

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**  
**Szent István Campus**



**Képesítőfordítás**

**Hallgató: Gorcsa Teréz**

**Szakfordító. A felvétel alapjául szolgáló diplomához kötődő szakfordító  
szakirányú továbbképzés nappali tagozata**

**Vidékfejlesztés és Fenntartható Gazdaság Intézet**

**Idegen Nyelvi Tanszék**

**Gödöllő**

**2023**

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**  
**Szent István Campus**

CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis  
CRISPR–Cas-közvetített transzkripciós kontroll és epimutagenézis

Képesítőfordítás

**Belső konzulens:** Dr. Veresné Dr. Valentinyi Klára

beosztása: tanszékvezető, egyetemi docens

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Vidékfejlesztés és Fenntartható  
Gazdaság Intézet, Idegen Nyelvi Tanszék

**Külső konzulens:** Dr. Gyula Péter

beosztása: tudományos főmunkatárs

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetikai és Biotechnológiai  
Intézet, Növénybiotechnológia Tanszék

**Hallgató:** Gorcsa Teréz

NEPTUN-kód: SQD4JZ

**Képzés:** Szakfordító. A felvétel alapjául szolgáló diplomához kötődő  
szakfordító szakirányú továbbképzés nappali tagozata

Vidékfejlesztés és Fenntartható Gazdaság Intézet

Idegen Nyelvi Tanszék

Gödöllő

2023.

## Nyilatkozat

Alulírott Gorcsa Teréz nyilatkozom arról, hogy a képesítőfordítás oktatási és kutatási célokra felhasználható.

Kelt: Budapest, 2023. 11. 12.



Aláírás

**Nyilatkozat a szerzői engedélyről a szöveg oktatási és a kutatási célú felhasználásához**

A fordítás alapjául szolgáló cikk teljes terjedelmében szabadon felhasználható a forrás mindenkori megnevezésével.

**A cikk hivatkozása és elérhetősége:**

Jason Gardiner, Basudev Ghoshal, Ming Wang, Steven E Jacobsen, CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis, *Plant Physiology*, Volume 188, Issue 4, April 2022, Pages 1811–1824,

<https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033>

## Tartalomjegyzék

1. Fordítói elemzés .....	6
1.1. A szöveg fontosabb adatai .....	6
1.2. Kommunikációs szint jellemzői .....	7
1.2.1. Fordítási utasítás .....	7
1.2.2. A szerzők .....	7
1.2.3. A célközönség .....	7
1.3. A szöveg .....	8
1.3.1. Tartalom .....	8
1.3.2. A téma jelentősége .....	8
1.3.3. A szöveg típusa .....	9
1.3.4. A szöveg műfaja .....	10
1.3.5. A szöveg nyelvezete .....	10
1.3.6. Grammatikai szint .....	12
1.3.7. Lexikai szint .....	17
1.4. Terminológia, reáliák .....	19
1.5. A gépi fordítás minimális és teljes utószerkesztésének tanulságai .....	19
2. Terminológiagyűjtemény .....	21
3. Terminológia kezelésének és fordításának dokumentálása .....	23
4. A forrásnyelvi szöveg .....	28
5. A célnyelvi szöveg .....	43
6. A forrásnyelvi szöveg és célnyelvi szöveg szegmensenként .....	51
7. Gépi fordítás minimális és teljes utószerkesztéssel .....	73
8. Felhasznált források .....	83
Nyilatkozatok .....	85

# 1. Fordítói elemzés

## A fejezetben használt rövidítések

CNY – célnyelvi szöveg

FNY – forrásnyelvi szöveg

szg. – szegmens, a 6. fejezetben található szegmens számokra hivatkozik

## 1.1. A szöveg fontosabb adatai

### Eredeti cím

CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis

### Célnyelvi cím

CRISPR–Cas-közvetített transzkripció kontroll és epimutagenézis

### Szerzők

Jason Gardiner, Basudev Ghoshal, Ming Wang and Steven E. Jacobsen

### Az eredeti megjelenés helye és ideje

Plant Physiology, 188. kötet, 4. szám, 2022. április, 1811–1824. oldal

Publikálva: 2022. február 3.

### Témája

A cikk a génkifejeződés szabályozására használt rendszerek legfrissebb vívmányait gyűjti össze és tárgyalja.

## **1.2. Kommunikációs szint jellemzői**

### **1.2.1. Fordítási utasítás**

#### **A fordítás célja**

A Szakfordítói képzés lezárásához szükséges képesítőfordítás elkészítése.

#### **A fordítás határideje**

2023. november 13.

#### **A fordítás megjelentetése**

A fordítás előre láthatólag nem kerül megjelentetésre.

### **1.2.2. A szerzők**

#### **Írói szándék, retorikai cél**

A cél az ismeretközlés, illetve a témában megjelent publikációk olyan jellegű feldolgozása és összefoglalása, ami az olvasó számára egy átlátható, teljes körű leírást biztosít a témában.

#### **Írói attitűd**

Az írók objektíven mutatják be a génkifejeződés befolyásolására használt módszereket és a területen elért legfontosabb eredményeket. A szöveg olvasása során kiderül, hogy támogatják és szorgalmazzák ezeknek a módszereknek a használatát és fontosnak tartják a további fejlesztésüket.

### **1.2.3. A célközönség**

#### **Háttérismeret, szakmai tudás**

A célközönség olyan szakemberek és kutatók, akik mélyebb ismeretekkel rendelkeznek a biológia, és azon belül a molekuláris biológia és genetika területén.

#### **Elvárásai, célja, szándéka, a fordítás funkciója**

Az olvasó szándéka az ismeretszerzés és egy átfogó tudás szerzése a témában. Elvárhatja, hogy megismerje a közelmúltban és jelenleg a területen folyó különböző kutatásokat és elért

eredményeket. Ez hozzájárulhat az adott olvasó saját kutatásainak továbbviteléhez vagy új ötletek és technológiák kidolgozásához.

### **1.3. A szöveg**

#### **1.3.1. Tartalom**

A cikk a gé módosításra és epimutációk létrehozására használt szekvencia-specifikus DNS-kötésen alapuló eszközök legfontosabb előrelépéseit foglalja össze. A növényekben legjelentősebb epigenetikai módosítások leírása után részletesen bemutatja a különböző célzó-rendszerek, mint a kis RNS-alapú, a transzkripció aktivátor-szerű effektorok (TALE) alapú, a cink-ujj alapú és az egymástól egyenlő távolságra levő rövid palindromikus ismétlődéseken (angolul Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, röviden CRISPR), és a velük kapcsolt Cas enzimen (CRISPR-Cas) alapuló rendszereket. Megemlíti, hogy a legújabb kutatások fő fókuszja a CRISPR-Cas rendszer, annak könnyű használhatósága és relatív olcsósága miatt. Ennek legújabb irányzata a katalitikusan inaktív Cas-fehérjét (dCas) használó változatai, amelyek a DNS megváltoztatása nélkül képesek génexpresszió változást okozni gének feletti, ún. epigenetikai módosítások célzott kialakításával. Beszél az ilyen rendszerekben használt effektor doménekről és azok lehetséges kombinációjáról.

#### **1.3.2. A téma jelentősége**

##### **Szakterület**

A publikáció a természettudományok, azon belül a biológia egy specifikus területével, a növényi molekuláris biológiával és genetikával foglalkozik.

##### **Téma jelentősége, újszerűsége**

A cikkben összefoglalt génmódosítási eljárások jelentősége egyre nő, mivel segítségükkel a növények és állatok belső, molekuláris szintű működését tudjuk vizsgálni. A megismerés pedig új technológiák kifejlesztéséhez vezethet, legyen szó akár ellenállóbb növények vagy humán genetikai betegségek terápiájának kifejlesztéséről. Ez fontos a változó klíma és az emberiség fejlődése szempontjából. Génmódosítás már a 80-as évek óta létezik, általános megítélése azonban még a mai napig nagyon vitatott. A génkifejeződés módosítása a DNS és a gének



megváltoztatása nélkül, csupán epigenetikai jelek használatával talán ezen a problémán is képes enyhíteni. A téma erősen kutatott és az utóbbi két évtizedben rengeteget fejlődött, ami a mai napig nem állt meg. Ezt a szöveg terjedelméhez képest igen magas számú, több mint 170 darab hivatkozás is alátámasztja.

### **Formai és szakmai megállapítások**

A szöveg formailag kettő hasábra osztott, a cikk elején található főcím és Összefoglaló fejezet kivételével. Az Összefoglaló a cikk témáját írja le röviden. A Bevezetés a téma teljes kifejtése és számos alfejezetet tartalmaz. Ezt a Konklúzió követi, ami a téma fontosságát tárgyalja, majd a Köszönetnyilvánítás és a Pénzügyi források megjelölése fejezetek. Utóbbi három fejezetet a fordítás nem tartalmazza a képesítő fordítás karakter korlátai miatt. Az utolsó, Referenciák fejezet tartalmazza az összes hivatkozást, az első szerző vezetékneve szerinti abc sorrendbe rendezve. A hivatkozások száma kiemelten magas. Két ábra, egy táblázat és egy különálló szövegdoz található a szövegben, változó elosztásban.

### **Egyéb megállapítások**

A szöveg szerkesztése során a legtöbb problémát az okozta, hogy megtartsam az egyoldalra, illetve egy hasábra eső szakaszokat. Számos helyen módosítani kellett a betűméretet és sorközt, de csak olyan mértékben, hogy a különbségek a szemnek ne zavarják és esztétikailag ne csúnyítsák el a szöveg képét. A hasárok felosztása miatt sok helyen sortörést is kellett alkalmaznom. A fordítás, a terminológia gyűjtemény és a fordított szöveg elkészítéséhez a memoQ fordítás segítő programot használtam.

#### **1.3.3. A szöveg típusa**

A szöveg tartalomközpontú, de szakmaisága ellenére a nyelvezet nem olyan erősen kötött, így a fordítás során volt némi fordítói szabadság. Többször éltem szinonímák használatával, körülírással és mondatok felbontásával is. A szövegben a terminusokon kívül a gének neveinek fordítása volt kötött. A tudományos kommunikációban megszokott, hogy a gének neveit csupa nagybetűvel írjuk ki és zárójelben megadjuk a rövidítést, amivel ez után hivatkozunk rá a szövegben. A gének neveit általában nem szokás fordítani, így ezek fordítása során meghagytam az angol nevet és rövidítést. Ezt azért is éreztem logikus döntésnek, mert ha valaki tovább szeretne kutatni a témában, a gének esetében csupán az angol nevek lesznek a

segítségére a keresésben. A fentiekre a 1.3.6 Grammatikai szint és 1.3.7 Lexikai szint fejezetekben találhatóak példák.

#### **1.3.4. A szöveg műfaja**

Akadémiai szöveg, tudományos publikáció

#### **1.3.5. A szöveg nyelvezete**

Sokszor nehezen érthető, többszörösen is összetett mondatokat tartalmaz, nagy mennyiségű információval, mint például:

##### **258.szg.**

FNY: „Further, in animal cells, when VP64 and TET1 were cotargeted to the same locus they worked synergistically to upregulate gene expression causing a greater fold change increase in expression than targeting either factor alone, suggesting that manipulating the epigenetic landscape to be more amenable to activation is synergistic with targeting activator domains.”

Sok kötőszói határozószót használ, mint a: *however; therefore, moreover; thus, otherwise, further.*

Az írók sokat használják a 'target' szót különböző alakokban és több jelentésében is. Mint adott célhely meghatározása, melléknévi igenévként (*targeting tools, targeted manipulation*), illetve két ellentétes kontextusban is. Ez utóbbi két jelentése lehetett, hogy 'valamit célzunk valamivel', például, „CRISPR–Cas systems can be used to target specific regions of a genome.”; illetve hogy 'valamivel becélzunk valamit', például: „...targeting effector domains to specific regions of a genome.”. Ez a célnyelvi szöveg értelmezésekor sokszor nehézséget okozott, illetve a fordítás során nem mindig lehetett használni a 'célzás, célzása' szót, különösen az utóbbi esetben. Ilyen helyzetekben olyan szóval helyettesítettem, ami mondat szinten a jelentést nem befolyásolta, például:

### 33. szg.

FNY: „CRISPR-dCas systems can be used to repress genes by targeting of modular repression domains, DNA methylation, or CRISPRi.”

CNY: „A CRISPR-dCas rendszerek használhatóak a génműködés gátlására moduláris represszor domének, DNS-metiláció vagy CRISPRi alkalmazásával.”

Mivel a szó erősen túl volt használva a szövegben, jelentéstől függetlenül esetenként kihagyást is alkalmaztam, ha az lehetséges volt. Például:

### 26. sz.

FNY: „While the recruitment of basal transcription machinery requires the presence of the targeting construct, changes in DNA methylation can in some cases be mitotically and meiotically inherited allowing for this **targeted** epi-mutagenesis to be maintained in the following generations in the absence of the targeting construct.”

CNY: „Míg a bazális transzkripció gépezet odavonzása megköveteli egy célzó-konstrukció jelenlétét, addig a DNS-metilációban bekövetkező változások alkalmanként mitotikusan és meiotikusan öröklődhetnek, így lehetővé téve, hogy az epimutáció a létrehozó konstrukció hiányában is fennmaradjon az elkövetkezendő generációkban.”

### A szöveg expresszív-stilisztikai jegyei, retorikai célja, kifejezőmódja

A szöveg leíró jellegű, stilisztikailag nem színezett. Kapcsoló és utaló elemeken kívül nem tartalmaz stilisztikai eszközöket. A retorikai cél az ismeretközlés, de erős szakmai háttérismerettel rendelkező olvasót feltételez. A kifejezőmód szintén erősen szakmai, sok, a köznyelvben nem használatos szót (terminus) használ, illetve olyan kifejezéseket amelyeknek köznyelvben eltér a jelentése, mint például a '*genetic landscape*'.

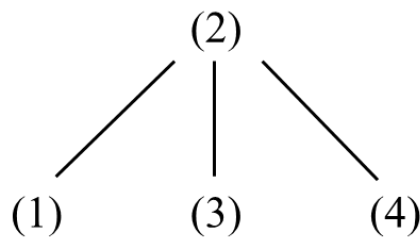
### 1.3.6. Grammatikai szint

#### 1.3.6.1. Grammatikai regiszter, stílus

A szöveg túlnyomóan összetett és többszörösen összetett, kijelentő mondatokból áll, amik jellemzően alárendelőek. Ettől csak a képaláírások és szövegdoboz térnek el, azok stílusa egyszerűbb, lényegretörőbb és egyszerű mondatokból állnak. Egy jellegzetes többszörösen összetett mondat például:

#### 242. szg.

FNY: „(1)While no proteins homologous to the TET family have been described in plants, (2)ectopic expression of TET proteins, (3)targeted or otherwise, (2)in plants causes a loss of DNA methylation, (4)suggesting the existence of a similar passive or active mechanism for the removal of oxidized DNA methyl groups in plants”



Szerkezetileg jó, a fejezetek logikusan követik egymást a bővebbtől a szűkebb megközelítés irányába. A bevezetett rövidítéseket konzisztensen használja, ahogy az a tudományos kommunikációra általában jellemző.

**A jellemző igeidők** a jelen és a múlt, jövő idő használata nem gyakori. Ez valószínűleg a forrásszöveg típusának köszönhető, ugyanis az ilyen jellegű összefoglaló cikkek a már meglévő tudást gyűjtik össze és dolgozzák fel, és nem feltétlenül tekintenek ki a téma jövőjébe.

Az leggyakoribb használt igeidők a következők, példákkal:

## **Egyszerű jelen**

### **218. szg.**

„However, unlike SunTag or direct fusions to dCas9, the MS2 system recruits effector proteins via interactions with a modified gRNA.”

## **Befejezett jelen**

### **30. szg.**

„Recent advancements in DNA targeting systems have largely focused on the development of CRISPR–dCas systems to include peptide tails and RNA binding proteins.”

### **197. szg.**

„However, recent advancements in the development of CRISPR–Cas systems have created systems that do not require this PAM motif.”

## **Egyszerű múlt**

### **202. szg.**

„The SunTag system was originally developed in animals to recruit multiple copies of GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) to a single locus allowing for the visualization of the target.”

Mint ahogy a fenti példákön is látszik, gyakori a **passzív szerkezetek** használata. Erre néhány további példa:

### **212. szg.**

„The influence of genomic context was also implied in plants.”

### **214. szg**

„This was most likely due to the targeted region being flanked by genomic regions lacking CG sites limiting the span of DNA methylation targeted by both tools”

**249. szg.**

„However, a consistent trend seen in the development of these tools is that the ones that are capable of targeting multiple activator domains to a single locus have consistently been shown to perform better than those targeting a single domain.”

**105. szg.**

„In plants, DNA methylation is actively removed by the DEMETER (DME) family of bifunctional glycosylase/lyases consisting of DME and DME -LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2, and DML3.”

**Fordítói megjegyzés:** A fenti utolsó példa a rövidítések bevezetési módját és használatát is jól reprezentálja.

**Módbeli segédigék** közül leginkább a '*can*' fordul elő, például:

**190. szg.**

„CRISPR–Cas systems **can** be used to target specific regions of a genome.”

**208. szg.**

„Recruiting multiple copies of an effector protein using the SunTag system raises the possibility that these systems **can** have a larger targeted epigenetic footprint than...”

Sok **kötőszói határozószót** használ, például:

**197. szg.**

„**However**, recent advancements in the development of CRISPR–Cas systems...”

**215. szg.**

„**Thus**, further research is required to directly assess the factors.”

**253. szg.**

„**Further**, systems that allow the co-targeting of different activator domains can...”

### 1.3.6.2. Jellemző grammatikai átváltási műveletek, példákkal

#### Igeidő váltás

Befejezett jelenből múltidő, például:

##### 250. szg.

FNY: „...using multiple different activator domains to synergistically activate gene expression **has been** an immensely successful strategy.”

CNY: „...több különböző aktivátor domén használata a génkifejeződés együttes hatású aktiválására rendkívül sikeres stratégiának **bizonyult.**”

#### Igésítés

Főnévi és határozói igenévi szerkezetek grammatikai felemelése, például:

##### 18. szg.

FNY: „While **there are** several platforms **to choose** from...”

CNY: „Bár számos platform közül **választhatunk...**”

##### 36. szg.

FNY: „As **we continue to develop** targeting systems...”

CNY: „...hozzáadásával **továbbfejlesztjük...**”

##### 255. szg.

FNY: „**has been shown to be inferior**”

CNY: „rosszabbnak **bizonyultak**”

#### Szófajváltás

##### 20. szg.

FNY: „...and combining effector domains and targeting strategies to **create synergies** that increase the functionality or efficiency of the system.”

CNY: „...és az effektor domének és célzó stratégiák kombinációjával **szinergikusan** növelve a rendszer funkcionalitását vagy hatékonyságát.”

## Összevonás

### 259. szg.

FNY: „In plants, targeting multiple VP64 activator modules to the FWA promoter **using the SunTag targeting system** also resulted in the loss of DNA methylation...”

CNY: „Növényekben az FWA-promóter célzása több VP64-aktivátor modullal SunTag **célzórendszerben** DNS metiláció-vesztést is eredményezett...”

## Kihagyás

### 214. szg.

FNY: „This was **most likely** due to...”

CNY: „Ez **valószínűleg** annak volt köszönhető, hogy...”

## Áthelyezés

### 24. szg.

FNY: „**Due** to its ease of use...”

CNY: „Könnyű használhatóságuk **miatt**...”

Sokszor kellett alkalmaznom áthelyezést a két nyelv közti fókuszpozíció eltérések miatt (SVO->SOV), például:

### 47. szg.

FNY: „Chromatin state **can be altered** by chromatin remodeling complexes (CRCs), histone modifications, histone variants, and DNA methylation...”

CNY: „A kromatin állapota kromatin átrendező (remodelling) komplexekkel (CRC), hiszton módosításokkal, hiszton változatokkal és DNS metilációval **változtatható meg**...”

## Egyes–többes szám cseréje:

### 213 szg.

FNY: „...identical targeted DNA methylation **footprints** were observed at the FWA gene...”

CNY: „...megegyező DNS metilációs **lenyomat** keletkezett az FWA génen...”



Néhány további példa grammatikai átváltásokra:

### 36. szg.

FNY: „As **we continue to develop** targeting systems through the addition of different modular catalytic domains (effector domains) capable of manipulating specific epigenetic marks, the function and heritability of these marks can be more easily explored.”

CNY: „Ahogy különböző, specifikus epigenetikai jelek módosítására képes moduláris katalitikus domének (effektor domének) hozzáadásával **továbbfejlesztjük** a célzórendszereket, ezeknek a jeleknek a funkciója és örökölhetősége könnyebben vizsgálható.”

## 1.3.7. Lexikai szint

### 1.3.7.1. Lexikai regiszter, stílus:

A szövegben szófordulatok, frazeológiák, idiomatikus kifejezéseket és reáliák használata nem jellemző. Erre kivétele a bevezető rész, ahol megjelenik néhány szófordulat (*ease of use, wave of development*). A szóhasználat leginkább az általános és szakmai szókincsre korlátozódik.

A **terminus sűrűség** igen magas, a legtöbb mondatban szerepel egy vagy több terminus.

#### **kulcsszavak (fogalmi háló):**

FNY: *epi-mutagenesis, targeting systems, dCas, co-targeting, effector domain*

CNY: epimutagenézis, célzórendszerek, dCas, effektor domén

**Megj.:** célnyelven a 'co-targeting', mint kulcsszó kiesett, mert fordítása nem egy kifejezéssel történt, hanem különféle körülírásokkal.

#### **A szakterületből és témából adódó lexikai nehézségek:**

A szakma nemzetközi nyelve az angol és a legtöbb publikáció is angol nyelven jelenik meg, így egyes, főleg az újabb terminusok használata magyar nyelven kiforratlan vagy nem is létezik. A kialakult terminusok jó része az orvosi területekhez hasonlóan latin eredetű szó, amit a magyar nyelv is sok esetben átvett. Például a 'de novo' teljes mértékben átvett szó, illetve az angol 'effector' magyar megfelelője az 'effektor'.

### **Források és az internetes keresés nehézségei:**

Angol nyelven az online Oxford English Dictionary (oed.com) nagy segítséget nyújtott mind a fogalmak, mint a szavak származásának felkutatásában, hasonló szótár azonban magyar nyelven nem érhető el ezen a szakterületen. Fogalmak, definíciók angol nyelven publikációkban is jól kereshetők online felületeken (pl: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>, <https://scholar.google.com/>), de mivel magyar tudományos folyóiratok molekuláris biológia témában nincsenek, így célnyelven ez a módszer sem volt jól használható. Az általánosabb terminusok (pl. pre-iniciációs komplex) szak- és tankönyvekben, doktori értekezésekben megtalálhatóak, de ezek elérhetősége korlátozott.

#### **1.3.7.2. Jellemző lexikai átváltási műveletek**

Az alábbi példákon keresztül mutatom be a fordítás során legtöbbit használt lexikai átváltási műveleteket.

#### **Jelentések szűkítése, konkretizálás**

##### **196. szg.**

„...number of possible **targets**.”

„...lehetséges **célhelyek** számát.”

#### **Jelentések bővítése, generalizálás**

##### **258. szg.**

FNY: „Further, in animal cells, when VP64 and TET1 **were cotargeted to the same locus** they worked synergistically to upregulate gene expression causing a greater fold change increase in expression than targeting either factor alone, suggesting that manipulating the epigenetic landscape to be more amenable to activation is synergistic with targeting activator domains.”

CNY: „Mikor állati sejtekben a VP64 és a TET1 **ugyanarra a lókuszra irányult**, ezek együttes hatása a génkifejeződés felszabályozásában nagyobb mértékű változást eredményezett, mintha ezeket a faktorokat önmagukban használtuk volna. Ez azt sugallja,

hogya ha az epigenetikai kódot úgy alakítjuk, hogy az aktiválás hozzáférhetőbbé váljon, az a célzó aktivátor doménekkal szinergikus hatást ér el.”

### **Jelentések felbontása**

#### **258. szg.**

FNY: synergistically

CNY: egymás hatását felerősítve

### **Jelentések kihagyása**

Redundancia esetén, például:

#### **258. szg.**

FNY: „...to upregulate gene expression causing a greater fold change increase in **expression** than targeting either factor alone...”

CNY: „...génkifejeződés felszabályozásában nagyobb mértékű változást eredményezett, mintha ezeket a faktorokat önmagukban használtuk volna.”

## **1.4. Terminológia, reáliák**

Lásd 2. Terminológiagyűjtemény fejezet

## **1.5. A gépi fordítás minimális és teljes utószerkesztésének tanulságai**

A gépi fordítás az információ átadásában és a pontos szakmai tartalom szempontjából meglepően jó. A szöveg egy- és többszörösen összetett mondatok alkotják, de az utalások és kötőszavak jelen voltak és megfelelő helyen, így a grammatikai kohézió elfogadható. A szöveg szakmai regisztere is megfelelő, azonban szakkifejezéseket és terminusokat a gép nem tudta konzekvensen fordítani. A gépi fordítással a legnagyobb problémákat a tükörfordítás és a szegmens szintű fordítás okozta. A forrásnyelvi szöveg sok szóismétlést (mondat és szöveg szinten egyaránt) és töltelékszót tartalmaz, ami a magyar nyelvre nem jellemző, ezeket azonban a gép megtartotta.

A tükörfordítás miatt a mondatfókusz a legtöbb esetben a célnyelven nem teljesült, ezért ezt javítani kellett a szórend változtatásával. Bár a tagmondatok általában logikusan követték egymást, a tagmondatokon belül gyakran nem teljesült a tematikus progresszió. A tagmondatok

nagy részénél erős átszerkesztésre volt szükség, hogy a fordítás megfeleljen a magyar nyelv szabályainak. A forrásnyelvben gyakran előfordul a 'target' (cél, célozni) szó különböző jelentésekkel, aminek fordítását a gép sok helyen rosszul kezelte. Ez utóbbi is a tükörfordítás eredménye, azonban célnyelven ez az érthetőséget nagyban rontotta, így több helyen más, a kontextusnak megfelelő szóval helyettesítettem. Néhány esetben a határozott névelő (a, az) hiányozott vagy épp feleslegesen került be határozatlan névelő (egy).

A fentiekből azt a tanulságot vonhatjuk le, hogy ezen a nyelvpáron egy ilyen jellegű szakmai szöveg fordítását tartalmi szempontból a gép meglehetősen jól végzi, azonban nincsenek meg a megfelelő kompetenciái ahhoz, hogy a két nyelv közti lexikai és stílus beli eltéréseket át tudná váltani.

## 2. Terminológiagyűjtemény

A legfontosabb forrásnyelvi terminusok és magyar megfelelőik.

Forrásnyelvi terminus	Célnyelvi terminus
arm	kar
base excision repair	báziskivágó DNS javítási mechanizmus
catalytic	katalitikus
chromatin status	kromatin állapot
Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats	egymástól egyenlő távolságra levő rövid palindromikus ismétlődések
coat protein	köpenyfehérje
core histone	központi hiszton
de novo	de novo
di/tri/methylation	di-, tri-, metiláció
domain	domén
downstream	downstream
effector	effektor
epigenetic mark	epigenetikai jel
epimutagenesis	epimutagenézis
epitope	epitóp
euchromatin	eukromatin
exonuclease	exonukleáz
gene silencing	géncsendesítés
Heterochromatin	heterokromatin
histone tail	hisztonfarok
homolog	homológ
inverted repeat	fordított ismétlődés
Krüppel-like factor 4	Krüppel-szerű 4-es faktor
maintain	karbantart
methyltransferase	metiltranszferáz
nucleosome	nukleoszóma
overexpression	túlexpresszió
post-transcriptional	poszttranszkripció
post-translational modification	poszttranszlációs módosulás
pre-initiation complex	pre-iniciációs komplex
protospacer adjacent motif	célszekvenciával szomszédos motívum

<b>Forrásnyelvi terminus</b>	<b>Célnyelvi terminus</b>
repeat-variable diresidues	ismétlődésenként eltérő aminosavpár
repress	gátol
repression	gátlás
RNA scaffold	RNS vázrendszer
RNA-directed DNA	RNS-függő DNS
silence	csendesít
single chain variable fragment	egyláncú variábilis fragment
single-chain variable fragment	egyláncú variábilis fragment
slice	hasít
stem-loop	hajtű
target promoter	célpromóter
trans-acting	transz-ható
transcription	transzkripció
upstream	upstream
zinc finger	cink-ujj
$\alpha$ -helix	$\alpha$ -hélix
$\beta$ -sheets	$\beta$ -redő

### 3. Terminológia kezelésének és fordításának dokumentálása

#### 1. terminus

##### **FNY terminus: repeat-variable diresidues**

szófaj: főnév (szó szerkezetes szakkifejezés)

definíció: Each (1)TALE repeat consists of 33 to 35, typically 34, (2)highly conserved amino acids (3)except for the two at positions 12 and 13, which are named RVDs for repeat variable diresidues (RVDs).

**a definíció forrása:** Deng és mtsai., 2014.

**kontextus/példamondat:** „They furthermore reported a position and length effect, whereby the specificity of an RVD for its target nucleotide is influenced both by the position of the given RVD within the repeat array, and by the total length of the repeat array, with increased TALE protein length diminishing RVD specificity.”

**a példamondat forrása:** Anderson és mtsai., 2020

##### **CNY terminus: ismétlődésenként eltérő aminosavpár**

definíció: online keresés alapján nem elérhető

A (1)transzkripció aktivátor-szerű effektor (TALE) fehérjék a (2)minosav szekvenciája erősen konzervált a (3)12. és 13. aminosav kivételével, amiket **ismétlődésenként eltérő aminosavpárnak nevezünk.**

**a definíció forrása:** saját

**kontextus/ példamondat:** nincs

**a terminus választás indoklása:**

A terminus megválasztásához először felbontottam az angol kifejezést:

*repeat* – ismétlődő, ismétlődés

*variable* – variábilis, változó, eltérő

a '*repeat-variable*' az ezekből képzett szó,

*di* – kettő

*residue* – maradék, üledék, de ebben az esetben az aminosavakra utal

A TALE rendszer lényege, hogy fehérje ismétlődésekből áll, és minden egyes ismétlődő fehérjén található ez a két aminosav, ami eltérhet. Ezért minden ismétlődésen, tehát ismétlődésenként térhet el. Két darab aminosav pedig egy párt alkot. Ezekkel a megfontolásokkal fordítottam a terminust.

**ekvivalenciaszint:** 100%

## 2. terminus

### **FNY terminus: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)**

szófaj: főnév (szószerkezetes szakkifejezés)

**definíció:** Clustered, regularly interspaced, (1) short palindromic repeats (CRISPR) loci (2) are found in the genomes of many bacteria and most archaea, and underlie an (3) adaptive immune system that protects the host cell against invasive nucleic acids such as viral genomes.

**a definíció forrása:** Sontheimer and Barrangou, 2015.

**kontextus/példamondat:** So far, CRISPR–Cas systems have been repurposed for a variety of applications, including the targeted editing of genomes, epigenomes and transcriptomes, the bioimaging of nucleic acids, the recording of cellular events and the detection of nucleic acids.

**a példamondat forrása:** Kaminski és mtsai., 2021.

### **CNY terminus: halmozottan előforduló, szabályos közökkel elválasztott palindromikus ismétlődések (CRISPR)**

**statisztikai keresés:** 1740

**definíció:** A CRISPR (halmozottan előforduló, szabályos közökkel elválasztott palindromikus ismétlődések) (2) a baktériumok DNS-ében található (1) rövid, ismétlődő DNS-szakaszok neve (repeat). A CRISPR-rendszer (3) a baktériumok védekezési módszere a vírusok ellen.

**a definíció forrása:** Vizkievicz András – Biotechnológia

<https://bioszfera.com/downloads/6.3.%20Biotechnologia.pdf>

**kontextus/ példamondat:** A mindössze néhány éve elterjedt CRISPR rendszer forradalmi változásokat okozott annak köszönhetően, hogy egyszerűen, egy rövid RNS szekvencia módosításával képes nagy hatékonysággal a kívánt DNS szakaszt módosítani.



**a példamondat forrása:** Weinhardt Nóra CRISPR/Cas rendszerek és kis RNS-eik expressziójára alkalmazott promóterek vizsgálata, Doktori (Ph.D.) értekezés; SZTE, Biológia Doktori Iskola, 2021.

**a terminus választás indoklása:** az egyetlen magyar fordítás, ami használatban van. Az angol és magyar nyelvben is a CRISPR rövidítés használata az elterjedt, a teljesen nevet csak magyarázatként kiírva szokás használni.

**ekvivalenciaszint: 100 %**

### **3. terminus**

**FNY terminus: RNA scaffold**

**szófaj:** főnév (szószerkezetes szakkifejezés)

**definíció meghatározása:**

„RNA scaffolds are synthetic noncoding RNA molecules with engineered 3D folding harnessed to spatially organize proteins in vivo.”

forrás: Delebecque és mtsai., 2012.

- Ez a definíció megfelelők tűnhet, de jelen esetben a CRISPR-Cas9 által használt, specifikus RNS-ről beszélünk, így tovább kerestem.

- 

„In the native CRISPR/Cas9 system, mature (1)gRNA is composed of two independent molecules of small non-coding RNAs, which interact with each other by base complementarity: (i) crRNA (CRISPR RNA), responsible for the recognition of the target DNA; and (ii) tracrRNA (transactivating crRNA or (2)scaffold RNA), important for the anchoring of gRNA into Cas9.”

**forrás:** Carolina Vianna Morgante Fabricio Barbosa Mosnteiro Arraes Clidia Eduarda Moreira-Pinto Bruno Paes de Melo Maria Fatima Grossi-de-Sa, CRISPR technology in genomic plant editing, CHAPTER 4, Modulation of gene expression in plants via CRISPR/dCas9 technology



„A Cas9 nukleáz genomszerkesztő eszközként való használatának megkönnyítése céljából, a (3)cr- és tracrRNS-eket egy hurokkal kovalensen összekötötték, létrehozva így az irányító RNS-t (guideRNS, gRNS)”

**forrás:** Tálás András, Cas9 nukleázok működési hatékonyságának kísérletes meghatározása és predikciója, 2021

**kontextus/ példamondat:** nem elérhető

**a terminus választás indoklása:**

A 'scaffold' szó jelentése állvány, állványzat. A terminus egy olyan RNS-t takar, ami a CRISRR-Cas9 rendszer részét képező vezér, vagy guide RNS (gRNS) egyik alkotóeleme. Egy olyan meghatározott szerkezetet képes felvenni, amivel kötni képes a Cas9 fehérjét. Az alábbi megoldások merültek fel:

1. RNS szkaffold
2. RNS-szerkezet
3. RNS vázrendszer

1. az idegenes kifejezéseket igyekeztem kerülni, ahol lehet
2. a kifejezés túl általános, sok RNS vesz fel valamilyen szerkezetet
3. a kifejezést még nem használják másra, és megközelítőleg jól leírja a szó jelentését, így ezt választottam

**ekvivalenciaszint:** 90%

## **4. A forrásnyelvi szöveg**

Jason Gardiner, Basudev Ghoshal, Ming Wang and Steven E. Jacobsen

**CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis**  
excerpt

Plant Physiology 2022. Mar. 28.;188(4):1811-1824.  
DOI: 10.1093/plphys/kiac033.; PMID: 35134247; PMCID: PMC8968285



# CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis

Jason Gardiner <sup>1</sup>, Basudev Ghoshal <sup>1</sup>, Ming Wang <sup>1</sup> and Steven E. Jacobsen <sup>1,2,\*</sup>,<sup>†</sup>

- 1 Department of Molecular, Cell and Developmental Biology, University of California at Los Angeles, Los Angeles, California, USA
- 2 Howard Hughes Medical Institute (HHMI), UCLA, Los Angeles, California, USA

\*Author for correspondence: jacobsen@ucla.edu

These authors contributed equally (J.G., B.G., and M.W.).

<sup>†</sup>Senior author

All authors participated in writing of the article.

The author responsible for distribution of materials integral to the findings presented in this article in accordance with the policy described in the Instructions for Authors (<https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions>) is Steven E. Jacobsen (jacobsen@ucla.edu).

Update

## Abstract

Tools for sequence-specific DNA binding have opened the door to new approaches in investigating fundamental questions in biology and crop development. While there are several platforms to choose from, many of the recent advances in sequence-specific targeting tools are focused on developing Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic RepeatsCRISPR Associated (CRISPR–Cas)-based systems. Using a catalytically inactive Cas protein (dCas), this system can act as a vector for different modular catalytic domains (effector domains) to control a gene's expression or alter epigenetic marks such as DNA methylation. Recent trends in developing CRISPR–dCas systems include creating versions that can target multiple copies of effector domains to a single site, targeting epigenetic changes that, in some cases, can be inherited to the next generation in the absence of the targeting construct, and combining effector domains and targeting strategies to create synergies that increase the functionality or efficiency of the system. This review summarizes and compares DNA targeting technologies, the effector domains used to target transcriptional control and epi-mutagenesis, and the different CRISPR–dCas systems used in plants.

## Introduction

Over the past three decades, the development of tools that can bind to DNA in a sequence-specific manner has led to technologies that can specifically target and regulate gene transcription and epi-mutagenesis. Due to its ease of use, in the most recent wave of developments, tools based on the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic RepeatsCRISPR-associated system (CRISPR–Cas) using a catalytically inactive Cas protein have come to the forefront with an array of attachments allowing for the targeted transcriptional control or epi-mutagenesis of a specific locus; pushing the functionality of CRISPR–Cas beyond gene editing.

These constructs rely on either the direct recruitment of basal transcription machinery or the targeting of epigenetic factors to manipulate transcription of nearby genes. While the recruitment of basal transcription machinery requires the presence of the targeting construct, changes in DNA methylation can in some cases be mitotically and meiotically inherited allowing for this targeted epi-mutagenesis to be maintained in the following generations in the absence of the targeting construct (Johnson et al., 2014; GallegoBartolome et al., 2018; Papikian et al., 2019). The heritability of DNA methylation is well documented at a few loci; however, further work is needed to understand how frequently

## ADVANCES

- Recent advancements in DNA targeting systems have largely focused on the development of CRISPR–dCas systems to include peptide tails and RNA binding proteins, allowing these systems to recruit multiple copies of any given effector protein.
- Effector protein domains capable of manipulating DNA methylation have been successfully deployed and, in some cases, changes have been shown to be heritable to the next generation in the absence of the targeting construct.
- Fusion and co-targeting strategies using common modular activator domains can synergistically activate transcription to levels higher than targeting with a single type of activator domain.
- CRISPR–dCas systems can be used to repress genes by targeting of modular repression domains, DNA methylation, or CRISPRi.

methylation changes induced in one generation can be stably inherited into the next (Lloyd and Lister, 2021). Furthermore, most other plant epigenetic marks are likely not inherited from generation to generation and are either reset during reproductive development or change dynamically along with changes in gene expression. As we continue to develop targeting systems through the addition of different modular catalytic domains (effector domains) capable of manipulating specific epigenetic marks, the function and heritability of these marks can be more easily explored. The expansion of this toolkit will offer a selection of tools that can create changes that are or are not mitotically or meiotically inherited that can be selected based on the end goal.

In plants, targeted manipulation of transcriptional control and epimutagenesis have already been used to increase resistance to drought, manipulate plant developmental phenotypes, increase our understanding of interactions between essential proteins, and further our understanding on how plants add, maintain and use DNA methylation (Johnson et al., 2014; Harris et al., 2018; Gallego-Bartolome et al., 2019; Papikian et al., 2019; Roca Paix~ao et al., 2019; Ichino et al., 2021; Lee et al., 2021; Leydon et al., 2021; Liu et al., 2021; Tang et al., 2021; Xue et al., 2021). As we continue to develop these tools by improving their efficiency and expanding the available effector domains, more possible applications in both research and industry arise. Fundamental questions that once relied on generalities and correlations resulting from mutations, stress induction, or chemical treatments can instead be addressed using targeted studies providing causative data revealing locus-specific function. While many of these tools have been demonstrated or developed in animals, plants provide an exciting platform for the further development and application of these tools both from a research and an agronomic perspective.

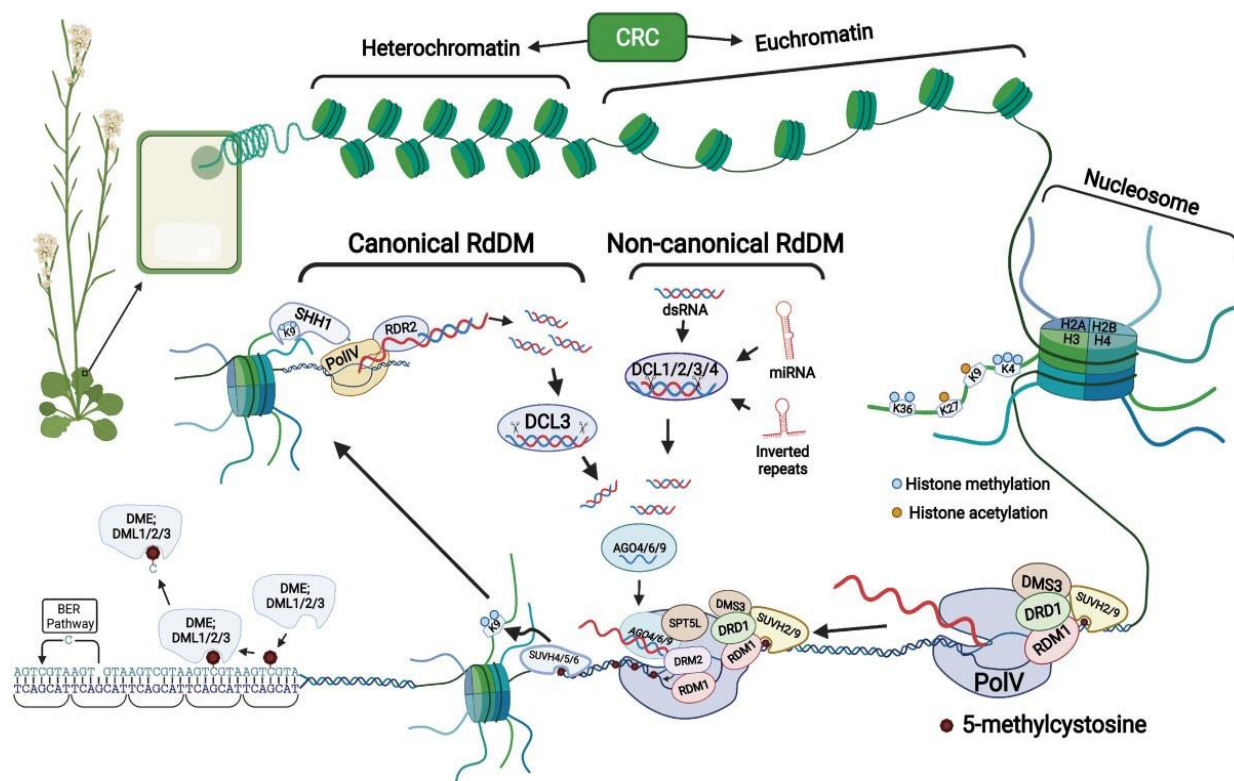
In this review, we will cover the recent discoveries and advancements in targeted transcriptional control and epimutagenesis using CRISPR–dCas-based targeting technologies in plants.

## Epigenetics and plant gene expression

Eukaryotic DNA is packaged into 146 base pair (bp) DNA segments that wrap around a histone octamer known as a nucleosome (Luger et al., 1997; Richmond and Davey, 2003; Ou et al., 2017). Nucleosomes are the base units of chromatin and can adopt two main configurations: euchromatin, which is less compact and more accessible to transcription factors and other proteins, or heterochromatin, which is more compact and less accessible (Roudier et al., 2009) (Figure 1). This means that gene regulation depends not only on the presence or absence of transcription factors, but also on chromatin accessibility (Li et al., 2007). Chromatin state can be altered by chromatin remodeling complexes (CRCs), histone modifications, histone variants, and DNA methylation, which work together to activate or repress of different transcriptional networks in eukaryotes (Li et al., 2007; Bannister and Kouzarides, 2011; Pikaard and Mittelsten Scheid, 2014; Zhong et al., 2021).

In *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), CRCs, such as the SWITCHING DEFECTIVE 2/SUCROSE NON-FERMENTING 2 (SWI2/SNF2) proteins use ATP hydrolysis to alter the structure or positioning of nucleosomes, which in turn mediate the accessibility of the chromatin to transcription factors and other regulatory proteins (Corona and Tamkun, 2004; Jiang and Pugh, 2009). In addition to the CRCs, histone modifications and histone variants can affect transcriptional gene regulation by modulating histone–DNA interactions (Feng et al., 2010; Bannister and Kouzarides, 2011). The exposed N-terminal tails of the core histones are subjected to various post-translational modifications, including acetylation, methylation, phosphorylation, ubiquitylation, SUMOylation, etc. (Pfluger and Wagner, 2007). The addition or removal of these histone modifications corresponds with activation or repression of transcription (Feng et al., 2010; Bannister and Kouzarides, 2011). For example, adding acetylation to the histone tails via histone acetyltransferases is associated with transcriptional activation, while the removal of acetylation through histone deacetylases leads to transcriptional repression (Pandey et al., 2002; Lawrence et al., 2004).

Unlike histone acetylation, which corresponds with the activation of transcription, histone methylation can be associated with activation or repression of transcription, depending on which lysine residues are methylated (Xiao et al., 2016). For example, three methyl groups on the fourth lysine of the histone 3 tail (H3K4me3), H3K36me2, and H3K36me3 are associated with active transcription (Zhao et al., 2005; Xu et al., 2008; Zhang et al., 2009; Ding et al., 2012) (Figure 1). On the contrary, H3K27me1, H3K27me3, and H3K9me2 are associated with transcriptional repression (Goodrich et al., 1997; Gendall et al., 2001; Jackson et al., 2002; Malagnac et al., 2002; Johnson et al., 2007; Zhang et al., 2007; Bernatavichute et al., 2008; Jacob et al., 2009; Du et al., 2012).



**Figure 1** Overview of histone and DNA epigenetic modifications. Heterochromatin and euchromatin represent a more compact or less compact chromatin status, respectively, that can be manipulated by CRCs. The fundamental unit of chromatin is the nucleosome, which is composed of histones wrapped with DNA. Both histone tails and DNA cytosines can be epigenetically modified. Histone tail modifications: histone tails can be modified by various epigenetic marks, including methylation, acetylation, phosphorylation, SUMOylation, etc. Histone epigenetic marks are associated with transcriptional gene regulation. For example, histone acetylation and trimethylation of H3 Lysine 4 (H3K4me3) and H3K36me3 are associated with transcriptional activation. De novo DNA cytosine methylation: Cytosines can be de novo methylated through the RdDM pathway. During canonical RdDM, SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOGUE 1 is recruited to sites containing methyl groups on the ninth lysine of the histone 3 tail (H3K9) and directly interacts with and recruits Polymerase IV (Pol IV) to these sites initiating transcription of short 32 nt RNA transcripts. Pol IV then feeds this transcript directly into RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE 2 (RDR2) that then converts the single stranded RNA transcripts into double-stranded RNAs, which are then digested into 24 nt small interfering RNAs (siRNAs) by RNase III endonuclease DICER-LIKE 3 (DCL3), and loaded into ARGONAUTE 4, 6, or 9 (AGO4/6/9). Concurrently, a complex consisting of SU(VAR) homologs (SUVH) 2 or 9, DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), DEFECTIVE IN RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (DRD1), RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1), and Pol V is brought to a locus through the interaction between DNA methylation and SUVH2/9. The RNA scaffold of Pol V transcripts can be recognized by the siRNA-AGO4/6/9 complex with help from SUPPRESSOR OF TY 5-LIKE (SPT5L). DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) is then recruited to sites recognized by siRNA-bound AGO4/6/9 through RDM1, allowing DRM2 to methylate the adjacent DNA. DRM2 adds methylation to the targeted DNA, SUVH4/5/6 binds the DNA methylation and deposits H3K9 methylation, which attracts the Pol IV arm of the pathway thus, creating a positive feedback loop that helps maintain the newly added methylation. siRNAs generated from sources other than Pol IV are sometimes incorporated into RdDM in a process called non-canonical RdDM. These siRNAs can be generated from inverted repeats, miRNA precursor's, fragments of cleaved mRNA, or other non-coding dsRNAs that are processed by DCL proteins or a combination of AGO4 and exonucleases, loaded into AGO4/6/9, and directly recruit the POLV arm of the pathway to a target site. Removal of DNA methylation: DEMETER (DME) family of bifunctional glycosylase/lyases, consisting of DME and DME-LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2, and DML3, actively remove methylated cytosines which are then replaced with unmethylated cytosines by the base excision repair (BER) pathway. Created with BioRender.com

DNA cytosine methylation, which in plants occurs in the CG, CHG, and CHH sequence contexts (H is any nucleotide other than G), has also been associated with gene regulation. Often, the presence or absence of DNA methylation is associated with repression and activation, respectively, of nearby genes or transposable elements. In plants, DNA methylation is maintained by four different DNA methylation maintenance pathways and can be established de novo by the RNA-directed DNA methylation (RdDM) pathway (Law and Jacobsen, 2010). The canonical RdDM pathway can be split into two different arms: the Polymerase IV (Pol IV) arm, which is responsible for the generation of small interfering

RNAs (siRNAs), and the Pol V arm, which provides an RNA scaffold for the recruitment of the DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) at the target site (Erdmann and Picard, 2020) (Figure 1). While the majority of the siRNAs used in RdDM are produced by the Pol IV-RDR2 complex (Herr et al., 2005; Raja et al., 2008; Stroud et al., 2013; Huang et al., 2021), a small amount are generated from other sources including inverted repeats, microRNA (miRNA) precursors, fragments of cleaved mRNA, or other non-Pol IV generated non-coding RNAs that can also trigger a noncanonical RdDM pathway. These siRNAs are loaded into ARGONAUTE (AGO) proteins that direct the Pol V arm of



the RdDM pathway to specific sites, and are important for pioneering sites of RdDM de novo (Allen et al., 2005; Slotkin et al., 2005; Vazquez et al., 2008; Chellappan et al., 2010; Khraiwesh et al., 2010; Wu et al., 2010, 2012; Garcia et al., 2012; Mari-Ordoñez et al., 2013; Nuthikattu et al., 2013; Creasey et al., 2014; Bond and Baulcombe, 2015; McCue et al., 2015; Panda et al., 2016; Yang et al., 2016; Ye et al., 2016; Sigman et al., 2021) (Figure 1).

DNA methylation is a mitotically and meiotically heritable mark (Law and Jacobsen, 2010). Maintenance of methylation by RdDM in euchromatic regions depends on siRNAs. DNA methylation in all sequence contexts is replicated on the newly formed daughter strands through the concerted effort of three additional DNA methyltransferases as well. Methylation at CG sites is maintained during replication by DNA METHYLTRANSFERASE 1 (MET1), through an interaction with VARIANT IN METHYLATION 1 (VIM1), VIM2, and VIM3 proteins that can bind to methylated cytosines in CG context on the parent strands (Woo et al., 2007, 2008). Non-CG methylation in heterochromatic regions is primarily maintained by the plant-specific CHROMOMETHYLASE 2 (CMT2) and CMT3 methyltransferases via a positive feedback loop with H3K9me2 histone modification and by RdDM in euchromatic regions (Lindroth et al., 2001; Du

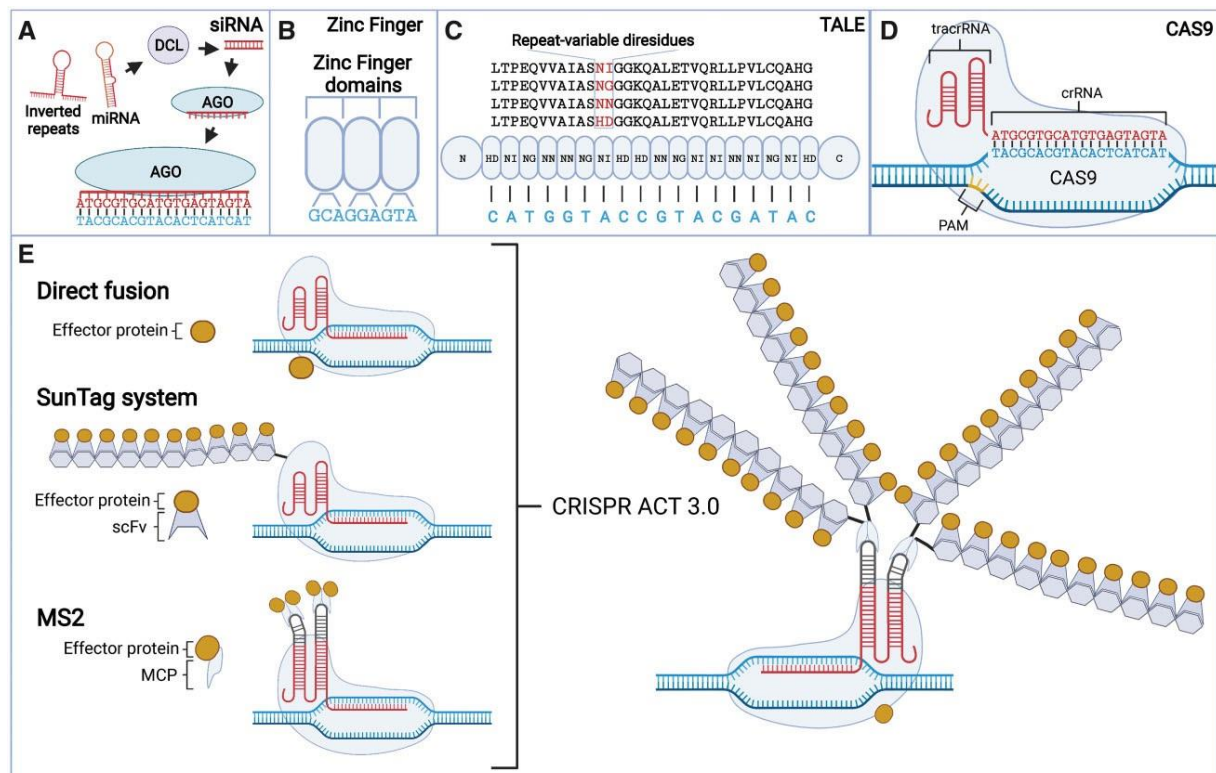
et al., 2012; Stroud et al., 2013, 2014; Erdmann and Picard, 2020). In plants, DNA methylation is actively removed by the DEMETER (DME) family of bifunctional glycosylase/ lyases consisting of DME and DME-LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2, and DML3 (Choi et al., 2002; Gong et al., 2002; Agius et al., 2006; Gehring et al., 2006; Morales-Ruiz et al., 2006; Penterman et al., 2007; Ortega-Galisteo et al., 2008) (Figure 1).

## Technologies to recruit factors to manipulate transcription

Targeted manipulation of epigenetic marks or gene expression requires a way to specifically and ectopically recruit molecular components capable of transcriptional control or epimutagenesis to the site of interest on the genome. Several targeting technologies are reviewed in the following section.

### Small RNA-based targeting

Both siRNAs and miRNAs have been broadly applied for transcriptional and post-transcriptional gene silencing, not only because small RNA-mediated gene silencing is sequence specific and efficient, but also because they can cause partial loss-of-function alleles that can overcome the lethality of



**Figure 2** Targeting systems A. The small interfering RNA (siRNA) targeting system which takes advantage of artificially designed inverted repeats or microRNAs (miRNA) to target specific sequences through RNA-directed DNA methylation (RdDM) or RNA interference mechanisms. DICERLIKE (DCL); ARGONAUTE (AGO) B. The Zinc Finger targeting system where each artificially designed Zinc Finger domain is capable of recognizing a unique nucleotide triplet. C. The TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTOR (TALE) targeting system highlighting the RVDs, which give nucleotide binding specificity to each repeat unit. D. The CRISPR–Cas9 targeting system highlighting the CRISPR RNA (crRNA), trans-acting crRNA (tracrRNA) and protospacer adjacent motif (PAM). E. Direct fusion, SunTag, and MS2 based CRISPR–dCas9 systems and how these have been combined in the CRISPR ACT 3.0 system. MS2 coat protein (MCP), Single chain variable fragment (ScFv). Created with BioRender.com



**Table 1** Comparison of targeting systems

Parameters	siRNA	TALE	Zinc Finger	CRISPR–dCas9
1. Target sites	No limit	Occurs every 35 bp	Occurs at every 200–500 bp	Depends on PAM sites. New PAM-less CRISPR variants are available that increase available target sites
2. Specificity	Less specific	More specific than other technologies	Less specific	Highly specific
3. User friendly	Easy to clone constructs	Cloning is laborious and tedious	Cloning is laborious and tedious	Easy to clone constructs
a. Cloning				
b. Adaptability to target new sites	Highly adaptable—only need to modify the precursor RNA sequence	Less adaptable—must design new protein for each new target; protein engineering can be unpredictable	Less adaptable—must design new protein for each new target; protein engineering can be unpredictable	Highly adaptable—only need to modify the guide RNA sequence
c. Cost	Targeting new site depends on manipulating the precursor sequence, which is less expensive	Can be expensive as it requires testing of several TALEs to target new site	Can be expensive as it requires testing of several Zinc Fingers to target new site	Targeting new site depends on manipulating guide RNA sequence, which is less expensive

certain null mutants (Ossowski et al., 2008). Endogenously, siRNAs and miRNAs are the slicing products of DICER-LIKE (DCL) proteins from double-stranded RNAs (dsRNAs) and primary miRNA transcripts with a stem–loop structure, respectively (Kurihara and Watanabe, 2004; Xie et al., 2005) (Figure 2A). Both siRNAs and miRNAs are loaded into AGO proteins to form an RNA-induced silencing complex (Mallory and Vaucheret, 2010), which in turn silences the target gene with the complementary sequence (Huang et al., 2019). One of the most popular methods for the generation of synthetic siRNAs or miRNAs in plants is to express hairpin RNA or inverted repeats that are linked by an intron sequence. This hairpin RNA can be recognized and processed by plant DCLs into siRNAs and then cause the target gene silencing (Chuang and Meyerowitz, 2000; Wesley et al., 2001). While these are frequently designed to target exon regions to trigger post-transcriptional gene silencing, they can also be designed to target promoter regions to trigger RdDM-directed silencing (Mette et al., 2000; Dadami et al., 2014; Williams et al., 2015; Gallego-Bartolome et al., 2019). Some other small RNA-mediated approaches to silence genes include virus-induced gene silencing (Wassenegger et al., 1994; Baulcombe, 1999; Burch-Smith et al., 2004), and artificial miRNA directed gene silencing (Schwab et al., 2006; Ossowski et al., 2008).

While synthetic siRNAs and miRNAs can target gene silencing, they cannot recruit other factors or be used for targeted activation, and are prone to off-target effects (Xu et al., 2006; Ossowski et al., 2008) (Table 1). Technologies allowing for the targeting of effector domains in a sequence dependent manner allow for more specific control of transcriptional activation in addition to repression.

## Sequence-dependent DNA binding modules

### Zinc Fingers

Zinc Fingers (ZFs) are one of the earliest and best characterized tools for targeting effector domains to specific regions of a genome. These proteins typically contain a classical C2H2 ZF structure with two  $\beta$ -sheets and one  $\alpha$ -helix

maintained by hydrophobic interactions and a zinc ion (Lee et al., 1989). Each finger primarily recognizes and binds to a unique 3-bp DNA sequence encoded in the amino acid residues of the  $\alpha$ -helix (Pavletich and Pabo, 1991; Elrod-Erickson et al., 1996) (Figure 2B). This amino acid sequence can be manipulated and repeated to develop artificial ZF proteins with multiple finger domains capable of differentiating the DNA sequence of a target site from the rest of the genome (Liu et al., 1997; Segal et al., 1999; Dreier et al., 2001). These artificial ZFs can then be fused to an effector domain in order to activate or repress transcription. While ZF targeting systems have been widely used, they have several drawbacks relative to other targeting systems, such as a relative lack of specificity, which are outlined in Table 1 (Beerli et al., 1998; Johnson et al., 2014; Gallego-Bartolome et al., 2019; Gardiner et al., 2020; Liu et al., 2021).

### Transcription activator-like effectors

Like ZFs, TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTORS (TALEs) contain specific amino acid sequences that allow for the programmable recognition of specific DNA sequences (Figure 2C). The TALE DNA binding domain consists of around 18 units of repeats with each unit comprising 34 amino acids containing two variable amino acids at positions 12 and 13, known as repeat-variable diresidues (RVDs), which direct the binding specificity of a unit (Boch et al., 2009; Moscou and Bogdanove, 2009) (Figure 2C). Thus, by rearranging these repeat units, designer TALEs can be created to target specific sequences (Boch et al., 2009; Morbitzer et al., 2010). Assembly of additional TALEs to target a unique site is mostly a matter of assembling these repeat units so that the RVD nucleotide preference matches the target site. Certain RVDs either only bind to or are unable to bind to methylated DNA (Bultmann et al., 2012; Deng et al., 2012; Valton et al., 2012; Tsuji et al., 2016), and can be used to build TALE constructs that can discriminate between methylated and unmethylated recognition sites (Deng et al., 2012; Valton et al., 2012; Tsuji et al., 2016).

While a powerful tool, TALEs are difficult to assemble due to the repetitiveness of the units, which only differ by two amino acids (Cermak et al., 2011; Morbitzer et al., 2011; Zhang et al., 2011) (Table 1).

#### CRISPR–Cas direct fusion

CRISPR–Cas systems can be used to target specific regions of a genome. These systems are naturally occurring in bacteria and archaea, and evolved as a type of adaptive immune system (Sorek et al., 2013). Unlike ZF or TALE systems that use the manipulation of amino acid sequences to specify the target site, CRISPR–Cas systems use non-coding RNAs (Figure 2D). The natural targeting system consists of an RNA sequence complementary to the target sequence known as the spacer or CRISPR RNA (crRNA) and a scaffold sequence that is bound by the Cas protein known as the trans-activating crRNA (tracrRNA) (Deltcheva et al., 2011) (Figure 2D). To simplify the tool, the crRNA and tracrRNA have been fused to form a single RNA molecule called a guide RNA (gRNA) (Jinek et al., 2012). The gRNA component is loaded into a Cas protein that is then able to identify and create a double-stranded break at the appropriate target site. Recognition of the target sequence also requires a protospacer adjacent motif (PAM) specific to the Cas protein being used limiting the number of possible targets (Figure 2D). However, recent advancements in the development of CRISPR–Cas systems have created systems that do not require this PAM motif (Walton et al., 2020; Ren et al., 2021). In addition to using Cas to trigger mutations at target sites, modified systems using catalytically inactive Cas (dCas) fused to an effector domain can be designed to cause a wide range of targeted effects, depending on the effector domain used (Jinek et al., 2012; Larson et al., 2013; Qi et al., 2013; Lowder et al., 2015; Piatek et al., 2015; Liu et al., 2016; Li et al., 2017, 2020; Tang et al., 2017; Khakhar et al., 2018; Selma et al., 2019; Ghoshal et al., 2021).

The reduced expense, ease of construction, and high specificity of targeting has made CRISPR–dCas systems incredibly popular leading to the further development of more advanced systems beyond the simple direct fusion. To enhance the targeted effect of these systems, additional systems with the ability to synergistically target multiple effector domains to a single locus have been developed as discussed below.

#### SunTag

The SunTag system was originally developed in animals to recruit multiple copies of GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) to a single locus allowing for the visualization of the target (Tanenbaum et al., 2014). This was quickly incorporated into a dCas9-based system for other uses such as the activation of transcription or the addition/removal of DNA methylation in both plants and animals (Tanenbaum et al., 2014; Morita et al., 2016; Gallego-Bartolome et al., 2018; Pflueger et al., 2018; Papikian et al., 2019; Tang et al., 2021). The SunTag-dCas9 system requires the coordinated expression of three different components: a dCas9 fused to a

peptide tail containing an array of epitope repeats; a complementary single-chain variable fragment (scFv) fused to an effector domain and a gRNA (Figure 2E). This enables each dCas9 to recruit multiple copies of the effector domain via interactions between the scFv and the epitope tail. While this increases the complexity of the system, recruiting multiple copies of an effector domain to a single locus has proven more effective than targeting a single effector domain through a direct fusion to dCas9 (Morita et al., 2016; Pflueger et al., 2018). More recently, epitope tails containing a combination of two different epitopes bound by separate scFvs have enabled the co-targeting of two different unique scFv-effector fusions at the same time (Boersma et al., 2019). Recruiting multiple copies of an effector protein using the SunTag system raises the possibility that these systems can have a larger targeted epigenetic footprint than the directly fused dCas9-effector version. Although this might be true in certain cases, the targeted epigenetic footprint seems to be influenced by several factors. For example, in mammalian cell lines, targeting the mammalian de novo DNA methyltransferase DNA-methyltransferase 3 alpha (DNMT3A), fused directly to dCas9 resulted in a DNA methylation footprint of approximately 200 bp (McDonald et al., 2016; Vojta et al., 2016). While using the SunTag system with the DNMT3A resulted in a wider DNA methylation footprint of 4 kb on the Homeobox A5 (HOXA5) gene, this was not observed when the DNMT3A-SunTag system targeted the Krüppel-like factor 4 gene, indicating a locus-specific effect (Huang et al., 2017). The influence of genomic context was also implied in plants (Ghoshal et al., 2021). For example, in Arabidopsis, identical targeted DNA methylation footprints were observed at the FWA gene when targeting a CG-specific bacterial methyltransferase using either a direct fusion with dCas9 or the SunTag system. This was most likely due to the targeted region being flanked by genomic regions lacking CG sites limiting the span of DNA methylation targeted by both tools. Thus, further research is required to directly assess the factors influencing the DNA methylation footprints induced by these multi-effector protein targeting tools.

#### MS2

Like the SunTag system, the MS2 system is a CRISPR–dCas9-based system that gives the user the ability to target multiple effector proteins to a specific locus (Konermann et al., 2015). However, unlike SunTag or direct fusions to dCas9, the MS2 system recruits effector proteins via interactions with a modified gRNA. The MS2 system takes advantage of the MS2 bacteriophage coat protein and its known RNA binding site. Like the SunTag system, this system also requires the coordinated expression of three components: a dCas9, a MS2 coat protein-effector domain fusion, and a gRNA scaffold including an MS2 binding site added to the tetraloop and/or stem loop 2 positions of the tracrRNA (Konermann et al., 2015) (Figure 2E). The MS2 system can be combined with dCas9 direct fusion (known as the Synergistic Activation Mediator system or SAM) or the SunTag system or both (known as CRISPR Act 3.0) to recruit

even more or different effector proteins to a target site via effector protein interactions with both the gRNA and the dCas9 (Koner mann et al., 2015; Lowder et al., 2018; Pan et al., 2021) (Figure 2E).

## Targeted epi-mutagenesis and transcriptional control

### Effector domains used for transcriptional activation

There are an array of different effector domains that can be used to activate transcription in targeted systems. This can be achieved directly by attracting basal transcription factors, or indirectly by adding active histone marks or removing repressive marks. Targeting of the modular activating domain of the herpes simplex virus VP16 to a specific locus has been extensively described as an efficient way to activate transcription (Dreier et al., 2001; Sánchez et al., 2002; Stege et al., 2002; Morbitzer et al., 2010; Geißler et al., 2011; Miller et al., 2011; Zhang et al., 2011; Cheng et al., 2013; Maeder et al., 2013; Mali et al., 2013; Perez-Pinera et al., 2013; Qi et al., 2013; Liu et al., 2014; Tanenbaum et al., 2014; Vazquez-Vilar et al., 2016; Li et al., 2017; Park et al., 2017; Lee et al., 2019; Papikian et al., 2019; Selma et al., 2019). The VP16 activator domain is an acidic peptide that interacts with basal transcription factors and the mediator complex to facilitate the assembly of the pre-initiation complex at its target site (Hall and Struhl, 2002; Hirai et al., 2010). Vp16 also interacts with histone acetyltransferases and the SWI/ SNF ATPase complex to manipulate the surrounding chromatin structure into an active state (Hall and Struhl, 2002; Hirai et al., 2010). Creating a tetramer (VP64) or octamer (VP128) of the minimal VP16 activator domain can dramatically increase the potency of this activator (Beerli et al., 1998; Li et al., 2017). In addition to this, recruiting multiple copies of VP64 via systems like the SunTag can improve the activation of downstream targets compared to direct fusion systems (Tanenbaum et al., 2014; Lowder et al., 2018; Selma et al., 2019).

Directly targeting transcriptional activation can also be achieved through targeting the highly conserved plantspecific acidic-type activator domains found in the APETALA2 family of proteins, known as the EDLL domains. The EDLL domain of AtEFR98 is frequently used as a modular component to activate gene expression (Tiwari et al., 2012; Piatek et al., 2015; Selma et al., 2019). This EDLL motif is relatively small (24 amino acids) compared to other common activator domains like the VP16 (78 amino acids) making this activating domain an attractive option for development of compact synthetic targeted activation systems. However, at some target sites, multiple copies of EDLL were needed to achieve similar transcriptional activation as VP16 (Tiwari et al., 2012). Like VP16 and EDLL domains, TAL acidic-type activator domains, found in natural TALE systems, have also been used in a modular way to activate gene expression (Piatek et al., 2015; Li et al., 2017; Selma et al., 2019). This effector domain, when targeted using the TALE system, can activate genes upstream and downstream

of its binding site regardless of which strand the effector is targeted to (Wang et al., 2017).

In addition to the direct activation of transcription by recruiting activator domains, another option is recruiting domains capable of adding active or removing repressive epigenetic marks, thereby activating gene expression indirectly. In plants, targeting transcriptional activation through H3K27 acetylation using the p300 domain from humans or the catalytic domain of the plant-specific ARABIDOPSIS HISTONE ACETYLTRANSFERASE OF THE CBP FAMILY 1 (HAC1) can activate transcription of targeted genes; however, at least in the case of p300, a higher level of activation is achieved when VP64 is used (Lee et al., 2019; Roca Paix~ao et al., 2019; Selma et al., 2019). Removing repressive DNA methylation from a promoter using the human TENELEVEN TRANSLOCATION1 (TET1) can also cause transcriptional activation (Maeder et al., 2013; Amabile et al., 2016; Choudhury et al., 2016; Liu et al., 2016; Morita et al., 2016; Xu et al., 2016; Lo et al., 2017; Okada et al., 2017; Gallego-Bartolome et al., 2018; Li et al., 2020; Tang et al., 2021). In animals, the TET family of oxidases can oxidize methylated DNA, leading to either the passive removal of the methyl group through a lack of maintenance during DNA replication or the active removal by glycosylases such as thymine DNA glycosylase (Lio et al., 2020). Such oxidized variants have been detected in plants; however, at such low levels that its importance is called into question (Mahmood and Dunwell, 2019). While no proteins homologous to the TET family have been described in plants, ectopic expression of TET proteins, targeted or otherwise, in plants causes a loss of DNA methylation, suggesting the existence of a similar passive or active mechanism for the removal of oxidized DNA methyl groups in plants (Hollwey et al., 2016; GallegoBartolome et al., 2018; Ji et al., 2018).

Unlike recruiting the basal transcriptional machinery, which can cause unwanted overexpression, using epigenetic marks to control transcription only facilitates the accessibility of the target promoter to the transcriptional machinery. This highlights an advantage to the manipulation of epigenetic marks over the targeting of an activator domain. In addition to this, altering epigenetic marks can also facilitate the accessibility of targeted activator domains and thus, achieve a synergistic effect when they are combined (Roca Paix~ao et al., 2019).

### Co-targeting Activation

While many studies have attempted to compare single activator domains to determine the best one to use for targeted activation, such studies will be heavily influenced by a number of unrelated factors, including the choice of targeting system and target site. While an activator domain might appear superior in a specific system or at a specific target site, this cannot be extrapolated to every possible scenario that exists in every plant genome, and thus a variety of tools are needed. However, a consistent trend seen in the development of these tools is that the ones that are capable of targeting multiple activator domains to a single locus have

consistently been shown to perform better than those targeting a single domain (Beerli et al., 1998; Tiwari et al., 2012; Li et al., 2017; Selma et al., 2019; Morita et al., 2020; Pan et al., 2021). While there are limits to the number of domain repeats that can be included in a single coding sequence due to protein instability, using multiple different activator domains to synergistically activate gene expression has been an immensely successful strategy (Li et al., 2017; Selma et al., 2019). Targeting direct fusions of VP128 to EDLL or VP128 to TAL activator domains leads to an increase in the activation of gene expression (Li et al., 2017). In addition the fusion of VP64 to P65 and Rta, two additional modular activator domains originally shown to work in animals (VPR), is also capable of activating gene expression in plants to a higher level than VP64 alone (Chavez et al., 2015; Li et al., 2017). Further, systems that allow the co-targeting of different activator domains can now push this further by combining even more activator domains such as the EDLL domain with the VPR fusion (Selma et al., 2019). However, quantitatively comparing these different co-targeting strategies is challenging and again depends on the target site and targeting system. For example, co-targeting the EDLL domain with multimers of the VP16 activator domain either through the SAM targeting system or direct fusion, has been shown to be inferior to fusions to other activator domains or simply by co-targeting multiple VP64 peptides to the target locus (Li et al., 2017; Lowder et al., 2018; Pan et al., 2021). However, when the EDLL domain is co-targeted along with the VPR fusion using the SAM targeting system, it has been shown to produce a higher gene activation than targeting multiple VP64 domains. Thus, if an activator domain is effective at one locus or with a particular targeting system, it does not mean it will be effective when used in a different system or at a different locus.

Further, in animal cells, when VP64 and TET1 were cotargeted to the same locus they worked synergistically to upregulate gene expression causing a greater fold change increase in expression than targeting either factor alone (Morita et al., 2020), suggesting that manipulating the epigenetic landscape to be more amenable to activation is synergistic with targeting activator domains. In plants, targeting multiple VP64 activator modules to the FWA promoter using the SunTag targeting system also resulted in the loss of DNA methylation, suggesting that simultaneously targeting mechanisms that remove DNA methylation and directly activate of gene expression could work synergistically in plants as it does in animals (Papikian et al., 2019; Morita et al., 2020).



## References

- Agius F, Kapoor A, Zhu JK (2006) Role of the Arabidopsis DNA glycosylase/lyase ROS1 in active DNA demethylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 11796–11801
- Allen E, Xie Z, Gustafson AM, Carrington JC (2005) microRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell* 121: 207–221
- Altpeter F, Springer NM, Bartley LE, Blechl AE, Brutnell TP, Citovsky V, Conrad LJ, Gelvin SB, Jackson DP, Kausch AP, et al. (2016) Advancing crop transformation in the era of genome editing. *Plant Cell* 28: 1510–1520
- Amabile A, Migliara A, Capasso P, Biffi M, Cittaro D, Naldini L, Lombardo A (2016) Inheritable silencing of endogenous genes by hit-and-run targeted epigenetic editing. *Cell* 167: 219–232.e14
- Bannister AJ, Kouzarides T (2011) Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 21: 381–395
- Baulcombe DC (1999) Fast forward genetics based on virus-induced gene silencing. *Curr Opin Plant Biol* 2: 109–113
- Berli RR, Segal DJ, Dreier B, Barbas CF (1998) Toward controlling gene expression at will: Specific regulation of the *erbB-2/HER-2* promoter by using polydactyl zinc finger proteins constructed from modular building blocks. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 14628–14633
- Bernatavichute Y V., Zhang X, Cokus S, Pellegrini M, Jacobsen SE (2008) Genome-wide association of histone H3 lysine nine methylation with CHG DNA methylation in Arabidopsis thaliana. *PLoS One* 3: e3156
- Boch J, Scholze H, Schornack S, Landgraf A, Hahn S, Kay S, Lahaye T, Nickstadt A, Bonas U (2009) Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science* 326: 1509–1512
- Boersma S, Khuperkar D, Verhagen BMP, Sonneveld S, Grimm JB, Lavis LD, Tanenbaum ME, Boersma S, Khuperkar D, Verhagen BMP, et al. (2019) Multi-color single-molecule imaging uncovers extensive heterogeneity in mRNA decoding resource multi-color single-molecule imaging uncovers extensive heterogeneity in mRNA decoding. *Cell* 178: 458–472.e19
- Bond DM, Baulcombe DC (2015) Epigenetic transitions leading to heritable, RNA-mediated de novo silencing in Arabidopsis thaliana. *Proc Natl Acad Sci USA* 112: 917–922
- Bultmann S, Morbitzer R, Schmidt CS, Thanisch K, Spada F, Elsaesser J, Lahaye T, Leonhardt H (2012) Targeted transcriptional activation of silent oct4 pluripotency gene by combining designer TALEs and inhibition of epigenetic modifiers. *Nucleic Acids Res* 40: 5368–5377
- Burch-Smith TM, Anderson JC, Martin GB, Dinesh-Kumar SP (2004) Applications and advantages of virus-induced gene silencing for gene function studies in plants. *Plant J* 39: 734–746
- Cermak T, Doyle EL, Christian M, Wang L, Zhang Y, Schmidt C, Baller JA, Somia N V., Bogdanove AJ, Voytas DF (2011) Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res* 39: 1–11
- Chavez A, Scheiman J, Vora S, Pruitt BW, Tuttle M, P R Iyer E, Lin S, Kiani S, Guzman CD, Wiegand DJ, et al. (2015) Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming. *Nat Methods* 12: 326–328
- Chellappan P, Xia J, Zhou X, Gao S, Zhang X, Coutino G, Vazquez F, Zhang W, Jin H (2010) siRNAs from miRNA sites mediate DNA methylation of target genes. *Nucleic Acids Res* 38: 6883–6894
- Cheng AW, Wang H, Yang H, Shi L, Katz Y, Theunissen TW, Rangarajan S, Shivalila CS, Dadon DB, Jaenisch R (2013) Multiplexed activation of endogenous genes by CRISPR-on, an RNA-guided transcriptional activator system. *Cell Res* 23: 1163–1171
- Choi Y, Gehring M, Johnson L, Hannon M, Harada JJ, Goldberg RB, Jacobsen SE, Fischer RL (2002) DEMETER, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in Arabidopsis. *Cell* 110: 33–42
- Choudhury SR, Cui Y, Lubecka K, Stefanska B (2016) CRISPR-dCas9 mediated TET1 targeting for selective DNA demethylation at BRCA1 promoter. *Oncotarget* 7: 1–12
- Chuang CF, Meyerowitz EM (2000) Specific and heritable genetic interference by double-stranded RNA in Arabidopsis thaliana. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 4985–4990
- Corona DFV, Tamkun JW (2004) Multiple roles for ISWI in transcription, chromosome organization and DNA replication. *Biochim Biophys Acta Gene Struct Exp* 1677: 113–119
- Creasey KM, Zhai J, Borges F, Van Ex F, Regulski M, Meyers BC, Martienssen RA (2014) MiRNAs trigger widespread epigenetically activated siRNAs from transposons in Arabidopsis. *Nature* 508: 411–415
- Dadami E, Dalakouras A, Zwiebel M, Krczal G, Wassenegger M (2014) An endogene-resembling transgene is resistant to DNA methylation and systemic silencing. *RNA Biol* 11: 934–941
- Deltcheva E, Chylinski K, Sharma CM, Gonzales K, Chao Y, Pirozka ZA, Eckert MR, Vogel J, Charpentier E (2011) CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature* 471: 602–607
- Deng D, Yin P, Yan C, Pan X, Gong X, Qi S, Xie T, Mahfouz M, Zhu JK, Yan N, et al. (2012) Recognition of methylated DNA by TAL effectors. *Cell Res* 22: 1502–1504
- Ding Y, Ndamukong I, Xu Z, Lapko H, Fromm M, Avramova Z (2012) ATX1-generated H3K4me3 is required for efficient elongation of transcription, not initiation, at ATX1-regulated genes. *PLoS Genet* 8: e1003111
- Dreier B, Berli RR, Segal DJ, Flippin JD, Barbas CF (2001) Development of zinc finger domains for recognition of the 5<sup>0</sup>-ANN-3<sup>0</sup> family of DNA sequences and their use in the construction of artificial transcription factors. *J Biol Chem* 276: 29466–29478
- Du J, Zhong X, Bernatavichute Y V., Stroud H, Feng S, Caro E, Vashisht AA, Terragni J, Chin HG, Tu A, et al. (2012) Dual binding of chromomethylase domains to H3K9me2-containing nucleosomes directs DNA methylation in plants. *Cell* 151: 167–180
- Elrod-Erickson M, Rould MA, Nekudova L, Pabo CO (1996) Zif268 protein-DNA complex refined at 1.6 Å: a model system for understanding zinc finger-DNA interactions. *Structure* 4: 1171–1180
- Erdmann RM, Picard CL (2020) RNA-directed DNA methylation. *PLoS Genet* 16: e1009034
- Feng S, Jacobsen SE, Reik W (2010) Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science* 330: 622–627
- Gallego-Bartolome J, Gardiner J, Liu W, Papikian A, Ghoshal B, Kuo HY, Zhao JM-CC, Segal DJ, Jacobsen SE (2018) Targeted DNA demethylation of the Arabidopsis genome using the human TET1 catalytic domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 8: 201716945
- Gallego-Bartolome J, Liu W, Kuo PH, Feng S, Ghoshal B, Gardiner J, Zhao JMC, Park SY, Chory J, Jacobsen SE (2019) Co-targeting RNA polymerases IV and V promotes efficient de novo DNA methylation in Arabidopsis. *Cell* 176: 1068–1082.e19
- Garcia D, Garcia S, Pontier D, Marchais A, Renou JP, Lagrange T, Voinnet O (2012) Ago hook and RNA helicase motifs underpin dual roles for SDE3 in antiviral defense and silencing of nonconserved intergenic regions. *Mol Cell* 48: 109–120
- Gardiner J, Zhao JM, Chaffin K, Jacobsen SE (2020) Promoter and terminator optimization for DNA methylation targeting in Arabidopsis. *Epigenomes* 4: 9
- Gehring M, Huh JH, Hsieh TF, Penterman J, Choi Y, Harada JJ, Goldberg RB, Fischer RL (2006) DEMETER DNA glycosylase establishes MEDEA polycomb gene self-imprinting by allele-specific demethylation. *Cell* 124: 495–506

- Geißler R, Scholze H, Hahn S, Streubel J, Bonas U, Behrens SE, Boch J (2011) Transcriptional activators of human genes with programmable DNA-specificity. *PLoS One* 6: 1–7
- Gendall AR, Levy YY, Wilson A, Dean C (2001) The VERNALIZATION 2 gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in Arabidopsis. *Cell* 107: 525–535
- Gentzel IN, Park CH, Bellizzi M, Xiao G, Gadhave KR, Murphree C, Yang Q, Lamantia J, Redinbaugh MG, Balint-Kurti P, et al. (2020) A CRISPR/dCas9 toolkit for functional analysis of maize genes. *Plant Methods* 16: 1–9
- Ghoshal B, Gardiner J (2021) CRISPR-dCas9-based targeted manipulation of DNA methylation in plants. In MT Islam, KA Molla, eds, *CRISPR-Cas Methods* - (Springer Protocols Handbooks, Humana, New York, NY, pp 57–71
- Ghoshal B, Picard CL, Vong B, Feng S, Jacobsen SE (2021) CRISPR-based targeting of DNA methylation in Arabidopsis thaliana by a bacterial CG-specific DNA methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118: e2125016118
- Ghoshal B, Vong B, Picard CL, Feng S, Tam JM, Jacobsen SE (2020) A viral guide RNA delivery system for CRISPRbased transcriptional activation and heritable targeted DNA demethylation in Arabidopsis thaliana. *PLoS Genet* 16: 1–19
- Gong Z, Morales-ruiz T, Ariza RR, Rolda T, David L, Zhu J, De Gene D (2002) ROS1, a Repressor of transcriptional gene silencing in Arabidopsis, encodes a DNA glycosylase/lyase. 111: 803–814
- Goodrich J, Puangsomlee P, Martin M, Long D, Meyerowitz EM, Coupland G (1997) A Polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in Arabidopsis. *Nature* 386: 44–51
- Hall DB, Struhl K (2002) The VP16 activation domain interacts with multiple transcriptional components as determined by protein-protein cross-linking in vivo. *J Biol Chem* 277: 46043–46050
- Harris CJ, Scheibe M, Wongpalee SP, Liu W, Cornett EM, Vaughan RM, Li X, Chen W, Xue Y, Zhong Z, et al. (2018) A DNA methylation reader complex that enhances gene transcription. *Science* 362: 1182–1186
- Herr AJ, Jensen MB, Dalmay T, Baulcombe DC (2005) RNA polymerase IV directs silencing of endogenous DNA. *Science* 308: 118–120
- Hirai H, Tani T, Kikyo N (2010) Structure and functions of powerful transactivators: VP16, MyoD and FoxA. *Int J Dev Biol* 54: 1589–1596
- Hiratsu K, Mitsuda N, Matsui K, Ohme-Takagi M (2004) Identification of the minimal repression domain of SUPERMAN shows that the DLELRL hexapeptide is both necessary and sufficient for repression of transcription in Arabidopsis. *Biochem Biophys Res Commun* 321: 172–178
- Hiratsu K, Ohta M, Matsui K, Ohme-Takagi M (2002) The SUPERMAN protein is an active repressor whose carboxy-terminal repression domain is required for the development of normal flowers. *FEBS Lett* 514: 351–354
- Hollwey E, Watson M, Meyer P (2016) Expression of the C-terminal domain of mammalian TET3 DNA dioxygenase in Arabidopsis thaliana induces heritable methylation changes at rDNA loci. *Adv Biosci Biotechnol* 7: 243–250
- Huang CY, Wang H, Hu P, Hamby R, Jin H (2019) Small RNAs – big players in plant-microbe interactions. *Cell Host Microbe* 26: 173–182
- Huang K, Wu XX, Fang CL, Xu ZG, Zhang HW, Gao J, Zhou CM, You LL, Gu ZX, Mu WH, et al. (2021) Pol IV and RDR2: a two-RNA-polymerase machine that produces double-stranded RNA. *Science* 374: 1579–1586
- Huang YH, Su J, Lei Y, Brunetti L, Gundry MC, Zhang X, Jeong M, Li W, Goodell MA (2017) DNA epigenome editing using CRISPR-Cas SunTag-directed DNMT3A. *Genome Biol* 18: 1–11
- Ichino L, Boone BA, Strauskulage L, Harris CJ, Kaur G, Gladstone MA, Tan M, Feng S, Jami-Alahmadi Y, Duttke SH, et al. (2021) MBD5 and MBD6 couple DNA methylation to gene silencing through the J-domain protein SILENZIO. *Science* 372: 1434–1439
- Jackson JP, Lindroth AM, Cao X, Jacobsen SE (2002) Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase. *Nature* 416: 556–560
- Jacob Y, Feng S, LeBlanc CA, Bernatavichute Y V, Stroud H, Cokus S, Johnson LM, Pellegrini M, Jacobsen SE, Michaels SD (2009) ATXR5 and ATXR6 are H3K27 monomethyltransferases required for chromatin structure and gene silencing. *Nat Struct Mol Biol* 16: 763–768
- Ji L, Jordan WT, Shi X, Hu L, He C, Schmitz RJ (2018) TET-mediated epimutagenesis of the Arabidopsis thaliana methylome. *Nature Commun* 9: 895
- Jiang C, Pugh BF (2009) Nucleosome positioning and gene regulation: advances through genomics. *Nat Rev Genet* 10: 161–172
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E (2012) A Programmable Dual-RNA – Guided. 337: 816–822
- Johnson LM, Bostick M, Zhang X, Kraft E, Henderson I, Callis J, Jacobsen SE (2007) The SRA methyl-cytosine-binding domain links DNA and histone methylation. *Curr Biol* 17: 379–384
- Johnson LM, Du J, Hale CJ, Bischof S, Feng S, Chodavarapu RK, Zhong X, Marson G, Pellegrini M, Segal DJ, et al. (2014) SRA and SET-domain-containing proteins link RNA polymerase V occupancy to DNA methylation. *Nature* 507: 124–8
- Kagale S, Rozwadowski K (2011) EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: an underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression. *Epigenetics* 6: 141–146
- Khakhar A, Leydon AR, Lemmex AC, Klavins E, Nemhauser JL (2018) Synthetic hormone-responsive transcription factors can monitor and reprogram plant development. *Elife* 7: 1–16
- Khakhar A, Voytas DF (2021) RNA viral vectors for accelerating plant synthetic biology. *Front Plant Sci* 12: 668580
- Khraiweh B, Arif MA, Seumel GI, Ossowski S, Weigel D, Reski R, Frank W (2010) Transcriptional control of gene expression by microRNAs. *Cell* 140: 111–122
- Konermann S, Brigham MD, Trevino AE, Joung J, Abudayyeh OO, Barcena C, Hsu PD, Habib N, Gootenberg JS, Nishimasu H, et al. (2015) Genome-scale transcriptional activation by an engineered CRISPR-Cas9 complex. *Nature* 517: 583–588
- Kurihara Y, Watanabe Y (2004) Arabidopsis micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 12753–12758
- Larson MH, Gilbert LA, Wang X, Lim WA, Weissman JS, Qi LS (2013) CRISPR interference (CRISPRi) for sequence-specific control of gene expression. *Nat Protoc* 8: 2180–2196
- Law JA, Jacobsen SE (2010) Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat Rev Genet* 11: 204–220
- Lawrence RJ, Earley K, Pontes O, Silva M, Chen ZJ, Neves N, Viegas W, Pikaard CS (2004) A concerted DNA methylation/histone methylation switch regulates rRNA gene dosage control and nucleolar dominance. *Mol Cell* 13: 599–609
- Lee DY, Hua L, Khoshravesh R, Giuliani R, Kumar I, Cousins A, Sage TL, Hibberd JM, Brutnell TP (2021) Engineering chloroplast development in rice through cell-specific control of endogenous genetic circuits. *Plant Biotechnol J* 19: 2291–2303
- Lee JE, Neumann M, Duro DI, Schmid M (2019) CRISPR-based tools for targeted transcriptional and epigenetic regulation in plants. *PLoS One* 14: 1–17

- Lee MS, Gippert GP, Soman K V, Case DA, Wright PE (1989) Three-dimensional solution structure of a single zinc finger DNA-binding domain. *Science* 245: 635–637
- Leydon AR, Wang W, Gala HP, Gilmour S, Juarez-Solis S, Zahler ML, Zemke JE, Zheng N, Nemhauser JL (2021) Repression by the arabidopsis topless corepressor requires association with the core mediator complex. *Elife* 10: 1–28
- Li B, Carey M, Workman JL (2007) The role of chromatin during transcription. *Cell* 128: 707–719
- Li J, Yang DL, Huang H, Zhang G, He L, Pang J, Lozano-Dura'n R, Lang Z, Zhu JK (2020) Epigenetic memory marks determine epiallele stability at loci targeted by de novo DNA methylation. *Nat Plants* 6: 661–674
- Li Z, Zhang D, Xiong X, Yan B, Xie W, Sheen J, Li JF (2017) A potent Cas9-derived gene activator for plant and mammalian cells. *Nat Plants* 3: 930–936
- Lindroth AM, Cao X, Jackson JP, Zilberman D, McCallum CM, Henikoff S, Jacobsen SE (2001) Requirement of CHROMOMETHYLASE3 for maintenance of CpXpG methylation. *Science* 292: 2077–2080
- Lio CWJ, Yue X, Lopez-Moyado IF, Tahiliani M, Aravind L, Rao A (2020) TET methylcytosine oxidases: new insights from a decade of research. *J Biosci* 45: 21
- Liu Q, Segal DJ, Ghiara JB, Barbas CF (1997) Design of polydactyl zinc-finger proteins for unique addressing within complex genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 5525–5530
- Liu W, Gallego-Bartolome J, Zhou Y, Zhong Z, Wang M, Wongpalee SP, Gardiner J, Feng S, Kuo PH, Jacobsen SE (2021) Ectopic targeting of CG DNA methylation in Arabidopsis with the bacterial SssI methyltransferase. *Nat Commun* 12: 1–14
- Liu W, Rudis MR, Peng Y, Mazare M, Millwood RJ, Yang JP, Xu W, Chesnut JD, Stewart CN (2014) Synthetic TAL effectors for targeted enhancement of transgene expression in plants. *Plant Biotechnol J* 12: 436–446
- Liu XS, Wu H, Ji X, Stelzer Y, Wu X, Czauderna S, Shu J, Dadon D, Young RA, Jaenisch R (2016) Editing DNA methylation in the mammalian genome. *Cell* 167: 233–247
- Lloyd JPB, Lister R (2021) Epigenome plasticity in plants. *Nat Rev Genet* 23: 55–68 doi: 10.1038/s41576-021-00407-y
- Lo CL, Choudhury SR, Irudayaraj J, Zhou FC (2017) Epigenetic editing of Ascl1 gene in neural stem cells by Optogenetics. *Sci Rep* 7: 1–12
- Lowder LG, Paul JW, Qi Y (2017) Multiplexed transcriptional activation or repression in plants using CRISPR-dCas9-based systems. *Methods Mol Biol* 1629: 167–184
- Lowder LG, Zhang D, Baltus NJ, Paul JW, Tang X, Zheng X, Voytas DF, Hsieh TF, Zhang Y, Qi Y (2015) A CRISPR/Cas9 toolbox for multiplexed plant genome editing and transcriptional regulation. *Plant Physiol* 169: 971–985
- Lowder LG, Zhou J, Zhang Y, Malzahn A, Zhong Z, Hsieh TF, Voytas DF, Zhang Y, Qi Y (2018) Robust transcriptional activation in plants using multiplexed CRISPR-Act2.0 and mTALE-Act systems. *Mol Plant* 11: 245–256
- Luger K, Ma'nder AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389: 251–260
- Ma X, Zhang X, Liu H, Li Z (2020) Highly efficient DNA-free plant genome editing using virally delivered CRISPR–Cas9. *Nat Plants* 6: 773–779
- Maeder ML, Angstman JF, Richardson ME, Linder SJ, Cascio VM, Tsai SQ, Ho QH, Sander JD, Reyon D, Bernstein BE, et al. (2013) Targeted DNA demethylation and activation of endogenous genes using programmable TALE-TET1 fusion proteins. *Nat Biotechnol* 31: 1137–1142
- Mahmood AM, Dunwell JM (2019) Evidence for novel epigenetic marks within plants. *AIMS Genet* 06: 070–087
- Malagnac F, Barteel L, Bender J (2002) An Arabidopsis SET domain protein required for maintenance but not establishment of DNA methylation. *EMBO J* 21: 6842–6852
- Mali P, Aach J, Stranges PB, Esvelt KM, Moosburner M, Kosuri S, Yang L, Church GM (2013) CAS9 transcriptional activators for target specificity screening and paired nickases for cooperative genome engineering. *Nat Biotechnol* 31: 833–838
- Mallory A, Vaucheret H (2010) Form, function, and regulation of ARGONAUTE proteins. *Plant Cell* 22: 3879–3889
- Mari-Ordo'nez A, Marchais A, Etcheverry M, Martin A, Colot V, Voinnet O (2013) Reconstructing de novo silencing of an active plant retrotransposon. *Nat Genet* 45: 1029–1039
- McCue AD, Panda K, Nuthikattu S, Choudury SG, Thomas EN, Slotkin RK (2015) ARGONAUTE 6 bridges transposable element mRNA-derived siRNAs to the establishment of DNA methylation. *EMBO J* 34: 20–
- McDonald JI, Celik H, Rois LE, Fishberger G, Fowler T, Rees R, Kramer A, Martens A, Edwardsand JR, Challen GA (2016) Reprogrammable CRISPR/Cas9-based system for inducing sitespecific DNA methylation. *Biol Open* 5: 866–874
- Mette MF, Aufsatz W, Van Der Winden J, Matzke MA, Matzke AJM (2000) Transcriptional silencing and promoter DNA methylation inhibits transcription in plants. *EMBO J* 19: 8
- Miller JC, Tan S, Qiao G, Barlow KA, Wang J, Xia DF, Meng X, Paschon DE, Leung E, Hinkley SJ, et al. (2011) A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 29: 143–150
- Morales-Ruiz T, Ortega-Galisteo AP, Ponferrada-Marin MI, Martinez-Macias MI, Ariza RR, Roldan-Arjona T (2006) DEMETER and REPRESSOR OF SILENCING 1 encode 5-methylcytosine DNA glycosylases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 6853–6858
- Morbitzer R, Elsaesser J, Hausner J, Lahaye T (2011) Assembly of custom TALE-type DNA binding domains by modular cloning. *Nucleic Acids Res* 39: 5790–5799
- Morbitzer R, Romer P, Boch J, Lahaye T (2010) Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 21617–21622
- Morita S, Horii T, Kimura M, Hatada I (2020) Synergistic upregulation of target genes by TET1 and VP64 in the dCas9–suntag platform. *Int J Mol Sci* 21: 1–9
- Morita S, Noguchi H, Horii T, Nakabayashi K, Kimura M, Okamura K, Sakai A, Nakashima H, Hata K, Nakashima K, et al. (2016) Targeted DNA demethylation in vivo using dCas9-peptide repeat and scFv-TET1 catalytic domain fusions. *Nat Biotechnol* 34: 1060–1065
- Moscou MJ, Bogdanove AJ (2009) A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science* 326: 1501
- Nunez JK, Chen J, Pommier GC, Cogan JZ, Replogle JM, Adriaens C, Ramadoss GN, Shi Q, Hung KL, Samelson AJ, et al. (2021) Genome-wide programmable transcriptional memory by CRISPR-based epigenome editing. *Cell* 184: 2503–2519.e17
- Nuthikattu S, McCue AD, Panda K, Fultz D, DeFraia C, Thomas EN, Keith Slotkin R (2013) The initiation of epigenetic silencing of active transposable elements is triggered by RDR6 and 21-22 nucleotide small interfering RNAs. *Plant Physiol* 162: 116–131



- Okada M, Kanamori M, Someya K, Nakatsukasa H, Yoshimura A (2017) Stabilization of Foxp3 expression by CRISPR-dCas9-based epigenome editing in mouse primary T cells. *Epigenet Chromatin* 10: 24
- Ortega-Galisteo AP, Morales-Ruiz T, Ariza RR, Rolda'n-Arjona T (2008) Arabidopsis DEMETER-LIKE proteins DML2 and DML3 are required for appropriate distribution of DNA methylation marks. *Plant Mol Biol* 67: 671–681
- Ossowski S, Schwab R, Weigel D (2008) Gene silencing in plants using artificial microRNAs and other small RNAs. *Plant J* 53: 674–690
- Ou HD, Phan S, Deerinck TJ, Thor A, Ellisman MH, O'Shea CC (2017) ChromEMT: visualizing 3D chromatin structure and compaction in interphase and mitotic cells. *Science* 357: eaag0025
- Pan C, Wu X, Markel K, Malzahn AA, Kundagrami N, Sretenovic S, Zhang Y, Cheng Y, Shih PM, Qi Y (2021) CRISPR-Act3.0 for highly efficient multiplexed gene activation in plants. *Nat Plants* 7: 942–953
- Panda K, Ji L, Neumann DA, Daron J, Schmitz RJ, Slotkin RK (2016) Full-length autonomous transposable elements are preferentially targeted by expression-dependent forms of RNA-directed DNA methylation. *Genome Biol* 17: 1–19
- Pandey R, Mu A, Ller E, Napoli CA, Selinger DA, Pikaard CS, Richards EJ, Bender J, Mount DW, Jorgensen RA (2002) Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of Arabidopsis thaliana suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes. *Nucleic Acids Res* 30: 5036–5055
- Papikian A, Liu W, Gallego-Bartolome J, Jacobsen SE (2019) Site-specific manipulation of Arabidopsis loci using CRISPR-Cas9 SunTag systems. *Nat Commun* 10: 1–11
- Park JJ, Dempewolf E, Zhang W, Wang ZY (2017) RNA-guided transcriptional activation via CRISPR/dCas9 mimics overexpression phenotypes in Arabidopsis. *PLoS One* 12: 1–13
- Pavletich NP, Pabo C (1991) Zinc finger-DNA recognition: crystal structure of a Zif268-DNA complex at 2.1 Å. *Science* 252: 809–818
- Penterman J, Zilberman D, Huh JH, Ballinger T, Henikoff S, Fischer RL (2007) DNA demethylation in the Arabidopsis genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 6752–7
- Perez-Pinera P, Kocak DD, Vockley CM, Adler AF, Kabadi AM, Polstein LR, Thakore PI, Glass KA, Ousterout DG, Leong KW, et al. (2013) RNA-guided gene activation by CRISPR-Cas9-based transcription factors. *Nat Methods* 10: 973–976
- Pflueger C, Tan D, Swain T, Nguyen T, Pflueger J, Nefzger C, Polo JM, Ford E, Lister R (2018) A modular dCas9-SunTag DNMT3A epigenome editing system overcomes pervasive off-target activity of direct fusion dCas9-DNMT3A constructs. *Genome Res* 28: 1193–1206
- Pfluger J, Wagner D (2007) Histone modifications and dynamic regulation of genome accessibility in plants. *Curr Opin Plant Biol* 10: 645–652
- Piatek A, Ali Z, Baazim H, Li L, Abulfaraj A, Al-Shareef S, Aouida M, Mahfouz MM (2015) RNA-guided transcriptional regulation in planta via synthetic dCas9-based transcription factors. *Plant Biotechnol J* 13: 578–589
- Pikaard CS, Mittelsten Scheid O (2014) Epigenetic regulation in plants. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6: a019315–a019315
- Qi LS, Larson MH, Gilbert LA, Doudna JA, Weissman JS, Arkin AP, Lim WA (2013) Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell* 152: 1173–1183
- Raja P, Sanville BC, Buchmann RC, Bisaro DM (2008) Viral genome methylation as an epigenetic defense against geminiviruses. *J Virol* 82: 8997–9007
- Ren Q, Sretenovic S, Liu S, Tang X, Huang L, He Y, Liu L, Guo Y, Zhong Z, Liu G, et al. (2021) PAM-less plant genome editing using a CRISPR-SpRY toolbox. *Nat Plants* 7: 25–33
- Richmond TJ, Davey CA (2003) The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature* 423: 145–150
- Roca Paix-ao JF, Gillet FX, Ribeiro TP, Bournaud C, Lourenc, Tessutti IT, Noriega DD, Melo BP de, de Almeida-Engler J, Grossi-de-Sa MF (2019) Improved drought stress tolerance in Arabidopsis by CRISPR/dCas9 fusion with a histone Acetyl Transferase. *Sci Rep* 9: 1–9
- Roudier F, Teixeira FK, Colot V (2009) Chromatin indexing in Arabidopsis: an epigenomic tale of tails and more. *Trends Genet* 25: 511–517
- Sánchez JP, Ullman C, Moore M, Choo Y, Chua NH (2002) Regulation of gene expression in Arabidopsis thaliana by artificial zinc finger chimeras. *Plant Cell Physiol* 43: 103–114
- Sandhya D, Jogam P, Allini VR, Abbagani S, Alok A (2020) The present and potential future methods for delivering CRISPR/Cas9 components in plants. *J Genet Eng Biotechnol* 18: 25 doi: 10.1186/s43141-020-00036-8
- Schwab R, Ossowski S, Riester M, Warthmann N, Weigel D (2006) Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in Arabidopsis. *Plant Cell* 18: 1121–1133
- Segal DJ, Dreier B, Beerli RR, Barbas CF (1999) Toward controlling gene expression at will: Selection and design of zinc finger domains recognizing each of the 5<sup>0</sup>-GNN-3<sup>0</sup> DNA target sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 2758–2763
- Selma S, Bernabe-Orts JM, Vazquez-Vilar M, Diego-Martin B, Ajenjo M, Garcia-Carpintero V, Granell A, Orzaez D (2019) Strong gene activation in plants with genome-wide specificity using a new orthogonal CRISPR/Cas9-based programmable transcriptional activator. *Plant Biotechnol J* 17: 1703–1705
- Sigman MJ, Panda K, Kirchner R, McLain LL, Payne H, Peasari JR, Husbands AY, Slotkin RK, McCue AD (2021) An siRNA-guided ARGONAUTE protein directs RNA polymerase V to initiate DNA methylation. *Nat Plants* 7: 1461–1474
- Slotkin RK, Freeling M, Lisch D (2005) Heritable transposon silencing initiated by a naturally occurring transposon inverted duplication. *Nat Genet* 37: 641–644
- Sorek R, Lawrence CM, Wiedenheft B (2013) CRISPR-mediated adaptive immune systems in bacteria and archaea. *Annu Rev Biochem* 82: 237–266
- Stege JT, Guan X, Ho T, Beachy RN, Barbas CF (2002) Controlling gene expression in plants using synthetic zinc finger transcription factors. *Plant J* 32: 1077–1086
- Stroud H, Do T, Du J, Zhong X, Feng S, Johnson L, Patel DJ, Jacobsen SE (2014) Non-CG methylation patterns shape the epigenetic landscape in Arabidopsis. *Nat Struct Mol Biol* 21: 64–72
- Stroud H, Greenberg MVC, Feng S, Bernatavichute Y V., Jacobsen SE (2013) Comprehensive analysis of silencing mutants reveals complex regulation of the Arabidopsis methylome. *Cell* 152: 352–364
- Tanenbaum ME, Gilbert LA, Qi LS, Weissman JS, Vale RD (2014) A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging. *Cell* 159: 635–646
- Tang S, Yang C, Wang D, Deng X, Cao X, Song X (2021) Targeted DNA demethylation produces heritable epialleles in rice. *Sci China Life Sci* 1: 1–4
- Tang X, Lowder LG, Zhang T, Malzahn AA, Zheng X, Voytas DF, Zhong Z, Chen Y, Ren Q, Li Q, et al. (2017) A CRISPR – Cpf1 system for efficient genome editing and transcriptional repression in plants. *Nat Plants* 3: 17018



- Tiwari SB, Belachew A, Ma SF, Young M, Ade J, Shen Y, Marion CM, Holtan HE, Bailey A, Stone JK, et al. (2012) The EDLL motif: a potent plant transcriptional activation domain from AP2/ERF transcription factors. *Plant J* 70: 855–865
- Tsuji S, Futaki S, Imanishi M (2016) Sequence-specific recognition of methylated DNA by an engineered transcription activator-like effector protein. *Chem Commun* 52: 14238–14241
- Valton J, Dupuy A, Daboussi F, Thomas S, Marechal A, Macmaster R, Mellian K, Juillerat A, Duchateau P (2012) Overcoming transcription activator-like effector (TALE) DNA binding domain sensitivity to cytosine methylation. *J Biol Chem* 287: 38427–38432
- Wesley VS, Helliwell CA, Smith NA, Wang M, Rouse DT, Liu Q, Gooding PS, Singh SP, Abbott D, Stoutjesdijk PA, et al. (2001) Construct design for efficient, effective and high-throughput gene silencing in plants. *Plant J* 27: 581–590
- Vazquez-Vilar M, Bernabe-Orts JM, Fernandez-del-Carmen A, Ziarsolo P, Blanca J, Granell A, Orzaez D (2016) A modular toolbox for gRNA-Cas9 genome engineering in plants based on the GoldenBraid standard. *Plant Methods* 12: 1–12
- Vazquez F, Blevins T, Ailhas J, Boller T, Meins F (2008) Evolution of Arabidopsis MIR genes generates novel microRNA classes. *Nucleic Acids Res* 36: 6429–6438
- Vojta A, Dobrinic P, Tadic V, Bockor L, Korac P, Julg B, Klasic M, Zoldos V (2016) Repurposing the CRISPR-Cas9 system for targeted DNA methylation. *Nucleic Acids Res* 44: 5615–5628
- Walton RT, Christie KA, Whittaker MN, Kleinstiver BP (2020) Unconstrained genome targeting with near-PAMless engineered CRISPR-Cas9 variants. *Science* 368: 290–296
- Wang L, Rinaldi FC, Singh P, Doyle EL, Dubrow ZE, Tran TT, Perez-Quintero AL, Szurek B, Bogdanove AJ (2017) TAL effectors drive transcription bidirectionally in plants. *Mol Plant* 10: 285–296
- Wassenegger M, Heimes S, Riedel L, Saenger HL (1994) RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. *Cell* 76: 567–576
- Williams BP, Pignatta D, Henikoff S, Gehring M (2015) Methylation-sensitive expression of a DNA demethylase gene serves as an epigenetic rheostat. *PLoS Genet* 11: e1005142
- Woo HR, Dittmer TA, Richards EJ (2008) Three SRA-domain methylcytosine-binding proteins cooperate to maintain global CpG methylation and epigenetic silencing in Arabidopsis. *PLoS Genet* 4: e1000156
- Woo HR, Pontes O, Pikaard CS, Richards EJ (2007) VIM1, a methylcytosine-binding protein required for centromeric heterochromatinization. *Genes Dev* 21: 267–277
- Wu L, Mao L, Qi Y (2012) Roles of DICER-LIKE and ARGONAUTE proteins in TAS-derived small interfering RNA-triggered DNA methylation. *Plant Physiol* 160: 990–999
- Wu L, Zhou H, Zhang Q, Zhang J, Ni F, Liu C, Qi Y (2010) DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Mol Cell* 38: 465–475
- Xiao J, Lee US, Wagner D (2016) Tug of war: adding and removing histone lysine methylation in Arabidopsis. *Curr Opin Plant Biol* 34: 41–53
- Xie Z, Allen E, Wilken A, Carrington JC (2005) DICER-LIKE 4 functions in trans-acting small interfering RNA biogenesis and vegetative phase change in Arabidopsis thaliana. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 12984–12989
- Xu L, Zhao Z, Dong A, Soubigou-Taconnat L, Renou J-P, Steinmetz A, Shen W-H (2008) Di- and Tri- but not monomethylation on histone H3 lysine 36 marks active transcription of genes involved in flowering time regulation and other processes in Arabidopsis thaliana. *Mol Cell Biol* 28: 1348–1360
- Xu P, Zhang Y, Kang L, Roossinck MJ, Mysore KS (2006) Computational estimation and experimental verification of off-target silencing during posttranscriptional gene silencing in plants. *Plant Physiol* 142: 429–440
- Xu X, Tao Y, Gao X, Zhang L, Li X, Zou W, Ruan K, Wang F, Xu G-L, Hu R (2016) A CRISPR-based approach for targeted DNA demethylation. *Cell Discov* 2: 16009
- Xue Y, Zhong Z, Harris CJ, Gallego-Bartolome J, Wang M, Picard C, Cao X, Hua S, Kwok I, Feng S, et al. (2021) Arabidopsis MORC proteins function in the efficient establishment of RNA directed DNA methylation. *Nat Commun* 12: 1–13
- Yang DL, Zhang G, Tang K, Li J, Yang L, Huang H, Zhang H, Zhu JK (2016) Dicer-independent RNA-directed DNA methylation in Arabidopsis. *Cell Res* 26: 66–82
- Ye R, Chen Z, Lian B, Rowley MJ, Xia N, Chai J, Li Y, He XJ, Wierzbicki AT, Qi Y (2016) A dicer-independent route for biogenesis of siRNAs that direct DNA methylation in Arabidopsis. *Mol Cell* 61: 222–235
- Zhang F, Cong L, Lodato S, Kosuri S, Church GM, Arlotta P (2011) Efficient construction of sequence-specific TAL effectors for modulating mammalian transcription. *Nat Biotechnol* 29: 149–154
- Zhang X, Bernatavichute Y V., Cokus S, Pellegrini M, Jacobsen SE (2009) Genome-wide analysis of mono-, di- and trimethylation of histone H3 lysine 4 in Arabidopsis thaliana. *Genome Biol* 10: 1–14
- Zhang X, Germann S, Blus BJ, Khorasanizadeh S, Gaudin V, Jacobsen SE (2007) The Arabidopsis LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation. *Nat Struct Mol Biol* 14: 869–871
- Zhang X, Kang L, Zhang Q, Meng Q, Pan Y, Yu Z, Shi N, Jackson S, Zhang X, Wang H, et al. (2020) An RNAi suppressor activates in planta virus-mediated gene editing. *Funct Integr Genomics* 20: 471–477
- Zhao Z, Yu Y, Meyer D, Wu C, Shen WH (2005) Prevention of early flowering by expression of FLOWERING LOCUS C requires methylation of histone H3 K36. *Nat Cell Biol* 7: 1156–1160
- Zhong Z, Feng S, Duttke SH, Potok ME, Zhang Y, Gallego-Bartolome J, Liu W, Jacobsen SE (2021) DNA methylation-linked chromatin accessibility affects genomic architecture in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 118: e2023347118 doi: 10.1073/pnas.2023347118

## 5. A célnyelvi szöveg

Jason Gardiner, Basudev Ghoshal, Ming Wang and Steven E. Jacobsen

**CRISPR – Cas-közvetített transzkripció kontroll és epimutagenézis**  
részlet

Plant Physiology 2022. Mar. 28.;188(4):1811-1824.  
DOI: 10.1093/plphys/kiac033.; PMID: 35134247; PMCID: PMC8968285



# CRISPR – Cas-közvetített transzkripció kontroll és epimutagenézis

Jason Gardiner <sup>1</sup>, Basudev Ghoshal <sup>1</sup>, Ming Wang <sup>1</sup> és Steven E. Jacobsen <sup>1,2,\*</sup>,†

<sup>3</sup> Molekuláris-, Sejt- és Fejlődésvilági Tanszék, Kaliforniai Egyetem, Los Angeles, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok

<sup>4</sup> Howard Hughes Orvosi Intézet (HHMI), Kaliforniai Egyetem, Los Angeles, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok

\*levelező szerző: jacobsen@ucla.edu

J.G., B.G. és M.W. szerzők hozzájárulása egyenlő

† vezető szerző

Az összes szerző részt vett a cikk megírásában.

A „Útmutató a szerzőknek” (<https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions>) című dokumentumban leírt irányelvekkel összhangban a cikkben bemutatott megállapítások szerves részét képező anyagok terjesztésért felelős szerző Steven E. Jacobsen (jacobsen@ucla.edu).

Frissítés

## Összefoglaló

A szekvencia-specifikus DNS-kötésen alapuló eszközök lehetővé tették a biológia és a növénynevelés alapvető kérdéseinek új megközelítésekkel való vizsgálatát. Bár számos platform közül választhatunk, a közelmúlt legtöbb, szekvencia-specifikus célzóeszközökre irányuló fejlesztése a csoportosan előforduló, egymástól egyenlő távolságra levő rövid palindromikus ismétlődéseken (angolul Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, röviden CRISPR), és a velük kapcsolt Cas enzimen alapuló rendszerekre összpontosított. Egy katalitikusan inaktív Cas-fehérjét (dCas) használó rendszer különböző moduláris katalitikus domének (effektor domének) bevitelével alkalmas lehet a génkifejeződés vagy epigenetikai jelek – mint például a DNS-metiláció – megváltoztatására. A CRISPR-dCas-alapú rendszerek fejlesztésének egyik legújabb irányvonala, hogy több effektor domént juttassanak egy kijelölt helyre, olyan epigenetikai módosításokat létrehozva, amelyek akár a létrehozó génkonstrukció hiányában is nemzedékeken keresztül öröklődhetnek, és az effektor domének és célzó stratégiák kombinációjával szinergikusan növelve a rendszer funkcionalitását vagy hatékonyságát. Ez az áttekintő cikk összefoglalja és összehasonlítja a DNS-célzó technológiákat, a transzkripció szabályozást célba vevő és epimutagenézist kiváltó effektor doméneket, valamint a növényekben használt különböző CRISPR-dCas rendszereket.

## Bevezetés

Az elmúlt három évtizedben a szekvencia-specifikus DNS kötést használó eszközök fejlesztésének köszönhetően olyan technológiák jöttek létre, amelyek célzottan képesek szabályozni a géntranszkripciót és az epimutagenézist. Könnyű használhatósága miatt újabban a CRISPR-Cas-alapú, de katalitikusan inaktív Cas-fehérjét használó eszközök fejlesztése került előtérbe. Az inaktív Cas enzimhez egy sor különféle effektor fehérjét forrasztva lehetővé válik a transzkripció célzott szabályozása vagy egy meghatározott lókuszt epimutagenézise. Ennek köszönhetően a CRISPR–Cas használhatósága ma már túlmutat a génszerkesztésen.

Ezek a konstrukciók azon alapulnak, hogy a bazális transzkripcióhoz szükséges fehérjét, vagy epigenetikai faktorokat vonzanak a célzott gén transzkripciójának megváltoztatására. Míg a bazális transzkripció gépezet odavonzása megköveteli egy célzó-konstrukció jelenlétét, addig a DNS-metilációban bekövetkező változások alkalmanként mitotikusan és meiotikusan öröklődhetnek, így lehetővé téve, hogy az epimutáció a létrehozó konstrukció hiányában is fennmaradjon az elkövetkező generációkban (Johnson et al., 2014; GallegoBartolome et al., 2018; Papikian et al., 2019). A DNS-metiláció átöröklődése néhány lókuszt esetében jól dokumentált, azonban további vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy megértsük milyen gyakori

## ELŐRELÉPÉSEK

- Napjainkban a DNS-célzó rendszerek fejlődésének középpontjában főként a peptidfarkat és RNS-kötő fehérjéket tartalmazó CRISPR–dCas rendszerek kifejlesztése áll, ami a rendszer számára lehetővé tenné, hogy bármely adott effektor fehérjéből egyszerre többet is toborozzon.
- A DNS-metiláció módosítására képes effektor fehérje doméneket már sikeresen alkalmazták, és egyes esetekben kimutatták, hogy a módosítások a célzó-konstrukció hiányában is öröklhetők a következő generációra.
- Az általános moduláris aktivátor doméneket használó, fúzió és egyidejű-célzáson alapuló stratégiák szinergikusan a transzkripciót magasabb szinten aktiválhatják, mint a csak egy típusú aktivátor domént alkalmazó típusok.
- A CRISPR–dCas rendszerek használhatóak a génműködés gátlására moduláris represszor domének, DNS-metiláció vagy CRISPRi alkalmazásával.

a kiváltott metilációs változások stabil átöröklődése a következő generációba (Lloyd és Lister, 2021). A legtöbb növényi epigenetikai jel valószínűleg nem öröklődik nemzedékről nemzedékre, mivel vagy törlik a reproduktív fejlődési szakasz során, vagy dinamikusan változik a génexpressziós változásokkal párhuzamosan. Ahogy különböző, specifikus epigenetikai jeleket módosítani képes moduláris katalitikus domének (effektor domének) hozzáadásával továbbfejlesztjük a célzórendszereket, ezeknek a jeleknek a funkciója és öröklhetősége könnyebben vizsgálható. Ennek az eszköztárnak a kibővítése olyan lehetőségekhez vezet, ahol csak a saját céljainktól függ, hogy a létrehozott változások mitotikusan vagy meiotikusan öröklődnek vagy sem.

A transzkripció szabályozás és az epimutagenézis célzott befolyásolását növényekben már korábban is alkalmazták a szárazsággal szembeni ellenálló képességük növelésére, fejlődési fenotípusuk megváltoztatására és esszenciális fehérjék közötti kölcsönhatások jobb megértésére, valamint annak a mélyebb megismerésére, hogy a növények hogyan hozzák létre, tartják fenn és használják a DNS-metilációt (Johnson et al., 2014; Harris et al., 2018; Gallego-Bartolome et al., 2019; Papikian et al., 2019; Roca Paix~ao et al., 2019; Ichino et al., 2021; Lee et al., 2021; Leydon et al., 2021; Liu et al., 2021; Tang et al., 2021; Xue et al., 2021). Ahogy a hatékonyság javításával és a rendelkezésre álló effektor domének bővítésével folyamatosan fejlesztjük ezeket az eszközöket, egyre több alkalmazási lehetőség merül fel a kutatásban és az iparban. Azok az alapkérdések, amelyek egykor a mutációk és a különböző stressz- és kémiai kezelések hatásának tanulmányozásából származó általánosságokon és összefüggéseken alapultak, most olyan célzott vizsgálatokkal kutathatóak, amelyek ok-okozati adatokat szolgáltatnak és ezzel lókuszt specifikus funkciókat tárnak fel. Bár ezen eszközök közül sokat állatokon fejlesztettek és mutattak be, a növények izgalmas lehetőséget biztosítanak továbbfejlesztésükhöz és alkalmazásukhoz mind kutatási, mind mezőgazdasági szempontból.

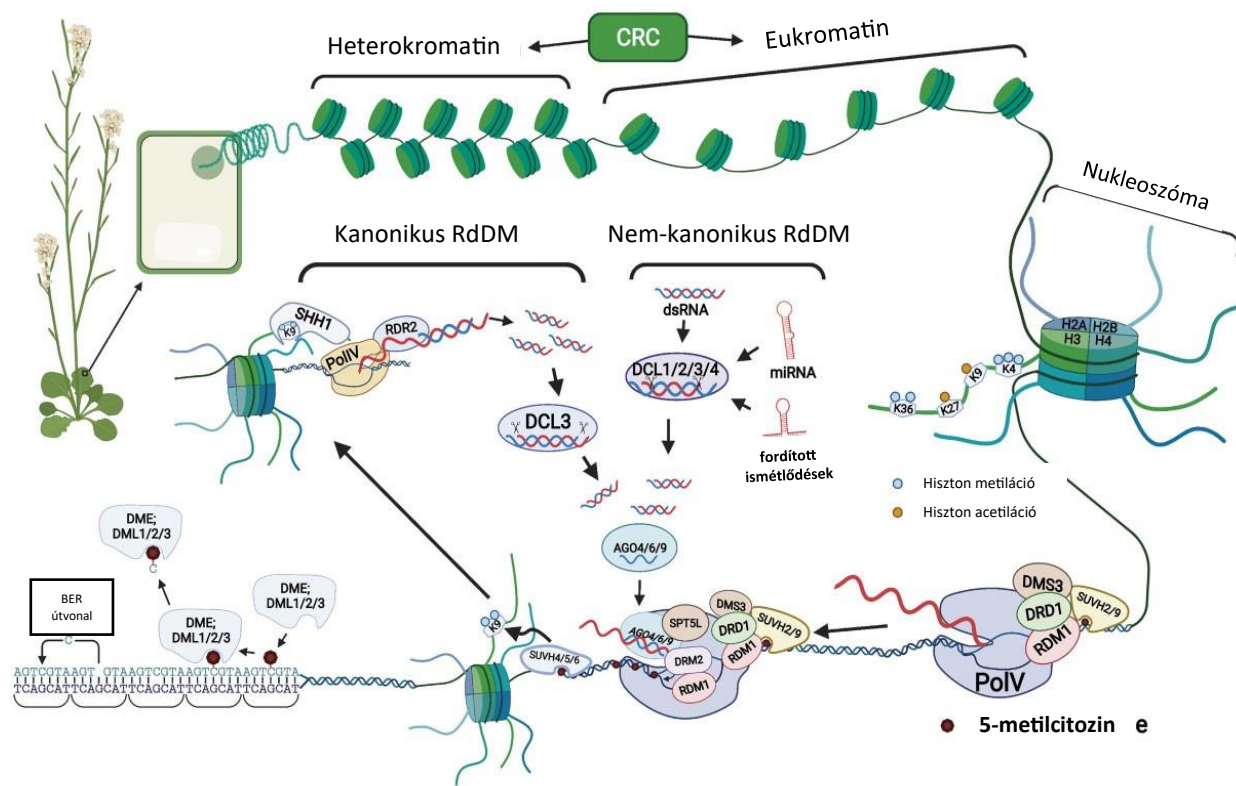
Ebben az áttekintő cikkben a CRISPR–dCas alapú technológiákat használó, célzott transzkripció szabályozással és epimutagenézissel foglalkozó, növényekben végzett kutatások legújabb felfedezéseit és fejlesztéseit foglaljuk össze.

## Epigenetika és növényi génexpresszió

Az eukarióta DNS 146 bázispár (bp) hosszú DNS-szegmensekbe van csomagolva, amelyek a nukleoszómaként ismert hiszton oktamer köré fonódnak (Luger et al., 1997; Richmond és Davey, 2003; Ou et al., 2017). A nukleoszómak a kromatin alapegységei, és két fő konfigurációt vehetnek fel. Az eukromatin kevésbé kompakt és jobban hozzáférhető a transzkripció faktorok és más fehérjék számára, a heterokromatin pedig kompaktabb és kevésbé hozzáférhető (Roudier et al., 2009) (1.ábra). Ez azt jelenti, hogy a génszabályozás nemcsak a transzkripció faktorok meglététől, illetve hiányától függ, hanem a kromatin hozzáférhetőségétől is (Li et al., 2007). A kromatin állapota kromatin átrendező (remodelling) komplexekkel (CRC), hiszton módosítókkal, hiszton változatokkal és DNS-metilációval változtatható meg, amelyek együttesen aktiválják vagy gátolják az eukarióták különböző transzkripció hálózatait (Li et al., 2007; Bannister és Kouzarides, 2011; Pikaard és Mittelsten Scheid, 2014; Zhong et al., 2021).

Lúdfűben (*Arabidopsis thaliana*) a CRC-k, például a SWITCHING DEFECTIVE 2/SUCROSE NON-FERMENTING 2 (SWI2/SNF2) fehérjék ATP hidrolízist használnak a nukleoszómak szerkezetének vagy elhelyezkedésének megváltoztatására, így szabályozva a kromatin hozzáférhetőségét a transzkripció faktorok és egyéb szabályozó fehérjék számára (Corona és Tamkun, 2004; Jiang és Pugh, 2009). A CRC-k mellett hiszton módosítások és hiszton változatok is hatással vannak a transzkripció génszabályozásra a hiszton-DNS kölcsönhatások szabályozásán keresztül (Feng et al., 2010; Bannister és Kouzarides, 2011). A központi hisztonok szabadon álló N-terminális farkán különféle poszttranszlációs módosítások lehetnek, mint az acetiláció, metiláció, foszforiláció, ubiquitináció, szumoiláció, stb. (Pfluger és Wagner, 2007). A hisztonmódosítások hozzáadása vagy eltávolítása a transzkripció aktiválását vagy gátlását eredményezi (Feng et al., 2010; Bannister és Kouzarides, 2011). Ha például hiszton-acetiltransferázok által acetilálódik a hisztonfarkok, akkor transzkripció aktiváció lép fel, míg az acetiláció hiszton-dezacetilázokon keresztül történő eltávolításával transzkripció gátlás (Pandey et al., 2002; Lawrence et al., 2004).

A hiszton acetilációval ellentétben - amely megfelel a transzkripció aktiválásának - a hiszton metiláció összefüggésbe hozható a transzkripció aktiválásával és gátlásával is, attól függően, hogy melyik lizin oldalláncok metilálódnak (Xiao et al., 2016). Például három metilcsoport a hármas hiszton farkának negyedik lizinjén (H3K4me3), illetve a H3K36me2 és H3K36me3 a transzkripció aktiválását okozza (Zhao et al., 2005; Xu et al., 2008; Zhang et al., 2009; Ding et al., 2012) (1.ábra). Ezzel ellentétben a H3K27me1, a H3K27me3 és a H3K9me2 transzkripció gátlással jár (Goodrich et al., 1997; Gendall et al., 2001; Jackson et al., 2002; Malagnac et al., 2002; Johnson et al., 2007; Zhang et al., 2007; Bernatavichute et al., 2008; Jacob et al., 2009; Du et al., 2012).



**1. ábra** A hiszton módosulások és a DNS epigenetikai módosításainak áttekintése. A heterokromatin egy kompaktabb, az eukromatin egy kevésbé kompakt kromatin állapotot képvisel, amit a CRC-k képesek befolyásolni. A kromatin alapegysége a nukleoszóma, ami a DNS-sel becsomagolt hisztonokból áll. A hisztonfarok és a DNS-ben található citozin egyaránt epigenetikailag módosítható. Hisztonfarok-módosítások: a hisztonfarok különféle epigenetikai jelekkel módosítható, beleértve a metilációt, acetylációt, foszforilációt, szumoilációt stb. A hiszton epigenetikai jelei összefüggésben vannak a transzkripció génszabályozással. Például a H3 lizin 4 trimetilációja (H3K4me3) vagy acetylációja, és a H3K36me3 a transzkripció aktivációhoz kapcsolódik. De novo DNS-citozin metiláció: A citozinok de novo metilezhetőek az RdDM útvonalon keresztül. A kanonikus RdDM során a SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOGUE 1 felismeri azokat a helyeket, ahol a hiszton 3 farok kilencedik lizinje (H3K9) metilcsoportokat tartalmaz, majd közvetlen kölcsönhatás révén ezekhez a helyekhez sorakoztatja fel a polimeráz IV-et (Pol IV), ami a 32 nt rövid szálú RNS transzkriptek képződését indítja el. A Pol IV ezt a transzkriptumot közvetlenül az RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE 2-be (RDR2) táplálja, amely az egyszálú RNS-transzkripteket kettős szálú RNS-ekké alakítja, amiket a DICER-LIKE 3 (DCL3) RNáz III endonukleáz 24 nt kis interferáló RNS-ekké (siRNS-ek) emészt, majd betölti az ARGONAUTE 4, 6 vagy 9-be (AGO4/6/9). Ezzel egyidejűleg egy komplex, amelyet a 2-es vagy 9-es SU(VAR) homologók (SUVH), a DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), a DEFECTIVE IN RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (DRD1), a RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1) és a Pol V alkot, a DNS-metiláció és a SUVH2/9 közötti kölcsönhatás révén a lókuszra kerül. Az siRNS-AGO4/6/9 komplex felismeri a Pol V RNS transzkriptumok szerkezetét a SUPPRESSOR OF TY 5-LIKE (SPT5L) segítségével. Ezt követően a DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) az srNS-hez kötött AGO4/6/9 által, az RDM1-en keresztül felismert helyekre gyülekezik, lehetővé téve a DRM2 számára, hogy metilálja a szomszédos DNS-t. A DRM2 metilálja a kijelölt DNS-t, a SUVH4/5/6 megköti a metilált DNS-t, és a H3K9 metilációját okozza. Ez vonzza az útvonal Pol IV ágát, ezáltal pozitív visszacsatolási hurkot hoz létre, amely segít fenntartani az újonnan hozzáadott metilációt. Néha a Pol IV-től eltérő forrásból származó siRNS-ek épülnek be az RdDM folyamatába, amit nem-kanonikus RdDM-nek nevezünk. Ezek az siRNS-ek fordított ismétlődésekből, miRNS-prekursorokból, hasított mRNS-fragmensekből vagy más nem kódoló dsRNS-ekből képződnek, amelyeket DCL fehérjék vagy az AGO4 és exonukleázok kombinációja dolgoz fel, betöltve ezeket AGO4/6/9-be, és közvetlenül toborozzák az útvonal Pol V ágát a célhelyhez. A DNS-metiláció eltávolítása: A DEMETER (DME) kettős funkciójú glikoziláz/liáz fehérje család tagjai a DME, a DME -LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2 és DML3. Ezek képesek aktívan eltávolítani a metilált citozinokat, melyek helyére nem-metilált citozin kerül a báziskivágó DNS javítási (angolul base excision repair, BER) mechanizmus során. BioRender.com segítségével készült

A DNS citozin metilációja növényekben a CG, CHG és CHH szekvencia kontextusban fordul elő (H bármilyen nukleotid lehet G kivételével) és szintén összefüggésbe hozták a génszabályozással. A DNS-metiláció jelenléte gátolhatja, hiánya pedig aktiválhatja az érintett helyhez közeli gének vagy mozgó genetikai elemek (transzpozonok) kifejeződését. Növényekben a DNS-metilációt négy különböző DNS-metiláció karbantartó útvonal tartja fenn, valamint létrejöhet *de novo* az RNS-függő DNS metilációs (RdDM) útvonalon keresztül (Law és Jacobsen, 2010). A kanonikus RdDM útvonal két ágra osztható: a Polimeráz IV (Pol IV) ágra, amely a kis interferáló

RNS-ek (siRNS-ek) képződéséért felelős, és a Pol V ágra, amely egy RNS vázat biztosítja a DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) számára, hogy az a célhelyhez találjon (Erdmann és Picard, 2020) (1.ábra). Bár a legtöbb, az RdDM által használt siRNS-t a Pol IV-RDR2 komplex termeli (Herr et al., 2005; Raja et al., 2008; Stroud et al., 2013; Huang et al., 2021), kis mennyiségben más forrásokból is származnak. Ilyen források a fordított ismétlődések, a mikroRNS (miRNS) prekursorok, az mRNS fragmentek és más nem-Pol IV eredetű, nem kódoló RNS-ek, amelyek egy nem-kanonikus RdDM útvonalat indítanak be. Ezek az siRNS-ek az ARGONAUTE (AGO) fehérjékbe töltődve a Pol V komplexet irányítják





1. Táblázat Célzórendszerek összehasonlítása

Paraméterek	sRNS	TALE	Cink-ujj	CRISPR–dCas9
1. Célhelyek	Nincs limit	Minden 35. bp	Minden 200-500. bp	PAM helyek függvénye Új, PAM nélküli CRISPR-változatok állnak rendelkezésre, amelyek növelik az elérhető célhelyek számát
2. Specifitás	Kevésbé specifikus	Specifikusabb, mint más technológiák	Kevésbé specifikus	Rendkívül specifikus
3. Felhasználóbarát	Könnyen klónoozható konstrukciók	Klónozás munka- és időigényes	Klónozás munka- és időigényes	Könnyen klónoozható konstrukciók
a. Klónozás				
b. Átalakíthatóság új helyek célzására	Nagyon könnyen átalakítható – csak a prekursor RNS-szekvenciát kell módosítani	Kevésbé könnyen átalakítható – minden új célhelyhez új fehérjét kell tervezni; a fehérjetervezés kiszámíthatatlan lehet	Kevésbé könnyen átalakítható – minden új célhelyhez új fehérjét kell tervezni; a fehérjetervezés kiszámíthatatlan lehet	Nagyon könnyen átalakítható – csak a guide RNS-szekvenciát kell módosítani
c. Költség	Új helyek megcélzása a prekursor szekvencia módosításán alapszik, ami kevésbé költséges	Drága lehet, mivel több TALE tesztelése szükséges új célhelyek esetén	Drága lehet, mivel több cink-ujj tesztelése szükséges új célhelyek esetén	Új helyek megcélzása a guide RNS szekvencia módosításán alapszik, ami kevésbé költséges

null mutációk letalitását (Ossowski et al., 2008). Az endogén keletkező siRNS-ek és miRNS-ek a DICER-LIKE (DCL) fehérjék hasítási termékei. A siRNS-ek a kettős szálú RNS-ekből (dsRNS-ek), a miRNS-ek hajtú szerkezetű primer miRNS transzkriptumokból képződnek (Kurihara és Watanabe, 2004; Xie et al., 2005) (2.A ábra). A siRNS-ek és miRNS-ek az AGO fehérjékhez kapcsolódva alakítják ki az RNS-irányított csendesítő komplexet (Mallory és Vaucheret, 2010), ami csendesíti a komplementer szekvenciával rendelkező célgént (Huang et al., 2019). A szintetikus siRNS-ek és miRNS-ek növényekben történő előállításának egyik legnépszerűbb módszere a hajtú RNS-ek vagy intron szekvenciákkal összekapcsolt fordított ismétlődések kifejeztetése. A hajtú RNS-t a növényi DCL fehérjék ismerik fel és hasítják siRNS-ekké, majd ezt követően idézik elő a célgén csendesítését (Chuang és Meyerowitz, 2000; Wesley et al., 2001). Ezeket gyakran úgy tervezik, hogy exon régiókat célozva poszttranszkripció géncsökkentést váltanak ki, de úgy is megtervezhetők, hogy a promóter régiókat megcélözva RdDM-irányított csendesítés jöjjön létre (Mette et al., 2000; Dadami et al., 2014; Williams et al., 2015; Gallego-Bartolome et al., 2019). Egyéb, kis RNS-közvetített géncsökkentési megközelítés például a vírus-indukált (Wassenegger et al., 1994; Baulcombe, 1999; Burch-Smith et al., 2004), illetve a mesterséges miRNS általi géncsökkentés (Schwab et al., 2006; Ossowski et al., 2008).

Bár a szintetikus siRNS-ek és miRNS-ek használhatóak célzott géncsökkentésre, de nem képesek más faktorok toborzására vagy a célzott aktiválásra, továbbá hajlamosak célt téveszteni, ami az ún. off-target hatás (Xu et al., 2006; Ossowski et al., 2008) (1. Táblázat). Az effektor domének szekvenciafüggő célzására képes technológiák a gátlás mellett lehetővé teszik a transzkripció aktiválás specifikusabb szabályozását is.

Szekvenciafüggő DNS-kötő modulok

Cink-ujjak

A cink-ujj (ZF) technológia az egyik legkorábbi és legjobban jellemzett eszköz az effektor domének meghatározott genom

regiókhoz történő irányításához. Ezek a fehérjék jellemzően klasszikus C2H2 ZF szerkezetűek, két β-redő és egy α-hélix struktúrával, amit hidrofób kölcsönhatások és egy cink ion tartanak fenn (Lee et al., 1989). Minden ujj elsődlegesen egy egyedi, 3 bp hosszúságú DNS-szekvenciát ismer fel és köt, amelyet az α-hélix aminosav oldalláncai határoznak meg (Pavletich és Pabo, 1991; Elrod-Erickson et al., 1996) (2.B ábra). Ez az aminosav szekvencia módosítható és többszörösíthető, hogy olyan mesterséges, több ujj doménnel rendelkező ZF fehérjéket hozzunk létre, amelyek képesek megkülönböztetni a célhely DNS-szekvenciáját a genom többi részétől (Liu et al., 1997; Segal et al., 1999; Dreier et al., 2001). Ha ezeket a mesterséges ZF-eket egy effektor doménnel fuzionáltatjuk a transzkripció aktiválása vagy gátlása érhető el. Bár a ZF célzórendszereket széles körben használják, számos hátrányuk van a többi rendszerhez képest, például a specifikusság viszonylagos hiánya, amelyeket az 1. Táblázatban vázoltunk fel (Beerli et al., 1998; Johnson et al., 2014; Gallego-Bartolome et al., 2019; Gardiner et al., 2020; Liu et al., 2021).

Transzkripció aktivátor-szerű effektorok

A ZF-ekhez hasonlóan, a Transzkripció aktivátor-szerű effektorok (angol megfelelője a TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTORS, röviden TALE) olyan sajátos aminosav szekvenciákat tartalmaznak, amelyek lehetővé teszik specifikus DNS-szekvenciák programozható felismerését (2.C ábra). A TALE DNS kötő doménje kb. 18 egységnyi ismétlődésből áll, amelyek mindegyike 34 aminosavat tartalmaz. A 12. és 13. pozícióban elhelyezkedő aminosav variábilis és az egységek kötődési specifitását irányítja. Ezt a két variábilis aminosavat ismétlődésenként eltérő aminosavpárnak nevezzük (angol megfelelője repeat-variable diresidue, röviden RVD) (Boch et al., 2009; Moscou és Bogdanove, 2009) (2.C ábra). Az ismétlődő egységek átrendezésével meghatározott szekvenciákat célzó, formatervezett TALE hozható létre (Boch et al., 2009; Morbitzer

et al., 2010). További, egyedi helyeket célzó TALE-k összeállításához az ismétlődő egységek olyan elrendezésben kell legyenek, hogy az RVD nukleotid preferenciája megegyezzen a célhellyel. Egyes RVD-k kizárólag a metilált vagy nem metilált DNS-hez kötődnek (Bultmann et al., 2012; Deng et al., 2012; Valton et al., 2012; Tsuji et al., 2016) és ezt a tulajdonságukat kihasználva olyan TALE konstrukciók készíthetők, amelyek különbséget tudnak tenni metilált és nem metilált felismerési helyek között (Deng et al., 2012; Valton et al., 2012; Tsuji et al., 2016). Noha a TALE hatékony eszköz, összeállítása nehézkes az ismétlődő egységek miatt, amelyek csupán két aminosavban különböznek egymástól (Cermak et al., 2011; Morbitzer et al., 2011; Zhang et al., 2011) (1. Táblázat).

### CRISPR–Cas közvetlen fúzió

A CRISPR–Cas rendszerek a genom meghatározott régióinak megcélzására használhatók. Ezek a rendszerek a baktériumokban és archaeákban kifejlődött adaptív immunrendszerként a természetben is előfordulnak (Sorek et al., 2013). A ZF vagy TALE rendszerekkel ellentétben, ahol aminosav szekvenciák módosításával határozzák meg a célhelyet, a CRISPR–Cas rendszerek nem-kódoló RNS-eket használnak (2.D ábra). A természetes célzórendszer áll egy, a célszekvenciával komplementer RNS szekvenciából, amit spacerként vagy CRISPR RNS-ként (crRNS) ismerünk, és egy transzaktiváló crRNS (tracrRNS) elnevezésű szerkezetmeghatározó (scaffold) szekvenciából, amit a Cas fehérje köt (Deltcheva et al., 2011) (2.D ábra). Az eszközt úgy egyszerűsítették le, hogy a crRNS-t és a tracrRNS-t egyesítették, egyetlen RNS-molekulát képezve, amelyet irányító vagy guide RNS-nek (gRNS) nevezünk (Jinek et al., 2012). A gRNS-komponenssel felszerelt Cas fehérje képes azonosítani a célhelyet és ott kettős-szálú törést létrehozni. A célszekvencia felismeréséhez még szükség van egy, adott Cas fehérjére specifikus, célszekvenciával szomszédos motívumra (protospacer adjacent motif, PAM) is, amely lekorlátozza a lehetséges célhelyek számát (2.D ábra). A legfrissebb fejlesztéseknek köszönhetően azonban már olyan CRISPR–Cas rendszerek is elérhetőek, amelyek nem igénylik ezt a PAM-motívumot (Walton et al., 2020; Ren et al., 2021). Az aktív Cas nukleáz segítségével létrehozott mutációk mellett a katalitikusan inaktív Cas-t (dCas) alkalmazó rendszerekkel a dCas-hoz fuzionált effektor doméntól függően célzott hatások széles skáláját válthatjuk ki (Jinek et al., 2012; Larson et al., 2013; Qi et al., 2013; Lowder et al., 2015; Piatek et al., 2015; Liu et al., 2016; Li et al., 2017, 2020; Tang et al., 2017; Khakhar et al., 2018; Selma et al., 2019; Ghoshal et al., 2021).

A kisebb költség, a könnyű összeállítás és a magas specificitás a CRISPR–dCas módszert hihetetlenül népszerűvé tette, ami az egyszerű közvetlen fúzióval kifinomultabb rendszerek kifejlesztéséhez vezetett. Az alábbiakban azokat a célzási hatékonyság fokozása érdekében kifejlesztett további rendszereket tárgyaljuk, amelyek képesek több effektor domén szinergikus célba juttatására egyetlen lókuszon.

### SunTag

A SunTag rendszert eredetileg állatokban fejlesztették ki arra, hogy a GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) több példányát egyetlen lókusztoborozzák, ezzel lehetővé téve a célhely vizuális megjelenítését (Tanenbaum et al., 2014). Ezt az ötletet hamar beépítették dCas9-alapú rendszerekbe is olyan

felhasználási célokra, mint a transzkripció aktiválás vagy a DNS metiláció hozzáadása/eltávolítása növényekben és állatokban egyaránt (Tanenbaum et al., 2014; Morita et al., 2016; Gallego-Bartolome et al., 2018; Pflueger et al., 2018; Papikian et al., 2019; Tang et al., 2021). A SunTag–dCas9 rendszer három különböző komponens összehangolt kifejeződését követeli meg: egy dCas9 egy hozzá kapcsolt peptid farokkal, amely epitóp ismétlődések sorozatát tartalmazza; egy effektor doménnel fuzionált komplementer egyláncú variábilis fragment (scFv); és egy gRNS (2.E ábra). Ez lehetővé teszi minden dCas9 fehérje számára, hogy az scFv és az epitóp fark közötti kölcsönhatások által az effektor domén több másolatát toborozza. Bár ez növeli a rendszer összetettségét, egy effektor domén több másolatának alkalmazása egyetlen lókuszon hatékonyabbnak bizonyult, mint egyetlen effektor domén használata a dCas9-hez való közvetlen fúzió keresztül (Morita et al., 2016; Pflueger et al., 2018). A közelmúltban két eltérő, külön scFv-vel megkötött két epitóp kombinációját hordozó epitópfarok lehetővé tette a két különböző, egyedi scFv-effektor fúzióval való egyidejű célzást (Boersma et al., 2019). Egy effektor fehérje több másolatának toborzása SunTag rendszer használatával felveti annak lehetőségét, hogy ezek a rendszerek kiterjedtebb epigenetikai mintázatot hozhatnak létre célzottan, mint a közvetlenül fuzionált dCas9-effektor verzió. Bár ez bizonyos esetekben igaz lehet, a célzottan létrehozott epigenetikai mintázatokat látszólag több tényező befolyásolja. Például emlős sejtvonalak esetében, ha az emlős de novo DNS-metiltranszferáz, a DNS-metiltranszferáz 3-alfát (DNMT3A) dCas9-hez fuzionálva alkalmazzuk, körülbelül 200 bp DNS-metilációs lábnyom keletkezik (McDonald et al., 2016; Vojta et al., 2016). Ha SunTag rendszert használjuk a DNMT3A-val, egy szélesebb, 4 kilobázis (kb) kiterjedésű DNS-metilációs lenyomatot kaphatunk a Homeobox A5 (HOXA5) génen, de ezt a hatást már nem figyelték meg, mikor ugyanezen rendszerrel a Krüppel-szerű 4-es faktor génjét jelölték ki, ami egy lókuszt specifikus hatást feltételez (Huang et al., 2017). A genomi kontextus befolyását növényekben is feltételezték (Ghoshal et al., 2021). Például lúdfűben végzett kísérletek során megfigyelték, hogy dCas9 direkt fúzió és SunTag használatával egyaránt teljesen megegyező DNS metilációs mintázat keletkezett az FWA génen, mikor azokat CG-specifikus bakteriális metiltranszferázzal kapcsoltan alkalmazták. Ez valószínűleg annak volt köszönhető, hogy a cél régiót szegélyező genomi régiókban nincsenek CG-helyek, ami korlátozza a DNS-metiláció terjedését mindkét eszköz esetében. Ahhoz még további kutatásokra van szükség, hogy közvetlenül felmérjük az ilyen multi-effektoros fehérje-célzóeszközök által indukált DNS-metilációs mintázat változást befolyásoló tényezőket.

### MS2

Az MS2 rendszer a SunTag rendszerhez hasonlóan CRISPR–dCas9 alapon működik és lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy több effektor fehérjével célozzon meg egy adott lókuszt (Konermann et al., 2015). Azonban a SunTag és a dCas9 fúziós eljárással ellentétben az MS2 rendszer módosított gRNS-ek segítségével toborozza az effektor fehérjéket. Az MS2 rendszer az MS2 bakteriofág köpenyfehérjét és annak ismert RNS-kötő helyét használja ki. A SunTag rendszerhez hasonlóan az MS2 is három komponens koordinált expresszióját igényli: egy dCas9, egy MS2 köpenyfehérje-effektor domén fúzió, és egy olyan gRNS vázrendszer, ahol a tracrRNS-ben a négyes-hurok és/vagy



a szárhurok második pozíciójában egy MS2 kötőhely található (Koneremann et al., 2015) (2.E ábra). Az MS2 rendszert kombinálhatjuk dCas9-el közvetlen fúzió keresztül (Synergista aktivációs mediátor rendszer, angol megfelelője Synergistic Activation Mediator, röviden SAM) vagy SunTag rendszerrel vagy mindkettővel egyszerre (CRISPR Act 3.0). A kombinációval a gRNS és a dCas9 effektor fehérje kölcsönhatásai együttesen hasznosulnak, így nagyobb számú vagy több különböző effektor fehérjét irányíthatunk a célhelyre (Koneremann et al., 2015; Lowder et al., 2018; Pan et al., 2021) (2.E ábra).

## Céltolt epimutagenézis és a transzkripció irányítása

### Effektor domének transzkripció aktiválásához

A célzórendszerekben a transzkripció aktiválására számos különböző effektor domént használhatunk. Az aktiválást bazális transzkripció faktorok használatával közvetlenül, illetve aktív hisztonjelek hozzáadásával vagy gátló jelek eltávolításával közvetetten érhetjük el. Meghatározott lókuszköz célzását a VP16 herpes simplex vírus moduláris aktíváló doménjével már többen részletesen leírták, mint a transzkripció aktiválásának hatékony módját (Dreier et al., 2001; Sánchez et al., 2002; Stege et al., 2002; Morbitzer et al., 2010; Geißler et al., 2011; Miller et al., 2011; Zhang et al., 2011; Cheng et al., 2013; Maeder et al., 2013; Mali et al., 2013; Perez-Pinera et al., 2013; Qi et al., 2013; Liu et al., 2014; Tanenbaum et al., 2014; Vazquez-Vilar et al., 2016; Li et al., 2017; Park et al., 2017; Lee et al., 2019; Papikian et al., 2019; Selma et al., 2019). A VP16 aktivátor domén egy savas peptid, amely kölcsönhatásba lép a bazális transzkripció faktorokkal és a mediátor komplexszel, hogy megkönnyítse a pre-iniciációs komplex összeállítását a célhelyen (Hall és Struhl, 2002; Hirai et al., 2010). A VP16 hiszton acetiltransferázokkal és az SWI/SNF ATPáz komplexszel is kölcsönhatásba lép, hogy a környező kromatin szerkezetet aktív állapotba hozza (Hall és Struhl, 2002; Hirai et al., 2010). Ennek az aktivátornak a hatását drámaian növelhetjük, ha tetramert (VP64) vagy oktamert (VP128) készítünk a minimál VP16 aktivátor doménből (Beerli et al., 1998; Li et al., 2017). A közvetlen fúziós rendszerekhez képest a célgének aktiválását tovább javíthatja a VP64 több példányának toborzása a SunTag rendszerrel (Tanenbaum et al., 2014; Lowder et al., 2018; Selma et al., 2019).

A közvetlen transzkripció-aktiválás az APETALA2 fehérjecsaldában megtalálható, növény-specifikus, erősen konzervált savas típusú aktivátor domének, más néven EDLL domének használatával is lehetséges. Az AtEFR98 EDLL doménjét gyakran használják moduláris komponensként a génkifejeződés aktiválására (Tiwarei et al., 2012; Piatek et al., 2015; Selma et al., 2019). Ez az EDLL motívum más gyakori aktivátor doménekkel összehasonlítva – mint például a VP16 (78 aminosav) – viszonylag kicsi (24 aminosav), így remekül használható lehet kompakt szintetikus aktivációs célzórendszerek fejlesztéséhez. Egyes célhelyeken azonban több EDLL-re volt szükség ahhoz, hogy a VP16-hoz hasonló transzkripció aktiválást érijünk el (Tiwarei et al., 2012). A természetes TALE rendszerekben található savas típusú TAL aktivátor doméneket is használták már génkifejeződés aktiválására a VP16 és az EDLL doménekhez hasonló moduláris módon (Piatek et al., 2015; Li et al., 2017; Selma et al., 2019). Ez az effektor domén a TALE célzórendszert használva a kötőhelyétől

mindkét irányban (upstream és downstream) géneket aktiválhat függetlenül attól, hogy melyik DNS szálát célozzuk az effektorral (Wang et al., 2017).

A transzkripció aktiválására az aktivátor domének közvetlen hatása mellett további lehetőség az olyan domének használata, amelyek közvetett módon indítják be a génexpressziót aktív epigenetikai jelek hozzáadásával vagy gátló jelek eltávolításával. Növényekben az emberi eredetű p300 domén vagy a növény-specifikus acetiltransferáz, az ARABIDOPSIS HISTONE ACETYLTRANSFERASE OF THE CBP FAMILY 1 (HAC1) katalitikus doménje céltoltan aktiválhatja célgének transzkripcióját a H3K27 acetilációján keresztül; azonban p300-al összehasonlítva a VP64 használatával magasabb szintű aktiváció érhető el (Lee et al., 2019; Roca Paix~ao et al., 2019; Selma et al., 2019). A gátló DNS metiláció eltávolítása egy promoterről a humán TENELEVELN TRANSLOCATION1 (TET1) segítségével szintén transzkripció aktivációhoz vezethet (Maeder et al., 2013; Amabile et al., 2016; Choudhury et al., 2016; Liu et al., 2016; Morita et al., 2016; Xu et al., 2016; Lo et al., 2017; Okada et al., 2017; Gallego-Bartolome et al., 2018; Li et al., 2020; Tang et al., 2021). Állatokban a TET oxidázok családja képes oxidálni a metilált DNS-t, ami vagy a metilcsoport passzív eltávolításához vezet a DNS replikáció során a karbantartás hiánya miatt, vagy pedig aktívan távolítják el a glikozilázok, mint például a timin DNS-glikoziláz (Lio et al., 2020). Növényekben is kimutattak ilyen oxidált változatokat, de szintjük annyira alacsony, hogy jelentőségük megkérdőjelezhető (Mahmood és Dunwell, 2019). Növényekben a TET családdal homológ fehérjéket nem írtak le, de a TET fehérjék akár céltolt, akár nem céltolt ektopikus expressziója a DNS-metiláció elvesztését okozta, ami arra enged következtetni, hogy egy hasonló, passzív vagy aktív mechanizmus az oxidált DNS-metil csoportok eltávolítására a növényekben is jelen van (Hollwey et al., 2016; GallegoBartolome et al., 2018; Ji et al., 2018).

Ellentétben az alap transzkripció gépezet toborzásával, ami nemkívánatos túlexpressziót okozhat, az epigenetikai jelek használata a transzkripció szabályozására csupán megkönnyíti a transzkripció gépezet számára a célpromóterhez való hozzáférést. Ez az epigenetikai módosítások egyik előnyét emeli ki az aktivátor domének használatával szemben. Ezen felül az epigenetikai jelek megváltoztatása elősegítheti a céltolt aktivátor domének hozzáférést, és így egymással kombinálva hatásuk összeadódik (Roca Paix~ao et al., 2019).

### Aktiválás egyidejű célzással

Számos tanulmány megkísérelte összehasonlítani és meghatározni a céltolt aktiváláshoz legjobban használható, egyedülálló aktivátor doméneket, de az ilyen vizsgálatokat több, egymástól független tényező erősen befolyásolja, többek közt a választott célzórendszer és célhely. Bár egy bizonyos aktivátor domén jobbnak tűnhet a többinél egy adott rendszerben vagy egy adott célhelyen,

ez nem feltétlenül igaz az összes növény genomjában lehetséges számtalan

forogatókönyvre, így változatos eszközökre van szükségünk. Ugyanakkor ezen eszközök fejlesztése során megfigyelhető az a tendencia, hogy a több aktivátor domént egyetlen lókuszcélzózni képes eszközök rendszerint jobban teljesítenek, mint az egyetlen domént használók (Beerli et al., 1998; Tiwarei et al., 2012;

Li et al., 2017; Selma et al., 2019; Morita et al., 2020; Pan et al., 2021). Bár az egyetlen kódoló szekvenciába beépíthető ismétlődő domének száma a fehérje instabilitás miatt korlátozott, ennek ellenére a több különböző aktivátor domén használata a génkifejeződés együttes hatású aktiválására rendkívül sikeres stratégiának bizonyult (Li et al., 2017; Selma et al., 2019). A VP128-EDLL vagy a VP128-TAL aktivátor domének fúziója a génkifejeződés fokozott aktiválásához vezet (Li et al., 2017). A VP64 fúziója két további - állatokban korábban kimutatottan működő (VPR) - moduláris aktivátor doménnel, a P65-tel és Rta-val szintén magasabb szinten képes aktiválni a génexpressziót növényekben, mint a VP64 önmagában (Chavez et al., 2015; Li et al., 2017). A különböző aktivátor doméneket egyszerre használó rendszerek ezt képesek még magasabb szintre emelni további aktivátor domén hozzáadásával, amilyen például az EDLL domén kombinációja VPR fúzióval (Selma et al., 2019). A különböző egyidejű-célzási stratégiák mennyiségi összehasonlítása azonban kihívást jelent, ami szintén a célhelytől és a célzórendszerrel függ. Példaként hozható az EDLL domén és VP16 aktivátor domén multimer használata SAM-rendszerben vagy közvetlen fúzióban, ezek ugyanis rosszabbnak bizonyultak, mint a más aktivátor doménnel való fúzió, vagy egyszerűen a több VP64

peptid használata az adott lókuszon (Li et al., 2017; Lowder et al., 2018; Pan et al., 2021). Ha azonban az EDLL-domént és a VPR-fúziót együtt használjuk SAM célzórendszerben, kimutatható, hogy magasabb a génaktiváció, mint több VP64 domén esetében. Láthatjuk, hogy ha egy aktivátor domén egy bizonyos lókuszon vagy egy adott célzórendszerben hatékonyan működik, ez még nem jelenti azt, hogy akkor is hatékony lesz, ha egy másik rendszerben vagy egy másik lókuszon használjuk.

Mikor állati sejtekben a VP64-et és a TET1-et ugyanarra a lókuszra irányították, ezek egymás hatását felerősítve génkifejeződés felszabályozásában nagyobb mértékű változást eredményezett, mintha ezeket a faktorokat önmagukban használtuk volna (Morita et al., 2020). Ez azt sugallja, hogy ha az epigenetikai kódot úgy alakítjuk, hogy az aktiválás hozzáférhetőbbé váljon, az a célzó aktivátor doménnel szinergikus hatást ér el. Növényekben az FWA-promóter célzása több VP64-aktivátor modullal SunTag célzórendszerben DNS metiláció-vesztést is eredményezett, ami arra utal, hogy az állatokhoz hasonlóan a DNS-metilációt eltávolító és a génexpressziót közvetlenül aktiváló célzó mechanizmusok egyidejűleg szinergikusan működhetnek a növényekben is (Papikian et al., 2019; Morita et al., 2020).

## 6. A forrásnyelvi szöveg és célnyelvi szöveg szegmenseként

**Megjegyzés:** a szövegben néhol megjelenő {MQ} jelzést a memoQ program használja szövegek közötti karakterek jelzésére (például sortörés) és kiexportálás során bekerül a szövegbe.

Szegmens #	Forrásnyelvi (angol) szöveg	Célnyelvi (magyar) szöveg	Megjegyzések
1	<a href="https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033">https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033</a>	<a href="https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033">https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033</a>	
2	PLANT PHYSIOLOGY{MQ}2022: 188: 1811–1824{MQ} <a href="https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033">https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033</a> {MQ}PLANT PHYSIOLOGY{MQ}2022: 188: 1811–1824	PLANT PHYSIOLOGY{MQ}2022: 188: 1811–1824{MQ} <a href="https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033">https://doi.org/10.1093/plphys/kiac033</a> {MQ}PLANT PHYSIOLOGY{MQ}2022: 188: 1811–1824	
3	CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epi-mutagenesis	CRISPR – Cas-közvetített transzkripciók kontroll és epimutagenézis	
4	[1]{2}{3}[4]Jason Gardiner[5], <sup>1</sup> Basudev Ghoshal[5], <sup>1</sup> Ming Wang <sup>[5]1</sup> and Steven E. Jacobsen <sup>[5]1,2,*,†{9}</sup>	[1]{2}{3}[4]Jason Gardiner[5], <sup>1</sup> Basudev Ghoshal[5], <sup>1</sup> Ming Wang <sup>[5]1</sup> és Steven E. Jacobsen <sup>[5]1,2,*,†{9}</sup>	
5	Department of Molecular, Cell and Developmental Biology, University of California at Los Angeles, Los Angeles, California, USA	Molekuláris-, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék, Kaliforniai Egyetem, Los Angeles, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok	
6	[1]{2}{3}[4]Howard Hughes Medical Institute (HHMI), UCLA, Los Angeles, California, USA{5}	[1]{2}{3}[4]Howard Hughes Orvosi Intézet (HHMI), Kaliforniai Egyetem, Los Angeles, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok{5}	
7	Update	Frissítés	
8	Update	Frissítés	
9	*Author for correspondence: jacobsen@ucla.edu	*levelező szerző: jacobsen@ucla.edu	
10	These authors contributed equally (J.G., B.G., and M.W.).	J.G., B.G. és M.W. szerzők hozzájárulása egyenlő	
11	†Senior author	† vezető szerző	
12	All authors participated in writing of the article.	Az összes szerző részt vett a cikk megírásában.	
13	[1]The author responsible for distribution of materials integral to the findings presented in this article in accordance with the policy described in the Instructions for Authors {2}[3][1]{ <a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a> {2}[6][7][8]}{9}[6][8] is Steven E. Jacobsen (jacobsen@ucla.edu).{9}	[1]A „Útmutató a szerzőknek” {2}[3][1]{ <a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a> {2}[6][7][8]}{9}[6][8] című dokumentumban leírt irányelvekkel összhangban a cikkben bemutatott megállapítások szerves részét képező anyagok terjesztésért felelős szerző Steven E. Jacobsen (jacobsen@ucla.edu).{9}	
14	<a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a>	<a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a>	
15	<a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a>	<a href="https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions">https://academic.oup.com/plphys/pages/general-instructions</a>	
16	Abstract	Összefoglaló	

17	Tools for sequence-specific DNA binding have opened the door to new approaches in investigating fundamental questions in biology and crop development.	A szekvencia-specifikus DNS-kötésen alapuló eszközök lehetővé tették a biológia és a növénynevelés alapvető kérdéseinek új megközelítésekkel való vizsgálatát.	
18	While there are several platforms to choose from, many of the recent advances in sequence-specific targeting tools are focused on developing Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic RepeatsCRISPR Associated (CRISPR-Cas)-based systems.	Bár számos platform közül választhatunk, a közelmúlt legtöbb, szekvencia-specifikus célzóeszközökre irányuló fejlesztése a csoportosan előforduló, egymástól egyenlő távolságra levő rövid palindromikus ismétlődéseken (angolul Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, röviden CRISPR), és a velük kapcsolt Cas enzimen alapuló (CRISPR-Cas) rendszerekre összpontosított.	
19	Using a catalytically inactive Cas protein (dCas), this system can act as a vector for different modular catalytic domains (effector domains) to control a gene's expression or alter epigenetic marks such as DNA methylation.	Egy katalitikusan inaktív Cas-fehérjét (dCas) használó rendszer különböző moduláris katalitikus domének (effektor domének) bevitelével alkalmas lehet a génkifejeződés vagy epigenetikai jelek – mint például a DNS-metiláció – megváltoztatására.	
20	Recent trends in developing CRISPR-dCas systems include creating versions that can target multiple copies of effector domains to a single site, targeting epigenetic changes that, in some cases, can be inherited to the next generation in the absence of the targeting construct, and combining effector domains and targeting strategies to create synergies that increase the functionality or efficiency of the system.	A CRISPR-dCas-alapú rendszerek fejlesztésének egyik legújabb irányvonala, hogy több effektor domént juttassanak egy kijelölt helyre, olyan epigenetikai módosításokat létrehozva, amelyek akár a létrehozó génkonstrukció hiányában is nemzedékeken keresztül öröklődhetnek, és az effektor domének és célzó stratégiák kombinációjával szinergikusan növelve a rendszer funkcionalitását vagy hatékonyságát.	
21	This review summarizes and compares DNA targeting technologies, the effector domains used to target transcriptional control and epi-mutagenesis, and the different CRISPR-dCas systems used in plants.	Ez az áttekintő cikk összefoglalja és összehasonlítja a DNS-célzó technológiákat, a transzkripció szabályozást célba vevő és epimutagenezist kiváltó effektor doméneket, valamint a növényekben használt különböző CRISPR-dCas rendszereket.	
22	Introduction	Bevezetés	
23	[1]Over the past three decades, the development of tools that can bind to DNA in a sequence-specific manner has led to technologies that can specifically target and regulate gene transcription and epi-mutagenesis.	[1]Az elmúlt három évtizedben a szekvencia-specifikus DNS kötést használó eszközök fejlesztésének köszönhetően olyan technológiák jöttek létre, amelyek célzottan képesek szabályozni a géntranszkripciót és az epimutagenezist.	
24	Due to its ease of use, in the most recent wave of developments, tools based on the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic RepeatsCRISPR-associated system (CRISPR-Cas) using a catalytically inactive Cas protein have come to the forefront with an array of attachments allowing for the targeted transcriptional control or epi-mutagenesis [1]of a specific locus; pushing the functionality of CRISPR-Cas beyond gene editing.	Könnyű használhatósága miatt újabban a CRISPR-Cas-alapú, de katalitikusan inaktív Cas-fehérjét használó eszközök fejlesztése került előtérbe. Az inaktív Cas enzimhez egy sor különféle effektor fehérjét forrasztva lehetővé válik a transzkripció célzott szabályozása vagy egy meghatározott lókusza epimutagenezise [1]. Ennek köszönhetően a CRISPR-Cas használhatósága ma már túlmutat a génszerkesztésen.	
25	[1]These constructs rely on either the direct recruitment of basal transcription machinery or the targeting of epigenetic factors to manipulate transcription of nearby genes.	[1]Ezek a konstrukciók azon alapulnak, hogy a bazális transzkripcióhoz szükséges fehérjéket, vagy epigenetikai faktorokat vonzanak a célzott gén transzkripciójának megváltoztatására.	

26	While the recruitment of basal transcription machinery requires the presence of the targeting construct, changes in DNA methylation can in some cases be mitotically and meiotically inherited allowing for this targeted epimutagenesis to be maintained in the following generations in the absence of the targeting construct (Johnson et al., 2014; GallegoBartolome et al., 2018; Papikian et al., 2019).	Míg a bazális transzkripció gépezet odavonzása megköveteli egy célzó-konstrukció jelenlétét, addig a DNS-metilációban bekövetkező változások alkalmanként mitotikusan és meiotikusan öröklődhetnek, így lehetővé téve, hogy az epimutáció a létrehozó konstrukció hiányában is fennmaradjon az elkövetkezendő generációkban (Johnson et al., 2014; GallegoBartolome et al., 2018; Papikian et al., 2019).	
27	The heritability of DNA methylation is well documented at a few loci; however, further work is needed to understand how frequently methylation changes induced in one generation can be stably inherited into the next (Lloyd and Lister, 2021).	A DNS-metiláció átöröklődése néhány lókusznál jól dokumentált, azonban további vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy megértsük milyen gyakori a kiváltott metilációs változások stabil átöröklődése a következő generációba (Lloyd és Lister, 2021).	
28	{1}	{1}	
29	ADVANCES	ELŐRELÉPÉSEK	*29-33. szövegdoz
30	Recent advancements in DNA targeting systems have largely focused on the development of CRISPR-dCas systems to include peptide tails and RNA binding proteins, allowing these systems to recruit multiple copies of any given effector protein.	Napjainkban a DNS-célzó rendszerek fejlődésének középpontjában főként a peptidfarkat és RNS-kötő fehérjéket tartalmazó CRISPR-dCas rendszerek kifejlesztése áll, ami a rendszer számára lehetővé teszi, hogy bármely adott effektor fehérjéből egyszerre többet is toborozzon.	
31	Effector protein domains capable of manipulating DNA methylation have been successfully deployed and, in some cases, changes have been shown to be heritable to the next generation in the absence of the targeting construct.	A DNS-metiláció módosítására képes effektor fehérje doméneket már sikeresen alkalmazták, és egyes esetekben kimutatták, hogy a módosítások a célzó-konstrukció hiányában is öröklődhetnek a következő generációra.	
32	Fusion and co-targeting strategies using common modular activator domains can synergistically activate transcription to levels higher than targeting with a single type of activator domain.	Az általános moduláris aktivátor doméneket használó, fúziós és egyidejű-célzáson alapuló stratégiák szinergikusan a transzkripciót magasabb szinten aktiválhatják, mint a csak egy típusú aktivátor domént alkalmazó típusok.	
33	CRISPR-dCas systems can be used to repress genes by targeting of modular repression domains, DNA methylation, or CRISPRi.	A CRISPR-dCas rendszerek használhatóak a génműködés gátlására moduláris represszor domének, DNS-metiláció vagy CRISPRi alkalmazásával.	
34			*szegmens áthelyezve szegmens törés miatt
35	Furthermore, most other plant epigenetic marks are likely not inherited from generation to generation and are either reset during reproductive development or change dynamically along with changes in gene expression.	A legtöbb növényi epigenetikai jel valószínűleg nem öröklődik nemzedékről nemzedékre, mivel vagy törölődik a reprodukív fejlődési szakasz során, vagy dinamikusan változik a génexpressziós változásokkal párhuzamosan.	
36	As we continue to develop targeting systems through the addition of different modular catalytic domains (effector domains) capable of manipulating specific epigenetic marks, the function and heritability of these marks can be more easily explored.	Ahogy különböző, specifikus epigenetikai jeleket módosítani képes moduláris katalitikus domének (effektor domének) hozzáadásával továbbfejlesztjük a célzórendszereket, ezeknek a jeleknek a funkciója és öröklődése könnyebben vizsgálható.	

37	The expansion of this toolkit will offer a selection of tools that can create changes that are or are not mitotically or meiotically inherited that can be selected based on the end goal.	Ennek az eszköztárnak a kibővítése olyan lehetőségekhez vezet, ahol csak a saját céljainktól függ, hogy a létrehozott változások mitotikusan vagy meiotikusan öröklődnek vagy sem.	
38	In plants, targeted manipulation of transcriptional control and epimutagenesis have already been used to increase resistance to drought, manipulate plant developmental phenotypes, increase our understanding of interactions between essential proteins, and further our understanding on how plants add, maintain and use DNA methylation ([1]Johnson et al., 2014{2}; [1]Harris et al., 2018{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Roca Paix{2}[11]~{12}[1]ao et al., 2019{2}; [1]Ichino et al., 2021{2}; [1]Lee et al., 2021{2}; [1]Leydon et al., 2021{2}; [1]Liu et al., 2021{2}; [1]Tang et al., 2021{2}; [1]Xue et al., 2021{2}).	A transzkripció szabályozás és az epimutagenézis célzott befolyásolását növényekben már korábban is alkalmazták a szárazsággal szembeni ellenálló képességük növelésére, fejlődési fenotípusuk megváltoztatására és esszenciális fehérjék közötti kölcsönhatások jobb megértésére, valamint annak a mélyebb megismerésére, hogy a növények hogyan hozzák létre, tartják fenn és használják a DNS-metilációt ([1]Johnson et al., 2014{2}; [1]Harris et al., 2018{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Roca Paix{2}[11]~{12}[1]ao et al., 2019{2}; [1]Ichino et al., 2021{2}; [1]Lee et al., 2021{2}; [1]Leydon et al., 2021{2}; [1]Liu et al., 2021{2}; [1]Tang et al., 2021{2}; [1]Xue et al., 2021{2}).	
39	As we continue to develop these tools by improving their efficiency and expanding the available effector domains, more possible applications in both research and industry arise.	Ahogy a hatékonyság javításával és a rendelkezésre álló effektor domének bővítésével folyamatosan fejlesztjük ezeket az eszközöket, egyre több alkalmazási lehetőség merül fel a kutatásban és az iparban.	
40	Fundamental questions that once relied on generalities and correlations resulting from mutations, stress induction, or chemical treatments can instead be addressed using targeted studies providing causative data revealing locus-specific function.	Azok az alapkérdések, amelyek egykor a mutációk és a különböző stressz- és kémiai kezelések hatásának tanulmányozásából származó általánosságokon és összefüggéseken alapultak, most olyan célzott vizsgálatokkal kutathatóak, amelyek ok-okozati adatokat szolgáltatnak és ezzel lókuszos specifikus funkciókat tárnak fel.	A stressz kezelés az mindig valamilyen stressz kiváltása, tehát stressz indukcióval egyenlő.
41	While many of these tools have been demonstrated or developed in animals, plants provide an exciting platform for the further development and application of these tools both from a research and an agronomic perspective.	Bár ezen eszközök közül sokat állatokon fejlesztettek és mutattak be, a növények izgalmas lehetőséget biztosítanak továbbfejlesztésükhöz és alkalmazásukhoz mind kutatási, mind mezőgazdasági szempontból.	
42	In this review, we will cover the recent discoveries and advancements in targeted transcriptional control and epimutagenesis using CRISPR–dCas-based targeting technologies in plants.	Ebben az áttekintő cikkben a CRISPR–dCas alapú technológiákat használó, célzott transzkripció szabályozással és epimutagenézissel foglalkozó, növényekben végzett kutatások legújabb felfedezéseit és fejlesztéseit foglaljuk össze.	
43	<b>Epigenetics and plant gene expression</b>	<b>Epigenetika és növényi génexpresszió</b>	
44	Eukaryotic DNA is packaged into 146 base pair (bp) DNA segments that wrap around a histone octamer known as a nucleosome ([1]Luger et al., 1997{2}; [1]Richmond and Davey, 2003{2}; [1]Ou et al., 2017{2}).	Az eukarióta DNS 146 bázispár (bp) hosszú DNS-szegmensekbe van csomagolva, amelyek a nukleoszómaként ismert hiszton oktamer köré	

		fonódnak.([1]Luger et al., 1997{2}; [1]Richmond és Davey, 2003{2}; [1]Ou et al., 2017{2}).	
45	Nucleosomes are the base units of chromatin and can adopt two main configurations: euchromatin, which is less compact and more accessible to transcription factors and other proteins, or heterochromatin, which is more compact and less accessible ([1]Roudier et al., 2009{2}) ([1]Figure 1{2}).	A nukleoszómák a kromatin alapegységei, és két fő konfigurációt vehetnek fel. Az eukromatin kevésbé kompakt és jobban hozzáférhető a transzkripció faktorok és más fehérjék számára, a heterokromatin pedig kompaktabb és kevésbé hozzáférhető ([1]Roudier et al., 2009{2}) ([1]1.ábra{2}).	a mondat szétválasztása szükséges volt a könnyebb olvashatóságért
46	This means that gene regulation depends not only on the presence or absence of transcription factors, but also on chromatin accessibility ([1]Li et al., 2007{2}).	Ez azt jelenti, hogy a génszabályozás nemcsak a transzkripció faktorok meglététől, illetve hiányától függ, hanem a kromatin hozzáférhetőségétől is ([1]Li et al., 2007{2}).	
47	Chromatin state can be altered by chromatin remodeling complexes (CRCs), histone modifications, histone variants, and DNA methylation, which work together to activate or repress of different transcriptional networks in eukaryotes ([1]Li et al., 2007{2}; [1]Bannister and Kouzarides, 2011{2}; [1]Pikaard and Mittelsten Scheid, 2014{2}; [1]Zhong et al., 2021{2}).	A kromatin állapota kromatin átrendező (remodelling) komplexekkel (CRC), hiszton módosításokkal, hiszton változatokkal és DNS-metilációval változtatható meg, amelyek együttesen aktiválják vagy gátolják az eukarióták különböző transzkripció hálózatait ([1]Li et al., 2007{2}; [1]Bannister és Kouzarides, 2011{2}; [1]Pikaard és Mittelsten Scheid, 2014{2}; [1]Zhong et al., 2021{2}).	az angol kifejezést is használjuk, főleg labornyelven, ezért zárójelben megjelöltem
48	In <i>Arabidopsis</i> ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ), CRCs, such as the SWITCHING DEFECTIVE 2/SUCROSE NON-FERMENTING 2 (SWI2/SNF2) proteins use ATP hydrolysis to alter the structure or positioning of nucleosomes, which in turn mediate the accessibility of the chromatin to transcription factors and other regulatory proteins ([1]Corona and Tamkun, 2004{2}; [1]Jiang and Pugh, 2009{2}).	Lúdfűben ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) a CRC-k, például a SWITCHING DEFECTIVE 2/SUCROSE NON-FERMENTING 2 (SWI2/SNF2) fehérjék ATP hidrolízist használnak a nukleoszómák szerkezetének vagy elhelyezkedésének megváltoztatására, így szabályozva a kromatin hozzáférhetőségét a transzkripció faktorok és egyéb szabályozó fehérjék számára ([1]Corona és Tamkun, 2004{2}; [1]Jiang és Pugh, 2009{2}).	latin neveket mindig dőlt betűvel írjuk
49	In addition to the CRCs, histone modifications and histone variants can affect transcriptional gene regulation by modulating histone–DNA interactions ([1]Feng et al., 2010{2}; [1]Bannister and Kouzarides, 2011{2}).	A CRC-k mellett hiszton módosítások és hiszton változatok is hatással vannak a transzkripció génszabályozásra a hiszton-DNS kölcsönhatások szabályozásán keresztül ([1]Feng et al., 2010{2}; [1]Bannister és Kouzarides, 2011{2}).	
50	The exposed N-terminal tails of the core histones are subjected to various post-translational modifications, including acetylation, methylation, phosphorylation, ubiquitylation, SUMOylation, etc. ([1]Pfluger and Wagner, 2007{2}).	A központi hisztonok szabadon álló N-terminális farkán különféle poszttranszlációs módosítások lehetnek, mint az acetiláció, metiláció, foszforiláció, ubiquitináció, szumoiláció, stb. ([1]Pfluger és Wagner, 2007{2}).	
51	The addition or removal of these histone modifications corresponds with activation or repression of transcription ([1]Feng et al., 2010{2}; [1]Bannister and Kouzarides, 2011{2}).	A hisztonmódosítások hozzáadása vagy eltávolítása a transzkripció aktiválását vagy gátlását eredményezi ([1]Feng et al., 2010{2}; [1]Bannister és Kouzarides, 2011{2}).	
52	For example, adding acetylation to the histone tails via histone acetyltransferases is associated with transcriptional activation, while the	Ha például hiszton-acetiltransferázok által acetilálódik a hisztonfarkok, akkor transzkripció aktiváció lép fel, míg az acetiláció hiszton-dezacetilázokon	

	removal of acetylation through histone deacetylases leads to transcriptional repression ([1]Pandey et al., 2002{2}; [1]Lawrence et al., 2004{2}).	keresztül történő eltávolításával transzkripció gátlás ([1]Pandey et al., 2002{2}; [1]Lawrence et al., 2004{2}).	
53	Unlike histone acetylation, which corresponds with the activation of transcription, histone methylation can be associated with activation or repression of transcription, depending on which lysine residues are methylated ([1]Xiao et al., 2016{2}).	A hiszton acetilációval ellentétben - amely megfelel a transzkripció aktiválásának - a hiszton metiláció összefüggésbe hozható a transzkripció aktiválásával és gátlásával is, attól függően, hogy melyik lizin oldalláncok metilálódnak ([1]Xiao et al., 2016{2}).	tagmondatot gondolatjel közé helyeztem, így könnyebben olvasható
54	For example, three methyl groups on the fourth lysine of the histone 3 tail (H3K4me3), H3K36me2, and H3K36me3 are associated with active transcription ([1]Zhao et al., 2005{2}; [1]Xu et al., 2008{2}; [1]Zhang et al., 2009{2}; [1]Ding et al., 2012{2}) ([1]Figure 1{2}).	Például három metilcsoport a hármask hiszton farkának negyedik lizinjén (H3K4me3), illetve a H3K36me2 és H3K36me3 a transzkripció aktiválását okozza ([1]Zhao et al., 2005{2}; [1]Xu et al., 2008{2}; [1]Zhang et al., 2009{2}; [1]Ding et al., 2012{2}) ([1]1.ábra{2}).	H3K36me2 úgy kell kiolvasni, hogy: a hármask hiszton 36. lizinjének dimetilációja
55	On the contrary, H3K27me1, H3K27me3, and H3K9me2 are associated with transcriptional repression ([1]Goodrich et al., 1997{2}; [1]Gendall et al., 2001{2}; [1]Jackson et al., 2002{2}; [1]Malagnac et al., 2002{2}; [1]Johnson et al., 2007{2}; [1]Zhang et al., 2007{2}; [1]Bernatavichute et al., 2008{2}; [1]Jacob et al., 2009{2}; [1]Du et al., 2012{2}).	Ezzel ellentétben a H3K27me1, a H3K27me3 és a H3K9me2 transzkripció gátlással jár ([1]Goodrich et al., 1997{2}; [1]Gendall et al., 2001{2}; [1]Jackson et al., 2002{2}; [1]Malagnac et al., 2002{2}; [1]Johnson et al., 2007{2}; [1]Zhang et al., 2007{2}; [1]Bernatavichute et al., 2008{2}; [1]Jacob et al., 2009{2}; [1]Du et al., 2012{2}).	
56	<b>Figure 1</b> Overview of histone and DNA epigenetic modifications.	<b>1. ábra</b> A hiszton módosulások és a DNS epigenetikai módosításainak áttekintése.	
57	Heterochromatin and euchromatin represent a more compact or less compact chromatin status, respectively, that can be manipulated by CRCs.	A heterokromatin egy kompaktabb, az eukromatin egy kevésbé kompakt kromatin állapotot képvisel, amit a CRC-k képesek befolyásolni.	
58	The fundamental unit of chromatin is the nucleosome, which is composed of histones wrapped with DNA.	A kromatin alapegysége a nukleosóma, ami a DNS-sel becsomagolt hisztonokból áll.	
59	Both histone tails and DNA cytosines can be epigenetically modified.	A hisztonfarkok és a DNS-ben található citozin egyaránt epigenetikailag módosítható.	
60	Histone tail modifications: histone tails can be modified by various epigenetic marks, including methylation, acetylation, phosphorylation, SUMOylation, etc.	Hisztonfark-módosítások: a hisztonfarkok különféle epigenetikai jelekkel módosítható, beleértve a metilációt, acetilációt, foszforilációt, szumoilációt stb.	
61	Histone epigenetic marks are associated with transcriptional gene regulation.	A hiszton epigenetikai jelei összefüggésben vannak a transzkripció gátlásával.	
62	For example, histone acetylation and trimethylation of H3 Lysine 4 (H3K4me3) and H3K36me3 are associated with transcriptional activation.	Például a H3 lizin 4 trimetilációja (H3K4me3) vagy acetilációja, és a H3K36me3 a transzkripció aktivációhoz kapcsolódik.	
63	De novo DNA cytosine methylation:	De novo DNS-citozin metiláció:	
64	Cytosines can be de novo methylated through the RdDM pathway.	A citozinok de novo metilezhetők az RdDM útvonalon keresztül.	



65	During canonical RdDM, SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOGUE 1 is recruited to sites containing methyl groups on the ninth lysine of the histone 3 tail (H3K9) and directly interacts with and recruits Polymerase IV (Pol IV) to these sites initiating transcription of short 32 nt RNA transcripts.	A kanonikus RdDM során a SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOGUE 1 felismeri azokat a helyeket, ahol a hiszton 3 fark kilencedik lizinje (H3K9) metilcsoportokat tartalmaz, majd közvetlen kölcsönhatás révén ezekhez a helyekhez sorakoztatja fel a polimeráz IV-et (Pol IV), ami a 32 nt rövid szálú RNS transzkriptek képződését indítja el.	
66	Pol IV then feeds this transcript directly into RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE 2 (RDR2) that then converts the single stranded RNA transcripts into double-stranded RNAs, which are then digested into 24 nt small interfering RNAs (siRNAs) by RNase III endonuclease DICER-LIKE 3 (DCL3), and loaded into ARGONAUTE 4, 6, or 9 (AGO4/6/9).	A Pol IV ezt a transzkriptumot közvetlenül az RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE 2-be (RDR2) táplálja, amely az egyszálú RNS-transzkripteket kettős szálú RNS-ekké alakítja, amiket a DICER-LIKE 3 (DCL3) RNáz III endonukleáz 24 nt kis interferáló RNS-ekké (siRNS-ek) emészt, majd betölti az ARGONAUTE 4, 6 vagy 9-be (AGO4/6/9).	
67	Concurrently, a complex consisting of SU(VAR) homologs (SUVH) 2 or 9, DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), DEFECTIVE IN RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (DRD1), RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1), and Pol V is brought to a locus through the interaction between DNA methylation and SUVH2/9.	Ezzel egyidejűleg egy komplex, amelyet a 2-es vagy 9-es SU(VAR) homológok (SUVH), a DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), a DEFECTIVE IN RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (DRD1), a RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1) és a Pol V alkot, a DNS-metiláció és a SUVH2/9 közötti kölcsönhatás révén a lókuszt kerüli.	
68	The RNA scaffold of Pol V transcripts can be recognized by the siRNA-AGO4/6/9 complex with help from SUPPRESSOR OF TY 5-LIKE (SPT5L).	Az siRNS-AGO4/6/9 komplex felismeri a Pol V RNS transzkriptumok vázrendszerét a SUPPRESSOR OF TY 5-LIKE (SPT5L) segítségével.	
69	DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) is then recruited to sites recognized by siRNA-bound AGO4/6/9 through RDM1, allowing DRM2 to methylate the adjacent DNA.	Ezt követően a DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) az siRNS-hez kötött AGO4/6/9 által, az RDM1-en keresztül felismert helyekre gyülekezik, lehetővé téve a DRM2 számára, hogy metilálja a szomszédos DNS-t.	
70	DRM2 adds methylation to the targeted DNA, SUVH4/5/6 binds the DNA methylation and deposits H3K9 methylation, which attracts the Pol IV arm of the pathway thus, creating a positive feedback loop that helps maintain the newly added methylation. siRNAs generated from sources other than Pol IV are sometimes incorporated into RdDM in a process called non-canonical RdDM.	A DRM2 metilálja a kijelölt DNS-t, a SUVH4/5/6 megköti a metilált DNS-t, és a H3K9 metilációját okozza. Ez vonzza az útvonal Pol IV ágát, ezáltal pozitív visszacsatolási hurkot hoz létre, amely segít fenntartani az újonnan hozzáadott metilációt. Néha a Pol IV-től eltérő forrásból származó siRNS-ek épülnek be az RdDM folyamatába, amit nem-kanonikus RdDM-nek nevezünk.	
71	These siRNAs can be generated from inverted repeats, miRNA precursor's, fragments of cleaved mRNA, or other non-coding dsRNAs that are processed by DCL proteins or a combination of AGO4 and exonucleases, loaded into AGO4/6/9, and directly recruit the POLV arm of the pathway to a target site.	Ezek az siRNS-ek fordított ismétlődésekből, miRNS-prekursorokból, hasított mRNS-fragmensekből vagy más nem kódoló dsRNS-ekből képződnek, amelyeket DCL fehérjék vagy az AGO4 és exonukleázok kombinációja dolgoz fel, betöltve ezeket AGO4/6/9-be, és közvetlenül toborozzák az útvonal Pol V ágát a célhelyhez.	POLV javítottam Pol V-re, mivel a szöveg eddig is ebben a formában használta
72	Removal of DNA methylation:	A DNS-metiláció eltávolítása:	
73	DEMETER (DME) family of bifunctional glycosylase/lyases, consisting of DME and DME -LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2, and	A DEMETER (DME) kettős funkciójú glikoziláz/liáz fehérje család tagjai a DME, a DME -LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2 és DML3. Ezek képesek aktívan eltávolítani a metilált citozinokat, melyek	

	DML3, actively remove methylated cytosines which are then replaced with unmethylated cytosines by the base excision repair (BER) pathway.	helyére nem-metilált citozin kerül a báziskivágó DNS javítási (angolul base excision repair, BER) mechanizmus során.	
74	Created with BioRender.com	BioRender.com segítségével készült	
94	DNA cytosine methylation, which in plants occurs in the CG, CHG, and CHH sequence contexts (H is any nucleotide other than G), has also been associated with gene regulation.	A DNS citozin metilációja növényekben a CG, CHG és CHH szekvencia kontextusban fordul elő (H bármilyen nukleotid lehet G kivételével) és szintén összefüggésbe hozták a génszabályozással.	
95	Often, the presence or absence of DNA methylation is associated with repression and activation, respectively, of nearby genes or transposable elements.	A DNS-metiláció jelenléte gátolhatja, hiánya pedig aktiválhatja az érintett helyhez közeli gének vagy mozgó genetikai elemek (transzpozonok) kifejeződését.	
96	In plants, DNA methylation is maintained by four different DNA methylation maintenance pathways and can be established de novo by the RNA-directed DNA methylation (RdDM) pathway ([1]Law and Jacobsen, 2010[2]).	Növényekben a DNS-metilációt négy különböző DNS-metiláció karbantartó [MQ]útvonal tartja fenn, valamint létrejöhet <i>de novo</i> az RNS-függő DNS metilációs (RdDM) útvonalon keresztül ([1]Law és Jacobsen, 2010[2]).	
97	The canonical RdDM pathway can be split into two different arms: the Polymerase IV (Pol IV) arm, [MQ] which is responsible for the generation of small interfering [MQ]RNAs (siRNAs), and the Pol V arm, which provides an RNA scaffold for the recruitment of the DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) at the target site [MQ] ([1]Erdmann and Picard, 2020[2]) ([1]Figure 1[2]).	A kanonikus RdDM útvonal két ágra osztható: a Polimeráz IV (Pol IV) ágra, [MQ] amely a kis interferáló [MQ]RNS-ek (siRNS-ek) képződéséért felelős, és a Pol V ágra, amely egy RNS vázrendszert biztosít a DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) számára, hogy az a célhelyhez találjon [MQ] ([1]Erdmann és Picard, 2020[2]) ([1]1. ábra[2]).	
98	While the majority of [MQ]the siRNAs used in RdDM are produced by the Pol IV–RDR2 complex ([1]Herr et al., 2005[2]; [1]Raja et al., 2008[2]; [1]Stroud et al., [MQ]2013[2]; [1]Huang et al., 2021[2]), a small amount are generated from other sources including inverted repeats, microRNA (miRNA) precursors, fragments of cleaved mRNA, or other non-Pol IV [MQ]generated non-coding RNAs that can also trigger a noncanonical RdDM pathway.	Bár a legtöbb, [MQ]az RdDM által használt siRNS-t a Pol IV-RDR2 komplex termeli ([1]Herr et al., 2005[2]; [1]Raja et al., 2008[2]; [1]Stroud et al., [MQ]2013[2]; [1]Huang et al., 2021[2]), kis mennyiségben más forrásokból is származnak. Ilyen források a fordított ismétlődések, a mikroRNS (miRNS) prekursorok, az mRNS fragmentek és más nem-Pol [MQ]IV eredetű, nem kódoló RNS-ek, amelyek egy nem-kanonikus RdDM útvonalat indítanak be.	
99	These siRNAs are loaded into ARGONAUTE (AGO) proteins that direct the Pol V arm of [MQ]the RdDM pathway to specific sites, and are important for pioneering sites of RdDM de novo ([1]Allen et al., 2005[2]; [1]Slotkin et al., 2005[2]; [1]Vazquez et al., 2008[2]; [1]Chellappan et al., 2010[2]; [1]Khraiwesh et al., 2010[2]; [1]Wu et al., 2010[2], [1]2012[2]; [1]Garcia et al., 2012[2]; [1]Mari-Ordonez[2][19]~ [20][1]et al., 2013[2]; [1]Nuthikattu et al., 2013[2]; [1]Creasey et al., 2014[2]; [1]Bond and Baulcombe, 2015[2]; [1]McCue et al., 2015[2]; [1]Panda et al., 2016[2]; [1]Yang et al., 2016[2]; [1]Ye et al., 2016[2]; [1]Sigman et al., 2021[2]) ([1]Figure 1[2]).	Ezek a siRNS-ek az ARGONAUTE (AGO) fehérjékbe töltődve a Pol V komplexet irányítják [MQ]olyan kitüntetett helyekre, amelyek az RdDM számára kezdő pozíciót jelenthetnek de novo ([1]Allen et al., 2005[2]; [1]Slotkin et al., 2005[2]; [1]Vazquez et al., 2008[2]; [1]Chellappan et al., 2010[2]; [1]Khraiwesh et al., 2010[2]; [1]Wu et al., 2010[2], [1]2012[2]; [1]Garcia et al., 2012[2]; [1]Mari-Ordonez[2][19]~ [20][1]et al., 2013[2]; [1]Nuthikattu et al., 2013[2]; [1]Creasey et al., 2014[2]; [1]Bond and Baulcombe, 2015[2]; [1]McCue et al., 2015[2]; [1]Panda et al., 2016[2]; [1]Yang et al., 2016[2]; [1]Ye et al., 2016[2]; [1]Sigman et al., 2021[2]) ([1]1. ábra[2]).	
100	[1][2][3][4]DNA methylation is a mitotically and meiotically heritable mark ([5][6]Law and Jacobsen, 2010[7][4]).	[1][2][3][4]A DNS-metiláció mitotikusan és meiotikusan örökölhető jel ([5][6]Law és Jacobsen, 2010[7][4]).	

101	Maintenance of methylation by RdDM in euchromatic regions depends on siRNAs.	Az eukromatikus régiókban az RdDM általi metiláció fenntartás siRNS függő.	
102	DNA methylation in all sequence contexts is replicated on the newly formed daughter strands through the concerted effort of three additional DNA methyltransferases as well.	A DNS-metiláció minden szekvencia kontextusban a replikáció során újonnan képződött DNS száakra másolódik további három DNS-metiltransferáz összehangolt működése által.	
103	Methylation at CG sites is maintained during replication by DNA METHYLTRANSFERASE 1 (MET1), through an interaction with VARIANT IN METHYLATION 1 (VIM1), VIM2, {MQ} and VIM3 proteins that can bind to methylated cytosines in CG context on the parent strands (Woo et al., {1}[2]2007{3}[4], {1}[2]2008{3}[4]).	A CG helyek metilációját a DNA METHYLTRANSFERASE 1 (MET1) tartja fenn a VARIANT IN METHYLATION 1 (VIM1), VIM2, {MQ} és VIM3 fehérjékkel együttműködve, amelyek a templát szákon a CG kontextusban metilált citozinokat képesek kötni (Woo et al., {1}[2]2007{3}[4], {1}[2]2008{3}[4]).	A DNS szülői szála és a templát rokon értelmű szó
104	Non-CG methylation in heterochromatic regions is primarily {MQ} maintained by the plant-specific CHROMOMETHYLASE 2 (CMT2) and CMT3 methyltransferases via a positive feedback loop with H3K9me2 histone modification and by RdDM in euchromatic regions ({1}[2]Lindroth et al., 2001{3}[4]; {1}[2]Du{MQ} et al., 2012{3}[4]; Stroud et al., {1}[2]2013{3}[4], {1}[2]2014{3}[4]; {1}[2]Erdmann and Picard, 2020{3}[4]).	A heterokromatikus régiókban a nem-CG metilációt elsősorban {MQ} növény-specifikus metiltransferázok, a CHROMOMETHYLASE 2 (CMT2) és CMT3 tartják fenn egy H3K9me2 hiszton módosításon keresztüli pozitív visszacsatolási hurok révén. Az eukromatikus régiókban ezt az RdDM végzi el ({1}[2]Lindroth et al., 2001{3}[4]; {1}[2]Du{MQ} et al., 2012{3}[4]; Stroud et al., {1}[2]2013{3}[4], {1}[2]2014{3}[4]; {1}[2]Erdmann és Picard, 2020{3}[4]).	
105	In plants, DNA methylation is actively removed by the DEMETER (DME) family of bifunctional glycosylase/ lyases consisting of DME and DME -LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), DML2, and DML3 ({1}[2]Choi et al., 2002{3}[4]; {1}[2]Gong et al., 2002{3}[4]; {1}[2]Agius et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Gehring et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Morales-Ruiz et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Penterman et al., 2007{3}[4]; {1}[2]Ortega-Galisteo et al., 2008{3}[4]) ({1}[2]Figure 1{3}[4]).{1}	A növényekben a DNS-metiláció aktív eltávolítását a DEMETER (DME) kétfunkciós glikoziláz/liáz fehérje család tagjai, a DME, a DME-LIKE 1/REPRESSOR OF SILENCING 1 (DML1/ROS1), a DML2 és a DML3 végzik ({1}[2]Choi et al., 2002{3}[4]; {1}[2]Gong et al., 2002{3}[4]; {1}[2]Agius et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Gehring et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Morales-Ruiz et al., 2006{3}[4]; {1}[2]Penterman et al., 2007{3}[4]; {1}[2]Ortega-Galisteo et al., 2008{3}[4]) ({1}[2]1.ábra{3}[4]).{1}	
106	<b>Figure 2</b> Targeting systems A. The small interfering RNA (siRNA) targeting system which takes advantage of artificially designed inverted repeats or microRNAs (miRNA) to target specific sequences through RNA-directed DNA methylation (RdDM) or RNA interference mechanisms.	2. ábra Célzórendszerek. A. A kis interferáló RNS (siRNS) alapú célzórendszer, amely mesterségesen tervezett fordított ismétlődéseket vagy mikroRNS-eket (miRNS) használ ki a specifikus szekvenciák megcélzására az RNS-függő DNS-metiláció (RdDM) vagy az RNS-interferencia mechanizmusán keresztül.	
107	DICERLIKE (DCL); ARGONAUTE (AGO) B, The Zinc Finger targeting system where each artificially designed Zinc Finger domain is capable of recognizing a unique nucleotide triplet.	DICERLIKE (DCL); ARGONAUTE (AGO). B, A cink-ujj célzórendszer, ahol minden mesterségesen tervezett cink-ujj domén egy egyedi nukleotidhármaszt képes felismerni.	
108	C, The TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTOR (TALE) targeting system highlighting the RVDs, which give nucleotide binding specificity to each repeat unit.	C, A TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTOR (TALE) célzórendszer, amely esetében az RVD-k (kiemelve) biztosítják a szekvencia-specifikus DNS kötést minden ismétlődő egységnek.	
109	D, The CRISPR–Cas9 targeting system highlighting the CRISPR RNA (crRNA), trans-acting crRNA (tracrRNA) and protospacer adjacent motif (PAM).	D, A CRISPR–Cas9 célzórendszer alkotórészeivel: a CRISPR RNS (crRNS), a transz-ható crRNS (tracrRNS) és a célszekvenciával szomszédos motívum (protospacer adjacent motif, PAM).	

110	E, Direct fusion, SunTag, and MS2 based CRISPR–dCas9 systems and how these have been combined in the CRISPR ACT 3.0 system.	E, Közvetlen fúziós, SunTag és MS2 alapú CRISPR–dCas9 rendszerek és kombinálásuk a CRISPR ACT 3.0 rendszerben.	
111	MS2 coat protein (MCP), Single chain variable fragment (ScFV).	MS2 köpenyfehérje (MCP), egyláncú variábilis fragment (ScFV).	
112	Created with BioRender.com	BioRender.com segítségével készült	
120	<b>Technologies to recruit factors to manipulate transcription</b>	<b>Transzkripciót befolyásoló elemek toborzására szolgáló technológiák</b>	
121	Targeted manipulation of epigenetic marks or gene expression requires a way to specifically and ectopically recruit molecular components capable of transcriptional control or epimutagenesis to the site of interest on the genome.	Az epigenetikai jelek és a génexpresszió célzott módosítása megköveteli a transzkripció szabályozásra vagy epimutagenézisre képes molekuláris komponensek specifikus és ektopikus toborzását a kívánt helyre a genomban.	
122	Several targeting technologies are reviewed in the following section.	A következő részben számos célzási technológiát tekintünk át.	
123	<b>Small RNA-based targeting</b>	<b>Kis RNS-alapú célzás</b>	
124	[1]Both siRNAs and miRNAs have been broadly applied for transcriptional and post-transcriptional gene silencing, not only because small RNA-mediated gene silencing is sequence specific and efficient, but also because they can cause partial loss-of-function alleles that can overcome the lethality of certain null mutants ([1]Ossowski et al., 2008[2]).	[1]A siRNS-eket és a miRNS-eket széles körben alkalmazzák transzkripció és poszttranszkripció gécscsendesítésre, nemcsak azért, mert a kis RNS-közvetített gécscsendesítés szekvencia-specifikus és hatékony, hanem azért is, mert részleges funkcióvesztést okozó alléleket okozhatnak, amelyek semlegesíthetik egyes null mutációk letalitását ([1]Ossowski et al., 2008[2]).	
125	{1}	{1}	
126	<b>[1]Table 1 {2}[3]Comparison of targeting systems{4}</b>	<b>[1]1. Táblázat {2}[3]Célzórendszerek összehasonlítása{4}</b>	
127	Parameters	Paraméterek	
128	sRNA	sRNS	
129	TALE	TALE	
130	Zinc Finger	Cink-ujj	
131	CRISPR–dCas9	CRISPR–dCas9	
132	1.	1.	
133	Target sites	Célhelyek	
134	No limit	Nincs limit	
135	Occurs every 35 bp	Minden 35. bp	
136	Occurs at every 200–{MQ}500 bp	Minden 200–{MQ}500. bp	
137	Depends on PAM sites.	PAM helyek függvénye	
138	New{MQ}PAM-less CRISPR variants are available that increase available target sites	Új,{MQ}PAM nélküli CRISPR-változatok állnak rendelkezésre, amelyek növelik az elérhető célhelyek számát	
139	2.	2.	
140	Specificity	Specifitás	
141	Less specific	Kevésbé specifikus	
142	More specific than other technologies	Specifikusabb, mint más technológiák	
143	Less specific	Kevésbé specifikus	

144	Highly specific	Rendkívül specifikus	
145	3.	3.	
146	User friendly	Felhasználóbarát	
147	a.	a.	
148	Cloning	Klónozás	
149	Easy to clone constructs	Könnyen klónozzható konstrukciók	
150	Cloning is laborious and tedious	Klónozás munka- és időigényes	
151	Cloning is laborious and tedious	Klónozás munka- és időigényes	
152	Easy to clone constructs	Könnyen klónozzható konstrukciók	
153	b.	b.	
154	Adaptability to target new sites	Átalakíthatóság új helyek célzására	
155	Highly adaptable— only need to modify the precursor RNA sequence	Nagyon könnyen átalakítható – csak a prekursor RNS-szekvenciát kell módosítani	
156	Less adaptable—must design new protein for each new target; protein engineering can be unpredictable	Kevésbé könnyen átalakítható – minden új célhelyhez új fehérjét kell tervezni; a fehérjetervezés kiszámíthatatlan lehet	
157	Less adaptable—must design new protein for each new target; protein engineering can be unpredictable	Kevésbé könnyen átalakítható – minden új célhelyhez új fehérjét kell tervezni; a fehérjetervezés kiszámíthatatlan lehet	
158	Highly adaptable—only need to modify the guide RNA sequence	Nagyon könnyen átalakítható – csak a guide RNS-szekvenciát kell módosítani	
159	c.	c.	
160	Cost	Költség	
161	Targeting new site depends on manipulating the precursor sequence, which is less expensive	Új helyek megcélzása a prekursor szekvencia módosításán alapszik, ami kevésbé költséges	
162	Can be expensive as it requires testing of several TALEs to target new site	Drága lehet, mivel több TALE tesztelése szükséges új célhelyek esetén	
163	Can be expensive as it requires testing of several Zinc Fingers to target new site	Drága lehet, mivel több cink-ujj tesztelése szükséges új célhelyek esetén	
164	Targeting new site depends on manipulating guide RNA sequence, which is less expensive	Új helyek megcélzása a guide RNS szekvencia módosításán alapszik, ami kevésbé költséges	
165			*szegmens áthelyezve szegmens törés miatt
166	Endogenously, siRNAs and miRNAs are the slicing products of DICER-LIKE (DCL) proteins from double-stranded RNAs (dsRNAs) and primary miRNA transcripts with a stem-loop structure, respectively ([1]Kurihara and Watanabe, 2004[2]; [1]Xie et al., 2005[2]) ([1]Figure 2A[2]).	Az endogén keletkező siRNS-ek és miRNS-ek a DICER-LIKE (DCL) fehérjék hasítási termékei. A siRNS-ek a kettős szálú RNS-ekből (dsRNS-ek), a miRNS-ek hajtú szerkezetű primer miRNS transzkriptumokból képződnek ([1]Kurihara és Watanabe, 2004[2]; [1]Xie et al., 2005[2]) ([1]2.A ábra[2]).	stem-loop=hairpin loop, ami hajtú szerkezetet jelent

167	Both siRNAs and miRNAs are loaded into AGO proteins to form an RNA-induced silencing complex ([1]Mallory and Vaucheret, 2010{2}), which in turn silences the target gene with the complementary sequence ([1]Huang et al., 2019{2}).	A siRNS-ek és miRNS-ek az AGO fehérjékhez kapcsolódva alakítják ki az RNS-irányított csendesítő komplexet ([1]Mallory és Vaucheret, 2010{2}), ami csendesíti a komplementer szekvenciával rendelkező célgént ([1]Huang et al., 2019{2}).	
168	One of the most popular methods for the generation of synthetic siRNAs or miRNAs in plants is to express hairpin RNA or inverted repeats that are linked by an intron sequence.	A szintetikus siRNS-ek és miRNS-ek növényekben történő előállításának egyik legnépszerűbb módszere a hajtű RNS-ek vagy intron szekvenciákkal összekapcsolt fordított ismétlődések kifejeztetése.	
169	This hairpin RNA can be recognized and processed by plant DCLs into siRNAs and then cause the target gene silencing ([1]Chuang and Meyerowitz, 2000{2}; [1]Wesley et al., 2001{2}).	A hajtű RNS-t a növényi DCL fehérjék ismerik fel és hasítják siRNS-ekké, majd ezt követően idézik elő a célgén csendesítését ([1]Chuang és Meyerowitz, 2000{2}; [1]Wesley et al., 2001{2}).	
170	While these are frequently designed to target exon regions to trigger post-transcriptional gene silencing, they can also be designed to target promoter regions to trigger RdDM-directed silencing ([1]Mette et al., 2000{2}; [1]Dadami et al., 2014{2}; [1]Williams et al., 2015{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}).	Ezeket gyakran úgy tervezik, hogy exon régiókat célozva poszttranszkripció gécnsendesítést váltsanak ki, de úgy is megtervezhetők, hogy a promóter régiókat megcélozva RdDM-irányított csendesítés jöjjön létre ([1]Mette et al., 2000{2}; [1]Dadami et al., 2014{2}; [1]Williams et al., 2015{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}).	
171	Some other small RNAmidated approaches to silence genes include virus-induced gene silencing ([1]Wassenegger et al., 1994{2}; [1]Baulcombe, 1999{2}; [1]Burch-Smith et al., 2004{2}), and artificial miRNA directed gene silencing ([1]Schwab et al., 2006{2}; [1]Ossowski et al., 2008{2}).	Egyéb, kis RNS-közvetített géncsengesítési megközelítés például a vírus-indukált ([1]Wassenegger et al., 1994{2}; [1]Baulcombe, 1999{2}; [1]Burch-Smith et al., 2004{2}), illetve a mesterséges miRNS általi géncsengesítés ([1]Schwab et al., 2006{2}; [1]Ossowski et al., 2008{2}).	
172	While synthetic siRNAs and miRNAs can target gene silencing, they cannot recruit other factors or be used for targeted activation, and are prone to off-target effects ([1]Xu et al., 2006{2}; [1]Ossowski et al., 2008{2}) ([1]Table 1{2}).	Bár a szintetikus siRNS-ek és miRNS-ek használhatóak célzott géncsengesítésre, de nem képesek más faktorok toborzására vagy a célzott aktiválásra, továbbá hajlamosak célt téveszteni, ami az ún. off-target hatás ([1]Xu et al., 2006{2}; [1]Ossowski et al., 2008{2}) ([1]1. Táblázat{2}).	
173	Technologies allowing for the targeting of effector domains in a sequence dependent manner allow for more specific control of transcriptional activation in addition to repression.	Az effektor domének szekvenciafüggő célzására képes technológiák a gátlás mellett lehetővé teszik a transzkripció aktiválás specifikusabb szabályozását is.	
174	Sequence-dependent DNA binding modules	Szekvenciafüggő DNS-kötő modulok	
175	Zinc Fingers	Cink-ujjak	
176	Zinc Fingers (ZFs) are one of the earliest and best characterized tools for targeting effector domains to specific regions of a {MQ}genome.	A cink-ujj (ZF) technológia az egyik legkorábbi és legjobban jellemzett eszköz az effektor domének meghatározott genom régióikhoz történő {MQ}irányításához.	
177	These proteins typically contain a classical C2H2 ZF structure with two [1]β{2}-sheets and one [1]α{2}-helix{MQ}maintained by hydrophobic interactions and a zinc ion ([5]Lee et al., 1989{6}).	Ezek a fehérjék jellemzően klasszikus C2H2 ZF szerkezetűek, két [1]β{2}-redő és egy [1]α{2}-hélix{MQ}struktúrával, amit hidrofób kölcsönhatások és egy cink ion tartanak fenn ([5]Lee et al., 1989{6}).	
178	Each finger primarily recognizes and binds to a unique 3-bp DNA sequence encoded in the amino acid residues of the [1]α{2}-helix ([3]Pavletich and Pabo, 1991{4}; [3]Elrod-Erickson et al., 1996{4}) ([3]Figure 2B{4}).	Minden ujj elsődlegesen egy egyedi, 3 bp hosszúságú DNS-szekvenciát ismer fel és köt, amelyet az [1]α{2}-hélix aminosav oldalláncai határoznak meg	

		([3]Pavletich és Pabo, 1991{4}; [3]Elrod-Erickson et al., 1996{4}) ([3]2.B ábra{4}).	
179	This amino acid sequence can be manipulated and repeated to develop artificial ZF proteins with multiple finger domains capable of differentiating the DNA sequence of a target site from the rest of the genome ([1]Liu et al., 1997{2}; [1]Segal et al., 1999{2}; [1]Dreier et al., 2001{2}).	Ez az aminosav szekvencia módosítható és többszörösíthető, hogy olyan mesterséges, több ujj doménnel rendelkező ZF fehérjéket hozunk létre, amelyek képesek megkülönböztetni a célhely DNS-szekvenciáját a genom többi részétől ([1]Liu et al., 1997{2}; [1]Segal et al., 1999{2}; [1]Dreier et al., 2001{2}).	
180	These artificial ZFs can then be fused to an effector domain in order to activate or repress transcription.	Ha ezeket a mesterséges ZF-eket egy effektor doménnel fuzionáltatjuk a transzkripció aktiválása vagy gátlása érhető el.	
181	While ZF targeting systems have been widely used, they have several drawbacks relative to other targeting systems, such as a relative lack of specificity, which are outlined in [1]Table 1 {2}([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Johnson et al., 2014{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}; [1]Gardiner et al., 2020{2}; [1]Liu et al., 2021{2}).	Bár a ZF célzórendszereket széles körben használják, számos hátrányuk van a többi rendszerhez képest, például a specifikusság viszonylagos hiánya, amelyeket az [1]1. Táblázatban {2}vázoltunk fel ([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Johnson et al., 2014{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2019{2}; [1]Gardiner et al., 2020{2}; [1]Liu et al., 2021{2}).	
182	Transcription activator-like effectors	Transzkripciós aktivátor-szerű effektorok	
183	Like ZFs, TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTORS (TALEs) contain specific amino acid sequences that allow for the programmable recognition of specific DNA sequences ([1]Figure 2C{2}).	A ZF-ekhez hasonlóan, a Transzkripciós aktivátor-szerű effektorok (angol megfelelője a TRANSCRIPTION ACTIVATOR-LIKE EFFECTORS, röviden TALE) olyan sajátos aminosav szekvenciákat tartalmaznak, amelyek lehetővé teszik specifikus DNS-szekvenciák programozható felismerését ([1]2.C ábra{2}).	
184	The TALE DNA binding domain consists of around 18 units of repeats with each unit comprising 34 amino acids containing two variable amino acids at positions 12 and 13, known as repeat-variable diresidues (RVDs), which direct the binding specificity of a unit ([1]Boch et al., 2009{2}; [1]Moscou and Bogdanove, 2009{2}) ([1]Figure 2C{2}).	A TALE DNS kötő doménje kb. 18 egységnyi ismétlődésből áll, amelyek mindegyike 34 aminosavat tartalmaz. A 12. és 13. pozícióban elhelyezkedő aminosav variábilis és az egységek kötődési specititását irányítja. Ezt a két variábilis aminosavat ismétlődésenként eltérő aminosavpárnak nevezzük (angol megfelelője repeat-variable diresidue, röviden RVD) ([1]Boch et al., 2009{2}; [1]Moscou és Bogdanove, 2009{2}) ([1]2.C ábra{2}).	
185	Thus, by rearranging these repeat units, designer TALEs can be created to target specific sequences ([1]Boch et al., 2009{2}; [1]Morbitzer et al., 2010{2}).	Az ismétlődő egységek átrendezésével meghatározott szekvenciákat célzó, formatervezett TALE hozható létre ([1]Boch et al., 2009{2}; [1]Morbitzer et al., 2010{2}).	
186	Assembly of additional TALEs to target a unique site is mostly a matter of assembling these repeat units so that the RVD nucleotide preference matches the target site.	További, egyedi helyeket célzó TALE-k összeállításához az ismétlődő egységek olyan elrendezésben kell legyenek, hogy az RVD nukleotid preferenciája megegyezzen a célhellyel.	
187	Certain RVDs either only bind to or are unable to bind to methylated DNA ([1]Bultmann et al., 2012{2}; [1]Deng et al., 2012{2}; [1]Valton et al., 2012{2}; [1]Tsuji et al., 2016{2}), and can be used to build TALE constructs that can discriminate between methylated and unmethylated recognition sites ([1]Deng et al., 2012{2}; [1]Valton et al., 2012{2}; [1]Tsuji et al., 2016{2}).	Egyes RVD-k kizárólag a metilált vagy nem metilált DNS-hez kötődnek ([1]Bultmann et al., 2012{2}; [1]Deng et al., 2012{2}; [1]Valton et al., 2012{2}; [1]Tsuji et al., 2016{2}) és ezt a tulajdonságukat kihasználva olyan TALE konstrukciók készíthetők, amelyek különbséget tudnak tenni metilált és nem metilált felismerési helyek között ([1]Deng et al., 2012{2}; [1]Valton et al., 2012{2}; [1]Tsuji et al., 2016{2}).	

188	While a powerful tool, TALEs are difficult to assemble due to the repetitiveness of the units, which only differ by two amino acids ([1]Cermak et al., 2011[2]; [1]Morbiter et al., 2011[2]; [1]Zhang et al., 2011[2]) ([1]Table 1[2]).	Noha a TALE hatékony eszköz, összeállítása nehézkes az ismétlődő egységek miatt, amelyek csupán két aminosavban különböznek egymástól ([1]Cermak et al., 2011[2]; [1]Morbiter et al., 2011[2]; [1]Zhang et al., 2011[2]) ([1]1. Táblázat[2]).	
189	CRISPR–Cas direct fusion	CRISPR–Cas közvetlen fúzió	
190	CRISPR–Cas systems can be used to target specific regions of a genome.	A CRISPR–Cas rendszerek a genom meghatározott régióinak megcélzására használhatók.	
191	These systems are naturally occurring in bacteria and archaea, and evolved as a type of adaptive immune system ([1]Sorek et al., 2013[2]).	Ezek a rendszerek a baktériumokban és archaeákban kifejlődött adaptív immunrendszerként a természetben is előfordulnak ([1]Sorek et al., 2013[2]).	
192	Unlike ZF or TALE systems that use the manipulation of amino acid sequences to specify the target site, CRISPR–Cas systems use non-coding RNAs ([1]Figure 2D[2]).	A ZF vagy TALE rendszerekkel ellentétben, ahol aminosav szekvenciák módosításával határozzák meg a célhelyet, a CRISPR–Cas rendszerek nem-kódoló RNS-eket használnak ([1]2.D ábra[2]).	
193	The natural targeting system consists of an RNA sequence complementary to the target sequence known as the spacer or CRISPR RNA (crRNA) and a scaffold sequence that is bound by the Cas protein known as the transactivating crRNA (tracrRNA) ([1]Deltcheva et al., 2011[2]) ([1]Figure 2D[2]).	A természetes célzórendszer áll egy, a célszekvenciával komplementer RNS szekvenciából, amit spacerként vagy CRISPR RNS-ként (crRNS) ismerünk, és egy transzaktiváló crRNS (tracrRNS) elnevezésű szerkezetmeghatározó (scaffold) szekvenciából, amit a Cas fehérje köt ([1]Deltcheva et al., 2011[2]) ([1]2.D ábra[2]).	
194	To simplify the tool, the crRNA and tracrRNA have been fused to form a single RNA molecule called a guide RNA (gRNA) ([1]Jinek et al., 2012[2]).	Az eszközt úgy egyszerűsítették le, hogy a crRNS-t és a tracrRNS-t egyesítették, egyetlen RNS-molekulát képezve, amelyet irányító vagy guide RNS-nek (gRNS) nevezünk ([1]Jinek et al., 2012[2]).	
195	The gRNA component is loaded into a Cas protein that is then able to identify and create a double-stranded break at the appropriate target site.	A gRNS-komponenssel felszerelt Cas fehérje képes azonosítani a célhelyet és ott kettős-szálú törést létrehozni.	
196	Recognition of the target sequence also requires a protospacer adjacent motif (PAM) specific to the Cas protein being used limiting the number of possible targets ([1]Figure 2D[2]).	A célszekvencia felismeréséhez még szükség van egy, adott Cas fehérjére specifikus, célszekvenciával szomszédos motívumra (protospacer adjacent motif, PAM) is, amely lekorlátozza a lehetséges célhelyek számát ([1]2.D ábra[2]).	
197	However, recent advancements in the development of CRISPR–Cas systems have created systems that do not require this PAM motif ([1]Walton et al., 2020[2]; [1]Ren et al., 2021[2]).	A legfrissebb fejlesztéseknek köszönhetően azonban már olyan CRISPR–Cas rendszerek is elérhetőek, amelyek nem igénylik ezt a PAM-motívumot ([1]Walton et al., 2020[2]; [1]Ren et al., 2021[2]).	
198	In addition to using Cas to trigger mutations at target sites, modified systems using catalytically inactive Cas (dCas) fused to an effector domain can be designed to cause a wide range of targeted effects, depending on the effector domain used ([1]Jinek et al., 2012[2]; [1]Larson et al., 2013[2]; [1]Qi et al., 2013[2]; [1]Lowder et al., 2015[2]; [1]Piatek et al., 2015[2]; [1]Liu et al., 2016[2]; [1]Li et al., 2017[2], [1]2020[2]; [1]Tang et al., 2017[2];	Az aktív Cas nukleáz segítségével létrehozott mutációk mellett a katalitikusan inaktív Cas-t (dCas) alkalmazó rendszerekkel a dCas-hoz fuzionált effektor doméntól függően célzott hatások széles skáláját válthatjuk ki ([1]Jinek et al., 2012[2]; [1]Larson et al., 2013[2]; [1]Qi et al., 2013[2]; [1]Lowder et al., 2015[2]; [1]Piatek et al., 2015[2]; [1]Liu et al., 2016[2]; [1]Li et al., 2017[2], [1]2020[2]; [1]Tang et al., 2017[2]; [1]Khakhar et al., 2018[2]; [1]Selma et al., 2019[2]; [1]Ghoshal et al., 2021[2]).	



	[1]Khakhar et al., 2018{2}; [1]Selma et al., 2019{2}; [1]Ghoshal et al., 2021{2}).		
199	The reduced expense, ease of construction, and high specificity of targeting has made CRISPR–dCas systems incredibly popular leading to the further development of more advanced systems beyond the simple direct fusion.	A kisebb költség, a könnyű összeállítás és a magas specificitás a CRISPR–dCas módszert hihetetlenül népszerűvé tette, ami az egyszerű közvetlen fúziónál kifinomultabb rendszerek kifejlesztéséhez vezetett.	
200	To enhance the targeted effect of these systems, additional systems with the ability to synergistically target multiple effector domains to a single locus have been developed as discussed below.	Az alábbiakban azokat a célzási hatékonyság fokozása érdekében kifejlesztett további rendszereket tárgyaljuk, amelyek képesek több effektor domén szinergikus célba juttatására egyetlen lókuszon.	
201	SunTag	SunTag	
202	The SunTag system was originally developed in animals to recruit multiple copies of GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) to a single locus allowing for the visualization of the target ([1]Tanenbaum et al., 2014{2}).	A SunTag rendszert eredetileg állatokban fejlesztették ki arra, hogy a GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) több példányát egyetlen lókusztoborzóval, ezzel lehetővé téve a célhely vizuális megjelenítését ([1]Tanenbaum et al., 2014{2}).	
203	This was quickly incorporated {MQ}into a dCas9-based system for other uses such as the activation of transcription or the addition/removal of DNA {MQ}methylation in both plants and animals ([1]Tanenbaum et al., {MQ}2014{2}; [1]Morita et al., 2016{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2018{2}; [1]Pflueger et al., 2018{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Tang et al., 2021{2}).	Ezt az ötletet hamar beépítették {MQ}dCas9-alapú rendszerekbe is olyan felhasználási célokra, mint a transzkripció aktiválás vagy a DNS metiláció {MQ}hozzáadása/eltávolítása növényekben és állatokban egyaránt ([1]Tanenbaum et al., {MQ}2014{2}; [1]Morita et al., 2016{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2018{2}; [1]Pflueger et al., 2018{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Tang et al., 2021{2}).	
204	The SunTag-dCas9 system requires the coordinated expression {MQ}of three different components: a dCas9 fused to a {MQ}peptide tail containing an array of epitope repeats; a complementary single-chain variable fragment (scFv) fused to an effector domain and a gRNA ([1]Figure 2E{2}).	A SunTag-dCas9 rendszer három különböző komponens {MQ}összehangolt kifejeződését követeli meg: egy dCas9 egy hozzá kapcsolt {MQ}peptid farokkal, amely epitóp ismétlődések sorozatát tartalmazza; egy effektor doménnel fuzionált komplementer egyláncú variábilis fragment (scFv); és egy gRNS ([1]2.E ábra{2}).	
205	This enables each dCas9 to recruit multiple copies of the effector domain via interactions between the scFv and the epitope tail.	Ez lehetővé teszi minden dCas9 fehérje számára, hogy az scFv és az epitóp fark közötti kölcsönhatások által az effektor domén több másolatát toborozza.	
206	While this increases the complexity of the system, recruiting multiple copies of an effector domain to a single locus has proven more effective than targeting a single effector domain through a direct fusion to dCas9 ([1]Morita et al., 2016{2}; [1]Pflueger et al., 2018{2}).	Bár ez növeli a rendszer összetettségét, egy effektor domén több másolatának alkalmazása egyetlen lókuszon hatékonyabbnak bizonyult, mint egyetlen effektor domén használata a dCas9-hez való közvetlen fúzió keresztül ([1]Morita et al., 2016{2}; [1]Pflueger et al., 2018{2}).	
207	More recently, epitope tails containing a combination of two different epitopes bound by separate scFvs have enabled the co-targeting of two different unique scFv-effector fusions at the same time ([1]Boersma et al., 2019{2}).	A közelmúltban két eltérő, külön scFv-vel megkötött két epitóp kombinációját hordozó epitópfarok lehetővé tette a két különböző, egyedi scFv-effektor fúzióval való egyidejű célzást ([1]Boersma et al., 2019{2}).	

208	Recruiting multiple copies of an effector protein using the SunTag system raises the possibility that these systems can have a larger targeted epigenetic footprint than the directly fused dCas9-effector version.	Egy effektor fehérje több másolatának toborzása SunTag rendszer használatával felveti annak lehetőségét, hogy ezek a rendszerek kiterjedtebb epigenetikai mintázatot hozhatnak létre célzottan, mint a közvetlenül fuzionált dCas9-effektor verzió.	
209	Although this might be true in certain cases, the targeted epigenetic footprint seems to be influenced by several factors.	Bár ez bizonyos esetekben igaz lehet, a célzottan létrehozott epigenetikai mintázatot látszólag több tényező befolyásolja.	
210	For example, in mammalian cell lines, targeting the mammalian de novo DNA methyltransferase DNA-methyltransferase 3 alpha (DNMT3A), fused directly to dCas9 resulted in a DNA methylation footprint of approximately 200 bp ([1]McDonald et al., 2016[2]; [1]Vojta et al., 2016[2]).	Például emlős sejtvonalak esetében, ha az emlős de novo DNS-metiltranszferázt, a DNS-metiltranszferáz 3-alfát (DNMT3A) dCas9-hez fuzionálva alkalmazzuk, körülbelül 200 bp DNS-metilációs lábnyom keletkezik ([1]McDonald et al., 2016[2]; [1]Vojta et al., 2016[2]).	
211	While using the SunTag system with the DNMT3A resulted in a wider DNA methylation footprint of 4 kb on the Homeobox A5 (HOXA5) gene, this was not observed when the DNMT3A-SunTag system targeted the Krüppel-like factor 4 gene, indicating a locus-specific effect ([1]Huang et al., 2017[2]).	Ha SunTag rendszert használjuk a DNMT3A-val, egy szélesebb, 4 kilobázis (kb) kiterjedésű DNS-metilációs lenyomatot kaphatunk a Homeobox A5 (HOXA5) génen, de ezt a hatást már nem figyelték meg, mikor ugyanezen rendszerrel a Krüppel-szerű 4-es faktor génjét jelölték ki, ami egy lókuszt specifikus hatást feltételez ([1]Huang et al., 2017[2]).	
212	The influence of genomic context was also implied in plants ([1]Ghoshal et al., 2021[2]).	A genomi kontextus befolyását növényekben is feltételezték ([1]Ghoshal et al., 2021[2]).	
213	For example, in Arabidopsis, identical targeted DNA methylation footprints were observed at the FWA gene when targeting a CG-specific bacterial methyltransferase using either a direct fusion with dCas9 or the SunTag system.	Például lúdfűben végzett kísérletek során megfigyelték, hogy dCas9 direkt fúzió és SunTag használatával egyaránt teljesen megegyező DNS metilációs mintázat keletkezett az FWA génen, mikor azokat CG-specifikus bakteriális metiltranszferázzal kapcsoltan alkalmazták.	
214	This was most likely due to the targeted region being flanked by genomic regions lacking CG sites limiting the span of DNA methylation targeted by both tools.	Ez valószínűleg annak volt köszönhető, hogy a cél régiót szegélyező genomi régiókban nincsenek CG-helyek, ami korlátozza a DNS-metiláció terjedését mindkét eszköz esetében.	
215	Thus, further research is required to directly assess the factors influencing the DNA methylation footprints induced by these multi-effector protein targeting tools.	Ahhoz még további kutatásokra van szükség, hogy közvetlenül felmérjük az ilyen multi-effektoros fehérje-célzóeszközök által indukált DNS-metilációs mintázat változást befolyásoló tényezőket.	
216	MS2	MS2	
217	Like the SunTag system, the MS2 system is a CRISPR–dCas9 based system that gives the user the ability to target multiple effector proteins to a specific locus ([1]Koneremann et al., 2015[2]).	Az MS2 rendszer a SunTag rendszerhez hasonlóan CRISPR–dCas9 alapon működik és lehetővé teszi a felhasználó számára, hogy több effektor fehérjével célozzon meg egy adott lókuszt ([1]Koneremann et al., 2015[2]).	
218	However, unlike SunTag or direct fusions to dCas9, the MS2 system recruits effector proteins via interactions with a modified gRNA.	Azonban a SunTag és a dCas9 fúziós eljárással ellentétben az MS2 rendszer módosított gRNS-ek segítségével toborozza az effektor fehérjéket.	
219	The MS2 system takes advantage of the MS2 bacteriophage coat protein and its known RNA binding site.	Az MS2 rendszer az MS2 bakteriofág köpenyfehérjét és annak ismert RNS-kötő helyét használja ki.	
220	Like the SunTag system, this system also requires the coordinated expression of three components: a dCas9, a MS2 coat protein-effector domain fusion,	A SunTag rendszerhez hasonlóan az MS2 is három komponens koordinált expresszióját igényli: egy dCas9, egy MS2 köpenyfehérje-effektor domén	

	and a gRNA scaffold including an MS2 binding site added to the tetraloop and/or stem loop 2 positions of the tracrRNA ([1]Konermann et al., 2015{2}) ([1]Figure 2E{2}).	fúzió, és egy olyan gRNS vázrendszer, ahol a tracrRNS-ben a négyes-hurok és/vagy a szárhurok második pozíciójában egy MS2 kötőhely található ([1]Konermann et al., 2015{2}) ([1]2.E ábra{2}).	
221	The MS2 system can be combined with dCas9 direct fusion (known as the Synergistic Activation Mediator system or SAM) or the SunTag system or both (known as CRISPR Act 3.0) to recruit{MQ}even more or different effector proteins to a target site via effector protein interactions with both the gRNA and the dCas9 ([1]Konermann et al., 2015{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Pan et al., 2021{2}) ([1]Figure 2E{2}).	Az MS2 rendszert kombinálhatjuk dCas9-el közvetlen fúzió keresztül (Szinerzysta aktivációs mediátor rendszer, angol megfelelője Synergistic Activation Mediator, röviden SAM) vagy SunTag rendszerrel vagy mindkettővel egyszerre (CRISPR Act 3.0). A kombinációval a gRNS és a dCas9 effektor fehérje kölcsönhatásai együttesen hasznosulnak, így nagyobb számú{MQ}vagy több különböző effektor fehérjét irányíthatunk a célhelyre ([1]Konermann et al., 2015{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Pan et al., 2021{2}) ([1]2.E ábra{2}).	
222	<b>Targeted epi-mutagenesis and transcriptional control</b>	<b>Céltzott epimutagenézis és a transzkripció irányítása</b>	
223	Effector domains used for transcriptional activation	Effektor domének transzkripció aktiválásához	
224	There are an array of different effector domains that can be used to activate transcription in targeted systems.	A célzórendszerekben a transzkripció aktiválására számos különböző effektor domént használhatunk.	
225	This can be achieved directly by attracting basal transcription factors, or indirectly by adding active histone marks or removing repressive marks.	Az aktiválást bazális transzkripciós faktorok használatával közvetlenül, illetve aktív hisztonjelek hozzáadásával vagy gátló jelek eltávolításával közvetetten érhetjük el.	
226	Targeting of the modular activating domain of the herpes simplex virus VP16 to a specific locus has been extensively described as an efficient way to activate transcription ([1]Dreier et al., 2001{2}; [1]Sánchez et al., 2002{2}; [1]Steger et al., 2002{2}; [1]Morbiter et al., 2010{2}; [1]Geißler et al., 2011{2}; [1]Miller et al., 2011{2}; [1]Zhang et al., 2011{2}; [1]Cheng et al., 2013{2}; [1]Maeder et al., 2013{2}; [1]Mali et al., 2013{2}; [1]Perez-Pinera et al., 2013{2}; [1]Qi et al., 2013{2}; [1]Liu et al., 2014{2}; [1]Tanenbaum et al., 2014{2}; [1]Vazquez-Vilar et al., 2016{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Park et al., 2017{2}; [1]Lee et al., 2019{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	Meghatározott lókuszek célzását a VP16 herpes simplex vírus moduláris aktiváló doménjével már többen részletesen leírták, mint a transzkripció aktiválásának hatékony módját ([1]Dreier et al., 2001{2}; [1]Sánchez et al., 2002{2}; [1]Steger et al., 2002{2}; [1]Morbiter et al., 2010{2}; [1]Geißler et al., 2011{2}; [1]Miller et al., 2011{2}; [1]Zhang et al., 2011{2}; [1]Cheng et al., 2013{2}; [1]Maeder et al., 2013{2}; [1]Mali et al., 2013{2}; [1]Perez-Pinera et al., 2013{2}; [1]Qi et al., 2013{2}; [1]Liu et al., 2014{2}; [1]Tanenbaum et al., 2014{2}; [1]Vazquez-Vilar et al., 2016{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Park et al., 2017{2}; [1]Lee et al., 2019{2}; [1]Papikian et al., 2019{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	
227	The VP16 activator domain is an acidic peptide that interacts with basal transcription factors and the mediator complex to facilitate the assembly of the pre-initiation complex at its target site ([1]Hall and Struhl, 2002{2}; [1]Hirai et al., 2010{2}).	A VP16 aktivátor domén egy savas peptid, amely kölcsönhatásba lép a bazális transzkripciós faktorokkal és a mediátor komplexszel, hogy megkönnyítse a pre-iniciációs komplex összeállítását a célhelyén ([1]Hall és Struhl, 2002{2}; [1]Hirai et al., 2010{2}).	
228	Vp16 also interacts with histone acetyltransferases and the SWI/ SNF ATPase complex to manipulate the surrounding chromatin structure into an active state ([1]Hall and Struhl, 2002{2}; [1]Hirai et al., 2010{2}).	A Vp16 hiszton acetiltransferázokkal és az SWI/SNF ATPáz komplexszel is kölcsönhatásba lép, hogy a környező kromatin szerkezetet aktív állapotba hozza ([1]Hall és Struhl, 2002{2}; [1]Hirai et al., 2010{2}).	

229	Creating a tetramer (VP64) or octamer (VP128) of the minimal VP16 activator domain can dramatically increase the potency of this activator ([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Li et al., 2017{2}).	Ennek az aktivátornak a hatását drámaian növelhetjük, ha tetramert (VP64) vagy oktamert (VP128) készítünk a minimál VP16 aktivátor doménből ([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Li et al., 2017{2}).	
230	In addition to this, recruiting multiple copies of VP64 via systems like the SunTag can improve the activation of downstream targets compared to direct fusion systems ([1]Tanenbaum et al., 2014{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	A közvetlen fúziós rendszerekhez képest a célgének aktiválását tovább javíthatja a VP64 több példányának toborzása a SunTag rendszerrel ([1]Tanenbaum et al., 2014{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	
231	Directly targeting transcriptional activation can also be achieved through targeting the highly conserved plantspecific acidic-type activator domains found in the APETALA2 family of proteins, known as the EDLL domains.	A közvetlen transzkripció-aktiválás az APETALA2 fehérjecsaládban megtalálható, növény-specifikus, erősen konzervált savas típusú aktivátor domének, más néven EDLL domének használatával is lehetséges.	
232	The EDLL domain of AtEFR98 is frequently used as a modular component to activate gene expression ([1]Tiwari et al., 2012{2}; [1]Piatek et al., 2015{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	Az AtEFR98 EDLL doménjét gyakran használják moduláris komponensként a génkifejeződés aktiválására ([1]Tiwari et al., 2012{2}; [1]Piatek et al., 2015{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	
233	This EDLL motif is relatively small (24 amino acids) compared to other common activator domains like the VP16 (78 amino acids) making this activating domain an attractive option for development of compact synthetic targeted activation systems.	Ez az EDLL motívum más gyakori aktivátor doménnel összehasonlítva – mint például a VP16 (78 aminosav) – viszonylag kicsi (24 aminosav), így remekül használható lehet kompakt szintetikus aktivációs célzórendszerek fejlesztéséhez.	
234	However, at some target sites, multiple copies of EDLL were needed to achieve similar transcriptional activation as VP16 ([1]Tiwari et al., 2012{2}).	Egyes célhelyeken azonban több EDLL-re volt szükség ahhoz, hogy a VP16-hoz hasonló transzkripció-aktiválást érjünk el ([1]Tiwari et al., 2012{2}).	
235	Like VP16 and EDLL domains, TAL acidic-type activator domains, found in natural TALE systems, have also been used in a modular way to activate gene expression ([1]Piatek et al., 2015{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	A természetes TALE rendszerekben található savas típusú TAL aktivátor doméneket is használták már génkifejeződés aktiválására a VP16 és az EDLL doménekhez hasonló moduláris módon ([1]Piatek et al., 2015{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	
236	This effector domain, when targeted using the TALE system, can activate genes upstream and downstream {MQ} of its binding site regardless of which strand the effector is targeted to ([1]Wang et al., 2017{2}).	Ez az effektor domén a TALE célzórendszert használva a kötőhelyétől mindkét irányban (upstream és downstream) géneket aktiválhat {MQ}függetlenül attól, hogy melyik DNS szálát célozzuk az effektorral ([1]Wang et al., 2017{2}).	Magyarázó betoldást alkalmaztam (DNS)
237	In addition to the direct activation of transcription by recruiting activator domains, another option is recruiting domains capable of adding active or removing repressive epigenetic marks, thereby activating gene expression indirectly.	A transzkripció aktiválására az aktivátor domének közvetlen hatása mellett további lehetőség az olyan domének használata, amelyek közvetett módon indítják be a génexpressziót aktív epigenetikai jelek hozzáadásával vagy gátló jelek eltávolításával.	
238	In plants, targeting transcriptional activation through H3K27 acetylation using the p300 domain from humans or the catalytic domain of the plant-specific ARABIDOPSIS HISTONE ACETYLTRANSFERASE OF THE CBP FAMILY 1(HAC1) can activate transcription of targeted genes; however, at least in the case of p300, a higher level of activation is achieved when VP64 is used	Növényekben az emberi eredetű p300 domén vagy a növény-specifikus acetiltranszferáz, az ARABIDOPSIS HISTONE ACETYLTRANSFERASE OF THE CBP FAMILY 1 (HAC1) katalitikus doménje célzottan aktiválhatja célgének transzkripcióját a H3K27 acetilációján keresztül; azonban p300-al összehasonlítva a VP64 használatával magasabb szintű aktiváció érhető el	

	<p>([1]Lee et al., 2019{2}; [1]Roca Paix{2}[5]~{6}[1]ao et al., 2019{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).</p>	<p>([1]Lee et al., 2019{2}; [1]Roca Paix{2}[5]~{6}[1]ao et al., 2019{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).</p>	
239	<p>Removing repressive DNA methylation from a promoter using the human TENELEVEN TRANSLOCATION1 (TET1) can also cause transcriptional activation ([1]Maeder et al., 2013{2}; [1]Amabile et al., 2016{2}; [1]Choudhury et al., 2016{2}; [1]Liu et al., 2016{2}; [1]Morita et al., 2016{2}; [1]Xu et al., 2016{2}; [1]Lo et al., 2017{2}; [1]Okada et al., 2017{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2018{2}; [1]Li et al., 2020{2}; [1]Tang et al., 2021{2}).</p>	<p>A gátló DNS metiláció eltávolítása egy promoterről a humán TENELEVEN TRANSLOCATION1 (TET1) segítségével szintén transzkripció aktivációhoz vezethet ([1]Maeder et al., 2013{2}; [1]Amabile et al., 2016{2}; [1]Choudhury et al., 2016{2}; [1]Liu et al., 2016{2}; [1]Morita et al., 2016{2}; [1]Xu et al., 2016{2}; [1]Lo et al., 2017{2}; [1]Okada et al., 2017{2}; [1]Gallego-Bartolome et al., 2018{2}; [1]Li et al., 2020{2}; [1]Tang et al., 2021{2}).</p>	
240	<p>In animals, the TET family of oxidases can oxidize methylated DNA, leading to either the passive removal of the methyl group through a lack of maintenance during DNA replication or the active removal by glycosylases such as thymine DNA glycosylase ([1]Lio et al., 2020{2}).</p>	<p>Állatokban a TET oxidázok családja képes oxidálni a metilált DNS-t, ami vagy a metilcsoport passzív eltávolításához vezet a DNS replikáció során a karbantartás hiánya miatt, vagy pedig aktívan távolítják el a glikozilázok, mint például a timin DNS-glikoziláz ([1]Lio et al., 2020{2}).</p>	
241	<p>Such oxidized variants have been detected in plants; however, at such low levels that its importance is called into question ([1]Mahmood and Dunwell, 2019{2}).</p>	<p>Növényekben is kimutattak ilyen oxidált változatokat, de szintjük annyira alacsony, hogy jelentőségük megkérdőjelezhető ([1]Mahmood és Dunwell, 2019{2}).</p>	
242	<p>While no proteins homologous to the TET family have been described in plants, ectopic expression of TET proteins, targeted or otherwise, in plants causes a loss of DNA methylation, suggesting the existence of a similar passive or active mechanism for the removal of oxidized DNA methyl groups in plants ([1]Hollwey et al., 2016{2}; [1]GallegoBartolome et al., 2018; Ji et al., 2018{2}).</p>	<p>Növényekben a TET családdal homológ fehérjéket nem írtak le, de a TET fehérjék akár célzott, akár nem célzott ektopikus expressziója a DNS-metiláció elvesztését okozta, ami arra enged következtetni, hogy egy hasonló, passzív vagy aktív mechanizmus az oxidált DNS-metil csoportok eltávolítására a növényekben is jelen van ([1]Hollwey et al., 2016{2}; [1]GallegoBartolome et al., 2018; Ji et al., 2018{2}).</p>	
243	<p>Unlike recruiting the basal transcriptional machinery, which can cause unwanted overexpression, using epigenetic marks to control transcription only facilitates the accessibility of the target promoter to the transcriptional machinery.</p>	<p>Ellentétben az alap transzkripció gépezet toborzásával, ami nemkívánatos túlexpressziót okozhat, az epigenetikai jelek használata a transzkripció szabályozására csupán megkönnyíti a transzkripció gépezet számára a célpromóterhez való hozzáférést.</p>	
244	<p>This highlights an advantage to the manipulation of epigenetic marks over the targeting of an activator domain.</p>	<p>Ez az epigenetikai módosítások egyik előnyét emeli ki az aktivátor domének használatával szemben.</p>	
245	<p>In addition to this, altering epigenetic marks can also facilitate the accessibility of targeted activator domains and thus, achieve a synergistic effect when they are combined ([1]Roca Paix{2}[3]~{4}[1]ao et al., 2019{2}).</p>	<p>Ezen felül az epigenetikai jelek megváltoztatása elősegítheti a célzott aktivátor domének hozzáférést, és így egymással kombinálva hatásuk összeadódik ([1]Roca Paix{2}[3]~{4}[1]ao et al., 2019{2}).</p>	
246	<p>Co-targeting Activation</p>	<p>Aktiválás egyidejű célzással</p>	
247	<p>While many studies have attempted to compare single activator domains to determine the best one to use for targeted activation, such studies will be heavily influenced by a number of unrelated factors, including the choice of targeting system and target site.</p>	<p>Számos tanulmány megkísérelte összehasonlítani és meghatározni a célzott aktiváláshoz legjobban használható, egyedülálló aktivátor doméneket, de az ilyen vizsgálatokat több, egymástól független tényező erősen befolyásolja, többek közt a választott célzórendszer és célhely.</p>	

248	While an activator domain might appear superior in a specific system or at a specific target site, {MQ}this cannot be extrapolated to every possible scenario that {MQ}exists in every plant genome, and thus a variety of tools are needed.	Bár egy bizonyos aktivátor domén jobbnak tűnhet a többinél egy adott rendszerben vagy egy adott célhelyen, {MQ}ez nem feltétlenül igaz az összes növény genomjában lehetsége számtalan {MQ}forgatókönyvre, így változatos eszközökre van szükségünk.	
249	However, a consistent trend seen in the development of these tools is that the ones that are capable of targeting multiple activator domains to a single locus have {MQ}consistently been shown to perform better than those targeting a single domain ([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Tiwari et al., 2012{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}; [1]Morita et al., 2020{2}; [1]Pan et al., 2021{2}).	Ugyanakkor ezen eszközök fejlesztése során megfigyelhető az a tendencia, hogy a több aktivátor domént egyetlen lókuszt célzó képes eszközök {MQ}rendszerint jobban teljesítenek, mint az egyetlen domént használók ([1]Beerli et al., 1998{2}; [1]Tiwari et al., 2012{2}; [1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}; [1]Morita et al., 2020{2}; [1]Pan et al., 2021{2}).	
250	While there are limits to the number of domain repeats that can be included in a single coding sequence due to protein instability, using multiple different activator domains to synergistically activate gene expression has been an immensely successful strategy ([1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	Bár az egyetlen kódoló szekvenciába beépíthető ismétlődő domének száma a fehérje instabilitás miatt korlátozott, ennek ellenére a több különböző aktivátor domén használata a génkifejeződés együttes hatású aktiválására rendkívül sikeres stratégiának bizonyult ([1]Li et al., 2017{2}; [1]Selma et al., 2019{2}).	
251	Targeting direct fusions of VP128 to EDLL or VP128 to TAL activator domains leads to an increase in the activation of gene expression ([1]Li et al., 2017{2}).	A VP128-EDLL vagy a VP128-TAL aktivátor domének fúziója a génkifejeződés fokozott aktiválódásához vezet ([1]Li et al., 2017{2}).	
252	In addition the fusion of VP64 to P65 and Rta, two additional modular activator domains originally shown to work in animals (VPR), is also capable of activating gene expression in plants to a higher level than VP64 alone ([1]Chavez et al., 2015{2}; [1]Li et al., 2017{2}).	A VP64 fúziója két további - állatokban korábban kimutatottan működő (VPR) - moduláris aktivátor doménnel, a P65-tel és Rta-val szintén magasabb szinten képes aktiválni a génextpressziót növényekben, mint a VP64 önmagában ([1]Chavez et al., 2015{2}; [1]Li et al., 2017{2}).	
253	Further, systems that allow the co-targeting of different activator domains can now push this further by combining even more activator domains such as the EDLL domain with the VPR fusion ([1]Selma et al., 2019{2}).	A különböző aktivátor doméneket egyszerre használó rendszerek ezt képesek még magasabb szintre emelni további aktivátor domén hozzáadásával, amilyen például az EDLL domén kombinációja VPR fúzióval ([1]Selma et al., 2019{2}).	
254	However, quantitatively comparing these different co-targeting strategies is challenging and again depends on the target site and targeting system.	A különböző egyidejű-célzási stratégiák mennyiségi összehasonlítása azonban kihívást jelent, ami szintén a célhelytől és a célzórendszerrel függ.	
255	For example, co-targeting the EDLL domain with multimers of the VP16 activator domain either through the SAM targeting system or direct fusion, has been shown to be inferior to fusions to other activator domains or simply by co-targeting multiple VP64 peptides to the target locus ([1]Li et al., 2017{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Pan et al., 2021{2}).	Példaként hozható az EDLL domén és VP16 aktivátor domén multimerének használata SAM-rendszerben vagy közvetlen fúzióban, ezek ugyanis rosszabbnak bizonyultak, mint a más aktivátor doménnel való fúzió, vagy egyszerűen a több VP64 peptid használata az adott lókuszon ([1]Li et al., 2017{2}; [1]Lowder et al., 2018{2}; [1]Pan et al., 2021{2}).	
256	However, when the EDLL domain is co-targeted along with the VPR fusion using the SAM targeting system, it has been shown to produce a higher gene activation than targeting multiple VP64 domains.	Ha azonban az EDLL-domént és a VPR-fúziót együtt használjuk SAM célzórendszerben, kimutatható, hogy magasabb a génaktiváció, mint több VP64 domén esetében.	

257	Thus, if an activator domain is effective at one locus or with a particular targeting system, it does not mean it will be effective when used in a different system or at a different locus.	Láthatjuk, hogy ha egy aktivátor domén egy bizonyos lókuszon vagy egy adott célzórendszerben hatékonyan működik, ez még nem jelenti azt, hogy akkor is hatékony lesz, ha egy másik rendszerben vagy egy másik lókuszon használjuk.	
258	Further, in animal cells, when VP64 and TET1 were cotargeted to the same locus they worked synergistically to upregulate gene expression causing a greater fold change increase in expression than targeting either factor alone ([1]Morita et al., 2020[2]), suggesting that manipulating the epigenetic landscape to be more amenable to activation is synergistic with targeting activator domains.	Mikor állati sejtekben a VP64-et és a TET1-et ugyanarra a lókuszra irányították, ezek egymás hatását felerősítve génkifejeződés felszabályozásában nagyobb mértékű változást eredményezett, mintha ezeket a faktorokat önmagukban használtuk volna ([1]Morita et al., 2020[2]). Ez azt sugallja, hogy ha az epigenetikai kódot úgy alakítjuk, hogy az aktiválás hozzáférhetőbbé váljon, az a célzó aktivátor doménnel szinergikus hatást ér el.	a 'fold change' egy statisztikai kifejezés, itt nem érzem fontosnak a pontos jelentést, így egyszerűen változásnak fordítottam
259	In plants, targeting multiple VP64 activator modules to the FWA promoter using the SunTag targeting system also resulted in the loss of DNA methylation, suggesting that simultaneously targeting mechanisms that remove DNA methylation and directly activate of gene expression could work synergistically in plants as it does in animals ([1]Papikian et al., 2019[2]; [1]Morita et al., 2020[2]).	Növényekben az FWA-promóter célzása több VP64-aktivátor modullal SunTag célzórendszerben DNS metiláció-vesztést is eredményezett, ami arra utal, hogy az állatokhoz hasonlóan a DNS-metilációt eltávolító és a génexpressziót közvetlenül aktiváló célzó mechanizmusok egyidejűleg szinergikusan működhetnek a növényekben is ([1]Papikian et al., 2019[2]; [1]Morita et al., 2020[2]).	
260	END	VÉGE	a cikk fordított része itt ér véget
261	Received October 01, 2021. Accepted January 13, 2022. Advance access publication February 3, 2022{MQ}V The Author(s) 2022.	Beérkezett 2021. október 01-én. Elfogadva 2022. január 13-án. Előzetes hozzáférésű kiadvány 2022. február 3{MQ}V A szerző(k) 2022.	
262	Published by Oxford University Press on behalf of American Society of Plant Biologists.	Kiadja az Oxford University Press a Növénybiológusok Amerikai Társasága (American Society of Plant Biologists) megbízásából.	
263	This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License ( <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> ), which permits unrestricted reuse, distribution,{MQ}and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.	Ez egy nyílt hozzáférésű cikk, amelyet a Creative Commons attribúciós engedély (Creative Commons Attribution License, <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> ) feltételei szerint terjesztenek, és amely lehetővé teszi a korlátlan újrafelhasználást, terjesztést,{MQ}és bármilyen médiumon történő sokszorosítást, feltéve, hogy az eredeti műre megfelelően hivatkoznak.	
264	Open Access	Nyílt hozzáférésű	
265	Open Access	Nyílt hozzáférésű	

266	[1][2][3]1[4]   PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824[5]Gardiner et al.{MQ}Transcriptional control and epi-mutagenesis{MQ}PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824	[1][2][3]1[4]   PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824[5]Gardiner et al.{MQ}Transzkripció kontroll és epimutagenézis{MQ}PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824	
267			
268	[1][2][3]1[4]	[1][2][3]1[4]	
269	[1][2][3][4]1812[5] {6}  [4]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824[8]Gardiner et al.{6}{MQ}[4]Transcriptional control and epi-mutagenesis[8]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824 {6}  [1][2][3][4]1817[5]{6}{MQ}[4]Transcriptional control and epi-mutagenesis[8]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824 {6}  [1][2][3][4]1817[5]{6}	[1][2][3][4]1812[5] {6}  [4]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824[8]Gardiner et al.{6}{MQ}[4]Transzkripció kontroll és epimutagenézis[8]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824 {6}  [1][2][3][4]1817[5]{6}{MQ}[4]Transzkripció kontroll és epimutagenézis[8]PLANT PHYSIOLOGY 2022: 188; 1811–1824 {6}  [1][2][3][4]1817[5]{6}	



## 7. Gépi fordítás minimális és teljes utószerkesztéssel

#	Forrásnyelvi szöveg	DeepL gépi fordítás	Minimális utószerkesztés	Teljes utószerkesztés	Megjegyzés
1.	While an activator domain might appear superior in a specific system or at a specific target site, this cannot be extrapolated to every possible scenario that exists in every plant genome, and thus a variety of tools are needed.	Míg egy aktivátor domén (1)egy adott rendszerben vagy egy adott (2)célponton kiválónak tűnhet, ez (3)nem extrapolálható (4)minden lehetséges (5)forgatókönyvre, amely minden növényi genomban létezik, és ezért többféle eszközre van szükség.	Míg egy aktivátor domén egy adott rendszerben vagy egy adott célponton kiválónak tűnhet, ez nem extrapolálható minden lehetséges forgatókönyvre, amely minden növényi genomban létezik, és ezért többféle eszközre van szükség.	Míg egy aktivátor domén egy adott rendszerben vagy célhelyen kiválónak tűnhet, ez nem feltétlenül igaz minden növényi genomban előforduló összes lehetséges eseményre, ezért többféle eszközre van szükség.	min: nem szükséges max: (1)felesleges ismételni, hogy 'adott', így összevontam. (2)célhely a pontos terminus (3)túl magyartalannak éreztem ezt a kifejezést. A szó jelentése ebben a mondatban, hogy az előzőekből nem következtethetünk arra, hogy máshol is jól működik. Így a 'nem feltétlenül igaz' kifejezést használtam, ami a jelentést magában hordozza, de könnyebben olvasható, értelmezhető így a szöveg. Egyes helyeken (4) a mondanivaló kicsit nehezen értelmezhető volt, így át kellett fogalmaznom, illetve a (5) 'forgatókönyv' szó nem igazán illik egy szakmai szövegbe, 'eseményre' változtattam.

2.	<p>However, a consistent trend seen in the development of these tools is that the ones that are capable of targeting multiple activator domains to a single locus have consistently been shown to perform better than those targeting a single domain</p>	<p>Az ilyen (1)eszközök fejlesztése során azonban az a következő tendencia (2)figyelhető meg, (3)hogy azok, amelyek képesek (4)több aktivátor domént egyetlen lokuszra célozni, (5)következésképpen jobb teljesítményt mutattak, mint azok, amelyek egyetlen (6)domént céloznak meg</p>	<p>Az ilyen eszközök fejlesztése során azonban az a következő tendencia figyelhető meg, hogy azok, amelyek képesek több aktivátor domént egyetlen lokuszra célozni, következőképpen jobb teljesítményt mutattak, mint azok, amelyek egyetlen domént céloznak meg</p>	<p>Az ilyen (1)fejlesztések során azonban az a következő tendencia (2)volt megfigyelhető, hogy (4)a több aktivátor doménnel egyetlen lokuszt célzó(1) eszközök jobb teljesítményt mutattak, mint azok, amelyek egyetlen (6)domént használnak.</p>	<p>min: nem szükséges max: A mondat igen magyartalan, ezért át kellett szerkesztem.</p> <p>(1)az 'ilyen' vissza utal az eszközökre az előző mondatban, a birtokos szerkezetet főnévre alakítottam és az 'eszközök'-et hátrébb csúsztattam, mert ott újabb vissza utalás történik. Az (2) igeidőt javítottam A (3)-as rész felesleges, mert a (4)-es tartalmazza a jelentését, hogy 'az eszközök képesek' (egy lokuszt célozni). A következetességet (5) maga a tendencia szó tartalmazza Zavaró és félre érthető tükörfordítás (6). Az eszközökkel célozzuk a célhelyet, tehát az eszköz használja a domént a célzásra.</p>
----	---	---	--	---	---

#	Forrásnyelvi szöveg	DeepL gépi fordítás	Minimális útszerkesztés	Teljes útszerkesztés	Megjegyzés
3.	While there are limits to the number of domain repeats that can be included in a single coding sequence due to protein instability, using multiple different activator domains to synergistically activate gene expression has been an immensely successful strategy	Bár a fehérje instabilitása miatt <b>korlátok vannak</b> az egyetlen kódoló szekvenciába illeszthető doménismétlések <b>számában</b> , több különböző aktivátor domén használata a génexpresszió szinergikus aktiválására rendkívül sikeres stratégia	Bár a fehérje instabilitása miatt korlátok vannak az egyetlen kódoló szekvenciába illeszthető doménismétlések számában, több különböző aktivátor domén használata a génexpresszió szinergikus aktiválására rendkívül sikeres stratégia	Bár a fehérje instabilitása miatt az egyetlen kódoló szekvenciába illeszthető doménismétlések <b>száma korlátozott</b> , a több különböző aktivátor domén használata a génexpresszió szinergikus aktiválására rendkívül sikeres stratégia	min: nem szükséges max: stílusjavítás

4.	Targeting direct fusions of VP128 to EDLL or VP128 to TAL activator domains leads to an increase in the activation of gene expression.	A (1)VP128 EDLL-hez vagy VP128 TAL aktivátor (2)doménhez való közvetlen fúziójának (3)célzott alkalmazása a (4)génexpresszió aktiválásának növekedéséhez vezet.	A VP128 EDLL-hez vagy VP128 TAL aktivátor doménhez való közvetlen fúziójának célzott alkalmazása a génexpresszió aktiválásának növekedéséhez vezet.	A VP128 és EDLL vagy TAL aktivátor domén közvetlen fúziót célzottan alkalmazva a génexpressziós aktivitás növekszik.	min: nem szükséges max: (1) a mondatrészt leegyszerűsítettem a jobb érthetőség miatt (2) (3) esetében szükség volt a stílus javítására, emiatt azonban a mondat végét (4) is újra kellett foglalmazni
5.	In addition the fusion of VP64 to P65 and Rta, two additional modular activator domains originally shown to work in animals (VPR), is also capable of activating gene expression in plants to a higher level than VP64 alone	Ezenkívül a VP64 fúziója a P65 és az Rta, két további moduláris aktivátor doménnel, amelyekről eredetileg állatokban mutatták ki, hogy (1)működnek (VPR), szintén képes a növényekben a génexpressziót magasabb szinten aktiválni, mint a VP64 önmagában.	Ezenkívül a VP64 fúziója a P65 és az Rta, két további moduláris aktivátor doménnel, amelyekről eredetileg állatokban mutatták ki, hogy működnek (VPR), szintén képes a növényekben a génexpressziót magasabb szinten aktiválni, mint a VP64 önmagában.	Ezenkívül a VP64 fúziója két további moduláris aktivátor doménnel, a P65-el és az Rta-val, amelyek (1)működését eredetileg állatokban (VPR) mutatták ki, szintén képes magasabb szinten aktiválni a génexpressziót növényekben, mint a VP64 önmagában.	min: nem szükséges max: szórend változtatás volt szükséges, illetve egy esetben (1) grammatikai cserét is alkalmaztam.

6.	Further, systems that allow the co-targeting of different activator domains can now push this further by combining even more activator domains such as the EDLL domain with the VPR fusion	Továbbá, a különböző aktivátor (1)domének együttes célzását lehetővé tevő rendszerek (2)most tovább tudják (3)ezt fokozni, még több aktivátor domén, például az EDLL domén és a (4)VPR fúzió kombinálásával	Továbbá, a különböző aktivátor domének együttes célzását lehetővé tevő rendszerek most tovább tudják ezt fokozni, még több aktivátor domén, például az EDLL domén és a VPR fúzió kombinálásával	Továbbá, a (1)több, különböző aktivátor doménnel célzó rendszerek (3)ezt (2)még tovább tudják fokozni még több aktivátor domén, például az EDLL domén és a (4)VPR-fúzió kombinálásával.	min: nem szükséges max: stílust (1), szórendet (3) és helyesítést (4) kellett javítani. (2) a 'most' szót a FNY szövege tartalmazza, de a szöveggörnyezetbe nem igazán illik a CNY esetén.
7.	However, quantitatively comparing these different co-targeting strategies is challenging and again depends on the target site and targeting system.	(1)Azonban (2)e különböző együttes célzási stratégiák mennyiségi összehasonlítása kihívást jelent, és (3)ismét a célhelytől és a célzási rendszertől függ.	Azonban e különböző együttes célzási stratégiák mennyiségi összehasonlítása kihívást jelent, és ismét a célhelytől és a célzási rendszertől függ.	(1)Az ilyen célzó-stratégiák mennyiségi összehasonlítása (2)azonban kihívást jelent és (3)szintén (4)befolyásolja a (5)használt célhely és célzórendszer.	min: nem szükséges max: A teljes szövegrészlet az (2) együttes célzást használó stratégiákról szól, így itt úgy éreztem leegyszerűsíthető a szöveg, ha csak visszautalok rá a szövegben az 'ilyen' szóval. (3) A szintén szót alkalmasabbnak találtam, mert a szöveg nem egy időpőntra, hanem egy tényre utal vissza Szükség volt szórend (4) változtatásra is, ahol a

8.	<p>For example, co-targeting the EDLL domain with multimers of the VP16 activator domain either through the SAM targeting system or direct fusion, has been shown to be inferior to fusions to other activator domains or simply by co-targeting multiple VP64 peptides to the target locus</p>	<p>Például az (1)EDLL doménnek a VP16 aktivátor domén multimerjeivel (2)való együttes célzása a SAM (3)célzási rendszeren keresztül vagy közvetlen fúzióval, bizonyítottan rosszabb, mint más aktivátor doménnel való fúzió vagy (4)egyszerűen több VP64 peptid együttes (5)célzása a céllokuszra.</p>	<p>Például az EDLL doménnek a VP16 aktivátor domén multimerjeivel való együttes célzása a SAM célzási rendszeren keresztül vagy közvetlen fúzióval, bizonyítottan rosszabb, mint más aktivátor doménnel való fúzió vagy egyszerűen több VP64 peptid együttes célzása a céllokuszra.</p>	<p>Például SAM célzó-rendszerrel vagy közvetlen fúzióval használva az EDLL domén és a VP16 aktivátor domén multimerjeinek kombinációja bizonyítottan rosszabb (6)hatákonyságú, mint a más aktivátor doménnel való fúzió vagy (4)csupán egyszerre több VP64 peptid (5)használata.</p>	<p>min: nem szükséges max: Az első tagmondat egységeit (1)(2)(3) át kellett rendeznem Konkretizálás céljából beszúrtam a 'hatékonyságú' szót és egy névelőt (6). A metódus már ismert a szöveg előzményeiből, így a lókuszt célzását leegyszerűsítettem (5) egyszerűen 'használat'-ra. Stílust javítottam.</p>
9.	<p>However, when the EDLL domain is co-targeted along with the VPR fusion using the SAM targeting system, it has been shown to produce a higher gene activation than targeting multiple VP64 domains.</p>	<p>Ha azonban az EDLL domént a VPR fúzióval együtt célozzák a SAM célzási rendszer segítségével, akkor bizonyítottan nagyobb génaktivációt eredményez, mint több VP64 domén célzása.</p>	<p>Ha azonban az EDLL domént a VPR fúzióval együtt célozzák a SAM célzási rendszer segítségével, akkor bizonyítottan nagyobb génaktivációt eredményez, mint több VP64 domén célzása.</p>	<p>Ha azonban az EDLL domént VPR-fúzióval alkalmazzuk együtt SAM célzó-rendszerben, akkor nagyobb génaktivációt érhetünk el, mint ha több VP64 domént használnánk.</p>	<p>min: nem szükséges max: szórend és stílus javítása volt szükséges</p>

10.	Thus, if an activator domain is effective at one locus or with a particular targeting system, it does not mean it will be effective when used in a different system or at a different locus.	<p>(1)Így ha egy aktivátor domén hatékony (2)egy lokuszon vagy egy (3)adott célzási rendszerrel, az nem jelenti azt, hogy (4)egy másik rendszerben vagy egy másik lokuszon (5)alkalmazva is hatékony lesz.</p>	<p>Így ha egy aktivátor domén hatékony egy lokuszon vagy egy adott célzási rendszerrel, az nem jelenti azt, hogy egy másik rendszerben vagy egy másik lokuszon alkalmazva is hatékony lesz.</p>	<p>Tehát ha egy aktivátor domén hatékony adott lokuszon vagy célzó-rendszerben, az nem jelenti azt, hogy máshol vagy másik rendszerben alkalmazva is hasonló eredményt kapunk.</p>	<p>min: nem szükséges max: 'egy' használata helytelen volt Az 'adott' szó (3) megfelhet mind a 'one', mind a 'particular' fordításaként is ebben a szöveggörnyezetben. A lókuszt szó ismétlése helyett a 'máshol'-t (4) használtam, ugyanis a lókuszt egy hely a DNS-ben.</p>
-----	--	--	---	--	---

<p>Further, in animal cells, when VP64 and TET1 were cotargeted to the same locus they worked synergistically to upregulate gene expression causing a greater fold change in expression than targeting either factor alone suggesting that manipulating the epigenetic landscape to be more amenable to activation is synergistic with targeting activator domains.</p>	<p>(1)Továbbá, állati sejtekben, amikor a VP64 és a TET1 egyazon lokuszra (2)volt cotargetálva, (4)szinergikusan működtek a (5)génexpresszió felszabályozásában, ami nagyobb hajtásváltozást okozott az expresszió növekedésében, mint bármelyik faktor önmagában (6)történő célzása, ami arra utal, hogy az (7)epigenetikai táj (8)manipulálása az (9)aktiváláshoz jobban alkalmazkodóvá téve szinergikusan hat az aktivátor domének célzásával.</p>	<p>Továbbá, állati sejtekben, amikor a VP64 és a TET1 egyazon lokuszra volt cotargetálva, szinergikusan működtek a génexpresszió felszabályozásában, ami nagyobb hajtásváltozást okozott az expresszió növekedésében, mint bármelyik faktor önmagában történő célzása, ami arra utal, hogy az epigenetikai táj manipulálása (9)úgy, hogy az aktiválás hozzáférhetőbb legyen, az szinergikusan hat az aktivátor domének célzásával.</p>	<p>Állati sejtekben a VP64 és a TET1 egyazon lokuszra célozva egymást hatását felerősítve okoztak génexpresszió felszabályozást, aminek mértéke magasabb, mint amire bármelyik más faktor önmagában (6)képes. Ez arra utal, hogy ha az (7)epigenetikai kódot (8)úgy alakítjuk, (9)hogy az aktiválás hozzáférhetőbbé váljon, az a célzó aktivátor doménekkal szinergikusan hat.</p>	<p>min: A (9)-es mondatrész teljesen értelmetlen és helytelen tartalmilag. Igyekeztem minimális változtatással helyessé alakítani. max: A gép által fordított mondat bár tartalmilag (kivéve (9), lsd. később) helyes, de nagyon zavaros, nehezen értelmezhető, ezért amellet döntöttem, hogy nagyrészt átfogalmazom, de igyekeztem minél többet megtartani belőle. Itt az angol szöveg is problémás, rengeteg sallangot tartalmaz. Több helyről kitöröltem a redundáns részeket (1)(4) A rengeteg visszautalás miatt a mondatot ketté bontottam az olvashatóság miatt. A (2)-es idegenes szó, ezért másik alternatívát használtam, az együttes célzás pedig abból, hogy 'egyazon' és hogy két domén (VP64 és TET1) van, következik</p>
---	---	--	--	---



					<p>A 'szinergikus' (4) fogalmát kibontottam, így jobban érthető.</p> <p>Több helyen rossz a szóhasználat (7)(8). Az 'epigenetikai táj'(8), bár jól leírja a jelenséget, de nem nagyon használjuk ilyen kontextusban.</p> <p>A (9)-es mondatrész teljesen értelmetlen és helytelen tartalmilag, így át kellett írni. Általánosságban a stílust javítottam.</p>
--	--	--	--	--	---

11.	<p>In plants, targeting multiple VP64 activator modules to the FWA promoter using the SunTag targeting system also resulted in the loss of DNA methylation, suggesting that simultaneously targeting mechanisms that remove DNA methylation and directly activate of gene expression could work synergistically in plants as it does in animals</p>	<p>Növényekben a SunTag (1)célzási (2)rendszer segítségével (3)több VP64 aktivátor modul (4)FWA promóterre történő célzása szintén a DNS-metiláció elvesztését eredményezte, ami arra utal, hogy a DNS-metilációt eltávolító és a génexpressziót közvetlenül aktiváló mechanizmusok (5)egyidejű célzása szinergikusan működhet (6)a növényekben, ahogyan az állatokban is.</p>	<p>Növényekben a SunTag célzási rendszer segítségével több VP64 aktivátor modul FWA promóterre történő célzása szintén a DNS-metiláció elvesztését eredményezte, ami arra utal, hogy a DNS-metilációt eltávolító és a génexpressziót közvetlenül aktiváló mechanizmusok egyidejű célzása szinergikusan működhet a növényekben, ahogyan az állatokban is.</p>	<p>Növényekben az FWA promóterének (1)célzása (3)több VP64 aktivátor modul (7)tartalmazó SunTag (2)rendszerrel szintén a DNS-metiláció elvesztését eredményezte. Ez arra utal, hogy (5)ha a DNS-metilációt eltávolító és a génexpressziót közvetlenül aktiváló mechanizmusokat (5)egyszerre alkalmazzuk, azok szinergikusan működhetnek az állatokhoz hasonlóan a növényekben is.</p>	<p>min: nem szükséges max: Bár a legtöbb mondat hosszú, itt kifejezetten szükség volt a ketté bontásra a szöveg olvashatósága szempontjából. Szükséges volt az első mondat erős átszerkesztése A 'segítésével'-t (2) a főnév+-val, -vel raggal helyettesíthető, összevonható. Az 'egyidejű célzás' (5) ismételt tükörfordításban jelenik meg, de nem 'magyaros', át kellett fogalmazni. Az összehasonlításnál (6) a sorrend így logikusabb.</p>
-----	---	--	--	---	---

## 8. Felhasznált források

### Felhasznált online források

Glosbe <https://hu.glosbe.com/>

Oxford English Dictionary (oed.com)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

<https://scholar.google.com/>

<https://www.deepl.com/translator>

Vizkievicz András – Biotechnológia:

<https://bioszfera.com/downloads/6.3.%20Biotechnologia.pdf>

### Felhasznált publikációk

**Anderson JT, Rogers JM, Barrera LA, Bulyk ML.** Context and number of noncanonical repeat variable diresidues impede the design of TALE proteins with improved DNA targeting. *Protein Sci.* 2020 Feb;29(2):606-616. doi: 10.1002/pro.3801. Epub 2019 Dec 24. PMID: 31833142; PMCID: PMC6954735.

**Carolina Vianna Morgante Fabricio Barbosa Mosnteiro Arraes Clidia Eduarda Moreira-Pinto Bruno Paes de Melo Maria Fatima Grossi-de-Sa,** CRISPR technology in genomic plant editing, CHAPTER 4, Modulation of gene expression in plants via CRISPR/dCas9 technology

**Delebecque, Camille J., et al.** "Designing and using RNA scaffolds to assemble proteins in vivo." *Nature Protocols*, vol. 7, no. 10, Oct. 2012, pp. 1797+. Gale Academic OneFile, [link.gale.com/apps/doc/A310256694/AONE?u=anon~ae94bb27&sid=googleScholar&xid=ee75abd3](http://link.gale.com/apps/doc/A310256694/AONE?u=anon~ae94bb27&sid=googleScholar&xid=ee75abd3). Accessed 12 Nov. 2023.

**Deng D, Yan C, Wu J, Pan X, Yan N.** Revisiting the TALE repeat. *Protein Cell.* 2014 Apr;5(4):297-306. doi: 10.1007/s13238-014-0035-2. Epub 2014 Mar 14. PMID: 24622844; PMCID: PMC3978159.

**Erik J. Sontheimer and Rodolphe Barrangou.** The Bacterial Origins of the CRISPR Genome-Editing Revolution. *Human Gene Therapy.* Jul 2015.413-424.<http://doi.org/10.1089/hum.2015.091>

**Kaminski, M.M., Abudayyeh, O.O., Gootenberg, J.S.** et al. CRISPR-based diagnostics. *Nat Biomed Eng* 5, 643–656 (2021).

**Tálas András**, Cas9 nukleázok működési hatékonyságának kísérletes meghatározása és predikciója, Doktori értekezés, Semmelweis Egyetem Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola, 2021

**Weinhardt Nóra** CRISPR/Cas rendszerek és kis RNS-eik expressziójára alkalmazott promóterek vizsgálata, Doktori (Ph.D.) értekezés; SZTE, Biológia Doktori Iskola, 2021.

**Xie K, Yang Y.** RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Mol Plant*. 2013 Nov;6(6):1975-83. doi: 10.1093/mp/sst119. Epub 2013 Aug 17. PMID: 23956122

**Yan Xu, Dingqiang Fu, Yi Yuan, Yan Peng, Juan Dong, Feng Du, Xin Huang, Guangxun Li, Xiaohua Chen, Qiwei Wang, Zhuo Tang;** A heterobifunctional molecule recruits cereblon to an RNA scaffold and activates its PROTAC function; *Cell Reports Physical Science*, Volume 3, Issue 10, 2022, 101064, ISSN 2666-3864, <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2022.101064>.

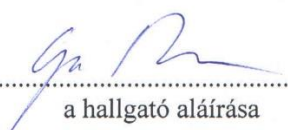
## **Nyilatkozatok**

## Szerzői eredetiségi nyilatkozat

Alulírott Gorcsa Teréz (név), Szakfordító (Angol) - szakirányú továbbképzés (szak, tagozat) hallgatója kijelentem, hogy a „CRISPR–Cas-mediated transcriptional control and epimutagenesis/CRISPR–Cas-közvetített transzkripciós kontroll és epimutagenézis” című szakdolgozat/diplomamunka/képesítőfordítás a saját munkám eredménye. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

Kelt: Budapest, 2023.11.12.

  
.....  
a hallgató aláírása

## NYILATKOZAT

Gorcsa Teréz (név) (hallgató Neptun azonosítója: SQD4JZ) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a képesítő fordítást<sup>1</sup> áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgot/szakedolgot/diplomadolgot/portfóliót a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom<sup>2</sup>.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem<sup>\*3</sup>

Kelt: Gödöllő, 2023. év 11. hó 02. nap



belső konzulens

---

<sup>1</sup> A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

<sup>2</sup> A megfelelő aláhúzendó.

<sup>3</sup> A megfelelő aláhúzendó.