

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:
Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:
Molekulární biologie a biochemie organismů



Simona Bürgelová

Vliv metylace DNA na stav chromatinu u rostlin
Influence of DNA methylation on chromatin state in plants

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Lukáš Fischer, Ph.D.

Konzultanti: Mgr. Adéla Příbylová, Ph.D., Mgr. Vojtěch Čermák, Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především svému školiteli panu RNDr. Lukáši Fischerovi, Ph.D. za jeho pomoc, rady, připomínky a zejména pak strávený čas a trpělivost. Také bych chtěla poděkovat rodině a mému příteli, kteří mě v psaní práce podporovali.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.8. 2024

Simona Bürgelová

Abstrakt

Fenotyp rostliny je ovlivněn genetickou i epigenetickou informací, protože epigenetické značky jsou schopné regulovat expresi genů. Mnoho genů je během života rostliny umlčováno, protože se uplatňují například pouze v určité části vývoje rostliny či v reakci na stres. Transponovatelné elementy a jiné repetitivní sekvence jsou také umlčovány, jelikož by mohly ohrožovat stabilitu genomu. Jednou z epigenetických značek je metylace DNA, navázání metylové skupiny z donoru na C5 pozici cytosinu v DNA. Methylace DNA je zajišťována metyltransferázami a má zpravidla represivní vliv na expresi genů díky proteinům rozeznávajícím metylaci. Kromě methylace DNA má na expresi genů vliv i celkový stav chromatinu, který se může vyskytovat jak v rozvolněném stavu (euchromatin), tak v kondenzovaném stavu (heterochromatin). Geny nacházející se v heterochromatinu jsou neaktivní (umlčené), protože heterochromatin je značně kompaktní a není přístupný pro proteiny podílející se na expresi genů. Kondenzace chromatinu je často přímo spojena s metylací DNA. Zároveň je ale kondenzace chromatinu spojena i s represivními histonovými modifikacemi a represivními histonovými variantami, se kterými je často svázána i metylace DNA. Cílem této práce je shrnout a propojit známé vzájemné vztahy mezi metylací DNA, histonovými modifikacemi, histonovými variantami a stavem chromatinu, které se společně podílejí na regulaci exprese genů.

Klíčová slova: metylace cytosinu/DNA, demethylace cytosinu/DNA, MBD proteiny, SUVH proteiny, H3K9me2, H3K27me3, heterochromatin, euchromatin, H3, H2A.W, H2A.Z

Abstract

Plant phenotype is shaped by genetic and epigenetic information, because epigenetic marks participate in regulation of gene expression. Many genes are silenced during plant's life, because they play a role for example only in a certain stage of plant development or in a stress response. Transposable elements and other repetitive sequences are also silenced, because they could threaten the genome stability. One of the epigenetic marks is DNA methylation, transfer of a methyl group from donor to C5 position of the cytosine in DNA. DNA methylation is mediated by methyltransferases and usually has repressive effect on the gene expression thanks to methylation recognition proteins. In addition to DNA methylation, the chromatin state has also an effect on gene expression and can occur in either a loosened state (euchromatin) or a condensed state (heterochromatin). Genes located in heterochromatin are not active (silenced), as heterochromatin is substantially compact and isn't accessible to proteins involved in gene expression. Condensation of chromatin is often directly connected with DNA methylation. Condensation of chromatin is also associated with repressive histone modifications and repressive histone variants, these histone modifications and histone variants are also often associated DNA methylation. The aim of this work is to summarize and connect the known interactions between DNA methylation, histone modifications, histone variants and chromatin state, which all together participate in regulation of gene expression.

Key words: cytosine/DNA methylation, cytosine/DNA demethylation, MBD proteins, SUVH proteins, H3K9me2, H3K9me3, heterochromatin, euchromatin, H3, H2A.W, H2A.Z

Seznam často používaných zkratek

ADCP1	Agenet domain containing protein 1
AGO1	Argonaute 1
AGO4	Argonaute 4
ATXR	Arabidopsis trithorax-related protein
CAF1	Chromatin assembly factor-1
CLF	Curly leaf
CMT2	chromomethylase 2
CMT3	chromomethylase 3
DCL3	Dicer-like 3
DDM1	Decrease in DNA methylation
DME	Demeter
DML	Demeter-like protein
DRM2	Domains Rearranged Methylase 2
ELF6	Early flowering 6
EMF1	Embryonic flower 1
EMF2	Embryonic flower 2
FIS2	Fertilization independent seed 2
HDP	Harbinger transposon-derived protein 2
IDM1	Increased DNA methylation
JMJ	Jumonji domain-containing protein 13
LHP1	Like-heterochromatin protein 1
LLPS	Liquid–liquid phase separation
MEA	Medea
MBD	Methyl-CpG-Binding Domain
<i>MEMS</i>	DNA methylation monitoring sequence
MET1	metyltransferáza 1

PRC	Polycomb repressive complex 2
PRC1	Polycomb repressive complex 2
RDR2	RNA-dependent RNA polymerase 2
RDR6	RNA-dependent RNA polymerase 6
RdDM	RNA-directed DNA methylation (dráha)
REF6	Relative of ELF6
ROS1	Repressor of silencing 1
siRNA	small interfering rna
SRA	SET and RING finger-associated
SUVH	Suppressor of variegation 3-9 homolog
SUVR	SU(VAR)3-9 Related
SWN	Swinger
SWR1	SWI2/SNF2-Related 1 chromatin remodeling (komplex)
TE	transposable elements
TF	transcription factor
VIM	Variant in methylation
VRN2	Vernalization 2

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Dynamika metylace DNA	3
2.1. de novo metylace DNA, udržování metylace DNA a demethylace DNA	3
2.1.1. de novo methylace a RdDM dráha.....	4
2.1.2. Udržování metylace DNA.....	6
2.1.3. Demethylace DNA.....	7
3. Vliv metylace DNA na lokální stav, složení a uspořádání chromatinu	9
3.1. Proteiny rozeznávající metylaci DNA.....	9
3.1.1. MBD proteiny.....	9
3.1.2 Proteiny se SRA doménami.....	10
3.1.2.1. VIM proteiny.....	11
3.1.2.2. SUVH proteiny	12
3.2. Modifikace histonů a jejich vliv na strukturu chromatinu	16
3.2.1. Dimethylace histonu H3 na pozici K9 (H3K9me2)	16
3.2.2. Trimethylace histonu H3 na pozici K27 (H3K27me3).....	17
3.2.2.1. Polycomb repressive complex 2 (PRC2).....	17
3.2.2.1. Polycomb repressive complex 1 (PRC1).....	19
3.3. Zastoupení histonových variant a jejich vliv na strukturu chromatinu.....	19
3.3.1. Varianty histonu H2A	20
3.3.1.1. Histonová varianta H2A.W.....	20
3.3.1.2. Histonová varianta H2A.Z.....	22
3.3.2. Varianty odvozené od histonu H3.....	23
3.3.2.1. Histonová varianta H3.1.....	23
3.3.2.2. Histonová varianta H3.3.....	23
3.4. Lokalizace v jádře.....	24
4. Závěr.....	26
Reference	

1. Úvod

Při DNA metylaci dochází k transferu metylové skupiny z S-adenosylmethioninu (SAM) na C5 pozici cytosinu v DNA živých organismů. Tímto transferem, který je katalyzován konzervovanými enzymy DNA metyltransferázami, vzniká 5-metylcytosin (5-mC) (Zhang et al., 2018). Metylovaný cytosin interaguje s okolím jinými způsoby než nemetylovaný cytosin. Euchromatin (rozvolněný, transkripčně aktivní typ chromatinu) se může měnit v heterochromatin (kondenzovaný, transkripčně neaktivní typ chromatinu) během procesu kondenzace chromatinu. Tyto změny ovšem mohou být vratné na rozdíl například od změny v sekvenci DNA (napříkladí mutace). Epigenetické změny jsou takové změny fungování genů, které jsou mitoticky či meioticky dědičné, ale nejsou způsobeny změnami sekvence DNA. Hlavní epigenetické mechanismy jsou pro živočichy a rostliny stejné, přesto u rostlin najdeme řadu odlišností. Příkladem toho je RNA řízená DNA metylace (RNA-directed DNA methylation (RdDM) pathway), která využívá rostlině specifické DNA dependentní RNA polymerázy Pol IV a Pol V., jež byly odvozeny od DNA dependentní RNA polymerázy Pol II (Duan et al., 2018).

Genetický kód je stejný pro živočichy i pro rostliny, stejně jako pro všechny ostatní živé organismy, avšak struktura a obsah genomu se značně liší. Většina rostlinného genomu je přepisována do RNA, avšak jen velmi malá část těchto RNA je kódující RNA. Z kódující RNA následně vznikají proteiny pro potřeby rostlinné buňky. Zbylá část RNA je nekódující RNA (ncRNA), jež není překládána na proteiny, avšak může hrát jiné důležité role pro rostlinnou buňku. Tyto ncRNA mohou nabývat různých délek a účastnit se různých procesů. Malé ncRNA (small RNA) obsahují 18-30 nukleotidů, středně velké RNA (medium-sized ncRNA) obsahují 31-200 nukleotidů a dlouhé ncRNA (long ncRNA) obsahují 200 a více nukleotidů. Role ncRNA obvykle spočívá v regulaci genové exprese na transkripční či posttranskripční úrovni (Y. Yu et al., 2019). Příkladem jsou malé interferenční RNA (siRNA) o délce 24 nukleotidů, které se účastní RdDM dráhy, kde určují cíl pro de novo metylaci DNA na základě komplementarity s cílovou sekvencí (Příbylová et al., 2019). Cílovou sekvencí mohou být například transponovatelné elementy (TE). TE jsou krátké mobilní úseky „parazitické“ DNA, které jsou schopny se přesouvat či kopírovat sebe sama a začleňovat se do genomu. V genomu se vyskytují ve značné míře, lidský (tedy živočišný) genom obsahuje kolem 40 % TE, u rostlin toto výrazně číslo často stoupá, například u kukuřice tvoří TE kolem 85 % genomu. Pokud je TE aktivní, svými přesuny může způsobovat například mutace či zlomy chromozomů. Další z mnoha možných vlivů TE je alternativní sestřih a změna polyadenylačních vzorů. Hlavním ze způsobů inaktivace TE je metylace DNA, metylovaný TE sice stále obsahuje nezměněné sekvence potřebné pro tvorbu proteinů pro transpozici či kopírování, avšak není schopen tyto proteiny produkovat kvůli heterochromatinovému prostředí, jež vzniklo právě v důsledku metylace (Slotkin & Martienssen, 2007).

Další odlišností vedle množství ncDNA mezi genomem živočichů a rostlin je polyploidie, tedy když je počet chromozomových sad více než 2 sady chromozomů. Živočichové a zejména obratlovci jsou standardně diploidní (2 sady chromozomů), zatímco rostliny jsou obvykle polyploidní a mohou dosahovat různých úrovní ploidie. Polyploidie je hojně využívána v zemědělství, jelikož polyploidní rostliny dosahují větších rozměrů a výnosů, například

zahradní jahoda je octoploid (obsahuje 8 sad chromozomů). S polyploidii přichází ale i nutnost inaktivovat ty sady chromozomů které rostlina nebude aktivně využívat, není totiž žádoucí, aby se transkribovaly všechny geny ze všech čtyř chromozomových sad najednou. Proto jsou určité geny metylovány, aby nedocházelo k nežádoucí nadexpresi (Cusack et al., 2021). Polyploidní organismy mají vyšší nároky na regulaci genomu, dochází u nich častěji k epigenetickým změnám, postupné přestavbě genomu a reprogramování. Proto jsou rostlinné (polyploidní) genomy zpravidla mnohem více dynamické a rychleji se vyvíjející než živočišné (savčí) genomy (Duan et al., 2018).

Jelikož je metylace epigenetická modifikace, neovlivňuje sekvenci DNA a není stálá. 5-mC může být demetylován z důvodu nedostatku metyltransferázové aktivity či nedostatku donorů methylové skupiny (pasivní DNA demetylase), a nebo cílenou enzymatickou aktivitou komplexu několika enzymů (aktivní DNA demetylase (Lloyd & Lister, 2022)). Při demetylaci dochází ke ztrátě metylových skupin 5-mC. Pokud je demetylován větší počet metylovaných cytosinů, struktura chromatinu se mění z heterochromatinu na euchromatin a je přístupná pro transkripci genů. Demetylase může být stejně jako metylase indukována vnějšími či vnitřními vlivy. Demetylase indukovaná vnějšími vlivy postihuje například stresové geny. Stresové geny jsou takové geny, které jsou v období příhodných podmínek neaktivní a nedochází k jejich transkripci. Pokud ovšem nastanou nepříznivé podmínky, stresové geny pro danou situaci jsou aktivovány demetylací a z nich vzniklé proteiny se zapojují do biochemických procesů rostliny, rostlina se tak může přizpůsobit nepříznivým podmínkám. Demetylase indukovaná vnitřními vlivy se uplatňuje při realizaci vývojového programu rostliny (Lloyd & Lister, 2022).

Spolu s metylací a demetylací DNA se na stavu chromatinu také podílí modifikace histonů a zastoupení histonových variant v nukleozomech. Tyto epigenetické modifikace způsobují změny stavu chromatinu a s ním spojenou možnost regulace transkripce genů, což rostlině umožňuje reagovat na okolní podmínky. U rostlin je tato schopnost modulace markantně výraznější než u živočichů. Živočichové jsou pohyblivé organismy, pokud se tedy živočich nachází v nepříznivých podmínkách, má možnost se přesunout na jiné příznivější stanoviště. Rostliny jsou sesilní organismy a nemají možnost pohybu na jiné stanoviště (krom výjimek, například stepní běžci (či bezcévnaté rostliny - fytoplankton)), proto musí nepříznivé podmínky přestat. A právě v tom jim pomáhá dynamická regulace exprese genů při již zmíněné odpovědi na stresové podmínky.

2. Dynamika metylace DNA

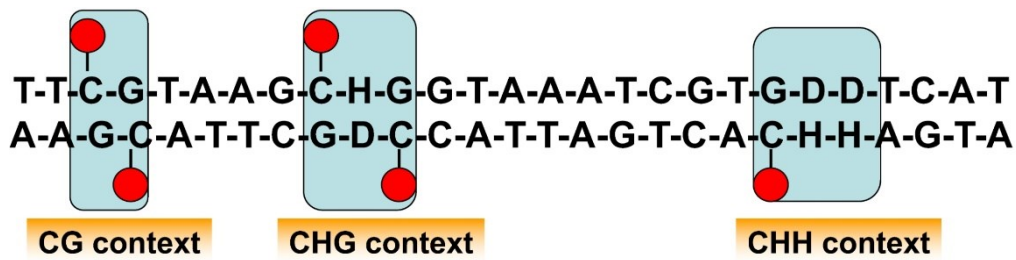
Pokud u rostliny dojde ke genetické změně DNA (tedy změně sekvence nukleotidů DNA), tato změna je nevratná. Pokud ale dojde k epigenetické změně chromatinu (sekvence nukleotidů DNA zůstává stejná, ale jsou změněny epigenetické značky na DNA či histonech), tato změna je vratná. Proto jsou epigenetické změny ideální pro dočasné umlčování či aktivování genů například při zrání plodů rostliny či při reakcích na stres (Lang et al., 2017; Rambani et al., 2015). Toto je pro rostlinu velmi výhodné, jelikož umlčením genu pomocí epigenetických značek se nadobro nevzdává možnosti gen v budoucnu znova využít. Epigenetické změny mohou být i trvalé, což je žádoucí především u transponovatelných elementů, jež mají při zvýšené aktivitě negativní vliv na genom. Toto umlčení je obvykle stabilní, může ale být narušeno a z neaktivního TE se může stát TE aktivní, avšak k takovéto aktivaci TE nedochází příliš často. Navíc obvykle není narušení umlčení prostřednictvím metylací samovolné a je zapříčiněno (příkladem může být rostlinou řízená aktivní demethylace TE poblíž aktivních genů, protože by se z něj mohla šířit metylace na přilehlé geny, které metylované být nemají (Tang et al., 2016)). Epigenetické značky tedy mohou být velmi stabilní (zmíněná metylace TE) ale i dynamické (A. Yu et al., 2013)). A právě díky možnosti aktivní metylace a demethylace, možnosti „vypnout/zapnout“, je metylace DNA jeden ze způsobů flexibilní reakce na okolí.

2.1. de novo metylace DNA, udržování metylace DNA a demethylace DNA

De novo metylace DNA, udržování metylace DNA a demethylace DNA jsou procesy, jež společně tvoří dynamiku metylace DNA. De novo DNA metylace je proces, při kterém je metylová skupina přenesena na nemetylovaný cytosin v úseku DNA, který nebyl předtím modifikován (Matzke & Mosher, 2014). Tímto přenosem se nově ustanovuje tento typ epigenetické značky. Po semikonzervativní replikaci DNA se nová DNA skládá z původního vlákna (s metylovanými cytosiny) a z nově syntetizovaného vlákna, které cytosiny metylované nemá, nově vzniklá DNA je tedy hemimetylovaná. Během udržovací metylace DNA dojde k metylaci cytosinů na nově syntetizovaném vlákně. Demethylace DNA je ztráta metylové skupiny z 5-mC a může být aktivní (díky aktivitě nějakého proteinu, například ROS1) či pasivní (například kvůli nedostatku SAM) (Gong et al., 2002; H. Zhang et al., 2012).

V sekvenci DNA se cytosiny vyskytují v sousedství různých nukleotidů, tzv. C kontext popisuje, jaké konkrétní nukleotidy se nachází v okolí cytosinu (viz Obr.1.). Tento sekvenční kontext může nabývat tří základních variant a to CG, CHG a nebo CHH (za písmeno H mohou být dosazeny dusíkaté báze adenin, thymin či cytosin) (Lister et al., 2008). C kontext je velmi důležitý, protože všechny tři varianty se liší funkcí a například při udržování metylace v různých C kontextech působí různé DNA metyltransferázy. CG kontext je označován jako symetrický, protože pokud je na jednom vlákně kontext CG, musí být v komplementárním vlákně DNA také CG, žádné jiné nukleotidy nemohou být dosazeny kvůli komplementaritě bází. CHG komplex obsahuje mezi cytosinem a guaninem jednu pozici pro dusíkaté báze adenin, thymin či guanin, je tedy možné získat více variant CHG. CHH kontext má pevně daný pouze komplementární pár CG a za H je opět možné dosadit nukleotidy s výjimkou guaninu, CHH kontext je tedy nejvíce variabilní. U živočichů jsou metylovány především cytosiny v CG kontextu, zatímco u rostlin dochází k metylaci ve všech kontextech, největší podíl

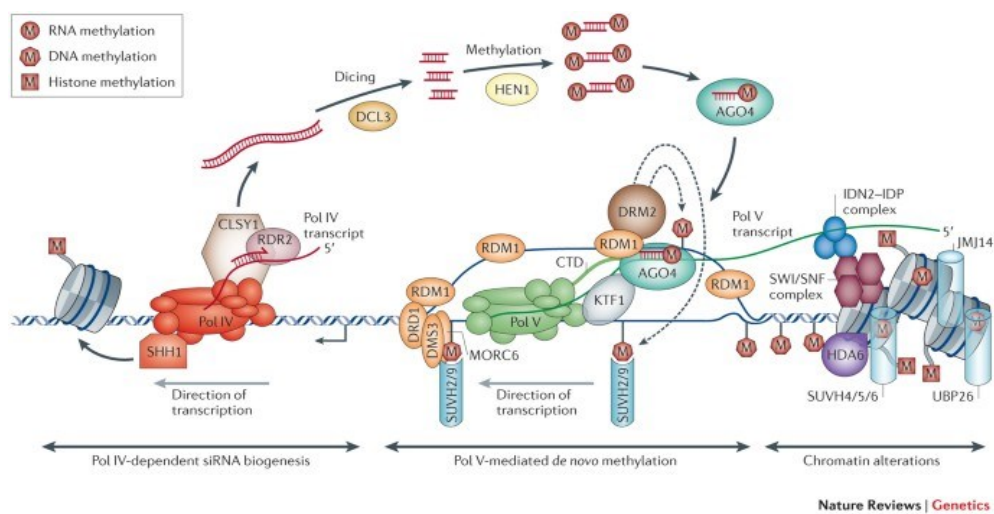
metylovaných cytosinů se ale stále nachází v CG kontextu (Cokus et al., 2008; Ehrlich et al., 1982).



Obr.1. Základní varianty C kontextu: CG kontext, CHG kontext a CHH kontext(H= adenin, thymin nebo cytsin, D= adenin, thymin nebo guanin); převzato od(Venios et al., 2024).

2.1.1. de novo methylace a RdDM dráha

De novo metylace je u rostlin uskutečňována pomocí RNA-directed DNA methylation dráhy (RdDM dráhy), jež je schopna umlčovat úseky DNA. Hlavním cílem jsou TE a další repetitivní sekvence DNA (Matzke & Mosher, 2014). K určení cíle metylace jsou využívány siRNA, které jsou „neseny“ proteinem AGO4 a jsou komplementární k nascentnímu transkriptu Pol V. Prekurzory pro tyto malé interferenční RNA jsou tvořeny většinou Pol IV, prekurzory mohou být tvořeny ale i Pol II(Blevins et al., 2015; B. Zheng et al., 2009). Metylázou RdDM dráhy je Domains Rearranged Methylase 2 (DRM2), která je schopna metylovat cytosin ve všech C kontextech, avšak preferuje asymetrické kontexty v templátové DNA (Cao et al., 2003; Cao & Jacobsen, 2002; Zhong et al., 2014). U rostlin je popsáno několik RdDM drah, nekanonické RdDM dráhy jsou obvykle provázány s posttranskripčním umlčováním genů, zatímco kanonická RdDM dráha zajišťuje především udržování metylace cytosinu po replikaci DNA v již umlčených regionech (Cuerda-Gil & Slotkin, 2016).



Obr.2. kanonické RdDM dráhy; převzato od(Matzke & Mosher, 2014).

Nature Reviews | Genetics

Model

V kanonické RdDM dráze jsou využívány siRNA produkované z transkriptů Pol IV, proto je Pol IV na počátku této RdDM dráhy (Blevins et al., 2015). K DNA je Pol IV přivolána a připojena pomocí Sawadee homeodomain homologue 1 (SHH1), který se váže na N-konec histonu H3 obsahující dimetylovaný lysin K9 (H3K9me2) a nemetylovaný lysin K4 (Law et al., 2013). Po navázání Pol IV na DNA jsou Pol IV vytvářeny RNA transkripty. Pol IV transkript je poté pomocí enzymu RNA-dependent RNA polymerase 2 (RDR2) převeden na dvouvláknovou RNA (dsRNA), ze které je enzymem Dicer-like 3 (DCL3) následně odštěpen duplex 24 nukleotidů dlouhé malé interferenční RNA (siRNA) (Xie et al., 2004). S siRNA poté interaguje protein Hua enhancer 1 (HEN1), jenž metyluje -OH skupiny na 3' koncích siRNA, následně spolu s navázáním siRNA k proteinu Argonaute 4 (AGO4) dojde k oddělení vláken siRNA duplexu a jedno z nich je přes adenosin na 5' konci navázáno k AGO4 (alternativně ho navazuje i AGO9) (Havecker et al., 2010; Mi et al., 2008; Qi et al., 2006). AGO4 s metylovaným siRNA vláknem posléze interaguje s nascentním transkriptem vytvořeným PolIV(Wierzbicki et al., 2009). Tento nascentní transkript bývá také označován jako scaffold transkript, protože nekóduje žádné proteiny a slouží jen jako „lešení“ pro navázání siRNA nesené AGO4. Je-li siRNA vlákno komplementární k nascentnímu transkriptu a naváže se na něj, je přivolána DRM2, která metyluje cytosiny na templátovém vlákně DNA v místě, které sekvenčně odpovídá siRNA navázané na nascentní transkript (viz Obr.2.) (Zhong et al., 2014).

Vedle kanonické RdDM dráhy, která zajišťuje většinu regulace TE, existuje i spousta nekanonických RdDM drah, které se ale od kanonické RdDM dráhy liší, například se v nich uplatňují paralogy proteinů kanonické RdDM (RNA-dependent RNA polymerase 6 (RDR6) místo RDR2), nebo třeba místo 24-nt je siRNA obvykle dlouhá 21-22nt a také může být tvořena třeba pomocí Pol II(McCue et al., 2012; Nuthikattu et al., 2013). Nekanonické dráhy jsou také často oproti kanonické RdDM dráze „zkrácené“ nebo třeba vstupují do nějakého bodu kanonické RdDM dráhy(Nuthikattu et al., 2013; Wu et al., 2010).

V Pol II-DCL3 nekanonické RdDM dráze Pol II přepisuje DNA, v jejíž sekvenci se objevují invertované repetice, transkript takovéto sekvence se pak může samovolně složit do RNA vlásenky, která mimikuje dsRNA, která by jinak v kanonické dráze vznikala díky RDR2(Wu et al., 2010). Tato dsRNA může být následně zpracována DCL3 na 24nt dlouhé siRNA, a vstupují tak do kanonické RdDM dráhy a dochází k metylaci DNA, které může vést k transkripčnímu umlčování genů(Wu et al., 2010).

Pol II-RDR6 dependentní nekanonická RdDM dráha umlčuje především nové transkripčně aktivní TE, které jsou přepisovány Pol II a tak vznikají jejich RNA transkripty(Nuthikattu et al., 2013). Tyto transkripty jsou díky RDR6 převáděny na dsRNA, která je následně pomocí Dicer-like 2 (DCL2) a Dicer-like 4 (DCL4) zpracována na 21-22nt dlouhé siRNA. Tyto siRNA jsou poté při vazbě na AGO1 rozštěpeny a jedno vlákno siRNA je navázáno na AGO1, avšak nesměruje k nascentnímu transkriptu Pol V jako AGO4 u kanonické RdDM dráhy, ale cílí transkripty aktivního TE, ze kterého vzniklo. Po navázání na základě komplementarity s transkriptem s TE dochází k rozštěpení mRNA, čímž je TE transkript zneškodněn(McCue et al., 2012). K umlčování genů TE tak dochází primárně posttranskripčně. Důležité ale je, že kromě AGO1 mohou tyto 21 a 22nt dlouhé siRNA interagovat i s AGO6, společně se přesunout k DNA a Pol V, a následně interagovat s transkriptem Pol V, což ve výsledku vede k metylaci DNA (která může vést k transkripčnímu umlčování TE). Podobně jako ostatní nekanonické

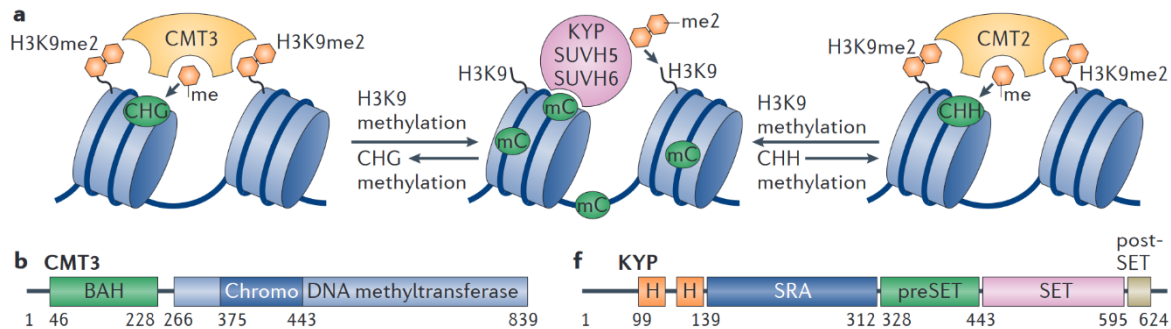
RdDM dráhy nemá Pol II-RDR6 dependentní nekanonická RdDM dráha velký podíl na regulaci TE(Nuthikattu et al., 2013).

2.1.2. Udržování metylace DNA

Způsob udržování metylace DNA záleží na C kontextu. V CG kontextu je metylace udržována metyltransferázou 1 (MET1) (Jones et al., 2001). MET1 je aktivní především při replikaci DNA. Nová DNA během replikace obsahuje vždy jedno templátové vlákno DNA, které nese metylové značky, a jedno nově vzniklé vlákno bez metylových značek. Pokud je na templátovém vlákně 5-mC v CG kontextu, na nově vzniklém vlákně se nachází nemetylovaný cytosin také v CG kontextu. Takovéto hemimetylované CG místo je rozeznáno proteinem Variant in methylation 1 (VIM1) (popř. jeho paralogy Variant in methylation 2 (VIM2) či Variant in methylation 3 (VIM3)), jenž přivolá MET1 a následně dojde k metylaci cytosinu na nově vzniklém vlákně(Woo et al., 2007, 2008).

Udržování metylace v CHG kontextu je zajištěno především díky Chromometyláze 3 (CMT3) (Lindroth et al., 2001). Chromometylázy obsahují chromodoménu a BAH doménu, které jsou schopny navázat se na histon H3, který je dimetylovaný na lysinu 9 (H3K9me2) (Du et al., 2012). Chromodoména tak navádí chromometylázu k přilehlé DNA a dochází k metylaci cytosinu v CHG kontextu. Metylovaný cytosin v CHG kontextu může být následně rozeznán SET and RING finger-associated (SRA) doménou histonových metyltransferáz SUVH4 (také známé jako histonová metyltransferáza Kryptonite (KYP)), SUVH5 a SUVH6 (Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; L. M. Johnson et al., 2007). Tyto histonové metyltransferázy dimetylují histony H3 na pozici K9 v okolních nukleozomech, to opět může vést k navázání CMT3 na H3K9me2 a metylaci cytosinu v CHG kontextu, jedná se tedy o pozitivní zpětnovazebnou smyčku(Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2002, 2004; L. M. Johnson et al., 2007; Malagnac et al., 2002). Cytosin v CHG kontextu může být metylován i chromometylázou 2 (CMT2) (Stroud et al., 2014).

Udržování metylace v CHH kontextu v heterochromatinu s histonem H1 zajišťuje především chromometyláza 2 (CMT2), která se chromodoménou a BAH doménou váže na H3K9me2 a metyluje cytosin v CHH kontextu v okolním chromatinu(Stroud et al., 2014). Na rozdíl od CMT3, CMT2 rozeznává mono i dimetylovaný H3K9, ale preferuje H3K9me2, zatímco CMT3 se může vázat na mono, di i trimetylovaný H3K9(Du et al., 2012, 2015)). Hlavním cílem CMT2 jsou dlouhé TE nacházející se v heterochromatinu (Stroud et al., 2014). Metylací cytosinu v CHH může udržovat také DRM2 v cílových regionech RdDM dráhy, což jsou především krátké TE v euchromatinu nebo okraje delších TE(Law & Jacobsen, 2010; Stroud et al., 2014; Zemach et al., 2013). Udržování metylace cytosinu v CHH kontextu může být ovlivněno aktivitou CMT3, protože v rámci činnosti CMT3 a KYP, SUVH5 a SUVH6 dochází k dimetylaci H3K9, na který se CMT2 váže (viz Obr.3.) (Stroud et al., 2014).



Obr.3. Model pozitivní zpětnovazebné smyčky mezi metylací CHG (či CHH) a dimethylací H3K9me2, CHG metylace ale také může skrz H3K9me2 pozitivně ovlivňovat CHH metylaci a tento vztah funguje i obráceným směrem; převzato od(Du et al., 2015)

2.1.3. Demethylace DNA

Demethylace DNA je proces, při kterém dochází ke ztrátě (pasivní demethylace) či odstranění (aktivní demethylace) metylových skupin z cytosinů DNA. Pasivní demethylace může být způsobena například nedostatkem donoru metylových skupin nebo nedostatečnou aktivitou DNA metyltransferáz po replikaci DNA, není pak totiž „z čeho“ nebo „kým“ zajistit udržení metylace DNA, a dochází tak ke ztrátě (rozředění) metylace (H. Zhang et al., 2012). Metylové skupiny ale mohou být z cytosinů DNA odstraněny aktivně, například když se metylace rozšíří z metylovaných TE na sousední gen (Tang et al., 2016).

Aktivní demethylace DNA je u *A. thaliana* zajišťována skupinou enzymů, přičemž samotné odstranění 5-mC je uskutečněno DNA demetylázami Repressor of silencing 1 (ROS1, také znám jako Demeter-like 1, DML1), Demeter (DME), Demeter-like protein 2 (DML2) či Demeter-like protein 3 (DML3) v base excision repair dráze (BER dráze) (Gong et al., 2002; Choi et al., 2002; Ortega-Galisteo et al., 2008; Penterman et al., 2007). Tyto proteiny mohou vystřihovat 5-mC z CG, CHG i CHH kontextu (Gehring et al., 2006; Morales-Ruiz et al., 2006; Ortega-Galisteo et al., 2008; Penterman et al., 2007). Zatímco ROS1 (DML1), DML2 a DML3 jsou exprimovány v mnoha rostlinných orgánech, DME je exprimován především v souvislosti s generativním rozmnožováním, u samičího gametofytu v centrální buňce zárodečného vaku a u samčího gametofytu ve vegetativní buňce pylového zrna (Huh et al., 2008). DML2 a DML3 hrají roli v odstranění nesprávně zacílených metylových značek a také v udržování silné metylace na správně metylovaných částech chromatinu (Ortega-Galisteo et al., 2008). DML2 také například reguluje expresi genů nutných pro zrání plodů rajčete (Lang et al., 2017). ROS1 cílí především na metylované TE v blízkosti genů kódujících proteiny, na tyto okolní geny by se totiž mohla metylace z TE rozšířit a geny transkripčně umlčet. ROS1 demethyluje TE v okolí histonu H3, který je acetylovaný na lysinu 18 (aktivační značka H3K18Ac) a histonu H3, který je trimetylovaný na lysinu 27 (represivní značka H3K27me3), naopak další represivní varianty značek H3K27me a H3K27me2 ROS1 neatrahují (Tang et al., 2016). Increase DNA methylation komplex (IDM komplex) se zapojuje do navádění ROS1 na místa genomu s H3K18Ac, protože obsahuje histonovou acetyltransferázu Increased DNA methylation (IDM1), která v rámci IDM komplexu rozpoznává metylovanou DNA a acetyluje H3K18 v její blízkosti, čímž vytváří

možný přístup pro ROS1 (Qian et al., 2012). IDM komplex slouží k navádění IDM1 k metylovaným místům DNA, mimo jiné obsahuje i protein Methyl-CpG-Binding Domain 7 (MBD7), který rozeznává silně metylované úseky DNA s vysokým obsahem CG párů a spolu s Harbinger transposon-derived protein 2 (HDP2) navádí IDM komplex (Duan et al., 2017; Lang et al., 2015).

Metylace DNA obvykle působí jako represivní epigenetická značka, která při lokalizaci v promotorech způsobuje umlčování exprese genů, v některých případech ale naopak může transkripci genů posilovat. Takovým případem je třeba gen *ROS1*, který kóduje DNA demetylázu ROS1, enzym mimo jiné vyvažující aktivitu RdDM dráhy a bránící hypermetylacii DNA. Zvýšená aktivita RdDM může být vyvolána například zvýšenou transkripční aktivitou TE, které ohrožují stabilitu genomu (Williams et al., 2015).

U *A. thaliana* obsahuje gen *ROS1* ve svém promotoru Helitron (kopírující se DNA transpozon), který má negativní vliv na expresi enzymu ROS1 (Lei et al., 2015). Mezi tímto helitronem a 5' UTR *ROS1* genu se také nachází jedna z cílových sekvencí RdDM dráhy (Lei et al., 2015). Pokud je tato sekvence metylována (pomocí RdDM), může zabránit snížení expresi ROS1 způsobené vlivem helitronu a gen *ROS1* je exprimován (Lei et al., 2015). Tato sekvence byla nazvána DNA methylation monitoring sequence (*MEMS*) (Lei et al., 2015). Když je *MEMS* metylována, signalizuje zvýšenou aktivitu RdDM dráhy, která by mohla způsobit hypermetylacii i v transkripčně aktivních regionech a nechtěně tak umlčet geny, které mají zůstat aktivní, proto metylace *MEMS* aktivuje expresi genu *ROS1*. Enzym ROS1 následně zajišťuje demetylaci DNA jakožto odpověď na zvýšenou aktivitu RdDM dráhy a udržuje rovnováhu mezi metylací a demetylací (Lei et al., 2015). Pokud je aktivita RdDM dráhy snížena, *MEMS* není metylována, a proto je exprese genu *ROS1* blokována helitronem. Kdyby exprese genu *ROS1* blokována nebyla, mohlo by dojít k hypometylacii DNA a aktivaci třeba stresových genů, TE a jiných repetitivních sekvencí, což by narušilo stabilitu genomu. Tento mechanismus, fungující jako indikátor aktivity RdDM dráhy, se nazývá metylstat a umožňuje dynamickou koordinaci mezi metylací RdDM dráhou a aktivní demetylací díky ROS1 skrze regulaci transkripce genu *ROS1* (Lei et al., 2015). Metylace *MEMS* může být regulována i samotným enzymem ROS1, který může demetylovat *MEMS* a tím zastavit transkripci genu *ROS1* (sebe sama), a způsobuje tak negativní zpětnou vazbu (Lei et al., 2015; Williams et al., 2015). Regulace exprese genu pro demetylázu prostřednictvím aktivační metylace se vyskytuje například i u rýže (Hu et al., 2014) či u kukuřice (Erhard et al., 2015). Metylstat by tedy mohl být obecný mechanismus pro regulaci dynamiky DNA demetylace rostlin (Lei et al., 2015).

3. Vliv metylace DNA na lokální stav, složení a uspořádání chromatinu

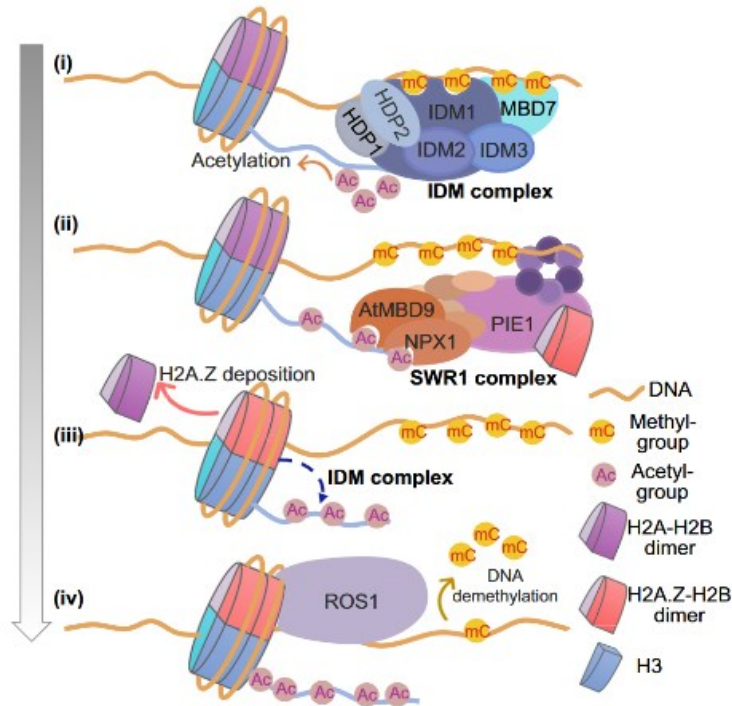
3.1. Proteiny rozeznávající metylaci DNA

Metylace DNA (tedy přítomnost metylovaných cytosinů) vzniká činností proteinů s metyltransferázovou aktivitou, které na cytosin přenášejí metylovou skupinu. Takovéto proteiny „zapisují“ epigenetickou informaci a jsou nazývány „writers“, příkladem je třeba metyltransferáza MET1 (Jones et al., 2001). Oproti tomu proteiny s demetylázovou aktivitou způsobují demetylaci DNA a tím „odmazávají“ již vytvořené metylové značky, jsou proto nazývány „erasers“, příkladem je třeba demetyláza ROS1 (Gong et al., 2002). Proteiny, které dokáží rozpoznat metylaci DNA, tedy vázat se specificky na DNA s metylovanými či naopak nemetylovanými cytosiny, se pak nazývají „readers“, protože „čtou“ epigenetickou informaci, která může být tvořena přítomností epigenetických značek, ale stejně tak i jejich absencí. Příkladem readers je třeba MBD7, který rozpoznává metylaci DNA v CG kontextu (Zemach & Grafi, 2003).

3.1.1. MBD proteiny

MBD proteiny obsahují kromě jiných domén i tzv. „Methyl-CpG-Binding“ Domain (MBD), která je schopna se vázat na metylovaný cytosin v molekule DNA (Fournier et al., 2012). Obecně platí, že pokud se MBD protein naváže na specifickou metylovanou sekvenci DNA, je schopen následně navádět či přivolávat další výkonné proteiny a tím například iniciovat tvorbu komplexů pro remodelaci chromatinu vedoucí zpravidla ke vzniku represivního chromatinového prostředí, či navádět a přivolávat komplexy pro represivní modifikaci histonů (Bird & Wolffe, 1999; Wade, 2001). Existují ale i výjimky, například protein MBD7, který zabraňuje hypermetylaci DNA a umlčování genů (C. Wang et al., 2015). MBD domény se obecně váží na 5-mC v CG kontext (například MBD2, MBD5, MBD6, MBD7) (Scebba et al., 2003; S. Wang et al., 2024; Zemach & Grafi, 2003)), avšak existují i výjimky (například MBD5 se váže na metylovanou DNA i v sekvenčním kontextu CHH) (Ito et al., 2003; Scebba et al., 2003; Zemach & Grafi, 2003).

Počet MBD proteinů může být různý podle druhu rostliny, genom *A. thaliana* kóduje 13 MBD proteinů (AtMBD). U *A. thaliana* se většinou jedná o poměrně malé proteiny s výjimkou AtMBD9, který je násobně větší než ostatní MBD proteiny (Berg et al., 2003). V jednom MBD proteinu se může nacházet i více MBD, příkladem toho je AtMBD7 který (kromě jiných domén asociovaných s chromatinem) obsahuje tři MBD (Berg et al., 2003). I když je většina MBD proteinů schopna vázat především CG kontext, každý MBD protein působí spolu s odlišnými proteiny (existují ale výjimky, třeba AtMBD2 i AtMBD6 interagují s chromatinovým remodelátorem Decrease in DNA methylation (DDM1) (Fournier et al., 2012; Zemach et al., 2005). Oproti tomu SUVH proteiny mohou působit spolu, například SUVH4 a SUVH6 či SUVH4 a SUVH5 spolu zajišťují udržování metylace v CHG kontextu (Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006). I různé MBD proteiny ale mohou působit v jedné dráze, nejsou ale přitom vzájemně zastupitelné, což lze demonstrovat na příkladu demetylace DNA za pomoci IDM komplexu (viz Obr. 4) (Nie et al., 2019).



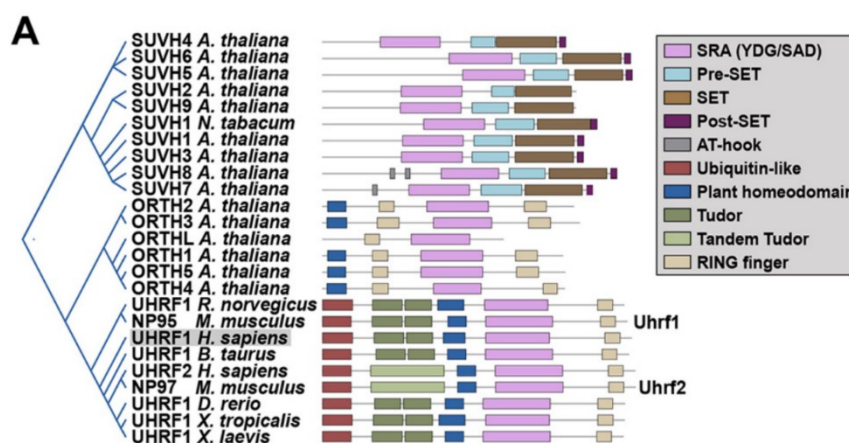
Obr.4. Model zapojení IDM komplexu a SWR1 komplexu v aktivní demethylaci DNA díky ROS1, (i) IDM komplex acetyluje H3K18, (ii) přivolání SWR1 komplexu, (iii) výměna histonu H2A za H2A.Z histonovou variantu, (iv) aktivní demethylace díky ROS1; převzato od(Nie et al., 2019).

IDM komplex byl charakterizován jako komplex proteinů, které zajišťují přivolání ROS1 pomocí acetylace H3K18(Duan et al., 2017). IDM komplex je naváděn pomocí proteinů MBD7 a HDP2, které rozeznávají metylaci v okolí nukleozomu. Následně dochází k acylaci H3K18 pomocí acetylázy IDM1 (Duan et al., 2017). Před přivoláním ROS1 se ale zapojuje ještě chromatin remodelující komplex SWR1, který mimo jiné obsahuje proteiny AtMBD9 a NPX1, které rozpoznávají acetylové značky a navádějí SWR1 komplex k nukleozomu. SWR1 komplex poté vymění původní histonovou variantu H2A za H2A.Z. Nukleozom tedy obsahuje H2A.Z, ale zároveň se v jeho okolí nachází metylovaná DNA. K nukleozomu je tak pomocí H2.Z přivolán ROS1, který následně demetyluje okolní DNA (viz Obr.4.) (Nie et al., 2019). AtMBD9 hraje klíčovou roli v navádění SWR1 komplexu díky schopnosti rozeznávat acetylové značky pomocí své bromo domény (Peng et al., 2006). Zároveň ale není schopný rozeznávat metylaci DNA, přestože obsahuje MBD (Berg et al., 2003).

3.1.2 Proteiny se SRA doménami

Dalším typem domény, který je schopný se vázat na metylovanou sekvenci DNA, je SET and RING finger-associated domain (SRA doména), která je také někdy nazývána YDG doména a u rostlin se vyskytuje u dvou proteinových rodin (VIM a SUVH) a u živočichů u jedné proteinové rodiny (UHFR), (L. M. Johnson et al., 2007). Oproti MBD, která obecně preferuje CG kontext, se SRA doména může vázat na DNA v CG, CHG nebo CHH kontextu (CG například VIM1(L. M. Johnson et al., 2007; Woo et al., 2007), CHG například SUVH4,

SUVH5, SUVH6(Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; L. M. Johnson et al., 2007), CHH například SUVH9(L. M. Johnson et al., 2008). Různé SRA proteiny s různými preferencemi k C kontextu proto plní různé funkce, zároveň ale mohou působit i společně v jedné dráze, jako třeba SUVH2 a SUVH9 při udržovací metylaci především v nesymetrických kontextech(L. M. Johnson et al., 2008).



Obr.5.Fylogenetická analýza a mapa domén proteinů, které obsahují SRA domény; převzato od(Vaughan et al., 2019)

3.1.2.1.VIM proteiny

Rodina proteinů Variant in methylation (VIM) obsahuje kromě SRA domény i jednu Plant homeodomain (PHD) a dvě Really Interesting New Gene (RING) finger domény, oproti SUVH proteinům jim tedy chybí samosta

tná SET doména(Woo et al., 2007). VIM proteiny se váží na metylovaný cytosin především v CG kontextu, mohou se ale vázat i na CHG či CHH kontext(L. M. Johnson et al., 2007; Woo et al., 2007). U *A. thaliana* najdeme celkem pět VIM proteinů, přičemž funkce VIM1 (také znám jako ORTH2), VIM2 (ORTH5) a VIM3 (ORTH1) se překrývají, ale existuje mezi nimi hierarchie, ve které má hlavní funkci VIM1(Woo et al., 2008). VIM proteiny se zapojují do udržování metylace v CG kontextu při replikaci DNA, dokáží totiž vázat metyltransferázu MET1 a navádět ji k hemimetylovaným CG poblíž replikační vidličky(Jones et al., 2001; Woo et al., 2008). K VIM rodině rostlin je homologní rodina živočišných proteinů Ubiquitin-like PHD and RING finger domain (UHRF).

3.1.2.2. SUVH proteiny

Rodina proteinů Suppressor of variegation 3-9 homolog (SUVH) je druhou z rostlinných proteinových rodin obsahujících SRA domény (viz Obr. 5.). SUVH proteiny neobsahují PHD a RING finger domény jako VIM proteiny, obsahují ale SET doménu, která je schopna metylovat histon H3 na pozici K9 (Baumbusch et al., 2001; Dillon et al., 2005). SUVH proteiny tedy mohou pomocí SRA domény rozpoznat metylaci DNA a zároveň mohou díky SET doméně umístit metylové značky na histon H3. SUVH proteiny tedy mají potenciál být „readers“ metylace DNA a zároveň „writers“ histonových modifikací, a propojovat tak metylaci DNA s histonovými modifikacemi (L. M. Johnson et al., 2007). SUVH proteiny se dělí na podskupiny, které sdružují SUVH proteiny s podobnou funkcí i doménovou strukturou.

Podskupina SUVH4 a SUVH5 obsahující proteiny SUVH4 (KYP), SUVH5 a SUVH6, se nepřímou podílí na udržování metylace v CHG kontextu (Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2002, 2004; L. M. Johnson et al., 2007; Malagnac et al., 2002). Udržování metylace v CHG kontextu zajišťuje chromometyláza CMT3, která rozeznává H3K9me2 a metyluje cytosiny v CHG kontextu (Du et al., 2012; Lindroth et al., 2001). Proteiny SUVH4, SUVH5 a SUVH6 naopak díky své SRA doméně rozeznávají metylované cytosiny a SET doménou tvoří nové metylové značky na histonu H3 na pozici K9. SUVH4, SUVH5 a SUVH6 jsou tedy typické histonové metyltransferázy (Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2002, 2004; Malagnac et al., 2002). H3K9me2 pak může být opět rozeznán CMT3, čímž vzniká pozitivní zpětnovazebná smyčka a H3K9me2 může rozpoznat i chromometyláza CMT2, která metyluje cytosiny v CHH kontextu (více v podkapitole 2.1.2. Udržování metylace DNA) (L. M. Johnson et al., 2007; Stroud et al., 2014).

Druhá podskupina SUVH1 zahrnuje proteiny SUVH1, SUVH3, SUVH7 a SUVH8. Přestože SUVH1, SUVH3, SUVH7 i SUVH8 obsahují funkční SET doménu, nebyla u nich zatím prokázána metyltransferázová aktivita ani změny v metylaci H3K9me2 u mutantů těchto metyltransferáz, a proto nemohou být považovány za funkční histonové metyltransferázy jako SUVH4, SUVH5 a SUVH6 (Harris et al., 2018; Q.-Q. Zhao et al., 2019). Pro SUVH1 bylo prokázáno, že funguje jako antisilencingový faktor a spolu se SUVH3 a DNAJ proteiny tvoří komplex, který je nutný pro expresi genů s metylovanými promotory, aniž by došlo ke změně metylace DNA (S. Li et al., 2016; Q.-Q. Zhao et al., 2019). SUVH1, SUVH3, SUVH7 a SUVH8 jsou také zapojeny v aktivní demetylacii pomocí ROS1, protože rozeznávají metylaci v metylované *MEMS* (sekvence monitorující metylaci) v promotoru *ROS1* genu a přivolávají transkripční aktivátory (DNAJ domain proteiny), které aktivují expresi *ROS1* genu (X. Xiao et al., 2019). Demetyláza ROS1 poté demetyluje geny včetně svého vlastního, čímž z *MEMS* sekvence odstraňuje metylové značky a SUVH1, SUVH3, SUVH7 nebo SUVH8 ji proto nemohou rozpoznávat (více v podkapitole 2.1.3. Demetylace DNA) (X. Xiao et al., 2019).

Třetí podskupina SUVH proteinů obsahuje SUVH2 a SUVH9, které postrádají post-SET část SET domény (viz Obr. 5.) (L. M. Johnson et al., 2008, 2014). Díky SRA doméně ale rozeznávají metylaci v CG (SUVH2) či CHH (SUVH9) kontextu a účastní se udržovací metylace DNA. SUVH2 a SUVH9 se vážou na DNA a spolu s DDR komplexem a MORC proteiny zajišťují přivolání Pol V (více v podkapitole 2.1.1. de novo metylace a RdDM dráha) (L. M. Johnson et al., 2008; Liu et al., 2014).

Tabulka 1. Vybrané proteiny s doménami rozeznávajícími metylované cytosiny (uvedeny jsou lépe probádané proteiny s větším množstvím dostupných informací)

Název	Doména	Proteinová rodina	C kontext	Interakční partneři	Funkce	citace
MBD5	MBD	MBD proteiny	1.mCG 2.mCHH	3.AtRAN3 (Ran GTPáza) 4.molecular chaperone complex (MBD-MCC complex) 5.ACD15.5, ACD21.4	6.účast na formování biokondenzátů heterochromatinu, regulace exprese rDNA	1.(Zemach & Grafi, 2003) 1.,2.(Scebba et al., 2003) 2.(Ito et al., 2003) 3.(YANO et al., 2006) 4.(Feng et al., 2021) 5.,6.(Ren et al., 2024)
MBD6	MBD	MBD proteiny	1.mCG 2.mCHG,mCHH	3.molecular chaperone complex (MBD-MCC complex) 4. DDM1 5.ACD15.5, ACD21.4	6.účast na formování biokondenzátů heterochromatinu, regulace exprese rDNA	1.(Scebba et al., 2003; Zemach & Grafi, 2003) 2.(Ito et al., 2003) 3.(Feng et al., 2021) 4.(Zemach et al., 2005) 5.,6.(Ren et al., 2024)
MBD7	MBD	MBD proteiny	1.mCG	2.IDM1(ROS4), IDM2(ROS5), IDM3 3. HDP1,HDP2	4.aktivní demethylace	1.(Zemach & Grafi, 2003) 2.(Lang et al., 2015) 3.(Duan et al., 2017) 2.,4.(C. Wang et al., 2015)
MBD9	MBD	MBD proteiny	1. e kontext (2.acetylové značky histonů)	3.SWR1 komplex 4.NPX1	5.aktivní demethylace	1.(Berg et al., 2003) 2.,3.,4.,5.(Nie et al., 2019)
SUVH1	SRA	SUVH proteiny	1.mDNA (mCG,mCHG, mCHH)	2.SUVH-SDJ komplex	3.transkripční aktivace beze změny DNA metylace	1.,2.(Harris et al., 2018) 2.(Q.-Q. Zhao et al., 2019)

					3.1.např. u ROS1-aktivní demethylace	3.(S. Li et al., 2016; Q.-Q. Zhao et al., 2019) 3.1.(X. Xiao et al., 2019)
SUVH2	SRA	SUVH proteiny	1.mCG	2.DDR komplex 3.MORC6	4.navádění PolV v RdDM dráze	1.,4.(L. M. Johnson et al., 2008) 2.,3.,4.(Liu et al., 2014) 3.(Liu et al., 2016)
SUVH3	SRA	SUVH proteiny	1.mDNA (mCG,mCHG, mCHH)	2.SUVH-SDJ komplex	3.transkripční aktivace beze změny metylace DNA 3.1.např.(u ROS1 -aktivní demethylace	1.,2.(Harris et al., 2018) 2.(Q.-Q. Zhao et al., 2019) 3.(Q.-Q. Zhao et al., 2019) 3.1.(X. Xiao et al., 2019)
SUVH4/KYP	SRA	SUVH proteiny	1.mCHG,mCHH	-----	2.histonová methyltransferáza (H3K9me2), udržování metylace DNA v CHG kontextu	1.(L. M. Johnson et al., 2007) 2.(Jackson et al., 2002; Malagnac et al., 2002)
SUVH5	SRA	SUVH proteiny	1.mCHG,mCHH	2. FRF2, FPF1	3.histonová methyltransferáza (H3K9me2), udržování metylace DNA v CHG kontextu	1.,3.(Ebbs & Bender, 2006) 2. (IntAct - Search Results, b.r.)
SUVH6	SRA	SUVH proteiny	1.mCHG,mCHH	2.ARID5, ARID6	3.histonová methyltransferáza (H3K9me2), udržování metylace DNA v CHG kontextu	1.(Ebbs et al., 2005) 2. (IntAct - Search Results, b.r.) 3.(Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2004)
SUVH7	SRA	SUVH proteiny	1.mCHH (OsSUVH7 rýže)	2.SUVH-SDJ komplex	3.transkripční aktivace pomocí ROS1-aktivní demethylace	1.(J. Wang et al., 2020) 2.,3.(X. Xiao et al., 2019)

SUVH8	SRA	SUVH proteiny	-----	2.SUVH-SDJ komplex	3.transkripční aktivace pomocí ROS1-aktivní demethylace	2.,3.(X. Xiao et al., 2019)
SUVH9	SRA	SUVH proteiny	1. mCHH	2.DDR complex 3.MORC1,2,6 4.SWI3B/C/D	5. navádění Pol V v RdDM dráze	1.,5(L. M. Johnson et al., 2008) 2.,3.,5.(Liu et al., 2014) 4.(Liu et al., 2016)
VIM1	SRA	VIM proteiny	1.mCG i mCHG a CHH	2.MET1	3.udržování metylace	1.(L. M. Johnson et al., 2007; Woo et al., 2007) 2.,3.(Woo et al., 2008)
VIM3	SRA	VIM proteiny	1. mCG i mCHG a CHH	2.MET1	3.udržování CG metylace	1.(L. M. Johnson et al., 2007) 2.,3.(Woo et al., 2008)

3.2. Modifikace histonů a jejich vliv na strukturu chromatinu

Kondenzace chromatinu je jedním z hlavních způsobů transkripčního umlčování, protože DNA v kondenzovaném chromatinu není tak snadno přístupná pro proteiny zajišťující expresi genů, z aktivního euchromatinu se tak kondenzací stává heterochromatin (Richards & Elgin, 2002). Konstitutivní heterochromatin obvykle setrvává v kondenzovaném stavu a nepřechází v rozvolněnější euchromatin, represe genů je tedy stálá. V konstitutivním heterochromatinu se vyskytují především TE a jiné repetitivní sekvence, které musí být stále umlčeny, aby nedocházelo k jejich samovolné aktivaci a možné destabilizaci genomu. U *A. thaliana* se vyskytuje konstitutivní heterochromatin v pericentromerických oblastech, kde se také nachází velké množství TE, jež musí být umlčeny, konstitutivní heterochromatin se také může vyskytovat v telomerách (Richards & Elgin, 2002). Druhý typ heterochromatinu je heterochromatin fakultativní, který je naopak od konstitutivního dynamický a může přecházet do rozvolněnějšího euchromatinu. Geny obsažené ve fakultativním heterochromatinu, proto nejsou umlčeny trvale. Ve fakultativním heterochromatinu se typicky vyskytují třeba geny stresové odpovědi či vývojové geny, u kterých není třeba, aby byly aktivní během celého života rostliny, ale zároveň také nemají být stále umlčeny.

Zda bude chromatin v kondenzovaném či rozvolněném stavu je určeno mimo jiné histonovými modifikacemi. Na N konce histonů nukleozómového jádra (H2A, H2B, H3 a H4) mohou být na různé aminokyseliny na různých pozicích přidány například metylové či acetylové skupiny či ubiquitin. Některé histonové modifikace mohou být aktivační a podporovat rozvolnění chromatinu (například H3K18ac, více v podkapitole 2.1.3. Demethylace DNA a 3.1.1. MBD proteiny) a naopak některé histonové modifikace podporují vznik či udržování represivního chromatinu jako například H3K9me2, která je provázána s CHG a CHH metylací, a H3K27me3 (více v podkapitolách 3.2.1. Dimethylace histonu H3 na pozici K9 (H3K9me2) a 3.2.2. Trimethylace histonu H3 na pozici K27 (H3K27me3)) (Du et al., 2015).

3.2.1. Dimethylace histonu H3 na pozici K9 (H3K9me2)

Dimethylace histonu H3 na pozici K9 (H3K9me2) je epigenetická značka, která se typicky vyskytuje v konstitutivním heterochromatinu (Du et al., 2015). Histon H3 může být na pozici K9 i monometylovaný či trimetylovaný, přičemž H3K9me má stejně jako H3K9me2 represivní účinky. Methylace histonů je zajišťována histonovými metyltransferázami, které metylují histony díky SET doméně. U *A. thaliana* se vyskytuje celkem 15 proteinů obsahujících SET doménu, avšak ne všechny jsou histonové metyltransferázy (více v podkapitole 3.1.2.2. SUVH proteiny) (Baumbusch et al., 2001; L. M. Johnson et al., 2008, 2014)

SUVH rodina obsahuje tři histonové metyltransferázy pro metylaci H3K9 a to SUVH4, SUVH5 a SUVH6 (Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2002, 2004; Malagnac et al., 2002). Všechny tyto tři proteiny obsahují SRA doménu, která rozeznává metylovanou DNA a jsou schopné se vázat na metylovaný CHG kontext (a do jisté míry i CG a CHH kontext), jejich aktivace je tedy závislá na „signálu“ metylovaného cytosinu (Ebbs et al., 2005; Ebbs & Bender, 2006; L. M. Johnson et al., 2007). Chromometylázy CMT3 a CMT2 jsou zodpovědné za metylaci v CHG či CHH kontextu a označují tak DNA poblíž nukleozomů, které mají být metylované pomocí

SUVH4, SUVH5 a SUVH6 (Law & Jacobsen, 2010; Lindroth et al., 2001; Stroud et al., 2014; Zemach et al., 2013). Proteiny SUVH4, SUVH5 a SUVH6 také interagují s histonovou deacetylázou HDA6 a společně zajišťují kompakci chromatinu, HDA6 totiž odstraňuje aktivační acetylové značky z histonu H3 a SUVH4, SUVH5 a SUVH6 zároveň metylují H3K9. Může tak docházet k umlčování TE. Interakce HDA6 a SUVH4, SUVH5 a SUVH6 se také uplatňuje při vývoji listů (Hung et al., 2023; Yu et al., 2017).

Druhá rodina H3K9 metyltransferáz je SU(VAR)3-9 Related (SUVR) rodina obsahující celkem pět proteinů. SUVR proteiny nemají SRA doménu ani MBD, kterými by mohly rozpoznávat metylaci DNA, přesto jsou dva proteiny SUVR4 a SUVR5 schopné zacílit H3K9. SUVR4 rozeznává ubiquitinovou značku na histonu H3 pomocí WYILD domény a následně zajišťuje změnu H3K9me1 na H3K9me3, která může vést ke vzniku biokondenzátů (Thorstensen et al., 2006; Veiseth et al., 2011; S. Zhao et al., 2019). Další způsob je u proteinu SUVR5, který rozeznává specifické motivy v TE pomocí tří C2H2 zinc finger domén a navozuje H3K9me2, což by se mohlo dít nezávisle na zpětnovazebné smyčce mezi metylací CHG a CHH a H3K9me2, protože SUVR5 nerozeznává metylaci DNA (Caro et al., 2012).

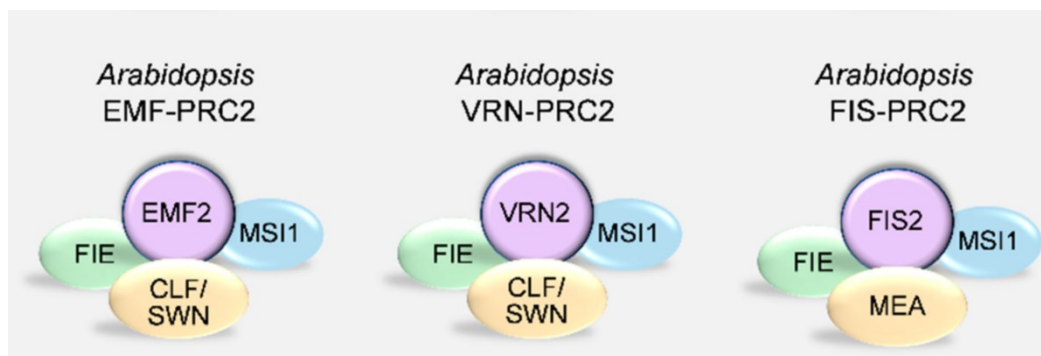
3.2.2. Trimetylace histonu H3 na pozici K27 (H3K27me3)

Trimetylace histonu H3 na pozici K27 (H3K27me3) je epigenetická značka, která se vyskytuje především ve fakultativním heterochromatinu, tedy heterochromatinu, který může být rozvolněn do euchromatinového stavu a umožnit expresi genů, které se často uplatňují jen v určité fázi vývoje organismu. Při změně z euchromatinu na heterochromatin nejprve dochází k trimetylaci H3K27, tyto značky mohou být rozpoznány dalšími proteiny nebo odstraněny histonovými demetylázami. Po rozpoznání dochází například k ubiquitinaci histonu H2 na pozici K119 (H2K199ub), což je také represivní značka. Celý tento děj je realizován mnoha proteiny (Polycomb Group (PcG) proteiny), které se sdružují do dvou komplexů Polycomb repressive complex 1 (PRC1) a Polycomb repressive complex 2 (PRC2).

3.2.2.1. Polycomb repressive complex 2 (PRC2)

Polycomb repressive complex 2 (PRC2) byl poprvé popsán u *Drosophila melanogaster*, jejíž PRC2 se skládá ze čtyř základních funkčně odlišných podjednotek Enhancer of zeste (E(z)), Suppressor of zeste 12 (Su(z)12), Extra sex combs (Esc) a nucleosome-remodeling factor (Nurf55). Rostlinný PRC2 také obsahuje čtyři funkčně odlišné podjednotky, avšak tyto rostlinné homology jsou zmnožené. U *A.thaliana* se vyskytují tři histonové metyltransferázy Medea (MEA), Curly leaf (CLF) a Swinger (SWN), které jsou homologní k E(z) podjednotce a zajišťují trimetylaci H3K27 (Goodrich et al., 1997). Su(z)12 podjednotka je v rostlinách reprezentována třemi homology Fertilization independent seed 2 (FIS2), Embryonic flower 2 (EMF2), a Vernalization 2 (VRN2) (Gendall et al., 2001; N. Yoshida et al., 2001). Proteiny PRC2 tak mohou tvořit tři základní typy PRC2, a to VRN2-PRC2, EMF2-PRC2 nebo FIS2-PRC2 (viz Obr.6.). VRN2-PRC2 komplex reguluje vernalizaci, protože při dlouhodobém vystavení nízkým teplotám umlčuje gen *FLC* (Flowering locus C), který brání kvetení, podobně

EMF2-PRC2 komplex se zapojuje do regulace vývoje reprodukčních orgánů (Helliwell et al., 2006; N. Yoshida et al., 2001). FIS2-PRC2 reguluje produkci semen a pokud dojde ke ztrátě jakékoli podjednotky FIS2-PRC2 komplexu, dochází k aborci semen (Guitton et al., 2004).



Obr.6. Tři typy PRC2, EMF2-PRC2-regulace vývoje reprodukčních orgánů, VRN2-PRC2-vernalizace, FIS-PRC2-regulace produkce semen; převzato od (Shen et al., 2021).

Přivolávání PRC2 komplexu k DNA je zprostředkováno především transkripčními faktory, které rozpoznávají specifické motivy sekvence DNA (*PRE*). Transkripční faktory Basic pentacysteine 1 (BPC1) a Azoospermia Factor 1 (AZF1) rozeznávají GAGA motiv a telobox motiv a navádějí FIE k DNA (J. Xiao et al., 2017). Telobox je také rozeznáván proteiny telomere-repeat-binding factors (TRBs), které fyzicky interagují s CLF/SWN přivádějí CLF/SWN a s nimi i zbytek PRC2 do příslušné oblasti chromatinu (Y. Zhou et al., 2018). Transkripční faktor Superman (SUP) se váže na YUC1/4 regiony, interaguje s komponenty PRC2 a zprostředkovává tak trimetylací H3K27me (Y. Xu et al., 2018).

Trimetylace na H3K27 může být odstraněna pomocí demetyláz Early flowering 6 (ELF6, také znám jako Jumonji domain-containing protein 11 (JMJ11)), Relative of ELF6 (REF6, také Jumonji domain-containing protein 12 (JMJ12)), Jumonji domain-containing protein 13 (JMJ13), Jumonji domain-containing protein 30 (JMJ30) a Jumonji domain-containing protein 32 (JMJ32) (Crevillén et al., 2014; Cui et al., 2016; Gan et al., 2014; Lu et al., 2011; Yan et al., 2018). Všechny tyto proteiny obsahují Jumonji-C (Jmj-C) doménu, která má demetylázovou aktivitu (Tsukada et al., 2006). ELF6, REL6 a JMJ13 patří do KMD4 proteinové rodiny a jsou si i strukturně podobné, přesto mají rozdílný způsob přivolávání k H3K27me₃ (Lu et al., 2008). REF6 obsahuje čtyři C2H2 zinc finger domény, díky kterým rozpoznává konzervovaný motiv CTCTCYTY (kde za Y může být dosazen T nebo C, avšak cytosiny v rámci motivu CTCTCYTY musí být pro vazbu REF6 hypometylované, metylace totiž brání navázání REF6). REF6 následně demetyluje H3K27me₃ a chová se tak jako antagonist k PRC2 a zabraňuje nekontrolovanému šíření metylace činností PRC (Cui et al., 2016; Lu et al., 2011). Tyto hypometylované části DNA obsahující CTCTCYTY motiv se tak díky REF6 „brání“ represivní histonové metylaci H3K27me₃. Podobný vztah je též u již zmíněné RdDM dráhy a demetylázy ROS1, kde však nedochází k metylaci a demetylaci histonů, ale DNA. REF6 by ale také mohl být rekrutován pomocí transkripčních faktorů obsahujících MADS domény (Yan et al., 2018). JMJ13 naopak přímo rozpoznává trimetylací na H3K9me₃, který následně demetyluje (S. Zheng et al., 2019). JMJ30 je k demetylaci H3K27me₃ rekrutován pomocí transkripčních faktorů a to

konkrétně ARF7 a ARF19, se kterými fyzicky interaguje a které ho navádějí k promotorům (Lateral organ boundaries-domain) LBD genů (Lee et al., 2018).

3.2.2.1. Polycomb repressive complex 1 (PRC1)

Polycomb repressive complex 1 (PRC1) zajišťuje ubiquitinaci histonu H2 na pozici K119 (H2K199ub) pomocí proteinů Really interesting new gene 1A (AtRING1A), Really interesting new gene 1B (AtRING1B), Polycomb complex protein 1A (AtBMI1A, také znám jako DREB2A-interacting protein 2 (DRIP2)), Polycomb complex protein 1B (AtBMI1B) a Polycomb complex protein 1C (AtBMI1C), které dokáží monoubiquitinovat histon H2 (Bratzel et al., 2010, 2012; L. Xu & Shen, 2008). PRC1 může být naváděn transkripčními faktory Viviparous1/ABI3-like (VAL 1/2), které rozpoznávají Sph/RVY motiv (například CATGCA motiv) a mohou fungovat jako platforma pro přivolávání PRC1 komplexů (Sasnauskas et al., 2018; Suzuki et al., 2007). PRC1 může být naváděn ale i pomocí ALFIN1-like (AL) proteinů konkrétně AL7 a AL2), které PAL doménou interagují s AtRING1A a AtBMI1 a svou PHD doménou dokážou rozpoznávat H3K27me3 (Molitor et al., 2014; Peng et al., 2006). Protein Like-heterochromatin protein 1 (LHP1) sice také rozpoznává H3K27me3 a vyskytuje se v blízkosti H3K27me3, ale není součástí PRC1. Podobně byl i protein Embryonic flower1 (EMF1) považován za součást PRC1 (Calonje et al., 2008; Turck et al., 2007; X. Zhang et al., 2007). LHP1 a EMF1 interagují s PRC1 proteiny RING1 a BMI1 (Bratzel et al., 2010; L. Xu & Shen, 2008). Zároveň ale LHP1 interaguje například i s MSI1 z PRC2 a přivolává PRC2 na místa s již ustanovenou značkou H3K27me3, čímž vzniká pozitivní smyčka (Derkacheva et al., 2013). LHP1 a EMF1 tak stojí „na pomezí“ mezi PRC1 a PRC2 a zajímavé je, že oba proteiny asi hrají roli ve formování a stabilizaci biokondenzátů, které pravděpodobně rekrutují PRC1 a PRC2 represivní komplexy. EMF1 se totiž vyskytuje pouze v jádře a navíc v podobném prostorovém uspořádání, jako se vyskytují biokondenzáty polycomb bodies u živočichů. Neuspořádaná část proteinu LHP1 je klíčová pro stabilitu polycomb bodies (více v kapitole 3.4. Lokalizace v jádře) (Berry et al., 2017; Calonje et al., 2008).

3.3. Zastoupení histonových variant a jejich vliv na strukturu chromatinu

Nukleozomy jsou oktamery složené z core histonů H2A, H2B, H3 a H4, histon H1 se poté připojuje k nukleozomům v heterochromatinu, které tak činí méně přístupnými pro řadu proteinů podílejících se na expresi a managementu genetické informace (Luger et al., 1997; Zemach et al., 2013). Většina histonů existuje v několika histonových variantách, což jsou isofomy, které se mírně liší sekvencí, strukturou a z toho plynoucími vlastnostmi (příkladem je třeba prodloužený C konec s SPKK motivem u histonové varianty H2A.W) (Bonisch & Hake, 2012). Díky vzájemným odlišnostem mají histonové varianty jiné vlastnosti, jiné interakce s proteiny a následně i jiný vliv na nukleozomy, ve kterých se nachází. Histonové varianty jsou tak dalším způsobem, jak je možné regulovat stav chromatinu a s ním i expresi genů. Histonové varianty navíc mohou být do nukleozomů aktivně dosazovány i z nukleozomů odstraňovány, což umožňuje dynamickou odpověď rostliny na okolí (Osakabe et al., 2021; Stroud et al., 2012; Tagami et al., 2004; Zhou et al., 2023). Nejvíce histonových variant nalezneme u H2A a H3.

Histonové varianty různých histonů mohou interagovat spolu navzájem (například H2A.W a H1(Bourguet et al., 2021)) či být funkčně spjaté s určitými histonovými modifikacemi (například H2A.W a H3K9me2(Yelagandula et al., 2014)).

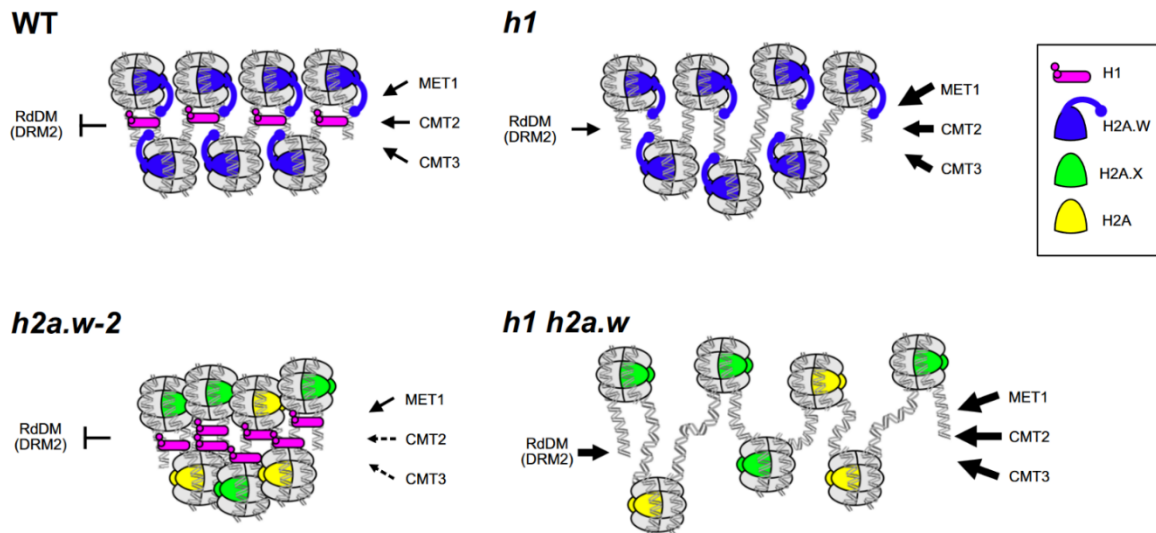
3.3.1. Varianty histonu H2A

3.3.1.1. Histonová varianta H2A.W

Histonová varianta H2A.W se vyskytuje především v konstitutivním heterochromatinu má represivní vliv na stav chromatinu, může se ale vyskytovat i v euchromatinu v ostrovech heterochromatinu (Yelagandula et al., 2014). H2A.W se proto u *A. thaliana* vyskytuje spolu s H3K9me2 především v pericentromerické oblasti, která je typická právě pro konstitutivní heterochromatin. H2A.W i H3K9me2 zde způsobují umlčování TE, avšak H2A.W není závislá na H3K9me2(Yelagandula et al., 2014). Oproti histonové variantě H2A.Z, která může být represivní i aktivační, má H2A.W represivní vliv na chromatin a způsobuje long-range interakce vláken DNA a kondenzaci chromatinu(Sura et al., 2017; Yelagandula et al., 2014). Vůči ostatním H2A variantám se H2A.W vyznačuje především prodlouženým C koncem (C-terminal tail), který obsahuje specifický SPKK motiv, díky kterému může H2A.W interagovat s linker DNA (DNA, která není navinutá na nukleozomech a nachází se mezi nimi) i s histonem H3, nacházejícím se ve stejném nukleozomu(Bonisch & Hake, 2012; Osakabe et al., 2018, 2024; Yelagandula et al., 2014). Ostatní H2A varianty nemají SKPP motiv a nemají takové represivní účinky jako H2A.W(Bourguet et al., 2021). Všechny H2A varianty obsahují L1 loop doménu (pro stabilizaci nukleozomu skrz interakci s druhou H2A podjednotkou nukleozomu) a docking doménu (docking domain – stabilizace skrz interakci s H3-H4 tetramerem), které také přispívají k odlišným vlastnostem histonových variant. U H2A.W L1 domény způsobují větší tepelnou stabilitu nukleozomu obsahujícího H2A.W, zatímco nukleozomy obsahující H2A.Z jsou citlivé na teplotu a při zvýšené teplotě dochází k odstranění H2A.Z z těchto labilních nukleozomů, které se nacházejí v chromatinu genů odpovědi na zvýšenou teplotu(Bonisch & Hake, 2012; Cortijo et al., 2017; Osakabe et al., 2018).

Přestože má H2A.W represivní účinky na stav chromatinu a vyskytuje se ve stejných nukleozomech spolu s histonem H1, jejich vztah by se dal popsat jako antagonistický, především z hlediska vazby na linker DNA(Bourguet et al., 2021). Linker histon H1 obsahuje motiv velmi podobný SPKK (SPKK-like) motivu H2A.W a je tak schopný interagovat s linker DNA, čímž způsobuje silnou kondenzaci chromatinu, zatímco kondenzace díky H2A.W není tak silná(Bourguet et al., 2021; Zemach et al., 2013). H2A.W a H1 svými SPKK a SPKK-like motivy kompetují o linker DNA, ve výsledku část interakcí získá H1 i H2A.W a jejich poměr je vyvážený. Pokud ale H2A.W chybí, veškeré interakce získává H1 a způsobuje velmi silnou kompakci chromatinu, která zabráňuje přístup proteinů k DNA (například i chromometylázám CMT2 a CMT3, metyltransferáze MET1 a proteinů RdDM dráhy, které jsou potřeba pro udržování metylace DNA) (Bourguet et al., 2021; Zemach et al., 2013). Pokud naopak chybí H1 histon, H2A.W je schopný „sám“ udržet dostatečnou kompakci heterochromatinu, k heterochromatinem způsobené represi genů navíc přispívají i CMT3,CMT2a MET1 udržováním metylace DNA. Kompetice o DNA tak vyvažuje poměr mezi H2A.W a H1 a tím i

míru kondenzace heterochromatinu, přítomnost H2A.W umožňuje „nucleosome breathing“ (oscilace v interakci mezi DNA a histonovým core, které dočasně částečně zpřístupňují DNA vstupující a vystupující z nukleozomu), tedy částečnou přístupnost heterochromatinu pro mimo jiné i CMT3, CMT2 a MET1 pro udržování metylace DNA (viz Obr.7.) (Bourguet et al., 2021).



Obr.7. Přítomnost H1 a H2A.W v nukleozomech a jejich vliv na stav chromatinu, **WT** - přítomnost H1 i H2A.W, heterochromatin je částečně přístupný pro proteiny udržující metylaci DNA, **h1-H1** - chybí histon H1, H2A.W udržuje dostatečnou kompaktaci chromatinu, heterochromatin je více přístupný pro proteiny udržující metylaci DNA, **h2a.w-2** - chybí histonová varianta H2A.W, histon H1 způsobuje silnou kompaktaci chromatinu a téměř blokuje přístup proteinů udržujících metylaci DNA, **h1 h2a.w-2** - chybí H1 i H2A.W, nukleozomy obsahují pouze histon H2A a histonovou variantu H2A.X, z nichž ani jedna není represivní a nezpůsobuje kondenzaci chromatinu, chromatin je přístupný pro proteiny udržující metylaci; převzato od (Bourguet et al., 2021)

Histonová varianta H2A.W může být do nukleozomů umísťována pomocí chromatin remodelujícího faktoru Decrease in DNA methylation 1 (DDM1), který váže H2A.W přes N-terminal tail na H2A.W, DDM1 tak skrze H2A.W způsobuje kompaktaci heterochromatinu a umlčování TE. DDM1 může interagovat i histonovou variantou H2A.Z, odstraňovat ji z nukleozomů (především v pericentromerické oblasti) a nahrazovat ji H2A.W (Osakabe et al., 2021, 2024; Zhou et al., 2023). DDM1 je také schopný zpřístupňovat heterochromatin pomocí posunutí DNA kolem nukleozomu (nucleosome sliding), čímž se odkryje část DNA, která byla původně obtočena kolem nukleozomového core (Osakabe et al., 2024). DDM1 také vyvažuje silný kondenzační efekt histonu H1, protože zpřístupňuje heterochromatin obsahující H1 (mimo jiné inkorporací H2A.W, jak bylo zmíněno výše), a tím umožňuje udržování metylace DNA například díky CMT3 a RdDM dráze, které zde umlčují především TE. Bez aktivity DDM1 tyto proteiny nemohou udržovat metylaci a dochází ke ztrátě metylace DNA (odtud jméno Decrease in DNA methylation 1), což se projevuje následnou aktivací a transpozicí TE (Zemach et al., 2013).

3.3.1.2. Histonová varianta H2A.Z

Histonová varianta H2A.Z je strukturně podobná H2A a histonové variantě H2A.X, jelikož neobsahuje SPKK motiv ani nemá prodloužený C konec (C-terminal tail) (Bourguet et al., 2021). Stejně jako H2A se vyskytuje v euchromatinu a téměř vůbec v konstitutivním heterochromatinu (Yelagandula et al., 2014). Je umístována SWR1 komplexem (konkrétně proteinem Photoperiodic independent early flowering 1 (PIE1)), který brání hypermetylaci a umlčování genů (Carter et al., 2018). Na H2A.Z je závislé přivolávání demetylázy ROS1 a obecně se nevyskytuje společně s metylací DNA (Nie et al., 2019; Zilberman et al., 2008). Zároveň se ale vyskytuje i ve fakultativním heterochromatinu s PRC2 a pokud dojde k mutaci v *PIE* (který má hlavní roli v umístování H2A.Z varianty v SWR1 komplexu), dojde ke snížení jak množství H2A.Z variant v nukleozomech tak i značky H3K27me3. Trimetylace H3K27 histonovou metyltransferázu CLF (PRC2) je tedy závislá na přítomnosti H2A.Z (Carter et al., 2018; Sarcinella et al., 2007). H2A.Z také může být ubiquitinován díky PRC1 (Gómez-Zambrano et al., 2019). H2A.Z se vyskytuje především na TSS (transcription start sites) exprimovaných genů, na 5' konci exprimovaných genů, a také v „gene bodies“, transkribovaných úsecích genů, které jsou aktivovány při odpovědi na podněty zvenčí (response genes) (Coleman-Derr & Zilberman, 2012; Yelagandula et al., 2014; Zilberman et al., 2008). Na takovýchto „gene bodies“ se nevyskytuje CG metylace DNA, zřejmě díky aktivitě ROS1 (více v podkapitole 3.1.1. MBD proteiny) (Zilberman et al., 2008).

Represivní či aktivační efekt záleží na umístění H2A.Z, pokud je o H2A.Z obohacen TSS/5' konec genu či +1 nukleozom genu (první nukleozom transkribované oblasti genu), H2A.Z podporuje transkripci (Sura et al., 2017; Yelagandula et al., 2014; Zilberman et al., 2008). Pokud se H2A.Z vyskytuje v „gene body“ genu, reprimuje transkripci, při odstranění H2A.Z z gene body (na základě nějakého podnětu) se ale geny exprimují (Coleman-Derr & Zilberman, 2012; Sura et al., 2017). Tato možnost zaktivovat gen na základě podnětu zvenčí se uplatňuje především u genů odpovědi na stres, například v reakci na sucho nebo na zvýšenou teplotu (Coleman-Derr & Zilberman, 2012; Cortijo et al., 2017; Sura et al., 2017). Nukleozomy obsahující H2A.Z jsou méně stabilní ve vyšších teplotách právě kvůli přítomnosti H2A.Z, jejíž L1 loop a docking doména způsobují nižší stabilitu interakcí s ostatními histony (Osakabe et al., 2018). Transkripční faktor Heat shock factor 1 (HSFA1) hraje roli v reakci na změnu teploty, protože je schopen aktivovat expresi dalších TF účastnících se odpovědi na změnu teploty, které následně aktivují response geny (Cortijo et al., 2017; Schramm et al., 2008; T. Yoshida et al., 2011). HSFA1 se také podílí na odstraňování H2A.Z z nukleozomů v reakci na zvýšenou teplotu, čímž dochází k aktivaci response genů umlčovaných pomocí H2A.Z (Cortijo et al., 2017). Při nízké teplotě tedy H2A.Z udržuje response geny umlčené, jelikož není třeba jejich exprese, při změně teploty jsou ale H2A.Z odstraněny a response geny jsou aktivovány, takže rostlina reaguje na okolní prostředí. Díky antagonistickému vztahu HSFA1 a H2A.Z je proto možná velmi rychlá reakce na okolí, první aktivace genů při vystavení změně teplot (z 17°C na 27°C) se projevila už po 15 minutách, tyto změny ale nejsou trvalé a H2A.Z může být při poklesu teploty opět umístěn do nukleozomů (Cortijo et al., 2017).

3.3.2. Varianty odvozené od histonu H3

3.3.2.1. Histonová varianta H3.1

Histonová varianta H3.1 má represivní vliv na chromatin a vyskytuje se proto v konstitutivním i fakultativním heterochromatinu, čímž udržuje umlčení genů. Spolu s ní se vyskytují i histonové represivní modifikace H3K9me2 a H3K27me3 a metylace DNA (Stroud et al., 2012; Tagami et al., 2004). Epigenetická značka H3K9me2 je udržována pomocí histonových metyltransferáz SUVH4, SUVH5 a SUVH6, zatímco H3K27me3 je ustanovována pomocí PRC2 (Ebbs & Bender, 2006; Jackson et al., 2002, 2004; Malagnac et al., 2002).

H3.1 varianta je někdy nazývána kanonickým histonem H3, protože je umístována do nukleozomů chaperonem Chromatin assembly factor-1 (CAF1) už během S-fáze buněčného cyklu a je tak obsažena v nově sestavených nukleozomech, oproti tomu histonová varianta H3.3 je do nukleozomů v euchromatinu přidávána (náhradou za H3.1) později v souvislosti s transkripcí (Stroud et al., 2012; Tagami et al., 2004). Histonové varianty H3.3 a H3.1 si jsou sekvenčně velmi podobné a liší se jen ve čtyřech aminokyselinách, které jsou obsaženy na pozicích 31,41 na N konci a v Histone folding domain (HFD) na pozicích 87 a 90 (Shi et al., 2011).

Na H3.1 se může nacházet represivní histonová modifikace H3K27me1, která je vytvářena monometyltransferázami *Arabidopsis trithorax-related protein 5* (ATXR5) a *Arabidopsis trithorax-related protein 6* (ATXR6) (Jacob et al., 2009, 2014; L. Johnson et al., 2004). Tyto monometyltransferázy jsou přivolávány k replikační vidličce během S-fáze buněčného cyklu a monometylují za ní nově inkorporovanou histonovou variantu H3.1. Represivní značka H3K27me1 je tak znovu ustavena na hodnoty před replikací prakticky ihned po vytvoření nových nukleozomů a neztrácí se tak kvůli replikaci (Jacob et al., 2009, 2014). ATXR5 a ATXR6 specificky rozeznávají alanin na pozici 31 histonové varianty H3.1 a monometylují H3.1, histonová varianta H3.3 ale na pozici 31 obsahuje threonin a proto ji ATXR5 a ATXR6 nemetylují a na H3.3 se represivní značka H3K27me1 nenachází (Jacob et al., 2014). Díky tomuto malému rozdílu ve struktuře histonových variant H3.1 a H3.3 je tak H3K27me1 umístována pouze na H3.1 a blokována na H3.3, tvoří se tak hranice mezi represivním prostředím H3.1 a aktivačním prostředím H3.3 (Ahmad & Henikoff, 2002; Jacob et al., 2014; Stroud et al., 2012).

3.3.2.2. Histonová varianta H3.3

Histonová varianta H3.3 má aktivační vliv a nachází se proto v transkripčně aktivních regionech a nese aktivační modifikace H3K4me1-3 a H3K36me2-3 (Stroud et al., 2012; F. Zhao et al., 2021). Zároveň se také nachází spolu s CG metylací na 3' konci genů (také transcription end sites (TES)), zatímco s CHG a CHH metylací nekoreluje (Stroud et al., 2012). Přestože se H3.3 obvykle vyskytuje na 3' koncích genů, dokáže s dalšími proteiny podporovat takzvaný „gen looping“, při kterém se přiblíží 5' konec a 3' konec genu a H3.3 tak může interagovat s TSS na 5' konci genu a způsobovat umístování aktivačních histonových značek, čímž podporuje

expresi genu (F. Zhao et al., 2021). Varianta H3.3 je do nukleozomů umístována chaperonem Histone regulatory homolog A (HIRA), který je schopný H3.3 variantu inkorporovat mimo S-fázi nezávisle na syntéze DNA (Tagami et al., 2004).

Nukleozomy, které obsahují H3.3 a H2A.Z varianty jsou velmi nestabilní a přítomnost H3.3 i H2A.Z je například nutná pro expresi Flowering locus C genu (*FLC*) (Jin & Felsenfeld, 2007; F. Zhao et al., 2021). Pokud nukleozomy s H3.3 a H2A.Z ztratí H3.3 či H2A.Z, nukleozom se tak stane stabilnějším, zároveň dochází ke snížení exprese *FLC*. Stabilita nukleozomů obsahujících H3.3 a H2A.Z by tak mohla ovlivňovat expresi *FLC*, méně stabilní nukleozomy by mohly umožňovat expresi *FLC*, zatímco stabilní nukleozomy by expresi *FLC* tlumily (F. Zhao et al., 2021)

3.4. Lokalizace v jádře

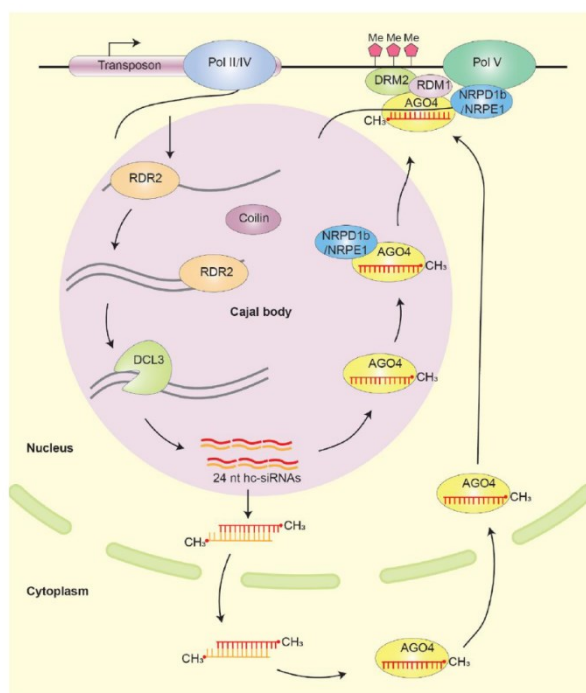
Kompartimentace buňky je velmi důležitá, jelikož vytváří různá oddělená prostředí, ve kterých probíhají různé biochemické procesy. Kromě organel, které jsou od okolí odděleny membránami, mohou vznikat i takzvané biokondenzáty, které takovými membránami nemají a rozhraní mezi okolím a vnitřkem biokondenzátů tvoří proteiny asociující s biokondenzáty (Banani et al., 2017; Hyman et al., 2014). Biokondenzáty vznikají díky procesu Liquid-liquid phase separation (LLPS), během něhož dochází k samovolné kondenzaci proteinů a RNA (popř. i DNA) do „kapiček“ („droplets“), které obsahují tyto proteiny a RNA ve zvýšené koncentraci oproti okolí (Alberti et al., 2019; Banani et al., 2017). Biokondenzáty mohou být poměrně stabilní, často jsou ale i dynamické a fúzí, vznikají či zanikají na základě různých podnětů, takovýto podnět může být například biotický či abiotický stres (Chen et al., 2022; Semashko et al., 2012; Shin et al., 2018; L. Wang et al., 2020; Zhu et al., 2021). Příkladem jsou biokondenzáty závislé na fotoreceptoru phytochrome B (phyB), který dokáže podporovat vznik biokondenzátů a rekrutaci TF spolu s dalšími proteiny při vystavení světlu. Pokud ale dojde ke zvýšení teploty, phyB přechází do neaktivní formy a na něm závislé biokondenzáty zanikají. Tyto biokondenzáty jsou tedy senzory světla i teploty a jsou velmi dynamické (Chen et al., 2022; Legris et al., 2016).

Metylace DNA může být s LLPS spojena několika možnými způsoby. Proteiny zapojující se do LLPS mohou rozeznávat metylaci DNA, jako například MBD5 a MBD6. MBD5 a MBD6 se vážou na metylovanou DNA v CG kontextu a spolu s proteiny Alpha-crystallin domain protein 15.5 (ACD15.5) a Alpha-crystallin domain protein 21.4 (ACD21.4) tvoří komplex, který je schopen podporovat vznik biokondenzátů a také přivolávat další proteiny, čímž regulují expresi 45S rRNA genů (Ren et al., 2024; Scebbba et al., 2003; Zemach & Grafí, 2003).

Proteiny zapojující se do LLPS také mohou rozeznávat histonové modifikace, například H3K9me2, která je udržována pomocí histonových metyltransferáz SUHV4, SUHV5 a SUHV6 v pozitivní zpětnovazebné smyčce s CHG a CHH metylací. Agenet domain containing protein 1 (ADCPI) je specifický „reader“ histonové modifikace H3K9me2 a zároveň je schopen podporovat LLPS a vznik biokondenzátů, které by mohly přivolávat SUHV4 a CMT3 a tak udržovat metylaci H3K9 a DNA metylaci (S. Zhao et al., 2019). Tímto je udržován heterochromatin, což zajišťuje stálé umlčení v něm obsažených TE, pokud dojde k narušení

ADCP1 (mutant *adcp1*), dochází ke snížení metylace H3K9me2 a metylace DNA v CHG a CHH kontextu, což vede k aktivaci TE(S. Zhao et al., 2019). Dalším proteinem, který se zapojuje do LLPS a rozeznává histonovou modifikaci H3K27me3 je LHP1(Berry et al., 2017; Turck et al., 2007). LHP1 interaguje s proteiny PRC2 i PRC1 a je důležitý pro stabilitu polycomb bodies(Berry et al., 2017; Derkacheva et al., 2013; L. Xu & Shen, 2008).

Navíc i samotná kondenzace chromatinu, které je důležitá pro vznik biokondenzátů, je pozitivně ovlivněna metylací DNA, jelikož DNA s metylovanými cytosiny kondenzuje snáze než DNA s nemetylovanými cytosiny(Kang et al., 2018).



Obr.8. Cajal body (značeno fialově) vytváří prostředí pro zpracování RNA transkriptu Pol IV v RdDM dráze; převzato od(Q. Li et al., 2024).

Biokondenzáty také mohou vytvářet prostředí pro zpracovávání a ukládání RNA, a to třeba i siRNA, které jsou obsaženy jak v kanonické RdDM dráze i či siRNA nekanonických RdDM drah. Cajal bodies (CB), které obvykle zpracovávají jaderné sRNA, mohou zajišťovat prostředí pro vznik 24-nt siRNA kanonické RdDM dráhy, obsahují totiž RDR2, DCL3, AGO4, podjednotku Pol V NRPE1 a Pol IV RNA transkripty, které jsou v CB zpracovávány na 24-nt dlouhé siRNA. Tyto siRNA jsou následně pomocí AGO4 přiváděny k DNA, kde dochází k metylaci DNA, mohou být ale také transportovány do cytoplasmy a až poté být spárovány s AGO4 (viz Obr.8.) (C. F. Li et al., 2006). V biokondenzátech mohou být zpracovávány i Pol II transkripty nových transkripčně aktivních TE, ze kterých jsou následně vytvořeny siRNA pro Pol II-RDR6 dependentní nekanonickou dráhu(Kim et al., 2021)

4. Závěr

Během metylace DNA dochází k umístování metylových skupin na DNA, které mohou být rozeznávány různými proteiny. Tyto proteiny mohou mít přímý efekt na stav chromatinu, například SUVH4, SUVH5 a SUVH6 se váží na metylovanou DNA a zároveň mají histon metyltransferázovou aktivitu, udržující represivní epigenetickou značku H3K9me2, a tím přispívají k tvorbě heterochromatinu. H3K9me2 může být zároveň rozeznána chromometylázami CMT2 a CMT3, které udržují CHG a CHH metylaci, čímž se vytváří pozitivní zpětnovazebná smyčka mezi metylací DNA a represivní histonovou modifikací vedoucí ke kondenzaci chromatinu. Proteiny rozeznávající metylaci mohou interagovat i s jinými proteiny či komplexy proteinů a tím ovlivňovat stav chromatinu, například AtMBD6 interaguje s chaperonem DDM1, který je schopen rozvolňovat chromatin. DDM1 totiž interaguje s histonovou variantou H2A.W, která je sice represivní, ale díky interakci s DDM1 se chromatin obsahující H2A.W stává přístupnější mimo jiné i pro cytosinové metyltransferázy, které tak udržují metylaci DNA na TE obsažených v tomto heterochromatinu. Histonové modifikace také mohou ovlivňovat stav chromatinu i metylaci DNA, třeba histonová modifikace H3K27me3 fakultativního heterochromatinu je provázána s histonovou variantou H2A.Z, která může být represivní i aktivační a obvykle se nevyskytuje spolu s metylací DNA. H3K27me3 je rozeznávána pomocí PRC1, který ubiquitínuje histon H2A, PRC1 je ale schopen ubiquitínovat i histonovou variantu H2A.Z. Ta je umístována do nukleozomů díky IDM komplexu, jež je naváděn k nukleozomům s metylovanou DNA proteinem MBD7. H2A.Z také rekrutuje demetylázu ROS1, která aktivně demetyluje DNA u těchto nukleozomů a brání nadbytečné metylaci DNA. Histonová varianta H3.3 podobně jako H2A.Z umožňuje rozvolnění chromatinu a přístup regulačních proteinů k DNA, zatímco histonová H3.1 je striktně represivní. Methylace DNA také může přímo či nepřímo (např. přes histonové modifikace) způsobovat vznik biokondenzátů, které sdružují a organizují různé části chromatinu s dalšími výkonnými proteiny a přidávají tak další úroveň regulace exprese genů. Přestože je možné mezi metylací DNA, histonovými modifikacemi, histonovými variantami a stavem chromatinu najít různé regulační vztahy a závislosti, tyto vztahy jsou často seskládány z mnoha molekulárních drah a procesů, u kterých například není zcela jasný molekulární mechanismus, zapojení a funkce proteinů, proto tyto vztahy představují bohatý cíl dalšího výzkumu.

Reference

- Ahmad, K., & Henikoff, S. (2002). The Histone Variant H3.3 Marks Active Chromatin by Replication-Independent Nucleosome Assembly. *Molecular Cell*, *9*(6), 1191–1200. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00542-7](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00542-7)
- Alberti, S., Gladfelter, A., & Mittag, T. (2019). Considerations and Challenges in Studying Liquid-Liquid Phase Separation and Biomolecular Condensates. *Cell*, *176*(3), 419–434. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.035>
- Banani, S. F., Lee, H. O., Hyman, A. A., & Rosen, M. K. (2017). Biomolecular condensates: Organizers of cellular biochemistry. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *18*(5), 285–298. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7>
- Baumbusch, L. O., Thorstensen, T., Krauss, V., Fischer, A., Naumann, K., Assalkhou, R., Schulz, I., Reuter, G., & Aalen, R. B. (2001). The Arabidopsis thaliana genome contains at least 29 active genes encoding SET domain proteins that can be assigned to four evolutionarily conserved classes. *Nucleic Acids Research*, *29*(21), 4319–4333. <https://doi.org/10.1093/nar/29.21.4319>
- Berg, A., Meza, T. J., Mahić, M., Thorstensen, T., Kristiansen, K., & Aalen, R. B. (2003). Ten members of the Arabidopsis gene family encoding methyl-CpG-binding domain proteins are transcriptionally active and at least one, AtMBD11, is crucial for normal development. *Nucleic Acids Research*, *31*(18), 5291–5304. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg735>
- Berry, S., Rosa, S., Howard, M., Bühler, M., & Dean, C. (2017). Disruption of an RNA-binding hinge region abolishes LHP1-mediated epigenetic repression. *Genes & Development*, *31*(21), 2115–2120. <https://doi.org/10.1101/gad.305227.117>
- Bird, A. P., & Wolffe, A. P. (1999). Methylation-Induced Repression—Belts, Braces, and Chromatin. *Cell*, *99*(5), 451–454. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81532-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81532-9)
- Blevins, T., Podicheti, R., Mishra, V., Marasco, M., Wang, J., Rusch, D., Tang, H., & Pikaard, C. S. (2015). Identification of Pol IV and RDR2-dependent precursors of 24 nt siRNAs guiding de novo DNA methylation in Arabidopsis. *eLife*, *4*, e09591. <https://doi.org/10.7554/eLife.09591>
- Bonisch, C., & Hake, S. B. (2012). Histone H2A variants in nucleosomes and chromatin: More or less stable? *Nucleic Acids Research*, *40*(21), 10719–10741. <https://doi.org/10.1093/nar/gks865>
- Bourguet, P., Picard, C. L., Yelagandula, R., Pélissier, T., Lorković, Z. J., Feng, S., Pouch-Pélissier, M.-N., Schmücker, A., Jacobsen, S. E., Berger, F., & Mathieu, O. (2021). The histone variant H2A.W and linker histone H1 co-regulate heterochromatin accessibility and DNA methylation. *Nature Communications*, *12*(1), 2683. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22993-5>
- Bratzel, F., López-Torrejón, G., Koch, M., Del Pozo, J. C., & Calonje, M. (2010). Keeping Cell Identity in Arabidopsis Requires PRC1 RING-Finger Homologs that Catalyze H2A Monoubiquitination. *Current Biology*, *20*(20), 1853–1859. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.09.046>
- Bratzel, F., Yang, C., Angelova, A., López-Torrejón, G., Koch, M., del Pozo, J. C., & Calonje, M. (2012). Regulation of the New Arabidopsis Imprinted Gene AtBMI1C Requires the Interplay of Different Epigenetic Mechanisms. *Molecular Plant*, *5*(1), 260–269. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr078>
- Calonje, M., Sanchez, R., Chen, L., & Sung, Z. R. (2008). EMBRYONIC FLOWER1 Participates in Polycomb Group-Mediated AG Gene Silencing in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *20*(2), 277–291. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.049957>

- Cao, X., Aufsatz, W., Zilberman, D., Mette, M. F., Huang, M. S., Matzke, M., & Jacobsen, S. E. (2003). Role of the DRM and CMT3 Methyltransferases in RNA-Directed DNA Methylation. *Current Biology*, *13*(24), 2212–2217. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.11.052>
- Cao, X., & Jacobsen, S. E. (2002). Locus-specific control of asymmetric and CpNpG methylation by the DRM and CMT3 methyltransferase genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(suppl_4), 16491–16498. <https://doi.org/10.1073/pnas.162371599>
- Caro, E., Stroud, H., Greenberg, M. V. C., Bernatavichute, Y. V., Feng, S., Groth, M., Vashisht, A. A., Wohlschlegel, J., & Jacobsen, S. E. (2012). The SET-Domain Protein SUV5 Mediates H3K9me2 Deposition and Silencing at Stimulus Response Genes in a DNA Methylation–Independent Manner. *PLOS Genetics*, *8*(10), e1002995. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002995>
- Carter, B., Bishop, B., Ho, K. K., Huang, R., Jia, W., Zhang, H., Pascuzzi, P. E., Deal, R. B., & Ogas, J. (2018). The Chromatin Remodelers PKL and PIE1 Act in an Epigenetic Pathway That Determines H3K27me3 Homeostasis in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *30*(6), 1337–1352. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00867>
- Cokus, S. J., Feng, S., Zhang, X., Chen, Z., Merriman, B., Haudenschild, C. D., Pradhan, S., Nelson, S. F., Pellegrini, M., & Jacobsen, S. E. (2008). Shotgun bisulphite sequencing of the Arabidopsis genome reveals DNA methylation patterning. *Nature*, *452*(7184), 215–219. <https://doi.org/10.1038/nature06745>
- Coleman-Derr, D., & Zilberman, D. (2012). Deposition of Histone Variant H2A.Z within Gene Bodies Regulates Responsive Genes. *PLOS Genetics*, *8*(10), e1002988. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002988>
- Cortijo, S., Charoensawan, V., Brestovitsky, A., Buning, R., Ravarani, C., Rhodes, D., van Noort, J., Jaeger, K. E., & Wigge, P. A. (2017). Transcriptional Regulation of the Ambient Temperature Response by H2A.Z Nucleosomes and HSF1 Transcription Factors in Arabidopsis. *Molecular Plant*, *10*(10), 1258–1273. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.08.014>
- Crevillén, P., Yang, H., Cui, X., Greeff, C., Trick, M., Qiu, Q., Cao, X., & Dean, C. (2014). Epigenetic reprogramming that prevents transgenerational inheritance of the vernalized state. *Nature*, *515*(7528), 587–590. <https://doi.org/10.1038/nature13722>
- Cuerda-Gil, D., & Slotkin, R. K. (2016). Non-canonical RNA-directed DNA methylation. *Nature Plants*, *2*(11), 16163. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.163>
- Cui, X., Lu, F., Qiu, Q., Zhou, B., Gu, L., Zhang, S., Kang, Y., Cui, X., Ma, X., Yao, Q., Ma, J., Zhang, X., & Cao, X. (2016). REF6 recognizes a specific DNA sequence to demethylate H3K27me3 and regulate organ boundary formation in Arabidopsis. *Nature Genetics*, *48*(6), 694–699. <https://doi.org/10.1038/ng.3556>
- Cusack, S. A., Wang, P., Lotreck, S. G., Moore, B. M., Meng, F., Conner, J. K., Krysan, P. J., Lehti-Shiu, M. D., & Shiu, S.-H. (2021). Predictive Models of Genetic Redundancy in Arabidopsis thaliana. *Molecular Biology and Evolution*, *38*(8), 3397–3414. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab111>
- Derkacheva, M., Steinbach, Y., Wildhaber, T., Mozgová, I., Mahrez, W., Nanni, P., Bischof, S., Gruissem, W., & Hennig, L. (2013). Arabidopsis MSI1 connects LHP1 to PRC2 complexes. *The EMBO Journal*, *32*(14), 2073–2085. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.145>
- Dillon, S. C., Zhang, X., Trievel, R. C., & Cheng, X. (2005). The SET-domain protein superfamily: Protein lysine methyltransferases. *Genome Biology*, *6*(8), 227. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-8-227>
- Du, J., Johnson, L. M., Jacobsen, S. E., & Patel, D. J. (2015). DNA methylation pathways and their crosstalk with histone methylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *16*(9), 519–532. <https://doi.org/10.1038/nrm4043>

- Du, J., Zhong, X., Bernatavichute, Y. V., Stroud, H., Feng, S., Caro, E., Vashisht, A. A., Terragni, J., Chin, H. G., Tu, A., Hetzel, J., Wohlschlegel, J. A., Pradhan, S., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2012). Dual binding of chromomethylase domains to H3K9me2-containing nucleosomes directs DNA methylation in plants. *Cell*, *151*(1), 167–180. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.034>
- Duan, C.-G., Wang, X., Xie, S., Pan, L., Miki, D., Tang, K., Hsu, C.-C., Lei, M., Zhong, Y., Hou, Y.-J., Wang, Z., Zhang, Z., Mangrauthia, S. K., Xu, H., Zhang, H., Dilkes, B., Tao, W. A., & Zhu, J.-K. (2017). A pair of transposon-derived proteins function in a histone acetyltransferase complex for active DNA demethylation. *Cell Research*, *27*(2), 226–240. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.147>
- Duan, C.-G., Zhu, J.-K., & Cao, X. (2018). Retrospective and perspective of plant epigenetics in China. *Journal of Genetics and Genomics*, *45*(11), 621–638. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2018.09.004>
- Ebbs, M. L., Bartee, L., & Bender, J. (2005). H3 Lysine 9 Methylation Is Maintained on a Transcribed Inverted Repeat by Combined Action of SUVH6 and SUVH4 Methyltransferases. *Molecular and Cellular Biology*, *25*(23), 10507–10515. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.23.10507-10515.2005>
- Ebbs, M. L., & Bender, J. (2006). Locus-Specific Control of DNA Methylation by the Arabidopsis SUVH5 Histone Methyltransferase. *The Plant Cell*, *18*(5), 1166–1176. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.041400>
- Ehrlich, M., Gama-Sosa, M. A., Huang, L.-H., Midgett, R. M., Kuo, K. C., McCune, R. A., & Gehrke, C. (1982). Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucleic Acids Research*, *10*(8), 2709–2721. <https://doi.org/10.1093/nar/10.8.2709>
- Erhard, K. F., Talbot, J.-E. R. B., Deans, N. C., McClish, A. E., & Hollick, J. B. (2015). Nascent transcription affected by RNA polymerase IV in *Zea mays*. *Genetics*, *199*(4), 1107–1125. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.174714>
- Feng, Z., Zhan, X., Pang, J., Liu, X., Zhang, H., Lang, Z., & Zhu, J.-K. (2021). Genetic analysis implicates a molecular chaperone complex in regulating epigenetic silencing of methylated genomic regions. *Journal of Integrative Plant Biology*, *63*(8), 1451–1461. <https://doi.org/10.1111/jipb.13155>
- Fournier, A., Sasai, N., Nakao, M., & Defossez, P.-A. (2012). The role of methyl-binding proteins in chromatin organization and epigenome maintenance. *Briefings in Functional Genomics*, *11*(3), 251–264. <https://doi.org/10.1093/bfpg/blr040>
- Gan, E.-S., Xu, Y., Wong, J.-Y., Geraldine Goh, J., Sun, B., Wee, W.-Y., Huang, J., & Ito, T. (2014). Jumonji demethylases moderate precocious flowering at elevated temperature via regulation of FLC in Arabidopsis. *Nature Communications*, *5*(1), 5098. <https://doi.org/10.1038/ncomms6098>
- Gehring, M., Huh, J. H., Hsieh, T.-F., Penterman, J., Choi, Y., Harada, J. J., Goldberg, R. B., & Fischer, R. L. (2006). DEMETER DNA Glycosylase Establishes *MEDEA* Polycomb Gene Self-Imprinting by Allele-Specific Demethylation. *Cell*, *124*(3), 495–506. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.034>
- Gendall, A. R., Levy, Y. Y., Wilson, A., & Dean, C. (2001). The *VERNALIZATION 2* Gene Mediates the Epigenetic Regulation of Vernalization in *Arabidopsis*. *Cell*, *107*(4), 525–535. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00573-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00573-6)
- Gómez-Zambrano, Á., Merini, W., & Calonje, M. (2019). The repressive role of Arabidopsis H2A.Z in transcriptional regulation depends on AtBMII activity. *Nature Communications*, *10*(1), 2828. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10773-1>

- Gong, Z., Morales-Ruiz, T., Ariza, R. R., Roldán-Arjona, T., David, L., & Zhu, J.-K. (2002). *ROSI*, a Repressor of Transcriptional Gene Silencing in *Arabidopsis*, Encodes a DNA Glycosylase/Lyase. *Cell*, *111*(6), 803–814. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)01133-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)01133-9)
- Goodrich, J., Puangsomlee, P., Martin, M., Long, D., Meyerowitz, E. M., & Coupland, G. (1997). A Polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in *Arabidopsis*. *Nature*, *386*(6620), 44–51. <https://doi.org/10.1038/386044a0>
- Guittou, A.-E., Page, D. R., Chambrier, P., Lionnet, C., Faure, J.-E., Grossniklaus, U., & Berger, F. (2004). Identification of new members of Fertilisation Independent Seed Polycomb Group pathway involved in the control of seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, *131*(12), 2971–2981. <https://doi.org/10.1242/dev.01168>
- Harris, C. J., Scheibe, M., Wongpalee, S. P., Liu, W., Cornett, E. M., Vaughan, R. M., Li, X., Chen, W., Xue, Y., Zhong, Z., Yen, L., Barshop, W. D., Rayatpisheh, S., Gallego-Bartolome, J., Groth, M., Wang, Z., Wohlschlegel, J. A., Du, J., Rothbart, S. B., ... Jacobsen, S. E. (2018). A DNA methylation reader complex that enhances gene transcription. *Science*, *362*(6419), 1182–1186. <https://doi.org/10.1126/science.aar7854>
- Havecker, E. R., Wallbridge, L. M., Hardcastle, T. J., Bush, M. S., Kelly, K. A., Dunn, R. M., Schwach, F., Doonan, J. H., & Baulcombe, D. C. (2010). The *Arabidopsis* RNA-Directed DNA Methylation Argonautes Functionally Diverge Based on Their Expression and Interaction with Target Loci. *The Plant Cell*, *22*(2), 321–334. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072199>
- Helliwell, C. A., Wood, C. C., Robertson, M., James Peacock, W., & Dennis, E. S. (2006). The *Arabidopsis* FLC protein interacts directly in vivo with SOC1 and FT chromatin and is part of a high-molecular-weight protein complex. *The Plant Journal*, *46*(2), 183–192. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02686.x>
- Hu, L., Li, N., Xu, C., Zhong, S., Lin, X., Yang, J., Zhou, T., Yuliang, A., Wu, Y., Chen, Y.-R., Cao, X., Zemach, A., Rustgi, S., von Wettstein, D., & Liu, B. (2014). Mutation of a major CG methylase in rice causes genome-wide hypomethylation, dysregulated genome expression, and seedling lethality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(29), 10642–10647. <https://doi.org/10.1073/pnas.1410761111>
- Huh, J. H., Bauer, M. J., Hsieh, T.-F., & Fischer, R. L. (2008). Cellular Programming of Plant Gene Imprinting. *Cell*, *132*(5), 735–744. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.02.018>
- Hung, F.-Y., Feng, Y.-R., Hsin, K.-T., Shih, Y.-H., Chang, C.-H., Zhong, W., Lai, Y.-C., Xu, Y., Yang, S., Sugimoto, K., Cheng, Y.-S., & Wu, K. (2023). *Arabidopsis* histone H3 lysine 9 methyltransferases KYP/SUVH5/6 are involved in leaf development by interacting with AS1-AS2 to repress KNAT1 and KNAT2. *Communications Biology*, *6*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04607-6>
- Hyman, A. A., Weber, C. A., & Jülicher, F. (2014). Liquid-Liquid Phase Separation in Biology. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *30*(Volume 30, 2014), 39–58. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013325>
- Chen, D., Lyu, M., Kou, X., Li, J., Yang, Z., Gao, L., Li, Y., Fan, L., Shi, H., & Zhong, S. (2022). Integration of light and temperature sensing by liquid-liquid phase separation of phytochrome B. *Molecular Cell*, *82*(16), 3015–3029.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.05.026>
- Choi, Y., Gehring, M., Johnson, L., Hannon, M., Harada, J. J., Goldberg, R. B., Jacobsen, S. E., & Fischer, R. L. (2002). DEMETER, a DNA Glycosylase Domain Protein, Is Required for Endosperm Gene Imprinting and Seed Viability in *Arabidopsis*. *Cell*, *110*(1), 33–42. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00807-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00807-3)
- IntAct—Search Results*. (b.r.). Ziskáno 8. srpen 2024, z https://www.ebi.ac.uk/intact/search?query=id:Q8VZ17*#interactor

IntAct—Search Results. (b.r.). Získáno 8. srpen 2024, z
https://www.ebi.ac.uk/intact/search?query=id:O82175*#interactor

- Ito, M., Koike, A., Koizumi, N., & Sano, H. (2003). Methylated DNA-Binding Proteins from Arabidopsis. *Plant Physiology*, *133*(4), 1747–1754. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026708>
- Jackson, J. P., Johnson, L., Jasencakova, Z., Zhang, X., PerezBurgos, L., Singh, P. B., Cheng, X., Schubert, I., Jenuwein, T., & Jacobsen, S. E. (2004). Dimethylation of histone H3 lysine 9 is a critical mark for DNA methylation and gene silencing in Arabidopsis thaliana. *Chromosoma*, *112*(6), 308–315. <https://doi.org/10.1007/s00412-004-0275-7>
- Jackson, J. P., Lindroth, A. M., Cao, X., & Jacobsen, S. E. (2002). Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase. *Nature*, *416*(6880), 556–560. <https://doi.org/10.1038/nature731>
- Jacob, Y., Bergamin, E., Donoghue, M. T. A., Mongeon, V., LeBlanc, C., Voigt, P., Underwood, C. J., Brunzelle, J. S., Michaels, S. D., Reinberg, D., Couture, J.-F., & Martienssen, R. A. (2014). Selective Methylation of Histone H3 Variant H3.1 Regulates Heterochromatin Replication. *Science*, *343*(6176), 1249–1253. <https://doi.org/10.1126/science.1248357>
- Jacob, Y., Feng, S., LeBlanc, C. A., Bernatavichute, Y. V., Stroud, H., Cokus, S., Johnson, L. M., Pellegrini, M., Jacobsen, S. E., & Michaels, S. D. (2009). ATXR5 and ATXR6 are H3K27 monomethyltransferases required for chromatin structure and gene silencing. *Nature Structural & Molecular Biology*, *16*(7), 763–768. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1611>
- Jin, C., & Felsenfeld, G. (2007). Nucleosome stability mediated by histone variants H3.3 and H2A.Z. *Genes & Development*, *21*(12), 1519–1529. <https://doi.org/10.1101/gad.1547707>
- Johnson, L. M., Bostick, M., Zhang, X., Kraft, E., Henderson, I., Callis, J., & Jacobsen, S. E. (2007). The SRA Methyl-Cytosine-Binding Domain Links DNA and Histone Methylation. *Current Biology*, *17*(4), 379–384. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.01.009>
- Johnson, L. M., Du, J., Hale, C. J., Bischof, S., Feng, S., Chodavarapu, R. K., Zhong, X., Marson, G., Pellegrini, M., Segal, D. J., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2014). SRA- and SET-domain-containing proteins link RNA polymerase V occupancy to DNA methylation. *Nature*, *507*(7490), 124–128. <https://doi.org/10.1038/nature12931>
- Johnson, L. M., Law, J. A., Khattar, A., Henderson, I. R., & Jacobsen, S. E. (2008). SRA-Domain Proteins Required for DRM2-Mediated De Novo DNA Methylation. *PLOS Genetics*, *4*(11), e1000280. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000280>
- Johnson, L., Mollah, S., Garcia, B. A., Muratore, T. L., Shabanowitz, J., Hunt, D. F., & Jacobsen, S. E. (2004). Mass spectrometry analysis of Arabidopsis histone H3 reveals distinct combinations of post-translational modifications. *Nucleic Acids Research*, *32*(22), 6511–6518. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh992>
- Jones, L., Ratcliff, F., & Baulcombe, D. C. (2001). RNA-directed transcriptional gene silencing in plants can be inherited independently of the RNA trigger and requires Met1 for maintenance. *Current Biology*, *11*(10), 747–757. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00226-3](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00226-3)
- Kang, H., Yoo, J., Sohn, B.-K., Lee, S.-W., Lee, H. S., Ma, W., Kee, J.-M., Aksimentiev, A., & Kim, H. (2018). Sequence-dependent DNA condensation as a driving force of DNA phase separation. *Nucleic Acids Research*, *46*(18), 9401–9413. <https://doi.org/10.1093/nar/gky639>
- Kim, E. Y., Wang, L., Lei, Z., Li, H., Fan, W., & Cho, J. (2021). Ribosome stalling and SGS3 phase separation prime the epigenetic silencing of transposons. *Nature Plants*, *7*(3), 303–309. <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00867-4>
- Lang, Z., Lei, M., Wang, X., Tang, K., Miki, D., Zhang, H., Mangrauthia, S. K., Liu, W., Nie, W., Ma, G., Yan, J., Duan, C.-G., Hsu, C.-C., Wang, C., Tao, W. A., Gong, Z., & Zhu, J.-K. (2015). The Methyl-CpG-Binding Protein MBD7 Facilitates Active DNA Demethylation to Limit

- DNA Hyper-Methylation and Transcriptional Gene Silencing. *Molecular Cell*, 57(6), 971–983. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.009>
- Lang, Z., Wang, Y., Tang, K., Tang, D., Datsenka, T., Cheng, J., Zhang, Y., Handa, A. K., & Zhu, J.-K. (2017). Critical roles of DNA demethylation in the activation of ripening-induced genes and inhibition of ripening-repressed genes in tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(22), E4511–E4519. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705233114>
- Law, J. A., Du, J., Hale, C. J., Feng, S., Krajewski, K., Palanca, A. M. S., Strahl, B. D., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2013). Polymerase IV occupancy at RNA-directed DNA methylation sites requires SHH1. *Nature*, 498(7454), 385–389. <https://doi.org/10.1038/nature12178>
- Law, J. A., & Jacobsen, S. E. (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature Reviews Genetics*, 11(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/nrg2719>
- Lee, K., Park, O.-S., & Seo, P. J. (2018). JMJ30-mediated demethylation of H3K9me3 drives tissue identity changes to promote callus formation in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 95(6), 961–975. <https://doi.org/10.1111/tpj.14002>
- Legris, M., Klose, C., Burgie, E. S., Rojas, C. C. R., Neme, M., Hiltbrunner, A., Wigge, P. A., Schäfer, E., Vierstra, R. D., & Casal, J. J. (2016). Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science*, 354(6314), 897–900. <https://doi.org/10.1126/science.aaf5656>
- Lei, M., Zhang, H., Julian, R., Tang, K., Xie, S., & Zhu, J.-K. (2015). Regulatory link between DNA methylation and active demethylation in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(11), 3553–3557. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502279112>
- Li, C. F., Pontes, O., El-Shami, M., Henderson, I. R., Bernatavichute, Y. V., Chan, S. W.-L., Lagrange, T., Pikaard, C. S., & Jacobsen, S. E. (2006). An ARGONAUTE4-Containing Nuclear Processing Center Colocalized with Cajal Bodies in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, 126(1), 93–106. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.05.032>
- Li, Q., Liu, Y., & Zhang, X. (2024). Biomolecular condensates in plant RNA silencing: Insights into formation, function, and stress responses. *The Plant Cell*, 36(2), 227–245. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad254>
- Li, S., Liu, L., Li, S., Gao, L., Zhao, Y., Kim, Y. J., & Chen, X. (2016). SUVH1, a Su(var)3–9 family member, promotes the expression of genes targeted by DNA methylation. *Nucleic Acids Research*, 44(2), 608–620. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv958>
- Lindroth, A. M., Cao, X., Jackson, J. P., Zilberman, D., McCallum, C. M., Henikoff, S., & Jacobsen, S. E. (2001). Requirement of *CHROMOMETHYLASE3* for Maintenance of CpXpG Methylation. *Science*, 292(5524), 2077–2080. <https://doi.org/10.1126/science.1059745>
- Lister, R., O'Malley, R. C., Tonti-Filippini, J., Gregory, B. D., Berry, C. C., Millar, A. H., & Ecker, J. R. (2008). Highly Integrated Single-Base Resolution Maps of the Epigenome in *Arabidopsis*. *Cell*, 133(3), 523–536. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.029>
- Liu, Z.-W., Shao, C.-R., Zhang, C.-J., Zhou, J.-X., Zhang, S.-W., Li, L., Chen, S., Huang, H.-W., Cai, T., & He, X.-J. (2014). The SET Domain Proteins SUVH2 and SUVH9 Are Required for Pol V Occupancy at RNA-Directed DNA Methylation Loci. *PLOS Genetics*, 10(1), e1003948. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003948>
- Liu, Z.-W., Zhou, J.-X., Huang, H.-W., Li, Y.-Q., Shao, C.-R., Li, L., Cai, T., Chen, S., & He, X.-J. (2016). Two Components of the RNA-Directed DNA Methylation Pathway Associate with MORC6 and Silence Loci Targeted by MORC6 in Arabidopsis. *PLOS Genetics*, 12(5), e1006026. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006026>
- Lloyd, J. P. B., & Lister, R. (2022). Epigenome plasticity in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(1), 55–68. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00407-y>

- Lu, F., Cui, X., Zhang, S., Jenuwein, T., & Cao, X. (2011). Arabidopsis REF6 is a histone H3 lysine 27 demethylase. *Nature Genetics*, *43*(7), 715–719. <https://doi.org/10.1038/ng.854>
- Lu, F., Li, G., Cui, X., Liu, C., Wang, X.-J., & Cao, X. (2008). Comparative Analysis of JmjC Domain-containing Proteins Reveals the Potential Histone Demethylases in Arabidopsis and Rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, *50*(7), 886–896. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00692.x>
- Luger, K., Mäder, A. W., Richmond, R. K., Sargent, D. F., & Richmond, T. J. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, *389*(6648), 251–260. <https://doi.org/10.1038/38444>
- Malagnac, F., Bartee, L., & Bender, J. (2002). An Arabidopsis SET domain protein required for maintenance but not establishment of DNA methylation. *The EMBO Journal*, *21*(24), 6842–6852. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf687>
- Matzke, M. A., & Mosher, R. A. (2014). RNA-directed DNA methylation: An epigenetic pathway of increasing complexity. *Nature Reviews Genetics*, *15*(6), 394–408. <https://doi.org/10.1038/nrg3683>
- McCue, A. D., Nuthikattu, S., Reeder, S. H., & Slotkin, R. K. (2012). Gene Expression and Stress Response Mediated by the Epigenetic Regulation of a Transposable Element Small RNA. *PLOS Genetics*, *8*(2), e1002474. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002474>
- Mi, S., Cai, T., Hu, Y., Chen, Y., Hodges, E., Ni, F., Wu, L., Li, S., Zhou, H., Long, C., Chen, S., Hannon, G. J., & Qi, Y. (2008). Sorting of Small RNAs into Arabidopsis Argonaute Complexes Is Directed by the 5' Terminal Nucleotide. *Cell*, *133*(1), 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.02.034>
- Molitor, A. M., Bu, Z., Yu, Y., & Shen, W.-H. (2014). Arabidopsis AL PHD-PRC1 Complexes Promote Seed Germination through H3K4me3-to-H3K27me3 Chromatin State Switch in Repression of Seed Developmental Genes. *PLOS Genetics*, *10*(1), e1004091. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004091>
- Morales-Ruiz, T., Ortega-Galisteo, A. P., Ponferrada-Marín, M. I., Martínez-Macías, M. I., Ariza, R. R., & Roldán-Arjona, T. (2006). DEMETER and REPRESSOR OF SILENCING 1 encode 5-methylcytosine DNA glycosylases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(18), 6853–6858. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601109103>
- Nie, W.-F., Lei, M., Zhang, M., Tang, K., Huang, H., Zhang, C., Miki, D., Liu, P., Yang, Y., Wang, X., Zhang, H., Lang, Z., Liu, N., Xu, X., Yelagandula, R., Zhang, H., Wang, Z., Chai, X., Andreucci, A., ... Zhu, J.-K. (2019). Histone acetylation recruits the SWR1 complex to regulate active DNA demethylation in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(33), 16641–16650. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906023116>
- Nuthikattu, S., McCue, A. D., Panda, K., Fultz, D., DeFraia, C., Thomas, E. N., & Slotkin, R. K. (2013). The Initiation of Epigenetic Silencing of Active Transposable Elements Is Triggered by RDR6 and 21-22 Nucleotide Small Interfering RNAs. *Plant Physiology*, *162*(1), 116–131. <https://doi.org/10.1104/pp.113.216481>
- Ortega-Galisteo, A. P., Morales-Ruiz, T., Ariza, R. R., & Roldán-Arjona, T. (2008). Arabidopsis DEMETER-LIKE proteins DML2 and DML3 are required for appropriate distribution of DNA methylation marks. *Plant Molecular Biology*, *67*(6), 671–681. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9346-0>
- Osakabe, A., Jamge, B., Axelsson, E., Montgomery, S. A., Akimcheva, S., Kuehn, A. L., Pisupati, R., Lorković, Z. J., Yelagandula, R., Kakutani, T., & Berger, F. (2021). The chromatin remodeler DDM1 prevents transposon mobility through deposition of histone variant H2A.W. *Nature Cell Biology*, *23*(4), 391–400. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00658-1>
- Osakabe, A., Lorković, Z. J., Kobayashi, W., Tachiwana, H., Yelagandula, R., Kurumizaka, H., & Berger, F. (2018). Histone H2A variants confer specific properties to nucleosomes and impact

- on chromatin accessibility. *Nucleic Acids Research*, *46*(15), 7675–7685.
<https://doi.org/10.1093/nar/gky540>
- Osakabe, A., Takizawa, Y., Horikoshi, N., Hatazawa, S., Negishi, L., Sato, S., Berger, F., Kakutani, T., & Kurumizaka, H. (2024). Molecular and structural basis of the chromatin remodeling activity by Arabidopsis DDM1. *Nature Communications*, *15*(1), 5187.
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-49465-w>
- Peng, M., Cui, Y., Bi, Y.-M., & Rothstein, S. J. (2006). AtMBD9: A protein with a methyl-CpG-binding domain regulates flowering time and shoot branching in Arabidopsis. *The Plant Journal*, *46*(2), 282–296. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02691.x>
- Penterman, J., Zilberman, D., Huh, J. H., Ballinger, T., Henikoff, S., & Fischer, R. L. (2007). DNA demethylation in the Arabidopsis genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(16), 6752–6757. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701861104>
- Příbylová, A., Čermák, V., Tyč, D., & Fischer, L. (2019). Detailed insight into the dynamics of the initial phases of de novo RNA-directed DNA methylation in plant cells. *Epigenetics & Chromatin*, *12*(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13072-019-0299-0>
- Qi, Y., He, X., Wang, X.-J., Kohany, O., Jurka, J., & Hannon, G. J. (2006). Distinct catalytic and non-catalytic roles of ARGONAUTE4 in RNA-directed DNA methylation. *Nature*, *443*(7114), 1008–1012. <https://doi.org/10.1038/nature05198>
- Qian, W., Miki, D., Zhang, H., Liu, Y., Zhang, X., Tang, K., Kan, Y., La, H., Li, X., Li, S., Zhu, X., Shi, X., Zhang, K., Pontes, O., Chen, X., Liu, R., Gong, Z., & Zhu, J.-K. (2012). A Histone Acetyltransferase Regulates Active DNA Demethylation in Arabidopsis. *Science*, *336*(6087), 1445–1448. <https://doi.org/10.1126/science.1219416>
- Rambani, A., Rice, J. H., Liu, J., Lane, T., Ranjan, P., Mazarei, M., Pantalone, V., Stewart, C. N., Jr., Staton, M., & Hewezi, T. (2015). The Methylome of Soybean Roots during the Compatible Interaction with the Soybean Cyst Nematode. *Plant Physiology*, *168*(4), 1364–1377.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.00826>
- Ren, Z., Gou, R., Zhuo, W., Chen, Z., Yin, X., Cao, Y., Wang, Y., Mi, Y., Liu, Y., Wang, Y., Fan, L.-M., Deng, X. W., & Qian, W. (2024). The MBD-ACD DNA methylation reader complex recruits MICRORCHIDIA6 to regulate ribosomal RNA gene expression in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *36*(4), 1098–1118. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad313>
- Richards, E. J., & Elgin, S. C. R. (2002). Epigenetic Codes for Heterochromatin Formation and Silencing: Rounding up the Usual Suspects. *Cell*, *108*(4), 489–500.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00644-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00644-X)
- Sarcinella, E., Zuzarte, P. C., Lau, P. N. I., Draker, R., & Cheung, P. (2007). Monoubiquitylation of H2A.Z Distinguishes Its Association with Euchromatin or Facultative Heterochromatin. *Molecular and Cellular Biology*, *27*(18), 6457–6468. <https://doi.org/10.1128/MCB.00241-07>
- Sasnauskas, G., Kauneckaitė, K., & Siksnys, V. (2018). Structural basis of DNA target recognition by the B3 domain of Arabidopsis epigenome reader VAL1. *Nucleic Acids Research*, *46*(8), 4316–4324. <https://doi.org/10.1093/nar/gky256>
- Scebba, F., Bernacchia, G., De Bastiani, M., Evangelista, M., Cantoni, R. M., Cella, R., Locci, M. T., & Pitto, L. (2003). Arabidopsis MBD proteins show different binding specificities and nuclear localization. *Plant Molecular Biology*, *53*(5), 755–771.
<https://doi.org/10.1023/B:PLAN.0000019118.56822.a9>
- Semashko, M. A., Rakitina, D. V., González, I., Canto, T., Kalinina, N. O., & Taliany, M. E. (2012). Movement protein of hordeivirus interacts in vitro and in vivo with coilin, a major structural protein of Cajal bodies. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, *442*(1), 57–60.
<https://doi.org/10.1134/S1607672912010164>

- Shen, Q., Lin, Y., Li, Y., & Wang, G. (2021). Dynamics of H3K27me3 Modification on Plant Adaptation to Environmental Cues. *Plants*, *10*(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/plants10061165>
- Shi, L., Wang, J., Hong, F., Spector, D. L., & Fang, Y. (2011). Four amino acids guide the assembly or disassembly of Arabidopsis histone H3.3-containing nucleosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(26), 10574–10578. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017882108>
- Shin, Y., Chang, Y.-C., Lee, D. S. W., Berry, J., Sanders, D. W., Ronceray, P., Wingreen, N. S., Haataja, M., & Brangwynne, C. P. (2018). Liquid Nuclear Condensates Mechanically Sense and Restructure the Genome. *Cell*, *175*(6), 1481–1491.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.057>
- Schramm, F., Larkindale, J., Kiehlmann, E., Ganguli, A., Englich, G., Vierling, E., & Von Koskull-Döring, P. (2008). A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of Arabidopsis. *The Plant Journal*, *53*(2), 264–274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03334.x>
- Slotkin, R. K., & Martienssen, R. (2007). Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics*, *8*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/nrg2072>
- Stroud, H., Do, T., Du, J., Zhong, X., Feng, S., Johnson, L., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2014). Non-CG methylation patterns shape the epigenetic landscape in Arabidopsis. *Nature Structural & Molecular Biology*, *21*(1), 64–72. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2735>
- Stroud, H., Otero, S., Desvoyes, B., Ramírez-Parra, E., Jacobsen, S. E., & Gutierrez, C. (2012). Genome-wide analysis of histone H3.1 and H3.3 variants in Arabidopsis thaliana. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(14), 5370–5375. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203145109>
- Sura, W., Kabza, M., Karlowski, W. M., Bieluszewski, T., Kus-Slowinska, M., Pawelozsek, Ł., Sadowski, J., & Ziolkowski, P. A. (2017). Dual Role of the Histone Variant H2A.Z in Transcriptional Regulation of Stress-Response Genes. *The Plant Cell*, *29*(4), 791–807. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00573>
- Suzuki, M., Wang, H. H.-Y., & McCarty, D. R. (2007). Repression of the LEAFY COTYLEDON 1/B3 Regulatory Network in Plant Embryo Development by VP1/ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3-LIKE B3 Genes. *Plant Physiology*, *143*(2), 902–911. <https://doi.org/10.1104/pp.106.092320>
- Tagami, H., Ray-Gallet, D., Almouzni, G., & Nakatani, Y. (2004). Histone H3.1 and H3.3 Complexes Mediate Nucleosome Assembly Pathways Dependent or Independent of DNA Synthesis. *Cell*, *116*(1), 51–61. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)01064-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)01064-X)
- Tang, K., Lang, Z., Zhang, H., & Zhu, J.-K. (2016). The DNA demethylase ROS1 targets genomic regions with distinct chromatin modifications. *Nature plants*, *2*(11), 16169. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.169>
- Thorstensen, T., Fischer, A., Sandvik, S. V., Johnsen, S. S., Grini, P. E., Reuter, G., & Aalen, R. B. (2006). The Arabidopsis SUV4 protein is a nucleolar histone methyltransferase with preference for monomethylated H3K9. *Nucleic Acids Research*, *34*(19), 5461–5470. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl687>
- Tsukada, Y., Fang, J., Erdjument-Bromage, H., Warren, M. E., Borchers, C. H., Tempst, P., & Zhang, Y. (2006). Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature*, *439*(7078), 811–816. <https://doi.org/10.1038/nature04433>
- Turck, F., Roudier, F., Farrona, S., Martin-Magniette, M.-L., Guillaume, E., Buisine, N., Gagnot, S., Martienssen, R. A., Coupland, G., & Colot, V. (2007). Arabidopsis TFL2/LHP1 Specifically Associates with Genes Marked by Trimethylation of Histone H3 Lysine 27. *PLOS Genetics*, *3*(6), e86. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030086>

- Vaughan, R. M., Rothbart, S. B., & Dickson, B. M. (2019). The finger loop of the SRA domain in the E3 ligase UHRF1 is a regulator of ubiquitin targeting and is required for the maintenance of DNA methylation. *Journal of Biological Chemistry*, *294*(43), 15724–15732. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010160>
- Weiseth, S. V., Rahman, M. A., Yap, K. L., Fischer, A., Egge-Jacobsen, W., Reuter, G., Zhou, M.-M., Aalen, R. B., & Thorstensen, T. (2011). The SUV420H1 Histone Lysine Methyltransferase Binds Ubiquitin and Converts H3K9me1 to H3K9me3 on Transposon Chromatin in Arabidopsis. *PLoS Genetics*, *7*(3), e1001325. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001325>
- Venios, X., Gkizi, D., Nisiotou, A., Korkas, E., Tjamos, S. E., Zamioudis, C., & Banilas, G. (2024). Emerging Roles of Epigenetics in Grapevine and Winegrowing. *Plants*, *13*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/plants13040515>
- Wade, P. A. (2001). Methyl CpG-binding proteins and transcriptional repression*. *BioEssays*, *23*(12), 1131–1137. <https://doi.org/10.1002/bies.10008>
- Wang, C., Dong, X., Jin, D., Zhao, Y., Xie, S., Li, X., He, X., Lang, Z., Lai, J., Zhu, J.-K., & Gong, Z. (2015). Methyl-CpG-Binding Domain Protein MBD7 Is Required for Active DNA Demethylation in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *167*(3), 905–914. <https://doi.org/10.1104/pp.114.252106>
- Wang, J., Nan, N., Li, N., Liu, Y., Wang, T.-J., Hwang, I., Liu, B., & Xu, Z.-Y. (2020). A DNA Methylation Reader–Chaperone Regulator–Transcription Factor Complex Activates OsHKT1;5 Expression during Salinity Stress. *The Plant Cell*, *32*(11), 3535–3558. <https://doi.org/10.1105/tpc.20.00301>
- Wang, L., Ding, Y., He, L., Zhang, G., Zhu, J.-K., & Lozano-Duran, R. (2020). A virus-encoded protein suppresses methylation of the viral genome through its interaction with AGO4 in the Cajal body. *eLife*, *9*, e55542. <https://doi.org/10.7554/eLife.55542>
- Wang, S., Wang, M., Ichino, L., Boone, B. A., Zhong, Z., Papareddy, R. K., Lin, E. K., Yun, J., Feng, S., & Jacobsen, S. E. (2024). MBD2 couples DNA methylation to transposable element silencing during male gametogenesis. *Nature Plants*, *10*(1), 13–24. <https://doi.org/10.1038/s41477-023-01599-3>
- Wierzbicki, A. T., Ream, T. S., Haag, J. R., & Pikaard, C. S. (2009). RNA polymerase V transcription guides ARGONAUTE4 to chromatin. *Nature Genetics*, *41*(5), 630–634. <https://doi.org/10.1038/ng.365>
- Williams, B. P., Pignatta, D., Henikoff, S., & Gehring, M. (2015). Methylation-Sensitive Expression of a DNA Demethylase Gene Serves As an Epigenetic Rheostat. *PLoS Genetics*, *11*(3), e1005142. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005142>
- Woo, H. R., Dittmer, T. A., & Richards, E. J. (2008). Three SRA-Domain Methylcytosine-Binding Proteins Cooperate to Maintain Global CpG Methylation and Epigenetic Silencing in Arabidopsis. *PLoS Genetics*, *4*(8), e1000156. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000156>
- Woo, H. R., Pontes, O., Pikaard, C. S., & Richards, E. J. (2007). VIM1, a methylcytosine-binding protein required for centromeric heterochromatinization. *Genes & Development*, *21*(3), 267–277. <https://doi.org/10.1101/gad.1512007>
- Wu, L., Zhou, H., Zhang, Q., Zhang, J., Ni, F., Liu, C., & Qi, Y. (2010). DNA Methylation Mediated by a MicroRNA Pathway. *Molecular Cell*, *38*(3), 465–475. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.03.008>
- Xiao, J., Jin, R., Yu, X., Shen, M., Wagner, J. D., Pai, A., Song, C., Zhuang, M., Klasfeld, S., He, C., Santos, A. M., Helliwell, C., Pruneda-Paz, J. L., Kay, S. A., Lin, X., Cui, S., Garcia, M. F., Clarenz, O., Goodrich, J., ... Wagner, D. (2017). Cis and trans determinants of epigenetic silencing by Polycomb repressive complex 2 in Arabidopsis. *Nature Genetics*, *49*(10), 1546–1552. <https://doi.org/10.1038/ng.3937>

- Xiao, X., Zhang, J., Li, T., Fu, X., Satheesh, V., Niu, Q., Lang, Z., Zhu, J.-K., & Lei, M. (2019). A group of SUVH methyl-DNA binding proteins regulate expression of the DNA demethylase ROS1 in Arabidopsis. *Journal of Integrative Plant Biology*, *61*(2), 110–119. <https://doi.org/10.1111/jipb.12768>
- Xie, Z., Johansen, L. K., Gustafson, A. M., Kasschau, K. D., Lellis, A. D., Zilberman, D., Jacobsen, S. E., & Carrington, J. C. (2004). Genetic and Functional Diversification of Small RNA Pathways in Plants. *PLoS Biology*, *2*(5), e104. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020104>
- Xu, L., & Shen, W.-H. (2008). Polycomb Silencing of *KNOX* Genes Confines Shoot Stem Cell Niches in Arabidopsis. *Current Biology*, *18*(24), 1966–1971. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.11.019>
- Xu, Y., Prunet, N., Gan, E., Wang, Y., Stewart, D., Wellmer, F., Huang, J., Yamaguchi, N., Tatsumi, Y., Kojima, M., Kiba, T., Sakakibara, H., Jack, T. P., Meyerowitz, E. M., & Ito, T. (2018). SUPERMAN regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis. *The EMBO Journal*, *37*(11), e97499. <https://doi.org/10.15252/embj.201797499>
- Yan, W., Chen, D., Smaczniak, C., Engelhorn, J., Liu, H., Yang, W., Graf, A., Carles, C. C., Zhou, D.-X., & Kaufmann, K. (2018). Dynamic and spatial restriction of Polycomb activity by plant histone demethylases. *Nature Plants*, *4*(9), 681–689. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0219-5>
- YANO, A., KODAMA, Y., KOIKE, A., SHINYA, T., KIM, H.-J., MATSUMOTO, M., OGITA, S., WADA, Y., OHAD, N., & SANO, H. (2006). Interaction Between Methyl CpG-Binding Protein and Ran GTPase during Cell Division in Tobacco Cultured Cells. *Annals of Botany*, *98*(6), 1179–1187. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl211>
- Yelagandula, R., Stroud, H., Holec, S., Zhou, K., Feng, S., Zhong, X., Muthurajan, U. M., Nie, X., Kawashima, T., Groth, M., Luger, K., Jacobsen, S. E., & Berger, F. (2014). The Histone Variant H2A.W Defines Heterochromatin and Promotes Chromatin Condensation in Arabidopsis. *Cell*, *158*(1), 98–109. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.006>
- Yoshida, N., Yanai, Y., Chen, L., Kato, Y., Hiratsuka, J., Miwa, T., Sung, Z. R., & Takahashi, S. (2001). EMBRYONIC FLOWER2, a Novel Polycomb Group Protein Homolog, Mediates Shoot Development and Flowering in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *13*(11), 2471–2481. <https://doi.org/10.1105/tpc.010227>
- Yoshida, T., Ohama, N., Nakajima, J., Kidokoro, S., Mizoi, J., Nakashima, K., Maruyama, K., Kim, J.-M., Seki, M., Todaka, D., Osakabe, Y., Sakuma, Y., Schöffl, F., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2011). Arabidopsis HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression. *Molecular Genetics and Genomics*, *286*(5), 321–332. <https://doi.org/10.1007/s00438-011-0647-7>
- Yu, A., Lepère, G., Jay, F., Wang, J., Bapaume, L., Wang, Y., Abraham, A.-L., Penterman, J., Fischer, R. L., Voinnet, O., & Navarro, L. (2013). Dynamics and biological relevance of DNA demethylation in Arabidopsis antibacterial defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(6), 2389–2394. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211757110>
- Yu, C.-W., Tai, R., Wang, S.-C., Yang, P., Luo, M., Yang, S., Cheng, K., Wang, W.-C., Cheng, Y.-S., & Wu, K. (2017). HISTONE DEACETYLASE6 Acts in Concert with Histone Methyltransferases SUVH4, SUVH5, and SUVH6 to Regulate Transposon Silencing. *The Plant Cell*, *29*(8), 1970–1983. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00570>
- Yu, Y., Zhang, Y., Chen, X., & Chen, Y. (2019). Plant Noncoding RNAs: Hidden Players in Development and Stress Responses. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *35*, 407–431. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125218>
- Zemach, A., & Graf, G. (2003). Characterization of Arabidopsis thaliana methyl-CpG-binding domain (MBD) proteins. *The Plant Journal*, *34*(5), 565–572. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01756.x>

- Zemach, A., Kim, M. Y., Hsieh, P.-H., Coleman-Derr, D., Eshed-Williams, L., Thao, K., Harmer, S. L., & Zilberman, D. (2013). The Arabidopsis Nucleosome Remodeler DDM1 Allows DNA Methyltransferases to Access H1-Containing Heterochromatin. *Cell*, *153*(1), 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.033>
- Zemach, A., Li, Y., Wayburn, B., Ben-Meir, H., Kiss, V., Avivi, Y., Kalchenko, V., Jacobsen, S. E., & Grafi, G. (2005). DDM1 Binds Arabidopsis Methyl-CpG Binding Domain Proteins and Affects Their Subnuclear Localization. *The Plant Cell*, *17*(5), 1549–1558. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.031567>
- Zhang, H., Deng, X., Miki, D., Cutler, S., La, H., Hou, Y.-J., Oh, J., & Zhu, J.-K. (2012). Sulfamethazine Suppresses Epigenetic Silencing in Arabidopsis by Impairing Folate Synthesis. *The Plant Cell*, *24*(3), 1230–1241. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.096149>
- Zhang, H., Lang, Z., & Zhu, J.-K. (2018). Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *19*(8), Article 8. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0016-z>
- Zhang, X., Germann, S., Blus, B. J., Khorasanizadeh, S., Gaudin, V., & Jacobsen, S. E. (2007). The Arabidopsis LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation. *Nature Structural & Molecular Biology*, *14*(9), 869–871. <https://doi.org/10.1038/nsmb1283>
- Zhao, F., Zhang, H., Zhao, T., Li, Z., & Jiang, D. (2021). The histone variant H3.3 promotes the active chromatin state to repress flowering in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *186*(4), 2051–2063. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab224>
- Zhao, Q.-Q., Lin, R.-N., Li, L., Chen, S., & He, X.-J. (2019). A methylated-DNA-binding complex required for plant development mediates transcriptional activation of promoter methylated genes. *Journal of Integrative Plant Biology*, *61*(2), 120–139. <https://doi.org/10.1111/jipb.12767>
- Zhao, S., Cheng, L., Gao, Y., Zhang, B., Zheng, X., Wang, L., Li, P., Sun, Q., & Li, H. (2019). Plant HP1 protein ADCP1 links multivalent H3K9 methylation readout to heterochromatin formation. *Cell Research*, *29*(1), 54–66. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0104-9>
- Zheng, B., Wang, Z., Li, S., Yu, B., Liu, J.-Y., & Chen, X. (2009). Intergenic transcription by RNA Polymerase II coordinates Pol IV and Pol V in siRNA-directed transcriptional gene silencing in Arabidopsis. *Genes & Development*, *23*(24), 2850–2860. <https://doi.org/10.1101/gad.1868009>
- Zheng, S., Hu, H., Ren, H., Yang, Z., Qiu, Q., Qi, W., Liu, X., Chen, X., Cui, X., Li, S., Zhou, B., Sun, D., Cao, X., & Du, J. (2019). The Arabidopsis H3K27me3 demethylase JUMONJI 13 is a temperature and photoperiod dependent flowering repressor. *Nature Communications*, *10*(1), 1303. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09310-x>
- Zhong, X., Du, J., Hale, C. J., Gallego-Bartolome, J., Feng, S., Vashisht, A. A., Chory, J., Wohlschlegel, J. A., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2014). Molecular Mechanism of Action of Plant DRM De Novo DNA Methyltransferases. *Cell*, *157*(5), 1050–1060. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.056>
- Zhou, J., Lei, X., Shafiq, S., Zhang, W., Li, Q., Li, K., Zhu, J., Dong, Z., He, X., & Sun, Q. (2023). DDM1-mediated R-loop resolution and H2A.Z exclusion facilitates heterochromatin formation in Arabidopsis. *Science Advances*, *9*(32), eadg2699. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adg2699>
- Zhou, Y., Wang, Y., Krause, K., Yang, T., Dongus, J. A., Zhang, Y., & Turck, F. (2018). Telobox motifs recruit CLF/SWN-PRC2 for H3K27me3 deposition via TRB factors in Arabidopsis. *Nature Genetics*, *50*(5), 638–644. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0109-9>
- Zhu, P., Lister, C., & Dean, C. (2021). Cold-induced Arabidopsis FRIGIDA nuclear condensates for FLC repression. *Nature*, *599*(7886), 657–661. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04062-5>

Zilberman, D., Coleman-Derr, D., Ballinger, T., & Henikoff, S. (2008). Histone H2A.Z and DNA methylation are mutually antagonistic chromatin marks. *Nature*, *456*(7218), 125–129.
<https://doi.org/10.1038/nature07324>