

Návrh juniorského badatelského grantového projektu

Registrační číslo **B600380604**

01 Grantový projekt

Název

Mechanismy vnitrobuněčné translokace a polárního umístování proteinů zajišťujících přenos auxinů z buňky.

02 Navrženo k projednání v oborové radě

6

podobor

608

5

03 Doba řešení grantového projektu (v rocích) tj. od začátku roku 2006 do konce roku

04 Charakteristika grantového projektu

Směřovaný symplastický transport rostlinného hormonu auxinu představuje jeden z hlavních morforegulačních procesů důležitých při růstu a vývoji rostlin. Výsledky z posledních let vedly k identifikaci přenašečových komplexů zajišťujících aktivní vstup auxinu do buňky a jeho výstup z buňky. Bylo také zjištěno, že možné přenašeče auxinu z buňky podléhají konstitutivnímu cyklování mezi plasmatickou membránou a endosomálním prostorem a experimentální údaje naznačují, že vnitrobuněčná translokace přenašečových molekul je závislá na správné funkci aktinového cytoskeletálního systému. Předkládaný projekt si klade za cíl objasnit mechanismus, jakým se cytoskelet podílí na konstitutivním cyklování možných přenašečů auxinu z buněk a na jejich asymetrickém umístování v plasmatické membráně. Hlavním experimentálním přístupem bude in vivo mikroskopie popisující dynamiku proteinů zajišťujících polární transport auxinu v modelových liniích buněk tabáku a Arabidopsis.

05 Uchazeč (I)

Oficiální název instituce

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Grant Application

Registration number **B600380604**

01 Project

Title

Mechanisms of intracellular trafficking and polar targeting of auxin efflux facilitators.

02 Summary

The directional symplastic transport of phytohormone auxin is one of the main morphoregulatory processes important in plant growth and development. Recent results contributed substantially to the identification of protein complexes acting in both auxin influx and auxin efflux. It was discovered that potential auxin efflux carriers undergo constitutive cycling between plasma membrane and endosomal space; there are experimental data suggesting that this cycling is actin-dependent. The main objective of this project is to elucidate the role of cytoskeleton in constitutive cycling of putative auxin efflux carriers and in their asymmetric targeting into the plasma membrane. The experimental approach will include in vivo microscopy depicting the dynamics of proteins involved in the polar transport of auxin in model cell lines of tobacco and Arabidopsis.

06 Uchazeč (I) - Navrhovatel

Tituly	Jméno	Příjmení	Věd. hodnost
RNDr.	Jan	Petrášek	

Státní příslušnost

Česká republika

Oficiální název instituce

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Doplňující údaje o pracovišti (např. u VŠ fakulta, katedra nebo ústav)

Oficiální zkratka názvu: ÚEB

Typ organizace: SPO

IČ: 61389030

Ulice

Místo

Rozvojeová 135

Praha 6 - Lysolaje

PSČ

Tel.

Fax

165 00

220390453

220390456

E-mail

machackova@ueb.cas.cz

Bankovní spojení / příslušnost k resortu

Banka

Organizační jednotka: název

Kód

07 Kontaktní adresa navrhovatele

Název

Ústav experimentální botaniky AVČR

Ulice

Místo

Rozvojeová 135

Praha 6

PSČ

Tel.

Fax

165 02

220390425

220390446

E-mail:

petrasek@ueb.cas.cz

08 Údaje o řešitelském týmu na pracovišti uchazeče (I)**Počet**tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních **Přepočtená pracovní kapacita**tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních **09 Souhrnné údaje o řešitelském týmu****Počet**tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních **Celková přepočtená pracovní kapacita**tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních

06 Uchazeč (II) - Spolunavrhovatel

Tituly	Jméno	Příjmení	Věd. hodnost
RNDr.	Kateřina	Schwarzerová	
Státní příslušnost			
Česká republika			
Oficiální název instituce			
Univerzita Karlova v Praze			
Doplňující údaje o pracovišti (např. u VŠ fakulta, katedra nebo ústav)			
Přírodovědecká fakulta			
Oficiální zkratka názvu:	PřF UK	Typ organizace:	VVS IČ: 00216208
Ulice	Místo		
Albertov 6	Praha 2		
PSČ	Tel.	Fax	
128 43	221951111	221951127	
E-mail			
dekan@natur.cuni.cz			
Bankovní spojení / příslušnost k resortu	Banka		
3064490217/0100	Komerční banka		
Organizační jednotka: název	Kód		
Přírodovědecká fakulta	11310		

07 Kontaktní adresa spolunavrhovatele

Název	Katedra Fyziologie rostlin PřFUK		
Ulice	Místo		
Viničná 5	Praha 2		
PSČ	Tel.	Fax	
128 44	221951692	221951704	
E-mail:			
schwarze@natur.cuni.cz			

08 Údaje o řešitelském týmu na pracovišti uchazeče (II)**Počet**

tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních

Přepočtená pracovní kapacita

tvůrčích pracovníků , doktorandů , ostatních

10 Kódová označení oboruUNESCO:
CEP & RIV: **11 Adresa web-stránky projektu, pokud existuje****12 Klíčová slova**

česky	rostlinné hormony; auxin; polární transport auxinu; prenašec auxinu z buňky; geny PIN; tabák; <i>Nicotiana tabacum</i> L.; <i>Arabidopsis thaliana</i> ; cytoskelet; asociované proteiny, aktin, mikrotubuly; endocytóza
anglicky	plant hormones; auxin; polar auxin transport; auxin efflux carrier; PIN genes; tobacco; <i>Nicotiana tabacum</i> L.; <i>Arabidopsis thaliana</i> ; cytoskeleton; associated proteins, actin, microtubules; endocytosis

13 Upozornění na vhodné oponenty v daném oboru - Specialisté (zejména zahraniční), kteří se mohou kvalifikovaně k projektu vyjádřit (úplná adresa, e-mail, fax)

Dr. Jan Marc, School of Biological Sciences, The University of Sydney, Sydney NSW 2006, Australia, jmarc@bio.usyd.edu.au Prof. Gloria Kressin Muday, Department of Biology, Wake Forest University, Winston-Salem, NC 27109, USA, muday@wfu.edu Ing. Jiří Hašek CSc., Mikrobiologický ústav AVČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, hasek@biomed.cas.cz

14 Ochrana duševního vlastnictví - Pokud je třeba, uveďte pracovníky (nejvýše 3, případně tým jednoho pracoviště), kteří nemají být s návrhem seznámeni nebo kteří by se neměli k projektu vyjadřovat.

Tým Prof. Klause Palmeho, Universita ve Freiburgu i/Br., SRN.

10 Seznam členů řešitelského týmu a jejich pracovní kapacita

Uchazeč

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Tituly, jméno, příjmení a vědecká hodnost	Pracovní kapacita (%)	Rodné číslo
Navrhovatel: RNDr. Jan Petrášek	80	720801/0546
Tvůrčí pracovníci		
Doc. RNDr. Eva Zažímalová, CSc.	10	555218/1195
Mgr. Lucie Perry, PhD.	20	695228/0390
Doktorandi		
Mgr., Adriana Černá	30	745625/0813
Ing., Petr Skůpa	30	780516/1298
Mgr., Daniela Seifertová	20	776224/0266
Ostatní pracovníci		
Ing., Milada Čovanová	50	796208/0159
Celková pracovní kapacita	240	

Navrhovatel souhlasí s tím, že údaje uvedené v návrhu projektu budou uloženy v interním databázovém systému GA AV a že s návrhem (s výjimkou rodných čísel) budou seznámeny osoby, které se budou podílet na jejím hodnocení. V případě udělení grantu souhlasí s předáním údajů do centrální evidence projektů výzkumu a vývoje.

Datum:

Navrhovatel (podpis):

10 Seznam členů řešitelského týmu a jejich pracovní kapacita

Uchazeč

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Tituly, jméno, příjmení a vědecká hodnost	Pracovní kapacita (%)	Rodné číslo
Spolunavrhovatel: RNDr. Kateřina Schwarzerová	20	746117/0442
Tvůrčí pracovníci		
Prof. RNDr. Zdeněk Opatrný, CSc.	15	410808/029
Doktorandi		
Mgr., Jindřiška Fišerová	20	785804/0421
Ostatní pracovníci		
Celková pracovní kapacita	55	

Spolunavrhovatel souhlasí s tím, že údaje uvedené v návrhu projektu budou uloženy v interním databázovém systému GA AV a že s návrhem (s výjimkou rodných čísel) budou seznámeny osoby, které se budou podílet na jejím hodnocení. V případě udělení grantu souhlasí s předáním údajů do centrální evidence projektů výzkumu a vývoje.

Datum:

Spolunavrhovatel (podpis):

Justification of the proposal

1. The intracellular mechanisms of auxin translocation: the present state-of-the-art

Auxins are endogenous plant compounds which are crucial for control of plant growth and development. They participate in control of cell division, polar elongation and differentiation and, on the level of intact plant, they coordinate both spatial and temporal aspects of plant growth and development. They are the only plant compounds which undergo polar transport in the cell-to-cell manner; the "apparatus" of polar auxin transport creates polar auxin flow, which is the effector for the spatial and temporal coordination of plant development (recent reviews by Friml 2003, Morris et al. 2004). Cell-to-cell polar transport of auxins is a complex process resulting from both passive diffusion of auxins into cells and the activities of auxin-influx and efflux carriers. The polarity of cellular auxin transport can be provided by the asymmetric distribution of auxin efflux carriers on the plasma membrane (PM) (Goldsmith et al. 1977). Discovery of *PIN* gene family, the members of which may function as auxin efflux carriers and which are localised within relevant cells in a polar manner (Okada et al. 1991, Gälweiler et al. 1998, summarised in Palme and Gälweiler 1999, Friml 2003, Paponov et al. 2005) further supported this idea. In recent years, particular PIN proteins have been shown to be involved in controlling of various morphogenic processes like pattern formation (Friml et al. 2002a), embryogenesis (Friml et al. 2003), organ formation (Benková et al. 2003) including phyllotaxis (Reinhardt et al. 2003), as well as in the growth responses of plants to environmental stimuli, as e.g. in - tropisms (Friml et al. 2002b, Blakeslee et al. 2004).

Nevertheless, in spite of strong indirect evidence, the unequivocal proof for PINs as proteins directly catalysing auxin efflux from cells is still missing and PINs are considered to be "auxin efflux facilitators" (for review see Paponov et al 2005). There are also other candidates for auxin efflux carriers - multidrug resistance (MDR) proteins (a sub-family of the ABC-transporters, Martinoia et al. 2002). Members of this family, *AtPGP1* and *AtMDR1*, were shown to participate on translocation of auxins across both PM and intracellular membranes (Noh et al. 2001) and, interestingly, to be important for correct asymmetric localisation of PIN proteins (Noh et al. 2003).

Auxin efflux carriers seem to be parts of the bigger PM-localised complex, consisting also of other regulatory protein(s) (Morris et al. 1991, for review see Friml and Palme 2002, Morris et al. 2004). Correct position of this complex seems to be assisted by the actin cytoskeleton. The evidence came from the experiments with the application of actin drugs that resulted in the reduced polar auxin transport in maize coleoptiles (Cande et al., 1973) and in zucchini hypocotyls (Butler et al. 1998). Moreover, by using inhibitors of vesicle transport, it was shown that putative auxin efflux carriers (PIN proteins) might undergo constitutive cycling between PM and endosomal space, as already indirectly suggested by Robinson et al. (1999), and that this process is actin-dependent (Geldner et al, 2001). The application of myosin inhibitor (2,3-butanedione monoxime (BDM)) was shown to impair auxin-induced cell division (Holweg et al. 2003) and the mutation in *Arabidopsis* myosin VI led to the inhibition of basipetal auxin transport (Holweg and Nick 2004). These observations strongly suggested that actin filaments (AFs) might be involved in both intracellular traffic of PIN proteins and in their correct positioning at the PM. The whole concept of trafficking and proper localisation as well as function of components of the auxin efflux carrier complex was proposed (Muday et al. 2003), The mechanisms underlying the constitutive cycling of proteins in plants are still poorly understood (review by Murphy et al. 2005). It was shown that constitutive cycling of PINs is regulated by GNOM, one of the ADP-ribosylation factor (ARF)-GDP-GTP (Steinmann et al. 1999, Geldner et al. 2003) and that other ARFs might contribute to the trafficking of PINs (Xu and Scheres 2005). Interestingly, the regulation of endocytosis-dependent cycling of proteins in plant cells was shown to be regulated by auxin efflux inhibitors (Geldner et al. 2001) as well as auxin

itself (Paciorek et al. 2005).

In our previous work we have shown that the application of some auxin efflux inhibitors was not affecting the structure of cytoskeleton itself (Petrášek et al. 2003). In this project we plan to study the role of the cytoskeleton and cytoskeleton-associated proteins in the endosomal recycling of putative auxin efflux carriers (PIN proteins) using simplified models - plant cell lines - that allow direct application of specific inhibitors and immediate observations of their effects *in vivo*, and are suitable models for studies of growth cycle, and particularly cell cycle of plant cells.

2. Aim of the project and the objectives

2.1. Aim of the project

The aim of the project is to describe the role of the cytoskeleton-associated components ensuring the constitutive cycling of putative auxin efflux carriers in plant cells and to show how auxins and the inhibitors of their transport affect this cycling.

2.2. Objectives

This project is based mainly on the results (see below, Section 3.2.) of the previous project funded (for the period 2003-2006) by the Grant Agency of the Czech Republic, No.: A6038303:

"Transmembrane transport of plant growth substances in plant cells". It is meant as its continuation focussed entirely on auxin efflux facilitators and their trafficking in plant cell.

The particular objectives are:

1. To determine the sensitivity of plant cytoskeleton to the application of auxin efflux inhibitors (various phytohormones) in specific stages of the cell and growth cycle.
2. To determine the sensitivity of plant cytoskeleton to the application of various auxins (IAA, NAA, 2,4-D) in specific stages of the cell and growth cycle.
3. To characterise the role of actin-associated molecular motors (plant myosins) and other interacting molecules (plant dynamins, specific ADP-ribosylation factors of GDP-GTP exchange factors) in the constitutive cycling of putative auxin efflux carriers.
4. To characterise cell structures necessary for constitutive cycling of putative auxin efflux carriers *in vivo*.
5. To identify tobacco homologues of putative auxin efflux carriers (NtPINs) and study their dynamics *in vivo*.
6. To integrate data obtained for the elucidation of the intracellular mechanisms involved in the inhibition of endocytotic step of the constitutive cycling induced by auxin transport inhibitors or by auxin itself.

2.3. Methodological approach

Plant material:

A substantial amount of the knowledge about the machinery involved in the intracellular distribution and proper localisation of putative auxin carrier molecules comes from the studies in various tissues of *Arabidopsis thaliana* plants. It was shown that constitutive cycling of potential auxin efflux carriers (PINs) is actin-dependent (Geldner et al. 2001) and that AFs are important in the proper localisation and function of components of the auxin efflux carrier complex (for review see Muday and Murphy 2002). The project proposed here will use well-defined tobacco cell lines as the major experimental model. Auxin-dependent and cytokinin-autonomous tobacco cell lines such as BY-2 (*Nicotiana tabacum* L., cv. Bright Yellow 2; Nagata et al. 1992) have been already proved to be suitable models for studies of auxin transport (Delbarre et al. 1996, 1998, Petrášek et al. 2002b, 2003). The tobacco cell lines transformed with various fluorescent marker proteins (for microtubular and actin cytoskeleton, endomembrane system, nuclei, etc.), as well as cell lines carrying putative auxin efflux carriers (PIN proteins) under inducible promoters or in translational fusion with fluorescent proteins, are available in the laboratory of the main investigator.. This

collection will be further extended in a frame of the proposed project with other marker proteins and their spectral variants. Since the heterologous expression of some *Arabidopsis* proteins in tobacco cells results in slightly modified behaviour of corresponding protein product, roots of *Arabidopsis* seedlings will be used when needed. Moreover, *Arabidopsis* cell lines derived from transgenic or mutant plants will be used to investigate an action of various inhibitors on the cell level.

Experimental approach:

Changes in the organization of microtubules (MTs) and actin filaments (AFs) will be studied after the application of inhibitors of auxin efflux (1-N-naphthylphthalamic acid (NPA), 1-pyrenoylbenzoic acid (PBA) and quercetin) by means of indirect immunofluorescence microscopy using specific antibodies against alpha-tubulin or actin (Petrášek et al. 2003, Schwarzerová et al. 2005, Pokorná et al. 2005) or using rhodamine-phalloidin for actin staining (Pokorná et al. 2004). The same approach will be used for the application of various auxins (indole-3-acetic acid (IAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and naphthalene-1-acetic acid (NAA)). The effects of inhibitors of auxin efflux, various auxins, as well as cytoskeletal drugs will be correlated with measurements of auxin accumulation using radiolabelled auxins according to Delbarre et al. (1996) as modified by Petrášek et al. (2003). To test the role of MTs and AFs in the constitutive cycling of auxin efflux facilitators (PINs), specific cytoskeletal drugs (oryzalin and propyzamide for MTs, latrunculin B and cytochalasin D for AFs and 2,3-butanedione monoxime (BDM) for myosin) will be applied and the distribution of PIN proteins will be studied *in vivo* in tobacco cell lines overexpressing *Arabidopsis* PIN proteins in translational fusion with green fluorescent protein (GFP). To follow the dynamics of constitutive cycling of PINs in tobacco cells, constructs carrying various PINs in translational fusion with red fluorescent protein (mRFP1) will be prepared in collaboration with Dr. Jiri Friml (Univ. of Tübingen, Germany). These constructs will be used for transformation of tobacco cell lines already expressing GFP-tagged marker proteins (fimbrin-GFP (Sheahan et al. 2004), F-actin binding domain of mouse talin-GFP (Kost et al., 1998) for AFs, microtubule binding domain of MAP4, MBD-GFP (Granger and Cyr 2000), NtTUA-GFP (Kumagai et al. 2001) for microtubules, ADL1-GFP (Kang et al. 2003) and myosin-GFP (Van Damme et al. 2004) for possible motor molecules, and finally ADP-ribosylation factor 1 of GDP-GTP exchange factors, ARF1-GFP (Xu and Scheres 2005) and ARA6-GFP (Ueda et al. 2001) as markers for endocytotic machinery. All these lines will be studied *in vivo* by means of confocal microscopy in a perfusion chamber and data will be quantified using image analysis. Since the heterologous expression of *Arabidopsis* PIN proteins in tobacco cells may result in modified dynamics of corresponding protein product, a tobacco PIN analogue(s) (NtPIN(s)) will be isolated from the tobacco BY-2 expression library based on sequence homology. Corresponding genes will be either overexpressed in tobacco cells in translational fusion with fluorescent proteins or their expression will be knocked out using RNAi. Standard molecular biological protocols will be used for PCR, RT-PCR, Western blots, etc. Cell cycle synchronisation will be performed according to the protocol adapted in our laboratories (Kuthanová et al. 2004).

2.4. Time schedule

The experiments are scheduled for 3 years. Minor revisions of this schedule will be made in relation to the outcome of the work already done.

Year 1:

- Characterisation of action of inhibitors of auxin efflux (NPA, PBA, quercetin) and various auxins (IAA, NAA, 2,4-D) on the organisation of AFs and MTs during the cell cycle progression in tobacco BY-2 cells, indirect immunofluorescence and fluorescence studies, auxin accumulation assays.
- Transformation of tobacco cell cultures with genes coding for marker proteins, selection of transformants and verification of the expression.

- *In vivo* observation of the effect of auxins (IAA, NAA, 2,4-D) and auxin efflux inhibitors (NPA, PBA, quercetin) on the structure of cytoplasm (DIC microscopy).

Year 2:

- Characterisation of action of inhibitors of auxin efflux (NPA, PBA, quercetin) and various auxins (IAA, NAA, 2,4-D) on the organisation of AFs and MTs during the cell cycle progression in tobacco BY-2 cells, *in vivo* confocal microscopy in tobacco cells overexpressing marker proteins for cytoskeleton and endosomes. Auxin accumulation assays in parallel.
- Preparation of construct(s) with the *Arabidopsis PIN* genes in translational fusion with mRFP1
- Retransformation of cell lines carrying marker GFP-fusion proteins with various PINs-mRFP1, selection of positive transformants.
- Identification of a tobacco *PIN* homologue (*NtPIN*) from the tobacco BY-2 expression library.
- Establishment of *Arabidopsis* cell lines from plants overexpressing various PIN proteins.

Year 3:

- Characterisation of the role of MTs and AFs in the constitutive cycling of auxin efflux facilitators (PINs), studies of the distribution of PIN proteins after the application of cytoskeletal drugs, *in vivo* confocal microscopy in tobacco cells overexpressing *Arabidopsis* PIN proteins alone or in lines expressing both GFP fusion marker proteins (for AFs, MTs, endosomes) and PINs-mRFP1. Auxin accumulation assays in parallel.
- Overexpression of tobacco PIN homologues in tobacco cells in translational fusion with fluorescent proteins (GFP and mRFP1) and their knock out using RNAi. Cell phenotype analysis.
- Studies of the effect of auxins, cytoskeleton inhibitors and auxin efflux inhibitors in *Arabidopsis* cell lines overexpressing various PIN proteins, *in vivo* confocal microscopy, auxin accumulation assays in parallel.

3. Conditions for the work on the project in the laboratory of the Investigator

3.1. Research teams and their cooperation

The principal investigator (Jan Petrášek) is young scientist involved in the studies of the mechanism of auxin transport in plant cells (Petrášek et al. 2002b, Petrášek et al. 2003, Paciorek et al., 2005) and familiar with cell culture and various cell biology techniques used in the investigation of cytoskeleton and endomembranes (Petrášek et al. 1998, Petrášek et al. 2002b, Schwarzerová et al. 2003, Pokorná et al. 2004, Schwarzerová et al. 2005, Pokorná et al. 2005). He is a member of the Laboratory of hormonal regulations at the Institute of Experimental Botany (IEB), the team headed by Eva Zažímalová. She is involved in the studies of the mechanism of auxin transport across PM in plant cells (Petrášek et al. 2002b, Petrášek et al. 2003, Morris et al. 2004; Paciorek et al. 2005, Hoyerová et al. 2005 submitted). She is also familiar with methods of extraction and determination of auxins and cytokinins, as well as auxin and cytokinin metabolism and signalling (Zažímalová et al. 1995, 1996, 1999, Petrášek et al. 2002a, Zažímalová and Napier 2003). Other investigator Lucie Perry-Křížková is a young scientist experienced in methods of plant cell and tissue transformation and transgene detection (Křížková & Hroudá 1998, Hoyerová et al. 2005 submitted). There are also three PhD students (Daniela Seifertová, Adriana Černá and Petr Skůpa) in the IEB working group.

Kateřina Schwarzerová, the co-investigator of the proposed project at the Charles University, Faculty of Science, Laboratory of plant cytoskeleton, is young scientist involved in the studies of the mechanisms of stress responses of plant cytoskeleton and endomembranes (Schwarzerová et al. 2002, 2003, 2005, Pokorná et al. 2004, Petrášek et al. 2003). The Laboratory of plant cytoskeleton is headed by Zdeněk Opatrný, highly experienced investigator in a field of cytoskeleton (Schwarzerová et al. 2002, 2005, Pokorná et al. 2004, 2005). There is also one PhD student (Jindřiška Pokorná) in the team of co-investigator, who is involved in the characterisation of plant actin associated proteins, (Schwarzerová et al. 2003, Pokorná et al. 2004, Pokorná et al.

2005).

The co-operation between research teams will be co-ordinated by the principal investigator. While the team of principal investigator will be involved in all auxin and auxin inhibitors studies, in preparation of constructs and selecting suitable cell lines, the team of co-investigator will guarantee all *in vivo* and immunofluorescence techniques for studies on cytoskeleton and endomembranes. The mutual co-operation will definitely profit from long-lasting fruitful contacts between both laboratories.

3.2. Previous papers and preliminary results related to the project

On tobacco cell line BY-2, the effects of the polar auxin transport inhibitor NPA and the vesicle-trafficking inhibitor brefeldin A (BFA) on auxin transport, and on the arrangement of the cytoskeleton and the endoplasmic reticulum (ER) were described. The data emphasise the importance of AFs and possibly also endomembranes in vesicle-mediated trafficking of proteins and in the cycling of the auxin efflux catalyst (Petrášek et al., *Plant Physiol.* 2003). The dynamics of AFs organisation and polymerisation was shown to be highly dynamic (Pokorná et al. *Plant Cell Environ.* 2004) and the process of AFs nucleation was studied in detail (Pokorná et al. *Protoplasma* 2005) with respect to the actin-associated proteins involved. Both identification of these proteins from tobacco and expression *in vivo* studies are in progress.

The relationship between auxin accumulation and cell division was studied on another tobacco cell line VBI-0. The data suggest that an NPA-binding regulatory protein may be involved in directing of proper localisation of auxin efflux carrier to specific regions of the plasma membrane (Petrášek et al., *Planta* 2002).

Modulation of subcellular protein translocation is one of the possible mechanisms, how signalling molecules can control cell behaviour. In animal and human cells this mode of regulation is often based on constitutive cycling, which consists of repeated internalisation of proteins from and recycling them back to the PM. In spite of the fact that several proteins (including PINs) exhibit constitutive cycling, no such mechanism of hormone action has been shown in plants yet. We have shown that auxin inhibited endocytosis. This effect was specific to biologically active auxins. By inhibition of the internalisation step of constitutive cycling of PINs, auxin could increase levels of PINs at the PM and, consequently, promoted its own efflux from cells. Our data imply a novel mode of plant hormone action: by modulation of vesicle trafficking of PINs, auxin regulates their incidence and activity at the cell surface, providing a mechanism for the feedback regulation of auxin transport from cells (Paciorek et al., *Nature* 2005).

Since plant tissues are hardly accessible for direct measurements of auxin accumulation in individual cells, the evidence that PINs are real "auxin efflux catalysts" is still not available. We have shown, using tobacco cell line BY-2 as a model, that *Arabidopsis thaliana* PIN proteins fused to GFP were localized predominantly in transversal plasma membranes and cortical cytoplasm in a similar way as it is in cells of root elongation zone in *A. thaliana*. Strong upregulation of PIN proteins in transformed BY-2 cells decreased strongly auxin accumulation inside cells suggesting that the intensity of auxin efflux was increased. Consequently, enormous changes in cell morphology previously reported to be typical for the response to auxin depletion were brought about. These changes included the cessation of cell division, stimulation of cell elongation and amyloplasts formation. Moreover, the fact that NPA as well as higher concentration of exogenous auxin were capable of preventing all observed "auxin-depletion"-induced changes pointed out the modification in auxin efflux. Altogether, our observations strongly support the idea that PIN proteins are auxin efflux catalysts, exporting auxin out of the cell (Petrášek & Wisniewska et al., in preparation).

3.3. Collaborations with other research teams

The laboratory of the investigator at the IEB closely collaborates with the laboratory of Dr. Jiří Friml (Universität Tübingen, Centre for Plant Molecular Biology, Department of Developmental Genetics). The exchange of experimental material and gene constructs, joint papers as well as stays of PhD

students are realized already from 2002.

The exchange of experimental material and gene constructs, joint publishing and stays of PhD students are carried out also in the laboratory of co-investigator in a frame of the long-lasting collaboration with the laboratory of Prof. Peter Nick (University of Karlsruhe).

3.4. Technical background and research facilities

The research team of the Investigator shares standard laboratory facilities including a media preparation room, laminar flow hoods and autoclaves, light and dark cultivation rooms. Major items of scientific equipment include: preparative centrifuge and ultracentrifuge, refrigerated water bath, rollers and orbital cell culture incubators, refrigerators and deep-freezers. Common use equipment shared with other groups in the Department include: UV-VIS spectrophotometer, gel electrophoresis and blotting equipment, PCR cycler, ultraclear water purification system, HPLC devices with diode array, fluorescence and radiometric detectors, LC-MS, GC-MS, Speed-Vac centrifugation concentrators, liquid scintillation counter, flow cytometer, inverted and upright fluorescence microscopes with image analysis systems, top-class confocal microscope, etc.

The research team of the Investigator collaborates with the Isotope laboratory of the Institute of Experimental Botany, Prague, where radiolabelled compounds with high specific radioactivity are prepared and RIA-assays are routinely performed. Official authorities have approved the facilities at the Institute for work with radioactive materials and genetically modified organisms.

The research team of the co-investigator shares basically the same laboratory facilities and holds the same permissions as the laboratory of the investigator. In addition to this, it shares up-to-date microscopical facilities (confocal microscopes, 3D TEM) with other departments and faculties of Charles University.

4. References:

- Benková E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann M, Seifertová D, Jürgens G & Friml J (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* 115, 591-602
- Blakeslee J, Bandyopadhyay A, Peer WA, Makam SN, Murphy AS (2004) Relocalization of the PIN1 auxin efflux facilitator plays a role in phototropic responses. *Plant Physiol* 134: 28-31
- Butler JH, Hu S, Brady SR, Dixon MW, Muday GK (1998) In vitro and in vivo evidence for actin association of the naphthylphthalamic acid-binding protein from zucchini hypocotyls. *Plant J* 13: 291-301
- Cande WZ, Goldsmith MHM, Ray PM (1973) Polar auxin transport and auxin-induced elongation in the absence of cytoplasmic streaming. *Planta* 111: 279-296
- Delbarre A, Muller P, Guern J (1998) Short-lived and phosphorylated proteins contribute to carrier-mediated efflux, but not to influx, of auxin in suspension-cultured tobacco cells. *Plant Physiol* 116: 833-844
- Delbarre A, Muller P, Imhoff V, Guern J (1996) Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and indole-3-acetic acid in suspension-cultured tobacco cells. *Planta* 198: 532-541
- Friml J (2003) Auxin transport – shaping the plant. *Curr Opin Plant Biol* 6: 7-12
- Friml J and Palme K (2002) Polar auxin transport - old questions and new concepts? *Plant Mol Biol* 49: 273-284
- Friml J, Benková E, Blilou I, Wisniewska J, Hamann T, Ljung K, Woody S, Sandberg G, Scheres B, Jürgens G, Palme K (2002a) AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in *Arabidopsis*. *Cell* 108: 661-673
- Friml J, Wisniewska J, Benková E, Mendgen K, Palme K (2002b) Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415: 806-809
- Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Hamann T, Offringa R, Jürgens G (2003) Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* 426:

- Gälweiler L, Guan C, Müller A, Wisman E, Mendgen K, Yephremov A, Palme K (1998) Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in Arabidopsis vascular tissue. *Science* 282: 2226-2230
- Geldner N, Anders N, Wolters H, Keicher J, Kornberger W, Muller P, Delbarre A, Ueda T, Nakano A, Jürgens G (2003) The Arabidopsis GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth. *Cell* 112: 219-230
- Geldner N, Friml J, Stierhof Y-D, Jürgens G, Palme K (2001) Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature* 413: 425-428
- Goldsmith MHM (1977) The polar transport of auxin. *Annu Rev Plant Physiol* 28: 439-478
- Granger CL, Cyr RJ (2000) Microtubule reorganization in tobacco BY-2 cells stably expressing GFP-MBD. *Planta* 210: 502-509.
- Holweg C, Honsel A, Nick P (2003) A myosin inhibitor impairs auxin-induced cell division. *Protoplasma* 222(3-4): 193-204
- Holweg C, Nick P (2004) Arabidopsis myosin XI mutant is defective in organelle movement and polar auxin transport. *PNAS* 101 (28): 10488-10493
- Hoyerová K, Perry L, Hand P, May S, Kottová J, Kocábek T, Napier R, Zažímalová E (submitted 2005) Does PaLAX1 function as an auxin influx carrier?
- Kang BH, Busse JS, Bednarek SY (2003) Members of the Arabidopsis dynamin-like gene family, ADL1, are essential for plant cytokinesis and polarized cell growth. *Plant Cell* 15 (4): 899-913
- Kost B, Spielhofer P, Chua NH (1998) A GFP-mouse talin fusion protein labels plant actin filaments in vivo and visualizes the actin cytoskeleton in growing pollen tubes. *Plant J*, 16: 393-401
- Křížková (Perry) L, Hrouda M (1998) Direct repeats of T-DNA integrated in tobacco chromosome-characterization of junction regions. *Plant J*. 16: 673-680
- Kumagai F, Yoneda A, Tomida T, Sano T, Nagata T, Hasezawa S (2001) Fate of nascent microtubules organized at the M/G1 interface, as visualized by synchronized tobacco BY-2 cells stably expressing GFP-tubulin: time-sequence observations of the reorganization of cortical microtubules in living plant cells. *Plant Cell Physiol*. 42: 723-732
- Kuthanová, A; Gemperlová, L; Zelenková, S; Eder, J; Macháčková, I; Opatrný, Z; Cvikrová, M. (2004) Cytological changes and alterations in polyamine contents induced by cadmium in tobacco BY-2 cells. *Plant Physiol Biochem* 42 (2): 149-156
- Martinoia E, Klein M, Geisler M, Bovet L, Forestier C, Kolukisaoglu Ü, Müller-Röber B, Schulz B (2002) Multifunctionality of plant ABC transporters – more than just detoxifiers. *Planta* 214: 345-355
- Morris DA, Rubery PH, Jarman J, Sabater M (1991) Effects of inhibitors of protein synthesis on transmembrane auxin transport in Cucurbita pepo L. hypocotyl segments. *J Exp Bot* 42: 773-783
- Morris DA, Friml J & Zažímalová E (2004) The Transport of Auxins. In *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* (ed. Davies, P.J.) Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 437-470
- Muday GK, Murphy AS (2002) An emerging model of auxin transport regulation. *Plant Cell* 14: 293-299
- Muday GK, Peer WA, Murphy AS (2003): Vesicular cycling mechanisms that control auxin transport polarity. *Trends in Plant Science* 8(7): 301-304
- Murphy AS, Bandyopadhyay A, Holstein SE, Peer WA. (2005) Endocytotic cycling of PM proteins. *Annu Rev Plant Biol*. 56: 221-251
- Nagata T, Nemoto Y, & Hasezawa S (1992) Tobacco BY-2 cell line as the "Hela" cell in the cell biology of higher plants. *Int Rev Cytol* 132, 1-30.
- Noh B, Murphy AS, Spalding EP (2001) Multidrug resistance-like genes of Arabidopsis required for auxin transport and auxin-mediated development. *Plant Cell* 13: 2441-2454
- Noh B, Bandyopadhyay A, Peer WA, Spalding EP, Murphy AS. Enhanced gravi- and phototropism in plant *mdr* mutants mislocalizing the auxin efflux protein PIN1. *Nature* 423: 999-1002, 2003.
- Okada K, Ueda J, Komaki MK, Bell CJ, Shimura Y (1991) Requirement of the auxin polar transport system in the early stages of Arabidopsis floral bud formation. *Plant Cell* 3: 677-684

Paciorek T, Zažímalová E, Ruthardt N, Petrášek J, Stierhof Y-D, Kleine-Vehn J, Morris DA, Emans N, Jürgens G, Geldner N, & Friml J. (2005) Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. *Nature*, in press

Palme K, Gälweiler L (1999) PIN-pointing the molecular basis of auxin transport. *Curr Opin Plant Biol* 2: 375–381

Paponov IA, Teale WD, Trebar M, Blilou I, & Palme K (2005) The PIN auxin efflux facilitators: evolutionary and functional perspectives. *Trends Plant Sci.* 10: 170-177

Petrášek J, Freudenreich A, Heuing A, Opatrný Z, Nick P (1998) Heat-shock protein 90 is associated with microtubules in tobacco cells. *Protoplasma* 202: 161-174

Petrášek J, Březinová A, Holík J, Zažímalová E (2002a) Excretion of cytokinins to the cultivation medium by the suspension-cultured tobacco cells. *Plant Cell Rep* 21: 97-104

Petrášek J, Elčknér M, Morris DA, Zažímalová E (2002b) Auxin efflux carrier activity and auxin accumulation regulate cell division and polarity in tobacco cells. *Planta* 216: 302-308

Petrášek J, Černá A, Schwarzerová K, Elčknér M, Morris DA, Zažímalová E (2003) Do phytohormones inhibit auxin efflux by impairing vesicle traffic? *Plant Physiol* 131: 254-263

Petrášek J, Wisniewska J, Seifertová D, Blakeslee J, Xu J, Roquie D, Perry L, Gaykova V, Covanová M, Ružicka K, Skupa P, Blilou I, Lee OR, Benková E, Murphy A, Scheres B, Zažímalová E, Friml J (in preparation) PIN proteins are auxin efflux catalysts and their polarity determines direction of auxin flow in plants

Pokorná J, Schwarzerová K, Zelenková S, Petrášek J, Janotová I, Čapková V, Opatrný Z (2004) Sites of actin filament initiation and reorganization in cold-treated tobacco cells. *Plant Cell Environ* 27: 641-653

Pokorná J, Schwarzerová K, Petrášek J, Opatrný Z (2005) ARP2 and ARP3 proteins are located to the sites of actin filament nucleation in tobacco BY-2 cells. Accepted after revision, *Protoplasma*

Reinhardt D, Pesce E R, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J & Kuhlemeier C (2003) Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* 426: 255-260

Robinson JS, Albert AC, Morris DA (1999) Differential effects of brefeldin A and cycloheximide on the activity of auxin efflux carriers in *Cucurbita pepo* L. *J Plant Physiol* 155: 678-684

Steinmann T, Geldner N, Grebe M, Mangold S, Jackson CL, Paris S, Galweiler L, Palme K, Jurgens G (1999) Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 286 (5438): 316-318

Schwarzerová K, Zelenková S, Nick P, Opatrný Z (2002) Aluminum-induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. *Plant Cell Physiol* 43 (2): 207-216

Schwarzerová K, Pokorná J, Petrášek J, Zelenková S, Čapková V, Janotová I, Opatrný Z (2003) The structure of cortical cytoplasm in cold-treated tobacco cells: the role of the cytoskeleton and the endomembrane system. *Cell Biology International* 27, 263-265

Schwarzerová K, Petrášek J, Zelenková S, Panigrahi K, Opatrný Z, Nick P (2005) Intranuclear accumulation of plant tubulin in response to low temperature. In press, *Protoplasma*

Sheahan MB, Staiger CJ, Rose RJ, McCurdy DW. (2004) A green fluorescent protein fusion to actin-binding domain 2 of *Arabidopsis* fimbrin highlights new features of a dynamic actin cytoskeleton in live plant cells. *Plant Physiol.* 136(4):968-978

Ueda T, Yamaguchi M, Uchimiya H, Nakano A (2001) Ara6, a plant-unique novel type Rab GTPase, functions in the endocytic pathway of *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J* 20 (17): 4730-4741

Van Damme D, Bouget FY, Van Poucke K, Inzé D, Geelen DF (2004) Molecular dissection of plant cytokinesis and phragmoplast structure: a survey of GFP-tagged proteins. *Plant J* 40, 386-398

Xu J, Scheres, B (2005) Dissection of *Arabidopsis* ADP-RIBOSYLATION FACTOR 1 function in epidermal cell polarity. *Plant Cell* 17 (2): 525-536

Zažímalová E, Napier R (2003) Points of regulation for auxin action. *Plant Cell Rep* 21: 625-634

Zažímalová E, Opatrný Z, Březinová A, Eder J (1995) The effect of auxin starvation on the growth of auxin-dependent tobacco cell culture: dynamics of auxin reception and endogenous free IAA content. *J Exp Bot* 46: 1205-1213

Zažímalová E, Březinová A, Holík J, Opatrný Z (1996) Partial auxin deprivation affects endogenous

cytokinis in an auxin-dependent, cytokinin-independent tobacco cell strain. *Plant Cell Rep* 16: 76-79

Zažímalová E, Březinová A, Motyka V, Kamínek M (1999) Control of cytokinin biosynthesis and metabolism. In Libbenga KR, Hall MA, Hooykaas P (eds) *Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones*, Ser. New comprehensive biochemistry, Elsevier, Amsterdam, pp. 141-160

Curriculum vitae

RNDr. Jan Petrášek
Ústav experimentální botaniky AV ČR

Institution: Institute of Experimental Botany, The Academy of Sciences of the Czech Republic, Rozvojová 135, 16502 Prague 6, Czech Republic, Tel. +420-220 390 425 or +420-296 780 425, Fax +420-220 390 474; e-mail: petrasek@ueb.cas.cz

Education:

1990-1993: Charles University, Faculty of Science, Prague, Czechoslovakia; general biology.

1993: Bachelor of Science, thesis "The regulation of growth and development in plants".

1993-1995: Charles University, Faculty of Science, Prague, Department of Plant Physiology.

1995: Magister (master) of Science degree, thesis "Phytohormones in the regulation of growth cycle in plants: characterization of the cell division and growth in relation to the structure and function of the cytoskeleton in tobacco cell line VBI-0".

1995-1998: Postgraduate studies, Charles University, Faculty of Science, Prague, Department of Plant Physiology; accumulation and transport aspects of "auxin economy" in plant cells in relation to cell development.

2003: RNDr. degree.

PhD to defend in autumn 2005

Research experience and activities:

1992: 4 months at Swiss Federal Research Station for Agronomy, Switzerland; holiday worker at the wheat and corn breeding section

1992: 4 months at Swiss Federal Research Station for Agronomy, Switzerland; holiday worker at the wheat and corn breeding section

1995: 3 months at the Institut für Biologie II, Freiburg University, Germany, laboratory of Dr. Peter Nick; HSP90 immunolocalization in VBI-0 tobacco cells.

1996: 1 month in Horticulture Research International, Wellesbourne, UK, laboratory of Prof. M.A. Venis; immunolocalization of the auxin binding protein in tobacco cells.

Since 1998: Graduate Research Assistant at the Institute of Experimental Botany, Prague, Laboratory of Hormonal Regulations in Plants; auxin transport in relation to cell development

Since 1998: Graduate Research Assistant (external), Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Plant Physiology; cytoskeleton and stress. Participation in lecturing, co-supervisor of diploma and PhD students.

Methodical experience:

Plant cell tissue cultures establishment. Visualisation of intracellular structures in plant cells (including microtubules, microfilaments and associated proteins) – both *in vivo* and after fixation. Various protein fraction extraction, electrophoresis, western blotting, light, fluorescence and confocal microscopy, image analysis. Transformation of plant cells with gene constructs. Determination of auxin accumulation in plant cells.

Curriculum vitae

Doc. RNDr. Eva Zažímalová, CSc.

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Institution: Institute of Experimental Botany, The Academy of Sciences of the Czech Republic, Rozvojová 135, 16502 Prague 6, Czech Republic, Tel. (+420-2) 20390429 or (+420-2) 96780429, Fax (+420-2) 20390474; e-mail: eva.zazim@ueb.cas.cz

Education:

1974-1979 Charles University, Faculty of Science, Prague, Czechoslovakia.

1979 Degree in biochemistry (RNDr., equivalent of M.Sc.).

1979-1983 Czechoslovak Academy of Sciences; postgraduate studies.

1983 Candidate of science degree (CSc., equivalent to Ph.D.) in biology, specialisation: plant physiology.

Research experience:

1979-1982: **Postgraduate student** at the Czechoslovak Academy of Sciences; studies of auxin binding sites in pea epicotyls, wheat shoots and tobacco tissue cultures.

(1983-1984: Maternity leave)

1985-1987: **Scientist** at the Institute of Experimental Botany, Cs. Acad. Sci., Prague.

(1987-1989: Maternity leave)

Since 1989: **Scientist** at the Institute of Experimental Botany, Acad. Sci Czech Rep., Prague.

Research activity in the fields of: Co-operation and mutual relationships between cytokinins and auxins in regulation of plant cell development; auxin and cytokinin binding sites; cytokinin metabolism; regulation of cytokinin and auxin contents in relation to cell division and cell development; mechanism of polar auxin transport, auxin carriers.

Since 2003: **Deputy directress** of the Institute of Experimental Botany ASCR.

Since 2004: **Head of the Laboratory of Hormonal Regulation in Plants** of the IEB ASCR.

Teaching and other experience:

Since 1991: **Supervisor** of undergraduate and graduate students in plant biochemistry and physiology.

Since 1991: **Lecturer** at the Dept. of Plant Physiology, Faculty of Science, Charles University, Prague.

Since 1994: **External member of the Dept. of Plant Physiology**, Faculty of Science, Charles Univ., Prague.

1992-1993: Elected member of the Scientific Board of the Institute of Experimental Botany.

Since 1996: Elected member of the Scientific Board of the Institute of Experimental Botany.

1998-2002: **Chair of the Scientific Board** of the Institute of Experimental Botany.

Since 2004: **Associate Professor** at the Dept. of Plant Physiology, Faculty of Science, Charles Univ., Prague.

Member of Editorial Board of *Biologia Plantarum*, Prague, and *Plant Growth Regulation*, Springer/Kluwer.

Consulting activities: Referee for scientific journals and for diploma and PhD. theses at the Charles University and the Institute of Chemical Technology, Prague.

International collaborations:

1999-2002 – **Contractor and scientific co-ordinator** of the **EU, INCO Copernicus project:**

"Genes in basic processes in conservational tree biotechnology for cell elongation, cell division, and polarity", project No.: ERBIC15 CT98 0118. (Collaborators: Prof. Gunther Scherer (Co-ordinator), Germany; Dr. Richard Napier UK; Prof. Vsevolod Polevoi, Russia; Dr. Jana Malá, Czechia).

2000 - 2002 – **European Science Exchange Programme**, collaboration with Dr. David A. Morris,

University of Southampton, UK, funded by the Royal Society and The Academy of Sciences of the Czech Republic. Joint papers on polar auxin transport.

Since 2003: informal collaboration with Dr. Jiří Friml, **ZMBP, University in Tübingen**, Germany. Joint papers on polar auxin transport.

Curriculum vitae

Mgr. Lucie Perry, PhD.

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Institution: Institute of Experimental Botany, The Academy of Sciences of the Czech Republic (ASCR), Rozvojová 135, 16502 Prague 6, Czech Republic, Tel. +420-220 390 435 or +420-296 780 435, Fax +420-220 390 474; e-mail: lucie@ueb.cas.cz

Education:

1987-1992 Charles University, Faculty of Science, Prague, Czechoslovakia.

1992 Mgr. (equivalent of MSc.) degree in molecular biology and genetics.

1993-1998 external postgraduate studies, Charles University, Faculty of Science, Prague, Czechia.

1998 PhD degree in molecular biology and genetics.

Research experience:

1993-1995: Research assistant, Research Institute for Crop Production, Prague

1996-2000: Research assistant and (since 1998) scientist, Institute of Experimental Botany ASCR, Prague, Laboratory of Genetic Manipulations

Since 2001: Scientist, Institute of Experimental Botany ASCR, Prague, Laboratory of Hormonal Regulations.

Research activity in the fields of:

plant transformation *via Agrobacterium* and direct gene transfer, mechanisms of T-DNA transfer and integration, transgene detection (PCR, Southern), gene expression (RT-PCR, real-time PCR, Northern, differential display), gene cloning, DNA sequencing.

Teaching experience:

Since 2000: Lecturer at the Dept. of Plant Physiology, Charles University, Faculty of Science, Prague, annual course "Plant molecular genetics"

Since 2001: Consulting supervisor of undergraduate and graduate students in plant molecular genetics

Other activities:

Since 2004: External member of the Dept. of Plant Physiology, Faculty of Science, Charles Univ., Prague.

Since 2001: Elected member of the Scientific Board of the Institute of Experimental Botany, 2001-2003 in a vice-chair position.

2003-2005: Elected member and Secretary of the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Board on Molecular Genetics.

Consulting activities:

Referee for diploma and PhD. theses at the Charles University, Prague.

Curriculum vitae

RNDr. Kateřina Schwarzerová
Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Institution: Department of Plant Physiology, Faculty of Sciences, Charles University in Prague, Viničná 5, 128 44 Prague 2, Czech Republic, Tel: +420 221 951 692, Fax: +420 221 951 684; e-mail: schwarze@natur.cuni.cz

Education:

1993 - 1998: Charles University Prague, Faculty of Science, Dept. Plant Physiology

1998: Master of Science degree, thesis: "Growth, division and phenotype characteristics of tobacco cell lines in conditions of toxic influence of Al³⁺ ions and low pH and their relations to the cytoskeleton".

1998: PhD student, Dept. Plant Physiology, Charles University; The role of cytoskeleton in the response of plant cells to abiotic stress.

2003: RNDr. degree

PhD to defend in autumn 2005

Work Experience:

1995 – 1998: Laboratory of Dr. Opatrný. Plant cytoskeleton and influence of abiotic stress.

Material: tobacco cell lines BY-2 and VBI-0.

1997, December: 1 week visit on Freiburg University, Germany, laboratory of Dr. Peter Nick

1999-2001: Every year, regular 1 month's scientific stays at Freiburg University, Germany, laboratory of Dr. Peter Nick

Since 2002: Internal member of the Dept. of Plant Physiology, Charles University, Prague, research assistant

Methodical Experience: Light microscopy, fluorescence microscopy, confocal microscopy. Image analysis. Time-lapse microscopy. Cytoskeleton visualisation in plant cell cultures and tissues – immunofluorescence and fluorescence. GFP techniques. *Agrobacterium* mediated transformation of plant cells. Synchronisation of plant cell cultures. Protein separation: fractionation, affinity columns. Plant tubulin purification using taxol. Immunoprecipitation.

Curriculum vitae

Prof. RNDr. Zdeněk Opatrný, CSc.

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Institution: Department of Plant Physiology, Faculty of Sciences, Charles University in Prague, Viničná 5, 128 44 Prague 2, Czech Republic.

Education:

1965: Master of Sciences, Charles University Prague, Science Faculty.

1972: RNDr. Degree in "plant anatomy and physiology", Charles University Prague, Faculty of Science

1972: CSc. Degree (equal to PhD) in plant physiology, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.

1976: Training course "cell Genetics in Higher Plants". UNESCO Training Course, Hungary.

1992: Training course "Agriculture Research Management". COCHRAN Training Course U.S.D.A. Washington/Colorado.

1999: Doc. Degree in plant physiology and anatomy, Charles University Prague, Science Faculty.

2002: Prof. degree

Research, teaching and other experience:

1972 – 1988: Scientist, Inst. Exptl. Botany, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, head of plant tissue culture laboratory

1998 – 1997: Head of Department of Physiology and Molecular Biology (later Center of Agricultural Biotechnologies), Research Institute of Crop Production, Ministry of Agriculture, Czechoslovakia/Czech Republic

1997 – 2003: Head of Department of Plant Physiology, Faculty of Sciences, Charles University, Prague

2003: Deputy head, Department of Plant Physiology

Results of previous funding by GA AV

Name of the scientist:

Eva Zažímalová

Duration

(years)

Last year of the project

Registration No.

Investigator

A6038706

Eva Zažímalová

4

2000

Title of the project

Modulation of sensitivity of plant cells to cytokinins and the role of cytokinins in the control of

Summary of results, including references to publications

On the model of tobacco cells cultivated in vitro the dynamics of excretion of cytokinins from the cells into cultivation medium, dynamics of cytokinin oxidase/dehydrogenase activity, and perception of cytokinin signal were characterised in relation to the growth cycle. Some of the results were summarised and a model of regulation of cytokinin metabolism and internal cytokinin level in cells was proposed. References to selected publications: Zažímalová E, Brezinová A, Motyka V, Kamínek M: Control of cytokinin biosynthesis and metabolism. – In Hooykaas P, Hall MA, Libbenga KR (eds): Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones, Ser. New comprehensive biochemistry, Elsevier, pp. 141-160, 1999. Petrášek J, Brezinová A, Holík J, Zažímalová E: Excretion of cytokinins to the cultivation medium by the suspension-cultured tobacco cells. – Plant Cell Rep 21: 97-104, 2002.

Duration

(years)

Last year of the project

Registration No.

Investigator

IAA6038303

Eva Zažímalová

4

2006

Title of the project

Transmembrane transport of plant growth substances in plant cells

Summary of results, including references to publications

The project is focussed on studies of mechanism of accumulation of plant growth regulators (auxins, cytokinins and polyamines) in plant cells and their transport between the outer and inner environments of the cell. References to selected publications: Morris DA, Friml J, Zažímalová E: The transport of auxins. – In Davies PJ (ed): Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, ISBN: 1-4020-2684-6, pp. 437-470, 2004. Paciorek T, Zažímalová E, Ruthardt N, Petrášek J, et al. and Friml J: Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. – Nature, in press 2005. Petrášek J, Wisniewska J, Seifertová D, Xu J, Blakeslee J, Xu J, Roquie D, Perry L, Gaykova V, Covanová M, Ružicka K, Skupa P, Blilou I, Lee OR, Benková E, Murphy AS, Scheres B, Zažímalová E, Friml J: PIN proteins are auxin efflux catalysts and their polarity determines direction of auxin flow in plants. – in preparation.

Results of previous funding by GA AV

Name of the scientist:

Lucie Perry

Duration

(years)

Last year of the project

Registration No.

Investigator

B603820

Lucie Perry

3

2004

Title of the project

Příprava transgenních linií tabáku a Arabidopsis nesoucích transgen pro prenašec auxinu (CHAX1)

Summary of results, including references to publications

Transgenic tobacco and Arabidopsis plants carrying cDNA of the newly isolated and sequenced gene PaLAX1 (formerly "CHAX1", highly homologous to the gene AUX1 from *A. thaliana*) were obtained. The overexpression of PaLAX1 gene was characterised on the level of auxin translocation to cells, auxin accumulation and its impact on the plant development. All the obtained results point to the role of PaLAX1 as an auxin uptake carrier. Reference: Hoyerová, K., Perry, L., Hand, P., May, S., Kottová, J., Kocábek, T., Napier, R., Zažímalová, E.: Does PaLAX1 function as an auxin influx carrier? - (submitted)

Name of the scientist:

Jan Petrášek

List of selected scientific papers	Impact factor
Petrasek J, Freudenreich A, Heuing A, Opatrny Z, Nick P: Heat-shock protein 90 is associated with microtubules in tobacco cells. – Protoplasma 202: 161-174, 1998	2.206
Petrášek J, Brezinová A, Holík J, Zažímalová E: Excretion of cytokinins to the cultivation medium by the suspension-cultured tobacco cells. – Plant Cell Rep. 21: 97-104, 2002	1.423
Petrášek J, Elckner M, Morris DA, Zažímalová E: Auxin efflux carrier activity and auxin accumulation regulate cell division and polarity in tobacco cells. – Planta 216: 302-308, 2002	3.053
Schwarzerova K, Pokorna J, Petrasek J, Zelenkova S, Capkova V, Janotova I, Opatrny Z: The structure of cortical cytoplasm in cold-treated tobacco cells: the role of the cytoskeleton and the endomembrane system. – Cell Biol. Int. 27: 263-265, 2003	1.092
Motyka V, Vankova R, Capkova V, Petrasek J, Kaminek M, Schmulling T: Cytokinin-induced upregulation of cytokinin oxidase activity in tobacco includes changes in enzyme glycosylation and secretion. – Physiol. Plant. 117: 11-21, 2003	1.767
Petrášek J, Cerná A, Schwarzerová K, Elckner M, Morris DA, Zažímalová E: Do Phytotropins Inhibit Auxin Efflux by Impairing Vesicle Traffic? - Plant Physiol. 131: 254-263, 2003	5.634
Pokorna J, Schwarzerova K, Zelenkova S, Petrasek J, Janotova I, Capkova V, Opatrny Z: Sites of actin filament initiation and reorganization in cold-treated tobacco cells. – Plant Cell Environ. 27: 641-653, 2004	3.613
Schwarzerová, K., Petrášek, J., Zelenková, S., Panigrahi, K., Opatrný, Z., Nick, P.: Intranuclear accumulation of plant tubulin in response to low temperature. - Protoplasma, in press 2005	2.206
Paciorek T, Zažímalová E, Ruthardt N, Petrášek J, Stierhof Y.-D, Kleine-Vehn J, Morris DA, Emans N, Jürgens G, Geldner N, and Friml J: Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. – Nature, in press 2005	30.979
Pokorná J, Schwarzerová K, Petrášek J, Opatrný Z: ARP2 and ARP3 proteins are located to the sites of actin filament nucleation in tobacco BY-2 cells. - Protoplasma, Accepted with revisions, 2005	2.206

Name of the scientist:

Eva Zažímalová

List of selected scientific papers	Impact factor
Zažímalová, E., Kutáček, M.: In vitro binding of auxin to particulate fractions from the shoots of dark-grown wheat seedlings. - Plant Growth Regul. 3: 15-26, 1985	0.688
Zažímalová, E., Kutáček, M.: Auxin-binding site in wheat shoots: Interactions between indol-3-ylacetic acid and its halogenated derivatives. - Biol. Plant. 27:114-118, 1985	0.919
Zažímalová, E., Opatrný, Z., Brezinová, A., Eder, J.: The effect of auxin starvation on the growth of auxin-dependent tobacco cell culture: dynamics of auxin reception and endogenous free IAA content. - J. Exp. Bot. 46:1205-1213, 1995	3.180
Zažímalová, E., Brezinová, A., Holík, J., Opatrný, Z.: Partial auxin deprivation affects endogenous cytokinins in an auxin-dependent, cytokinin-independent tobacco cell strain. - Plant Cell Rep. 16: 76-79, 1996	1.423
Petrášek J, Brezinová A, Holík J, Zažímalová E: Excretion of cytokinins to the cultivation medium by the suspension-cultured tobacco cells. - Plant Cell Rep. 21: 97-104, 2002	1.423
Petrášek J, Elckner M, Morris DA, Zažímalová E: Auxin efflux carrier activity and auxin accumulation regulate cell division and polarity in tobacco cells. - Planta 216: 302-308, 2002	3.053
Petrášek J, Cerná A, Schwarzerová K, Elckner M, Morris DA, Zažímalová E: Do Phytotropins Inhibit Auxin Efflux by Impairing Vesicle Traffic? - Plant Physiol. 131: 254-263, 2003	5.634
Zažímalová E, Napier R: Points of regulation for auxin action. - Plant Cell Rep. 21: 625-634, 2003	1.423
Morris DA, Friml J, Zažímalová E: The transport of auxins. - In Davies PJ (ed): Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 437-470, 2004	0.000
Paciorek T, Zažímalová E, Ruthardt N, Petrášek J, Stierhof Y.-D, Kleine-Vehn J, Morris DA, Emans N, Jürgens G, Geldner N, and Friml J: Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. - Nature, in press 2005	30.979

Name of the scientist:

Lucie Perry

List of selected scientific papers	Impact factor
Křížková, L., Hrouda, M.: Direct repeats of T-DNA integrated in tobacco chromosome – characterization of junction regions. Plant J. 16: 673-680, 1998	5.914
Hoyerová, K., Perry, L., Hand, P., May, S., Kottová, J., Kocábek, T., Napier, R., Zažímalová, E.: Does PaLAX1 function as an auxin influx carrier? - (submitted)	

Name of the scientist:

Kateřina Schwarzerová

List of selected scientific papers	Impact factor
Schwarzerová K, Zelenková S, Petrášek J, Zelená A, Feciková J, Čapková V, Opatrný Z: Changes in microtubule cytoskeleton of tobacco cell lines under stress conditions. - <i>Biologia</i> 54 (Suppl. 7): 8, 1999	0.000
Schwarzerová K, Zelenková S, Nick P, Opatrný Z: Aluminum-induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. - <i>Plant and Cell Physiology</i> 43(2): 207-216, 2002	3.159
Petrášek J, Černá A, Schwarzerová K, Elčknér M, Morris DA, Zažímalová E: Do Phytotropins Inhibit Auxin Efflux by Impairing Vesicle Traffic? - <i>Plant Physiology</i> , 131: 254-263, 2003	5.634
Schwarzerová K, Pokorná J, Petrášek J, Zelenková S, Čapková V, Janotová I, Opatrný O: The structure of cortical cytoplasm in cold-treated tobacco cells: the role of the cytoskeleton and the endomembrane system. - <i>Cell Biology International</i> 27: 263-265, 2003	1.092
Pokorná J, Schwarzerová K, Zelenková S, Petrášek J, Janotová I, Čapková V, Opatrný Z: Sites of actin filament initiation in cold treated tobacco cells. - <i>Plant, Cell and Environment</i> , 27(5): 641-653, 2004	3.613
Schwarzerová K, Petrášek J, Panigrahi KCS, Zelenková S, Opatrný Z, Nick P: Intranuclear accumulation of plant tubulin in response to low temperature. - <i>Protoplasma</i> , In Press, 2005	2.206
Pokorná J, Schwarzerová K, Petrášek J, Opatrný Z: ARP2 and ARP3 proteins are located to the sites of actin filament nucleation in tobacco BY-2 cells. - <i>Protoplasma</i> , Accepted with revisions, 2005	2.206

Name of the scientist:

Zdeněk Opatrný

List of selected scientific papers	Impact factor
Smertenko AP, Dráber P, Viklický V, Opatrný Z: Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in <i>Nicotiana tabacum</i> cells. - <i>Plant, Cell and Environment</i> 20: 1534 – 1542, 1997	3.613
Petrášek J, Freudenrich A, Heuing A, Opatrný Z, Nick P: Heat-shock protein 90 is associated with microtubules in tobacco cells. - <i>Protoplasma</i> 202: 161-174, 1998	2.206
Schwarzerová K, Zelenková S, Nick P, Opatrný Z: Aluminum - induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. - <i>Plant Cell Physiol.</i> 43: 207- 216, 2002	3.159
Fischer L, Lovas A, Opatrný Z, Bánfalvi Z: Structure and expression of a hybrid-rich protein gene in the solanaceous species, <i>Solanum berverdens</i> , <i>Solanum tuberosum</i> , and <i>Lycopersicum esculentum</i> . - <i>Journal of Plant Physiology</i> 159: 1271-1275, 2002	1.149
Boříková P, Pokorná J, Opatrný Z: Is the lethal and malforming effect of the potential anti-gibberelline retardant ANC on the tobacco BY-2 cell line mediated by the cytoskeleton ? - <i>Cell Biology International</i> 27: 175-176, 2003	1.092
Schwarzerová K, Pokorná J, Petrášek J, Zelenková S, Čapková V, Janotová I, Opatrný Z: The structure of cortical cytoplasm in cold-treated tobacco cells: the role of the cytoskeleton and the endomembrane system. - <i>Cell Biology International</i> 27: 263-265, 2003	1.092
Kuthanová A, Gemperlová L, Zelenková S, Eder J, Macháčková I, Opatrný Z, Cvikrová M: Cytological changes and alterations in polyamine contents induced by cadmium in tobacco BY-2 cells. - <i>Plant Physiology and Biochemistry</i> 42(2): 149-156, 2004	1.729
Pokorná J, Schwarzerová K, Zelenková S, Petrášek J, Janotová I, Čapková V, Opatrný Z: Sites of actin filament initiation in cold treated tobacco cells. <i>Plant, Cell and Environment</i> , 27(5): 641-653, 2004	3.613
Schwarzerová K, Petrášek J, Panigrahi KCS, Zelenková S, Opatrný Z, Nick P: Intranuclear accumulation of plant tubulin in response to low temperature. <i>Protoplasma</i> , in press, 2005	2.206
Pokorná J, Schwarzerová K, Petrášek J, Opatrný Z: ARP2 and ARP3 proteins are located to the sites of actin filament nucleation in tobacco BY-2 cells. Accepted with revisions, <i>Protoplasma</i> , 2005	2.206

Návrhy projektů a projekty související s předloženým návrhem

1. Současně s předloženým návrhem projektu je nebo bude v letošním roce podána u jiného poskytovatele žádost o podporu projektu, který je buď **shodný, nebo se s předkládaným návrhem výrazně tematicky překrývá**, takže v případě podpory obou projektů by došlo k duplicitnímu financování:

Název projektu

--	--	--	--

Jméno pracovníka, který zpracoval návrh překrývajícího se projektu	Uchazeč	Doba řešení projektu	Poskytovatel, u kterého je (bude) podána žádost o podporu
		od do	

Název projektu

--	--	--	--

Jméno pracovníka, který zpracoval návrh překrývajícího se projektu	Uchazeč	Doba řešení projektu	Poskytovatel, u kterého je (bude) podána žádost o podporu
		od do	

2. **Probíhající projekty** na jejichž řešení se předkladatelé návrhu podílejí a které řeší obdobnou problematiku (předpokládá se, že část výsledků bude shodných).

Identifikační kód a název projektu

IAA6038303 Transport růstových látek rostlin přes membrány v rostlinných buňkách
--

Jméno řešitele	Uchazeč	Doba řešení projektu	Poskytovatel
Eva Zažímalová	Ústav experimentální botaniky AVČR	od 2003 do 2006	Grantová agentura AVČR

Identifikační kód a název projektu

165/2005/B-BIO/Prf Identifikace rostlinných proteinů asociovaných s aktinem

Jméno řešitele	Uchazeč	Doba řešení projektu	Poskytovatel
Jindřiška Fišerová-Pokorná	Přírodovědecká fakulta UK	od 2005 do 2007	Grantová agentura UK

Návrh finančního zabezpečení

Navrhovatel (I):

RNDr. Jan Petrášek

Název instituce:

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Návrh finančního zabezpečení

Spolunavrhovatel (II):

RNDr. Kateřina Schwarzerová

Název instituce:

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Financial Proposal

Principal investigator (I): RNDr. Jan Petrášek

Institution name: Ústav experimentální botaniky AV ČR

The funding for the first year of the project (2006) is lower than that one for the following years reflecting the parallel (not overlapping) funding with the project No. A6038303: "Transmembrane transport of plant growth substances in plant cells" (mentioned in part B of this proposal).

Proposed expenditure is calculated according to the details described in the Sheet B (Justification of the proposal), and includes brief description of Operational costs, salaries and rewards for the research team, and wages paid on contracts.

Operational costs

Consumables: consist of basic laboratory consumables and labware including chemicals and radiochemicals, glassware and plastics, pH electrodes, liquid nitrogen, etc.

Costs of some special chemicals:

- Special scintillation cocktails for aqueous samples, ca. 2 thousand CZK per 1 litre (sufficient for two experiments).
- Brefeldin A (5 mg per 4.5 thousand CZK, for ca. 10 experiments).
- Enzymes for protoplast isolation (e.g. around 7 thousand CZK per 10 g cellulase Onozuka RS, for ca. 30 isolations; Pectolyase: 6 thousand CZK per 100 mg for ca. 10 isolations).
- PCR kits for detection of transgenes (ca. 20 thousands CZK per 1 kit, for approx. 50 reactions).
- Antibiotics for cultivation, transformation and selection (plants: hygromycin B and kanamycin, 20 thousand CZK per year; bacteria, e.g. E. coli and Agrobacterium: ampicilin and kanamycin for maintenance and cloning 5 thousand CZK per year).
- Kits for isolation of plasmid DNA, 11 thousand per 50 reactions
- Oligonucleotide synthesis for transgene detection (20 CZK per base, e.g. 1000 per set), yearly estimate 6 thousand.
- Antibodies against cytoskeletal proteins (cca 10-20 thousand CZK yearly)

Minor material items: tabletop centrifuges, tabletop shakers, mechanical and digital pipettes, around 6 and 20 thousand CZK, respectively), heaters, dispensers, PC

Minor immaterial items: upgrades for scientific graphing software SigmaPlot, licences for text and table editors.

Work and services: minor repairs of laboratory equipment (services of centrifuges, sterilisers, spectrophotometer, incubators, analytical scales, microscopes, autoclaves etc.), synthesis of oligonucleotides for PCR, etc.

Travel expenses will cover the local travel expenses (participation on local conferences, meetings, seminars, etc.).

Publication costs: print of coloured images for publication of papers, reprints, print of posters, etc.

Salaries and rewards for the research team reflect the proportional involvement of particular persons in the work on the project. Parts of salaries are proposed for postgraduate students to support establishment and stabilisation of the effective research team for the work on the project.

Wages paid on contracts are planned for special services as e.g. support with large-scale production of experimental material and translations and corrections of scientific texts.

Financial Proposal

Co-investigator (II):

RNDr. Kateřina Schwarzerová

Institution name:

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Proposed expenditure is calculated according to the details described in the Sheet B (Justification of the proposal), and includes brief description of Operational costs, salaries and rewards for the research team, and wages paid on contracts.

Operational costs

Consumables: consist of basic laboratory consumables and labware including chemicals, glassware and plastics, pH electrodes, liquid nitrogen, etc.

Costs of some special chemicals:

- Brefeldin A (5 mg per 4.5 thousand CZK, for ca. 10 experiments).
- Antibiotics for cultivation, transformation and selection (plants: hygromycin B and kanamycin, 20 thousand CZK per year; bacteria, e.g. E. coli and Agrobacterium: ampicilin and kanamycin for maintenance and cloning 5 thousand CZK per year).
- Oligonucleotide synthesis for transgene detection (20 CZK per base, e.g. 1000 per set), yearly estimate 6 thousand.
- Antibodies against cytoskeletal proteins (cca 20-20 thousand CZK yearly)

Minor material items: tabletop centrifuges, tabletop shakers, mechanical and digital pipettes, around 6 and 20 thousand CZK, respectively), heaters, dispensers, PC

Minor immaterial items: upgrades for scientific graphing software SigmaPlot, licences for text and table editors.

Work and services: minor repairs of laboratory equipment (services of centrifuges, sterilisers, spectrophotometer, incubators, analytical scales, microscopes, autoclaves etc.), synthesis of oligonucleotides for PCR, etc.

Travel expenses will cover the local travel expenses (participation on local conferences, meetings, seminars, etc.).

Publication costs: print of coloured images for publication of papers, reprints, print of posters, etc.

Salaries and rewards for the research team reflect the proportional involvement of particular persons in the work on the project. Parts of salaries are proposed for postgraduate students to support establishment and stabilisation of the effective research team for the work on the project.

Wages paid on contracts are planned for special services as e.g. support with large-scale production of experimental material.

Požadované finanční zabezpečení na 1. rok řešení grantového projektu (náklady se uvádějí v tis. Kč)

Uchazeč (I) - ÚEB

1. investiční náklady (GIN)

jednotlivé investiční položky	pořizovací cena	doba provozně technické funkce	požadováno
celkem investiční náklady na 1. rok			

2. věcné náklady (GVN)

provozní náklady	požadováno
- drobný dlouhodobý hmotný majetek (předměty, přístroje a zařízení do 40 tis. Kč)	50
- drobný dlouhodobý nehmotný majetek (např. software do 60 tis. Kč)	10
- materiál	65
- doplňkové (režijní) náklady	27
- povinné zákonné odvody	87
- jiné: (specifikovat, např. speciální literatura)	
sekvenování	5
práce na konfokálním mikroskopu	2
publikační náklady	5
služby (na faktury)	5
cestovní náklady (včetně konferenčních poplatků a úhrady za pobyt pozvaných pracovníků)	7
celkem věcné náklady na 1. rok	263

3. mzdové náklady

3.1. platy (mzdy) zaměstnanců přijatých výhradně na řešení projektu (TMZ)

příjmení	tarifní roční plat	požadováno
Černá	195	59
Skůpa	195	59
Seifertová	195	39
celkem mzdové náklady na platy na 1. rok		157

3.2. pohyblivá část mzdy (PMZ)

celkem pohyblivá část mzdy na 1. rok	79
---	-----------

3.3. ostatní osobní náklady (OON)

specifikace OON	požadováno
Techn. výpomoc při kultivaci	5
Drobné úpravy lab. vybavení	5
celkem ostatní osobní náklady na 1. rok	10

Požadované finanční zabezpečení na 1. rok řešení grantového projektu (náklady se uvádějí v tis. Kč)

Uchazeč (II) - PŘF UK

1. investiční náklady (GIN)

jednotlivé investiční položky	pořizovací cena	doba provozně technické funkce	požadováno
celkem investiční náklady na 1. rok			

2. věcné náklady (GVN)

provozní náklady	požadováno
- drobný dlouhodobý hmotný majetek (předměty, přístroje a zařízení do 40 tis. Kč)	30
- drobný dlouhodobý nehmotný majetek (např. software do 60 tis. Kč)	
- materiál	84
- doplňkové (režijní) náklady	24
- povinné zákonné odvody	38
- jiné: (specifikovat, např. speciální literatura)	
sekvenování	4
používání konfokálního mikroskopu	6
publikační náklady	5
služby (na faktury)	4
cestovní náklady (včetně konferenčních poplatků a úhrady za pobyt pozvaných pracovníků)	
celkem věcné náklady na 1. rok	195

3. mzdové náklady

3.1. platy (mzdy) zaměstnanců přijatých výhradně na řešení projektu (TMZ)

příjmení	tarifní roční plat	požadováno
Schwarzerová	220	44
Fišerová	200	40
celkem mzdové náklady na platy na 1. rok		84

3.2. pohyblivá část mzdy (PMZ)

celkem pohyblivá část mzdy na 1. rok	19
---	-----------

3.3. ostatní osobní náklady (OON)

specifikace OON	požadováno
Techn. výpomoc při kultivaci	5
celkem ostatní osobní náklady na 1. rok	5

Rozpis celkových předpokládaných nákladů na řešení grantového projektu

(náklady se uvádějí v tis. Kč)

Uchazeč (I) - ÚEB

1. Účelová podpora požadovaná od GA AV na řešení projektu rozepsaná na jednotlivé roky řešení (shrnutí finančních požadavků zdůvodněných na Sheet F1)

	Účelová podpora požadovaná od GA AV					Celkem GA AV
	Investiční náklady GIN	Neinvestiční náklady				
		GVN	TMZ	PMZ	OON	
1. rok		263	157	79	10	509
2. rok	----	320	200	120	10	650
3. rok	----	370	220	120	10	720
4. rok	----					
5. rok	----					
celkem	0	953	577	319	30	1879

2. Celkové předpokládané náklady na celou dobu řešení projektu ze všech zdrojů financování

Zdroje finančních prostředků					
Účelová podpora požadovaná od GA AV celkem					
1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok	Celkem
509	650	720			1879
Veřejné prostředky z ostatních zdrojů, nepatřící do státního rozpočtu					
0	0	0			0
Neveřejné prostředky z ostatních zdrojů (např. vlastní prostředky u soukromých subjektů)					
0	0	0			0
Celkové předpokládané uznané náklady na řešení projektu					
509	650	720	0	0	1879

Rozpis celkových předpokládaných nákladů na řešení grantového projektu

(náklady se uvádějí v tis. Kč)

Uchazeč (II) - PŘF UK

1. Účelová podpora požadovaná od GA AV na řešení projektu rozepsaná na jednotlivé roky řešení (shrnutí finančních požadavků zdůvodněných na Sheet F1)

	Účelová podpora požadovaná od GA AV					Celkem GA AV
	Investiční náklady GIN	Neinvestiční náklady				
		GVN	TMZ	PMZ	OON	
1. rok		195	84	19	5	303
2. rok	----	220	100	36	5	361
3. rok	----	240	100	36	5	381
4. rok	----					
5. rok	----					
celkem	0	655	284	91	15	1045

2. Celkové předpokládané náklady na celou dobu řešení projektu ze všech zdrojů financování

Zdroje finančních prostředků					
Účelová podpora požadovaná od GA AV celkem					
1. rok	2. rok	3. rok	4. rok	5. rok	Celkem
303	361	381			1045
Veřejné prostředky z ostatních zdrojů, nepatřící do státního rozpočtu					
0	0	0			0
Neveřejné prostředky z ostatních zdrojů (např. vlastní prostředky u soukromých subjektů)					
0	0	0			0
Celkové předpokládané uznané náklady na řešení projektu					
303	361	381	0	0	1045

Vyjádření statutárního orgánu uchazeče

Uchazeč (I) (oficiální
název instituce)

Ústav experimentální botaniky AV ČR

Navrhovatel

RNDr. Jan Petrášek

Název projektu

Mechanismy vnitrobuněčné translokace a polárního umístování proteinů zajišťujících přenos auxinů z buňky.

Statutární orgán

- potvrzuje pravdivost údajů uvedených v žádosti, souhlasí s jejich zveřejněním v rozsahu vymezeném zákonem 106/99 Sb., ve znění pozdějších předpisů:

ANO	NE

- prokazuje způsobilost uchazeče k řešení navrhovaného projektu
 - čestným prohlášením (organizační složky státu, ostatní státní organizace včetně ústavů AV ČR):
 - dokladem o oprávnění k podnikání (uchazeči, kteří nejsou organizačními složkami státu nebo ostatními státními organizacemi, přiloží kopii platného výpisu z obchodního rejstříku nebo jiný doklad o právní subjektivitě, fyzické osoby s IČ přiloží kopii živnostenského listu):
- dokladem o oprávnění k činnosti podléhající zvláštním právním předpisům (např. zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, živnostenský zákon), jestliže tuto činnost řešení navrhovaného projektu předpokládá:

Uchazeč má povinnost písemně informovat GA AV o změnách, které nastaly v době od podání žádosti a které se dotýkají jeho právní subjektivity či údajů požadovaných pro prokázání kvalifikace, a to do 7 kalendářních dnů ode dne, kdy se o takové skutečnosti dozvěděl.

Komentář: Případné připomínky k věcné náplni návrhu projektu, k vazbě návrhu na odborné zaměření pracoviště, k plánovaným pracovním kapacitám a složení řešitelského týmu, k předpokladům navrhovatele a jeho týmu za současného vybavení pracoviště splnit cíle projektu ve stanoveném termínu, k výši a skladbě požadovaných finančních prostředků lze uvést ve zvláštní příloze.

Statutární orgán uchazeče:

RNDr. Ivana Macháčková, CSc., ředitelka
(jméno, včetně titulů a vědeckých hodností, funkce)

Datum:

Podpis a razítko:

Vyjádření statutárního orgánu uchazeče

Uchazeč (II) (oficiální
název instituce)

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

Spolunavrhovatel

RNDr. Kateřina Schwarzerová

Název projektu

Mechanismy vnitrobuněčné translokace a polárního umístování proteinů zajišťujících přenos auxinů z buňky.

Statutární orgán

- potvrzuje pravdivost údajů uvedených v žádosti, souhlasí s jejich zveřejněním v rozsahu vymezeném zákonem 106/99 Sb., ve znění pozdějších předpisů:

ANO	NE
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- prokazuje způsobilost uchazeče k řešení navrhovaného projektu
 - čestným prohlášením (organizační složky státu, ostatní státní organizace včetně ústavů AV ČR):
 - dokladem o oprávnění k podnikání (uchazeči, kteří nejsou organizačními složkami státu nebo ostatními státními organizacemi, přiloží kopii platného výpisu z obchodního rejstříku nebo jiný doklad o právní subjektivitě, fyzické osoby s IČ přiloží kopii živnostenského listu):
- dokladem o oprávnění k činnosti podléhající zvláštním právním předpisům (např. zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, živnostenský zákon), jestliže tuto činnost řešení navrhovaného projektu předpokládá:

Uchazeč má povinnost písemně informovat GA AV o změnách, které nastaly v době od podání žádosti a které se dotýkají jeho právní subjektivity či údajů požadovaných pro prokázání kvalifikace, a to do 7 kalendářních dnů ode dne, kdy se o takové skutečnosti dozvěděl.

Komentář: Případné připomínky k věcné náplni návrhu projektu, k vazbě návrhu na odborné zaměření pracoviště, k plánovaným pracovním kapacitám a složení řešitelského týmu, k předpokladům navrhovatele a jeho týmu za současného vybavení pracoviště splnit cíle projektu ve stanoveném termínu, k výši a skladbě požadovaných finančních prostředků lze uvést ve zvláštní příloze.

Statutární orgán uchazeče:

Prof. RNDr. Pavel Kovář, CSc., děkan
(jméno, včetně titulů a vědeckých hodností, funkce)

Datum:

Podpis a razítko:

Grantová agentura Akademie věd ČR
Čestné prohlášení / I

prokazující způsobilost uchazeče k řešení navrhovaného grantového projektu

Uchazeč (I)

IČ

Jména osob, které vykonávají funkci statutárního orgánu uchazeče nebo jeho člena:

Prohlašuji, že uchazeč uvedený v záhlaví tohoto čestného prohlášení

1. není v likvidaci,
2. nebyl vůči němu podán návrh na prohlášení konkursu na jeho majetek, sám nepodal návrh na povolení vyrovnání, ani proti němu nebyl zamítnut návrh na prohlášení konkursu pro nedostatek jeho majetku,
3. má vypořádány splatné závazky ve vztahu ke státnímu rozpočtu nebo rozpočtu územního samosprávného celku a další splatné závazky vůči státu, státnímu fondu, zdravotní pojišťovně nebo k České správě sociálního zabezpečení.

Dále prohlašuji, že žádná z výše uvedených osob nebo sám uchazeč, pokud jde o fyzickou osobu

4. nebyl pravomocně odsouzen pro trestný čin, jehož skutková podstata souvisí s předmětem podnikání uchazeče, je-li uchazeč podnikatelem, nebo pro trestný čin hospodářský nebo trestný čin proti majetku,
5. nebyl v posledních třech letech disciplinárně potrestán podle zvláštních právních předpisů upravujících výkon odborné činnosti (např. zákon č. 246/1992 Sb.), pokud tato činnost souvisí s grantovým projektem, o jehož podporu uchazeč žádá.

Datum:

Razítko uchazeče: Podpis
statutárního
orgánu uchazeče: _____

Grantová agentura Akademie věd ČR
Čestné prohlášení / II

prokazující způsobilost uchazeče k řešení navrhovaného grantového projektu

Uchazeč (II)

Univerzita Karlova v Praze - Přírodovědecká fakulta

IČ

00216208

Jména osob, které vykonávají funkci statutárního orgánu uchazeče nebo jeho člena:

Prof. RNDr. Pavel Kovář, CSc.

Prohlašuji, že uchazeč uvedený v záhlaví tohoto čestného prohlášení

1. není v likvidaci,
2. nebyl vůči němu podán návrh na prohlášení konkursu na jeho majetek, sám nepodal návrh na povolení vyrovnání, ani proti němu nebyl zamítnut návrh na prohlášení konkursu pro nedostatek jeho majetku,
3. má vypořádány splatné závazky ve vztahu ke státnímu rozpočtu nebo rozpočtu územního samosprávného celku a další splatné závazky vůči státu, státnímu fondu, zdravotní pojišťovně nebo k České správě sociálního zabezpečení.

Dále prohlašuji, že žádná z výše uvedených osob nebo sám uchazeč, pokud jde o fyzickou osobu

4. nebyl pravomocně odsouzen pro trestný čin, jehož skutková podstata souvisí s předmětem podnikání uchazeče, je-li uchazeč podnikatelem, nebo pro trestný čin hospodářský nebo trestný čin proti majetku,
5. nebyl v posledních třech letech disciplinárně potrestán podle zvláštních právních předpisů upravujících výkon odborné činnosti (např. zákon č. 246/1992 Sb.), pokud tato činnost souvisí s grantovým projektem, o jehož podporu uchazeč žádá.

Datum:

Podpis
statutárního

Razítko uchazeče:

orgánu uchazeče: _____