

Abstrakt

RNA interference (RNAi) je proces, který se u rostlin prostřednictvím malých RNA (sRNA = small RNA) významně podílí na regulaci genové exprese. Rozmanité dráhy RNAi lze rozdělit na dva základní mechanismy, a to posttranskripční a transkripční umlčování (PTGS a TGS). Vznik sRNA je vždy závislý na přítomnosti dvouvláknové molekuly RNA (dsRNA), která je štěpena některým z DCL proteinů za vzniku sRNA obvykle o délce 21 – 24 nt a jedno z vláken sRNA je následně rozpoznáno proteinem AGO. V případě PTGS interaguje komplex AGO-sRNA na základě komplementarity sekvence sRNA s cílovou RNA, kterou rozštěpí nebo zablokuje její translaci. U TGS reaguje AGO s rostlinně specifickou RNA Pol V a jejími transkripty, se kterými opět páruje vlákno sRNA nesené proteinem AGO. Tato interakce umožní sestavení komplexu proteinů, které indukují metylaci DNA a posléze i histonů, jež působí inhibičně na transkripci RNA Pol II.

Způsobů, jakými může dsRNA vznikat, je celá řada. Velká část v buňce tvořených dsRNA je závislá na syntéze komplementárního vlákna do podoby dsRNA prostřednictvím RDR6 (RNA dependentní RNA polymeráza 6), která je zapojena i do procesu vzniku sekundárních sRNA. Význam RDR6 při PTGS byl zkoumán pomocí reportérového genu pro GFP, a to při samovolném umlčování a při umlčování vyvolaném třemi odlišnými způsoby vzniku dsRNA (tvorbou vláskové RNA z invertované repetice, syntézou antisense RNA a aberantní RNA bez polyadenylace). Hladina RDR6 byla zvýšena nebo snížena oproti divokému typu. Práce byla zároveň zaměřena na studium dynamiky PTGS, jehož průběh byl porovnán s průběhem TGS vyvolaném invertovanou repeticí ze sekvence promotoru pro *GFP*.

Jako rostlinný model byla pro práci použita tabáková buněčná linie BY-2, která díky vysoké homogenitě a rychlému dělení umožňuje snadnou analýzu vysokého počtu linií za využití makroskopických shluků buněk (tzv. kalusů) i analýzu na úrovni jednotlivých buněk suspenzních kultur.