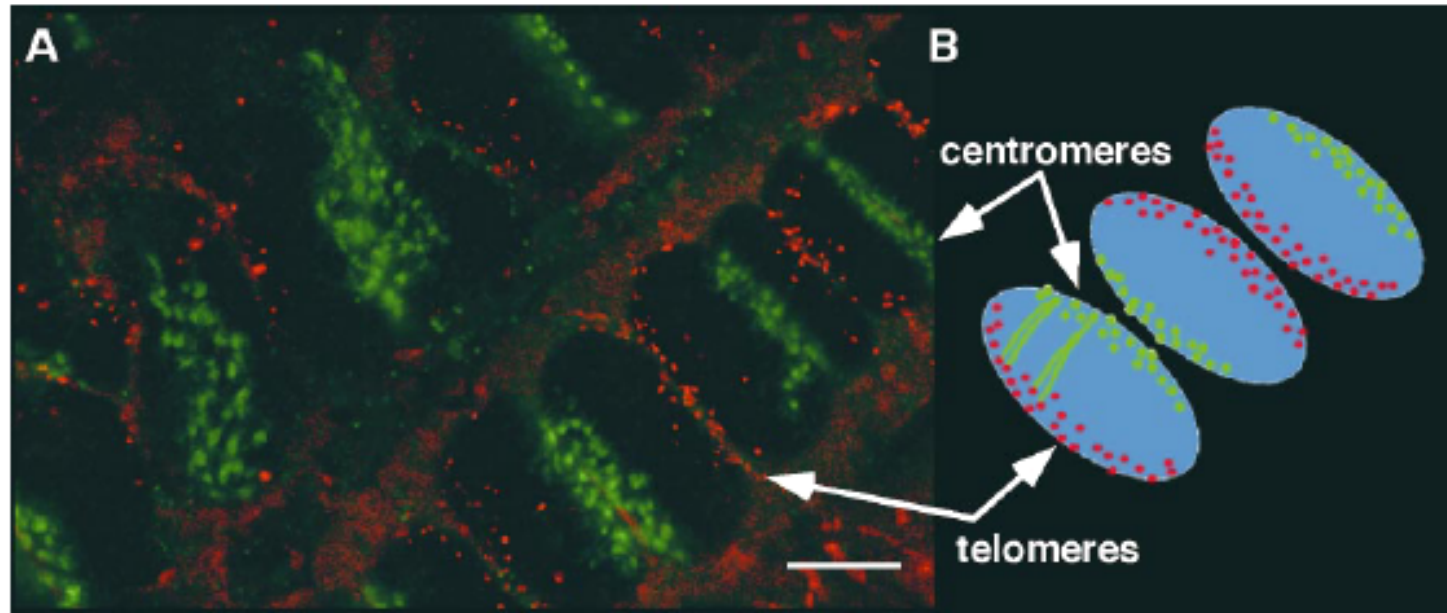


Figure 4. The Rabl Configuration in Somatic Nuclei.

(A) Projections of wheat root tissue double labeled by FISH with probes to centromeres (green) and telomeres (red).

(B) Interpretation of the labeling presented in (A). The Rabl configuration is suggested by chromosomes lying parallel to each other, with centromeres clustered on one side of the nucleus and telomeres on the other side.

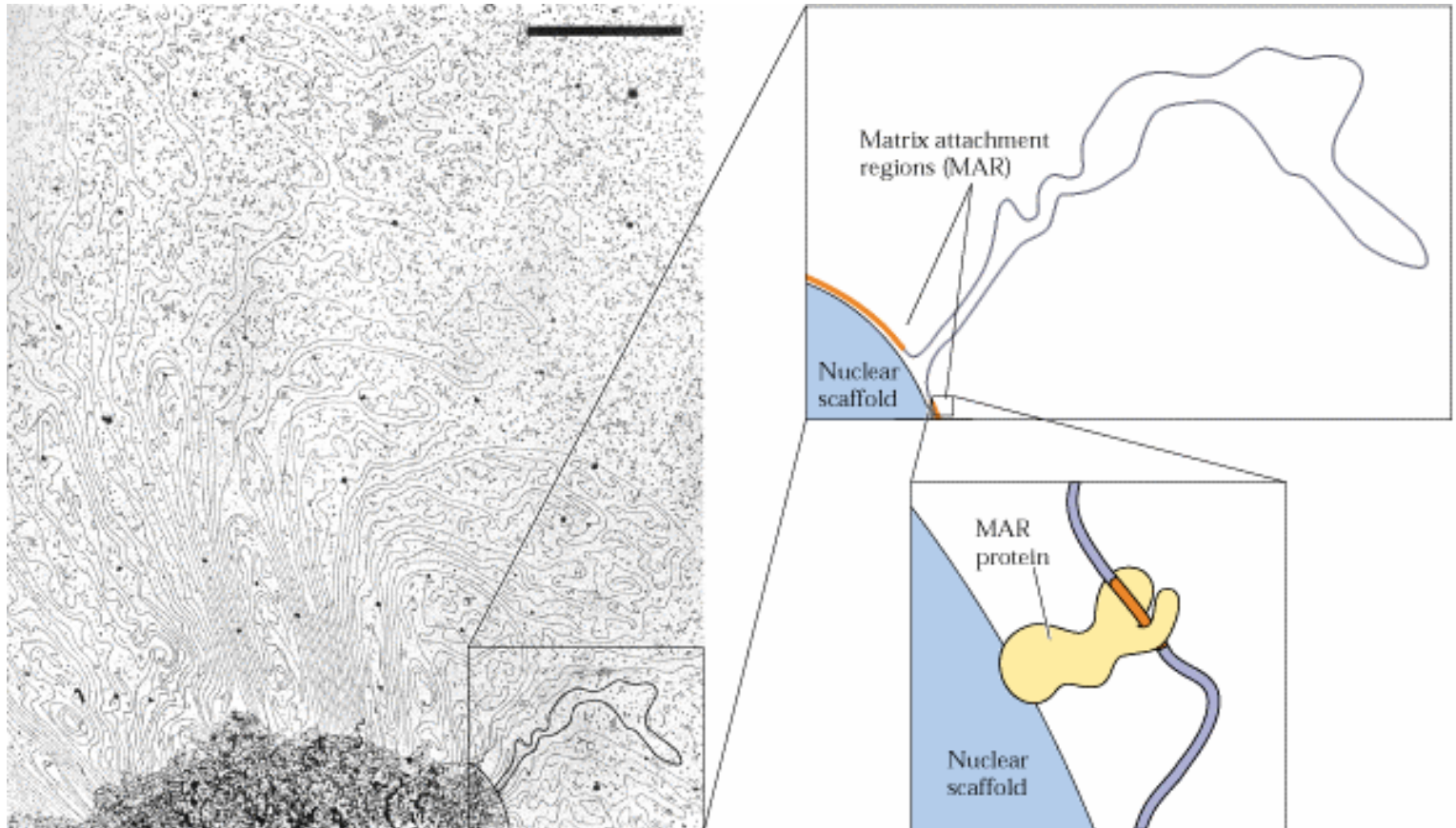
Bar in (A) – 10 μ m for both panels. Figure courtesy of Peter Shaw (John Innes Institute, Norwich, UK); adapted from Abranches et al. (1998).

Rabl, C. (1885). Über Zelltheilung. Morphol. Jahrb. 10, 214–330.

Matrix attachment regions (MARs)

MARs 5000 – 200 000 bp dlouhé, AT bohaté, interagují přes MAR proteiny s jadernou matrix

vyznačují se nižší kondenzací chromatinu, přispívají k regulaci genové exprese



Matrix attachment regions (MARs)

mezi dvěma MAR vznikají nezávislé domény chromatinu

využití při konstrukci transgenních organismů (klonování MAR)

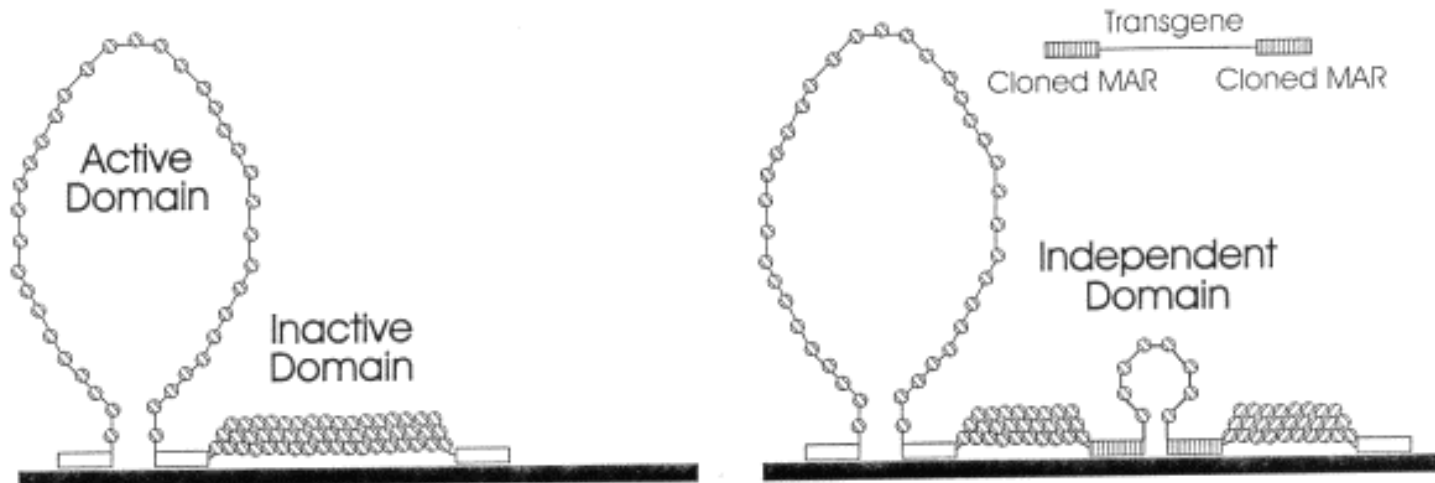
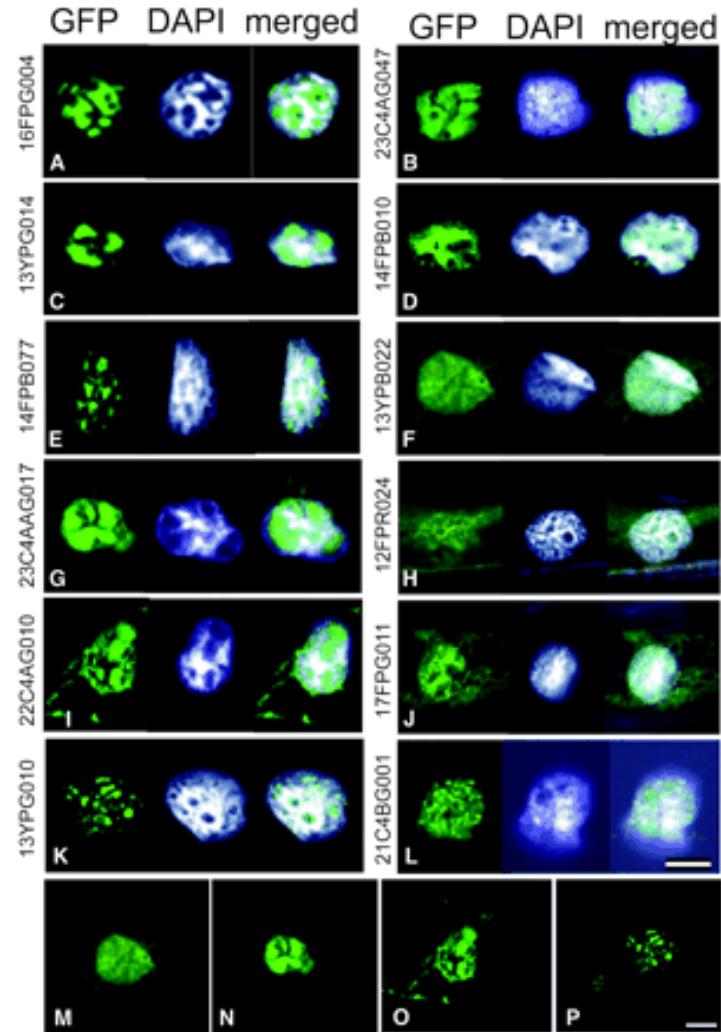


Figure 1. Models depicting the organization of chromatin into active and inactive loop domains and the formation of independent transgenic loop domains. A, MAR sequences (open boxes) interact with nuclear matrix fiber (filled bar) to form two loop domains. The active domain is depicted as an 11-nm nucleosome fiber and the inactive domain as a 30-nm fiber formed by supercoiling of the 11-nm fiber. B, An independent domain formed by the integration of MAR-flanked transgene into the inactive domain.

Jádro není jen chromatin: proteiny matrix a další

„jaderný proteom“ rýže pomocí modifikovaného 2-hybridního systému
(Moriguchi et al., Plant Cell 17:389, 2005)

množství různých jaderných a perinukleárních lokalizací!



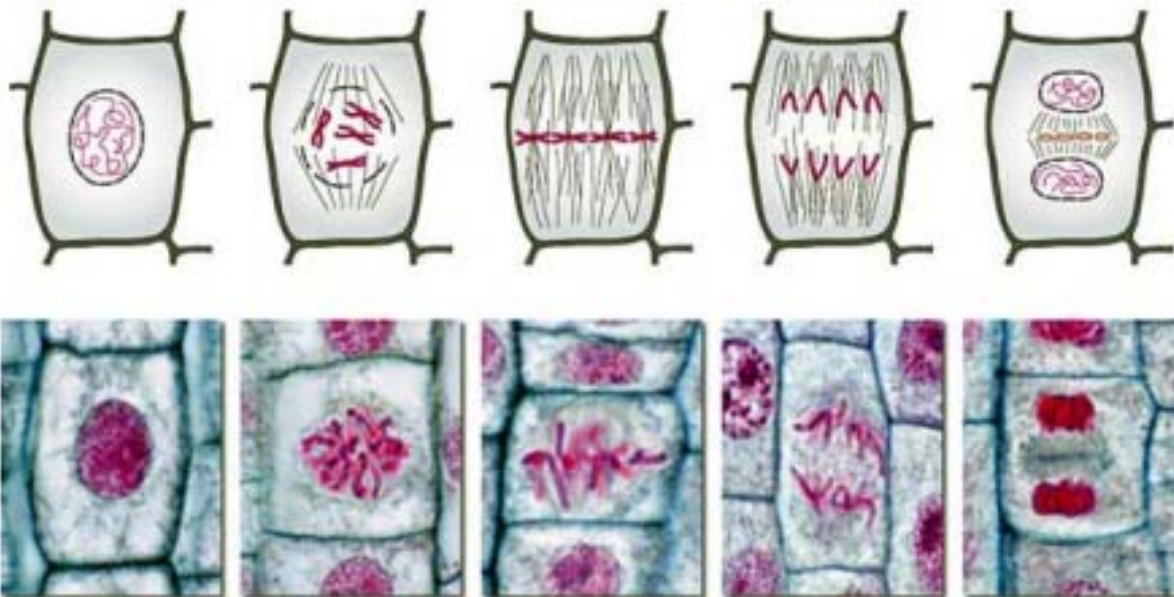
Otevřená mitóza: rozpad a obnova NE

JM se rozpadají do podoby váčků

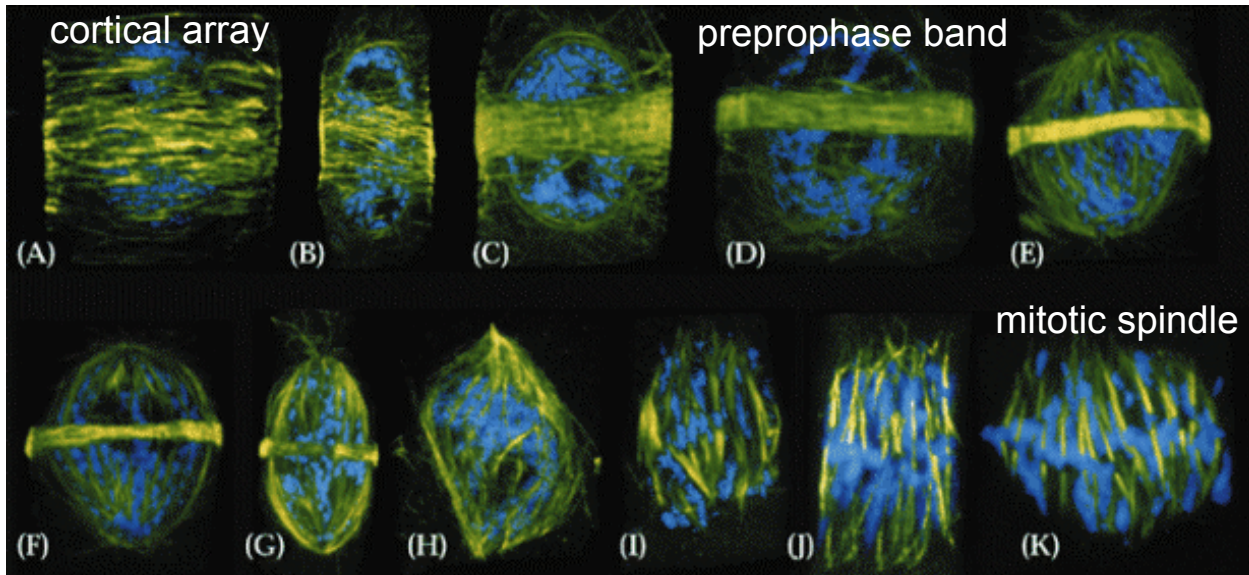
regulace pomocí proteinkinázy MPF (mitosis-promoting factor)

fosforylace jaderné laminy a pórů indukuje jejich rozpad a brání opětovnému složení; defosforylace naopak

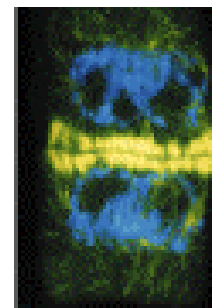
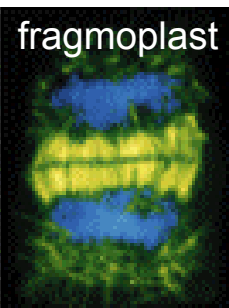
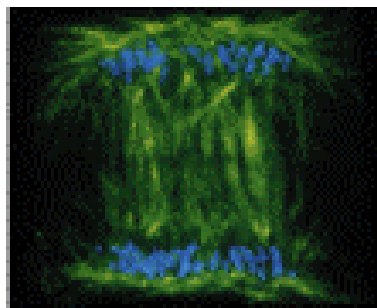
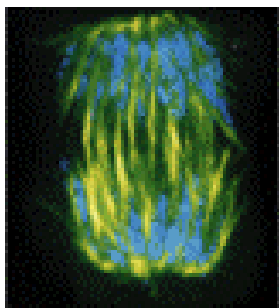
v telofázi váčky asociují s chromatinem a později splývají za vzniku nových membrán



Buněčné dělení a reorganizace cytoskeletu

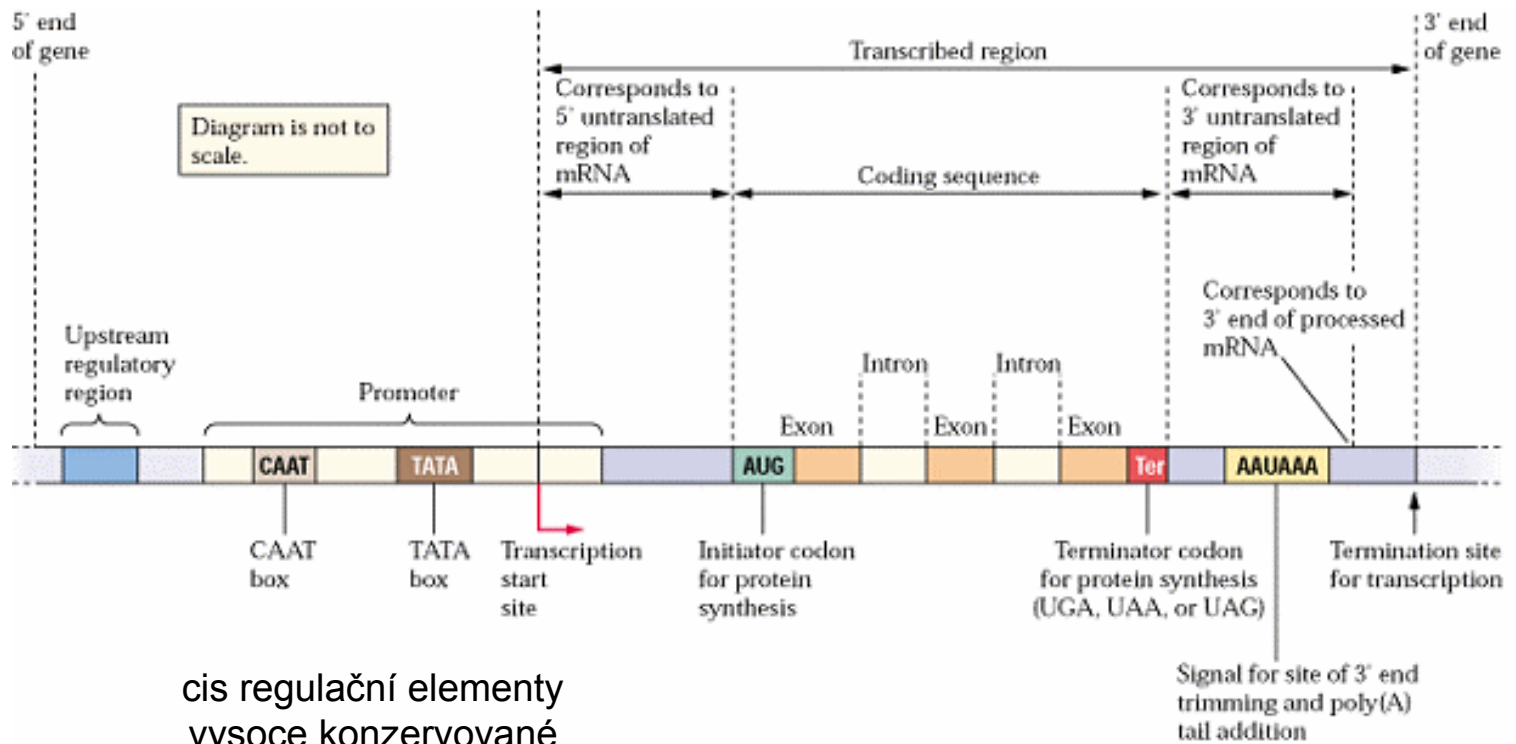


mitosis

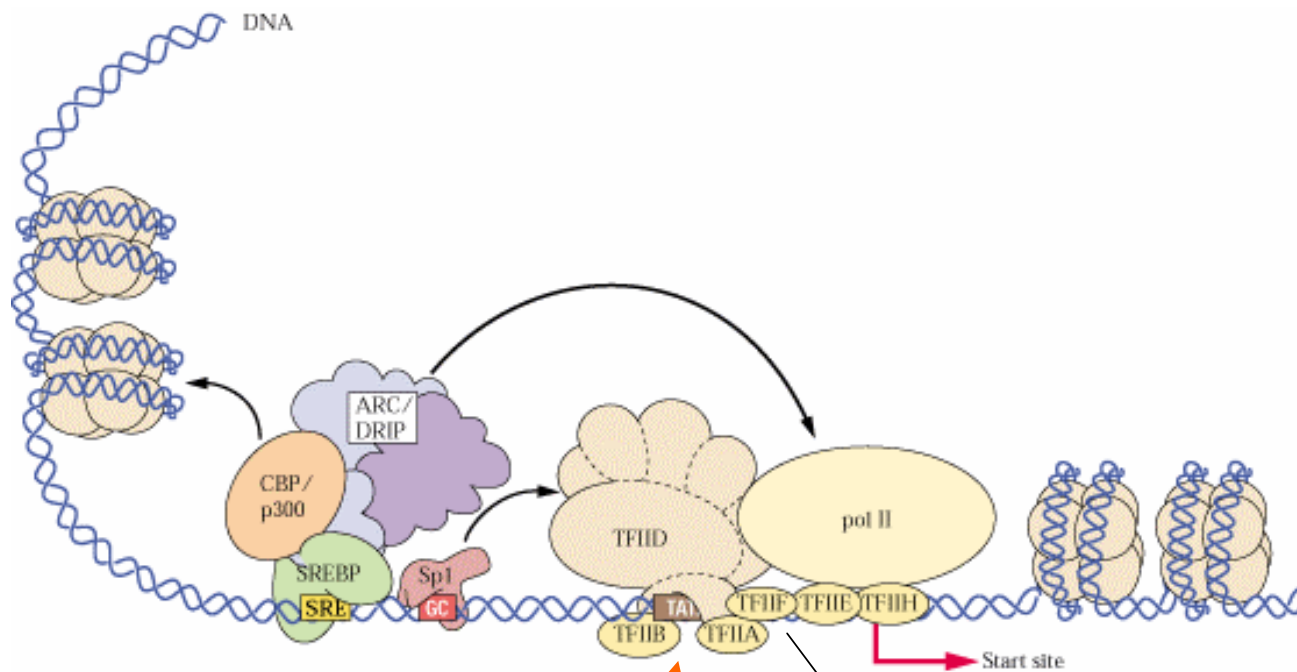


Regulace genové exprese

Transkripce



Transkripce



obecné transkripční faktory

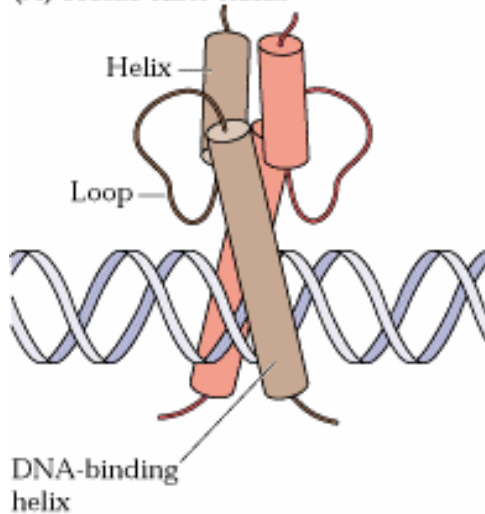
po uvolnění iniciačních faktorů
začne polymerace

Transkripční faktory

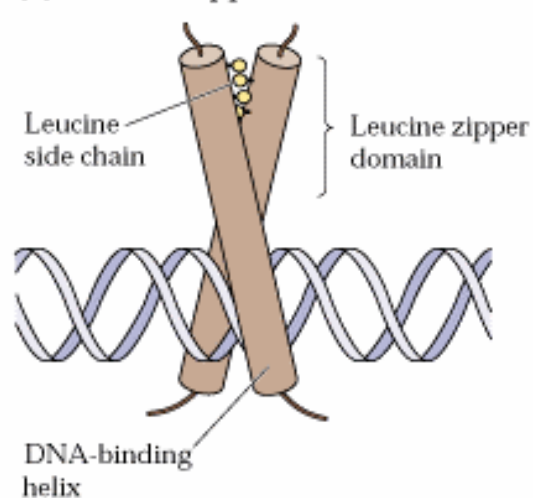
transkripční faktory pomáhají nasednutí RNA polymerázy na promotor, rozvíjení DNA, uvolnění polymerázy z promotoru

motivy, které zajišťují vazbu k DNA:

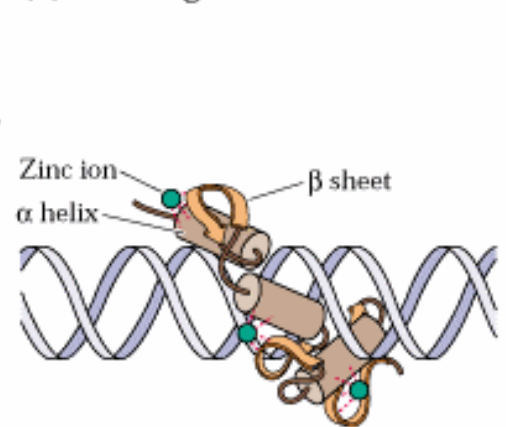
(A) Helix-turn-helix



(B) Leucine zipper



(C) Zinc finger



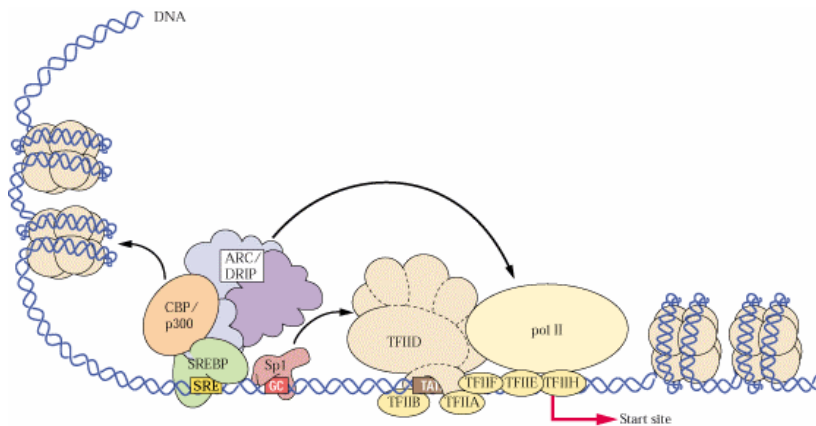
RNA polymerázy

RNA polymeráza I rRNA (kromě 5S rRNA)

RNA polymeráza II všechny geny kódující proteiny, některé snRNA, miRNA

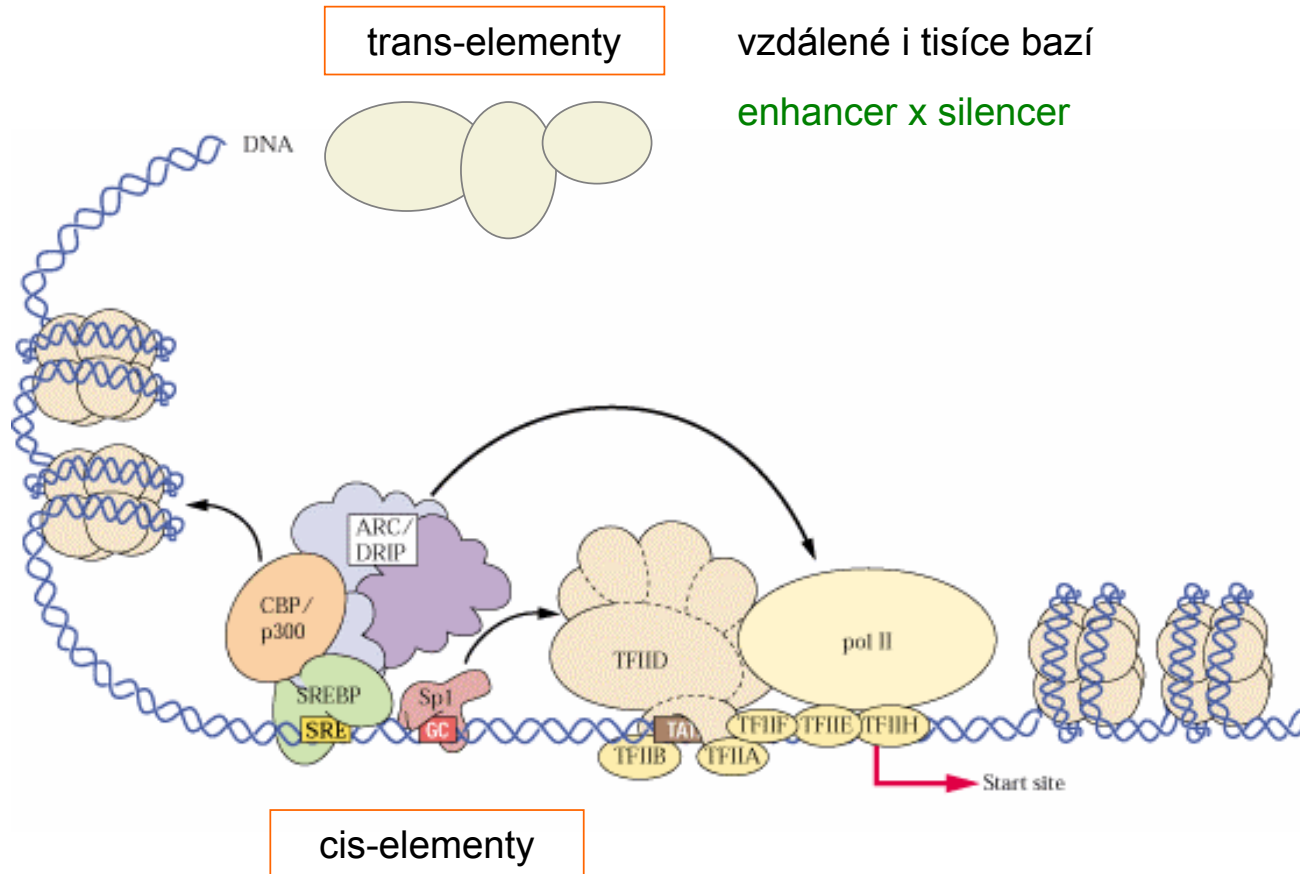
RNA polymeráza III tRNA, 5S rRNA

RNA polymeráza IV siRNA (90 %)



Regulace transkripce

aktivátor x represor



Homeoboxové proteiny

= transkripční faktory, které se účastní regulace vývoje organismu; sdílejí konzervovanou sekvenci dlouhou 60 aa zvanou **homeobox** (motiv helix-turn-helix)

master regulators

jeden regulační protein může spouštět např. celý vývojový program, vznik celého orgánu; vyvolávají celou kaskádu regulačních událostí

rostliny mají 3 třídy homeoboxových proteinů:

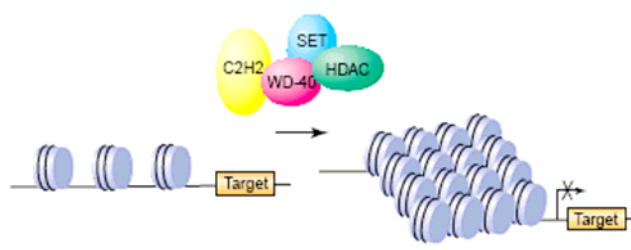
Class 1		Helix I	Helix II	Turn	Helix III
Maize	KN1	S K K K K K G K L P	K E A R Q Q L L S W W D Q H Y K W P Y P	S E T Q K V A L A E S	T G L D L K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Rice	OSH1	S K K K K K G K L P	K D A R Q Q L L N W W E L H Y K W P Y P	S E S Q K V A L A E S	T G L D L K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	RS1	S K K K K K G K L P	K E A R Q K L L H W W E L H Y K W P Y P	S E T E K I A L A E S	T G L D Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	KNOX4	S K K K K K G K L P	K E A R Q K L L H W W E L H Y K W P Y P	S E T E K I A L A E A	T G L D Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Arabidopsis	KNAT1	S K K K K K G K L P	K E A R Q K L L T W W E L H Y K W P Y P	S E S E K V A L A E S	T G L D Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	KNOX8	S K R K K K G K L P	K E A R Q K L L H W W E L H Y K W P Y P	S E T E K M A L A E T	T G L D P K Q I N N W F I N Q R K R H W K P A
Maize	KNOX3	C K R R K K D K L P	K E A R Q K L L S W W E L H Y R W P Y P	S E M E K I A L A E S	T G L E Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Soybean	SBH1	M K R R K K G K L P	K E A R Q Q L L E W W N R H Y K W P Y P	S E S Q K L A L A E S	T G L D Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Arabidopsis	KNAT2	S K K K K K G K L P	R E A R Q A L L D W W N V H N K W P Y P	T E G D K I S L A E E	T G L D Q K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	KNOX10	S R K K K K G K L P	R D A R Q K L L H W W Q L H Y R W P Y P	S E L E K A A L A E S	T G L E A K Q I N N W F I N Q R K R H W K Q A
Maize	LG3	L K R R K K G K L P	K D A R T V L L E W W N T H Y R W P Y P	T E E D K V R L A A M	T G L D P K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	KNOX5	L K R R K K G K L P	K D A R S A L M D W W N T H Y R W P Y P	T E E D K V R L A A M	T G L D P K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Maize	KNOX11	L K R R K K G K L P	K D A R S A L M D W W N T H Y R W P Y P	T E E D K V R L A A A	T G L D P K Q I N N W F I N Q R K R H W K P S
Class 2					
Maize	KNOX1	L R K R R A G K L P	G D T T S I L K Q W W Q E H S K W P Y P	T E E D K A K L V E E	T G L Q L K Q I N N W F I N Q R K R N W H N N
Maize	KNOX2	L R K R R A G K L P	G D T A S T L K A W W Q A H S K W P Y P	T E E D K A R L V Q E	T G L Q L K Q I N N W F I N Q R K R N W H N N
Maize	KNOX6	M R K R R A G K L P	G D T A S V L K A W W Q A H S K W P Y P	T E E D K A R L V Q E	T G L Q L K Q I N N W F I N Q R K R N W H S N
Maize	KNOX7	M R K R R A G K L P	G D T A S V L K A W W Q A H S K W P Y P	T E E D K A R L V Q E	T G L Q L K Q I N N W F I N Q R K R N W H S N
B. napus	BNHD1	M R K R R A G K L P	G D T T T V L K N W W Q Q H C K W P Y P	T E E D K A K L V E E	T G L Q L K Q I N N W F I N Q R K R N W H S N
Other					
Arabidopsis	ATH1	Q I W R P Q R G L P	E K S V S V L R N W M F Q N F L H P Y P	K D S E K H L L A I R	S G L T R S Q V S N W F I N A R V R L W K P M
Human	PNX-1	L P K H A T N V M R S W L F Q H I G H P Y P	T E D E X K Q I A A Q	T N L T L L Q V N N W F I N A R R R I L O P M	

Polycomb-group proteins (PcG)

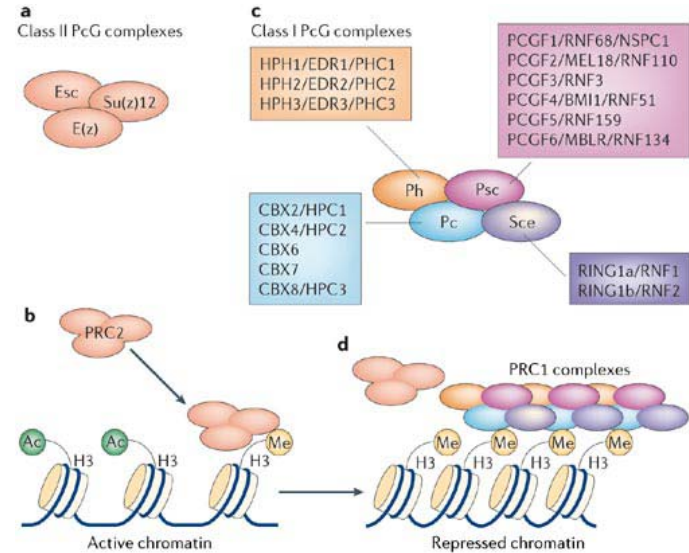
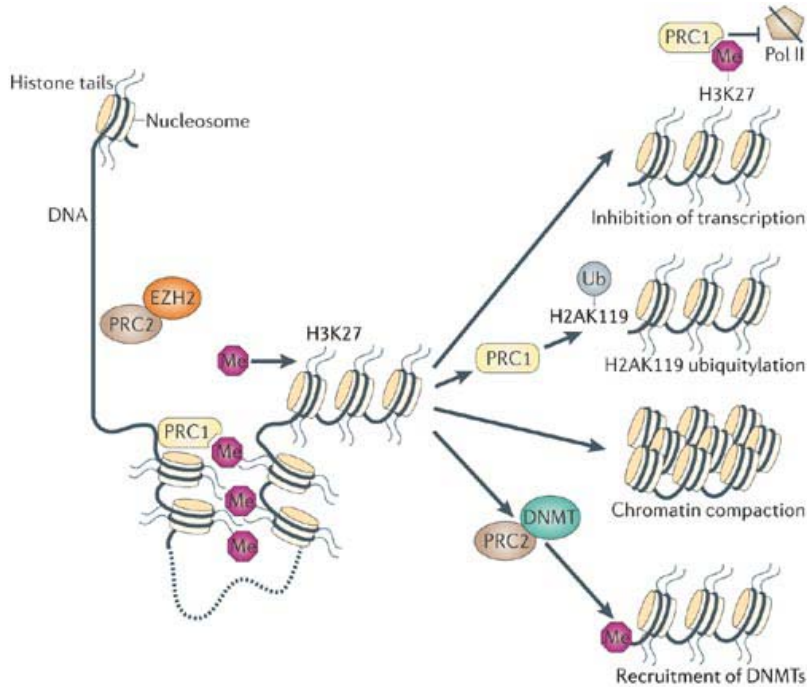
Polycomb proteiny udržují reprimovaný stav homeoboxových genů pomocí **remodelace chromatinu**, což ovlivňuje vazbu transkripčních faktorů. Vysoce konzervované mezi eukaryoty.

Modifikují konce histonů pomocí deacetylase a methylace, tento „histonový pattern“ pak rozpoznávají další remodelační faktory.

Polycomb repression complexes (PRC)



Polycomb-group proteins (PcG)



Arabidopsis má PRC2, nemá PRC1

Arabidopsis reproductive development is subjected to regulation by the PRC2 complex during female gametophyte, endosperm, and embryo development. In the absence of fertilization, *mea* mutant female gametophytes can form seed-like structures containing endosperm, indicating a **role of MEA in repressing proliferation of the central cell which gives rise to the endosperm.**

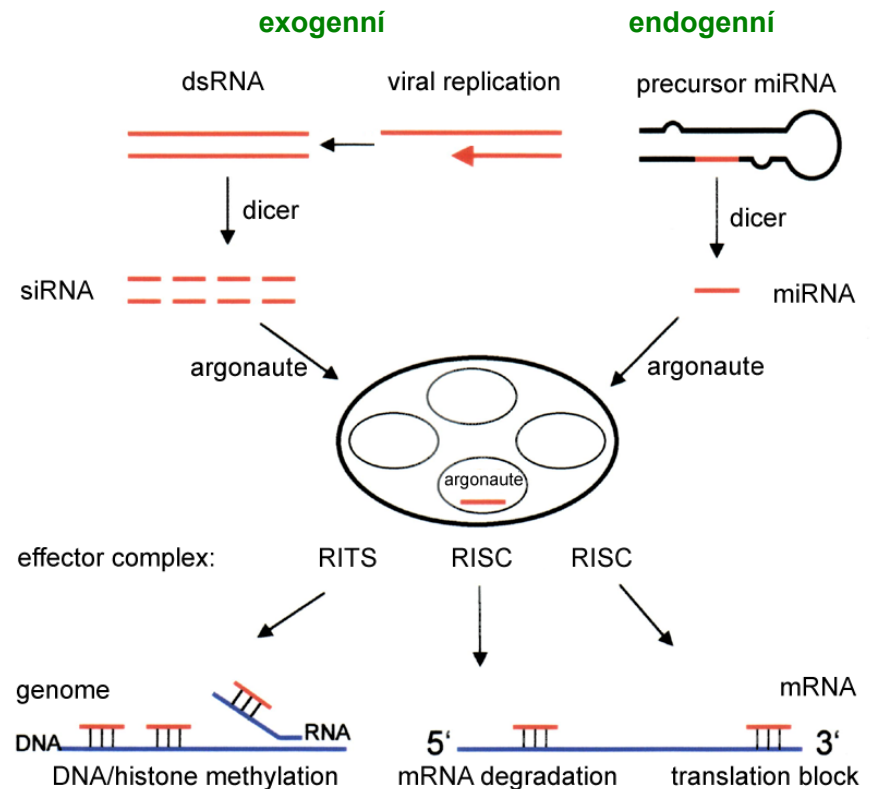
RNA interference (RNAi)

RNA interference potlačuje genovou expresi RNA virů a transpozonů (asi původní funkce)

RNA interference hraje roli v regulaci vývojových programů

RNA interference funguje na úrovni translace i transkripce

- **dicer** štěpí dsRNA na fragmenty asi 22 bp dlouhé (siRNA exogenní; miRNA endogenní)
- fragmenty vytvoří spolu s proteinem **argonaut** RNA-induced silencing complex (RISC)
- **argonaut** (endonukleáza) štěpí mRNA navázané přes siRNA



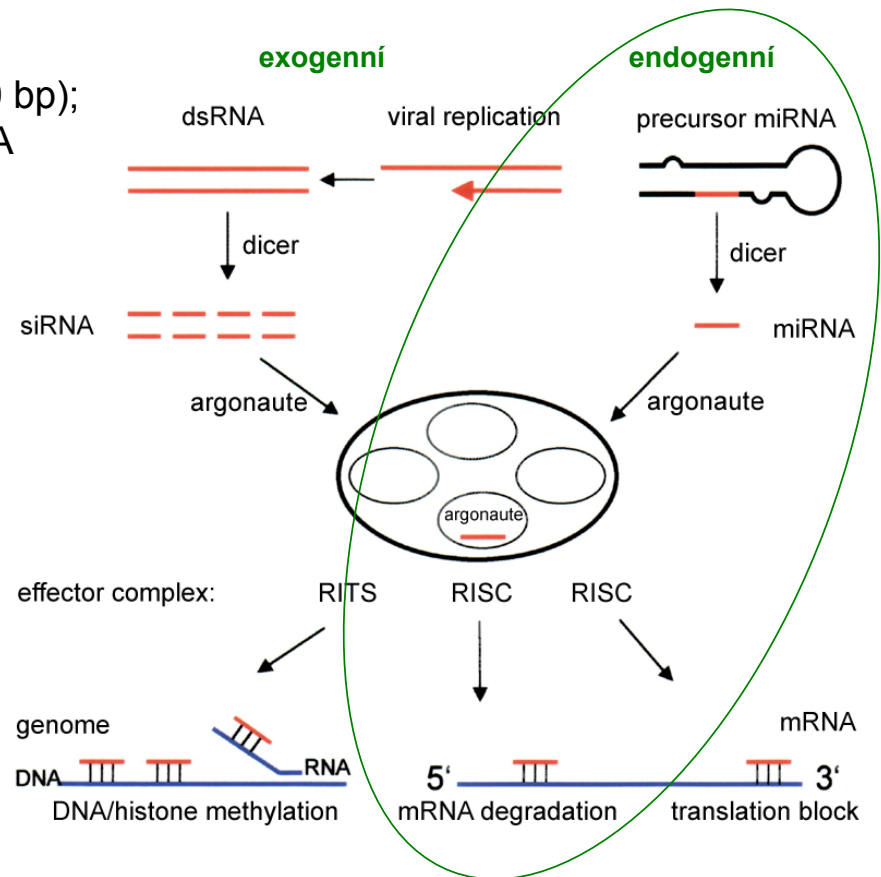
Craig C. Mello a Andrew Fire
Nobelova cena (2006) za studium
RNAi

microRNA (miRNA)

miRNA jsou kódované buněčnými geny, regulují genovou expresi spojenou s vývojovými programy organismu (regulace exprese transkripčních faktorů)

dlouhý primární transkript pri-miRNA je sestřižen v jádře na pre-miRNA (asi 70 bp); také introny mohou fungovat jako mi-RNA

dsRNA úseky štěpí **dicer** a jeden z komplementárních řetězců se stává součástí RISC



RNA-induced transcriptional silencing (RITS)

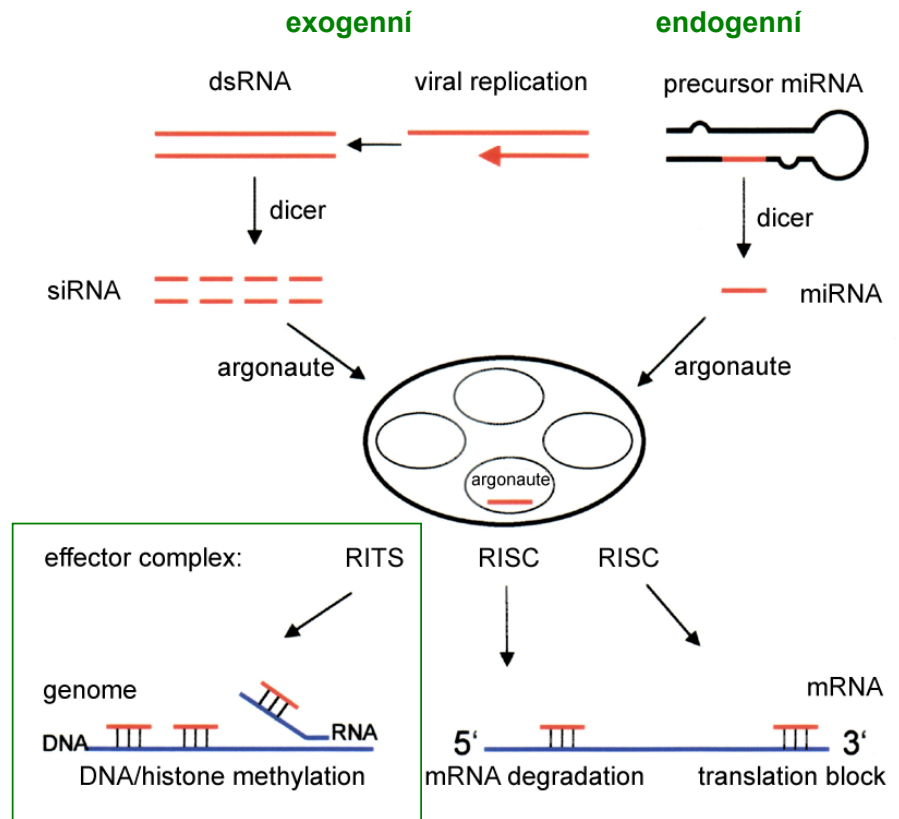
antisense-RNA fungují jinak:
fyzické blokování mRNA při
translaci = technologie genového
inženýrství

u rostlin prokázán přenos siRNA skrz
plasmodesmata

pattern methylace je dědičný



RITS indukuje vznik heterochormatinu
v komplementárních úsecích
a silencing prostřednictvím methylace



RNA polymeráza IV

plant specific

RNA polymerase IV is nonessential for viability, but disruption of the RNA-polymerase IV (genes NRPD1 or NRPD2) results in heterochromatin to be less condensed, coincident with losses in cytosine methylation. Mutants (At) exhibit slight delays in flowering and some strange floral defects.

Loss of CG, CNG, and CNN methylation (in 5S rRNA genes and retrotransposones) implicates a partnership between RNA-polymerase IV and the methyltransferase responsible for RNA-directed *de novo* methylation.

The data suggest that RNA-polymerase IV helps produce siRNAs that target *de novo* cytosine methylation (of corresponding sequences) required for facultative heterochromatin formation and keeping the silent DNA silent.

Epigenetické mechanismy regulace genů

Změna fenotypu nemá příčinu ve změně sekvence DNA, ale ve **změně struktury DNA** (chromatinu). Buňky zůstávají stále totipotentní.

- paramutace
- imprinting
- silencing genů (transkripční – modif. histonů; post-transkripční – RNAi)
- inaktivace pohlavních chromozomů
- poziční efekt

epigenetic code – DNA methylace, modifikace histonů

Polohový efekt souvisí s heterochromatinem

některé úseky chromozomů se i v interfázi nacházejí ve formě heterochromatinu (vysoký stupeň kondenzace chromatinu)

heterochromatin tlumí expresi genů ve svém sousedství (často v blízkosti telomer)

přesun daného genu (translokace) do jiného místa na chromozomu vede k odlišné hladině exprese – tzv. **polohový efekt**