RNA interference je jedním z mechanismů, který umožňuje buňkám regulovat aktivitu genů, ovlivňovat tvorbu a udržování heterochromatinu a chránit je před invazivními nukleovými kyselinami. U rostlin je RNA interference spouštěna přítomností dvoušroubovicové RNA, která je štěpena proteinem Dicer na malé RNA o délce převážně 20-24nt. Tyto malé RNA mohou v komplexu s proteinem Argonaut na základě sekvenční komplementarity řídit štěpení mRNA, blokování translace, či modifikace chromatinu. V důsledku tak může být genová exprese umlčována buď posttranskripčně (tím že je bráněno vzniku proteinu z již vytvořené mRNA, PTGS) a nebo transkripčně (tím že je bráněno vzniku transkriptu, TGS).

Záměrem této práce bylo připravení různých způsobů spouštění posttranskripčního umlčování a porovnání jejich funkčnosti a účinnosti. Dalším krokem pak byla příprava systému, který by měl umožnit sledování jednotlivých kroků přechodu posttranskripčního umlčování na umlčování transkripční. Tyto tzv. indikátorové linie by měly dovolit sledovat časování a dynamiku tohoto procesu s využitím fluorescenčních proteinů. Připravovaný systém umožní také vyhodnocení různých faktorů na průběh tohoto procesu – jedním z nich je RNA-dependentní RNA polymeráza 6, která hraje hlavní roli v samovolném spouštění PTGS.

V práci je použita jako modelový organismus tabáková buněčná linie BY-2, která dovoluje snadnou přípravu a analýzu velkého množství nezávislých klonů. Umožňuje proces studovat jak na populacích buněk, tak na jednotlivých buňkách za dobře kontrolovatelných podmínek.

Byly připraveny a analyzovány tři konstrukty pro indukci umlčování. Všechny tři byly schopné spouštět umlčování. Jako nejúčinnější způsob se ukázal ten, který k tomu využíval vlásenku z RNA. Dále byly připraveny dva konstrukty pro tvorbu indikátorových linií a byly otestovány a vyhodnoceny možnosti přípravy těchto linií. Také byl úspěšně izolován gen pro RNA-dependentní RNA polymerázu 6.