

Epigenetická informace

Mitoticky i meioticky děděné změny genové exprese, které nesouvisí se změnou primární struktury DNA

Epigenetickou kontrolu zprostředkovávají

- modifikace makromolekul; DNA a histonů:

METHYLACE DNA

MODIFIKACE (methylace, acetylace, fosforylace, ubiquitinace) histonových proteinů

- malé a nekódující molekuly RNA
- architektura chromatinu



Regulace aktivity a exprese genů během vývoje a diferenciaci, reakce na změněné podmínky

Spojka mezi genotypem a fenotypem

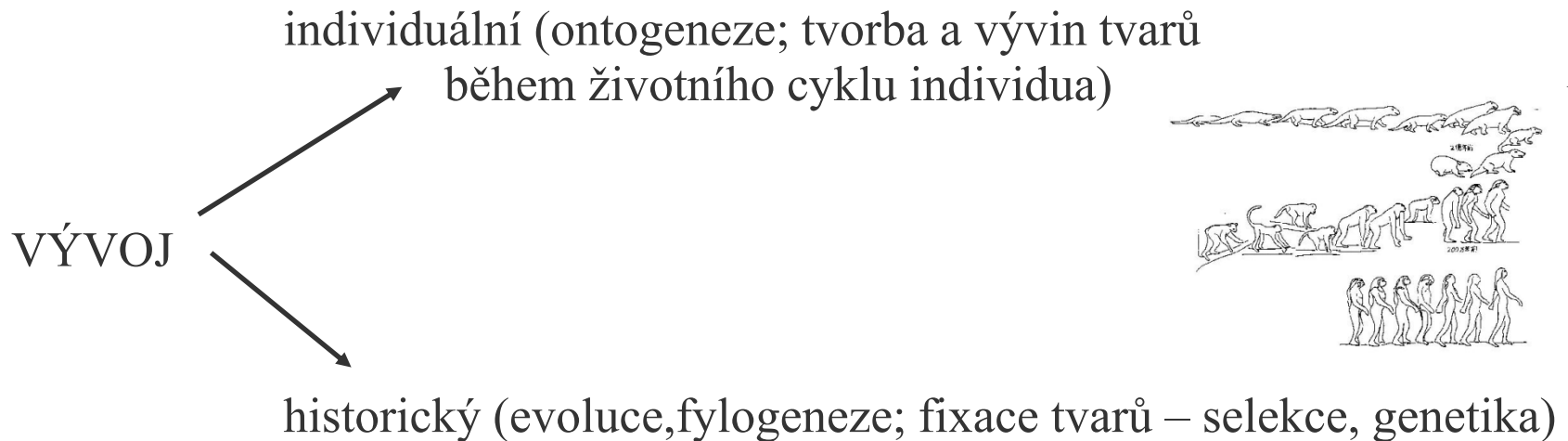
Historie termínu epigenetika

Epigeneze – Aristoteles, 384-322 př. n. l.

individuální vývoj organismů souvisí s postupným růstem jejich komplexity (individuální tvorba tvarů během ontogeneze)

X

Proreformismus – ontogeneze je řízena předem danými strukturami



Historie termínu epigenetika

Jean Baptiste Lamarck (1744-1829):

- první pokus o výklad evoluční teorie
- příroda se pod tlakem podmínek vyvíjí – teorie adaptivní evoluce
- adaptivní změny jsou dědičné (teorie dědičnosti získaných znaků)

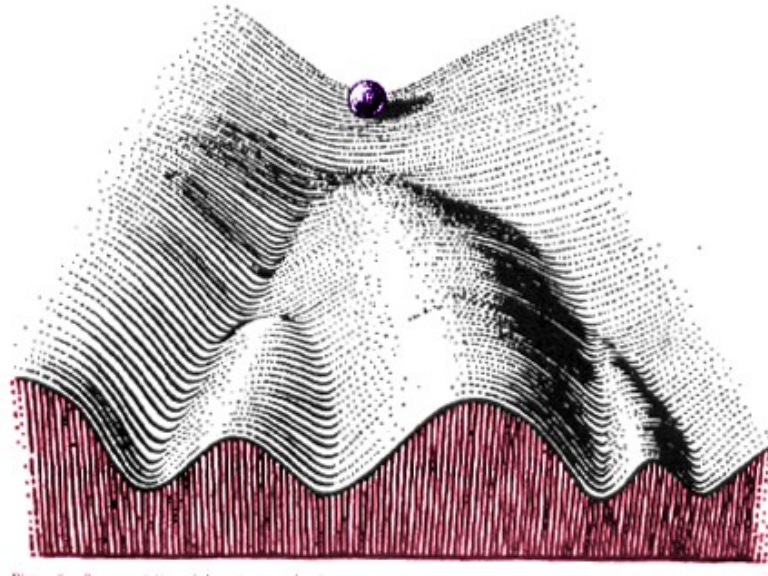
August Weismann (1834-1914):

- sledování dědičnosti indukovaných změn v somatické dráze
- teorie divergence zárodečné a somatické dráhy – Weismannova bariéra

Conrad Hal Waddington (1905-1975):

- „epigenetika“, výsledná podoba organismu není předem absolutně daná, vzniká postupnými kreativními procesy
- „epigenetická krajina“

epigenetická krajina



<http://chreoda.nosquare.net/?page=chreoda&action=history&time=20080812-1446.bak>

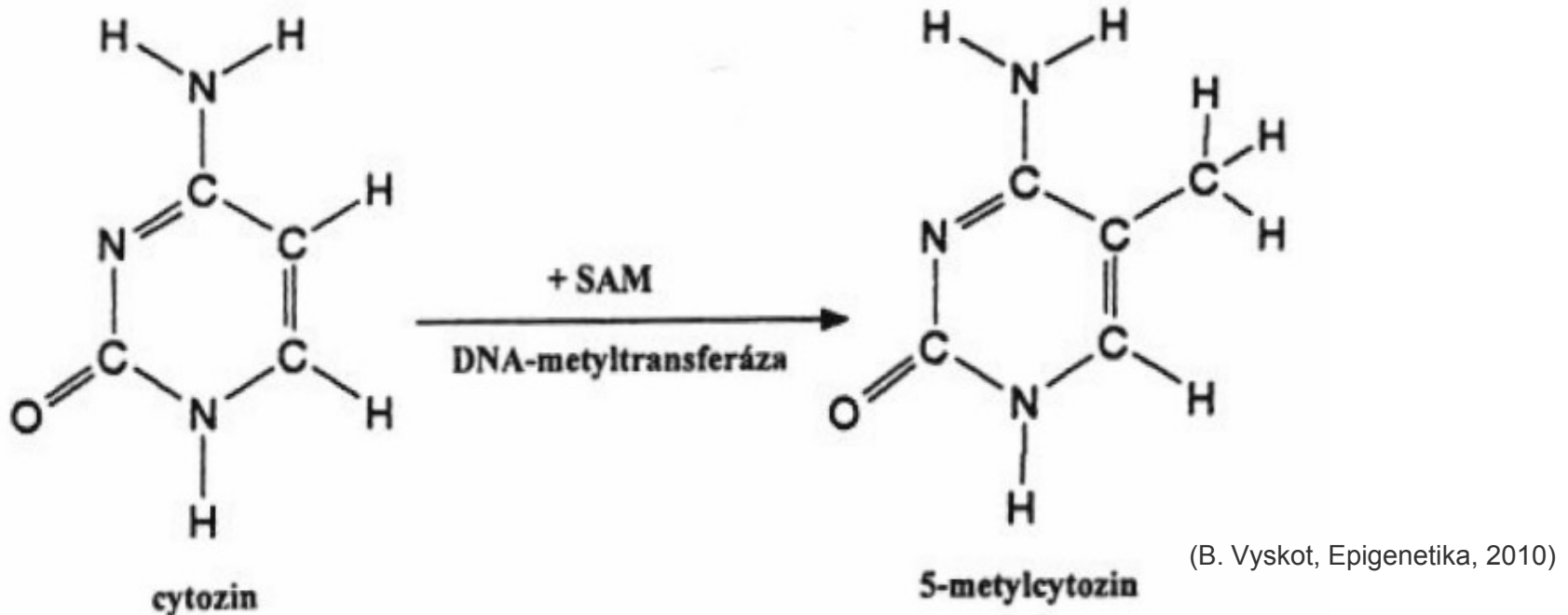
Richard B. Goldschmidt (1878-1958)

- fenotypová změna souvisí s vlivy prostředí
- vzniká jen omezený počet fenotypů

Methylace DNA

Modifikace cytosinu v poloze 5, nejčastější modifikace DNA u eukaryot

Postreplikativní modifikace



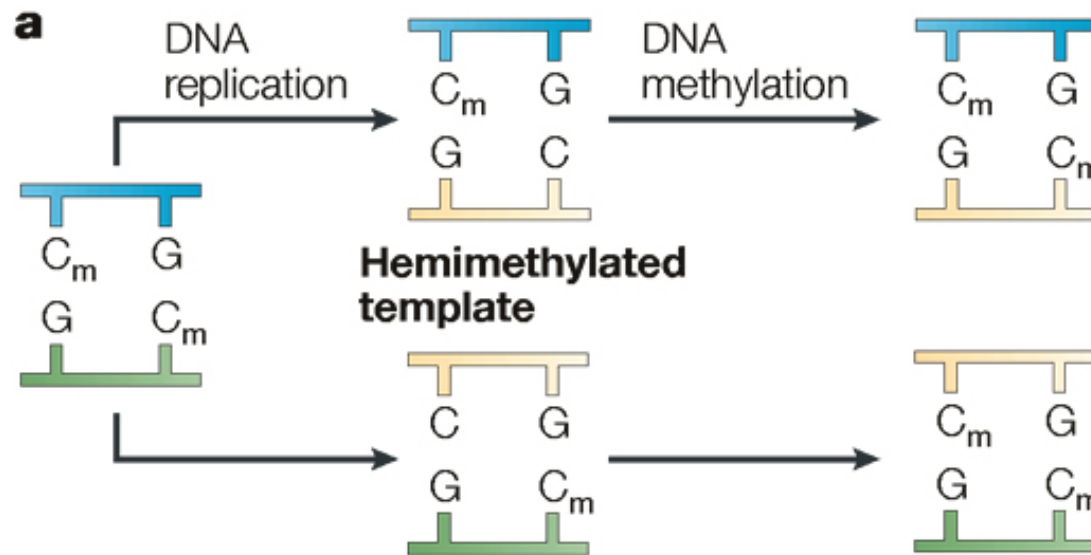
SAM – S-adenosyl-methionin; v transmethylační reakci se konvertuje na S-adenosyl-homocystein

Methylace DNA

Distribuce methylace v genomech:

Methylace C v **symetrických** sekvencích – klíčové pro dědičnost methylačního obrazu

- CpG (dublety)
- CpHpG (triplety; rostliny; H = A,T,C)



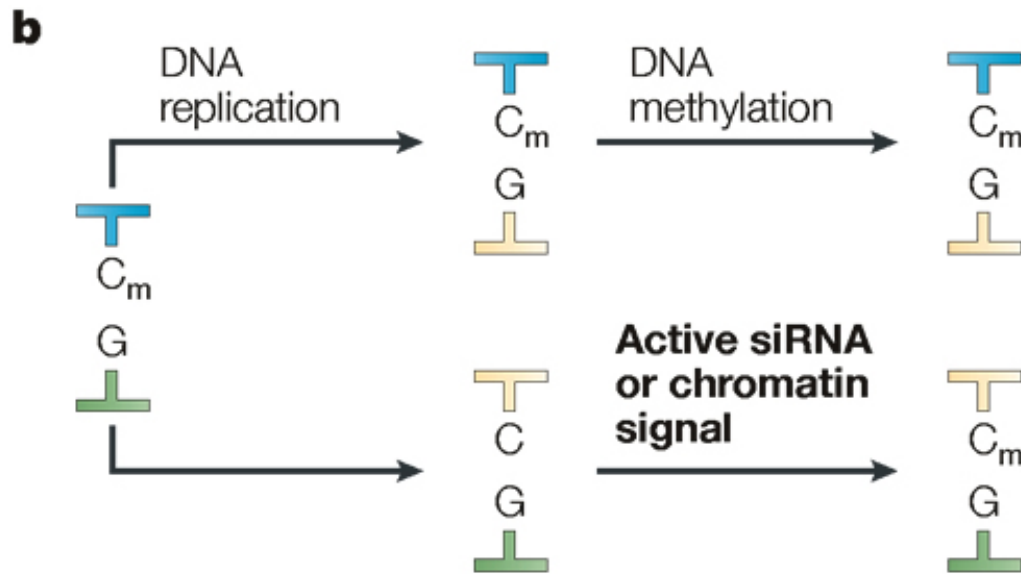
Methylace DNA

Distribuce methylace v genomech:

Methylace C v **symetrických** sekvencích – klíčové pro dědičnost methylačního obrazu

- CpG (dublety)
- CpNpG (triplety; rostliny)

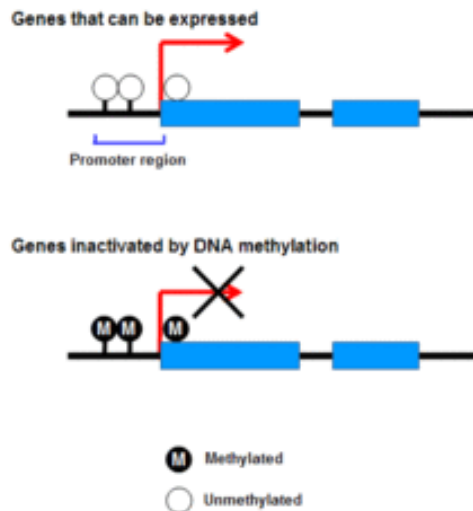
Methylace C v **asymetrických sekvencích** (rostliny, omezeně u živočichů)



Methylace DNA a exprese genů

UMLČENÍ GENU

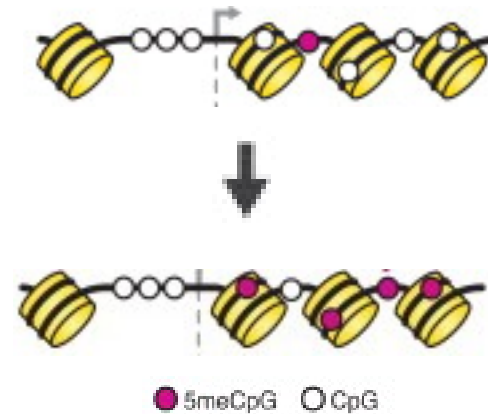
TRANSKRIPČNÍ



- inaktivní promotor
(žádný transkript
nebo pouze malé
množství)

- methylace DNA v
oblasti promotoru

POSTTRANSKRIPČNÍ

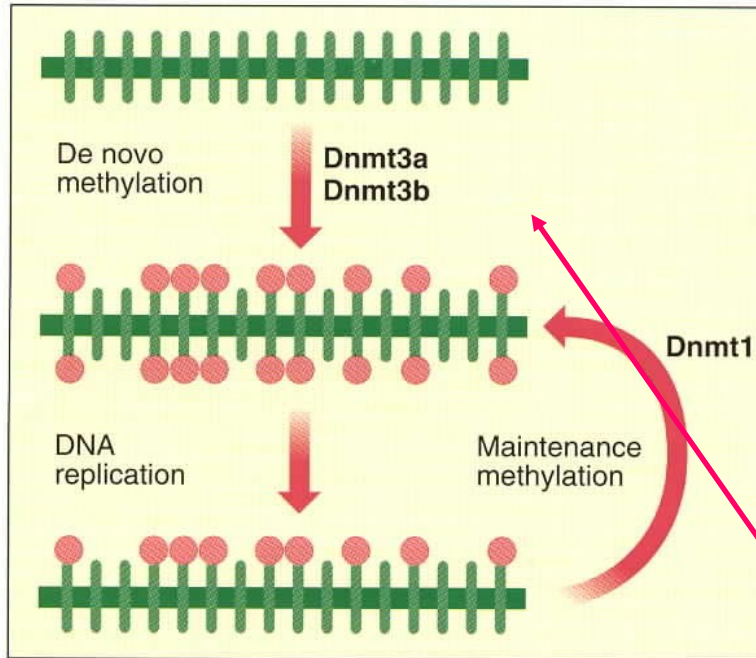


- normální transkripční
aktivita promotoru

- nestabilní transkript

- methylace DNA v
transkribované oblasti
(hlavně na 3' konci genu)

Živočišné DNA methyltransferázy



(Bird A, Science, 1999)

Udržovací (maintenance):
methylace hemimetylovaných
vláken po replikaci DNA;
cytosiny v symetrických
motivech (správný embryonální
vývoj, imprinting, inaktivace chr. X)

de novo: methylace dosud
nemetylovaných úseků;
musí existovat podnět (třeba
přítomnost regulačních molekul
RNA-dokázáno pouze v rostlinách;
interakce DNA-DNA v repetitích;
neobvyklé struktury DNA)

Dnmt2 - u savců, rostlin;

Drosophila – slabá non-CG methylace v časných
fázích vývoje;

S. pombe – mutace, kóduje nefunkční

protein, ale je exprimován

2006 - v savčích buňkách

methyluje tRNA (Asp)

DnmtL – DNA methyltransferázový motiv, katalyticky inaktivní

Funkční kooperace s Dnmt3a/b, nezbytná pro genový imprinting

Rostlinné DNA methyltransferázy

MET1 (Methyltransferase 1) - udržovací methylace cytosinů v dubletech CG; homolog Dnmt1

CMT3 (Chromomethylase 3) - methylace cytosinů v tripletech CHG; unikátní pro rostliny

DRM2 (Domains Rearranged Methyltransferase 2) - *de novo* methylace cytosinů ve všech sekvenčních motivech, musí existovat permanentní stimul – RNA?;

homolog Dnmt3 - jinak řazené podjednotky – příčina odlišné substrátové specifity?

DRM3 – VI, IX, X, I – V

Dnmt3 – I – VI, IX, X

(DDM1 (Decrease in DNA methylation 1) – kóduje protein, který je součástí komplexu remodelujícího chromatin, role v udržování CG i non-CH methylace)

FUNKČNÍ KOOPERACE MEZI METYLTRANSFERÁZAMI:

MET1 je schopná (v kooperaci s DRM2), *de novo* methylace CG motivů

Dnmt1 je také schopná *de novo* methylace CG, tuto schopnost posiluje pre-existující methylace v daném lokusu

Nový model zachování stabilní methylace DNA:

methylační vzory jsou děděny jako obecný status, důležitá je souhra mezi methyltransferázami.

Dnmt1 je navázána na replikační vidlici – methylace hemimethylovaných míst (nezávisle na dalších epigenetických modifikacích).

Dnmt3a/b – vazba na nukleosomy, methylace dalších cytosinů, podle epigenetických modifikací histonů.

Biologická role CpG a non-CpG methylace u rostlin

CG: zajišťuje stabilní epigenetický obraz

A.thaliana mutanty deficientní v udržování methylace CG – aktivace alternativních epigenetických mechanismů – non-CG methylace, H3K9Me2, architektura jádra (Mathieu O. et al, Cell 2007)

Nefunkční MET1 – poruší se celý epigenetický obraz, fenotypické defekty – přetrvávají i po obnovení funkce enzymu.



Biologická role CpG a non-CpG methylace u rostlin

CG: zajišťuje stabilní epigenetický obraz

A.thaliana mutanty deficientní v udržování methylace CG – aktivace alternativních epigenetických mechanismů – non-CG metylace, H3K9Me2, architektura jádra (Mathieu O. et al, Cell 2007)

Nefunkční MET1 – poruší se celý epigenetický obraz, fenotypické defekty – přetrvávají i po obnovení funkce enzymu.

Nefunkční CMT3 nebo DRM2 – bez fenotypu

Nefunkční CMT3 a DRM2 - fenotypové změny

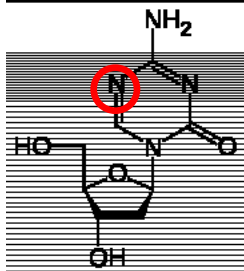
po obnovení funkcí enzymů se methylační i fenotypový obraz vrací k normálu

DEMETHYLACE

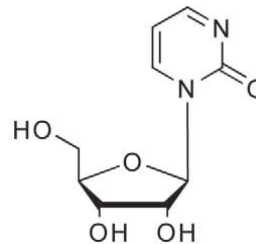
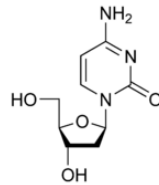
1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

Inhibitory DNA methyltransferáz

Analogy cytosinu:

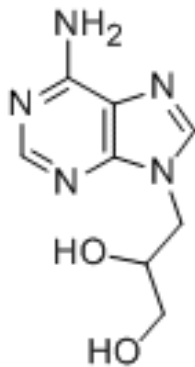


5-aza-deoxycytidine

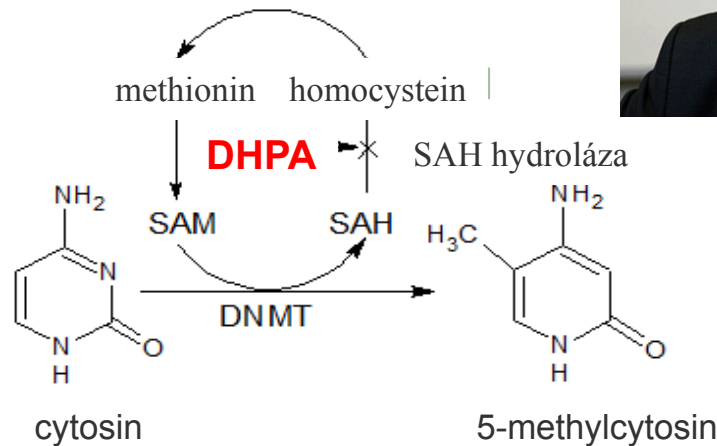


zebularine

DHPA:



(S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin
(inhibitor SAH-hydrolázy)



Prof. Antonín Holý

DEMETHYLACE

1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

2. AKTIVNÍ (v rostlinách)

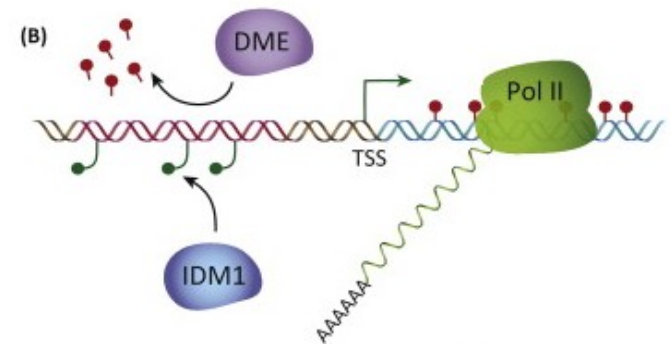
DEMETER (DME)

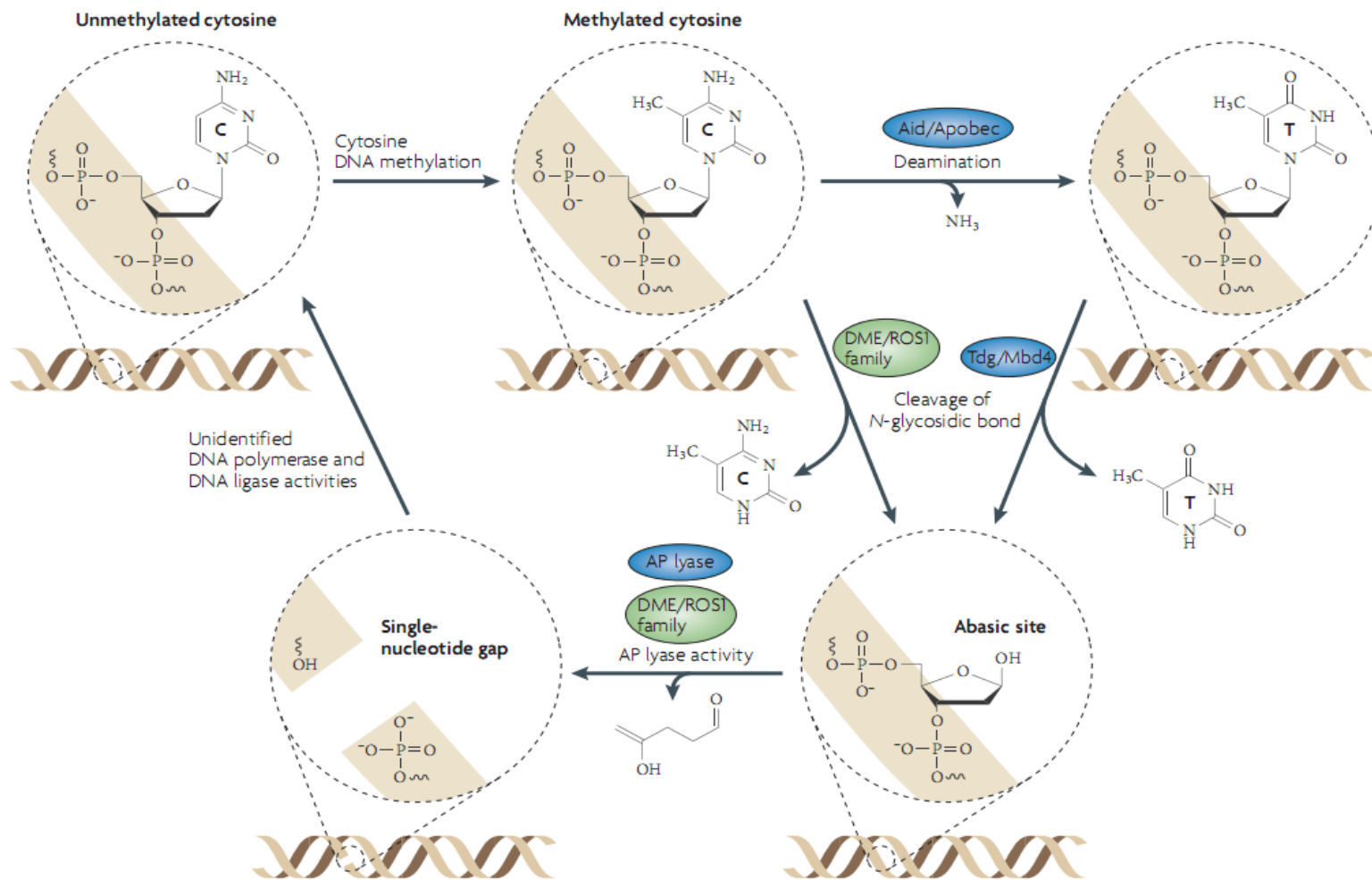
REPRESOR OF SILENCING (ROS)

DNA glykosylázová doména – odstraní 5-mC, lyáza otevře vlákno.
Polymerázy a ligázy doplní mezeru.

DME – vývoj rostliny; kontroluje parentální imprinting
genů v endospermu – hypomethylace promotorů maternálních
alel genů *MEA* (regulátor vývoje endospermu) a *FWA*
(transkripční faktor, podílí se na kontrole doby kvetení).

ROS – uvolňuje TGS transgenů s hypermetylovanými
promotory

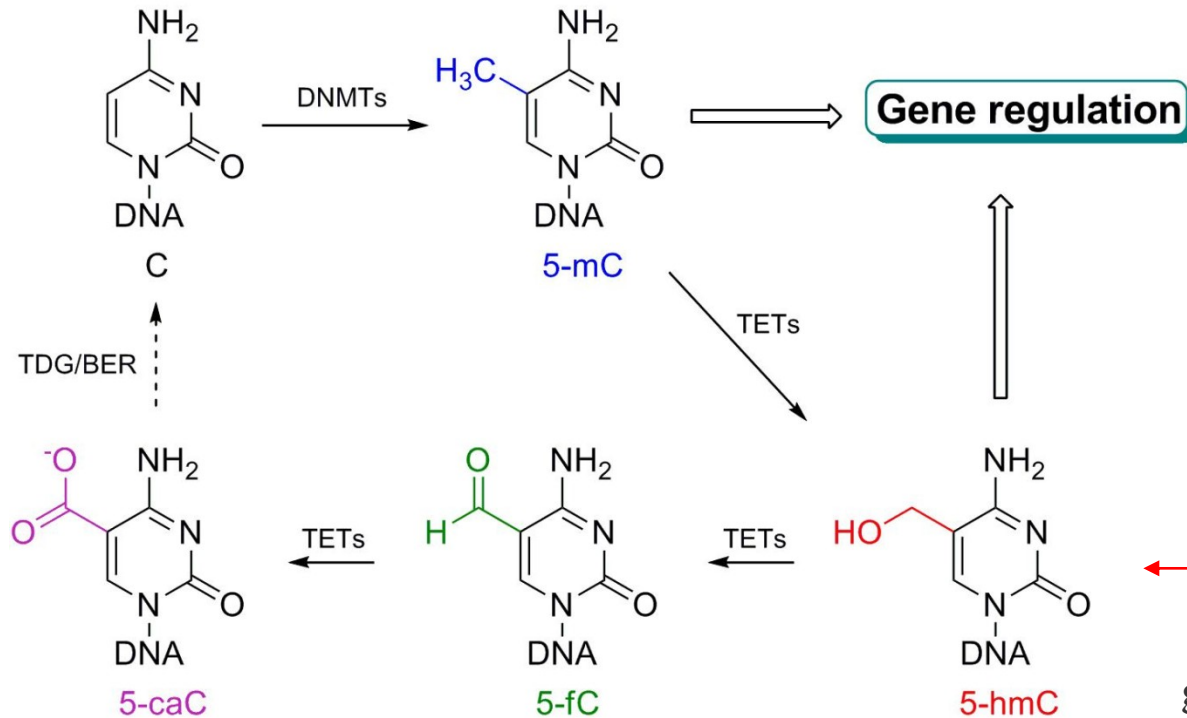




DEMETHYLACE

1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

2. AKTIVNÍ (v živočišných buňkách)



TET – methylcytosine dioxigenase

TDG /BER

thymin DNA glycosylase /
base excision repair

5 – hmC

2006 – objeven v myších
a lidských mozcích

Funkce (?) v regulaci exprese
genů, korelace s acetylací histonů
(pozitivní epigenetická značka)

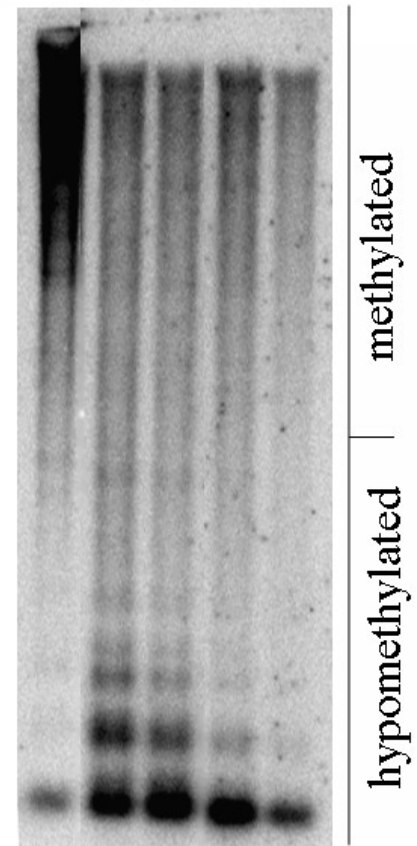
METODY STUDIA METHYLACE DNA

1. Digesce methylačně citlivými restričními endonukleázami - v rozpoznávací sekvenci mají cytosin, neštěpí, pokud je methylován

CG: HpaII mC^mCGG
CfoI G^mCGC
SmaI CC^mCGGG
TatI A^mCGT

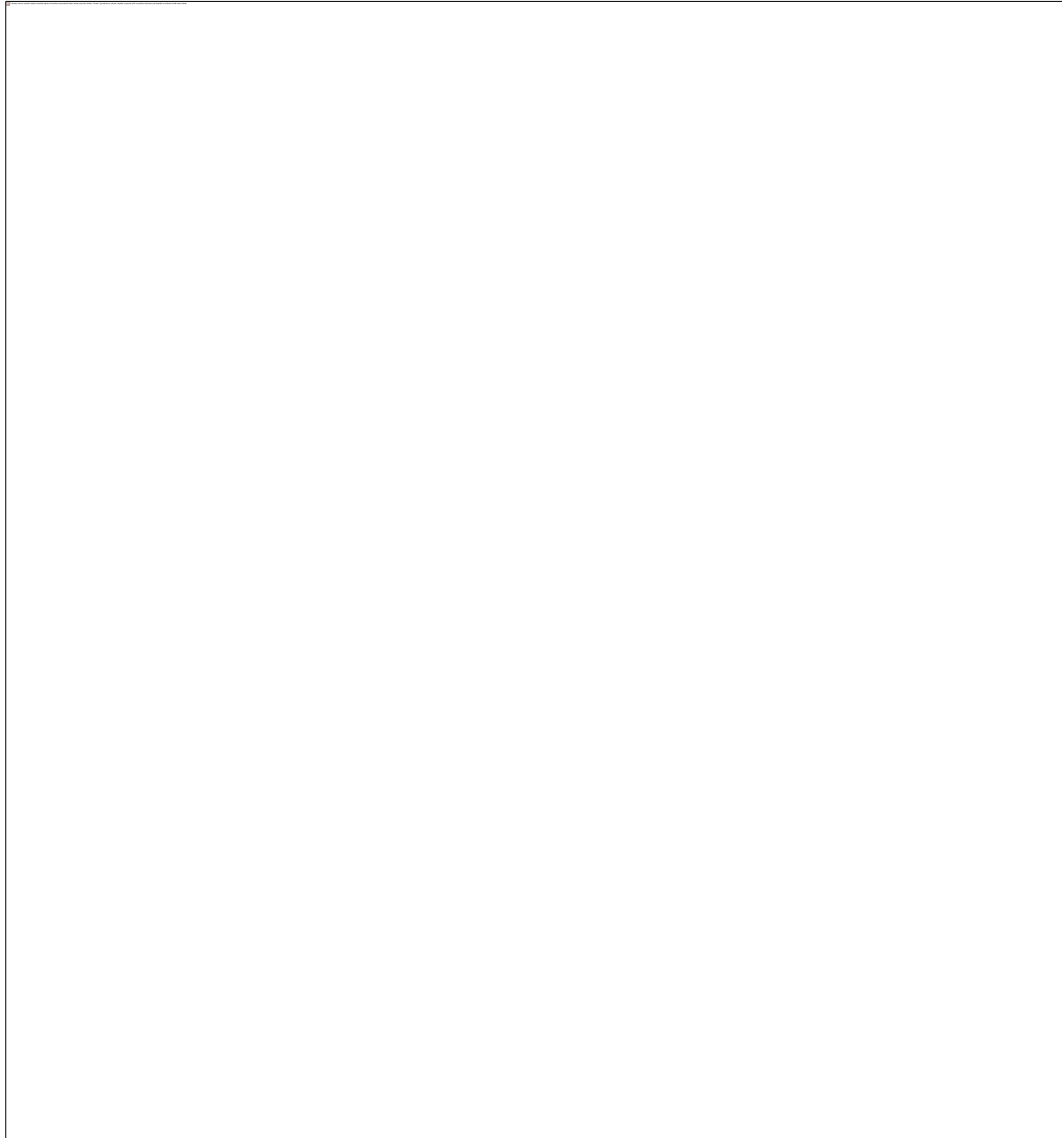
CNG: MspI $mCCGG$

CHH: Sau96I $GG(A/T)^mC^mC$
(záleží na tom, co v sekvenci následuje)



Metody studia methylace DNA

2. Modifikace DNA bisulfitem - **cytosiny** kovertovány na uracily, **^mC nereagují.**



Metody studia methylace DNA

2. Modifikace DNA bisulfitem

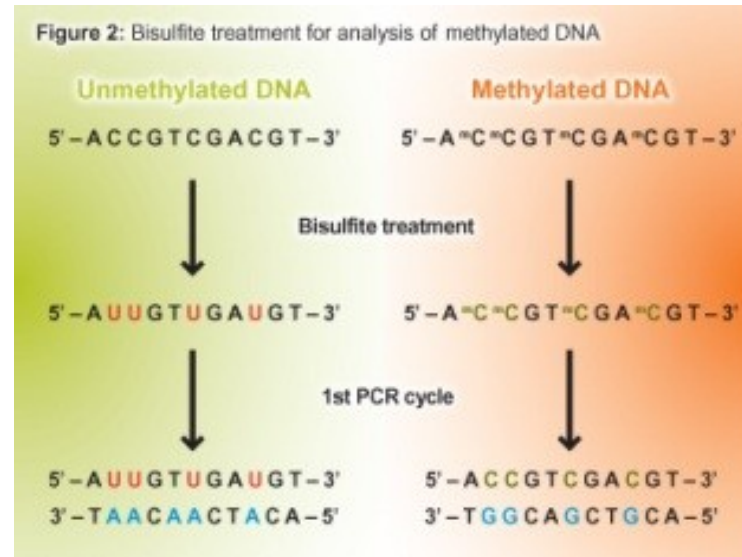
cytosiny kovertovány na uracily,
^mC nereagují.

Modifikovaná DNA je namnožena pomocí PCR, uracily se párují s adeninem jako thyminy. Primery musí amplifikovat modifikovaný i nemodifikovaný templát; amplifikuje se každé vlákno zvlášť – nejsou komplementární.

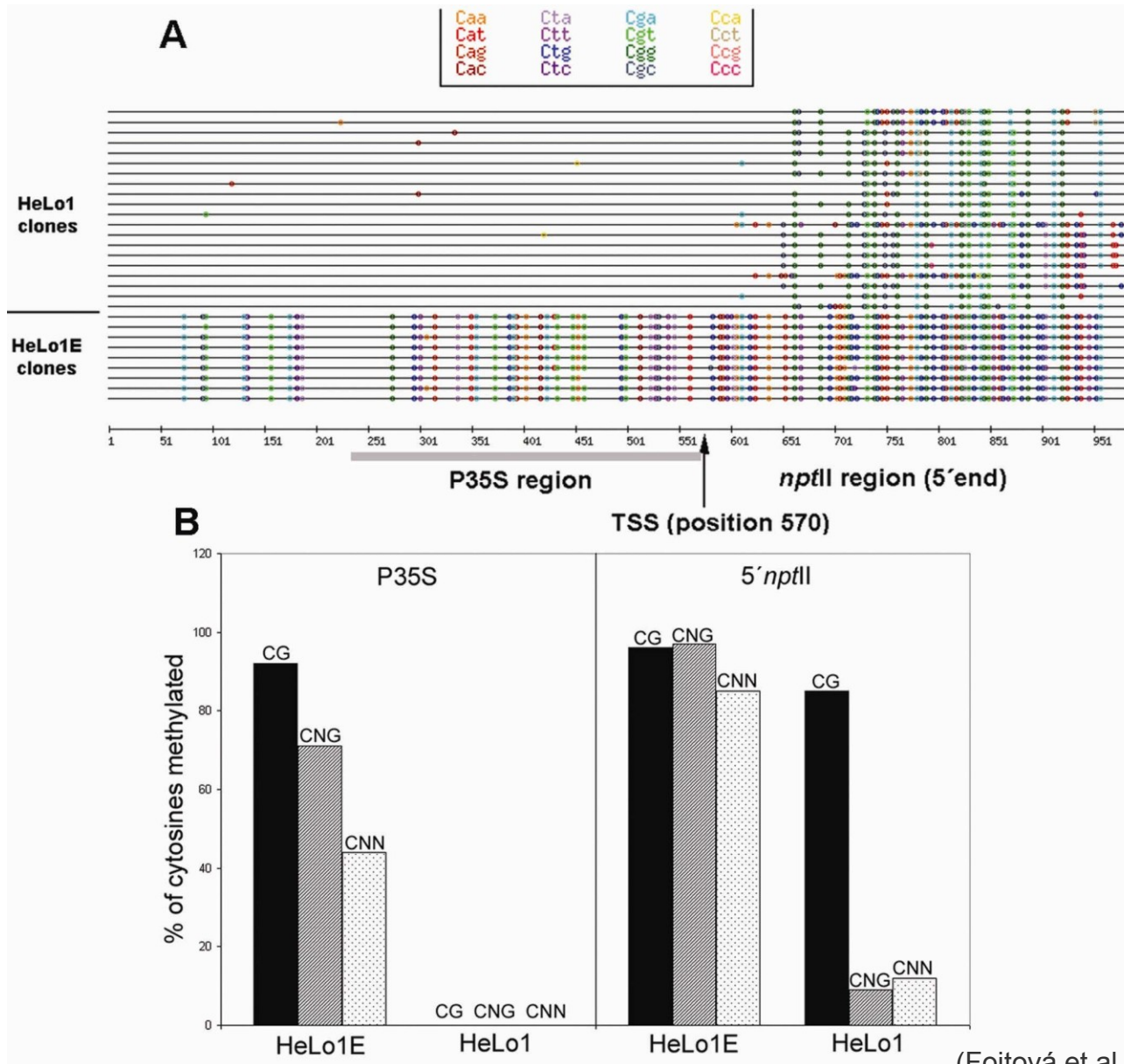
PCR produkt se klonuje a sekvenuje – cytosiny jsou pouze tam, kde byly původně ^mC.

Výhoda analýzy:

- informace o lokalizaci methylovaných cytosinů v celé sekvenci, ne pouze v konkrétním restriční místě



METODY STUDIA METHYLACE DNA



METODY STUDIA METHYLACE DNA

3. Sekvenování DNA po modifikaci bisulfitem, imunoprecipitace pomocí protilátek proti ^mC nebo afinitní purifikace pomocí ^mC vazebného proteinu

Výsledky analýzy genomu *Arabidopsis*:

- cca 20% cytosinů v genomu je methylovaných
- nejvíce ^mC je v transpozonech a repetitivních sekvencích
- nejméně methylované jsou promotory endogenních genů
- asi 1/3 genů obsahuje „body methylation“ (CG místa na 3' konci kódující oblasti)

Modifikace histonů

Methylace – např. lysin v poloze 9 na histonu H3 (H3K9)



Distribuce euchromatinových a heterochromatinových značek v *Arabidopsis thaliana* a myši (podle (Fransz et al., 2006))

Modifikace	Stupeň	<i>A. thaliana</i>		myš	
		euchromatin	heterochromatin	euchromatin	heterochromatin
H3K9	mono	-	+	+	-
	di	-	+	+	-
	tri	+	-	-	+
H4K20	mono	-	+	+	-
	di	+	-	+	-
	tri	+	-	-	+
5m-C		-	+	-	+



Jde o druhově- a dokonce lokus-specifické, dynamické modifikace

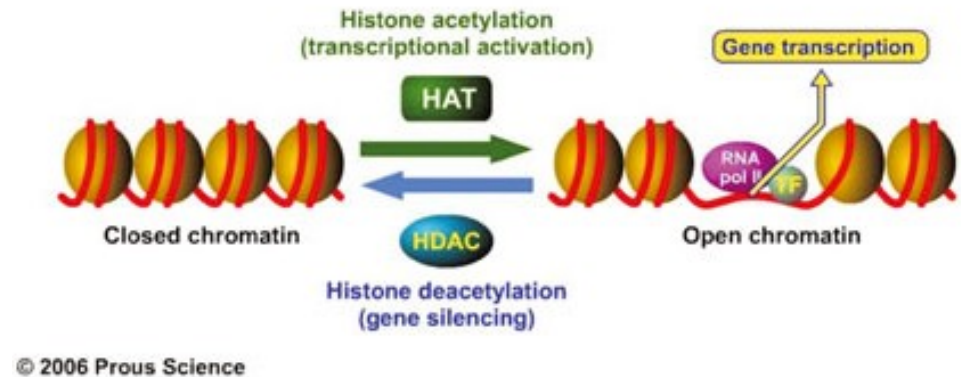
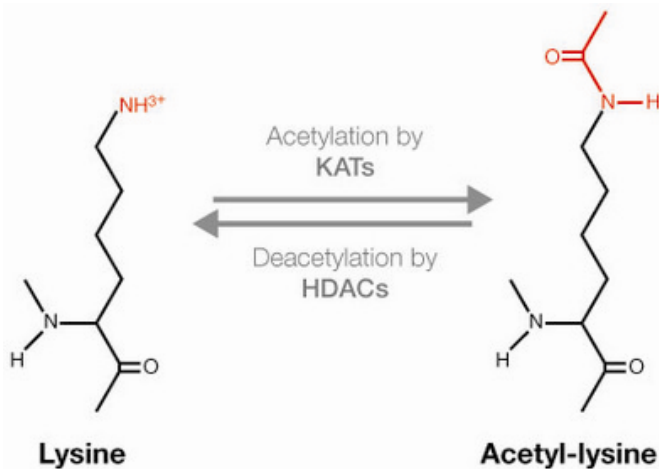
Modifikace histonů

Acetylace – přidavek acetylové skupiny kompenzuje kladný náboj lysinových zbytků – oslabení interakcí mezi DNA a histony

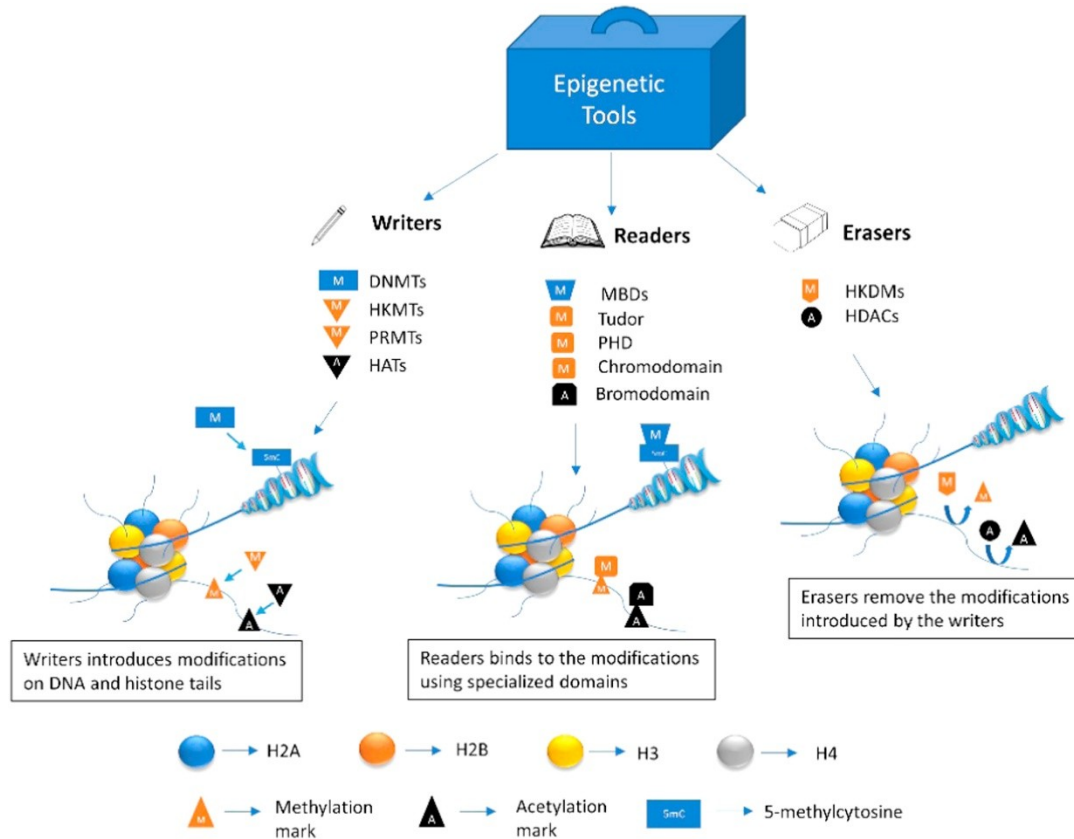


Acetylovaný chromatin – euchromatin
Deacetylovaný chromatin – heterochromatin

Enzymy: histon acetyltransferázy
histondeacetylázy



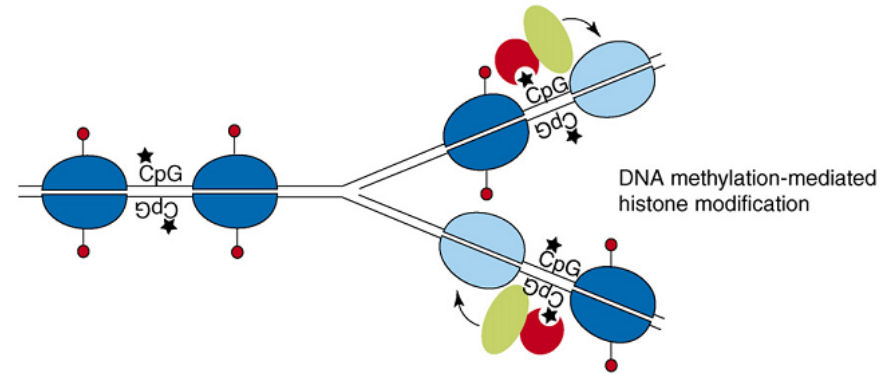
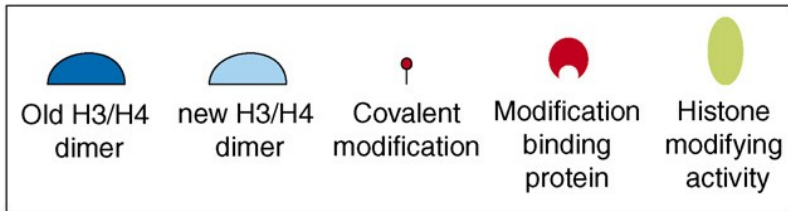
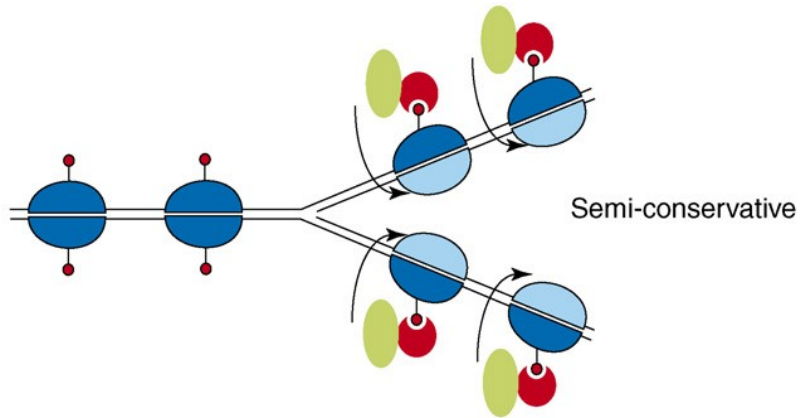
Writers, readers, erasers



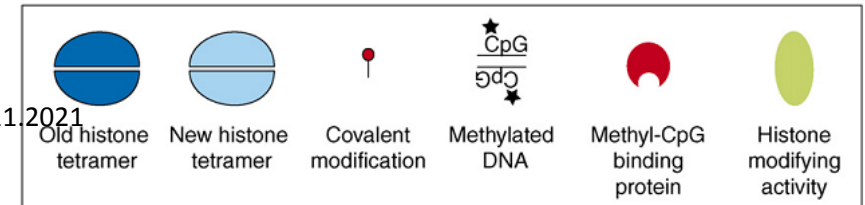
Biswas and Rao, Eur. J. Pharmacol., 2018

Fig. 1. Epigenetic tools. A representation of epigenetic writers, readers and erasers. These enzymes and protein domains carry out most of the [epigenetic modifications](#) on DNA and [histone](#) tails. Apart from the enzymes and protein domains highlighted here, other enzymes and protein domains are also available. DNMTs – [DNA methyltransferases](#), HKMTs – [Histone lysine methyltransferases](#), PRMTs – [Protein arginine methyltransferases](#), HATs – [Histone acetyltransferases](#), MBDs – [Methyl-CpG-binding domains](#), PHD – Plant homeodomain, HKDMs – Histone lysine [demethylases](#), HDACs – [Histone deacetylases](#).

Dědičnost histonových modifikací



24.11.2021



(Martin and Zhang, 2007)

semikonzervativní model

„piggy back“ model (?)

Vztah mezi methylací DNA a modifikacemi histonů

1. Heterochromatinová modifikace H3K9me2 rekrutuje další enzymové aktivity (histodeacetylázu, HP1, DNA methyltransferázy) —————> tvorba kompaktního uspořádání a fixace heterochromatinového stavu
2. V *Arabidopsis thaliana* byly vyřazeny geny pro histon methyltransferázy (SUVH4, SUVH5, SUVH6) —————> aktivace transpozonů spojená s jejich hypomethylací
3. Proteiny obsahující Jumonji doménu jsou schopny odstraňovat methylové skupiny z histonů. V *Arabidopsis* byl identifikován protein IBM1 s Jumonji doménou, který reguluje (snižuje) hladinu methylace CNG v transkribovaných oblastech
4. „piggy – back“ model vs. *de novo* methylace DNA řízená modifikacemi histonů

Biologická úloha RNA

mRNA – kopíruje genetickou informaci z molekuly DNA, přenáší ji do místa, kde dojde k překladu do struktury proteinu

tRNA – překládá kód sekvence bází do sekvence aminokyselin.
cca 80 nukleotidů, koncová sekvence –CCA,
na ni se váže příslušná AK

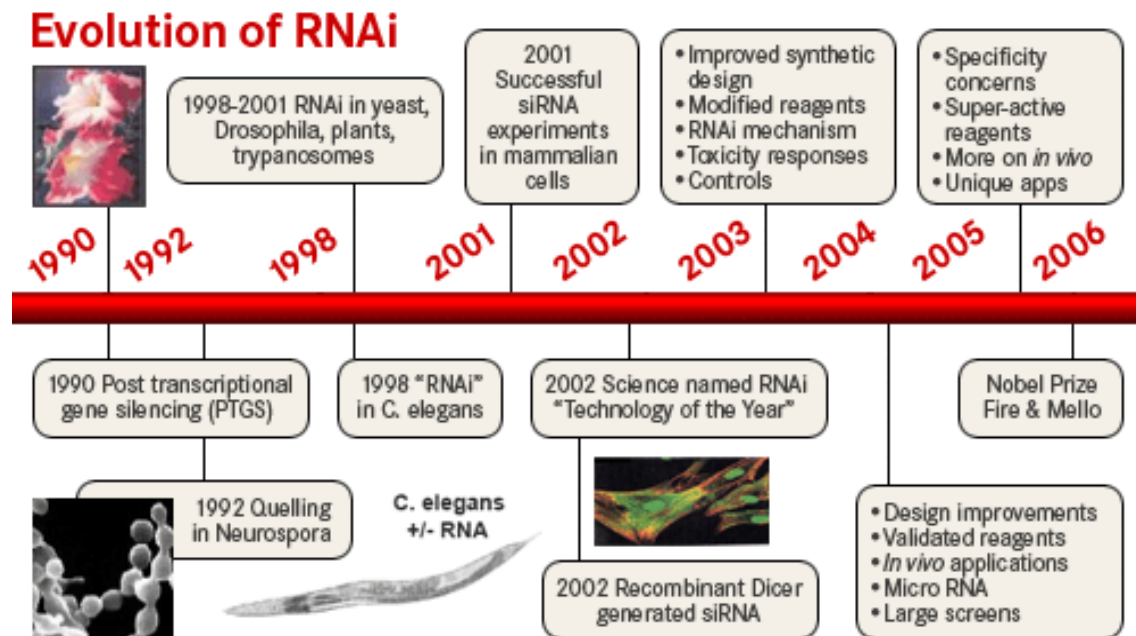
rRNA – tvoří (s proteiny) ribozom.
Prokaryota: 5S, 16S, 23S
Eukaryota: 5S, 5.8S, 18S, 28S

ribozym – (**Ribonucleic acid enzyme**), RNA s katalytickou funkcí
23S rRNA ve velké podjednotce ribozomu katalyzující syntézu
peptidové vazby (peptidyl transferáza)
RNázaP – štěpí RNA, maturace tRNA
Nobelova cena za chemii (1989)

→ představa RNA světa v jistém stádiu evoluce, kdy byly molekuly RNA hlavními biologickými katalyzátory

RNA INTERFERENCE - SHRNUTÍ

Dlouhá dvouvláknová RNA (**dsRNA**; >200 nt) může umlčet expresi cílových genů v různých organismech (*Caenorhabditis elegans*, *Drosophila*, rostliny). Dlouhé dsRNA vstupují do metabolické dráhy nazývané RNA interference (**RNAi**). Dvouvláknová RNA je v reakci katalyzované enzymem **Dicer** štěpena na úseky dlouhé 20-25 nukleotidů, tzv. krátké interferující RNA (**siRNA**). siRNAs jsou začleněny do komplexu obsahující enzymy s ribonukleázovou aktivitou zvaného „RNA-induced silencing complexes“ (**RISC**). Dvouvláknové siRNA jsou rozvolněny, čímž dochází k aktivaci komplexu. siRNA navádějí RISC k molekulám RNA s komplementární sekvencí a dochází ke štěpení těchto molekul, a to blízko středu úseku, který je navázán k vláknu siRNA.



<http://courses.biology.utah.edu/bastiani/3230/DB%20Lecture/Lectures/WormRNAi.html>

**Začalo to červem.....,
ale na počátku byly kytky**

Guo, Kempfues, 1995

Fire, Mello, 1998



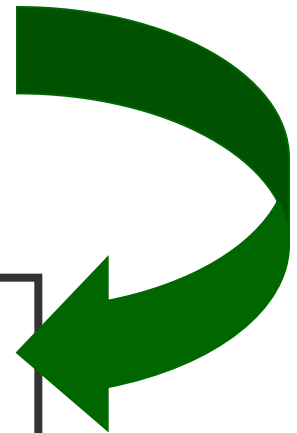
RNAi

Jorgensen et al., 1990

Que, Jorgensen, 1998



PTGS



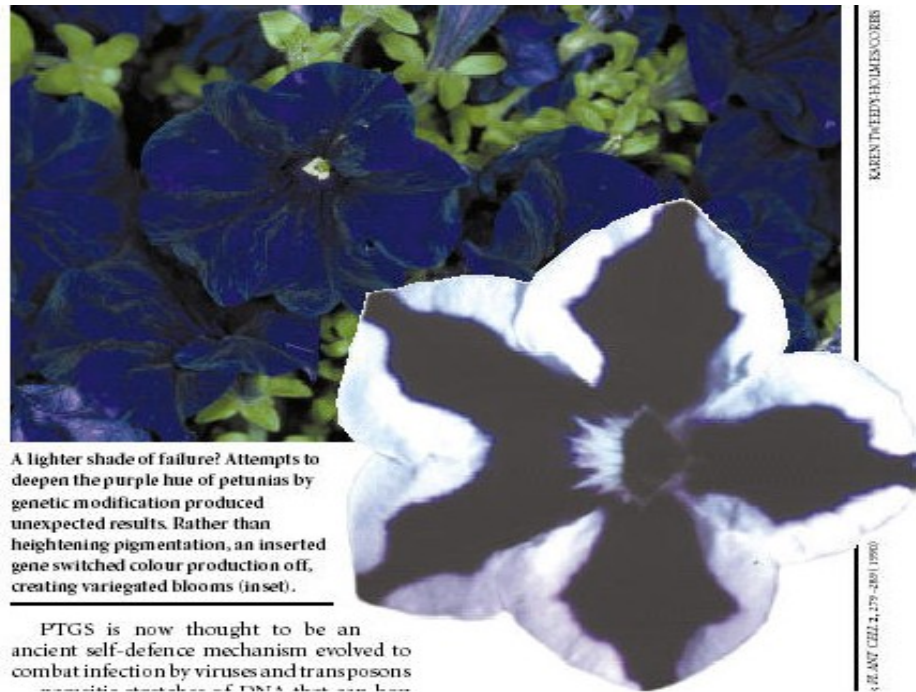
Vlastnosti procesu RNA interference:

* vlastní interferující molekulou je dsRNA (ne antisenseRNA)

* efekt je vysoce specifický

* velice potentní (několik molekul dsRNA v buňce stačí pro vyvolání efektivní odpovědi)

* mobilní (je možno indukovat interferenci v buňkách a tkáních vzdálených od místa injektáže)



**Šlechtění petunií –
zintenzivnění barvy květů.**

**Logický přístup – více kopií
příslušného genu (chsA)
– vyšší exprese**

KOSUPRESE
-přítomnost transgenu
vede k omezení
exprese homologních
(trans)genů



ALE



**žíhané rostliny až zastavení
syntézy barviva**

Začalo to červem....., ale na počátku byly kytky

Guo, Kemphues, 1995

Fire, Mello, 1998



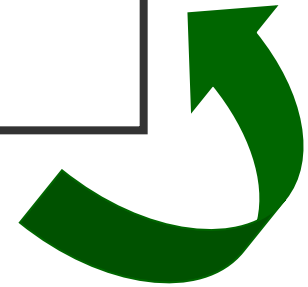
RNAi

Jorgensen et al., 1990

Que, Jorgensen, 1998



PTGS



Vlastnosti procesu RNA interference:

- * vlastní interferující molekulou je dsRNA (ne antisenseRNA)

 - * efekt je vysoce specifický

- * velice potentní (několik molekul dsRNA v buňce stačí pro vyvolání efektivní odpovědi)

- * mobilní (je možno indukovat interferenci v buňkách a tkáních vzdálených od místa injektáže)

INJEKTÁŽE *Caenorhabditis elegans* (hád'átka obecné)

1.

+ **asRNA** → **zablokování
exprese**

+ **sense RNA** → **zablokování
exprese**

XX

- analogie s pokusy na petuniích
- saturace translačních faktorů ☹

2.

+ **mix sense a antisense RNA** → **několikanásobně vyšší
umlčovací efekt**

- základem interference je dsRNA
- existence amplifikačního kroku

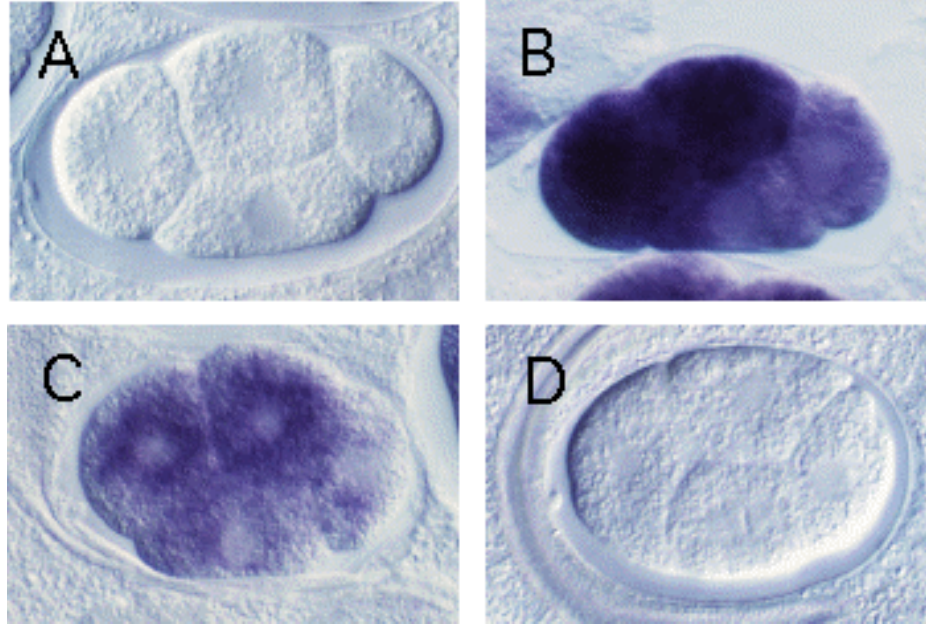


Figure 1. Effects of *mex-3* RNA interference on levels of the endogenous mRNA. Nomarski DIC micrographs show in situ hybridization of 4-cell stage embryos. (A) Negative control showing lack of staining in the absence of the hybridization probe. (B) Embryo from uninjected parent showing normal pattern of endogenous *mex-3* RNA (purple staining). (C) Embryo from parent injected with purified *mex-3* antisense RNA. These embryos (and the parent animals) retain *mex-3* mRNA, although levels may be somewhat less than wild type. (D) Late 4-cell stage embryo from a parent injected with dsRNA corresponding to *mex-3* ; no *mex-3* RNA is detected.

Each embryo is approximately 50 μm in length.

(For details see: Fire et al. '98 "Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* " *Nature* 391: 806-11)

**Začalo to červem.....,
ale na počátku byly kytky**

Guo, Kemphues, 1995

Fire, Mello, 1998



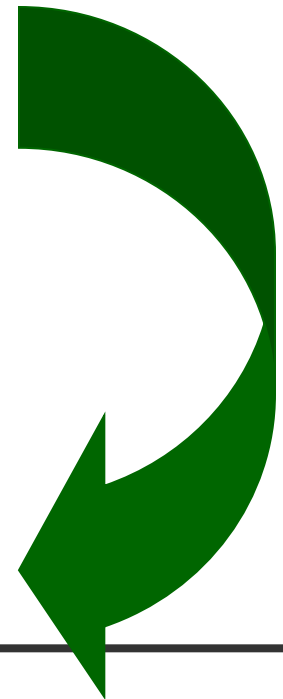
RNAi

Jorgensen et al., 1990

Que, Jorgensen, 1998



PTGS



Vlastnosti procesu RNA interference:

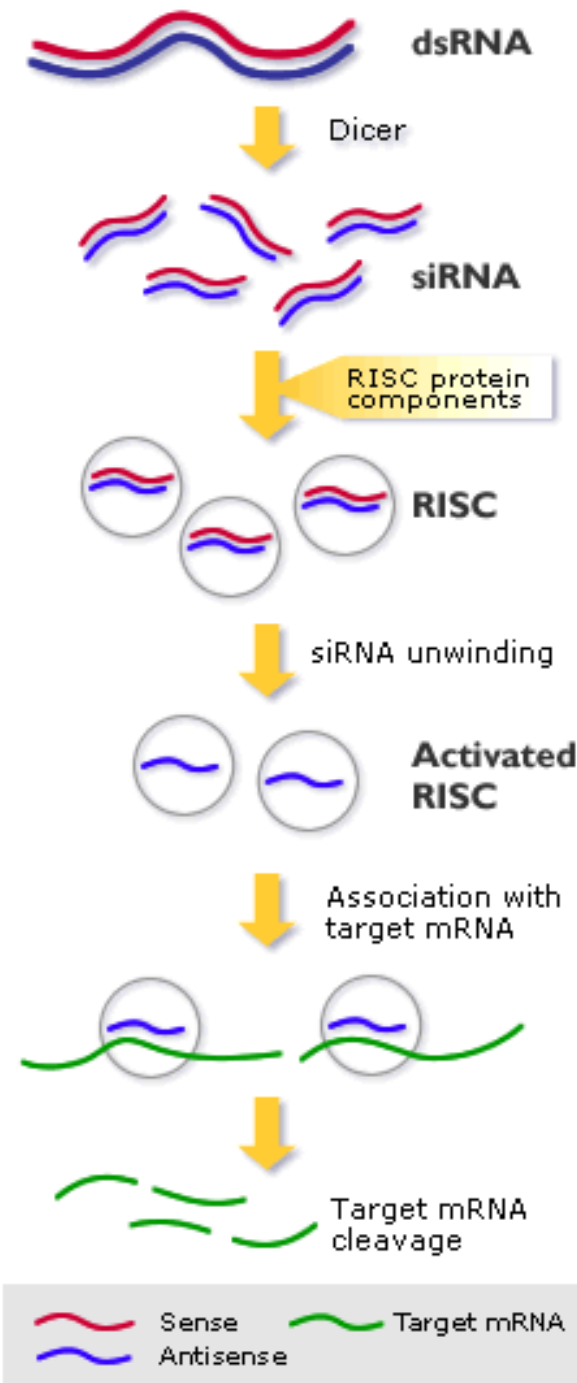
* vlastní interferující molekulou je dsRNA (ne antisense RNA)

* efekt je vysoce specifický

* velice potentní (několik molekul dsRNA v buňce stačí pro vyvolání efektivní odpovědi)

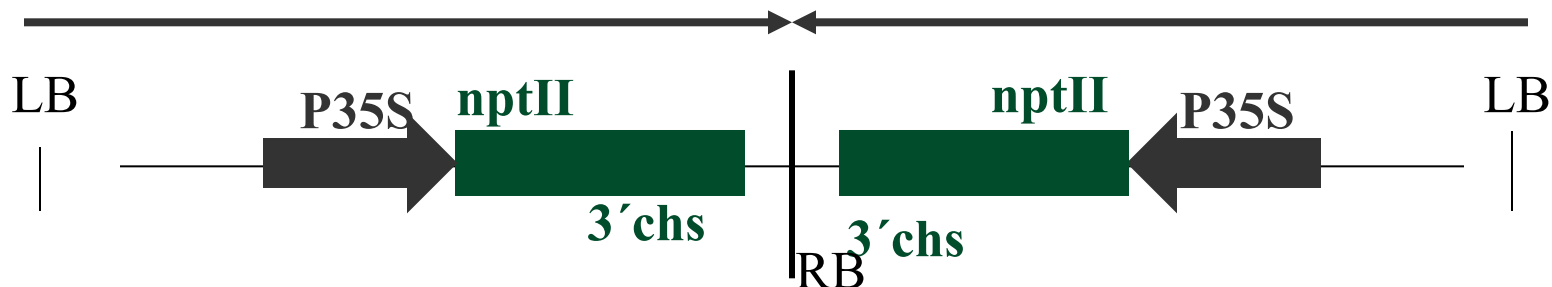
* mobilní (je možno indukovat interferenci v buňkách a tkáních vzdálených od místa injektáže)

Molekulární základ RNAi



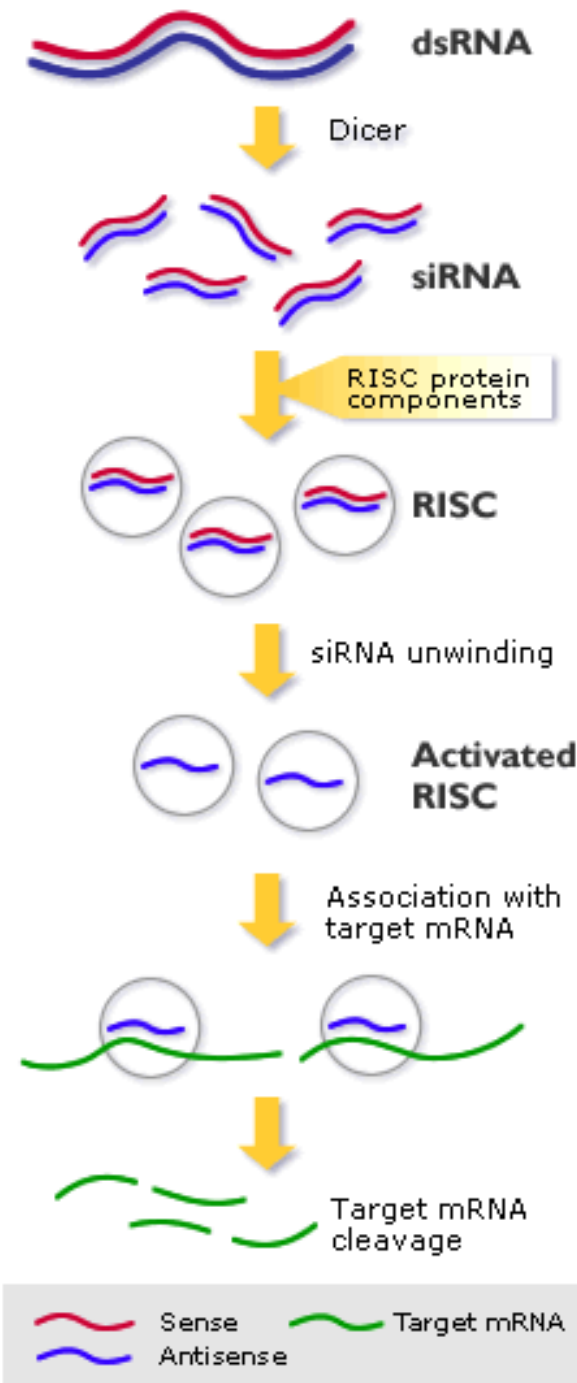
VZNIK dsRNA:

- pokud je transgen uspořádán jako invertovaná repetice – transkripce přes střed IR



- aberantní molekuly mRNA - předčasně terminované, nesprávně procesované - substrát pro RdRP (RNA-dependent RNA polymerase) → katalyzuje syntézu dsRNA
(nebyla identifikována u *Drosophila*, u obratlovců nedávno)

Molekulární základ RNAi



DICER

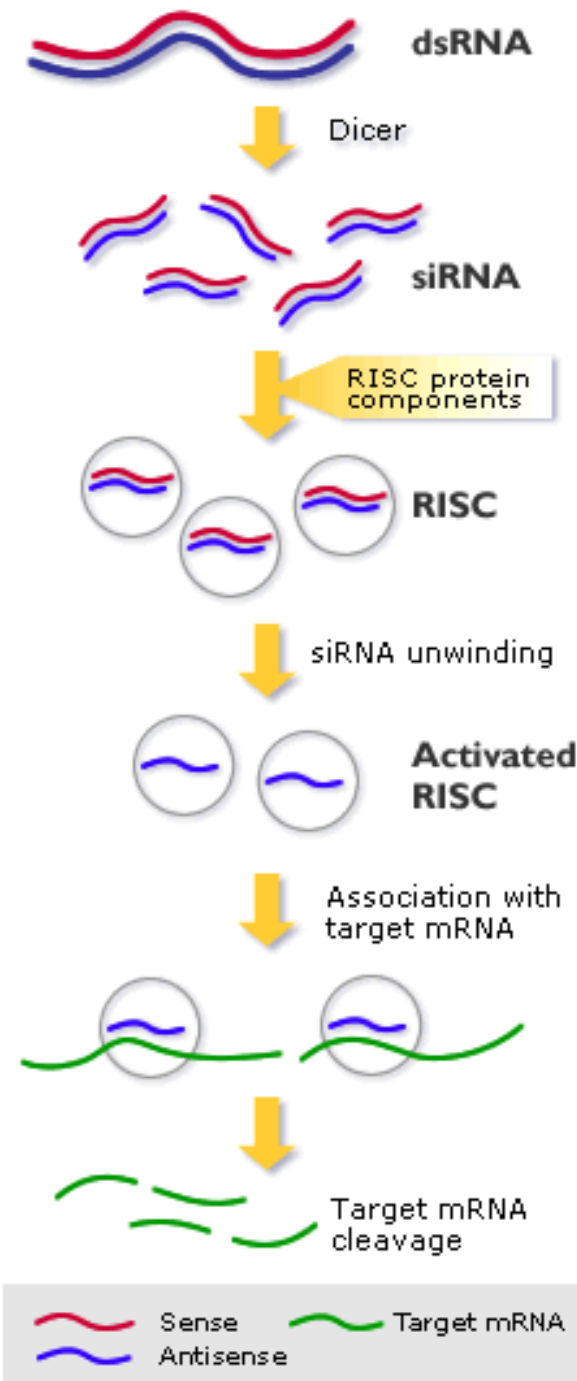
- vlastní iniciátor umlčení, identifikován v *Drosophila*
- RNase III-like enzym (N-konec: helikázová doména, C-konec: RNaseIII doména a dsRNA vazebný motiv)
- štěpení molekul dsRNA → siRNA (21 - 25 nt)
- evolučně konzervativní (houby, živočichové, rostliny)
- ATP - dependentní nukleáza, funguje procesivně, ATP využívá k translokaci podél substrátu
- *C. elegans* s mutací v genu kódujícím DICER – fenotypové defekty, důkaz zapojení RNAi do regulace vývojových procesů

Živočichové, *C. elegans*, *S. pombe* – jeden DICER protein

Drosophila – dva DICER

Rostliny – čtyři!, mutace mají dramatický vliv na vývoj rostliny

Molekulární základ RNAi



RISC

- RNA-induced silencing complex, efektorový komplex, destrukce cílové mRNA
- aktivace RISC
- jednovláknové siRNA - na základě komplementarity bazí navádí komplex k cílovému místu
- helikáza, nukleázy s endo- a exo- aktivitou, protein recA (homology searching activity)

ARGONAUTE – proteinová rodina, interakce s Dicer, součást komplexu RISC.

Proteiny rodiny ARGONAUT (Ago)

Bazické proteiny (schopnost vazby na RNA)

PAZ doména – protein-proteinové interakce

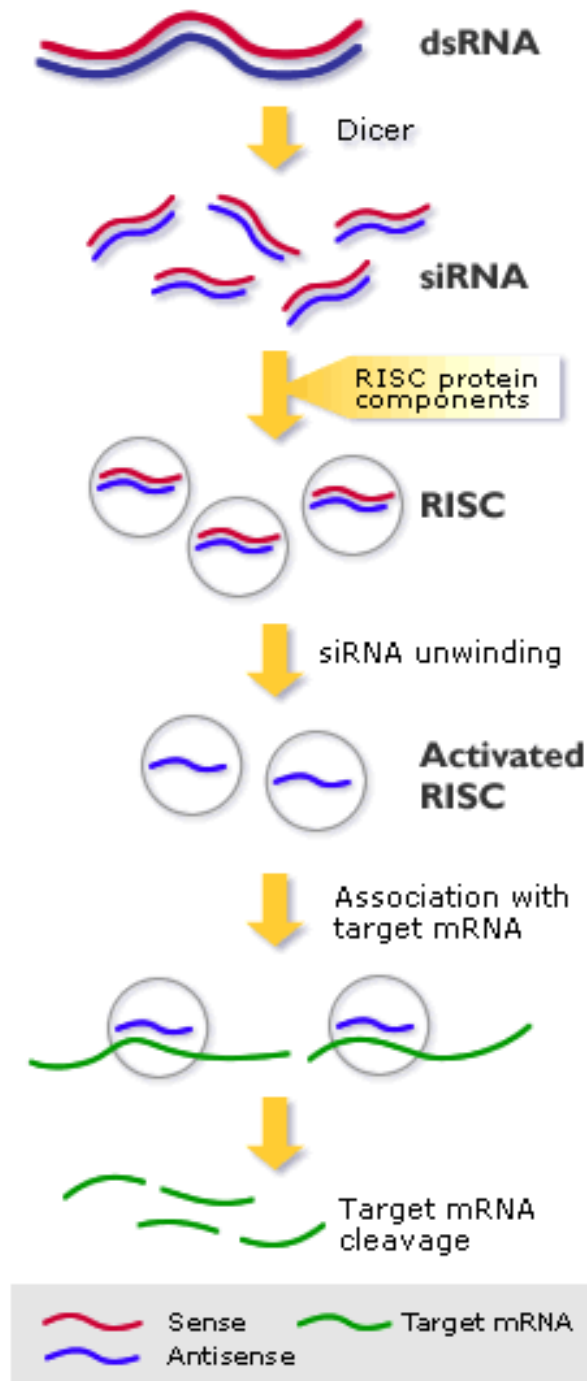
asi přispívá i k vazbě siRNA

PIWI doména – vazba siRNA v RISC

Účastní se produkce siRNA, jejich „nasměrování“ do příslušného efektorového komplexu i vlastní degradace mRNA, u rostlin procesu RDDM.

Multigenové rodiny (Arabidopsis – 10 členů, Drosophila – 4, C. elegans – 3, člověk – 7, myš - 8).

Molekulární základ RNAi

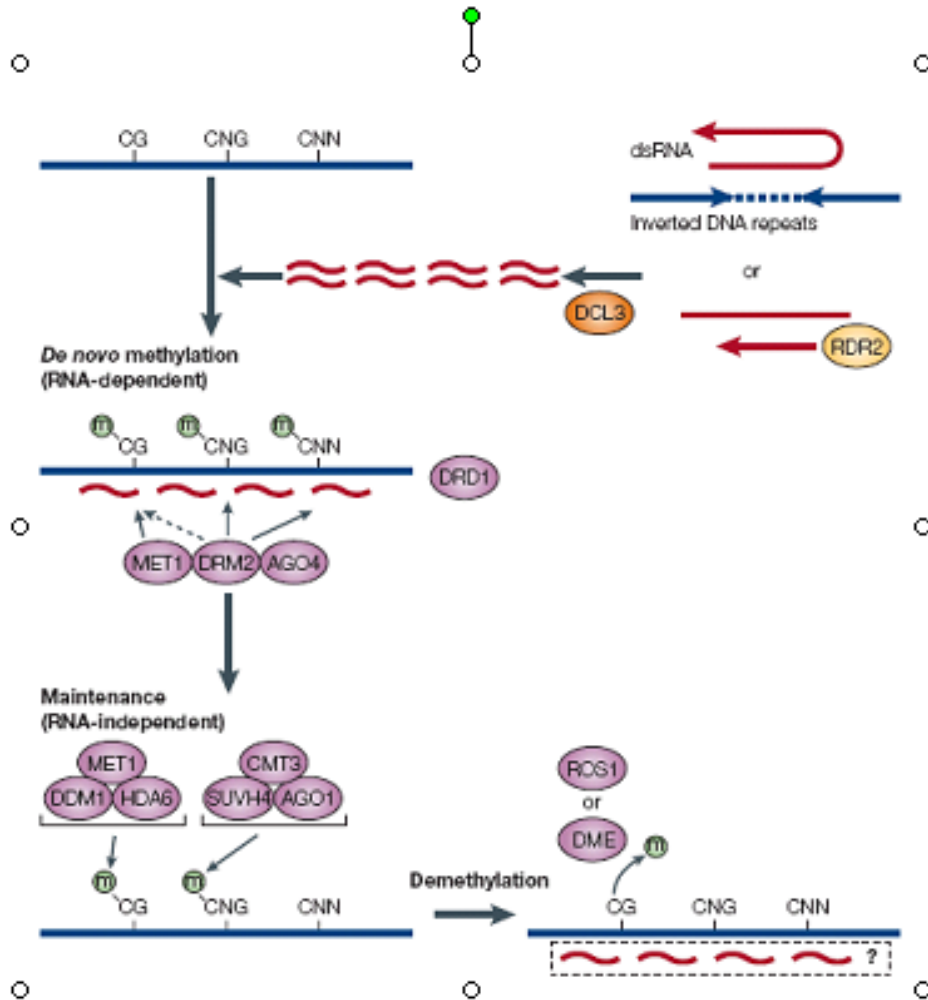


RDDM (RNA-directed DNA methylation); v rostlinách

v rostlinách infikovaných
rekombinantními viroidy
nesoucími min. 300 nt
homologie s kódující sekvencí
→ methylace a PTGS

pokud je homologie
s promotorem → TGS

RDDM



- Vznik dsRNA transkripce přes IR (RNA pol II nebo RNA pol IV) vznik ze ssRNA (RdRP-RDR2)
- dsRNA je procesována DICER, vznikající molekuly řídí metylaci DNA v komplementárních sekvencích (MET1 podílí se na CG *de novo* DRM2 *de novo* všechny kontexty DRD1 chromatin remodelující protein)
- RNA nezávislý proces uchování methylačního obrazu (kromě CNN)

KO-EXISTENCE RNAi a methylace DNA

Rostliny, obratlovci, *Neurospora* - metylovaná DNA a RNAi

Drosophila, *S. pombe* – RNAi a Dnmt2 (?)

C. elegans – RNAi, ale nemá gen pro DNA methyltransferázu

S. cerevisiae – nemá methylaci ani RNAi

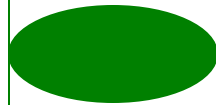
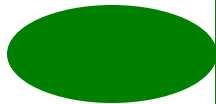
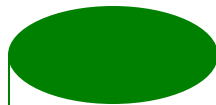
Methylace DNA není univerzálním epigenetickým regulačním mechanismem
existence alternativních mechanismů
produkty genů skupiny Polycomb / Tritorax - udržení genů
ve vypnutém / zapnutém stavu

SYSTÉMOVÉ UMLČENÍ

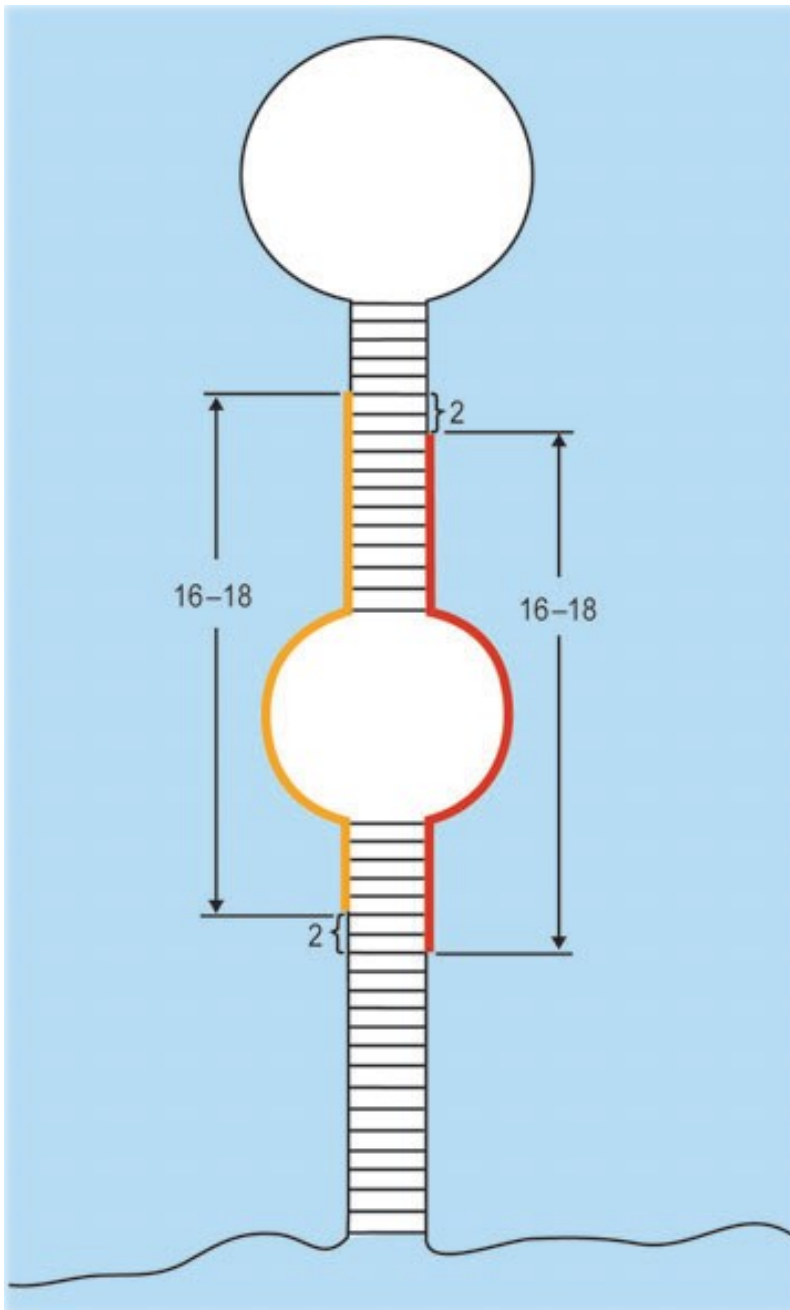
- umlčení se přenáší z podnože na roub pokud existuje sekvenční homologie mezi umlčenou a umlčovanou genovou oblastí (tj. podnož i roub obsahují homologní transgeny) - **signál je sekvenčně specifický**

roub s aktivním transgenem (např. jednokopiová inzerce)

podnož nesoucí umlčený transgen (např. uspořádaný jako obrácená repetice)



- umlčení se přenesse i když jsou transgenní roub a podnož odděleny až 30 cm dlouhým stonkem z wild-type rostliny
- **signál je mobilní**



microRNA

endogenní malé molekuly RNA, kódovány geny **ODLIŠNÝMI** od těch, jež regulují.

21 nt, vazba na parciálně komplementární místa na 3' netranslatovaném konci cílové mRNA - represe translace.

Vznik z vlásenkového prekursoru (70 bp), přepisován z intergenových oblastí.

Živočichové – jeden prekursor společný pro několik miRNA.

Rostliny – každá miRNA má svůj prekursor, maturované miRNA jsou methylované (HEN1).

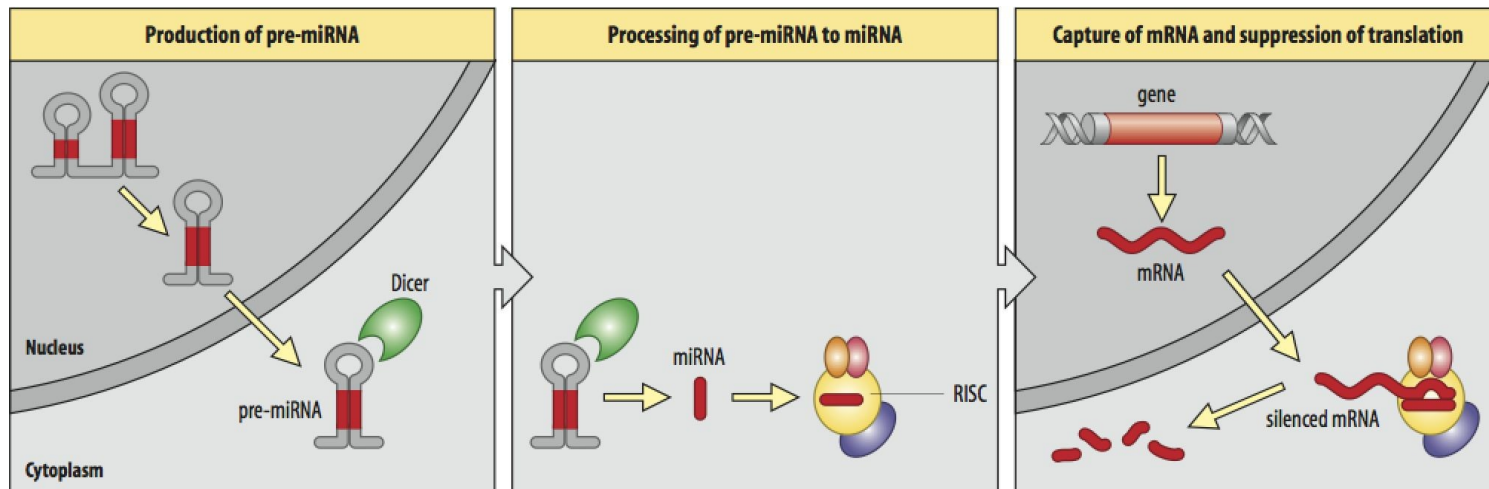
microRNA

ROSTLINY

- degradace mRNA (AGO1)
- vysoká komplementarita s cílovou sekvencí
- 2/3 regulují expresi transkripčních faktorů

ŽIVOČICHOVÉ

- represe translace cílové sekvence spojená s její destabilizací
- limitovaná komplementarita s cílovou sekvencí
- širokospektrý účinek (vývoj)



siRNA A HETROCHROMATIN

Heterochromatin obsahuje repetitivní sekvence a transpozony, transkripčně umlčená oblast.

(Trans)geny inzertované do heterochromatinových oblastí – umlčení (*Drosophila* – PEV).

RNAi – významná role ve formování a umlčení heterochromatinu

X

„umlčený“ heterochromatin není transkribován

RNAi a heterochromatin

Mutantní forma kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*,
blokována RNAi (mutace v genech Dicer, Rdp1, ago)
→ neschopnost tvorby heterochromatinových struktur
v centromerách během buněčného dělení

(Volpe et al., 2002, Science)

Mutantní formy *Tetrahymena thermophila*



molekuly siRNA jsou nezbytné pro procesy rearrangementu
DNA v průběhu konjugace jader

(Mochizuki et al., 2002, Cell)

Telomerové transkripty

Telomery jsou typický heterochromatin (?) (epigenetické modifikace, neobsahují geny, telomere position effect (TPE))

————→ transkripčně neaktivní

V savčích buňkách – TERRA (Telomeric Repeat containing RNA)

100 bp – 9 kb

v jaderné frakci

UUAGGG repeteice

(jenom slabý signál pro CCCUAA)

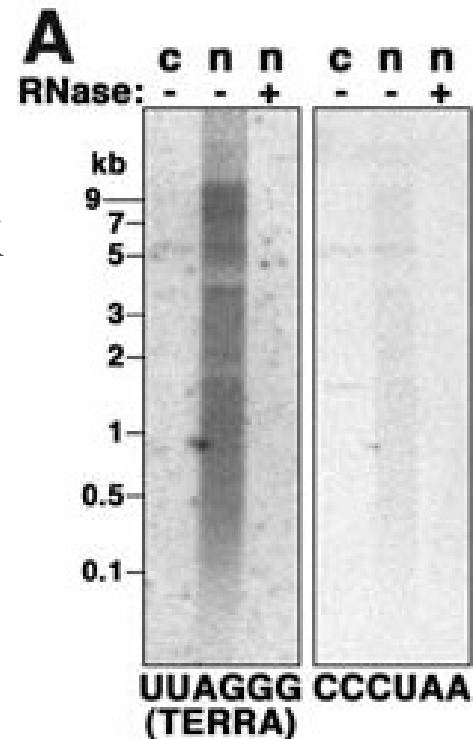
počátek transkripce v subtelomerické oblasti

aspoň část jich zůstává asociována

s telomerami

in vitro experimenty: TERRA ovlivňují

aktivitu telomerázy



RNA polymerázy

RNA pol. I – syntéza pre-rRNA 45S (28S, 18S, 5.8S rRNA)

RNA pol. II – prekursorů mRNA, ncRNA, miRNA

RNA pol. III – tRNA, 5S rRNA a ostatní krátké RNA v jádře a cytoplasmě

RNA polymerázy v mitochondriích a chloroplastech

V rostlinách – **RNA polymeráza IV**

transkripce heterochromatinových oblastí (intergenové sekvence, repete)

vznikají krátké transkripty

substráty pro RDRP

RNA polymeráza V

transkripty zapojené do procesu RDDM

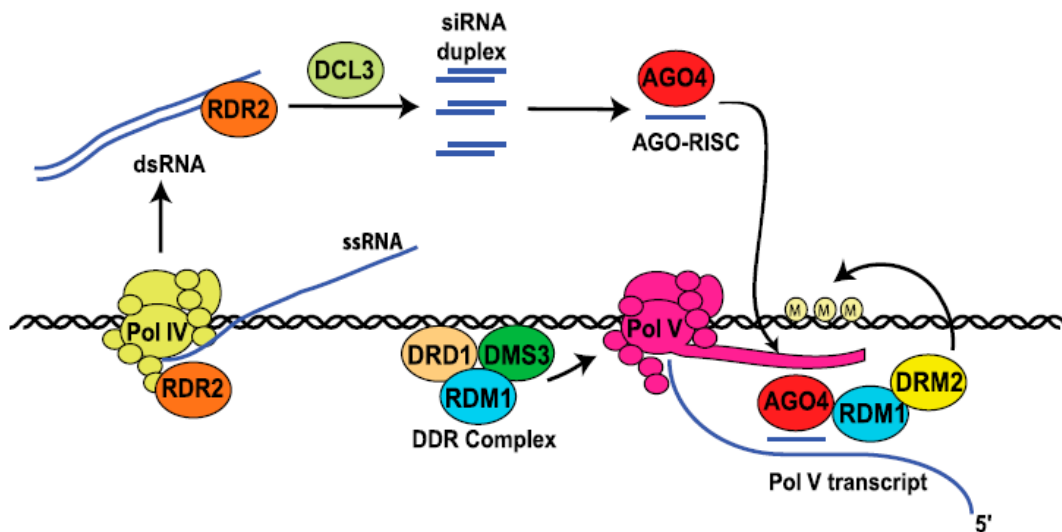


Figure 1. A model for RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. RNA Pol IV transcripts are used as templates by the Pol IV-interacting protein RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE 2 (RDR2). DICER-LIKE 3 (DCL3) cleaves resulting dsRNAs into 24-nt siRNA products, one strand of which is loaded into an ARGONAUTE 4 (AGO4) RISC complex. Independent of siRNA biogenesis, the DDR complex enables transcription by RNA Pol V, whose nascent transcripts serve as scaffolds for the binding of AGO-RISC complexes. AGO4 also interacts with the C-terminal domain of the Pol V largest subunit and RDM1. In turn, RDM1 interacts with the de novo DNA methyltransferase DRM2.

https://www.youtube.com/watch?v=cK-OGB1_ELE