

Imprinting kod biljaka

Cindrić, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:539816>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lucija Cindrić

Imprinting kod biljaka

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Lucija Cindrić

Plant imprinting

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna biologija na zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Nenada Malenice.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Imprinting kod biljaka

Lucija Cindrić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Genomski imprinting ili genomski utisak je epigenetički fenomen koji dovodi do različite ekspresije autosomalnih gena ovisno o njihovom roditeljskom porijeklu. Geni mogu biti eksprimirani sa očevih ili majčinih kromosoma. Mehanizmi ovog fenomena uključuju metilaciju i demetilaciju DNA te histonske modifikacije. Ekspresija majčinih alela uglavnom se postiže kombinacijom demetilacije majčine DNA i metilacije očeve DNA različitim metiltransferazama ili mehanizmom metilacije DNA ovisne o RNA. Razlike u metilaciji histona uglavnom su povezane s očinski aktivnim genima. Male interferirajuće RNA također sudjeluju u uspostavljanju te održavanju imprintinga i to specifično na određenim sekvencama. Kod biljaka su geni imprintirani uglavnom u endospermu. Geni imprintirani u embriju otkriveni su u *A. thaliana* i kukuruzu, ali ih je zasad vrlo malo te je njihova uloga dvosmisljena. Upitna je i evolucija imprintinga, koju pokušava objasniti nekoliko različitih hipoteza.

Ključne riječi: epigenetika, metilacija, siRNA, endosperm
(20 stranica, 4 slike, 54 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Nenad Malenica

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Plant imprinting

Lucija Cindrić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Genomic imprinting is an epigenetic phenomenon that results in different expression of autosomal genes depending on their parental origin. Genes can be both paternally and maternally expressed. The mechanisms of this phenomenon include DNA methylation, DNA demethylation and histone modifications. The expression of maternal alleles is mostly achieved by a combination of maternal DNA demethylation and methylation of paternal DNA via different methyltransferases or RNA-dependent DNA methylation pathway. Differences in histone methylation are mainly associated with paternally expressed alleles. Small interfering RNAs also participate in the establishment and maintenance of imprinting on specific sequences. In plants, genes are imprinted mainly in the endosperm. Genes imprinted in the embryo were until now found in *A. thaliana* and maize, but so far there are only a few candidates and their role is ambiguous. Evolution of imprinting is also unclear and there are several different hypotheses trying to explain it.

Keywords: epigenetics, methylation, siRNA, endosperm
(20 pages, 4 figures, 54 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Nenad Malenica

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Metilacija DNA.....	2
2.1 Metilacija DNA u biljaka	2
2.2. Metilacija DNA ovisna o RNA	3
2.2.1. Kanonski (osnovni) mehanizam metilacije DNA ovisne o RNA.....	3
2.2.2 Nekanonski (specijalni) mehanizam metilacije DNA ovisne o RNA	3
3. Utjecaj demetilacije DNA na imprinting gena	5
4. Metilacija histona kao epigenetička oznaka u imprintingu	5
4.1. Metilacija histona kao sekundarni imprint	5
4.2. Metilacija histona kao primarni imprint	7
4.3. Metilacija histona posredovana transkripcijskim faktorima.....	8
5. Imprinting posredovan malim interferirajućim RNA.....	9
5.1. Mehanizam nastanka i uloga malih interferirajućih RNA.....	9
5.2. Imprinting u polenu	11
5.3. Barijera u križanju hibrida	11
6. Imprinting u embriju	12
6.1. Mehanizam imprintinga u embriju	12
6.2. Embrionalni geni pod imprintingom	13
7. Evolucija imprintinga	14
8. Zaključak	15
9. Literatura.....	16
10. Životopis.....	20

1. Uvod

Već je odavno poznata važnost epigenetičkih modifikacija u regulaciji ekspresije gena. Epigenetičke modifikacije poput metilacije, ubikvitinacije i acetilacije mogu povećati ili smanjiti transkripcijsku aktivnost. Epigenetički fenomen koji dovodi do različite ekspresije autosomalnih gena ovisno o njihovom roditeljskom podrijetlu naziva se genomski imprinting ili genomski utisak. Imprinting je prvi put otkriven na lokusu R kukuruza kod kojeg je opaženo da su zrna potpuno obojana ako je gen naslijeđen po majčinoj liniji, a prošarana ako je naslijeđen očevom liniji (Kermicle, 1970).

Isti fenomen kasnije je otkriven i kod sisavaca; imprinting je prisutan u posteljici i embriju te podrazumijeva brisanje epigenetičkog obrasca prethodne generacije u primordijalnim zametnim stanicama te njegovo ponovno uspostavljanje u muškim i ženskim gametama (Feng *i sur.*, 2010b; Frost i Moore, 2010; Sasaki i Matsui, 2008). U biljkama, imprinting je gotovo potpuno vezan za endosperm, triploidno biljno tkivo koje nastaje kao rezultat dvostruke oplodnje u kritosjemenjača. U polenu postoje dvije spermalne stanice koje sudjeluju u oplodnji i vegetativna stanica čija je uloga klijanje u peludnu mješinicu kojom omogućuje spermalnim stanicama dolazak do embrionske vreće. U embrionskoj vreći nalazi se osam stanica, a u dvostrukoj oplodnji sudjeluju haploidna jajna stanica i diploidna središnja stanica. Oplodnjom jajne stanice nastaje diploidna zigota, a oplodnjom diploidne stanice triploidni endosperm.

Uloga endosperma slična je ulozi posteljice kod sisavaca u smislu da podupire razvoj embrija i cijele sjemenke. Endosperm skladišti masti, škrob i proteine potrebne za pravilan razvoj embrija i sadrži enzime koji induciraju klijanje sjemenke (Gehring, 2013). Novije analize čitavih genoma *Arabidopsis thaliana*, kukuruza i riže otkrivaju sve više imprintiranih alela (Hsieh *i sur.*, 2009; Lauria *i sur.*, 2004; Zemach *i sur.*, 2010). Ti aleli mogu biti eksprimirani s majčinog (eng. *maternally expressed genes*, MEG) ili očevog genoma (eng. *paternally expressed genes*, PEG).

2. Metilacija DNA

Osim što je važna u regulaciji ekspresije gena općenito, metilacija se pokazala ključnim faktorom koji utječe na različitu ekspresiju alela ovisno o roditeljskom porijeklu. Metilacija DNA na petom ugljikovom atomu citozina uglavnom je povezana sa utišavanjem gena. Iako se metilacija može naći i u kodirajućim regijama gena, posebno se intenzivno metiliraju repetitivne regije, što ne čudi obzirom da one često pripadaju pokretnim genetičkim elementima (transpozonomima). Kada se ti elementi ne bi utišali došlo bi do povećanja njihovog broja kopija čime bi integritet genoma bio narušen (Gehring i Henikoff, 2008). U stvari, u svim organizmima je razvijen mehanizam utišavanja pokretnih elemenata, bilo metilacijom DNA, histonskim modifikacijama, kondenzacijom kromatina posredovanim RNA ili kombinacijom nekih od navedenih mehanizama (Slotkin i Martienssen, 2007). Važno je još spomenuti da metilacija u kodirajućim regijama ne dovodi nužno do utišavanja gena, već modulira razinu njihove transkripcije (Gehring i Henikoff, 2008).

2.1 Metilacija DNA u biljaka

Biljna DNA može biti metilirana na bilo kojem citozinu neovisno o slijedu u kojem se on nalazi. Ipak, kada se govori o metilaciji biljne DNA uglavnom se spominje metilacija u kontekstu tri različita slijeda: simetrično na sljedovima CG i CHG te asimetrično na CHH (gdje je H = C, T ili A). Mehanizmi povezani s metilacijom ovih sekvenci uglavnom služe za održavanje već postojećih obrazaca metilacije (Erdmann i Picard, 2020). U *Arabidopsis thaliana* CG metilacija više je povezana sa kodirajućim regijama nego repetitivnim sekvencama, a održava ju metiltransferaza 1 (MET1) uz pomoć kofaktora iz porodice gena VIM (eng. *variation in methylation*) (Gehring i Henikoff, 2008). Još jedna metiltransferaza prisutna u *A. thaliana* je kromometilaza 3 (CMT3), enzim koji je prisutan isključivo kod biljaka (Henikoff i Comai, 1998). CMT3 održava metilaciju sekvence CHG i njegovo je djelovanje povezano sa histonskim modifikacijama. CMT3 sadrži kromodomena koja se veže na metilirane lizine, a prepoznaje kromatinsku oznaku H3K9me2 (dimetilacija histona H3 na lizinu 9) koja nastaje aktivnošću proteina kriptonit (KYP) (Feng *i sur.*, 2010a). CHH metilacija je asimetrična i održava se putem metilacije DNA ovisne o RNA (RdDM) (Han *i sur.*, 2019; Law i Jacobsen, 2010).

2.2. Metilacija DNA ovisna o RNA

Metilacija DNA ovisna o RNA (eng. *RNA dependent DNA methylation*, RdDM) je proces u kojem male nekodirajuće molekule RNA usmjeravaju metilaciju specifičnih sekvenci na DNA. Ovaj mehanizam je specifičan za biljke i jedna od njegovih glavnih uloga je već spomenuto utišavanje transpozona. Osim toga sudjeluje i u signalizaciji, odgovoru na stres i regulaciji tranzicije između različitih faza biljnog razvoja. To je jedini mehanizam kojim se može metilirati bilo koji citozin, neovisno o već spomenutim sekvencama (Erdmann i Picard, 2020). U kontekstu metilacije, primarna uloga ovog puta je održavanje već metiliranih sekvenci. Međutim, to je također jedini mehanizam koji omogućuje *de novo* metilaciju uz pomoć *de novo* metiltransferaze DRM (eng. *domains rearranged methyltransferases*). RdDM se može podijeliti na kanonski (osnovni) mehanizam, koji je zadužen za održavanje već postojećih metilacija i nekanonski (specijalni) mehanizam, koji je odgovoran za *de novo* metilaciju (Erdmann i Picard, 2020).

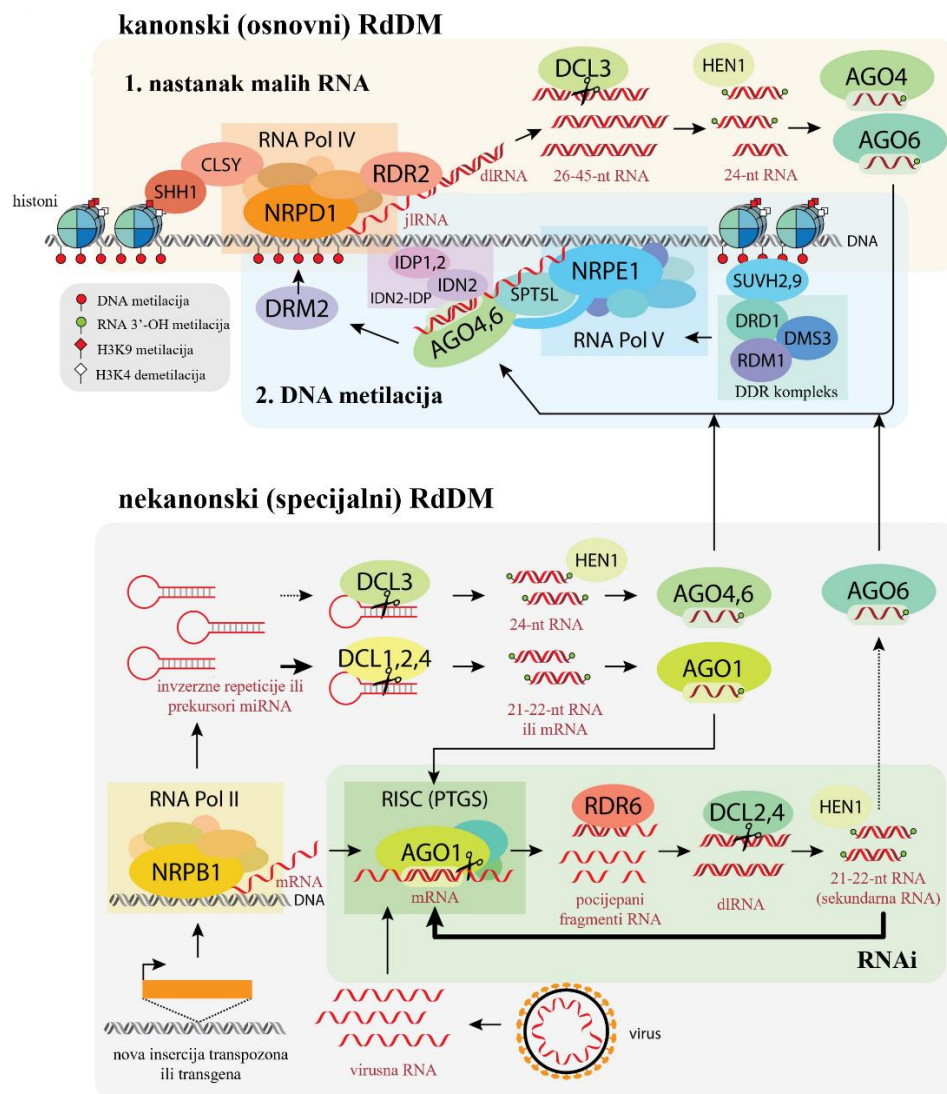
2.2.1. Kanonski (osnovni) mehanizam metilacije DNA ovisne o RNA

Nastanak malih RNA molekula potrebnih za ovaj mehanizam (Slika 1) ima mnogo sličnosti sa nastankom malih RNA koje sudjeluju u interferenciji RNA (eng. *RNA interference*, RNAi): regulaciji ekspresije gena kod biljaka, gljiva i životinja (mikroRNA, male interferirajuće RNA) (Erdmann i Picard, 2020). Najprije se za biljke specifična RNA polimeraza IV (Pol IV) upućuje na heterokromatinske regije utišane metilacijom i stvara jednolančane RNA (jIRNA) duge 35 do 40 nukleotida (Blevins *i sur.*, 2015; Cuerda-Gil i Slotkin, 2016). RNA-ovisna RNA polimeraza 2 (eng. *RNA-directed RNA polymerase 2*, RDR2) od jIRNA stvara dvolančane molekule RNA (dIRNA). Zatim dIRNA reže endoribonukleaza *dicer-like 3* (DCL3) u male RNA duge 24 nukleotida (Blevins *i sur.*, 2015). Mali broj RNA ne nastaje ovim procesom, već od transkripata RNA polimeraze II (Pol II) koji sadrže inverzna ponavljanja pa formiraju ukosnicu. Takva RNA u obliku ukosnice može se odmah procesirati s DCL3 (Han *i sur.*, 2019; Henikoff i Comai, 1998). RNA se zatim vežu na proteine Argonaut (AGO) te se u kompleksu s njima vežu na ciljane sekvence. Proteini AGO mogu ostvarivati interakciju s DRM, ali detalji tog procesa još nisu razjašnjeni (Blevins *i sur.*, 2015).

2.2.2 Nekanonski (specijalni) mehanizam metilacije DNA ovisne o RNA

Specifičnost ovog mehanizma u odnosu na osnovni je porijeklo RNA molekula. Specijalni mehanizam uključuje RNA duljine 21 ili 22 nukleotida iz različitih izvora i usko je povezan s

interferencijom RNA. Ustvari, većina RNA koje sudjeluju u specijalnom mehanizmu RdDM su nusprodukti RNAi. Jedan od primarnih izvora 21-22 nukleotidne RNA su transkripti Pol II. Ti transkripti mogu biti transpozonskog i virusnog porijekla ili jednostavno ne kodiraju niti za jedan protein. Zbog toga su meta RNAi koji će dovesti do njihovog cijepanja. Fragmenti pocijepanih transkripata se zatim mogu procesuirati u 21-22 nukleotidne RNA. Hoće li te RNA zatim sudjelovati u RNAi ili RdDM u konačnici ovisi o tome s kojim će proteinima AGO ostvariti interakciju (Cuerda-Gil i Slotkin, 2016). *De novo* metilacija uspostavljena specijalnim mehanizmom zatim se može održavati osnovnim mehanizmom RdDM (Erdmann i Picard, 2020).



Slika 1. Prikaz nastanka RNA koje sudjeluju u osnovnom (gore) i specijalnom (dolje) mehanizmu metilacije DNA ovisne o RNA. Preuzeto i prilagođeno iz Erdmann i Picard, 2020.

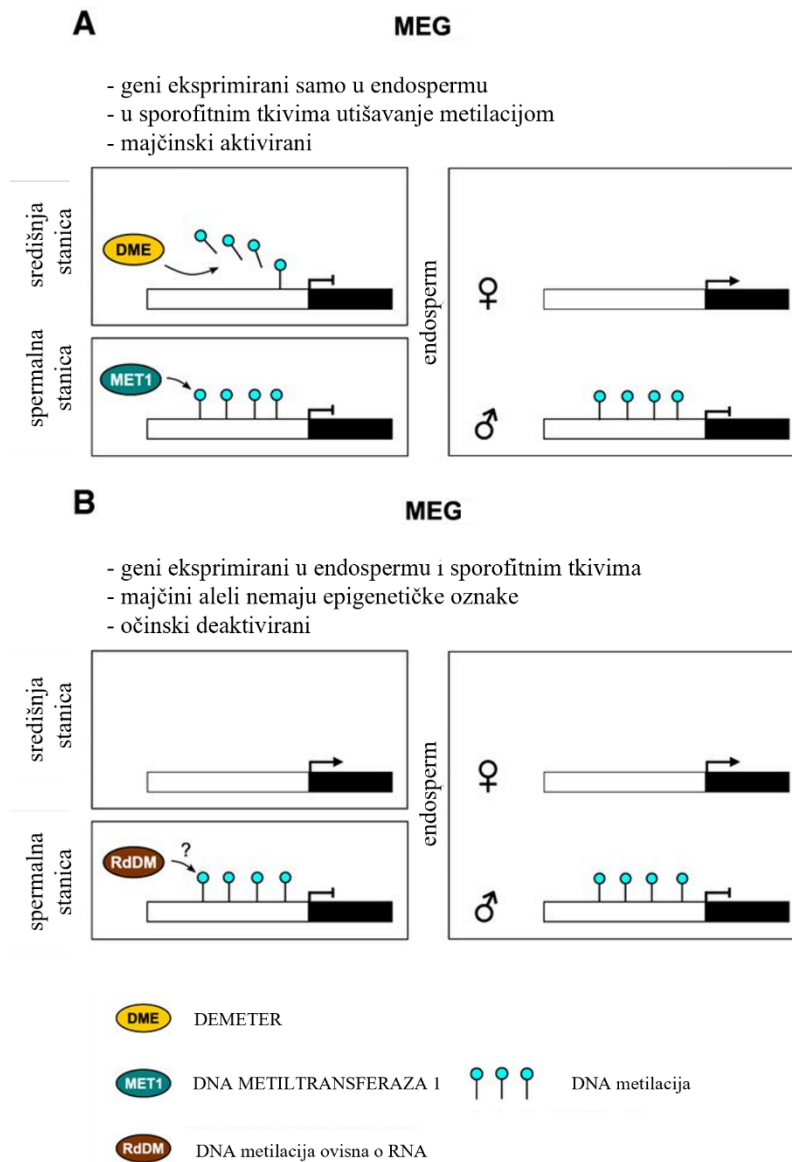
3. Utjecaj demetilacije DNA na imprinting gena

Istraživanja su pokazala da je kod biljaka velik broj imprintiranih gena eksprimiranih s majčinog alela posljedica aktivnosti DNA glikozilaze *demeter* (DME), koja uklanja 5-metilcitozin (metiliran pomoću MET1) mehanizmom ekscizijskog popravka baza (Slika 2A). Nakon izrezivanja nukleotida DNA polimeraza i DNA ligaza popunjavaju prazninu u DNA novim citozinom (Gehring *i sur.*, 2009b). Ekspresija ove glikozilaze u središnjoj stanici ženskog gametofita dovodi do uklanjanja metilacijskih oznaka s majčinih alela i ekspresije tih alela u endospermu. Spermalne stanice ne eksprimiraju glikozilazu DME, zbog čega očevi aleli ostaju metilirani (Choi *i sur.*, 2002). Djelomično obnovljena metilacija u endospermu *dme* mutanata upućuje na važnost DME demetilacije CG sljedova u čitavom genomu (Hsieh *i sur.*, 2009). Različita ekspresija alela kao posljedica asimetrične metilacije roditeljskih genoma primijećena je u otprilike 26% MEG u *A. thaliana*, i 31% MEG u *A. lyrata* (Batista i Köhler, 2020). Ekspresija s majčinskog alela kao posljedica djelovanja glikozilaze DME potvrđena je, primjerice, kod gena *medea* (*MEA*), *flowering of wageningen* (*FWA*) i *fertilisation seed 2* (*FIS2*). Važno je napomenuti da DME uglavnom ne demetilira same kodirajuće sekvence, već se geni aktiviraju demetilacijom transpozona i kratkih repetitivnih sekvenci koje se nalaze u neposrednoj blizini (Feng *i sur.*, 2010a; Gehring *i sur.*, 2009a). Osim aktivnosti DME, za hipometilaciju endosperma ključna je i represija metiltransferaze MET1 u endospermu i središnjoj stanici ženskog gametofita (Köhler *i sur.*, 2012).

4. Metilacija histona kao epigenetička oznaka u imprintingu

4.1. Metilacija histona kao sekundarni imprint

Represija majčinih alela kod mnogo gena eksprimiranih s očevog alela uz glikozilazu DME zahtjeva i sekundarnu metilaciju (Köhler *i sur.*, 2012), koja ovisi o aktivnosti proteina *Polycomb* grupe (PcG; Hsieh *i sur.*, 2011). To su kromatinski faktori koji modifikacijama kromatina utječu na ekspresiju gena (Schuettengruber i Cavalli, 2009). Proteini PcG tvore komplekse nazvane *Polycomb repressive complexes* (PRCs) koji postoje u dva tipa: PRC1 i PRC2. Tip 2 katalizira trimetilaciju lizina 27 na histonu 3 (H3K27me3; Mozgova *i sur.*, 2015). U *A. thaliana* podjedinice kompleksa tipa 2, kao i njegova aktivnost, mogu varirati u različitim stadijima biljnog razvoja (Hennig i Derkacheva, 2009).



Slika 2. Modeli regulacije MEG-ova, prikazane su epigenetičke modifikacije središnje stanice, spermalne stanice i endosperma; A- u ovom slučaju svi geni su utišani već u sporofitskim stanicama te ekspresija majčinih alela ovisi o aktivnosti DME u središnjoj stanici i održavanju metilacije očevih alela; B- geni nemaju epigenetičke oznake i aktivni su u sporofitskim tkivima, ekspresija s majčinog alela postiže se utišavanjem očinskih alela (potencijalno mehanizmom RdDM). Preuzeto i prilagođeno iz Batista i Köhler, 2020.

Ovdje će biti riječ o jednom takvom kompleksu: *fertilisation independent* (FIS) PRC2, jer je upravo on odgovoran za metilaciju imprintiranih gena. Građen je od podjedinica *fertilisation seed 2* (FIS2), *medea* (MEA), *fertilisation independent endosperm* (FIEI) i *multicopy suppressor of ira 1* (MSI1) (Hennig i Derkacheva, 2009; Mozgova i sur., 2015) i aktivan je u

središnjoj stanici ženskog gametofita i endospermu te je ključan za normalan razvoj endosperma (Hennig i Derkacheva, 2009). Mutacije u genima ovog kompleksa u središnjoj stanici uzrokuju njezinu nekontroliranu proliferaciju pa bez oplodnje nastaje struktura slična sjemenki s diploidnim endospermom (Kradolfer *i sur.*, 2013).

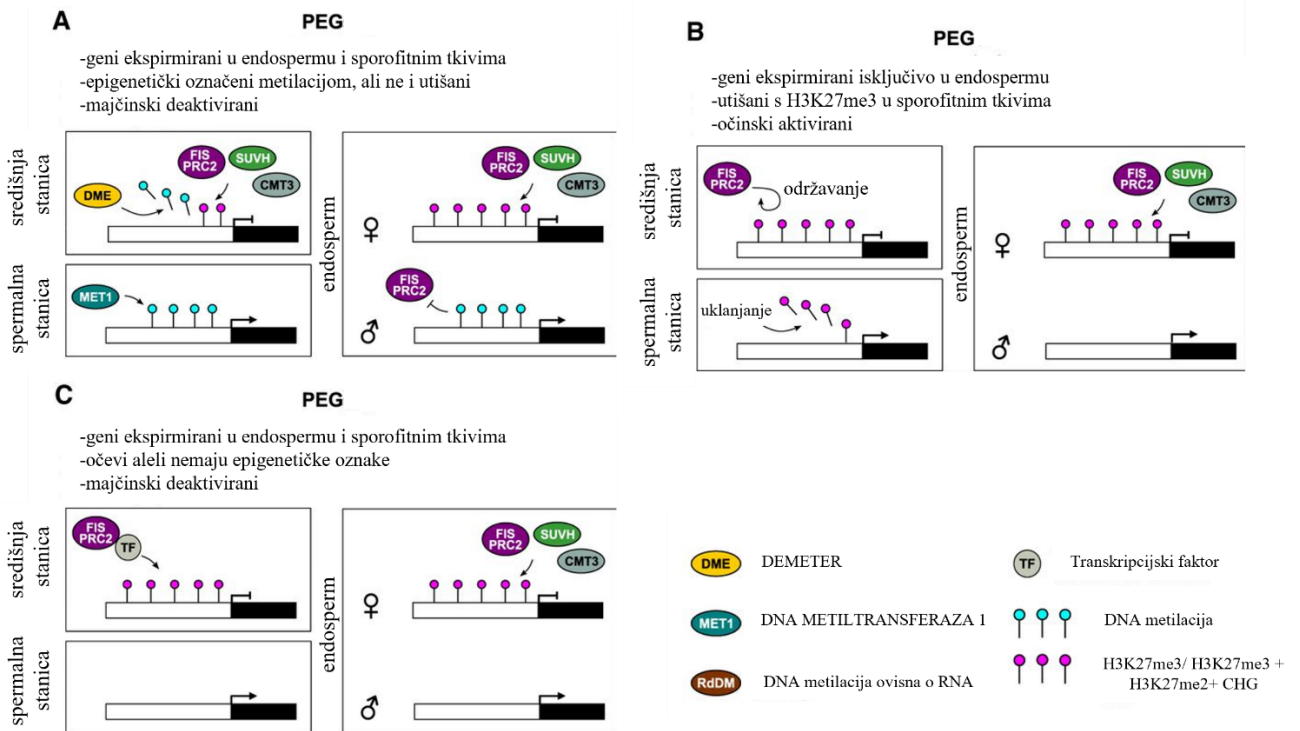
Međutim, ovaj kompleks je neaktivan ili ima smanjenu aktivnost u polenu stoga se njegovom aktivnošću utiša ekspresija majčinih alela, dok je očinski aktivan (Batista i Köhler, 2020; Luo *i sur.*, 2000). Primijećeno je da se H3K27me3 metilacija u središnjoj stanici događa na mjestima gdje je prethodno bila aktivna glikozilaza DME (što je često u blizini imprintiranih gena; Moreno-Romero *i sur.*, 2016). Dakle, kao što je već spomenuto trimetilacija histona H3 (H3K27me3) se na ovim mjestima stoga može smatrati sekundarnim imprintom dok je demetilacija primarni faktor. Obzirom da su demetilirane sekvence ciljna mjesta kompleksa FIS PRC2, metiliranost očevih eksprimiranih alela (kao posljedica neaktivnosti DME) sprječava vezanje FIS PRC2 te geni ostaju aktivni (Slika 3A; Batista i Köhler, 2020). Primjer ovako reguliranog PEG-a je gen *pheres1* (*PHE1*) koji kodira za MADS box transkripcijski faktor PHE1. Repetitivna sekvenca na 3' kraju ovog gena demetilira se pomoću DME u središnjoj stanici. Međutim, u spermalnoj stanici aktivni gen ostaje metiliran (Makarevich *i sur.*, 2008).

Ekspresija MET1 povećana je ako u endospermu dođe do gubitka aktivnosti FIS PRC2 te u *dme* mutantama što upućuje na to da je metilacija H3K37me3 potrebna za održavanje represije MET1, dok je demetilacija DNA koja nastaje kao posljedica aktivnosti DME potrebna da aktivira podjedinice MEA i FIS2 ovog kompleksa (Hsieh *i sur.*, 2011). Kombinacija aktivnosti DME i FIS PRC2 je, čini se, potrebna za utišavanje majčinskih alela kod mnogih PEG-ova (Köhler *i sur.*, 2012).

4.2. Metilacija histona kao primarni imprint

Otkriveno je mnogo lokusa eksprimiranih s očevih kromosoma kod kojih H3K27me3 ne ovisi o prethodnoj demetilaciji s DME. Čini se da nedostatak hipometilacije u *dme* mutantama sprječava trimetilaciju H3K27me3, međutim to može biti posljedica neaktivnosti podjedinica FIS1 i MEA kompleksa FIS PRC2 kojima je demetilacija potrebna za pravilnu ekspresiju (Gehring *i sur.*, 2006). Moguće je da FIS PRC2 osim demetiliranih regija cilja i konstantno nemetilirane regije u kojima H3K27me3 onda djeluje kao primarni imprint (Slika 2B; Batista i Köhler, 2020). Ovu hipotezu podupire i opažena različita aktivnost kompleksa PRC u muškim i ženskim gametama (Luo *i sur.*, 2000) koja bi omogućila asimetrično akumuliranje ove modifikacije (Batista i Köhler, 2020). Kod *A. thaliana* ova metilacija na majčinih alelima je

povezana sa CHG metilacijom i H3K9me2, štoviše čini se da metilacija CHG i H3K9me2 ovisi o prethodnom H3K27me3. Dakle, osim uloge kao primarni imprint H3K27me3 može utjecati na dodatne modifikacije i pojačati utišavanje (Moreno-Romero *i sur.*, 2019).



Slika 3. Modeli regulacije PEG-ova, prikazane su epigenetičke modifikacije središnje stanice, spermalne stanice i endosperma; A- PEG-ovi su metilirani, ali metilacija ne vodi do utišavanja gena već sprječava histonsku metilaciju H3K27me3 kompleksom FIS PRC2, majčini aleli zbog demetilacije s DME mogu se metilirati na H3 (H3K27me3) čime se utišavaju; B- geni su metilirani (H3K27me3) i neaktivni u sporofitskim tkivima, metilacija se održava u središnjoj stanici dok se u spermalnoj oznaka gubi zbog neaktivnosti FIS PRC2; C- geni nemaju epigenetičke oznake i aktivni su u sporofitskim tkivima, ekspresija s očevog alela postiže se utišavanjem majčinskih alela s FIS PRC2 uz pomoć transkripcijskih faktora. Preuzeto i prilagođeno iz Batista i Köhler, 2020.

4.3. Metilacija histona posredovana transkripcijskim faktorima

PRC2 se u biljaka ne vežu direktno za DNA već su navođeni transkripcijskim faktorima (Xiao *i sur.*, 2017). Ako bi neki transkripcijski faktori specifični za središnju stanicu ostvarivali

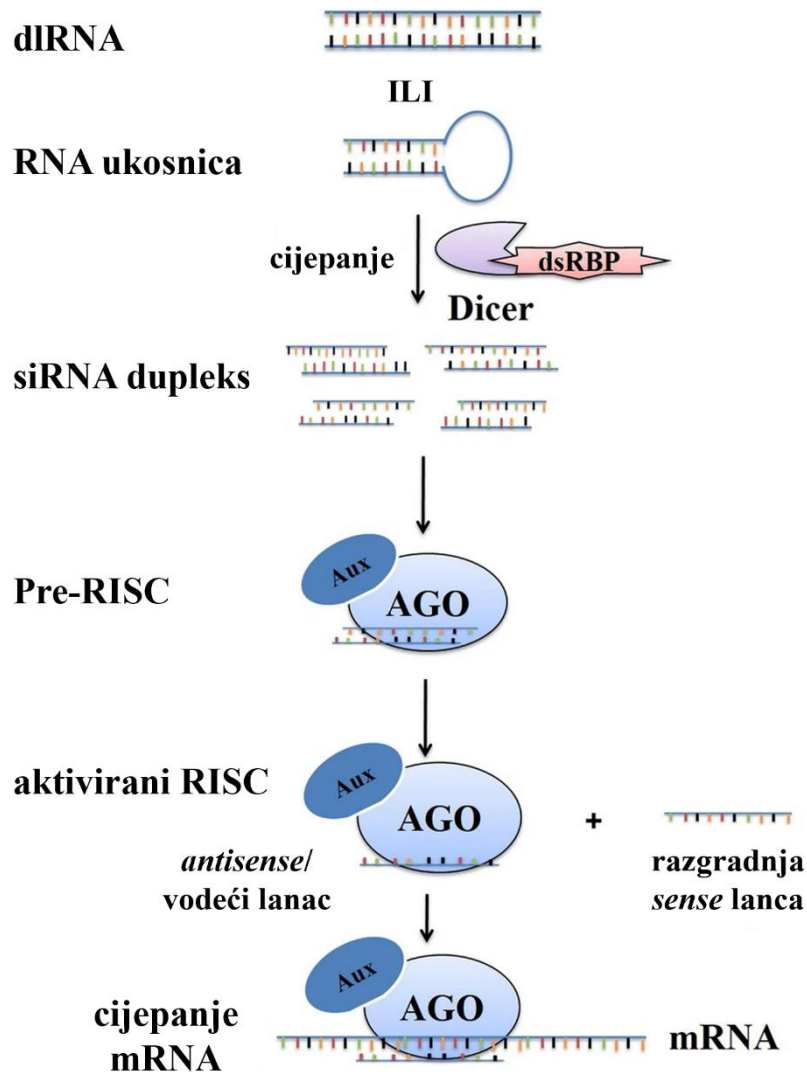
interakciju s FIS PRC2, tada bi metilacija majčinskog genoma nekih PEG-ova mogla biti indirektna posljedica navođenja transkripcijskim faktorima na specifične sekvence, uglavnom transpozone (Slika 2C; Batista i Köhler, 2020). Ovu teoriju podupire istraživanje Batista *i sur.*, 2019 koje pokazuje da transkripcijski faktor PHE1 ima utjecaj na imprinting gena. PHE1 je MADS-box transkripcijski faktor tipa 1. U blizini nekih PEG-ova nađeni su transpozoni RC/Helitron koji nose vezna mjesta za ovaj tip transkripcijskih faktora. PHE1 se veže uzvodno od gena i povezuje regulatore aktivne u endospermu u regulatornu mrežu. Moguće je da je jedan od proteina s kojim ostvaruje interakciju upravo PRC2 (Batista *i sur.*, 2019). Međutim, suprotno prethodnoj pretpostavki utjecaj PHE1 na imprinting ne proizlazi iz njegove specifičnosti za središnju stanicu već je rezultat različite metiliranosti majčinih i očevih gena. Dakle, PHE1 u teoriji može utjecati na imprinting i MEG-ova i PEG-ova. Kod MEG-ova, vezanje PHE1 za očeve alele spriječeno je metilacijom njegovog veznog mjesta pomoću MET1. Majčini geni su demetilirani što omogućuje vezanje i ekspresiju tih gena (Batista *i sur.*, 2019). Kod PEG-ova su ključne već spomenuti transpozoni RC/Helitron. U majčinom genomu aleli su utišani trimetilacijom na histonu H3 (H3K27me3) pa iako se PHE1 može vezati za vezno mjesto unutar transpozona, zbog toga što je gen metiliran ne može aktivirati njegovu transkripciju. Očinski aleli nisu metilirani što omogućuje njihovu transkripciju (Batista *i sur.*, 2019).

5. Imprinting posredovan malim interferirajućim RNA

5.1. Mehanizam nastanka i uloga malih interferirajućih RNA

Male interferirajuće RNA (eng. *small interfering RNA*, siRNA) nastaju obradom dvolančane RNA u molekule duljine 21-25 nukleotida. Prekursorke dlRNA su stranog porijekla, transpozonskog, transgeničnog ili virusnog. Također, mogu biti aberantne mRNA i inverzne repeticije (eng. *inverted repeats*, IR; Wilson i Doudna, 2013). Nastanak dlRNA odvija se u jezgri putem nekoliko mehanizama. Najčešće nastaju transkripcijom DNA u dva smjera, *sense* i *antisense* ili transkripcijom DNA koja sadrži inverzna ponavljanja i nakon transkripcije se savija u ukosnicu. Drugi mehanizam nastanka je obrada već postojećih dlRNA (virusne ili aberantne mRNA) enzimom RNA-ovisna RNA polimeraza (eng. *RNA-dependent RNA polimerase*, RdRP). Slijedi cijepanje dlRNA endoribonukleazom Dicer (Kaur *i sur.*, 2021; Wilson i Doudna, 2013). Lanci dlRNA se zatim razdvajaju i *antisense* lanac se veže za efektorski protein AGO koji je dio kompleksa RICS (Slika 4). Jednom kad se siRNA vezala,

kompleks je aktivan, veže se za ciljne mRNA te ih razgrađuje ili smanjuje njihovu translaciju (Kaur *i sur.*, 2021).



Slika 4. Prikaz puta sinteze malih interferirajućih RNA. Preuzeto i prilagođeno iz Wilson i Doudna, 2013.

Osim regulacije ekspresije gena siRNA sudjeluju i u *de novo* metilaciji mehanizmom RdDM, koji je detaljnije objašnjen ranije u tekstu. Također se mogu vezati za *repressor of silencing 3* (ROS3). On sudjeluje u putu demetilacije navodeći *repressor of silencing 1* (ROS1, homolog

DME) do ciljnog lokusa. Moguće je dakle da siRNA usmjeravaju demetilaze i omogućuju lokaliziranu demetilaciju (Köhler *i sur.*, 2012).

5.2. Imprinting u polenu

U *A. thaliana* siRNA koje sudjeluju u postranskripcijskom utišavanju duge su 21-nt, a 24-nt siRNA sudjeluju u formiranju heterokromatina i utišavaju transpozone (Calarco *i sur.*, 2012). U biljkama glavni regulator aktivnosti transpozona je *decrease in dna methylation 1 (ddm1)*. On kodira za ATP-azu DDM1 koja moduliranjem kromatina utječe na metilaciju DNA. DDM1 je povezan s metilacijom histona 3 na lizinu 9, što je oznaka koja navodi metilaciju pomoću CMT3 o čemu je riječ bilo prije u tekstu. Ta metilacija je posebno povezana sa utišavanjem transpozona. U *ddm1* mutantama smanjena je količina 24-nt siRNA, metiliranost transpozona kao i histonske modifikacije zadužene za njihovo utišavanje (Gendrel *i sur.*, 2002). U vegetativnoj jezgri polena nema sinteze proteina DDM1, zbog čega dolazi do reaktivacije utišanih transpozona, njihove akumulacije te akumulacije njihovih transkripata (Slotkin *i sur.*, 2009). Osim transpozona nakupljaju se 21-nt siRNA. Kako su ove RNA prisutne u *ddm1* mutantama velika je vjerojatnost da potječu od aktiviranih retrotranspozona. To upućuje da su 21-nt RNA u polenu produkt transpozona reaktiviranih u vegetativnoj jezgri. Međutim, najviše 21-nt RNA nije pronađeno u vegetativnoj jezgri, već spermalnim stanicama polena (Slotkin *i sur.*, 2009). Ipak, vjerojatnost da potječu od transpozona u vegetativnoj stanici je i dalje velika obzirom da je pokazano kako se male RNA mogu kretati ili komunicirati između citoplazme i vegetativne jezgre, odnosno spermalnih stanica u polenu (Slotkin *i sur.*, 2009). Osim nedostatka DDM1, demetilaciji u vegetativnoj stanici pridonosi i nedostatak proteina DME. Slotkin *i sur.*, 2009 predlažu da 21-nt siRNA nakupljene u spermalnim stanicama sudjeluju u hipermetilaciji i utišavanju transpozona i repetitivnih sekvenci (Slotkin *i sur.*, 2009). Kako su imprintirani geni često u blizini sekvenci ovo bi mogao biti još jedan faktor koji utječe na održavanje hipermetilacije očevog genoma.

5.3. Barijera u križanju hibrida

Postoji značajna podudarnost u imprintiranim genima endosperma *A. thaliana* i riže. Podudarni geni kodiraju za enzime važne za održavanja imprintinga, poput metiltransferaza, njihovih kofaktora (primjerice VIM5) i podjedinica proteina PcG (Köhler *i sur.*, 2012). Geni važni za biosintetski put auksina također su pod imprintingom. U *A. thaliana* imprintirano je mnogo gena koji kodiraju za MADS box tip I transkripcijske faktore. Oni sudjeluju u regulaciji celularizacije

endosperma direktnom ili indirektnom interakcijom sa *agamous like 62* (AGL62; Wolff *i sur.*, 2011). Celularizacija endosperma utječe na veličinu sjemenke (Garcia *i sur.*, 2003) pa je moguće da različite doze roditeljskih gena djeluju kao barijera hibridizacije između vrsta (Sazhenova i Lebedev, 2021). Ako se križaju diploidna ženska linija i tetraploidna muška linija, omjer majčinih gena u odnosu na očeve će biti 2:2 (umjesto normalnih 2:1); zbog čega će u endospermu prevladati očevi aleli što dovodi do odgode celularizacije endosperma i nastanka veće sjemenke. Suprotno tome, ako se križaju tetraploidna ženska linija i diploidna muška linija (omjer gena 4:1) prevelika doza majčinih gena uzrokovat će preuranjenu celularizaciju endosperma i sjemenka će biti malena (Gehring, 2019.; Lu *i sur.*, 2012). Jedan od gena pod imprintingom u *A. thaliana* koji je važan u procesu celularizacije endosperma je već spomenuti *agamous like 62* (AGL62). On kodira za transkripcijski faktor AGL62, jedan od proteina *agamous like* koji pripadaju tipu 1 MADS box transkripcijskih faktora. Mutacije u ovom genu rezultiraju preuranjenom celularizacijom endosperma i propadanjem embrija, slično kao prevelika doza majčinih gena. Mehanizam imprintinga ovog gena dugo je bio nepoznat, ali novija istraživanja pokazuju da 24-nt siRNA i to one porijeklom od majke, imaju ključnu ulogu u regulaciji razine ekspresije ovog gena. 24-nt siRNA ovisne su o RNA polimerazi IV (Pol IV) čija je najveća podjedinica kodirana genom *NRPD1a*. Križanjem diploidnih mutanata *A. thaliana* sa diploidnim i tetraploidnim divljim tipom pokazuju da je nedostatak majčinog transkripta *NRPD1a* povezan sa povećanom transkripcijom proteina AGL, uključujući AGL62 (Lu *i sur.*, 2012). Osim gena *AGL* i transpozoni su meta 24-nt siRNA. Već spomenuta demetiliranost majčinog genoma u endospermu vjerojatno dovodi do nastanka 24-nt siRNA koje zatim utišavaju gene *AGL* i traspozone, direktno ili putem RdDM. (Lu *i sur.*, 2012). Kako AGL utječe na razvoj endosperma, a time i sjemenke; čini se da su siRNA odgovorne za reproduktivnu barijeru između biljaka različitih vrsta te biljaka različite ploidnosti, obzirom da uspješnost ovakvih hibrida ovisi o vijabilnosti i pravilnom razvoju sjemenki (Ng *i sur.*, 2012).

6. Imprinting u embriju

6.1. Mehanizam imprintinga u embriju

U embriju je pojačana metiliranost sekvenci CHG i CHH. Kako je CHH metilacija ovisna o mehanizmu RdDM, hipermetiliranost ove sekvence ukazuje na pojačanu aktivnost tog mehanizma u embriju. (Hsieh *i sur.*, 2009). Hipoteza za objašnjenje ovog fenomena slična je

hipotezi o odnosu između vegetativne i spermalne stanice o kojoj je bilo riječi ranije. Hsieh *i sur.*, 2009 predlažu da hipometilacija u središnjoj stanici uzrokuje nakupljanje siRNA u jajnoj stanici, a zatim i u embriju kako bi se utišali transpozoni (Hsieh *i sur.*, 2009). Ovo hipotezu podupire i veća metiliranost sekvence CHH u endospermu u odnosu na vegetativno tkivo (Hsieh *i sur.*, 2009). Također, analize polena pokazuju da je i u mikrospori značajno smanjena CHH metilacija. Kako mnogi geni za sintezu enzima potrebnih za nastanak 24-nt siRNA nisu eksprimirani u polenu, ponovna metilacija sekvenci CHH događa se nakon oplodnje. Regije genoma koje su u mikrospori izgubile metilaciju odgovaraju 21-nt siRNA u spermalnoj stanici, ali najveću podudarnost imaju s 24-nt RNA u sjemenkama (Calarco *i sur.*, 2012). Zanimljivo je da su 24-nt siRNA u endospermu i sjemenkama uglavnom majčinog porijekla, ali njihov utjecaj na utišavanje gena i imprinting u embriju još nije do kraja razjašnjen.

6.2. Embrionalni geni pod imprintingom

Većina gena koji su imprintirani u endospermu u embriju su bialelno eksprimirani ili utišani, zbog čega se mislilo da je imprinting kod biljaka ograničen samo na endosperm. Ipak, istraživanja na kukuruzu, riži i *A. thaliana* pronalaze gene koji pokazuju ekspresiju samo s jednog alela u endospermu i embriju (Gehring, 2013). Prvi takav gen pronađen je u kukuruzu te je zbog ekspresije isključivo s majčinog alela u embriju nazvan *maternally expressed in embryo 1 (meel)*. Ovaj gen je pod imprintingom u endospermu gdje je također eksprimiran samo s majčinog alela. Prije oplodnje aktivan je samo u središnjoj stanici, a u embriju su njegovi transkripti pronađeni 3 do 8 dana nakon oplodnje (Jahnke i Scholten, 2009). Sličan slučaj je pronađen i u riži. Riječ je o genu *Os10g05750* koji je majčinski eksprimiran u embriju i endospermu. Ekspresija ovog gena s jednog alela u embriju je prolazna; 8 do 10 dana nakon oplodnje *Os10g05750* je bialelno eksprimiran (Luo *i sur.*, 2011). Imprinting u embriju otvara nova pitanja o mehanizmima njegove regulacije. Brisanje imprinta ne događa se u endospermu obzirom da je to diferencirano tkivo iz kojeg ne nastaje nova generacija sporofita. Situacija je drugačija s embrijem, gdje je nužno postojanje mehanizma koji uklanja imprinte prethodne generacije, kao što je slučaj kod sisavaca (Feng *i sur.*, 2010b). Takvo epigenetičko „resetiranje“ je zaista i uočeno na genu *meel*. Očevi aleli su metilirani u gametama prije i nakon oplodnje što je u skladu s ekspresijom *meel* samo sa majčinog alela. U središnjoj stanici i endospermu majčin alel je demetilirani već poznatom kombinacijom aktivnosti DME i istovremenom represijom metiltransferazne aktivnosti MET1. Kao što je već spomenuto, u endospermu nema potrebe za brisanjem imprinta, pa tu majčin *meel* ostaje konstantno demetilirani (Jahnke i Scholten, 2009). U jajnoj stanici je *meel* utišan te se vrlo intenzivno demetilira tek nakon

oplodnje i zatim ponovno metilira tijekom embrionalnog razvoja. Na taj način se gen epigenetički „resetira“ i njegova metiliranost u embriju je ponovno jednaka onoj prije oplodnje (Jahnke i Scholten, 2009).

7. Evolucija imprintinga

Imprinting kod biljaka i sisavaca vjerojatno je rezultat konvergentne (neovisne) evolucije. Niti kod jedne od ovih skupina nije razjašnjeno točno evolucijsko porijeklo, odnosno nastanak imprintinga (Feil i Berger, 2007), ali postoji nekoliko hipoteza koje nude eventualna objašnjenja za ovaj epigenetički fenomen. Kako se mnogi imprintirani geni nalaze u blizini transpozona, predloženo je da je imprinting nuspojava mehanizama utišavanja strane DNA u genomu embrija (Köhler *i sur.*, 2012). U takvom scenariju, geni se kolateralno imprintiraju kada se u njihovu blizinu ugradi transpозон koji je postao ciljno mjesto DME glikozilaze (Gehring *i sur.*, 2009a; Hsieh *i sur.*, 2009). Iz tih demetiliranih sekvenci mogu nastati siRNA koje iste te transpozone utišavaju u embriju. Ovakav koncept nastanka imprintinga poznat je pod nazivom „*defense hypothesis*“ (Köhler *i sur.*, 2012). S druge strane, *parental conflict* hipoteza predlaže da imprinting nastaje kada se „interesi“ roditeljskih alela međusobno razlikuju te se preferira ekspresija onog koji je povoljniji. Primjer je različita tendencija u rasporedu resursa između majke i potomstva. Geni koji su očinski eksprimirani potiču transport nutrijenata u embrio dok majčinski aktivni geni djeluju u interesu majke i suprimiraju rast potaknut očinskim alelima (Haig i Westoby, 1989). Ovu hipotezu podupire prisutnost imprintinga u posteljici sisavaca odnosno endospermu kod biljaka, obzirom na njihovu funkciju prijenosa resursa od majke do potomstva (Feil i Berger, 2007). Važnost nekih imprintiranih gena u regulaciji rasta endosperma također je u skladu s ovom hipotezom, kao i rezultati prije spomenutih križanja biljaka različite ploidnosti, gdje veća doza očevih gena uzrokuju povećanje endosperma i veću sjemenku (Chaudhury *i sur.*, 1997; Tiwari *i sur.*, 2008). Međutim, ova hipoteza ne može objasniti veliki nesrazmjer između količine MEG-ova i PEG-ova. Analize čitavog genoma *A. thaliana* i riže pokazuju da je kod ovih vrsta velika većina gena majčinski eksprimirana (Hsieh *i sur.*, 2011). Rješenje za ovaj problem nudi hipoteza koadaptacije. U središtu ove hipoteze je interakcija majke i potomstva. Kako je zigota okružena gametofitom majke ekspresija alela s majčine strane potencijalno olakšava komunikaciju između majke i potomstva, obzirom da eksprimirani geni potpuno odgovaraju majčinom genotipu. Prema ovoj hipotezi, očekuje se da geni uključeni u interakciju između majke i potomstva budu majčinski eksprimirani (Wolf i Hager, 2006).

Kako bi se rasvijetlio nastanak imprintinga Montgomery i Berger, 2021 predlažu da se analiza genoma i potraga za imprintiranim genima osim na kritosjemenjačama nastavi i na ostalim skupinama biljaka. Primjerice, istraživanja na mahovinama mogla bi potvrditi ili opovrgnuti hipotezu koadaptacije. Kako nova generacija kod mahovina dugo ostaje vezana za roditeljsku biljku, po hipotezi koadaptacije trebao bi biti prisutan velik broj imprintiranih gena u različitim fazama razvoja (Montgomery i Berger, 2021). U svakom slučaju, točna evolucija imprintinga zasad ostaje nerazjašnjena. Različite hipoteze njegovog nastanka također ne moraju biti međusobno isključive, već se mogu nadopunjavati kako bi objasnile nastanak i održavanje imprintinga kod različitih gena (Köhler *i sur.*, 2012).

8. Zaključak

Kako se otkriva sve više gena pod utjecajem imprintinga jasno je da je riječ o vrlo zanimljivom i složenom fenomenu. Geni koji kodiraju za proteine koji sudjeluju u uspostavljanju i održavanju imprintinga, često su i sami imprintirani. Metilacija i demetilacija DNA utišavaju očeve i aktiviraju majčine alele kod MEG-ova. Za PEG-ove je ključna histonska modifikacija H3K27me3, koja može djelovati kao primarni i sekundarni imprint, a kombinacija ovih mehanizama potrebna je za imprintiranost nekih gena iz čega je također vidljiva složenost ovog fenomena. Uključene su i male interferirajuće RNA koje su povezane s imprintiranjem gena u spermalnoj stanici i embriju. Ipak, mnogo stvari vezano za imprinting ostaje nerazjašnjeno zbog čega je on i dalje predmet brojnih istraživanja.

9. Literatura

- Batista RA, Köhler C (2020). Genomic imprinting in plants-revisiting existing models. *GENES & DEVELOPMENT* **34**: 24-36
- Batista RA, Moreno-Romero J, Qiu Y, Boven J van, Santos-González J, Figueiredo DD, i sur. (2019). The mads-box transcription factor *pheres1* controls imprinting in the endosperm by binding to domesticated transposons. *Elife* **8**: e50541.
- Blevins T, Podicheti R, Mishra V, Marasco M, Wang J, Rusch D, i sur. (2015). Identification of pol IV and RDR2-dependent precursors of 24 nt siRNAs guiding de novo DNA methylation in arabidopsis. *Elife* **4**: e09591.
- Calarco JP, Borges F, Donoghue MTA, Ex F Van, Jullien PE, Lopes T, i sur. (2012). Reprogramming of DNA methylation in pollen guides epigenetic inheritance via small RNA. *Cell* **151**: 194–205.
- Chaudhury AM, Ming L, Miller C, Craig S, Dennis ES, Peacock WJ (1997). Fertilization-independent seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**: 4223–4228.
- Choi Y, Gehring M, Johnson L, Hannon M, Harada JJ, Goldberg RB, i sur. (2002). DEMETER, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in *Arabidopsis*. *Cell* **110**: 33–42.
- Cuerda-Gil D, Slotkin RK (2016). Non-canonical RNA-directed DNA methylation. *Nature Plants* **2016** **2**: 1–8.
- Erdmann RM, Picard CL (2020). RNA-directed DNA Methylation. *PLoS Genet* **16**: e1009034.
- Feil R, Berger F (2007). Convergent evolution of genomic imprinting in plants and mammals. *Trends in Genetics* **23**: 192–199.
- Feng S, Cokus SJ, Zhang X, Chen PY, Bostick M, Goll MG, i sur. (2010a). Conservation and divergence of methylation patterning in plants and animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**: 8689–8694.
- Feng S, Jacobsen SE, Reik W (2010b). Epigenetic Reprogramming in Plant and Animal Development. *Science (1979)* **330**: 622–627.
- Frost JM, Moore GE (2010). The Importance of Imprinting in the Human Placenta. *PLoS Genet* **6**: e1001015.
- Garcia D, Saingery V, Chambrier P, Mayer U, Jürgens G, Berger F (2003). *Arabidopsis* haiku Mutants Reveal New Controls of Seed Size by Endosperm. *Plant Physiol* **131**: 1661–1670.
- Gehring M (2013). Genomic imprinting: Insights from plants. *Annu Rev Genet* **47**: 187–208.
- Gehring M (2019). Epigenetic dynamics during flowering plant reproduction: evidence for reprogramming? *New Phytologist* **224**: 91–96.
- Gehring M, Bubb KL, Henikoff S (2009a). Extensive demethylation of repetitive elements during seed development underlies gene imprinting. *Science (1979)* **324**: 1447–1451.

- Gehring M, Henikoff S (2008). DNA Methylation and Demethylation in Arabidopsis. *The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists* **6**: e0102.
- Gehring M, Huh JH, Hsieh TF, Penterman J, Choi Y, Harada JJ, i sur. (2006). DEMETER DNA glycosylase establishes MEDEA polycomb gene self-imprinting by allele-specific demethylation. *Cell* **124**: 495–506.
- Gehring M, Reik W, Henikoff S (2009b). DNA demethylation by DNA repair. *Trends in Genetics* **25**: 82–90.
- Gendrel AV, Lippman Z, Yordan C, Colot V, Martienssen RA (2002). Dependence of heterochromatic histone H3 methylation patterns on the Arabidopsis gene DDM1. *Science* **297**: 1871–1873.
- Haig D, Westoby M (1989). Parent-Specific Gene Expression and the Triploid Endosperm. *The American Naturalist* **134**: 147–155.
- Han Q, Bartels A, Cheng X, Meyer A, Charles An YQ, Hsieh TF, i sur. (2019). Epigenetics Regulates Reproductive Development in Plants. *Plants* **2019** **8**: 564.
- Henikoff S, Comai L (1998). A DNA Methyltransferase Homolog With a Chromodomain Exists in Multiple Polymorphic Forms in Arabidopsis. *Genetics* **149**: 307–318.
- Hennig L, Derkacheva M (2009). Diversity of Polycomb group complexes in plants: same rules, different players? *Trends in Genetics* **25**: 414–423.
- Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, Zemach A, Eshed-Williams L, Fischer RL, i sur. (2009). Genome-wide demethylation of Arabidopsis endosperm. *Science (1979)* **324**: 1451–1454.
- Hsieh TF, Shin J, Uzawa R, Silva P, Cohen S, Bauer MJ, i sur. (2011). Regulation of imprinted gene expression in Arabidopsis endosperm. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**: 1755–1762.
- Jahnke S, Scholten S Report Epigenetic Resetting of a Gene Imprinted in Plant Embryos. *Current Biology* **19**: 1677–1681.
- Kaur R, Choudhury A, Chauhan S, Ghosh A, Tiwari R, Rajam MV (2021). RNA interference and crop protection against biotic stresses. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **2021** **27**: 2357–2377.
- Kermicle JL (1970). Dependence of the R-Mottled Aleurone Phenotype in Maize on Mode of Sexual Transmission. *Genetics* **66**: 69.
- Köhler C, Wolff P, Spillane C (2012). Epigenetic mechanisms underlying genomic imprinting in plants. *Annu Rev Plant Biol* **63**: 331–352.
- Kradolfer D, Wolff P, Jiang H, Siretskiy A, Kö Hler C (2013). Developmental Cell Article An Imprinted Gene Underlies Postzygotic Reproductive Isolation in Arabidopsis thaliana. *DEVCEL* **26**: 525–535.
- Lauria M, Rupe M, Guo M, Kranz E, Pirona R, Viotti A, i sur. (2004). Extensive Maternal DNA Hypomethylation in the Endosperm of Zea mays. *Plant Cell* **16**: 510–522.
- Law JA, Jacobsen SE (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature Reviews Genetics* **2010** **11**: 204–220.

- Lu J, Zhang C, Baulcombe DC, Chen ZJ (2012). Maternal siRNAs as regulators of parental genome imbalance and gene expression in endosperm of Arabidopsis seeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: 5529–5534.
- Luo M, Bilodeau P, Dennis ES, Peacock WJ, Chaudhury A (2000). Expression and parent-of-origin effects for FIS2, MEA, and FIE in the endosperm and embryo of developing Arabidopsis seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 10637–10642.
- Luo M, Taylor JM, Spriggs A, Zhang H, Wu X, Russell S, i sur. (2011). A Genome-Wide Survey of Imprinted Genes in Rice Seeds Reveals Imprinting Primarily Occurs in the Endosperm. *PLoS Genet* **7**: e1002125.
- Makarevich G, Villar CBR, Erilova A, Köhler C (2008). Mechanism of PHERES1 imprinting in Arabidopsis. *J Cell Sci* **121**: 906–912.
- Montgomery SA, Berger F (2021). The evolution of imprinting in plants: beyond the seed. *Plant Reprod* **34**: 373–383.
- Moreno-Romero J, Jiang H, Santos-González J, Köhler C (2016). Parental epigenetic asymmetry of PRC 2-mediated histone modifications in the Arabidopsis endosperm. *EMBO J* **35**: 1298–1311.
- Moreno-Romero J, Toro-De León G Del, Yadav VK, Santos-González J, Köhler C (2019). Epigenetic signatures associated with imprinted paternally expressed genes in the Arabidopsis endosperm. *Genome Biol* **20**: 1–11.
- Mozgova I, Köhler C, Hennig L (2015). Keeping the gate closed: functions of the polycomb repressive complex PRC2 in development. *The Plant Journal* **83**: 121–132.
- Ng DWK, Lu J, Chen ZJ (2012). Big roles for small RNAs in polyploidy, hybrid vigor, and hybrid incompatibility. *Curr Opin Plant Biol* **15**: 154–161.
- Sasaki H, Matsui Y (2008). Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nature Reviews Genetics* **2008** **9**: 129–140.
- Sazhenova EA, Lebedev IN (2021). Evolutionary Aspects of Genomic Imprinting. *Mol Biol* **55**: 1–15.
- Schuettengruber B, Cavalli G (2009). Recruitment of Polycomb group complexes and their role in the dynamic regulation of cell fate choice. *Development* **136**: 3531–3542.
- Slotkin RK, Martienssen R (2007). Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics* **2007** **8**: 272–285.
- Slotkin RK, Vaughn M, Borges F, Tanurdžić M, Becker JD, Feijó JA, i sur. (2009). Epigenetic Reprogramming and Small RNA Silencing of Transposable Elements in Pollen. *Cell* **136**: 461–472.
- Tiwari S, Schulz R, Ikeda Y, Dytham L, Bravo J, Mathers L, i sur. (2008). MATERNALLY EXPRESSED PAB C-TERMINAL, a Novel Imprinted Gene in Arabidopsis, Encodes the Conserved C-Terminal Domain of Polyadenylate Binding Proteins. *Plant Cell* **20**: 2387–2398.
- Wilson RC, Doudna JA (2013). Molecular Mechanisms of RNA Interference. *Annu Rev Biophys* **42**: 217–239.

- Wolf JB, Hager R (2006). A Maternal–Offspring Coadaptation Theory for the Evolution of Genomic Imprinting. *PLoS Biol* **4**: e380.
- Wolff P, Weinhofer I, Seguin J, Roszak P, Beisel C, Donoghue MTA, i sur. (2011). High-Resolution Analysis of Parent-of-Origin Allelic Expression in the Arabidopsis Endosperm. *PLoS Genet* **7**: e1002126.
- Xiao J, Jin R, Yu X, Shen M, Wagner JD, Pai A, i sur. (2017). Cis and trans determinants of epigenetic silencing by Polycomb repressive complex 2 in Arabidopsis. *Nature Genetics* **2017** **49**: 1546–1552.
- Zemach A, Kim MY, Silva P, Rodrigues JA, Dotson B, Brooks MD, i sur. (2010). Local DNA hypomethylation activates genes in rice endosperm. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**: 18729–18734.
- Zhang M, Xie S, Dong X, Zhao X, Zeng B, Chen J, i sur. (2014). Genome-wide high resolution parental-specific DNA and histone methylation maps uncover patterns of imprinting regulation in maize. *Genome Res* **24**: 167-176.

10. Životopis

Rođena sam 27. 1. 2002. Osnovnu i srednju školu pohađala sam u Slunju. Godine 2020. upisujem studij molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Aktivna sam članica Udruge studenata biologije – BIUS.