POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI TOM 36 2009 NR 4 (517–537)

EPIGENETYCZNA KONTROLA ROZWOJU ROŚLIN PRZEZ BIAŁKA GRUPY POLYCOMB I TRITORAX*

EPIGENETIC CONTROL OF PLANT DEVELOPEMENT BY POLYCOMB GROUP AND TRITORAX PROTEINS

Maria Joanna OLSZEWSKA

Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej Biotechnologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie: Program ekspresji genów podczas rozwoju zwierząt i roślin jest kontrolowany przez mechanizmy epigenetyczne. Kontrola ta może odbywać się przez metylację/demetylację DNA lub metylację/demetylację specyficznych lizyn w histonach H3 i H4. Grupa białek Polycomb (PcG) jest odpowiedzialna za utrzymanie genów w stanie represji, zaś grupa białek tritorax (trxG) utrzymuje geny w stanie aktywnym. Metylacja lizyn 9. i 27. w histonie H3 oraz metylacja lizyny 20. w histonie H4 powoduje wyciszenie genów. Metylotransferazy histonów (HMTazy) są białkami przynależnymi do PcG. W aktywnej transkrypcyjnie chromatynie ma miejsce metylacja lizyn 4. i 36. w histonie H3, a także lizyn 5. i 8. w histonie H4. Te HMTazy oraz acetylazy są obecne wśród białek trxG.Najwcześniej białka PcG zostały odkryte u *Drosophila melanogaster* jako czynniki niezbędne dla kontroli właściwej ekspresji genów homeotycznych. Białka trxG zapewniają u tego organizmu aktywność genów homeotycznych koniecznych dla rozwoju w poszczególnych segmentach. Kompleksy PcG i trxG stanowią ogólny mechanizm o charakterze konserwatywnym – od owadów do ssaków i roślin. Zarówno w królestwie zwierząt, jak i roślin białka PcG i trxG działają na takie same geny docelowe, głównie geny homeotyczne. Wiedza na temat roli PcG i trxG u roślin jest poparta głównie badaniami przeprowadzonymi na modelowym gatunku – *Arabidopsis thaliana*. PcG u *Arabidopsis* zawiera szereg homologów tych białek obecnych u *Drosophila* i ssaków (p. tab. 1) oraz homologów białka HP1 zwierząt zwanego LHP1 (podobnego do HP1). U zwierząt działanie PcG oparte jest na wielobiałkowych kompleksach PRC1 i PRC2 (ang. *Polycomb Repressive Complexes*). PRC2 zawiera HMTazę dla H3K27me3. U roślin istnieją kompleksy podobne do PRC2 (*PRC2-like*). Sugeruje się, że u roślin LHP1 funkcjonuje podobnie jak PRC1, tzn. uczestniczy w remodelingu chromatyny.U *Arabidopsis* rozwój systemu rozmnażania generatywnego podlega regulacji przez kompleksy podobne do PRC2, które kontrolują rozwój gametofitu żeńskiego (woreczek zalążkowy), bielma i zarodka. Istnieje pogląd, w myśl którego dwa rodzaje kompleksów podobnych do PRC2 regulują odmienne geny docelowe, ale główną grupą genów docelowych dla PcG są kwiatowe geny homeotyczne.Tritorax1 *Arabidopsis* (ATX1) jest bliskim homologiem białka TRX u myszy. Domena SET w ATX przypuszczalnie wykazuje słabą aktywność HMTazy dla H3K4me. Aktywność HMTaz dla histonów H3K4me3 i H3K36me3 wykazują inne białka z kompleksu trxG. Genami docelowymi dla trxG są kwiatowe geny homeotyczne oraz gen FLC, uczestniczący w procesie wernalizacji (p. tab. 3). Metylacja DNA i modyfikacje histonów powodujące wyciszenie genów odpo-

*Praca finansowana z badań statutowych Uniwersytetu Łódzkiego nr 506/040996.

wiadają za ekspresję genów w zależności od pochodzenia rodzicielskiego (tzw. *parent-of-origin effect*). Wśród jedenastu zbadanych genów u *Arabidopsis thaliana* i *Zea mays*, tylko dwa były wyciszane przez białka z PcG – jeden matczyny i jeden ojcowski; w pięciu genach dezaktywacja ojcowskich alleli była spowodowana przez metylację DNA, zaś mechanizm wyciszenia trzech innych ojcowskich alleli jest nieznany (p. tab. 3). Mimo że badania systemów PcG i trxG u roślin w ciągu minionego dziesięciolecia były bardzo owocne, podobnie jak i liczne uzyskane na materiale zwierzęcym, nie jest rozwiązane podstawowe zagadnienie, a mianowicie jaki mechanizm molekularny PcG zapobiega transkrypcji. Nie jest dotąd jasne, czy represyjna metylacja histonów rdzeniowych H3 i H4 jest jedyną funkcją białek PcG, czy też za wyciszenie ekspresji genów odpowiedzialne są modyfikacje podstawowych mechanizmów rządzących transkrypcją.

Słowa kluczowe: białka Polycomb, białka tritorax, rośliny, rozwój.

Summary: Epigenetic mechanisms control gene expression programs during animal and plant development. This control can be mediated by DNA methylation/demethylation or histone H3 and H4 specific lysine methylation/demethylation. In general, Polycomb group (PcG) proteins are responsible for maintaining genes in a repressed state; on the contrary, tritorax group (trxG) proteins maintain genes in an active state. Histone H3 methylation at lysine 9 or 27 and histone H4 at lysine 20 results in gene silencing. Histone methyltransferases (HMTases) are proteins present in PcG. Histone H3 methylation at lysine 4 and 36, as well as histone H3 acetylation at lysine 9 and 14, lysine 5 and 8 in histone H4 take place in transcriptionally active chromatin; HMTases and acetylases are present in trxG proteins. PcG proteins were first discovered in *Drosophila melangaster.* In this fruit fly PcG proteins are indispensable for the control od appropriate expression of homeotic genes, while trxG proteins maintain homeotic genes activity necessary in particular body segments during development. PcG and trxG complexes constitute a general mechanism evolutionary conserved from flies to mammals and plants. PcG and trxG proteins act at the same target genes, mainly on homeotic genes both in animal and plant kingdoms. The knowledge of the role of PcG and trxG in plants is based mainly on the studies of *Arabidopsis thaliana*. PcG in *Arabidopsis* contains several homologs of PcG proteins of *Drosophila* and mammals, (see tab. 1) and a homologue animal Heterochromatin Protein1 (HP1), LHP1 (like HP1). In animals, PcG mechanism is based on two multiprotein complexes, PRC1 and PRC2 (Polycomb Repressive Complexes). PRC2 contains HMTase for histone H3K27me3. In plants there are some PRC2-like complexes. It is suggested that in plants LHP1 has an analogous function to PRC1 in animals, i.e. participates in chromatin remodeling. In *Arabidopsis*, reproductive development is subjected to regulation by the PRC2-like complexes that control femal gametophyte (embryo sac), endosperm and embryo development. It is suggested that two kinds of PRC2-like complexes regulate different target genes, but the floral homeotic genes are the main group of target genes for PcG proteins (see tab. 2). *Arabidopsis* Tritorax1 (ATX1) is a close homologue of TRX protein from mouse. ATX-SET domain probably shows a low activity of HMTase for histone H3K4me. Activity of HMTase for histone H3K4me3 and histone H3K36me3 is displayed by some other protein from trxG complex. Some floral homeotic genes and FLC gene involved in vernalization process are the target genes for trxG (see tab. 3). DNA methylation and histone modification resulting in gene silencing are responsible for parent-of-origin-dependent expression of imprinted genes. In *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*, among eleven genes studied, only two are inactivated by proteins from PcG – one maternal and one parental allele; in five parental alleles inactivation in caused by DNA methylation, and the mechanisms of silencing of three other parental alleles in unknown (see tab. 3). In spite of the fact that during the past decade the studies on PcG and trxG in plants were extremely fruitful, as well, as in animal material, the fundamental question by which molecular mechanisms PcG prevent transcription is not resolved. It is not clear till now if core histone H3 and H4 repressive methylation is the sole target of PcG proteins or whether modifications of basic transcription machinery are responsible for repression.

Key words: Polycomb proteins, tritorax proteins, plants, development.

Skróty nazw genów Arabidopsis thaliana kodujących niektóre bialka PcG i/lub genów podlegających wyciszeniu przez ten system bądź przez metylację DNA: **AG** (*AGAMOUS*) – kwiatowy gen homeotyczny, **AP** (*APETALA*) – kwiatowy gen homeotyczny, **AtFH5** (*Arabidopsis thaliana Homology Protein 5*) – regulator polimeryzacji aktyny, **CLF** (*CURLY LEAF*) – repressor genów tożsamości organów kwiatowych, **EMF2** (*EMBRYONONIC FLOWER2*) – kwiatowy gen homeotyczny; koduje białko uczestniczące

w negatywnej regulacji kwitnienia, **FIE** (*FERTILIZATION INDEPENDENT ENDOSPERM*) – represor kwiatowych genów homeotycznych, **FIS** (*FERTILIZATION INDEPENDENT SEED*) – regulacja transkrypcji, koduje białko o charakterze palców cynkowych, **FLC** (*FLOWERING LOCUS C*) – kwiatowy gen homeotyczny, **FL** (*FLOWERING LOCUS*) – kwiatowy gen homeotyczny, **FT** (*FLOWERING LOCUS T*) – kwiatowy gen homeotyczny, **FUS3** (*FUSCA3*) – czynnik transkrypcyjny kontrolujący rozwój zarodka, **FWA** (skrót nie rozwinięty przez cytowanych autorów) – indukcja kwitnienia, czynnik transkrypcyjny, **LEC1** (*LEAFY COTYLEDON1*) – regulator embriogenezy, **MEA** (*MEDEA*) – koduje białko PcG, **MSI1** (*MULITICOPY SUPRESSOR OF IRA1*) – koduje białko PcG, **PHB** (*PHABLOSA*) – kontroluje morfogenezę liści, **PHE1** (*PHERES1*) – gen z bloku MADS, regulator kwitnienia, **PI** (*PISTILLATA*) – kwiatowy gen homeotyczny, **SEP** (*SEPALLATA*) – kwiatowy gen homeotyczny, **STM** (*SHOOT MERISTEMLESS*) – regulator organogenezy kwiatów I podtrzymywania merystemu wierzchołkowego łodygi, **SWN** (*SWINGER*) – koduje domeny metylotransfera**zy H3K27, VIN3 (*VERNALIZATION INSENSITIVE3*) –** specyficznie indukowany przez wernalizację, **VRN2** (*VERNILIZATION2*) – klucz dla podtrzymania represji transkrypcji FLC.

1. WSTĘP

Przestrzenne i czasowe wzory transkrypcji genów stanowią centralny program rozwojowy u roślin i zwierząt. Represja transkrypcji odgrywa główną rolę w tworzeniu i stabilności tego programu [48]. Jest on realizowany poprzez epigenetyczne procesy, które zachodzą bez zmian w sekwencji DNA; ich kierunek (aktywacja/represja) jest odwracalny.

Istnieją przynajmniej trzy systemy kontroli ekspresji genów: ich wyciszenie poprzez metylację DNA i aktywacja dzięki wycięciu 5-metylocytozyny przez glikozylazę DNA, wyciszanie genów poprzez kompleks białek Polycomb i aktywacja przez system tritorax oraz system interferencji RNA (RNAi).

Kompleksy białek grup Polycomb – PcG (ang. *Polycomb Group*) uczestniczą w mechanizmach epigenetycznych powodujących wyciszenie genów związane ze zmianą programu niezbędną w procesie różnicowania komórek. Kompleksy te zostały wykryte najpierw u *Drosophila*. Wyniki tych badań wykazały, że rodzina białek PcG jest niezbędna dla zapobieżenia niewłaściwej ekspresji genów homeotycznych. Obecnie wiadomo, że kompleksy PcG biorą udział w poszczególnych procesach rozwojowych o charakterze konserwatywnym, bowiem mechanizm ten funkcjonuje również u ssaków i roślin wyższych i związany jest przede wszystkim z wczesnymi etapami ontogenezy (ref. [19, 27, 42]). Pierwsza i – jak dotąd – jedyna wzmianka w języku polskim o systemie PcG u roślin jest w artykule opublikowanym w Postępach Biologii Komórki w 2004 r. [20]. Białka grupy tritorax działają antagonistycznie wobec białek PcG, tj. przywracają wyciszonym genom ich aktywnośc transkrypcyjną (ref. [19, 35, 41, 42]).

Wiadomo, że nieaktywna transkrypcyjnie chromatyna jest w stanie skondensowanym, jej DNA zawiera 5-metylocytozynę, a lizyny (K) 9. i 27. w histonach rdzeniowych nukleosomów w histonie H3 oraz lizyna 20. w histonie H4 ulegają metylacji. Chromatyna w stanie luźnym, aktywna transkrypcyjnie, charakteryzuje się brakiem lub niskim poziomem metylacji DNA oraz metylacją lizyny 4. i 36. w histonie H3. W odniesieniu do roślin wyższych, wyniki te zostały uzyskane u gatunków

okrytozalążkowych (ref. [31]). Ostatnio u dwóch gatunków nagozalążkowych wykazano w chromosomach mitotycznych obecność H3K9me2 i me3 oraz H3K27me1 również w odcinkach euchromatynowych, obok H3K4me2 [7]. U roślin, w przeciwieństwie do zwierząt, rzadko spotyka się trimetylację wymienionych histonów (ref. [7]). Białko kompleksu PcG (z wyjątkiem HP1, ang. *Heterochromatin Protein 1,* niekiedy zaliczano do kompleksu PcG) nie zawsze jest zlokalizowane w gęsto upakowanej chromatynie ani u roślin, ani u zwierząt. Wiązanie białek PcG jest negatywnie skorelowane z obecnością polimerazy II RNA (ref. [19]).

Celem niniejszego opracowania jest przedstawienie stanu wiedzy o strukturze i roli u roślin dwóch systemów – Polycomb i tritorax i tym samym zwrócenie uwagi, że systemy te istnieją także u roślin. Znaczny udział metylacji DNA w represji aktywności genów jest powszechnie znany i dlatego jest wspomniany skrótowo, aby dopełnić informację o mechanizmach wyciszania określonych genów.

2. BIAŁKA PcG I TRITORAX

Jak wspomniano wyżej, białka PcG najpierw badano z powodu ich roli w regulacji homeotycznych genów u *Drosophila.* Do 2008 roku zidentyfikowano w kompleksach PcG u *Drosophila* ok. 17 białek lub ich kompleksów, mniej u człowieka, myszy i rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*, por. tab. 1). Białka PcG tworzą trzy główne kompleksy białkowe: PRC1 (ang. *Polycomb Repressive Complex 1*), PRC2 i PhORc, PRC1 zawiera rdzeń złożony z 4 białek. W skład tego kompleksu wchodzą białka Polycomb (Pc), PSC (*Posterior Sex Combs*), PH (ang. *PoliHomeotic*) i dRing. Kompleksu PRC1 nie wykryto u roślin, co wydaje się być związane z totipotencją komórek roślinnych. W skład kompleksu PRC2 wchodzą ESC (ang. *Extra Sex Comb*) lub jego bliski homolog ESCL. Każdy z tych składników ma jeden lub więcej homologów u ssaków. Trzeci kompleks białkowy w PcG zawiera białko wiążące DNA, PHO (ang. *PleioHomeOtic*), będące homologiem YY1 u ssaków (ref. [42]).

Domeny SET w kompleksie PRC2 są odpowiedzialne za metylację H3K9 i H3K27. U *Drosophila* w kompleksie tym zidentyfikowano białko E(z), którego rolą jest metylacja lizyny w histonie H3, w pozycji 9. i 27. Utrata funkcji przez E(z) powoduje brak mono-, di- i trimetylacji w H3K27. Analogiczne wyniki uzyskano u ssaków w odniesieniu do homologów E(z), tj. E2H2 (ref. [42]).

U roślin białka kompleksu PRC2 mają charakter konserwatywny [34]. Badania kompleksu PRC2 przeprowadzono głównie na *A. thaliana*, ale wiadomo, że ancestralne geny kodujące podjednostki PRC2 są powszechne u wielu gatunków okrytozalążkowych. U *Arabidopsis* wykryto trzy homologi E(z); są to MEA, CLF i SWN, trzy homologi Su(z)12, a mianowicie FIS2, EMF2 i VRN2 oraz pięć homologów Nurf55 (ang. *Nucleosome remodeling factor 55*): MSJ1 do MSJ5. Każdy z tych składników jest niezbędny dla wiązania i metylacji histonów H3 i H4 w nukleosomach (ref. [19]). Rola innych składników PcG u roślin jest omówiona niżej (por. 3).

Homologiem HP1 u roślin jest LHP1 (ang. *Like Heterochromatin Protein 1*). Uważa się, że LHP1 jest funkcjonalnym analogiem roślinnym PRC1, o czym

TABELA 1. Białka związane z funkcjonowaniem PcG i ich homologi wg [19, 42], zmodyfikowane
TABLE 1. Proteins involved in PcG function and their homologues according to [19, 42], modified

Białko *Arabidopsis thaliana*	Kompleks	Homologi		
		Drosophila	Mysz	Człowiek
MEA	FIS PRC2	B(z)	EzH2 EzH1	EzH2
CLF	EMT2 podobny do PRC2 VRN2 podobny do PRC2	E(z)	EzH2 EzH1	EzH2 EzH1
SWN	FIS podobny do P RC2 EMF2 podobny do PRC2 VRN2 podobny do PRC2	E(z)	EzH2 EzH1	EzH2
FIE	FIS podobny do PRC2 EMF2 podobny do PRC2 VRN2 podobny do PRC2	Esc	EED	Eed
FIS2	FIS podobny do PRC2	Su(z)12	SUZ12	SUZ12
EMF2	EMF2 podobny do PRC2	Su(z)12	SUZ12	SUZ12
VRN2	VRN2 podobny do PRC2	Su(z)12	SUZ12	SUZ12
MSI1	FIS podobny do PRC2	p55Nurf55	RpAp48 RpAp46	Brak danych

świadczą m.in. fenotypy mutantów *Lhp1*, wykazujące zakłócenia rozwojowe [46, 48, 54]. Białka te uczestniczą w wygaszaniu transkrypcji i w kondensacji chromatyny (ref. [31]). LHP1 wiąże się z H3K9me3 i z H3K27me3 i wykazuje taką samą lokalizację w obrębie całego genomu [48, 54].

Białka dRing i RINGB uczestniczą w ubikwitynacji lizyny 119. w histonie H2A, co jest związane z wyciszeniem genów (ref. [19]). Tworzenie kompleksu PcG jest procesem integrującym poszczególne składniki. Jeżeli brak jest jednego z nich, np. w wyniku mutacji, w pozostałych może nastąpić utrata ich właściwości w fazie potranskrypcyjnej [42]. U roślin brak homologów CLF i SWN powoduje dedyferencjację komórek i tworzenie tkanki podobnej do kalusa, w obrębie której inicjowane są zarodki somatyczne (ref. [19]).

Po zastosowaniu metody ChIP-on Chip (połączenie metody ChIP – ang. *Chromatin ImmunoPrecipitation* z mikromacierzą) z przeciwciałami skierowanymi przeciwko H3K27me3 [53] stwierdzono, że w siewkach *Arabidopsis* ok. 4 4000 genów należy do genów docelowych dla PcG. Biorąc pod uwagę fakt, że w siewkach jest znaczny udział komórek merystematycznych, ciekawe będzie stwierdzenie, czy profil H3K27me3 zmienia się podczas rozwoju [19]. Przykładem genu docelowego dla kompleksu PcG u *A. thaliana* jest gen FIS, który działa specyficznie podczas rozwoju gametofitu i nasion (por. 3.2). Należy zaznaczyć, że – podobnie jak w królestwie zwierząt – rozmaite kompleksy PcG mają wspólne geny docelowe u roślin; są to geny *PHE1* (z zespołu genów MADS) i *FUS3* [22] (por. tab. 2).

Nie jest dotąd poznany mechanizm kierujący kompleks PcG do odpowiedniego genu docelowego. Być może pewną rolę odgrywa białko Pho (u *Drosophila*) i YY1 (u człowieka – por. tab. 1). Białko Pho jest bowiem jedynym białkiem PcG zdolnym

do specyficznego wiązania z DNA. Jest ono zdolne do gromadzenia PRC2 i PRC1 w docelowym *loci*. U *Drosophila* istnieją w DNA specyficzne regulatorowe elementy długości kilkuset pz, zwane PRES (ang. *Polycomb Response Elements*), będące miejscem, do którego doprowadzane są kompleksy nie tylko PcG, ale również białka kompleksu tritorax (por. niżej) (ref. [35]). Analogicznych struktur nie wykryto dotąd ani u ssaków, ani u roślin (ref. [19, 42]). Przyjmuje się, że u *Drosophila* kombinacja rozmaitych czynników transkrypcyjnych i nieznanych dotąd elementów doprowadza białka PcG do ich miejsc docelowych [42].

W królestwie zwierząt obszar genu, do którego przyłącza się kompleks PRC2 i zawierający H3K27me3 może znajdować się w różnych jego częściach. U roślin nieliczne tylko dane wskazują zarówno na możliwość zajmowania dużych domen, jak np. w obrębie docelowych genów AG i STM [40], jak i lokalizacji w obrębie regionu 2 we wspomnianym genie *PHE1* [22].

Geny wyciszone przez kompleks PcG nie są trwale nieaktywne, ponieważ ich aktywność jest przywracana przez białka kompleksu TrxG (ang. *Tritorax Group*). Geny *TrxG* kodują ewolucyjnie konserwatywną rodzinę białek, których rola polega na regulacji specyficznych wzorów ekspresji [25]. U *Drosophila* istnieją cztery kompleksy TrxG; wśród nich istnieje kompleks TAC1 (ang. *Tritorax Acetylation Complex 1*), który zawiera acetylotransferazę histonów (ref. [34]). Acetylacja histonów zachodzi w nukleosomach aktywnej transkrypcyjnie chromatyny (ref. [31]). Wyniki genetycznej analizy mutantów *trx* sugerowały, że białka trx działają antagonistycznie wobec białek PcG. Hipoteza ta została potwierdzona przez wykazanie, że geny docelowe są pozytywnie regulowane przez białka trx, również u roślin. Stwierdzono, że u mutantów genu *CLF* z kompleksu PcG następuje ektopowo ekspresja genu *AG*. Natomiast mutanty *trx* u *Arabidopsis* wykazują zredukowaną ekspresję *AG*, defekty w rozwoju kwiatów i późniejsze kwitnienie. Podwójny mutant *df;atx* nie wykazuje ektopowej ekspresji *AG* oraz charakteryzuje się morfologią liści i czasami kwitnienia podobnymi, jak u formy dzikiej (ref. [19]). U *Drosophila* Trx i Ash1 (ang. *Absent, small or homeotic discs1*) są białkami domeny SET i wykazują aktywność metylotransferazy histonu H3K4(HMTazy), obecnego w aktywnej transkrypcyjnie chromatynie. Ponadto wykazano, że obecność białka Ash1 z kompleksu TrxG zapobiega trimetylacji H2K27, H3K9 i H4K20 (obecnej w nukleosomach chromatyny nieaktywnej transkrypcyjnie) regionu promotorowego aktywnego genu docelowego dla PcG. Białka Trx występowały niezależnie od tego, czy gen był w stanie włączonym („*on*"), czy wyłączonym („*off*") [33]. Podobnie u roślin – ATX1 jest obecne zarówno w aktywnych, jak i wyciszonych loci docelowych dla PcG [36].

Usunięcie wyciszenia ekspresji genów, spowodowanym przez metylację cytozyny w DNA oraz lizyn 9. i 27. w histonie H3 i lizyny 20. w histonie H4, jest spowodowane przez procesy demetylacji. Wiadomo, że demetylacja 5-metylocytozyny w DNA odbywa się za pośrednictwem glikozydazy 5-metylocytozyny, zwanej DEMETER (DME) (ref. [6]). Natomiast do niedawna wydawało się, że metylacja histonów jest procesem nieodwracalnym. W 2007 roku zidentyfikowano liczne demetylazy histonów, które uczestniczą w usuwaniu grup metylowych w H3K9, H3K36, H3K27 i H3K4 (ref. [21, 45]). Szereg demetylaz histonów wskazuje tkankowo-specyficzną aktywność (ref. [21]). W aktywnej transkrypcyjnie chromatynie (euchromatynie) ma miejsce mono-, di- i trimetylacja lizyny 4. w histonie H3

(ref. [31]). Proces ten jest przeprowadzany przez kompleks białek COMPASS (u drożdży) lub TAC1 (u *Drosophila*), które zawierają składniki kinazy zależnej od cykliny (kompleks Ctk). Ctk fosforyluje C-terminalną domenę największej podjednostki polimerazy II RNA. Poziomy metylacji histonu H3K4 są regulowane przez Ctk1, Ctk2 i Ctk3, będące składnikami kompleksu Ctk [25, 50].

Zaproponowano [42] cztery podstawowe stany genów docelowych dla PcG: 1 – zrównoważony, 2 – wyciszony, 3 – aktywny, 4 – niemy (ang. *mute*). W stanie **zrównoważonym** obecne są przynajmniej niektóre składniki aktywujące transkrypcję. Wprawdzie polimeraza II RNA jest związana z regionem promotora, ale gen jest utrzymywany w stanie wyciszenia w wyniku obecności kompleksu PcG oraz H3K27me3. Równowaga jest spowodowana obecnością kompleksu trx; oba kompleksy są związane z PRE. W tym stanie może zachodzić transkrypcja, ponieważ histon H3K4me3 jest w regionie promotora, ale jest ona mało wydajna, o czym świadczy niski poziom mRNA. W stanie **wyciszonym** kompleksy PcG powodują metylację histonu H3K27; mimo że trx jest związany z PRE, inicjacja transkrypcji jest zablokowana, brak jest H3K4me3 oraz kompleksu COMPASS. W stanie **aktywnym** obecny jest kompleks COMPASS, zaś w regionie promotora – H3K4me. Transkrypcja jest intensywna. Stan nazwany **niemym** jest trudny do interpretacji, ponieważ gen nie jest połączony z PcG, brak jest H3K27me3, ale również nie występuje trx, H3K4me, ani polimeraza II RNA, a w konsekwencji brak jest transkrypcji.

Wprawdzie charakterystyka wymienionych stanów genów oparta jest na danych uzyskanych z najbardziej zaawansowanych badań epigenetycznej regulacji transkrypcji, jakie zostały przeprowadzone na *Drosophila*, ale można przyjąć, że analogiczne stany występują u ssaków w odniesieniu do genów docelowych dla PcG. U roślin opisano stan zrównoważony w odniesieniu do genu *AG*, który jest genem homeotycznym, kluczowym dla regulacji kwitnienia [36]. Jest prawdopodobne, że w stanie niemym, poza wyciszeniem ekspresji genów, może zachodzić wyciszenie potranskrypcyjne [41]. Wykazano [53], jak wspomniano wyżej, że u *Arabidopsis thaliana* trimetylacja lizyny 27. w histonie H3 jest głównym mechanizmem wyciszania znacznej liczby, bo aż ok. 4 400 genów. Obecność H3K27me3 jest w znacznej mierze niezależna od innych markerów epigenetycznych, takich jak metylacja RNA lub RNAi, ponieważ regiony zawierające H3K27me3 nie zachodzą ani na zmetylowany DNA, ani na klastry siRNA. Domeny chromatyny zawierające H3K27me3 w nukleosomach są ograniczone do transkrypcyjnych, tj. potencjalnie aktywnych regionów poszczególnych genów.

3. UDZIAŁ KOMPLEKSÓW POLYCOMB I TRITORAX ORAZ METYLACJI DNA W EPIGENETYCZNEJ KONTROLI POSZCZEGÓLNYCH ETAPÓW ROZWOJU ROŚLIN

Genetyczne dowody sugerują, że u roślin istnieją rozmaite kompleksy PcG, regulujące odmienne szlaki rozwojowe. Obok istotnego w procesach rozwojowych

wyciszenia genów za pośrednictwem PcG (tab. 2), w regulacji faz cyklu życiowego roślin znaczną rolę odgrywa metylacja DNA oraz sRNA (por. niżej, 3.1–3.5).

W tabeli 2 podane są dowiedzione lub przypuszczalne role białek PcG oraz geny docelowe dla tych białek [34, 39]. Z danych tych wynika, że rolą wszystkich tych wymienionych białek jest wyciszanie genów, które zachodzi w różnych fazach rozwoju roślin oraz że większość wymienionych białek PcG funkcjonuje jako HMTazy w odniesieniu do lizyny 27. w histonie H3. Należy przypomnieć, że do pełnego wyciszenia genów docelowych konieczna jest także metylacja H3K9me3; obecność tylko jednego typu zmetylowanego histonu nie jest wystarczającym wyznacznikiem [40]. Białko CLF jest zlokalizowane w jądrze, ale zanika podczas mitozy, jak to wykazano po wprowadzeniu genu sprzężonego *CLF-GFP* [40].

U *Arabidopsis* CLF, MEA, SWN i FIE współdziałają z innymi białkami podobnymi do PRC2 (por. tab. 1). MEA, MSI1, FIE i FIS2 działają razem w kompleksie opisanym jako FIS-PRC2 lub MEA-FIE, które powodują represję PHE1 podczas rozwoju nasion [34].

Obok wyciszania genów za pośrednictwem białek z kompleksu podobnego do PRC2 (tab. 1), u roślin w tym procesie może brać udział wspomniane wyżej (por. 2) białko LHP1 oraz, również podobne do HP1, białko zwane TERMINAL FLOWER2 (TFL2). TFL2 odgrywa szczególną rolę w regulacji zakwitania, zatem zostanie omówione w części

TABELA 2. Białka PcG i trxG u *Arabidopsis thaliana*, ich rola podczas rozwoju, geny docelowe i funkcje przewidziane na podstawie homologii z białkami u zwierząt; wg [34, 39], zmodyfikowane

TABLE 2. *Arabidopsis thaliana* PcG and trxG proteins, their role in development, target genes, predicted function from their animal homologues; according to [34, 39], modified

Białko PcG	Regulowany proces rozwojowy	Geny docelowe	Przewidziana funkcja
MEA	Represja FIS	*PHE1, FUS3,MEA*	HMTaza dla H3K27me3
CLF	Represja kwiatowych genów homeotycznych	*AG, AP3, KNAT2, STM, AHL17,MEA*	HMTaza dla H3K27me3
SWN	Wymiennie z CLS	*AG, STM, MEA*	Brak danych
FIE	Represja FIS, represja kwiatowych genów homeotycznych	*PHE1, MEA, AG, AP3, KNAT2,STM, BP, AGL17,LFY,MEA*	Zwiększenie aktywności HMTazy dla H3K27me3
MSI1	Represja FIS, represja kwiatowych genów homeotycznych	*PHE1, MEA, AG,AP3*	Zwiększenie aktywności HMTazy dla H3K27me3
FIS2	Represja FIS	*AGL17, PHE1, MEA*	Brak danych
EMF2	Represja kwiatowych genów homeotycznych	*MEA, AG, STM*	Zwiększenie aktywności HMTazy dla H3K27me3
VRN2	Wernalizacja	*MEA, FLC*	Brak danych
Białko trxG ATX1	Derepresja genów	*AG, PI, AP3, FLC*	Metylacja H3K4 ?
EPS FFS	Derepresja genów	*FLC*	Metylacja H3K4me3 H3K36me3

3.5. Białka TFL/LHP1 mają setki miejsc docelowych w genomie; większość z nich odpowiada genom zlokalizowanym w euchromatynie (ref. [48]).

Wśród białek trxG u *Arabidopsis* genami docelowymi dla ATX1 są *AG, AP3* i *FLC*, zaś ich funkcja jest prawdopodobnie spowodowana obecnością HMTazy w odniesieniu do H3K4. Gen *EFS* (*EARLY FLOWERING IN SHORT DAYS*) oprócz kodowania tej metylazy koduje też HMTazę dla H3K36, modyfikację histonu H3 również charakterystyczną dla chromatyny aktywnej transkrypcyjnie. Genem docelowym dla białka EFS jest *FLC* [34].

Metylacji DNA, procesowi powszechnie uznanemu za mechanizm blokujący aktywność transkrypcyjną, u roślin podlegają przede wszystkim geny ruchomych elementów [49]. Mimo że metylacja DNA u roślin jest od dawna badana, ciągle nie jest jasne, w jakim stopniu modyfikacja ta kontroluje procesy rozwojowe. Nie budzi wątpliwości udział metylacji DNA w imprintingu genomowym (por. tab. 3 i poniżej część 4).

Przynajmniej 1/3 genów potencjalnie aktywnych jest metylowana w regionie kodującym, podczas gdy tylko 5% – w regionie promotora. Geny ze zmetylowanym promotorem mają dużo wyższy poziom specyficzności tkankowej [44], w związku z czym metylacja DNA, poza regionami promotora lub innymi regulatorowymi, zwykle nie wpływa na ekspresję takich genów [49]. U roślin transgenicznych lub u mutantów ze zredukowaną metylacją DNA następuje zakłócenie ekspresji genów *AP* i *SUP*, ale brak jest dowodów wskazujących na udział metylacji DNA w kontrolowaniu ekspresji tych genów u form dzikich. Jak się obecnie wydaje, jedynymi wyjątkami są geny *PHB* i *PHAVOLUTA*, kontrolujące morfogenezę liści. U roślin są aktywne glikozydazy DNA, np. DEMETER (DME), wycinające zmetylowane cytozyny, co powoduje reaktywację genów (ref. [39]).

Wprowadzona ostatnio metoda LAM (ang. *Laser-Assisted Microdissection*) umożliwia izolowanie wybranych komórek lub ich grup ze skrawków tkanek odpowiednio utrwalonych. Dzięki zastosowaniu tej metody można było zbadać zmiany epigenetyczne już we wczesnych stadiach embriogenezy (por. niżej, 3.1–3.3) [4].

3.1. Gametogeneza

Rozwój gametofitu żeńskiego wydaje się być regulowany za pośrednictwem kompleksu PRC2, o czym świadczą zakłócenia w mutancie *mea* u *Arabidopsis*. U takiego mutanta w gametoficie, tj. w woreczku zalążkowym (powstałym z jednej z megaspor, produktu mejozy) mogą tworzyć się struktury podobne do nasion [34].

Więcej informacji uzyskano w toku badań rozwoju łatwiejszego w preparatyce gametofitu męskiego (powstającego w wyniku podziału mikrospor, produktu mejozy), tj. ziaren pyłku, zawierającego dwie komórki plemnikowe i jedną komórkę wegetatywną. U lilii (*Lilium longiflorum*) w jądrze wegetatywnym następuje hypoacetylacja lizyn 5. i 8. w histonie H4. Zwiększenie poziomu acetylacji ma miejsce dopiero podczas rozwoju łagiewki pyłkowej, w której jądro wegetatywne odgrywa znaczną rolę. W jądrze tym podczas rozwoju gametofitu i wzrostu łagiewki pyłkowej wykazano korelację między wyższym poziomem metylacji DNA i obniżoną acetylacją

histonu H4. Nie stwierdzono zmian w obu tych wskaźnikach w jądrze generatywnym podczas rozwoju gametofitu [14].

W późniejszych badaniach gametofitu męskiego zwrócono uwagę na pojawienie się wariantów histonu H3, które są syntetyzowane i włączone do nukleosomów niezależnie od replikacji DNA. Obecność wariantu histonu H3.3 charakteryzuje aktywną transkrypcyjnie chromatynę zarówno w królestwie roślin, jak i zwierząt [26]. W przeciwieństwie do obecnych w licznych kopiach genów kodujących podstawowe (tzw. kanoniczne) histony, geny kodujące warianty histonów zwykle występują w pojedynczych kopiach, zaś poszczególne warianty są specyficzne tkankowo (ref. [30]). Jądra gametofitu męskiego u *Arabidopsis* zawierają warianty histonu H3, a mianowicie H3.3 [12]. W komórce generatywnej dojrzałego ziarnka pyłku *Lilium longiflorum* istnieje 5 wariantów histonu H3; wariant gH3 jest równomiernie rozmieszczony w obrębie chromatyny. Zgodnie z przytoczonymi wyżej wynikami, w jądrze wegetatywnym jest niski poziom metylacji H3K4, w przeciwieństwie do komórki generatywnej [30]. Na podstawie przytoczonych danych można się domyślać, że regulacja ekspresji genów podczas rozwoju gametofitu zachodzi z udziałem m.in. systemów PcG i tritorax.

Regulacja proliferacji komórek podczas rozwoju generatywnego najpełniej została zbadana w odniesieniu do kompleksu MEA-FIE. Składa się on z białek PcG klasy FIS: MEA, FIE i FIS2. Są one homologami białek u *Drosophila*, odpowiednio: E(z), ESC, Suppresor of zeste 12 ([SU(z)12]). Ponadto kompleksy u roślin i zwierząt zawierają homologi białek *Drosophila* – p55 (por. tab. 1) oraz powtórzenia zwierzęcego WD40, u *Arabidopsis* znanego jako MSI1 [1].

Podczas gametogenezy rodzicielskie allele MEA są poddane odmiennej regulacji transkrypcji. MEA ulega wyciszeniu w gametoficie męskim, zaś jego transkrypcja jest aktywowana w centralnej komórce woreczka zalążkowego, w genomie pochodzącym z gametofitu męskiego (ref. [15], por. także niżej).

3.2. Okres przejściowy od organizmu macierzystego do wczesnych etapów embriogenezy

U roślin, podobnie jak u zwierząt, podczas wczesnych etapów embriogenezy ma miejsce matczyna kontrola syntezy białek [9]. Mimo że u kukurydzy dekondensacja chromatyny jądra komórki plemnikowej zaczyna się bezpośrednio po kariogamii i postępuje aż do stanu umożliwiającego transkrypcję [38], aktywacja genomu męskiego jest opóźniona w porównaniu z genomem matczynym [9].

Białka systemu PcG kodowane przez *MEA, FIS2* i *FIE* zapobiegają podziałom komórki centralnej przed zapłodnieniem (ref. [20]). U *Arabidopsis thaliana* wykryto dwa szczyty ekspresji MEA: jeden przed zapłodnieniem i drugi po zapłodnieniu [22]. O roli białek MEA, FIS2 i FIE świadczą fenotypy mutantów klasy *fis-mea* oraz mutantów *fie, fis2* i *msi1*. U takich mutantów, zarówno bez zapłodnienia, jak i po zapłodnieniu, zachodzi nienormalna proliferacja komórek. Rozwój nasion, które dziedziczą allele mutanta *fis* od matki, jest całkowicie zablokowany, zaś zaczątek nasienia ostatecznie zamiera wraz z zarodkiem zatrzymanym w rozwoju w późnym

stadium serca. Bielmo nie ulega celularyzacji i zawiera więcej jąder niż formy dzikie (ref. [1, 13, 17]). FUS3, niedawno zidentyfikowany gen u *A. thaliana*, koduje czynnik transkrypcyjny i jest genem docelowym dla kompleksu FIS-PRC2. Gen ten ulega ekspresji w zarodku i w bielmie (ref. [34]).

Metylacja DNA odgrywa znaczną rolę w realizacji prawidłowego wzoru rozwojowego zarodka. U znacznej liczby mutantów *met1* (MET1 metyluje cytozyny w dinukleotydach CpG) oraz u mutantów *met-cmt3* (chromometylaza metyluje cytozyny w trinukleotydach CpNpG i CpNpN) mają miejsce niewłaściwe wzory kierunku podziałów komórek, zakłócenia polarności i gradientu auksyn oraz zaburzenia ekspresji genów specyficznych dla tożsamości zarodka [52].

3.3. Rozwój bielma (endospermy)

Bielmo rozwija się wtórnie z diploidalnej zawierającej dwa genomy haploidalne z gametofitu żeńskiego komórki centralnej woreczka zalążkowego w wyniku zapłodnienia przez jedną z dwóch komórek plemnikowych (druga z nich łączy się z komórką jajową). Bielmo u roślin diploidalnych jest tkanką triploidalną – 3n; stosunek ilościowy genomów matczynych do ojcowskiego ma się jak 2:1. Zmiany tego stosunku ilościowego genomów rodzicielskich w krzyżówkach form poliploidalnych powodują zakłócenia w rozwoju bielma; przy nadmiarze genów ojcowskich następuje wzmożony jego rozwój, zaś w odwrotnej sytuacji rozwój bielma jest zredukowany. Z reguły krzyżowanie diploidów z heksaploidami powoduje zaburzenia w rozwoju bielma i obumarcie zarodka, co jest zapewne spowodowane przez odchylenie od prawidłowej relacji aktywnych i imprintowanych alleli genów podlegających temu procesowi [20] (por. niżej, 4).

W przeciwieństwie do wczesnych etapów rozwoju zarodka, wczesnym etapom rozwoju bielma towarzyszy inicjacja transkrypcji dotąd wyciszonych genów [9]. W bielmie tylko matczyne allele *MEA* i *FIS2* ulegają ekspresji, podczas gdy ojcowskie allele są wyciszone w wyniku imprintingu. Jak już wspomniano wyżej, ekspresja matczynych alleli *MEA* w bielmie jest wynikiem aktywacji *MEA* w komórce centralnej przed zapłodnieniem (ref. [13, 17]).

Geny *FIS* uczestniczą w regulacji parametrów czasowych rozwoju bielma i wykazują matczyny gametofitowy efekt, tzn. mutacje *fis* przejawiają się fenotypowo tylko wtedy, gdy są one dziedziczone po matce (ref. [13]). U form dzikich *A. thaliana* po osiągnięciu przez zarodek stadium serca, bielmo ulega celularyzacji, natomiast u mutantów *fis1-mea, fis2* i *fis3-fie* proliferacja bielma od tego stadium znacznie się nasila, co wskazuje, że mutacje *fis* nie zakłócają podstawowych procesów zachodzących w bielmie przed fazą celularyzacji. U form dzikich aktywność markerów N9185 i G222 jest inicjowana podczas celularyzacji wewnątrz zarodka; wykazano brak tej aktywności u mutantów *fie* i *mea* [13].

U form dzikich *Arabidopsis thaliana* ekspresja *MEA* i *FIS2* jest początkowo jednakowo rozmieszczona w bielmie syncytialnym, a następnie ulega ograniczeniu tylko do bieguna tylnego (chalazalnego) w zalążku. Wyjaśnienia, czy ta zmiana jest zakłócona przez mutację *fis*, dokonano przez badanie ekspresji genu sprzężonego

MEA-GUS. U form dzikich, zgodnie z oczekiwaniem, ekspresja tego genu jest początkowo jednakowa w całym obszarze bielma, a następnie ulega ograniczeniu do bieguna chalazalnego pod koniec 2. fazy rozwoju bielma, tj. kiedy podział jąder traci rytm synchroniczny, po czym aktywność tego genu jest niewykrywalna. Gen sprzężony *FIS-GUS* ulega ekspresji bezpośrednio przy zapłodnieniu i jest aktywny w 1. fazie rozwoju bielma, tj. podczas trzech kolejnych rund synchronicznych podziałów jąder. W stadium 2. ekspresja tego genu jest ograniczona do dużych jąder (zapewne endopoliploidalnych, komentarz MJO), znajdujących się w bielmie chalazalnym; ten stan utrzymuje się przynajmniej do stadium torpedy w rozwoju zarodka. Takie ograniczenie ekspresji genów *FIS-GUS* nie następuje u mutantów *fie*; rozmieszczenie sygnałów ekspresji jest stale jednakowe w obrębie bielma. Z faktów tych został wyciągnięty wniosek, w myśl którego mutacje *fis* i *fie* powodują wydłużenie fazy jednakowego wzoru ekspresji *MEA* i *FIS2* [13].

Z przedstawionych danych wynika, że mutacje w genach *FIS* z kompleksu PcG nie zakłócają proliferacji bielma podczas wczesnych etapów jego rozwoju, tj. w stadium syncytialnym, ale u mutantów *fis* wzór rozwojowy bielma jest zakłócony.

Poza udziałem białek z kompleksu PcG, ekspresja niektórych genów w bielmie może być kontrolowana przez metylację/demetylację DNA. Wykazano, że w matczynych allelach metylacja DNA w promotorze genu *FWA* jest usuwana dzięki aktywności DNA; podobnie ekspresja *MEA* zależy od aktywności tego enzymu ([15]; por. niżej 4).

3.4. Rozwój wegetatywny

Wiedza na temat udziału kompleksu PcG w regulacji rozwoju wegetatywnego jest uboga, ponieważ badania są skierowane głównie na mechanizmy indukujące kwitnienie (por. niżej, 3.5.). W tkankach wegetatywnych nie wykryto ekspresji genu *MEA* (ref. [34]), ale mimo braku ekspresji tego genu, H3K27me3 występuje obficie w chromatynie liści. Prawdopodobnie funkcję trimetylacji K27. w histonie H3 spełniają CLF i SWN, które są bliskimi homologami MEA [22].

Kilka informacji dotyczących udziału białek kompleksu PcG w regulacji rozwoju wegetatywnego pochodzi z analizy mutantów. U podwójnego mutanta *df-swn* powstaje tkanka podobna do kalusa, następuje przekształcenie korzeni w łodygi oraz nie zachodzi tworzenie liści i organów kwiatowych. Podobne cechy fenotypowe są obecne u podwójnych mutantów genów *EMF2* i *VRN2* (ref. [39]).

Genetyczne dowody oparte na analizie mutantów dowodzą, że przynajmniej dwa odmienne kompleksy podobne do PRC2 regulują odmienne geny docelowe u *Arabidopsis.* Przypuszcza się, że w tych dwóch kompleksach wydają się odgrywać rolę białka – CLF, a w mniejszym stopniu – SWN. CLF powoduje ekspresję homeotycznego genu *AG* i genu *STM*. Geny te są kluczowymi regulatorami organogenezy kwiatów oraz tworzenia i istnienia merystemu wierzchołkowego łodygi. Zatem CLF działa jako represor kwiatowych genów homeotycznych (por. tab. 2). Białko to wiąże się z locus *AG* w tym samym miejscu, w którym jest obecny histon H3K27me3; histonu tego nie było u mutanta *clf*. Dane te wskazują, że CLF jest niezbędny dla metylacji H3K27me3, ponieważ ma aktywną HMTazę dla H3K27me3 (tab. 2). Podobnie mutacje w genie

EMF2, który koduje białko z kompleksu PcG uczestniczące w blokowaniu kwitnienia, powoduje znaczne zmniejszenie poziomu H3K27me3 w locus *AG*. Represja *AG* następuje także wskutek działania CLF i SWN, tworzących kompleksy podobne do PR2 (por. tab. 1). Białka te uczestniczą również w represji genu *FUS3*, kodującego czynnik transkrypcyjny w tkankach wegetatywnych (ref. [34]).

W przeciwieństwie do kompleksu PcG, wiedza o udziale metylacji DNA w kontroli rozwoju roślin jest bogata, ponieważ zagadnienie to badano od dawna różnymi metodami. Rolę tej epigenetycznej modyfikacji dobrze dokumentują wyniki badania fenotypów mutantów i skutków antysensownych mRNA dla metylaz. Wyniki uzyskane z użyciem tej drugiej metody wskazały znaczne odchylenie od normy, m.in. modyfikację liczby i kształtów liści oraz kwiatów. Fakty te wskazują na niezbędność metylacji DNA dla normalnego rozwoju roślin (na przykładzie rzodkiewnika i tytoniu). Wniosek ten został w pełni potwierdzony przez zakłócenia rozwoju występujące u mutantów typu *met1* i *ddm1* (ref. [8]). Jako przykład związku poziomu metylacji DNA z rozwojem określonych struktur rośliny można podać gen *PHB*, który specyficznie determinuje los poszczególnych komórek w liściach. W rozwijających się primordiach liści gromadzą się znaczne ilości mRNA transkrybowanego z *PHB*. Metylacja *PHB* jest niższa w merystemie liści niż w tkance zróżnicowanej, w której brak jest takiego mRNA (ref. [8]).

3.5. INDUKCJA KWITNIENIA

Przejście z fazy rozwoju wegetatywnego do generatywnego u roślin okrytozalążkowych jest tym szlakiem rozwojowym, w którym udział systemu PcG w wyciszeniu genów został najlepiej rozpoznany. Zapewne stało się tak dzięki możliwości indukcji przez podlegające ścisłej kontroli badacza czynniki termiczne (wernalizacja) i świetlna (długość dnia).

Z danych przedstawionych w tabeli 2 i w wykazie nazw genów wynika, że większość genów docelowych dla białek kompleksu PcG stanowią geny związane z kwitnieniem. Geny *PI, SEP, AG* i *AP1* są genami homeotycznymi (nazwa przez analogię do genów homeotycznych po raz pierwszy odkrytych u *Drosophila*), należą zatem do genów regulatorowych; ich mutacje powodują znaczne zakłócenia programu rozwojowego. Do inhibitorów aktywności genów homeotycznych u *Arabidopsis* zaliczane jest białko CLF; zawiera ono HMTazę dla H3K27me3 (ref. [34]). Wykazano, że poza kompleksami PcG, w wyciszaniu genów związanych z kwitnieniem biorą udział białka będące homologami HP1, a także sRNA (por. niżej).

U *Arabidopsis* pierwszym i kluczowym procesem warunkującym indukcję kwitnienia jest epigenetyczne wyciszenie genu *FLC*, który koduje inhibitor kwitnienia. Wyciszeniu temu towarzyszą dimetylacja H3K9 i H3K27 oraz deacetylacja histonów H3 i H4. Dla represji genu *FLC* niezbędny jest gen *VRN2*; u mutantów *vrn2* poziom metylacji *FLC* nie zwiększa się podczas wernalizacji, tj. ekspozycji na niską temperaturę [46]. Białka kodowane przez gen *VIN3* uczestniczą w wyciszeniu *FLC*.

W przeciwieństwie do *VIN2*, wykazującego ekspresję konstytutywną, ekspresja *VIN3* jest specyficznie indukowana podczas wernalizacji i zanika wkrótce po przeniesieniu roślin do ciepła (ref. [39]). Deacetylacja histonów H3 i H4, która następuje w chromatynie *FLC* w wyniku wernalizacji, odbywa się z udziałem VIN3 [28, 34]. U podwójnego mutanta *emf-vrn2* brak jest piętna H3K27me3, zaś poziom H3K4me2 jest zwiększony w locus *STM* (ref. [34]).

Nie są jasne wyniki badań dotyczących udziału białek z kompleksu PcG w regulacji kwitnienia w zależności od długości dnia. Gen *EFS* koduje białko homologiczne do dwóch HMTaz, uczestniczących w metylacji lizyny w pozycji charakterystycznej dla histonów H3 aktywnej transkrypcyjnie chromatyny, zaliczanych do białek kompleksu trx: HMTaza drożdży dla H3K36 i HMTaza u *Drosophila* dla H3K4. U mutantów *Arabidopsis* poziom H3K36me2 był znacznie zredukowany w różnych regionach locus *FLC*, zaś inna grupa badaczy stwierdziła w locus *FLC* znaczne obniżenie poziomu metylacji H3K4me3 i brak różnic w odniesieniu do H3K36me2. Przyjmuje się ostatecznie, że białko EFS wydaje się działać jako HMTaza podtrzymująca ekspresję *FLC* na poziomie blokującym kwitnienie, chociaż sam mechanizm działania EFS jest nieznany (ref. [34]).

W wyciszeniu ekspresji genów uczestniczących w realizacji szlaków rozwojowych *Arabidopsis* uczestniczą również białka LHP1 (por. wyżej, część 2.) i TFL2, będące homologami HP1, ale obecnymi w euchromatynie. TFL2/LHP1 działają jako represory genów związanych z kwitnieniem, tożsamością organów kwiatowych, mejozą i dojrzewaniem nasion [29]. Wyniki doświadczeń metodą ChIP z użyciem przeciwciała przeciwko LHP1 wykazały, że połączenie LHP1 z chromatyną zawierającą gen *FLC* nasila się podczas wernalizacji i nadal utrzymuje po przeniesieniu roślin do ciepła, co świadczy o udziale LHP1 w wygaszaniu aktywności *FLC*. LHP1 nie jest niezbędne dla inicjacji dimetylacji H3K9, ale jego rola jest istotna dla podtrzymania dimetylacji H3K9 i dla wyciszonego stanu *FLC* po przeniesieniu roślin do ciepła [46]. TFL2/LHP1 *in vivo* wiąże się niemal wyłącznie z regionami chromatyny zawierającymi H3K27me3, a nie wyznakowanymi przez H3K9me2 lub me3 (to stwierdzenie jest sprzeczne z poprzednim); autorzy są zdania, że TFL2/LHP1 rozpoznaje specyficznie H3K27me3, stanowiąc część mechanizmu, który wycisza ekspresję wielu genów docelowych dla PRC2 [48].

W wyciszaniu genu *FLC* u *Arabidopsis* biorą również udział dwa sRNA o długości 30 i 24 nukleotydów, których struktura pierwszorzędowa odpowiada odwrotnej nici DNA genu *FLC* przy 3' miejscu poliadenilowym [47].

O znaczeniu metylacji DNA dla prawidłowego rozwoju kwiatów można wnioskować na podstawie wyników uzyskanych u roślin poddawanych działaniu antysensownego mRNA dla METaz1DNA oraz u roślin ze zmutowanymi lub znokautowanymi genami kodującymi te metylotransferazy. W takich warunkach doświadczalnych jest zakłócony rozwój rozmaitych części kwiatów (ref. [8]).

Jest możliwe, że rozwój oraz dojrzewanie suchych i mięsistych owoców podlega takim samym mechanizmom, jakie kontrolują inne szlaki rozwojowe, ale aktualna znajomość tych mechanizmów jest znikoma (ref. [44]).

4. UDZIAŁ KOMPLEKSU PcG I METYLACJI DNA W IMPRINTINGU GENOMOWYM

Imprinting genomowy jest mechanizmem regulacyjnym, powodującym zróżnicowaną ekspresję genów w zależności od pochodzenia rodzicielskiego (ang. *parent-of-origin effect*). W jednym z dwóch rodzicielskich alleli zachodzi wyciszenie genu/ów z udziałem epigenetycznych wyznaczników przez kompleks PcG lub częściej – w wyniku metylacji DNA (ref. [20], por. tab. 3).

Zmiany genetyczne powstałe w wyniku imprintingu są wykrywalne w chromosomach mitotycznych. Były one badane u przedstawicieli królestwa zwierząt. W obiektach, w których nie zachodzi proces imprintingu, w prążkach R (zawierających wcześnie replikującą euchromatynę bogatą w geny) znajduje się H3H4me3, natomiast w prążkach Q/C (obecna późno replikująca heterochromatyna) występuje H3K9me3.W wyniku imprintingu w jednym z alleli w obrębie euchromatyny w wyciszonym loci pojawiają się K3K9me3 i H4K20me, charakterystyczne dla chromatyny nieaktywnej transkrypcyjnie, zaś w aktywnych transkrypcyjnie allelach w tych loci są obecne H3K4me3 i H3K36me3, znakujące chromatynę z genami aktywnymi transkrypcyjnie (ref. [24]). Należy zaznaczyć, że epigenetycznemu wyciszeniu (poza innymi modyfikacjami) podlegają sekwencje powstałe w wyniku duplikacji genów, zachodzącej w toku ewolucji ze szczególnym nasileniem u gatunków okrytozalążkowych (ref. [32, 43]).

Wymienione zmiany epigenetyczne dotyczące metylacji lizyn 9. i 27. w histonie H3 są sterowane przez mechanizmy kontrolowane przez białka kompleksu PcG (por. tab. 1 i 3). Warto zauważyć, że chociaż imprinting wyewoluował niezależnie u ssaków i roślin okrytozalążkowych, w obu grupach ewolucyjnie konserwatywne białka kompleksu PcG uczestniczą w imprintingu genów [17].

TABELA 3. Geny ulegające imprintingowi u roślin; wg [6, 20], zmodyfikowane
TABLE 3. Imprinted genes in plants; according to [6, 20],modified

Gen	Gatunek	Ekspresja rodzicielska	Kontrola molekularna	Funkcja/skutki
MEA	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	PcG	Remodeling chromatyny
FIS2	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	MET1	Remodeling chromatyny
FIE1	*Zea mays*	Matczyna	MET1 ?	Remodeling chromatyny
FIE2	*Zea mays*	Matczyna	MET1 ?	Remodeling chromatyny
R	*Zea mays*	Matczyna	?	Synteza antocyjanów
FWA	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	MET1	Czynnik transkrypcyjny
PHE1	*Arabidopsis thaliana*	Ojcowska	PcG	Czynnik transkrypcyjny
MEG1	*Zea mays*	Matczyna	MET1 ?	Ochrona przed patogenami ?
AtFH5	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	?	Regulacja syntezy aktyny
AGL80	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	?	Remodeling chromatyny
FIE	*Arabidopsis thaliana*	Matczyna	?	Remodeling chromatyny

U roślin okrytozalążkowych imprinting genomowy ograniczony jest wyłącznie do bielma, w przeciwieństwie do ssaków, u których jest to proces znacznie bardziej powszechny (przeglądy: [23, 51]). W bielmie imprinting, z jednym wyjątkiem, dotyczy alleli ojcowskich (por. tab. 3). Ponieważ zagadnienie to, w odniesieniu do roślin zostało w 2004 roku omówione w sposób wyczerpujący [20], w niniejszym artykule literatura została ograniczona, z nielicznymi wyjątkami, do publikacji z lat 2005–2008.

Dotąd rozpoznane geny, u których ustalono mechanizmy uczestniczące w imprintingu wraz ze wskazaniem tych alleli rodzicielskich, które mu ulegają, są przedstawione w tabeli 3. Z danych tych wynika, że nadal obiektem badawczym jest głównie *Arabidopsis thaliana* (rzodkiewnik) i *Zea mays* (kukurydza) oraz że głównym mechanizmem blokującym ekspresję genów jest metylacja DNA.

Białka kodowane przez *FIE1* i *FIE2* u *Zea mays* są podobne do białek FIE u *Arabidopsis*, represora rozwoju bielma przy braku zapłodnienia (por. wyżej, 3.3.). *FIE2* jest funkcjonalnym ortologiem genu *FIE*. Geny *FIE1* i *FIE2* wykazują względem siebie znaczną homologię sekwencyjną w obrębie regionu kodującego, ale całkowity brak homologii intronów. Geny te są aktywne w odmiennych fazach rozwoju: *FIE1* ulega ekspresji wyłącznie w bielmie rozwijających się ziarniaków, począwszy od ok. 6. dnia po zapyleniu, natomiast *FIE2* jest transkrybowany w woreczku zalążkowym przed zapyleniem, zaś po zapyleniu – dopiero w zarodku, a w bielmie tylko w nieznacznym stopniu. Allele ojcowskie *FIE2* ulegają aktywacji 5. dnia po zapyleniu [3]. Matczyna ekspresja *FIE1* i *FIE2* została również wykryta metodą analizy transgenów z genami sprzężonymi *FIE1-GUS* i *FIE2-GUS* [10]. Jak się wydaje, mimo odmiennej struktury nasion, które u *Arabidopsis* są bezbielmowe, zaś u *Zea mays* – bielmowe, imprinting genomowy jest podobny (tab. 3).

Ekspresja genu *PHE1* następuje zarówno w zarodku, jak i w bielmie podczas wczesnych etapów rozwoju nasion, po czym jego aktywność ulega ograniczeniu do bielma, w którym allela matczyna ulega imprintingowi przez represyjny kompleks PcG, powodujący trimetylację H3K27 przy promotorze (ref. [6]).

Wyniki badań mutantów *phe1* i *mea* wykazują, że gen *MEA* jest niezbędny dla wyciszenia matczynych alleli *PHE1*. Zdaniem autorów tych badań, ich rezultaty przemawiają za słusznością hipotezy, w myśl której MEA wycisza geny, w których allele ojcowskie są aktywne, zaś matczyne – wyciszone [17, 18]. Allele matczyne *MEA* kodują istotny składnik kompleksu PcG, utrzymujący wyciszenie ojcowskich alleli; zachodzi zatem sprzężenie zwrotne, które zapewnia całkowitą kontrolę ekspresji *MEA* w obu allelach rodzicielskich [16]. Trafność tego poglądu została potwierdzona w dalszych badaniach. Wykazano, że przed i po zapłodnieniu MEA jest niezbędne dla wyciszenia ekspresji matczynych alleli *MEA*, zaś później, podczas rozwoju nasion, MEA utrzymuje w stanie wyciszenia ojcowskie allele *MEA*. W okresie zapłodnienia MEA bezpośrednio kontroluje wyciszenie alleli ojcowskich *MEA*. Ta samoregulująca się funkcja MEA jest niezależna od kompleksu MEA-FIE. Ojcowskie wyciszanie jest skorelowane z metylacją histonu H3K27 [1, 34].

Inny mechanizm zapewniający aktywność transkrypcyjną alleli matczynych polega na wyciszaniu genów kodujących białka wchodzące w skład kompleksu PcG (ref. 11]).

Imprinting genomowy przez metylację DNA jest znacznie bardziej rozpowszechniony niż imprinting za pośrednictwem kompleksu PcG (tab. 3). Metylacja DNA odbywa się dzięki aktywności MET1 (metylotransferazy DNA 1). W bielmie aktywne transkrypcyjnie matczyne allele są hipometylowane, zaś ojcowskie – hipermetylowane. Hipometylacja matczynych alleli następuje wskutek działania DME (DEMETER), glikozydazy DNA specyficznie usuwającej z DNA 5-metylocytozynę. Inicjacja demetylacji w żeńskim gametoficie jest niezbędna dla demetylacji matczynych alleli. Proces ten zachodzi już w diploidalnej komórce centralnej, przed zapłodnieniem. U mutantów *dme* DNA obu rodzicielskich alleli jest zmetylowany. Udział DME w demetylacji matczynych alleli został wykazany w odniesieniu do genów *FIS2* i *FWA*. Gen *FWA* jest wyciszony podczas fazy wegetatywnej rozwoju roślin wskutek działania MET1. DME, w wyniku demetylacji DNA, przywraca aktywność *FWA* w komórce centralnej. Po zapłodnieniu, aktywne matczyne allele są przekazywane do bielma, gdzie ulegają transkrypcji, podczas gdy ojcowskie pozostają wyciszone, ponieważ w takim stanie zostały przekazane gamecie męskiej (ref. [6, 11, 16, 34]).

Na przykładzie genów *FIE1* i *FIE2* stwierdzono, że rozmieszczenie i liczba wysp GC u kukurydzy spełnia warunek możliwości imprintingu poprzez metylację DNA. Warunki te to długość wyspy ok. 200 pz o zawartości GC > 50% [3].

Brak imprintingu, tj. bialleliczna ekspresja genów, nie zawsze zakłóca rozwój nasion. W sytuacji, kiedy genom ojcowski pochodzi z mutantów *met1*, geny *FIS2* i *FWA* ulegają w bielmie ekspresji z alleli obojga rodziców, a nasiona są żywotne [16].

Uzyskane dotąd dane wskazują, że imprintowane geny regulują rozwój bielma u roślin okrytozalążkowych oraz że imprinting w bielmie jest spowodowany przez dwa odmienne mechanizmy: kompleks FIS z PcG, w skład którego wchodzą MEA, FIS2, FIE i MSI1 oraz przez metylację DNA. Czy i jak te procesy są ze sobą związane, dotąd nie wiadomo. Wzbogacenie wiedzy o genach docelowych dla białek PcG i metylotransferaz DNA niewątpliwie pomoże w wyjaśnieniu ewentualnych prawidłowości w tym zakresie.

5. UDZIAŁ KOMPLEKSÓW PcG I TRITORAX W REMODELINGU CHROMATYNY

Remodeling chromatyny, tj. odwracalne przekształcenie jej układu z luźnego w zwarty (skondensowany) związany jest z ekspresją obecnych w niej genów. W stanie luźnym geny ulegają ekspresji, zaś w chromatynie zwartej są one wyciszone. Rola w tych przemianach białek kompleksu PcG (wyciszanie, metylacja H3K9, H3K27 i H4K20) oraz tritorax (aktywacja, metylacja H3K4 i H3K36, acetylacja H3K9, H3K14, H4K5 i H4K8) została dokładnie rozpoznana na modelowym obiekcie – chromosomach politenicznych *Drosophila*, ale w publikacjach na ten temat nie były wymieniane nazwy PcG i tritorax. Wspomniane modyfikacje histonów w jądrach interfazowych, charakterystyczne dla stanu represji, są obecne w heterochromatynie zwanej konstytutywną (trwale skondensowanej, bez aktywności transkrypcyjnej), natomiast w aktywnej transkrypcyjnie, luźnej euchromatynie występują modyfikacje

histonów typowe dla tego stanu funkcjonalnego. W euchromatynie okresowo skondensowanej, zwanej heterochromatyną fakultatywną, występują modyfikacje histonów charakterystyczne dla obu rodzajów chromatyny (ref. [31]).

Poza udziałem systemów PcG i tritorax, remodeling chromatyny może nastąpić w wyniku innych mechanizmów molekularnych. Obok metylacji DNA, pozostałe dotyczą więzi między DNA i histonami, w tym z histonem H1, a także zmian w obrębie nukleosomu. Do takich należą np. kompleksy białka SWI/SNF, które pośredniczą w remodelingu chromatyny, polegającym na zakłóceniach w więzi między DNA i histonem; u *Arabidopsis* mutacja genu kodującego SWI jest letalna [37]. Rozmaite sposoby montowania wariantów histonów i różnorodne potranslacyjne modyfikacje ich N-terminalnych krańców umożliwiają zmiany struktury chromatyny na różnych poziomach (ref. [30]). Należy zaznaczyć, że zasób dokumentowanych wyników dotyczących tego zagadnienia jest niezwykle ubogi, a remodeling chromatyny przewiduje się tylko na podstawie zmian w ekspresji genów (np. [2, 6]).

Rozwój zarodka i bielma, podobnie jak u wszystkich wielokomórkowych organizmów, uwarunkowany jest przez skoordynowane różnicowanie komórek. U zwierząt białka kompleksu PcG i trxG, tj. powodujące wyciszanie lub aktywacje genów, są kluczowymi czynnikami w ustalaniu specyficznych komórkowo programów różnicowania, polegających na represji bądź aktywacji genów uczestniczących w tym procesie. U roślin udział systemów PcG i trxG (por. wyżej, część 2. oraz tabela 2) powoduje zapewne odpowiednie zmiany w układzie chromatyny, ale brak jest dokumentacji na poziomie przynajmniej mikroskopu elektronowego.

Wiadomo, że odróżnicowaniu komórek roślinnych, tj. przywróceniu im zdolności do podziałów, towarzyszy dekondensacja chromatyny. Sytuacja taka ma miejsce w wyniku uszkodzenia mechanicznego tkanek zróżnicowanych oraz podczas zakładania kultur *in vitro*. Np. w świeżo wypreparowanych komórkach mezofilu tytoniu niewielka ilość chromatyny skondensowanej ulega redukcji przed rozpoczęciem fazy S. W czasie odwrotnego procesu, tj. podczas różnicowania komórek kalusa, następuje kondensacja chromatyny wraz z wyciszeniem genów poprzez metylację H3K9 i H3K27 w wyniku działania HMTaz, obecnych w CLF i SWN z systemu PcG. Wykazano również, że wyciszenie genu *FLC* podczas wernalizacji (por. wyżej, część 3.5.) z udziałem białek z kompleksu PcG powoduje kondensację chromatyny wokół tego locus, na co wskazuje zmniejszona wrażliwość na DNazę (ref. [5]).

Można oczekiwać, że w przyszłości skojarzenie wiedzy o aktywacji/represji genów i czynników powodujących ten proces, doprowadzi do pełnego wskazania zależności między stanem strukturalnym chromatyny a aktywnością genów, również na poziomie molekularnym.

6. PODSUMOWANIE

W ciągu minionych kilkunastu lat wyniki badań dotyczących obecności białek grupy Polycomb (PcG) u roślin (głównie *Arabidopsis thaliana*), wykazały, że jest on wyposażony w szereg białek o znacznym stopniu homologii do białek PcG u *Drosophila*, myszy i człowieka. Podobnie jak w królestwie zwierząt białka PcG

funkcjonują jako represory aktywności transkrypcyjnej niektórych genów. Rola białek PcG polega na epigenetycznej kontroli aktywności genów. Dzięki homologii, wobec znacznie większej znajomości funkcji białek PcG u zwierząt, można przypisać niektórym białkom PcG u roślin obecność HMTaz dla histonu H3K27me3, będącego od dłuższego czasu znanym składnikiem nukleosomów nieaktywnej transkrypcyjnie chromatyny. Istnieje szereg genów docelowych dla białek PcG; większość dotąd rozpoznanych genów docelowych należy do kwiatowych genów homeotycznych.

Podobnie jak w królestwie zwierząt u *Arabidopsis* białka PcG tworzą rozmaite kompleksy zwane PRC2. U roślin skład tego kompleksu bywa rozmaity, co może stanowić mechanizm regulujący rozmaite rodzaje genów docelowych podczas cyklu życiowego. Represja za pośrednictwem PRC2 jest odwracalna w wyniku działania białek stanowiących system tritorax, w którym obecne są HMTazy dla H3K4 oraz acetylazy histonów, tj. tej znanej już dawniej modyfikacji histonów, charakteryzującej nukleosomy chromatyny aktywnej transkrypcyjnie. Białka kompleksu tritorax kontrolują ekspresje genów poprzez mechanizmy epigenetyczne.

W rozpoznanych dotąd mechanizmach powodujących imprinting genomowy u roślin, dominuje metylacja DNA, zaś wyciszenie alleli za pośrednictwem białek kompleksu PcG jest zjawiskiem niezwykle rzadkim.

LITERATURA

[1] BAROUX C, GAGLIARDINI V, PAGE D, GROSSNIKLAUS U. Dynamic regulatory interactions of *Polycomb* group genes: *MEDEA* autoregulation is required for imprinted gene expression in *Arabidopsis*. *Gene Develop* 2008; **20**: 1081–1086.

[2] BAROUX C, PIENS S, GROSSNIKLAUS U. Chromatin modification and remodeling during early seed development. *Curr Opin Genet Develop* 2007; **17**: 473–479.

[3] DANILEVSKAYA O, HERMON P, HANTKE S, MUSZYNSKI MG, KOLLIPORA K, ANANIEV E. Duplicated *fie* genes in maize: expression patterns and imprinting suggest distinct functions. *Plant Cell* 2003; **15**: 425–438.

[4] DAY R, GROSSNIKLAUS U, MACKNIGHT RC. Be more specific! Laser-assisted microdissection of plant cells. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 397–406.

[5] EXNER V, HENNIG L. Chromatin rearrangement in development. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 64–69.

[6] FEIL R, BERGER F. Convergent execution of genomic imprinting in plants and mammals. *Trends Genet* 2007; **23**: 192–199.

[7] FUCHS J, JOVTCHEV G, SCHUBERT I. The chromosomal distribution of histone methylation marks in gymnosperms differs from that in angiosperms. *Chrom Res* 2008; **16**: 891–898.

[8] GEHRING M, HENIKOFF S. DNA methylation dynamics in plant genomes. *Bioch Biop Acta* 2007; **1769**: 276–286.

[9] GRIMANELLI D, PEROTT E, RAMIREZ J, LEBLANC O. Timing of maternal-to-zygotic transition during early seed development in maize. *Plant Cell* 2005; **17**: 1061–1072.

[10] GUTTIERREZ-MARCOS J, COSTA LM, DAL PRA M, SCHOLTEN S, KRANZ E, PEREZ P, DICKINSON H. Epigenetic asymmetry of imprinted genes in plant gametes. *Nature Genet* 2006; **38**: 876–878.

[11] HUH JH, BAUER MJ, HSIEH T-F, FISCHER R. Endosperm gene imprinting and development. *Curr Opin Genet Develop* 2007; **17**: 480–485.

[12] INGOUFF M, HAMAMURA Y, GOURGES M, HIGASHIYAMA T, BERGER F. Distinct dynamics of HISTONE 3 variants products in plants. *Curr Biol* 2007; **17**: 1032–1037.

[13] INGOUFF M, HASELHOFF J, BERGER F. Polycomb group genes control developmental timing of endosperm. *Plant J* 2005; **42**: 663–674.

[14] JANOUSEK B, ZLUVOVA J, VYSKOT B. Histone H4 acetylation and DNA methylation dynamics during pollen development. *Protoplasma* 2000; **211**: 116–122.
[15] JULIEN PE, KATZ A, OLIVA M, OHAD N, BERGER F. Polycomb group complexes self-regulate imprinting of the Polycomb group gene *MEDEA* in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2006; **16**: 486–492.
[16] JULIEN PE, KINOSHITA T, OHAD N, BERGER F. Maitenance of DNA methylation during the *Arabidopsis* cycle is essential for parental imprinting. *Plant Cell* 2006; **18**: 1360–1372.
[17] KÖHLER C, MAKAREVICH G. Epigenetic mechanisms governing seed development in plants. *EMBO HEP* 2006; **7:** 1223–1227.
[18] KÖHLER C, PAGE DR, GROSSNIKLAUS U. The *Arabidopsis thaliana* MEDEA Polycomb group proteins controls expression of *PHERES1* by parental imprinting. *Nature Genet* 2005; **37**: 28–30.
[19] KÖHLER C, VILLAR CBR. Programming of gene expression by Polycomb group proteins. *Trends Cell Biol* 2008; **18**: 236–243.
[20] KUTA E, ROJEK J. Imprinting genomowy u roślin. *Post Biol Kom* 2004; **32**: 353–371.
[21] LAN F, NOTTKE AC, SHI Y. Mechanisms involved in the regulation of histone lysine demethylases. *Curr Opin Cell Biol* 2008; **20**: 316–325.
[22] MAKAREVICH G, LEROY O, AKNICI U, SCHUBERT D, CLARENZ O, GOODRICH J, GROSSNIKLAUS U, KÖHLER C. Different *Polycomb* group complex regulate common target genes in *Arabidopsis. EMBO REP* 2006; **7**: 947–952.
[23] MARCINIAK M. Imprinting genomowy u ssaków: najnowsze doniesienia. *Post Biol Kom* 2008; **35**: 243–257.
[24] MELLOR J, DUDEK P, CLYNES D. A glimpse into epigenetic landscape of gene regulation. *Curr Opin Genet Develop* 2008; **18**: 116–122.
[25] MILLER T, KROGAN NY, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, JOHNSON M, GREEN BLATT JF, DHILATIFARD AB. COMPASS: a complex of proteins associated with a tritorax-related SET domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 12902–12907.
[26] MITO F, HEINKOFF JG, HEINKOFF S. Genome-scale profiling of histone H3.3 replacement patterns. *Nat Genet* 2005; **37**: 1090–1099.
[27] MOHN F, SCHÜBELLER D. Genetic and epigenetics: stability and plasticity during cellular differentiation. *Trends Genet* 2009; **25**: 129–136.
[28] MYLNE JS, BARRET L, TESSADORI F, MESNAGE S, JOHNSON L, BERNATAVIHUTE YU, JACOBSEN SE, FRANSZ P, DEAN C. LHP1, the *Arabidopsis* homologue of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, is required for epigenetic silencing of FLC. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; *103*: 5012–5017.
[29] NAKAHIGASHI K, JASENCAKOVA Z, SCHUBERT I, GOTO K. The *Arabidopsis* HETEROCHROMATIN PROTEIN1 homologue (TERMINAL FLOWER2), silences genes within euchromatic region but not genes positioned in heterochromatin. *Plant Cell Physiol* 2005; **46**: 1747–1756.
[30] OKADA T, SINGH M, BHALLA PL. Histone H3 variants in male gametes cells of lily and H3 methylation in mature pollen. *Plant Mol Biol* 2006; **62**: 503–512.
[31] OLSZEWSKA MJ. Heterochromatyna i „heterochromatynizacja". *Post Biol Kom* 2007; **34**: 391–407.
[32] OLSZEWSKA MJ, SAKOWICZ T. Ewolucja rozmiarów genomów jądrowych u roślin okrytozalążkowych. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 737–751.
[33] PAPP B, MÜLLER J. Histone trimethylation and the maintance of transcriptional ON and OFF states by trxG and PcG proteins. *Genes Develop* 2006; **20**: 2041–2054.
[34] PIEN S, GROSSNIKLAUS U. Polycomb group and tritorax group proteins in *Arabidopsis. Bioch Bioph Acta* 2007; **1769**: 375–382.
[35] RINGROSE L, PARO R. Polycomb/tritorax response elements memory of cell identity. *Development* 2007; **134**: 223–232.
[36] SALEH A, AL-ABDALLAT A, NDAMUKONG I, ALVAREZ-VENEGAZA R, AVRAMOVA Z. The *Arabidopsis* homologues of tritorax (ATX1) and enhancer of zeste (CLF) establish „bivalent chromatin marks" at the silent *AGAMOUS* locus. *Nucl Acids Res* 2007; **35**: 6290–8296.
[37] SARNOWSKI TJ, RIOS G, JASIK J, ŚWIEŻEWSKA S, KACZANOWSKI S, LI Y, KWIATKOWSKA A, PAWLIKOWSKA K, KOŹBIAŁ M, KOŹBIAL P, KONCZ C, JERZMIANOWSKI A. SWI3 subunits of putative SWI/SNF chromatin-remodeling complexes play distinct roles during *Arabidopsis* development. *Plant Cell* 2005; **17**: 2454–2472.
[38] SCHOLTEN S, LÖRZ H, KRANZ F. Parental mRNA and protein synthesis coincides with male chromatin decondensation in maize zygotes. *Plant J* 2002; **32**: 221–231.
[39] SCHUBERT D, CLARENZ O, GOODRICH J. Epigenetic control of plant development by Polycomb-group proteins. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8:** 553–561.

[40] SCHUBERT D, PRIMAVESI L, BISHOPP A, ROBERTS G, DOONAN J, JENUWEIN T. GOODRICH J. Silencing by plant Polycomb-group genes requires dispersed trimethylation of histone H3 at lysine 27. *EMBO J* 2006; **25**: 4638–4649.
[41] SCHUETTENGRUBER B, CHOURROUT D, VERVOORT M, LEBLANC B, CAVALLI G. Genome regulation by Polycomb and tritorax proteins. *Cell* 2007; **128**: 735–745.
[42] SCHWARZ YB, PIROTTA V. Polycomb complex and epigenetic states. *Curr Opin Cell Biol* 2008; **20**: 266–273.
[43] SÉMON M, WOLFE KH. Consequences of genome duplication. *Curr Opin Genet Develop* 2007; **17**: 505–512.
[44] SEYMOUR G, POOLE M, MANNING K, KING G. Genetics and epigenetics of fruit development and ripening. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 58–62.
[45] SHI Y. Histone lysine demethylases: emerging role in development, physiology, and disease. *Nat Rev Genet* 2007; **8**: 829–833.
[46] SUNG S, HE Y, ESHOO TW, TAMADA Y, JOHNSON L, NAGAHIGASHI K, GOTO K, JACOBSEN S, AMASINO RM. Epigenetic maintenance of the vernalized state in *Arabidopsis thaliana* requires LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN1. *Nat Genet* 2006; **38**: 706–710.
[47] SWIEZEWSKI S, CREVILLEN P, LIU F, ECKER JR, JERZMANOWSKI A, DENG C. Small RNA-mediated chromatin silencing directed to the 3 region of the *Arabidopsis* gene encoding the developmental regulator, FLC. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 3633–3638.
[48] TURCK F, ROUDIER F, FARONA S, MARTIN-MAGNIETTE ML, GUILLAUME E, BUISINE N, GAGNOT S, MARTIENSSEN RA, COUPLAND G, COLOT V. *Arabidopsis* TLF/LPH1 specifically associates with gene marked by trimethylation of histone3 lysine 27. *PLoS Genetics* 2007; **3**: 0855–0866.
[49] VAUGHAN MW, TANURDŽIČ M, LIPPMAN Z, JIANG H, CARASQUILLO R, RABINOWICZ PD, DEHLA N, McCOMBIE WR, AGLER N, BULSKI A, COLOT V, DOERGE RW, MARTIENNSEN RA. Epigenetic natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Biol* 2007; **5**: 1616–1629.
[50] WOOD A, SHUKLA A, ACHNEIDER J, STANTON JD, DZIUBA T, SWANSON SK, FLORENS L, WASHBURN MP, WYRICK J, BHAMIK SR, SHILATIFARA A. Ctk complex-mediated regulation of histone methylation by COMPASS. *Mol Cell Biol* 2007; **27**: 709–720.
[51] WRZESKA M, REJDUCH B. Genomic imprinting in mammals. *J Appl Genet* 2004; **45**: 427–433.
[52] XIAO W, CUSTARD KD, BROWN RC, LEMMON BE, HARADA JJ, GOLDBERG RB, FISHER RL. DNA methylation is critical for *Arabidopsis* embryogenesis and seed viability. *Plant Cel*l 2006; **18**: 805–814.
[53] ZHANG X, CLARENS O, COKUS S, BERNATAVICHUTE YV, PELLEGRINI M, GOODRICH J, JACOBSEN SE. Whole-genome analysis of histone H3 lysine 27 trimethylation in *Arabidopsis. PLoS Biol* 2007; **5**: 1026–1035.
[54] ZHANG X, GERMANN S, BLUS B, KHORASANIZADECH S. The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3Lys27 trimethylation. *Nat Struct Mol Biol* 2007; **14**: 869–871.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 25.05. 2009 r.
Przyjęto: 12.07. 2009 r.
Prof. dr hab. Maria Joanna Olszewska, Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego, Banacha 12/6, 90-237 Łódź
e-mail: olszewsk@biol.uni.lodz.pl