

## A - Základní údaje

**Návrh projektu do veřejné soutěže ve výzkumu, experimentálním vývoji a inovacích na podporu grantových projektů základního výzkumu pro Standardní projekty na rok 2020 (dále jen projekt)**

<b>Registrační číslo</b>	20-13587S	<b>Doba řešení (v letech)</b>	3
<b>Datum zahájení</b>	1.1.2020		
<b>Název projektu česky</b>	Evoluční původ a význam transportu auxinu		
<b>Název projektu anglicky</b>	The evolutionary origin and significance of auxin transport		
<b>Hlavní panel</b>	P501 - Fyziologie a genetika rostlin, rostlinolékařství		
<b>Vedlejší panel</b>	P506 - Botanika a zoologie		
<b>Klíčová slova česky</b>	auxin;evoluce rostlin;transport auxinu		
<b>Klíčová slova anglicky</b>	auxin;plant evolution;auxin transport		

**Navrhovatel a uchazeč**

<b>Jméno a příjmení</b>	RNDr. Jan Petrášek Ph.D.	<b>Rodné číslo</b>	720801/0546
<b>E-mail</b>	petrasek@ueb.cas.cz	<b>Telefon</b>	225106425
<b>ORCID</b>	0000-0002-6719-2735	<b>Researcher ID</b>	C-8240-2009
<b>SCOPUS ID</b>	7006476242	<b>IČO</b>	61389030
<b>Organizace</b>	Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.		
<b>Sídlo</b>	Rozvojová 263, Praha		

**Spolunavrhovatel a spoluuchazeč - 1**

<b>Jméno a příjmení</b>	Mgr. Stanislav Vosolsobě	<b>Rodné číslo</b>	860505/2775
<b>E-mail</b>	vosolsob@atur.cuni.cz	<b>Telefon</b>	221951695
<b>ORCID</b>	0000-0002-1180-3250	<b>Researcher ID</b>	H-9104-2017
<b>SCOPUS ID</b>	55343362200	<b>IČO</b>	00216208
<b>Organizace</b>	Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta		
<b>Sídlo</b>	Ovocný trh 5, Praha		

## Zdůvodnění

### vedlejšího panelu

Navrhovaný projekt je zaměřen na pochopení významu auxinového transportu v modelech charofytních řas, evolučních předchůdců suchozemských rostlin. Je podáván v rámci panelu 501, díky zaměření na evoluční aspekty vývoje rostlin však zapadá též částečně do tematiky panelu 506.

## Abstrakt česky

Auxin působí u rostlin jako významný morfogen a tato jeho úloha je sdílena u všech suchozemských rostlin. Zatímco auxinem-řízený vývoj u kvetoucích rostlin vykazuje porovnatelnou složitost, pochopení jeho role u primitivnějších rostlin začalo být podrobně řešeno teprve nedávno. Suchozemské rostliny pocházejí z tzv. „charofytních“ zelených řas a jsou spolu s nimi nazývány „streptofyta“. Úloha auxinu v řasách je však stále málo známá. Zatímco jaderně lokalizovaná auxinová signální dráha, jak jí známe z vyšších rostlin, u charofytních řas neexistuje, řas a suchozemské rostliny sdílí homology genů kódujících transportéry auxinu. V rámci tohoto projektu budeme testovat zástupce všech streptofytních řas na jejich reakci na auxin. Identifikujeme a budeme klonovat a testovat funkci a lokalizaci těchto transportérů auxinu v homologním i heterologním systému. Výsledky tohoto projektu pomohou odhalit evoluční vznik auxinového morfogenního působení a evolučního významu transportu auxinů.

## Cíle projektu česky

Tento projekt má dva hlavní cíle:

1. Odhalit evoluční původ morfogenního účinku auxinu.
2. Odhalit evoluční význam transportu auxinu.

## Abstrakt anglicky

Auxin acts as an important morphoregulatory compound within plants and its role is shared in whole land-plants group. While the developmental pathways of advanced angiosperm bodies show comparative complexity in auxin regulation, more basal plants began to be addressed in detail only recently. Land plants originated from so-called “charophyte” green algae, and together they are called “streptophytes”. However, the role of auxin in algae is still enigmatic. While canonical nuclear auxin-sensing pathway is lacking in charophyte algae, but algae and land plants share homologous genes coding for auxin transporters. Within this project, we will screen representatives of all streptophyte algae for their reaction to auxin. We will identify, clone and test function and localization of streptophyte algae auxin transporters in both homologous and heterologous systems. Results of this project will help to reveal the evolutionary origin of auxin morphogenic action as well as evolutionary significance of auxin transport.

## Cíle projektu anglicky

There are two aims of this project:

1. To reveal the evolutionary origin of auxin morphogenic action.
2. To reveal the evolutionary significance of auxin transport.

## Klasifikace CEP

### Zařazení do CEP

EB - Genetika a molekulární biologie

EF - Botanika

## Obory OECD

Plant sciences, botany

## Přihlášení se k prioritám

## Část B - Finanční prostředky celkem

Částky jsou uváděny v Kč.

### Celkové způsobilé náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
<b>Celková dotace poskytovatele na projekt</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>8 943 tis</b>
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (tuzemských i zahraničních)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Podpora z neveřejných zdrojů (vlastní prostředky, soukromé dotace)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
<b>Způsobilé náklady ze všech zdrojů financování</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>8 943 tis</b>
Míra podpory u poskytovatele	100,00 %			

### Rozdělení dotace na řešení projektu

### Rozdělení ostatních zdrojů na řešení projektu

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem		1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Věcné náklady	1 170 tis	1 170 tis	1 170 tis	<b>3 510 tis</b>	Věcné náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Osobní náklady	1 811 tis	1 811 tis	1 811 tis	<b>5 433 tis</b>	Osobní náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>	Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>2 981 tis</b>	<b>8 943 tis</b>	<b>Celkem</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>

## Uchazeč - Část B - finanční prostředky

**Jméno a příjmení** RNDr. Jan Petrášek Ph.D.

**Organizace** Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.

Částky jsou uváděny v Kč.

### Celkové způsobilé náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
<b>Celková dotace poskytovatele na projekt</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>5 829 tis</b>
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (tuzemských i zahraničních)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Podpora z neveřejných zdrojů (vlastní prostředky, soukromé dotace)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
<b>Způsobilé náklady ze všech zdrojů financování</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>5 829 tis</b>
Míra podpory u poskytovatele	100,00 %			

### Rozdělení dotace na řešení projektu

### Rozdělení ostatních zdrojů na řešení projektu

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem		1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Věcné náklady	768 tis	768 tis	768 tis	<b>2 304 tis</b>	Věcné náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Osobní náklady	1 175 tis	1 175 tis	1 175 tis	<b>3 525 tis</b>	Osobní náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>	Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>1 943 tis</b>	<b>5 829 tis</b>	<b>Celkem</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>

**Uchazeč - Část B - rozpis finančních položek**

V této části návrhu se vyplňuje požadovaná dotace od GAČR

**Dotace na věcné náklady**

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Materiální náklady	250 tis	250 tis	250 tis	<b>750 tis</b>
Cestovní náklady	50 tis	50 tis	50 tis	<b>150 tis</b>
Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady	80 tis	80 tis	80 tis	<b>240 tis</b>
Doplňkové (režijní) náklady	388 tis	388 tis	388 tis	<b>1 164 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>768 tis</b>	<b>768 tis</b>	<b>768 tis</b>	<b>2 304 tis</b>

**Dotace na osobní náklady (souhrn)**

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Mzdy odborných pracovníků	798 tis	798 tis	798 tis	<b>2 394 tis</b>
Mzdy dalších (tech.) pracovníků	66 tis	66 tis	66 tis	<b>198 tis</b>
Odměny z DPP/DPČ	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP)	311 tis	311 tis	311 tis	<b>933 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>1 175 tis</b>	<b>1 175 tis</b>	<b>1 175 tis</b>	<b>3 525 tis</b>

**Dotace na pořízení investic**

		1. rok		2. rok		3. rok	
Investice	Poř. cena	Poř./Odp.	Využití	Poř./Odp.	Využití	Poř./Odp.	Využití
<b>Celkem dotace na investice</b>		<b>0 tis</b>		<b>0 tis</b>		<b>0 tis</b>	

**Rozpis mzdových nákladů a odměn DPP/DPČ hrazených z dotace pro všechny roky řešení**

Kat.	Jméno		Úvazek/1. rok	Úvazek/2. rok	Úvazek/3. rok
	Náplň práce / popis činnosti		Dotace	Dotace	Dotace
-	Jan	Petrášek	0,30	0,30	0,30
	Řešitel/koordinace projektu		162 tis	162 tis	162 tis
postdok	Roman	Skokan	0,60	0,60	0,60
	Člen týmu/analýzy řasových linií		252 tis	252 tis	252 tis
-	Karel	Müller	0,20	0,20	0,20
	Člen týmu/příprava genových konstruktů		96 tis	96 tis	96 tis
-	Adriana	Jelínková	0,20	0,20	0,20
	Členka týmu/mikroskopická analýza		96 tis	96 tis	96 tis
-	Martina	Laňková	0,20	0,20	0,20
	Členka týmu/biochemická a mikroskopická analýza		96 tis	96 tis	96 tis
-	Milada	Čovanová	0,20	0,20	0,20
	Členka týmu/fenotypová analýza v heterologních systémech		96 tis	96 tis	96 tis
-	Další spolupracovníci (technici)		0,20	0,20	0,20
	Laborantské práce/kultivace materiálu		66 tis	66 tis	66 tis

**Uchazeč - Část B - finanční prostředky**
**Specifikace a zdůvodnění nákladů pro 1. rok řešení**

**Materiální náklady**

Materiální náklady vzniklé výhradně v přímé souvislosti s řešením projektu budou představovat především náklady na chemikálie, experimentální materiál (řasové linie), drobný spotřební laboratorní materiál a drobný hmotný majetek. Plánované techniky jsou v navrhovatelské laboratoři zavedené, proto je možné odhadnout náklady jednotlivých položek vcelku přesně, náklady vychází z cen námi používaných chemikálií a materiálu a ze znalosti objemu práce navrhované v tomto projektu.

Chemikálie pro molekulárně biologické postupy budou zahrnovat kity pro izolace a čištění rostlinné DNA a RNA (30 tis), plazmidy, polymerázy, oligonukleotidy a restrikční enzymy pro klonování a PCR (35 tis), potřeby pro DNA elektroforézu (agaróza, fluorescenční barvení gelů) a kity pro qRT-PCR analýzu (40 tis). Dále budou pořizovány chemikálie pro kultivaci bakterií a pro tabákové kultury včetně jejich stabilní a transientní transformace a regenerace (agar, sacharóza, směsi solí, vitamíny, mikro a makro prvky, fytohormony, selekční antibiotika, zlaté partikule a spermidin pro biolistiku), celkem za 50 tis. Dle potřeby budou zakoupeny radiochemikálie (3H-značené 2,4-D, NAA a IAA), scintilační koktejl pro vodné vzorky a scintilační lahvičky pro stanovení kinetiky akumulace auxinů v buňkách (40 tis). Chemikálie pro mikroskopickou analýzu jsou na pracovišti k dispozici, budou proto jen doplněny některé potřebné, jako jsou fixační činidla (paraformaldehyd, glutaraldehyd) a inhibitory membránového transportu a cytoskeletální dynamiky (brefeldin A, oryzalin, latrunculin), celkem za 25 tis.

Drobný spotřební materiál bude zahrnovat laboratorní plastik (špičky do pipet, sterilní plastik, sterilizační filtry, kultivační destičky, mikrozkmavky, scintilační lahvičky, parafilm, atd.), sklo (baňky, odměrné válce, kádinky, atd.), drobné nástroje (pinzety, špachtle, míchadla, atd.) a ochranné pomůcky (rukavice), celkem za 30 tis.

V prvním roce není plánován nákup drobného hmotného majetku.

**Cestovní náklady**

V prvním roce projektu je plánována aktivní účast řešitele či člena týmu na pravidelném setkání zaměřeném na výzkum fytohormonu auxinu, Auxin 2020 (4 - 8.10. 2020, Cavtat, Chorvatsko) a na pravidelném EMBO workshopu zaměřeném na evoluci suchozemských rostlin (EMBO Workshop, minulý ročník 20-23.6. 2018, Lisabon, Portugalsko), hrazeny budou cestovní náklady či jejich část ve výši 35 tis. Hrazeny budou též cestovní náklady (15 tis) spojené s kratšími koordinačními návštěvami (1-2 dny) na spolupracujících zahraničních pracovištích, včetně výměny experimentálního materiálu (Univerzita v Osnabrückeru, SRN, Prof. Henrik Buschmann; IST Austria, Rakousko, Prof. Jiří Friml; Univerzita v Hamburku, SRN, Prof. Klaus von Schwartzenberg).

**Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady**

Náklady na služby představují výdaje spojené se sekvenací DNA (20 tis), produkcí oligopeptidů pro přípravu protilátek (15 tis), imunizaci zvířat a tvorbu polyklonálních protilátek (25 tis), úhradu konferenčních poplatků a nákladů tištění posterů a placení poštovního (15 tis). Publikační náklady (poplatky za publikace, jazykové korektury) jsou plánovány až od druhého roku navrhovaného projektu. Dále budou prostředky využity k úhradě faktur za drobné opravy a servis laboratorního vybavení a přístrojů (5 tis). Doplnkové (režijní) náklady jsou ve shodě se zadávací dokumentací navrhovány ve výši 25% veškerých neinvestičních nákladů.

## Osobní náklady

Na řešení plánovaného projektu se budou podílet tito členové odborného týmu:

RNDr. Jan Petrášek, Ph.D. - řešitel, 30%, 162 tis

- vedení a koordinace projektu včetně spolupráce se spoluřešitelem, plánování experimentů, hodnocení získaných dat, prezentace projektu navenek, příprava publikací, experimentální činnost v oblasti mikroskopie tabákových i řasových kultur  
Mgr. Roman Skokan - člen týmu, post-doktorand, 60%, 252 tis

- plánování experimentů a hodnocení dat, příprava publikací, experimentální činnost v oblasti molekulární biologie řasových organismů, příprava genových konstruktů, analýza genové exprese, studium transportu v homologních a heterologních modelech, biolistická transformace řas.

Ing. Karel Muller, Ph.D. - člen týmu, 20%, 96 tis

- experimentální činnost v oblasti klonování, příprava a koordinace efektivního postupu přípravy genových konstruktů a analýza exprese pomocí qRT-PCR.

RNDr. Adriana Jelínková, Ph.D. - členka týmu, 20%, 96 tis

- experimentální činnost v oblasti mikroskopické analýzy dynamiky řasových auxinových přenašečů v tabákových liniích

RNDr. Martina Laňková, Ph.D. - členka týmu, 20%, 96 tis

- experimentální činnost v oblasti analýzy transportu v liniích tabáku, nesoucích indukovatelné geny pro homology auxinových přenašečů z řas

Ing. Milada Čovanová, Ph.D. - členka týmu, 20%, 96 tis

- experimentální činnost v oblasti analýzy mikroskopické analýzy v řasových kulturách, testování a optimalizace použití protilátok

Další spolupracovníci (technici):

Technik - 20%, 66 tis

- technické zajištění kultivace tabákových buněčných linií, příprava transgenních linií, analýza exprese vnesených genů.

Plánované osobní náklady odpovídají navrhované pracovní kapacitě jednotlivých členů týmu a jsou v souladu s vnitřním mzdovým předpisem ÚEB AVČR. Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP) ve výši 358 tis. Kč na první rok bylo vypočteno jako 36 % z hrubých mezd odborných a technických pracovníků.

## Investiční náklady

Nejsou požadovány žádné finanční prostředky.

---

## Uchazeč - Část D2 - bibliografie

**Úplné bibliografické údaje o nejvýznamnějších výsledcích vědecké a výzkumné činnosti definovaných v Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje**

Výsledek	Kód výsledku	Databaze	Citací	Impaktní faktor
1 Petrášek, J., Mravec, J., Bouchard, R., Blakeslee, J., Abas, M., Seifertová, D., Wiśniewska, J., Tadele, Z., Čovanová, M., Dhonukshe, P., Skůpa, P., Benková, E., Perry, L., Křeček, P., Lee, OR., Fink, G., Geisler, M., Murphy, A., Luschnig, C., Zažímalová, E., Friml, J.: PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. <i>Science</i> 312: 914-918, 2006.	Jimp	SCOPUS	537	30,927
2 Petrášek, J., Friml, J.: Auxin transport routes in plant development. <i>Development</i> 136: 2675-2688, 2009.	Jimp	SCOPUS	383	6,812
3 Žádníková, P., Petrášek, J., Marhavý, P., Raz, V., Vandenbussche, F., Ding, Z., Schwarzerová, K., Morita, M.T., Tasaka, M., Hejátko, J., Van Der Straeten, D., Friml, J., Benková, E.: Role of PIN-mediated auxin efflux in apical hook development of <i>Arabidopsis thaliana</i> . <i>Development</i> 137: 607-617, 2010.	Jimp	SCOPUS	147	7,194
4 Vandenbussche, F., Petrášek, J., Žádníková, P., Hoyerová, K., Pešek, B., Raz, V., Swarup, R., Bennett, M., Zažímalová, E., Benková, E., Van Der Straeten, D.: The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in <i>Arabidopsis thaliana</i> seedlings. <i>Development</i> 137: 597-606, 2010.	Jimp	SCOPUS	125	7,194
5 Leitner, J., Petrášek, J., Tomanov, K., Retzer, K., Pařezová, M., Korbei, B., Bachmair, A., Zažímalová, E., Luschnig, C.: Lysine63-linked ubiquitylation of PIN2 auxin carrier governs hormonally controlled adaptation in <i>Arabidopsis</i> root growth. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> 109, 8322-8327, 2012.	Jimp	SCOPUS	86	9,681

## Celkové počty výsledků definovaných Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje za posledních 5 roky (podle RIV)

<b>J<sub>imp</sub></b> - článek v odborném periodiku impaktovaném	13
<b>J<sub>sc</sub></b> - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	13
<b>J<sub>ost</sub></b> - článek ostatní	0
<b>B</b> - odborná kniha	1
<b>C</b> - kapitola v odborné knize	9
<b>D</b> - článek ve sborníku	0
<b>P</b> - patent	0
<b>F</b> - užitný nebo průmyslový vzor	0
<b>Z</b> - poloprovoz, ověřená technologie, odrůda, plemeno	0
<b>G</b> - prototyp, funkční vzorek	0
<b>H</b> - poskytovatelem realizovaný výsledek	0
<b>L</b> - specializovaná mapa	0
<b>N</b> - certifikovaná metodika a postup	0
<b>R</b> - software	0
<b>V</b> - výzkumná zpráva obsahující utajované informace podle zvláštního právního předpisu	0

## Celkový počet citací včetně autocitací a H-index WOS

Počet citací včetně autocitací na všechny práce podle	SCOPUS4 085
Metodika použitá pro počet citací dle "jiné metodiky"	
H-index podle Web of Science	27,00

## Uchazeč - Část E - související projekty

### Běžící projekty (uvádějí se i zahraniční projekty)

<b>Poskytovatel</b>	MSM - Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy (MŠMT)	<b>Kategorie CEP</b>	EA - Morfologické obory a cytologie
<b>Název programu</b>	LO - Národní program udržitelnosti I (2013 - 2020)	<b>Registrační číslo</b>	LO1417
<b>Role v projektu</b>	Člen týmu	<b>Panel (pouze GAČR a AZV)</b>	
<b>Celý název projektu</b>	Centrum experimentální biologie rostlin UK	<b>Pracovní úvazek</b>	0,50
<b>Dotace pro příjemce</b>	48 075 tis	<b>Ukončení řešení</b>	31.12.2019
<b>Počátek řešení</b>	1.1.2015		
<b>Příjemce - název instituce</b>	Univerzita Karlova / Přírodovědecká fakulta		
<b>Vztah k podávanému návrhu</b>	J.P. je členem týmu tohoto projektu, který končí na konci roku 2019. Výsledky tohoto projektu jsou podkladem navrhovaného projektu.		
<b>Poskytovatel</b>	GAČR	<b>Kategorie CEP</b>	EB - Genetika a molekulární biologie
<b>Název programu</b>	Standardní projekt	<b>Registrační číslo</b>	19-23773S
<b>Role v projektu</b>	Člen týmu	<b>Panel (pouze GAČR a AZV)</b>	305
<b>Celý název projektu</b>	Auxinové sinky transportérů PIN ve vývoji rostlin	<b>Pracovní úvazek</b>	0,40
<b>Dotace pro příjemce</b>	7 398 tis	<b>Ukončení řešení</b>	31.12.2021
<b>Počátek řešení</b>	1.1.2019		
<b>Příjemce - název instituce</b>	ÚEB AVČR, v.v.i		
<b>Vztah k podávanému návrhu</b>	Tento projekt nemá žádný vztah k navrhovanému projektu.		
<b>Poskytovatel</b>	GAČR	<b>Kategorie CEP</b>	JA - Elektronika a optoelektronika, elektrotechnika
<b>Název programu</b>	Standardní projekt	<b>Registrační číslo</b>	19-03909S
<b>Role v projektu</b>	Člen týmu	<b>Panel (pouze GAČR a AZV)</b>	P102
<b>Celý název projektu</b>	Simulace interakcí elektronů s plynem pro vysoce účinnou detekci sekundárních elektronů při	<b>Pracovní úvazek</b>	0,10
<b>Dotace pro příjemce</b>	1 824 tis	<b>Ukončení řešení</b>	31.12.2021
<b>Počátek řešení</b>	1.1.2019		
<b>Příjemce - název instituce</b>	Pracoviště hl. řešitele Ústav přístrojové techniky AV ČR, v.v.i. J.P je členem týmu spoluřešitele na Univerzita Karlova / Přírodovědecká fakulta		
<b>Vztah k podávanému návrhu</b>	Tento projekt nemá žádný vztah k navrhovanému projektu.		

### Navrhované projekty (uvádějí se i zahraniční projekty)

V současné době nejsou žádné projekty navrhované.



## Ukončené projekty

<b>Poskytovatel</b>	GAČR	<b>Kategorie CEP</b>	CE - Biochemie
<b>Název programu</b>	Standardní projekt	<b>Registrační číslo</b>	GA14-09685S
<b>Role v projektu</b>	Člen týmu	<b>Panel (pouze GAČR a AZV)</b>	501
<b>Celý název projektu</b>	Flotillin: nový hráč stresové signalizace u rostlin		
<b>Dotace pro příjemce</b>	4 312 tis	<b>Pracovní úvazek</b>	0,05
<b>Počátek řešení</b>	1.1.2014	<b>Ukončení řešení</b>	31.12.2018
<b>Příjemce - název instituce</b>	Hl. řešitel: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze / Fakulta potravinářské a biochemické technologie. J.P byl členem týmu spoluřešitele na ÚEB AVČR.		
<b>Vztah k podávanému návrhu</b>	Tento projekt nemá žádný vztah k navrhovanému projektu. Navrhovateli není známo hodnocení tohoto projektu, pokud je již k dispozici.		
<b>Hodnocení</b>	dosud nehodnoceno		

## Spoluuchazeč - Část B - finanční prostředky

**Jméno a příjmení** Mgr. Stanislav Vosolsobě  
**Organizace** Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta  
 Částky jsou uváděny v Kč.

### Celkové způsobilé náklady na řešení projektu ze všech zdrojů financování

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
<b>Celková dotace poskytovatele na projekt</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>3 114 tis</b>
Podpora z ostatních veřejných zdrojů (tuzemských i zahraničních)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
Podpora z neveřejných zdrojů (vlastní prostředky, soukromé dotace)	0 tis	0 tis	0 tis	0 tis
<b>Způsobilé náklady ze všech zdrojů financování</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>3 114 tis</b>
Míra podpory u poskytovatele	100,00 %			

### Rozdělení dotace na řešení projektu

### Rozdělení ostatních zdrojů na řešení projektu

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem		1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Věcné náklady	402 tis	402 tis	402 tis	<b>1 206 tis</b>	Věcné náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Osobní náklady	636 tis	636 tis	636 tis	<b>1 908 tis</b>	Osobní náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>	Investiční náklady	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>1 038 tis</b>	<b>3 114 tis</b>	<b>Celkem</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>	<b>0 tis</b>

## Spoluuchazeč - Část B - rozpis finančních položek

V této části návrhu se vyplňuje požadovaná dotace od GAČR

### Dotace na věcné náklady

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Materiální náklady	150 tis	150 tis	150 tis	<b>450 tis</b>
Cestovní náklady	25 tis	25 tis	25 tis	<b>75 tis</b>
Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady	20 tis	20 tis	20 tis	<b>60 tis</b>
Doplňkové (režijní) náklady	207 tis	207 tis	207 tis	<b>621 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>402 tis</b>	<b>402 tis</b>	<b>402 tis</b>	<b>1 206 tis</b>

### Dotace na osobní náklady (souhrn)

	1. rok	2. rok	3. rok	Celkem
Mzdy odborných pracovníků	402 tis	402 tis	402 tis	<b>1 206 tis</b>
Mzdy dalších (tech.) pracovníků	66 tis	66 tis	66 tis	<b>198 tis</b>
Odměny z DPP/DPČ	0 tis	0 tis	0 tis	<b>0 tis</b>
Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP)	168 tis	168 tis	168 tis	<b>504 tis</b>
<b>Celkem</b>	<b>636 tis</b>	<b>636 tis</b>	<b>636 tis</b>	<b>1 908 tis</b>

### Dotace na pořízení investic

		1. rok		2. rok		3. rok	
Investice	Poř. cena	Poř./Odp.	Využití	Poř./Odp.	Využití	Poř./Odp.	Využití
<b>Celkem dotace na investice</b>		<b>0 tis</b>		<b>0 tis</b>		<b>0 tis</b>	

### Rozpis mzdových nákladů a odměn DPP/DPČ hrazených z dotace pro všechny roky řešení

Kat.	Jméno		Úvazek/1. rok	Úvazek/2. rok	Úvazek/3. rok	
	Náplň práce / popis činnosti		Dotace	Dotace	Dotace	
postdok	Stanislav	Vosolsobě	0,60	0,60	0,69	
	Spoluřešitel/koordinace řešení, in silico analýzy		252 tis	252 tis	252 tis	
st.anon.	S1	S1	0,50	0,50	0,50	
	Člen týmu/analýza charofytních řas		150 tis	150 tis	150 tis	
-	Další spolupracovníci (technici)			0,20	0,20	0,20
	Udržování kultur řas, příprava médií, laborantská podpora experimentů			66 tis	66 tis	66 tis

---

**Spoluuchazeč - Část B - finanční prostředky**

---

**Specifikace a zdůvodnění nákladů pro 1. rok řešení****Materiální náklady**

Materiální náklady vzniklé výhradně v přímé souvislosti s řešením projektu budou představovat především náklady na chemikálie, drobný spotřební laboratorní materiál a drobný hmotný majetek. Plánované techniky jsou v navrhovatelské laboratoři zavedené, proto je možné odhadnout náklady jednotlivých položek vcelku přesně, náklady vychází z cen námi používaných chemikálií a materiálu a ze znalosti objemu práce navrhované v tomto projektu.

Chemikálie pro molekulárně biologické postupy budou zahrnovat kity pro izolace a čištění rostlinné DNA a RNA (30 tis), polymerázy, oligonukleotidy a restriční enzymy pro klonování a PCR (35 tis), potřeby pro DNA elektroforézu (agaróza, fluorescenční barvení gelů) a kity pro qRT-PCR analýzu (40 tis). Dále budou pořizovány chemikálie pro kultivaci bakterií a řas a pro experimenty s jejich ovlivněním auxinem (agar, směsi solí, vitamíny, mikro a makro prvky, fytohormony, antibiotika), a další běžné chemikálie (etanol, kapalný dusík, atd.), celkem za 25 tis.

Drobný spotřební materiál bude zahrnovat laboratorní plastik (špičky do pipet, sterilní plastik, sterilizační filtry, kultivační destičky, mikrozkmavky, atd.), sklo (baňky, odměrné válce, kádinky, atd.), drobné nástroje (pinzety, špachtle, míchadla, atd.) a ochranné pomůcky (rukavice), celkem za 20 tis.

V prvním roce není plánován nákup drobného hmotného majetku.

**Cestovní náklady**

V prvním roce projektu je plánována aktivní účast spoluřešitele na konferenci či semináři zaměřeném na evoluci rostlin a molekulární fylogenezi, jako např. na EMBO workshopu zaměřeném na evoluci suchozemských rostlin (EMBO Workshop, minulý ročník 20 - 23.6. 2018, Lisabon, Portugalsko), hrazeny budou cestovní náklady či jejich část ve výši 15 tis.

Hrazeny budou též cestovní náklady spojené s kratší koordináční návštěvou (1-2 dny) na spolupracujícím zahraničním pracovišti včetně výměny experimentálního materiálu (Univerzita v Marburgu, SRN, Prof. Stefan Rensing), celkem za 5 tis. Též bude podpořena účast studenta zapojeného v projektu na domácích konferencích (5 tis).

**Náklady na ostatní služby a nemateriální náklady**

Náklady na služby představují výdaje spojené se sekvenací DNA (10 tis), úhradu konferenčních poplatků (8 tis), nákladů tištění posterů a placení poštovního (2 tis). Publikáční náklady (poplatky za publikace, jazykové korektury) jsou plánovány až od druhého roku navrhovaného projektu. Doplnkové (režijní) náklady jsou ve shodě se zadávací dokumentací navrhovány ve výši 25% veškerých neinvestičních nákladů.

**Osobní náklady**

Na řešení plánovaného projektu se budou podílet tyto členové odborného týmu spoluřešitele:

Mgr. Stanislav Vosolsobě - spoluřešitel, 60%, 252 tis

- koordinace projektu s hlavním řešitelem, in silico analýzy fylogenetických příbuzností studovaných genů, plánování experimentů, hodnocení získaných dat, prezentace projektu navenek, příprava publikací, experimentální činnost v oblasti analýzy fenotypu rodu Chara

Student S1 - člen týmu, 50%, 150 tis

- analýza fenotypu rodu Chara po aplikaci auxinů, klonování genů pro auxinové přenašeče z rodu Chara

Další spolupracovníci (technici):

Technik - 20%, 66 tis

- technické zajištění kultivace řasových organismů, příprava médií, laborantské práce

Plánované osobní náklady odpovídají navrhované pracovní kapacitě jednotlivých členů týmu a jsou v souladu se mzdovým předpisem a pravidly odměňování PŘF UK. Sociální a zdravotní pojištění a SF (FKSP) ve výši 168 tis. Kč na první rok bylo vypočteno jako 35,8 % z hrubých mezd odborných a technických pracovníků.

**Investiční náklady**

Nejsou požadovány žádné finanční prostředky.

---

**Spoluuchazeč - Část D2 - bibliografie**

---

**Úplné bibliografické údaje o nejvýznamnějších výsledcích vědecké a výzkumné činnosti definovaných v Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje**

Výsledek	Kód výsledku	Databaze	Citací	Impaktní faktor Podíl na publikaci
1 Nishiyama, T., Sakayama, H., de Vries, J., Saint-Marcoux, D., Ullrich, K. K., Haas, F.B., Vanderstraeten, L., Becker, D., Lang, D., Vosolsobě, S., Rombauts, S., Wilhelmsson, P.K.I., Janitzka, P., Kern, R., Heyl, A., Rümpler, F., Calderón Villalobos, L.I.A., Clay, J.M., Skokan, R., Toyoda, A., Suzuki, Y., Kagoshima, H., Schijlen, E., Tajeshwar, N., Catarino, B., Hetherington, A.J., Saltykova, A., Bonnot, C., Breuninger, H., Symeonidi, A., Radhakrishnan, G.V., Van Nieuwerburgh, F., Deforce, D., Chang, C., Karol, K.G., Hedrich, R., Ulvskov, P., Glöckner, G., Delwiche, C.F., Petrášek, J., Van de Peer, Y., Friml, J., Beilby, M., Dolan, L., Kohara, Y., Sugano, S., Fujiyama, A., Delaux, P.M., Quint, M., Theißen, G., Hagemann, M., Harholt, J., Dunand, C., Zachgo, S., Langdale, J., Buschmann, H., Maumus, F. Van Der Straeten, D., Gould, S., Rensing, S. A.: The Chara genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization. <i>Cell</i> 174, 448-464, 2018.	Jimp	SCOPUS	18	31,398
2 Vosolsobě, S., Petrášek, J., Schwarzerová, K.: Evolutionary plasticity of plasma membrane interaction in DREPP family proteins. <i>Biochim Biophys Acta - Biomembranes</i> 1859, 686-697, 2017.	Jimp	SCOPUS	2	3,498
3 Krtková, J., Havelková, L., Křepelová, A., Fišer, R., Vosolsobě, S., Novotná, Z., Martinec, J., Schwarzerová, K.: Loss of membrane fluidity and endocytosis inhibition are involved in rapid aluminum-induced root growth cessation in <i>Arabidopsis thaliana</i> . <i>Plant Physiology and Biochemistry</i> 60, 88-97, 2012.	Jimp	SCOPUS	13	2,838
4 Singh G, Retzer K, Vosolsobě S, Napier R. Advances in understanding the mechanism of action of the auxin permease AUX1. <i>International Journal of Molecular Sciences</i> 19: 9-11, 2018.	Jimp	SCOPUS	0	3,687
5 Feraru, E., Vosolsobě, S., Feraru I. M., Petrášek, J., Kleine-Vehn, J.: Evolution and structural diversification of PILS putative auxin carriers in plants. <i>Frontiers in Plant Science</i> 3, 12 October, 2012.	Jimp	SCOPUS	39	3,637

## Celkové počty výsledků definovaných Metodice hodnocení výsledků výzkumu a vývoje za posledních 5 roky (podle RIV)

<b>J<sub>imp</sub></b> - článek v odborném periodiku impaktovaném	8
<b>J<sub>sc</sub></b> - článek v odborném periodiku obsaženém v databázi Scopus	8
<b>J<sub>ost</sub></b> - článek ostatní	0
<b>B</b> - odborná kniha	0
<b>C</b> - kapitola v odborné knize	0
<b>D</b> - článek ve sborníku	0
<b>P</b> - patent	0
<b>F</b> - užitný nebo průmyslový vzor	0
<b>Z</b> - poloprovod, ověřená technologie, odrůda, plemeno	0
<b>G</b> - prototyp, funkční vzorek	0
<b>H</b> - poskytovatelem realizovaný výsledek	0
<b>L</b> - specializovaná mapa	0
<b>N</b> - certifikovaná metodika a postup	0
<b>R</b> - software	0
<b>V</b> - výzkumná zpráva obsahující utajované informace podle zvláštního právního předpisu	0

## Celkový počet citací včetně autocitací a H-index WOS

Počet citací včetně autocitací na všechny práce podle	SCOPUS92
Metodika použitá pro počet citací dle "jiné metodiky"	
H-index podle Web of Science	5,00

### Spoluuchazeč - Část E - související projekty

#### Běžící projekty (uvádějí se i zahraniční projekty)

<b>Poskytovatel</b>	MSM - Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy (MŠMT)	<b>Kategorie CEP</b>	EA - Morfologické obory a cytologie
<b>Název programu</b>	LO - Národní program udržitelnosti I (2013 - 2020)	<b>Registrační číslo</b>	LO1417
<b>Role v projektu</b>	Člen týmu	<b>Panel (pouze GAČR a AZV)</b>	
<b>Celý název projektu</b>	Centrum experimentální biologie rostlin UK	<b>Pracovní úvazek</b>	0,20
<b>Dotace pro příjemce</b>	48 075 tis	<b>Ukončení řešení</b>	31.12.2019
<b>Počátek řešení</b>	1.1.2015		
<b>Příjemce - název instituce</b>	Univerzita Karlova / Přírodovědecká fakulta		
<b>Vztah k podávanému návrhu</b>	S.V. je členem týmu tohoto projektu, který končí v roce 2019. Výsledky tohoto projektu jsou podkladem navrhovaného projektu.		

#### Navrhované projekty (uvádějí se i zahraniční projekty)

V současné době nejsou žádné projekty navrhované.

#### Ukončené projekty

V současné době nejsou žádné projekty ukončené.

### Část C2 - odhad předpokládaných výsledků

#### Odhad předpokládaných výsledků projektu

Slovní popis typů výsledků, jejichž publikování se očekává v rámci řešení projektu (články v mezinárodních vědeckých časopisech, monografie, mezinárodní sborníky apod.).

**Očekávané výsledky projektu** Očekáváme výsledky v podobě původních sdělení v kvalitních impaktovaných časopisech typu Jimp (3) a případně též příspěvek ve formě výstupu typu C, tj. kapitoly v odborné knize. Publikáční strategie bude též zahrnovat prezentace na konferencích a práce bude též tvořit součást diplomní práce zapojeného studenta.

## Přílohy

Návrh projektu má připojeny všechny povinné přílohy.

**Životopisy (část D1)**

Uchazeč	Jméno souboru	Velikost
{0}	CV_Petrasek.pdf	488kB
{0}	CV_Vosolsobe.pdf	491kB

**Ostatní přiložené přílohy**

Typ přílohy	Jméno souboru	Velikost
kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu podle článku 3.2. odst. 3 písm. i) zadávací dokumentace	GMO_PrFUK.pdf	88kB
kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu podle článku 3.2. odst. 3 písm. i) zadávací dokumentace	35a_Rozhodnuti_Povoleni_Rozvojova263_Statni_urad_pro_jadernou_bezpecnost_2013.pdf	986kB
kopie speciálních oprávnění podle zvláštního právního předpisu podle článku 3.2. odst. 3 písm. i) zadávací dokumentace	GMO_B1;_B2;_Slechtitelu_31_-_2018.pdf	118kB
část C	C1_Petrasek_2019.pdf	1400kB

---

**Prohlášení**

Podáním návrhu projektu uchazeč stvrzuje, že se seznámil se zadávací dokumentací a zavazuje se dodržovat její ustanovení, zejména že:

- navrhovatel je v pracovněprávním poměru k uchazeči nebo tento vztah vznikne nejpozději ke dni zahájení řešení projektu;
- zavazuje se, že po uzavření smlouvy o podpoře projektu bude plnit všechny povinnosti příjemce vyplývající ze zákona č. 130/2002 Sb., zadávací dokumentace a uzavřené smlouvy nebo vydaného rozhodnutí o poskytnutí podpory;
- zajistí, aby řešitel po uzavření smlouvy o podpoře projektu plnil všechny své povinnosti, zejména odpovídal za odbornou úroveň řešení projektu; nastane-li situace, že podmínky na straně řešitele či příjemce znemožní řešiteli pokračovat v řešení projektu v navrhovaném termínu a nedojde-li k ukončení projektu, příjemce zajistí se souhlasem poskytovatele jiného řešitele, pokračování řešení projektu a jeho dokončení v souladu s uzavřenou smlouvou;
- všechny údaje uvedené v návrhu projektu jsou pravdivé, úplné a nezkreslené a jsou totožné s údaji vloženými do návrhu projektu pomocí aplikace, a že návrh projektu byl vypracován v souladu se zadávací dokumentací, že osoby uvedené v návrhu projektu splňují a po celou dobu, po kterou se budou podílet na řešení projektu, budou splňovat podmínky uvedené v zadávací dokumentaci;
- všichni spoluuchazeči, navrhovatel, spolunavrhovatelé a odborní i další spolupracovníci uvedení v návrhu projektu byli seznámeni s věcným obsahem návrhu projektu i s finančními požadavky v něm uvedenými a se zadávací dokumentací;
- před podáním návrhu projektu zajistil souhlas výše uvedených osob s účastí na řešení projektu uvedeného v návrhu projektu;
- na jiný projekt s totožnou nebo obdobnou problematikou nepřijal, nepřijímá a nepřijme podporu z jiného zdroje;
- obsah návrhu projektu, jehož se v jiných grantových nebo programových projektech účastní stejný navrhovatel nebo spolunavrhovatel, je rozdílný od tohoto návrhu projektu a navržené rozsahy prací umožní navrhovateli nebo spolunavrhovateli řešit všechny jejich projekty;
- souhlasí, aby údaje uvedené v návrhu projektu byly použity pro vnitřní potřebu poskytovatele a uveřejněny v rozsahu stanoveném zákonem č. 130/2002 Sb. a zadávací dokumentací;
- v případě uzavření smlouvy nebo vydání rozhodnutí o poskytnutí podpory na řešení projektu se bude při jeho řešení řídit podmínkami pro řešení projektů uvedenými v zadávací dokumentaci;
- po uzavření smlouvy o podpoře projektu zajistí spolufinancování daného projektu v souladu s podaným návrhem projektu.

Uchazeč zároveň potvrzuje, že byly dodrženy podmínky uvedené výše a že byla zkontrolována úplnost a správnost údajů v návrhu projektu.

Pro vyhodnocení návrhu bude do soutěže přijata pouze poslední verze návrhu projektu, která bude doručena do datové schránky GA ČR vyhrazené pro systém GRIS (ID datové schránky:ntq92qs) v řádném termínu soutěže.

# Curriculum vitae

---

**Name, titles:** RNDr. Jan Petrášek, Ph.D.

**Sex:** Male

**Date of Birth:** August 1, 1972

**Place of Birth:** Prague, Czech Republic

**Nationality:** Czech

**E-mail:** [petrasek@ueb.cas.cz](mailto:petrasek@ueb.cas.cz)

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/C-8240-2009>

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-6719-2735>

## Education:

1990-1998 Charles University, Faculty of Science, Prague, Czech Republic

2007 Ph.D. in Plant Physiology and Anatomy, Charles University, Faculty of Science, Prague, Czech Republic

## Professional experience:

1998-2007 **Research assistant**, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Experimental Botany, Laboratory of Hormonal Regulations in Plants, Prague

2007 **Postdoctoral fellow**, Ghent University, Department of Physiology, Unit Plant Hormone Signalling & Bio-Imaging, Belgium

Since 2003 **Assistant professor**, Charles University, Faculty of Science, Department of Plant Experimental Biology, Laboratory of Plant Cell Biology and Biotechnology, group leader within the laboratory from 2015.

Since 2007 **Scientist**, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Experimental Botany, Laboratory of Hormonal Regulations in Plants, Prague, **Head of the laboratory from 2017, Head of the IEB CAS Imaging Facility from 2015.**

## Teaching and other experience:

Co-supervisor and supervisor of bachelor, diploma and Ph.D. students, lecturer and examiner, from 2019 member of Ph.D. study board, Faculty of Science, Charles University, Prague.

Member of BIO2PD Functional Biology evaluator panel of FWO Belgium, referee for grant proposals (DFG Germany, FWO Belgium, ISF Israel, BARD US-Israel, ERC EU), opponent of Ph.D. theses (Charles University, Prague, Czech Republic; Masaryk University, Brno; Czech Republic, Ghent University, Belgium; SLU Uppsala, Sweden) and reviewer of papers in scientific journals (PNAS, Plant Cell, Plant Journal, Plant Physiology, Nature Communications, New Phytologist, Plant Science, Molecular Plant, PLoS One, Protoplasma, Plant Cell Reports, Trends in Plant Science, Scientific Reports, Journal of Experimental Botany and many others).

Associate editor of „Frontiers in Plant Transport and Traffic“ journal, 1 topic of Frontiers in Plant Cell Biology 2015 and 1 special issue of IJMS 2018.

PI and co-PI of grant projects from Czech Science Foundation, Academy of Sciences of the Czech Republic and MEYS of Czech Republic.

Member of the organizing committee of several international meetings.

## Research activities:

Original contributions and reviews on plant hormones, hormonal crosstalk, cell polarity, cytoskeleton dynamics, auxin action, auxin transport, regulation of auxin carrier's activity and localization and mechanisms, auxin transport inhibitors.

**Number of citations:** 4087 (Scopus)

**H index:** 27 (Scopus)



**Articles in impacted journals (original/review/other):** 50 (43/4/3), e.g. 3x Nature; 1x Science, 1x Cell, 1x Developmental Cell; 3x PNAS; 1x Current Biology; 1x Current Opinion in Plant Biology; 1x Nature Communication; 1x New Phytologist; 2x Plant Journal; 4x Development; 1x Cellular and Molecular Life Sciences, 5x Journal of Experimental Botany, etc.

Editor of 1 monograph: 1; Co-author of 11 book chapters and other 5 papers.

**Relevant publications from past 5 years (2014-2018):**

Vosolsobě, S., Schwarzerová, K., **Petráček, J.** Determination of Plasma Membrane Partitioning for Peripherally-associated Proteins. *J. Vis. Exp.* (136), e57837, doi:10.3791/57837, **2018**.

Nishiyama, T., Sakayama, H., de Vries, J., Saint-Marcoux, D., Ullrich, K.K., Haas, F.B., Vanderstraeten, L., Becker, D., Lang, D., Vosolsobě, S., Rombauts, S., Wilhelmsson, P.K.I., Janitza, P., Kern, R., Heyl, A., Rümpler, F., Calderón Villalobos, L.I.A., Clay, J.M., Skokan, R., Toyoda, A., Suzuki, Y., Kagoshima, H., Schijlen, E., Tajeshwar, N., Catarino, B., Hetherington, A.J., Saltykova, A., Bonnot, C., Breuninger, H., Symeonidi, A., Radhakrishnan, G.V., Van Nieuwerburgh, F., Deforce, D., Chang, C., Karol, K.G., Hedrich, R., Ulvskov, P., Glöckner, G., Delwiche, C.F., **Petráček, J.**, Van de Peer, Y., Friml, J., Beilby, M., Dolan, L., Kohara, Y., Sugano, S., Fujiyama, A., Delaux, P.M., Quint, M., Theißen, G., Hagemann, M., Harholt, J., Dunand, C., Zachgo, S., Langdale, J., Buschmann, H., Maumus, F. Van Der Straeten, D., Gould, S., Rensing, S.A.: The *Chara* genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization. *Cell* 174, 448-464, **2018**.

Pratap Sahi, V., Cifrová, P., González, J.G., Baby, I.K., Mouillé, G., Müller, K., Baluška, F., Soukup, A., **Petráček, J.**, Schwarzerová, K.: Arabidopsis thaliana plants lacking Arp2/3 complex show defects in cell wall assembly and auxin distribution. *Ann. Bot.* **122(5)**:777-789, **2018**.

Klíma, P., Laňková, M., Vandenbussche, F., Van Der Straeten, D., **Petráček, J.**: Silver ions increase plasma membrane permeability through modulation of intracellular calcium levels in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Rep.* **37**, 809-818, **2018**.

Retzer, K., Lacey, J., Skokan, R., del Genio, C., Vosolsobě, S., Laňková, M., Malínská, K., Konstantinova, N., Zažímalová, E., Napier, R., **Petráček, J.**, Luschig, C.: Evolutionary conserved cysteines function as cis-acting regulators of Arabidopsis PIN-FORMED 2 distribution. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, **18(11)**, 2274, **2017**.

Hu Y., Depaepe T., Smet D., Hoyerova K., Klíma P., Cuyppers A., Cutler S., Buyst D., Morreel K., Boerjan W., Martins J., **Petráček J.**, Vandenbussche F., Van Der Straeten D.: ACCERBATIN, a small molecule at the intersection of auxin and reactive oxygen species homeostasis with herbicidal properties. *Journal of Experimental Botany* **68**:4185-4203, **2017**.

Vosolsobě, S., **Petráček, J.**, Schwarzerová, K.: Evolutionary plasticity of plasma membrane interaction in DREPP family proteins. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* **1859**, 686-697, **2017**.

Laňková, M., Humpolíčková, J., Vosolsobě, S., Cit, Z., Lacey, J., Čovan, M., Čovanová, M., Hof, M., **Petráček, J.**: Determination of dynamics of plant plasma membrane proteins with fluorescence recovery and raster image correlation spectroscopy. *Microscopy and Microanalysis* **22**, 290-299, **2016**.

Havelková, L., Nanda, G., Martinek, J., Bellinva, E., Sikorová, L., Šlajcherová, K., Seifertová, D., Fischer, L., Fišerová, J., **Petráček, J.**, Schwarzerová, K.: Arp2/3 complex subunit ARPC2 binds to microtubules. *Plant Science* **241**, 96-108, **2015**.

Jelínková, A., Müller, K., Fílová-Pařezová, M., **Petráček, J.**: NtGNL1a ARF-GEF acts in endocytosis in tobacco cells. *BMC Plant Biology* **15**, 272, **2015**.

Seifertová, D., Skůpa, P., Rychtář, J., Laňková, M., Pařezová, M., Dobrev, P.I., Hoyerová, K., **Petráček, J.**, Zažímalová, E.: Characterization of transmembrane auxin transport in Arabidopsis suspension-cultured cells. *Journal of Plant Physiology* **171**, 429-437, **2014**.

# Curriculum vitae

---

**Name, titles:** Mgr. Stanislav Vosolsobě

**Sex:** Male

**Date of Birth:** May 5, 1986

**Nationality:** Czech

**E-mail:** vosolsob@natur.cuni.cz

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/H-9104-2017>

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1180-3250>

## Education and professional experience:

- Since 2015                    **Researcher participating in teaching**, Charles University, Faculty of Science, Department of Experimental Plant Biology
- Since 2010                    **Ph.D. study of Plant Anatomy and Physiology**  
Charles University, Faculty of Science  
Supervisor: Kateřina Schwarzerová  
Ph.D. thesis on Evo-Devo study of plant membrane proteins is going to be submitted in June 2019
- 2008 - 2010                    **Master of Science in Plant Molecular and Cellular Biology**  
Charles University, Faculty of Science  
Master's thesis: Characterisation of DREPP protein family  
Supervisor: Kateřina Schwarzerová
- 2005 - 2008                    **Bachelor of Science in Biology**  
Charles University, Faculty of Science  
Bachelor's thesis: Lipid raft in plants  
Supervisor: Kateřina Schwarzerová

## Teaching and other experience:

Supervisor of 2 bachelor and 1 diploma student, lecturer at the Faculty of Science, Charles University, Prague (lecture course MB130P89 on the evolution of auxin signalling)

## Research activities and skills in past 5 years:

Research activities include original contributions and reviews on the interaction of proteins with plasma membrane in plants, evolution of auxin signalling and transport. Laboratory and *in silico* skills include gene cloning techniques, tagging of proteins with fluorescence tags, stable and transient plant and suspension-cultured cells transformation, bioinformatics, R and Bash scripting, Grid computing and genome assembly procedures.

**Number of citations:** 91 (Scopus)

**H index:** 5 (WOS)

**Articles in impacted journals (original/review/other):** 11 (10/1)

## Relevant publications:

Nishiyama, T., Sakayama, H., de Vries, J., Saint-Marcoux, D., Ullrich, K.K., Haas, F.B., Vanderstraeten, L., Becker, D., Lang, D., **Vosolsobě, S.**, Rombauts, S., Wilhelmsson, P.K.I., Janitza, P., Kern, R., Heyl, A., Rümpler, F., Calderón Villalobos, L.I.A., Clay, J.M., Skokan, R., Toyoda, A., Suzuki, Y., Kago-shima, H., Schijlen, E., Tajeshwar, N., Catarino, B., Hetherington, A.J., Saltykova, A., Bonnot, C., Breuninger, H., Symeonidi, A., Radhakrishnan, G.V., Van Nieuwerburgh, F., Deforce, D., Chang, C., Karol, K.G., Hedrich, R., Ulvskov, P., Glöckner, G., Delwiche, C.F., Petrášek, J., Van de Peer, Y.,

- Friml, J., Beilby, M., Dolan, L., Kohara, Y., Sugano, S., Fujiyama, A., Delaux, P.M., Quint, M., Theißen, G., Hagemann, M., Harholt, J., Dunand, C., Zachgo, S., Langdale, J., Buschmann, H., Maus, F. Van Der Straeten, D., Gould, S., Rensing, S.A.: The *Chara* genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization. *Cell* 174, 448-464, **2018**.
- Singh, G., Retzer, K., **Vosolsobě, S.**, Napier, R.. Advances in understanding the mechanism of action of the auxin permease aux1. *International Journal of Molecular Sciences* 19: 9-11, **2018**.
- Angelini J., **Vosolsobě S.**, Skůpa P., Ho AYY., Bellinvia E., Valentová O., Marc J. Phospholipase D $\delta$  assists to cortical microtubule recovery after salt stress. *Protoplasma*, 1-10, **2018**.
- Vosolsobě, S.**, Schwarzerová, K., Petrášek, J. Determination of Plasma Membrane Partitioning for Peripherally-associated Proteins. *J. Vis. Exp.* (136), e57837, doi:10.3791/57837, **2018**.
- Retzer, K., Lacey, J., Skokan, R., del Genio, C., **Vosolsobě, S.**, Laňková, M., Malínská, K., Konstantinova, N., Zažímalová, E., Napier, R., Petrášek, J., Luschnig, C.: Evolutionary conserved cysteines function as cis-acting regulators of Arabidopsis PIN-FORMED 2 distribution. *Int. J. Mol. Sci.* 18(11), 2274, **2017**.
- Vosolsobě, S.**, Petrášek, J., Schwarzerová, K.: Evolutionary plasticity of plasma membrane interaction in DREPP family proteins. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* 1859, 686-697, **2017**.
- Feraru, E., **Vosolsobě, S.**, Feraru, M. I., Petrášek, J., Kleine-Vehn, J. (2012): Evolution and structural diversification of PILS putative auxin carriers in plants. *Frontiers in Plant Science*, 3, 12, **2012**.

# Czech Science Foundation - Part C1

## Project Description

Applicant: Jan Petrášek, IEB CAS

Co-applicant: Stanislav Vosolsobě, DEPB FS CU

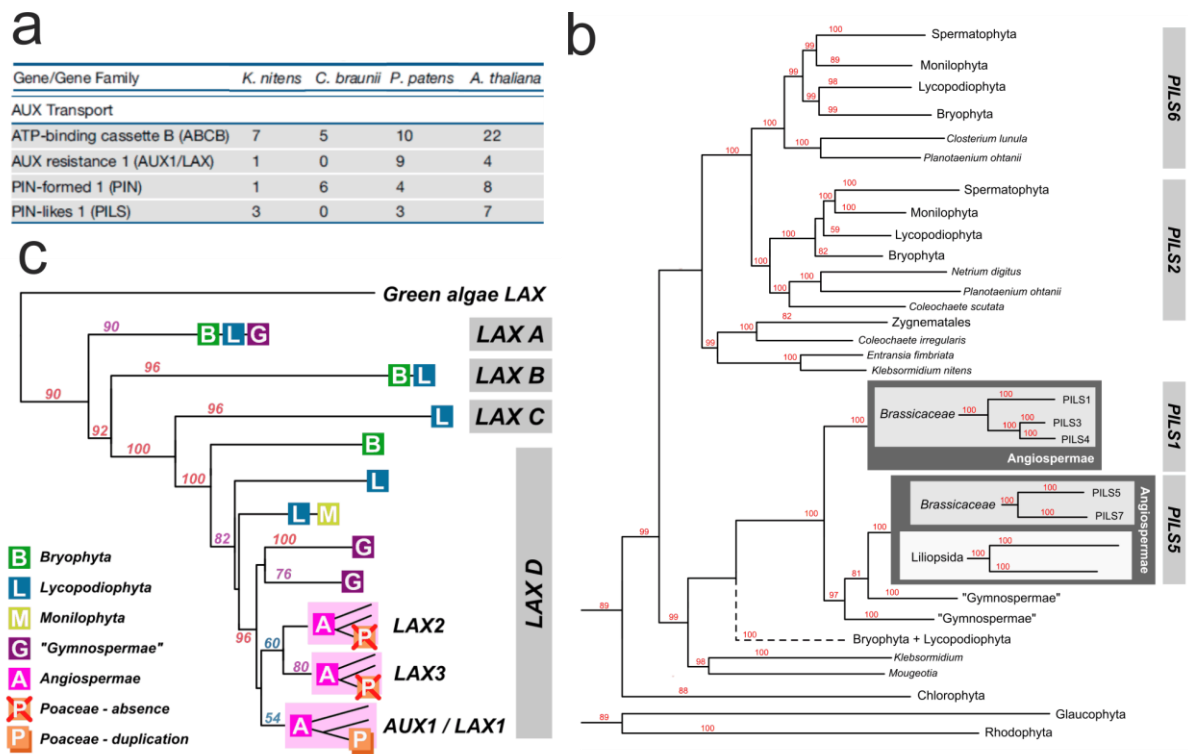
Name of the Project: The evolutionary origin and significance of auxin transport

### 1 The present state of the art: The origin of the auxin communication in plant lineage

A mutually interacting transcription regulation networks and epigenetic chromatin modulators drive development of complex bodies of plant gametophytes and sporophytes. Within the three dimensional plant bodies, these networks are co-ordinated via mobile substances, including small RNAs, signalling peptides and plant hormones. More than a century of exploration evidenced that auxin (represented mainly by indole-3-acetic acid, IAA) acts as an important morphoregulatory compound within plant body and its role is shared in whole land-plants group. In sporophytic tissue of angiosperms, auxin-regulated cell division and elongation is of crucial importance for patterning processes during shoot and root development, as well as in growth-based tropisms (Vanneste and Friml, 2009; De Smet and Beeckman, 2011). While the developmental pathways of advanced angiosperm bodies show comparative complexity in auxin regulation, the presumably more modest origins of auxin action in bodies of simpler, more basal plants began to be addressed in detail only recently. In bryophytes, the sister group of vascular plants, auxin is involved in the induction and development of three-dimensional gametophore bodies from two-dimensional protonemal filaments, a key evolutionary novelty in transition to life on land (Moody et al., 2018). To trigger specific response, the formation of auxin gradients on both cellular and tissue level is important (Leyser, 2018). These gradients specifically regulate auxin signalling and are finely tuned by auxin biosynthesis, metabolism and transport, all of which were shown to be conserved from the most advanced land plants (angiosperms) all the way to the basal-most bryophytes (Thelander et al., 2018).

Land plants originated from so-called “charophyte” green algae, and together they are called “streptophytes”. Recent studies evidenced that components of auxin signalling are also present in charophyte algal species, but the role of auxin in algae is still enigmatic. IAA biosynthesis is widespread among many unrelated organismal lineages, including bacteria and fungi (Fu et al., 2015), therefore it could be expected that its signalling activity in plants could be based mainly on the presence of key protein components involved in auxin perception and transport, rather than the molecule itself. Core machinery involved in auxin reception, conserved across land plants, consists of F-box auxin receptor proteins of TIR1/AFB family (Kepinski and Leyser, 2005; Dharmasiri et al., 2005), which upon auxin binding interact with and induce proteasome degradation of Aux/IAA family proteins, which act as repressors of ARF transcriptional factors (Ulmasov et al., 1999). Recently, homologues of ARF genes were found in land-plant-relative charophyte algae (Mutte et al., 2018), but they lack any well-conserved homologues of Aux/IAA and TIR1/AFB proteins. Notably, algal Aux/IAA homologs only contain an ARF-interacting domain, so the evolutionary acquisition of auxin-binding domain and utilization of streptophyte ARF-Aux-IAA in auxin signalling possibly post-dates transition to land. The F-box protein homologues also lack an auxin-binding pocket (Mutte et al., 2018). Altogether, canonical nuclear auxin-sensing pathway is lacking in charophyte algae, many genes are differentially expressed after auxin treatment, but overall regulatory pattern is different from land plants.

It is now well accepted that the setting of auxin gradients in higher plants depends largely on the activity and localization of its influx and efflux plasma membrane transporters AUX1/LAXes, PINs and ABCBs (Reemmer and Murphy, 2014) and ER-residing transporters from PILS family (Scheuring and Kleine-Vehn, 2014). Indeed, algae and land plants share homologous genes coding for auxin transporters (Fig. 1a and Nishiyama et al., 2018). PIN auxin efflux carriers are present throughout streptophytes, usually containing one *PIN* gene copy, the trait typical also for common ancestor of all land plants. Interestingly, our recent *in-silico* analyses showed a unique radiation of *PIN* gene family in newly sequenced *Chara braunii*, probably reflecting the very complex body plan in contrast to other streptophyte algae (Nishiyama et al., 2018). For PILS putative auxin efflux carriers, mediating auxin transport from cytoplasm to ER (Barbez et al., 2012), we placed their origin to root of all plants of Archaeplastida group (Feraru et al., 2012 and Fig. 1b). In contrast, we found the LAX family of auxin influx carriers well-conserved only in land plants and the very rare sequence evidence in algal species can be parsimoniously explained by horizontal gene transfer (Singh et al., 2018 and Fig. 1c).



**Figure 1: Phylogeny of auxin transporters.** (a) Variable radiation of auxin transporters in two algae species, compared to radiations known in mosses or higher plants (Nishiyama et al., 2018). (b) Phylogeny of PILS sequences with the origin at the basis of Archaeplastida. (c) Phylogeny of LAX sequences with very little evidence from green algae (Singh et al., 2018).

While above-mentioned findings are based mainly on *in silico* analyses, experimental evidence on the auxin role in algae is so far very sparse and provides no clear picture. Auxin effects on cell division and growth has been described in several charophyte species (Wood and Berliner, 1979; Ohtaka et al., 2017). Auxin transport capacity was found in *Chara corallina* internodal segments (Boot et al., 2012) and in the same genus, putative PIN homologue was localised on plasma membrane of male gametangia using heterologous antibody against PIN2 of *Arabidopsis thaliana* (Zabka et al., 2016), yet no relation of PINs to auxin transport in *Chara* has been demonstrated. Additionally, circadian changes in endogenous IAA levels in *Chara* have been observed (Beilby et al., 2015), as well as some effects on growth (Umen, 2014). While the Characeae group provides the most auxin-related evidence in charophytes, the group likely post-dates the appearance of land plants (Beilby et al., 2018) and therefore is of limited use for evolutionary research. Taking this likely independently evolved complexity, models from other charophyte branches are required to get a clearer picture on basal evolution of auxin response, including auxin transport and its possible significance. Only then, the hypothesis proposed by sequence analysis could be addressed in practice.

## 2 Objectives and methodology of the project

### 2.1 Objectives and work packages

There are two main objectives of this research project:

1. To reveal the evolutionary origin of auxin morphogenic action
2. To reveal the evolutionary significance of auxin transport

These two objectives will be investigated in the following four work packages:

**WP1:** Establishment of streptophyte algal models.

**WP2:** Testing the effect of auxin on algal growth and morphology.

**WP3:** *In silico* identification and cloning of ancestral auxin carrier homologs.

**WP4:** Functional testing and localization of ancestral auxin carrier homologs.

### 2.2 Methodology

#### Work package 1: Establishment of streptophyte algal models

**Rationale:** There are few to no practical studies into streptophyte evolution that utilize a desirable taxon sampling. An effort should be promoted to find suitable fresh water algal strains and establish a molecular biology toolbox for functional testing of auxin transporters.

**Background:** Streptophyte algae are a very diverse group, both morphologically and physiologically (Domozych et al., 2016; Delwiche 2016; Umen 2014). For a thorough understanding of evolutionary patterns, it is imperative that for the comparative effort, at least one member per each of the six streptophyte taxonomical groups is represented, following the approach of de Vries et al. (2018). Here, we aim to choose at least two strains per group with variable morphology, or one per group where all representatives follow a uniform body plan, as follows:

- *Mesostigmatophyceae* (1 strain): monotypic group, unicellular. Currently in use is the strain *Mesostigma viride* (NIES-995) with transcriptome data from Ju et al. (2015).
- *Chlorokybophyceae* (1 strain): monotypic group, few-celled clusters. Selected strain *Chlorokybus atmophyticus* SAG34.98 (Culture Collection of Algae at Göttingen University) with transcriptome data from de Vries et al. (2018).
- *Klebsormidiophyceae* (2 strains): unicellular or forming *Chlorokybus*-like clusters, both *Interfilum* spp. or possess filament-type multicellularity without apical growth (*Klebsormidium* spp.) (Mikhailyuk et al., 2014). Selected strains are *Interfilum paradoxum* SAG 338-1 (unicellular) and *Klebsormidium nitens* (NIES-2285) with fully sequenced genome (Hori et al., 2014).
- *Charophyceae* (1 strain): the most complex streptophytes with macroscopic plant-like bodies, differentiated cell types (including rhizoids), oogamous sexual reproduction. The selected strain is *Chara braunii* S277 (National Science Museum, Japan) with published whole genome sequence (Nishiyama et al., 2018).
- *Coleochaetophyceae* (2 strains): microscopic algae with differentiated cell types and oogamy. Selected strains are *Coleochaete nitellarum* (NIES-3719) with branched filaments and *Coleochaete scutata* (NIES-4262) with multi-layered discoidal thallus.
- *Zygnematomyceae* (3 strains): unicellular, so-called desmids, or filamentous multicellular, with the possibility of rhizoid-like apical growth in some strains (Ikegaya et al., 2008). Selected strains are *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex (NIES-68), unicellular with stable transformation protocols (Abe et al., 2011), including CRISPR-mediated mutagenesis (Kanda et al., 2017), *Mougeotia scalaris* (SAG 164.80) with transient transformation protocol (Regensdorff et al., 2018) and rhizoid-forming *Spirogyra* sp. (SAG 170.80).

Selected algal strains may change based on continual enrichment of available sequence evidence (e.g. a full sequence is known in a certain strain) or availability.

### Experimental strategy:

1) We will optimize algae growth conditions, with desired unification of the strains to the least necessary different types of culture media. The laboratory already holds numerous of the above-listed strains in culture (*Mesostigma*, *Klebsormidium*, *Chara*, *Closterium*, *Mougeotia*, *Spirogyra*) and manage to culture them efficiently using just two types of media, i.e. “C” (Ichimura, 1971) and BBM (Bischoff & Bold, 1963). Other desired strains (e.g. both *Coleochaete* species) have been selected with this optimization in mind. Successful optimization of the culture conditions for remaining strains will allow to perform screening for auxin effects planned in WP2.

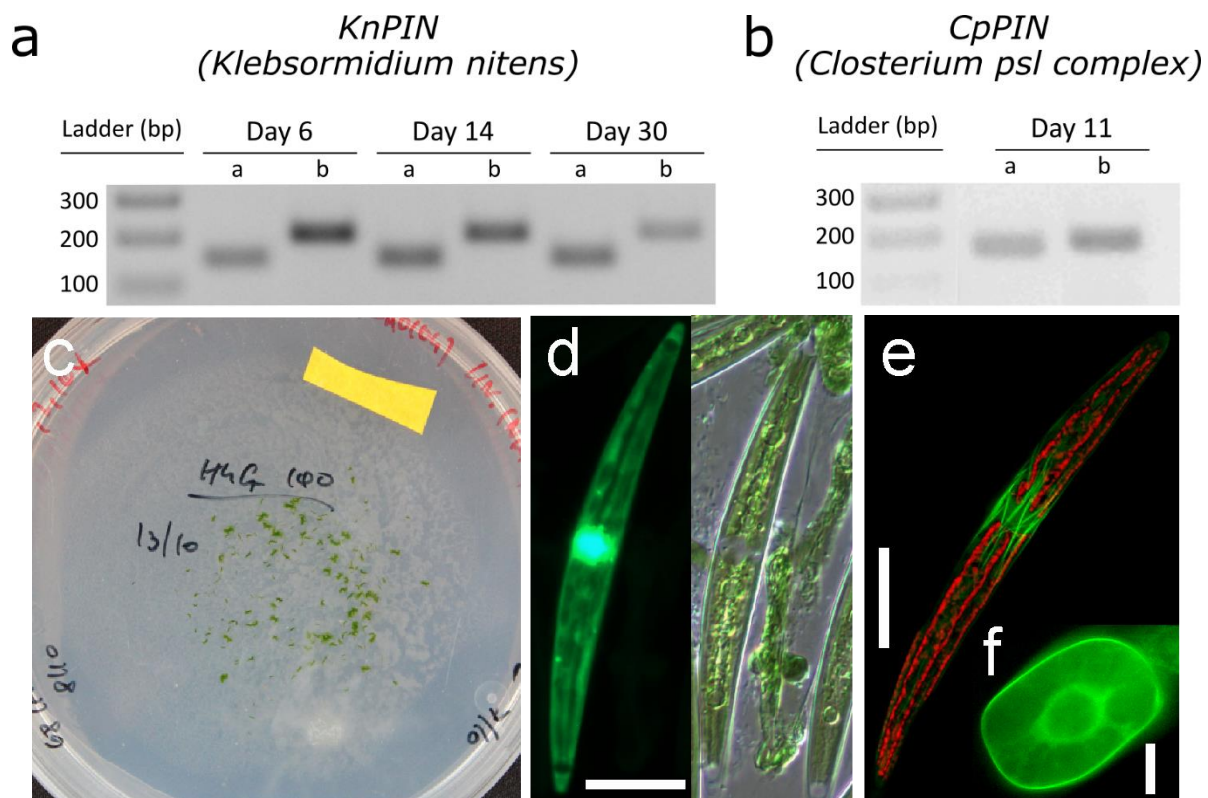
2) We will optimize RNA and DNA extraction and subsequent PCR, RT-PCR and qRT-PCR. These will be used for isolation of genes coding for auxin transporter homologs that will be needed in cloning effort planned in WP3. These techniques have been already optimized in the laboratory of applicant for *Klebsormidium*, and *Closterium* (Fig. 2a, b) and in the laboratory of co-applicant for *Chara*.

3) We will optimize gene transfer technology in selected algae strains. Laboratory of the applicant optimized gene delivery into *Closterium p-s-l* complex using PDS-1000/He™ System (Biorad). In collaboration with Prof. Sekimoto (Japan Women's University, Tokyo), we have introduced control constructs (Abe et al., 2008) containing a translational fusion of bleomycin gene and algae-optimized version of GFP (Fuhrmann et al., 1999). We have expressed it either under the heat shock protein 70 (HSP70) promoter (Fig 2d) or chlorophyll a/b-binding protein (CAB1) promoter, both endogenous from *Closterium p-s-l* complex (Abe et al., 2008). For stable transformation *via* particle bombardment (Abe et al., 2011), we have cloned gene construct *via* restriction or Seamless cloning into the pSA0104 vector (Hirano et al., 2015), which allows for stable expression of the transgene under the HSP70 promoter (Fig. 2d). Using this technique, in collaboration with Henrik Buschmann (Osnabrück University, Germany), we successfully expressed actin marker lifeAct:GFP cloned into pSA0104 (Fig. 2e). We have also already optimized stable gene transformation using pSA0104 carrying PIN homolog from *Closterium p-s-l* complex in a cassette carrying hygromycin resistance gene under

CAB1 promoter, allowing for antibiotic selection under constant light conditions (Fig. 2c). Transformants are now being selected, however, we have already verified PM-localization of its product using CpPIN:eGFP transient expression in tobacco BY-2 cells under 35S promoter (Fig 2f). Moreover, CRISPR-Cas-mediated mutagenesis is now available in our laboratory for *Closterium p-s-l complex*, using the pSA6009104 vector (Kanda et al., 2017), containing a HSP70 promoter for the expression of guide RNA, an algal-optimized version of Cas9 gene and the same cassette for hygromycin selection as described above for pSA0104. Biolistic method of transformation will be optimized also for other streptophyte algae. We will also try alternative methods for gene delivery, e.g. Agrobacterium-mediated transformation, described in *Penium* (Sorensen et al., 2014). Gene cloning and delivery will be necessary to perform functional assays planned in WP4.

4) We will optimize auxin transport assays using <sup>3</sup>H-labeled IAA, 1-NAA and 2,4-D according to (Petrasek et al. (2006), based on our existing experience with auxin transport assays in *Spirogyra sp.* (Skokan, 2014), *Klebsormidium nitens* (Skokan et al., in review in Nature Plants) and *Closterium p-s-l complex*. In *Chara*, we will follow the protocol using internodal sections (Boot et al. 2012) and will try to optimize auxin transport assays in its generative tissues.

5) We will optimize light microscopy of auxin carriers following immunolocalization protocols for *Chara* (Zabka et al. 2016), *Klebsormidium* (Skokan et al., in review in Nature Plants) and *Closterium p-s-l complex*. Both *in vivo* microscopy for GFP-tagged transporters and their immunolocalizations (with help of slide module of our automated immunolocalization station Intavis InSituProVSi) will be performed using our well-established set of laser and spinning disk confocal microscopes. Generation of epitope-specific antibodies against selected transporters will be outsourced (KE Biochem Co., China/IPHYS CAS, Czech Republic).



**Figure 2: Establishing molecular biology toolbox in streptophyte algae.** Transcription of PIN auxin transporter gene homologs in streptophyte algae. (a) RT-PCR of a PIN of *Klebsormidium nitens* (*KnPIN*) during an algae subculture interval. (b) RT-PCR of a native PIN of *Closterium p-s-l complex* (*CpPIN*) in the exponential phase of growth. a and b represent different pairs of specific primers. PCR products were checked by sequencing. (c) Hygromycin-resistant colonies appearing 6 weeks after transformation of *Closterium p-s-l complex* with *CpPIN-GFP*. (d) HSP70::GFP fluorescence (left) 2 days after transformation of *Closterium p-s-l complex*. DIC, right. (e) *Closterium p-s-l complex* cell 2 days after transformation with a lifeAct:GFP gene construct for transient expression. (f) Transient expression of *CpPIN-GFP* in tobacco BY-2 cells. CpPIN-GFP has been prepared by the insertion of optimized GFP into the central loop of the protein. Scale bars 20 μm (d, e), 10 μm (f).

**Risks and their mitigation:** The establishment of model freshwater algae for the purpose of molecular biology studies is not an easy task and some strains appear to be quite recalcitrant. However, as documented above, the laboratory of the applicant has now several years of experience of the introduction of several algae models and at least for some of them, we managed to establish full set of methods including cloning, gene transformation, their functional studies and microscopy approaches. In this effort, we are in continuous contact

and share experience, effort, experimental material as well as plasmids with several laboratories, including Dr. Henrik Buschmann (Osnabrück University, Germany), Prof. Hiroyuki Sekimoto (Japan Women University), Prof. Stefan Rensing (Marburg University, Germany), Dr. Klaus von Schwartzberg (Hamburg University, Germany) and Prof. Jiri Friml (IST, Austria). If we fail to introduce full set of methods in all selected algae, we will definitely concentrate on completion of planned screening of auxin effects in individual algae strains, where we do not expect any problems. In addition, more effort will be invested into expressions in heterologous systems (WP4).

**Expected output:** Optimized cultivation condition for selected freshwater algae that allow performing screen for auxin effects (WP2), cloning of genes coding for auxin transporters (WP3) and functional assays and localization studies in both algae and tobacco cells (WP4).

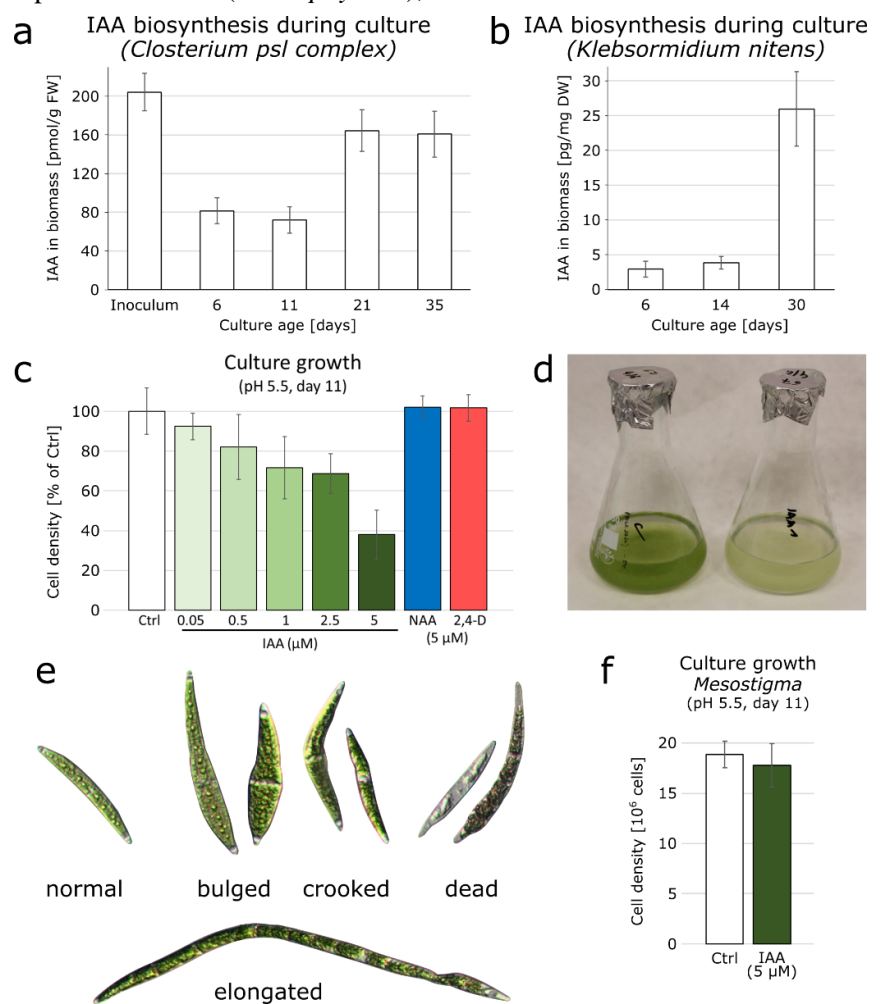
## Work package 2: Testing the effect of auxin on algal growth and morphology.

**Rationale:** The knowledge on effects of exogenously applied auxins on streptophyte algae is very fragmentary and lacks any consensus, resulting in the absence of common hypothesis for the putative significance of auxin throughout streptophyte evolution.

**Background:** Exogenous auxin application into culture medium causes dramatic phenotypes in bryophytes, the basal-most land plants, e.g. *Marchantia polymorpha* and *Physcomitrella patens* (Moody et al., 2018; Sugano et al., 2014). In contrast, the evidence of auxin treatment in streptophyte algae is very fragmentary. The most evidence comes from the complex stoneworts (*Charophyceae*), where auxin seems to be involved in cell elongation and branching (Umen, 2014). In the desmid *Micrasterias* (*Zygnematophyceae*), which is phylogenetically closer to land plants, yet unicellular, auxin has been reported to promote culture growth (Wood & Berliner, 1979). Of note, similar effect was reported in some much more distantly related chlorophyte algae, such as *Chlorella* (Pratt, 1938; Piotrowska-Niczyporuk & Bajguz, 2013), which lack any auxin-related genes compared to streptophyte algae (De Smet et al., 2011). Last, but not least, exogenously-applied auxin has been shown to inhibit cell elongation in *Klebsormidium nitens*, but only in very high concentrations (Ohtaka et al., 2017).

### Experimental strategy:

1. Individual algae strains grown under standard culture conditions (optimized in WP1) will be incubated on media with a range of concentrations of IAA and synthetic auxins 1-naphthaleneacetic acid (NAA) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). During the incubation period, cell number (counting chamber), mitotic index (Hoechst staining) and cellular morphology will be scored by light microscopy. The analysis of response will be performed with respect to the appearance of wild type strain of particular algae. A specific effort will be necessary for



**Figure 3: The presence of auxin and its effects on growth and morphology in streptophyte algae.** (a, b) IAA in streptophytes *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* (p-s-l) complex and *Klebsormidium nitens*. (c) Interference of exogenously applied native IAA, but not NAA and 2,4-D with growth of *Closterium p-s-l* complex strain. (d) Comparison of a control *Closterium p-s-l* complex culture vs. one supplemented with 1 μM IAA at inoculation (10-week-old cultures shown). (e) Effects of exogenously applied IAA on the morphology of *Closterium p-s-l* complex cells. (f) Exogenously applied IAA4-D with growth of *Mesostigma* strain.



scoring any effects in more complex bodies of *Chara* and *Coleochaete*, where we will include morphometric analysis using deep learning algorithm for Fiji-based image analysis (Falk et al., 2019). We have shown endogenous IAA production (Fig. 3a, b) and uncovered dramatic effect of IAA on morphology and growth of the desmid *Closterium* (*Zygnematophyceae*), but these were not observed after treatments with synthetic auxins (Fig. 3c-e). The effect of auxin on *Closterium* morphology suggests, if not native physiological function, then at least toxicity to these algae. By contrast, the more basal streptophytes *Mesostigma viride* (Figure 3f) and *Klebsormidium nitens* (not shown) showed no apparent growth reaction to auxin in our preliminary experiments, as well as not in the case of other desmid with more complex cellular shape *Micrasterias*.

2. We will perform fluorescence light microscopy-based characterization of cells showing morphological changes after auxin treatments. We will detect changes in pH (BCECF-AM, Invitrogen), the intracellular ratiometric pH indicator, production of ROSes with dichlorodihydrofluoresceindiacetate (DCFH-DA, Invitrogen) and extent of endocytosis using staining with FM 1-43 (Invitrogen).

**Risk and their mitigation:** Based primarily on our preliminary results showing clear IAA effect in quite low concentration used (1 $\mu$ M) in *Closterium*, we expect that a completion of whole screen in its full extent will show clear radiation of auxin response in selected algae. We concentrate in this project on understanding of IAA transport, however, in case that we will not find response in any other selected algae, we will employ tests with other auxins PAA and IBA. We will also take advantage of LC/MS analytical unit available in the laboratory to verify whether auxin was uptaken by cells efficiently.

**Expected output:** By sampling representatives of all streptophyte algal groups we will be able to gain a thorough insight into the nature of auxin effects on algal growth and development and suggest how far these organisms react to synthetic auxins.

### **Work package 3: *In silico* identification and cloning of ancestral auxin carrier homologs.**

**Rationale:** An important step must be taken from just sequencing to cloning and expression of genes from evolutionarily important taxa of streptophyte algae.

**Background:** As stated in the introduction, there are four main groups of auxin transporters for cell-to-cell or intracellular auxin transport. For PIN-FORMED family (Bennett, 2015; Ju et al., 2015, Nishiyama et al., 2018), we will examine relationship of homologues from streptophyte algae with other green algae homologues, non-plant eukaryotes and fungi. Our preliminary blast result showed that PIN homologues are spread between many isolated groups. Therefore, phylogenetic analysis will be performed with respect to hypothesis that the occurrence of non-connected homologues within so broad spectrum of organism is a result of horizontal gene transfer. With this *in silico* approach, we will try to resolve, if is eukaryotes acquired PINs from bacterial ancestor, or vice versa. LAX family of auxin carriers is derived from large superfamily of amino acid permeases and well-defined cluster could be shown only in land plant LAX homologues (Singh et al., 2018). Other, less homologous LAXes are, similarly as PINs, spread over many isolated species. Our ambition will be to find the branch of Amino Acid Permeases, which is the closest to LAX family and using this finding to resolve a relationship between land-plants and other homologues. For PILS protein family, our preliminary result showed that main lineages of PILS diverged within *Zygnematophyceae*. Detailed phylogenetic analysis will allow, at least partly, answering a question on the evolutionary relationship between land plants and close relative charophytes. For ABCB transporter family, only some members of the homologues present in *Arabidopsis* have evidenced auxin transporting activity. Since the *ABCB* gene family is very large, the thorough study, examining an evolutionary origin of individual *ABCB* lines and their relationship, is still lacking. We will try to resolve an acquiring of individual transporting function of *ABCB* homologues during evolution of streptophyta lineage using intensive phylogenetic analysis. Altogether, the effort in this WP3 will be focused on thorough up to date *in silico* analysis of auxin transporter homologs and cloning of representative sequences from 6 streptophyte algae groups, as well as some candidates from other organisms.

#### **Experimental strategy:**

1. For *in silico* identification of auxin carrier homologs, all sequences will be obtained from GenBank of NCBI and several other specialized databases, including OneKP and Phytozome. In addition, thanks to our involvement in the *Chara* sequencing effort, we are in contact with several collaborators from BGI-supported 10KP project (Cheng et al., 2018) and other individuals that hold yet unpublished genomes (Tomoaki Nishiyama). In addition to the standard sequence similarity search and evaluation methods (BLAST search, MAFFT multiple sequence alignment), we will also use a method HMMER using Markov models to find more distant homologs. The evolutionary relationship between sequences will be investigated by maximum likelihood methods of phylogenetic inference, using procedures used in our previous reports on auxin carrier phylogeny (Singh et al., 2018, Nishiyama et al. 2018, Feraru et al., 2012). Sequence partitioning will be used to find the best fitted substitution models for individual parts of alignments. This part of WP3 will be performed by co-applicant with the help of computational resources supplied by the Ministry of Education, Youth and

Sports of the Czech Republic under the Projects CESNET (Project No. LM2015042) and CERIT-Scientific Cloud (Project No. LM2015085) provided within the program Projects of Large Research, Development and Innovations Infrastructures (METACENTRUM computer cluster).

**2.** Cloning of auxin carrier homologs and preparation of gene constructs for both homologous (algae) and heterologous (tobacco cells) expression systems will be performed using standard cloning procedures. For algae, optimization of cloning procedures will be performed in WP1. Besides PINs, no other homologs of auxin carriers from streptohyte algae are cloned to our best knowledge. Therefore, methods optimized in WP1 will be used to clone and prepare constructs for auxin influx and efflux homologs from streptohyte algae and more distant organisms. For efficient preparation of gene constructs for expressions in tobacco BY-2 cells, the GoldenBraid (GB) system is optimized in our laboratory, allowing generation of both fluorescent protein translational fusions as well as transient and stable expression constructs. We will clone streptohyte algae genes for auxin carriers into the GB-optimized system for  $\beta$ -estradiol-inducible expression, originally described as pER8 (AF309825.2; Zuo et al., 2000).

**3.** Transformation of tobacco BY-2 cells will be performed according to Petrasek et al. (2006) and selected algae will be transformed using biolistic method optimized in WP1. In addition to wild type BY-2 cells, we will transform auxin carriers to lines carrying auxin response markers (DII-VENUS or DR5-GFP).

**Risks and their mitigation:** For *in silico* analyses, we expect that at least for six groups of streptohyte algae, we will have no problem to identify, clone and prepare gene constructs. The question is to which extent we will proceed in case of finding more distant homologs. Here, very important is our close collaboration with Prof. Jiri Friml (IST Austria), who is now in the implementation phase of the ERC project focused on cloning of distant PIN homologs with effort to understand their ability to function as auxin transporter in *Arabidopsis*. We share sequences and prepared gene constructs. Another risk is that we will not be able to transform all algae from the set in which auxin phenotypic screen will be performed (WP2). This is in particular probable in *Chara* and *Coleochaete*, so if we will not succeed in their transformation, we will definitely be able to finish comparative analysis at least in heterologous system of tobacco cell, where all methods are very well established in our laboratory.

**Expected output:** *In silico* phylogenetic study on the evolutionary origin of auxin transport (Paper 1) and set of cloned genes for auxin transporters from streptohyte algae, transformed tobacco and algae cells.

#### **Work package 4: Functional testing and localization of ancestral auxin carrier homologs.**

**Rationale:** Though sequence evidence of auxin transporter genes in streptohyte algae is now available, no study has yet been published to characterize the proteins they code for, including their auxin transport function. This is challenged here, employing both homologous (algae) and heterologous (tobacco) systems.

**Background:** Carrier-mediated auxin transport has only been suggested experimentally in the intermodal cells of *Chara* (Boot et al., 2014), which was shown through the analysis of the co-applicant to contain six PIN homologs (Nishiyama et al., 2018). It could be speculated that this radiation is reflected in the specific function of individual PINs. Additionally, immunolocalization using anti-PIN2 antibody from *Arabidopsis thaliana* revealed a plasma membrane signal in some *Chara* cells (Zabka et al., 2016). The connection between localization and transport has not been determined. Our experiments on PIN homolog from *Klebsormidium flaccidum* (KfPIN) indicated that its expression induced phenotypes indicative of defective auxin transport in *Physcomitrella*, *Arabidopsis* and BY-2 (Fig. 4a, b and Skokan et al., in review in Nature Plants). KfPIN-GFP localized at the plasma membrane and showed auxin transport function when expressed heterologously in BY-2 cells (Fig. 4c, d). This indicates that *Klebsormidium* might contain functional auxin efflux carrier, thereby hinting that the evolutionary occurrence of auxin transport may have predated signaling. Work is now also underway to test the *Closterium* PIN in BY-2 in the same fashion. In the case of *Closterium*, as shown in the description of WP1, we are on good way to utilize a homologous expression system. The main attention of this WP4 will be focused on firstly, determination of auxin transporting function of the particular protein, secondly on the localization of the protein product (PM/ER) and thirdly on finding correlation between auxin transport function of particular auxin carrier with the response of algae from which it has been isolated to auxins (screened in WP2).

### Experimental strategy:

1. Auxin transport assays in tobacco cells will be performed according to Petrášek et al. (2006). To test the sensitivity of algae transporters to inhibitors of auxin transport described in higher plants (phytotropins), assays will be performed also with NPA, PBA, CPD and TIBA. Concentration range of  $\beta$ -estradiol (0.1-10  $\mu$ M) will be used for the induction of gene expression and auxin transport capacity correlated with the level of RNA expression (qRT-PCR) and protein levels (using western blotting).

2. Auxin transport assays in algae will be performed according to protocols optimized in WP1 (see above).

3. Localization studies in tobacco cells will be performed in cell lines induced with pre-defined concentration of  $\beta$ -estradiol (0.1-10  $\mu$ M) and time of the induction (hours to

several days). High-resolution CLSM microscopy will be performed using Zeiss LSM 880 with Airyscan detector, both *in vivo* (for GFP-tagged proteins) and in immuno-stained preparations, using either anti-GFP antibodies or epitope-specific antibodies generated in WP1. Combined methodology for the determination of mobility of auxin carriers within the plasma membrane with RICS and FRAP will be utilized (Lankova et al., 2016). Double-transformants carrying auxin response markers (DII-VENUS and DR5-GFP) together with inducible auxin carriers will be analysed using image analysis on confocal images.

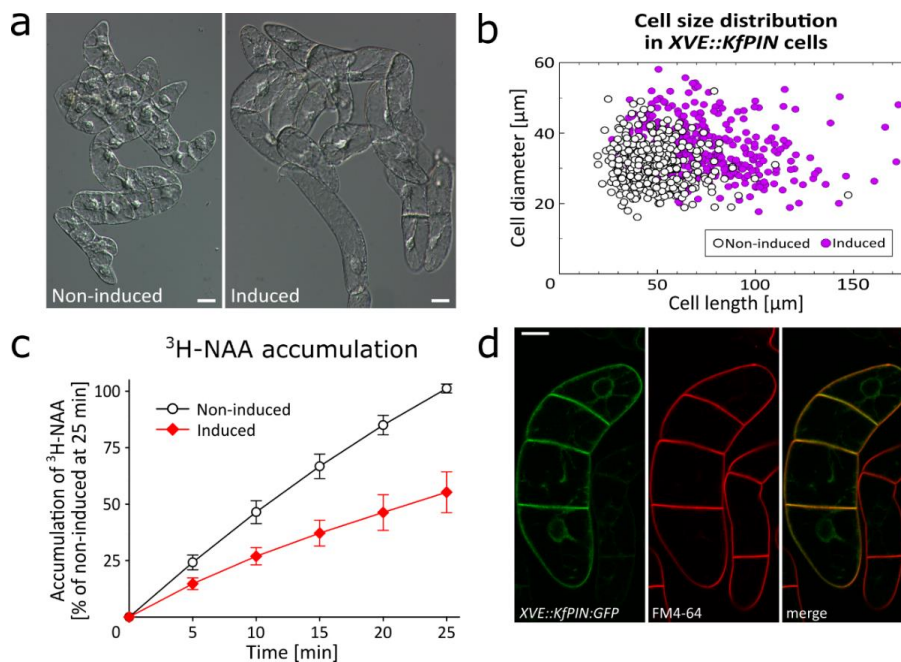
4. Localization studies in algae will be performed in transgenic lines obtained in WP3 using protocols optimized in WP1.

**Risks and their mitigation:** We do not expect any risks in the analysis of tobacco cells having already very long experience with this model. However, it is probable that testing the functionality of particular streptohyte algae auxin carrier will be difficult thanks to technical issue, therefore, same like in WP3, we aim primarily to finish comparison of set of streptohyte auxin carriers from all six clades in heterologous system of tobacco cells. However, based on our preliminary data shown in this proposal, we are confident that at least for several algae we will succeed as well.

**Expected output:** Information on auxin transport activities and localization for candidate proteins. The correlation of auxin transport activity with the response of particular algae to applied auxins (WP2) will allow to conclude on the importance of carrier-mediated transport for auxin in individual representatives of streptohyte algae auxin transporters (Papers 2 and 3).

### 3. Technical readiness of the applicant and co-applicant

Laboratory of the applicant at the IEB CAS is fully equipped for the purpose of the proposed project. It shares cultivation rooms and cabinets, laminar boxes, autoclaves, orbital shakers and has large capacity to propagate both tobacco cells and cultures of algae. Standard equipment for molecular biology is available, including PCR cyclers, Light Cyclers, termoblocks, centrifuges, DNA and protein electrophoresis units, western blot machines, incubators for bacteria, etc. Plant hormone analytical unit of the lab is equipped with LC/MS and GC-MS. Dedicated lab space is available for auxin transport assays using radiolabelled auxins, including teflon vacuum plate and scintillation analyzer. Project team will have access to light microscope equipment of the laboratory (Nikon Eclipse E600 with image analysis system) as well as several routine inverted microscopes. Demanding confocal microscopy techniques will be performed using confocal microscopes of the Imaging



**Figure 4: A streptophyte PIN (*KfPIN* of *Klebsormidium flaccidum*) function and localization in tobacco BY-2 cells. (a) 3-day-old XVE::*KfPIN* BY-2 cells showing auxin starvation phenotype (elongation, cessation of cell division) upon induction with 1  $\mu$ M  $\beta$ -estradiol. (b) Quantification of the *KfPIN*-induced phenotype from a (cell diameter versus cell length in the population). (c) Decreased  $^3$ H-NAA accumulation in induced XVE::*KfPIN* BY-2 cells. (d) 3-day-old XVE::*KfPIN*:GFP BY-2 cells showing plasma membrane localization of the protein product. Scale bar 20  $\mu$ m.**

facility of the IEB CAS, including Zeiss LSM 880 with AiryScan and spectral detectors and spinning disk Yokogawa-Nikon. Intavis InSitu ProVSi automated station is available for immunolocalizations. Laboratory of the co-applicant at the FS CU is equipped well for the project, having very similar setup of machines as main applicant, but having in addition cultivation conditions for Chara and established access to the computer bundle for *in silico* analyses.

#### 4. Description of the research team

Teams of the applicant (2 FTE) and co-applicant (1.3 FTE) form together a collective of researchers having diverse expertise ranging from *in silico* evolution studies, molecular biology, biochemistry of auxin transport, functional assays and advanced light microscopy. **In the team of the applicant**, RNDr. Jan Petrášek, Ph.D. (30%), expert in the field of cell biology of auxin transport (see CV), will co-ordinate the project, plan experiments and perform microscopy. Roman Skokan (60%), finishing his Ph.D. on auxin role in algae in winter 2019, expert in the establishment of algal models for their use in molecular biology studies. He is firmly established in the international community on this topic (2 papers, including 1 co-authorship on Cell paper, first author on the submission to Nature Plants, in review) and will be designing algae experiments as well as perform cloning, auxin screening and functional assays in algae. Ing. Karel Müller, Ph.D. (20%), expert in molecular biology, including transcriptomics and RNAseq (200 citations, 19 papers). He will prepare gene constructs and analyse gene expression with qRT-PCR. RNDr. Adriana Jelínková, Ph.D. (20%), expert in the intracellular trafficking of auxin transporters in cells lines and plant tissues (177 citations, 8 papers). She will perform microscopy analyses in tobacco lines. RNDr. Martina Laňková, Ph.D. (20%), expert in the function of auxin transporters in tobacco cells (200 citations, 10 papers), she will perform auxin transport assays in tobacco cells. Ing. Milada Čovanová, Ph.D. (20%), expert in the role of ABP1 in its auxin-buffering function (850 citations, 5 papers). She will perform immunofluorescence and *in vivo* microscopy of algae. The team will be supported by technician (20%) that will maintain tobacco cell lines and generate new transgenics with established protocol.

**In the team of co-applicant**, Mgr. Stanislav Vosolsobě (60%), expert in the phylogenetic analysis and plasma membrane-associated proteins (see CV), finishing his Ph.D. in autumn 2019 (with 10 papers, including very important contribution in Cell paper), will co-ordinate the project with the main applicant and perform all *in silico* analyses. Together with one student (50%) and support technician (20%) he will also perform all work planned to be done on Chara (including molecular biology), which is well-established in the laboratory of co-applicant.

**5. Work Plan:** Individual WPs are specified for the applicant (yellow) and co-applicant (blue). Publication plan (green) includes one review article on *in silico* analyses and phylogeny and two original contributions.

Description of work package	2020	2021	2022
<b>WP1 Establishment of streptophyte algal models</b>			
1. Optimization of algae growth conditions	■	■	
2. DNA and RNA isolation and PCR	■	■	
3. Gene transformation	■	■	
4. Auxin transport assays	■	■	
5. Immunofluorescence and <i>in vivo</i> microscopy	■	■	
<b>WP2 Testing the effect of auxin on algal growth and morphology</b>			
1. Screening for effects of exogenous auxins	■	■	
2. Microscopy-based characterization of auxin effects	■	■	
<b>WP3 <i>In silico</i> identification and cloning of ancestral auxin carrier homologs</b>			
1. <i>In silico</i> identification of auxin carrier homologs	■		
2. Cloning of auxin carrier homologs	■	■	
3. Transformation of tobacco cells and algae	■	■	
<b>WP4 Functional testing and localization of ancestral auxin carrier homologs</b>			
1. Auxin transport assays in tobacco cells		■	■
2. Auxin transport assays in algae		■	■
3. Localization studies in tobacco cells		■	■
4. Localization studies in algae		■	■
<b>Publications</b>		■	■ ■

#### 6. International collaboration relevant to the proposed project

As specified within this project proposal, the team of this planned research is in very frequent communication on the topic with several collaborating laboratories abroad. We co-ordinate effort in the establishment of streptophyte algae as model organisms with Dr. Henrik Buschmann (Osnabrück University, Germany), who organizes satellite meeting on the occasion of SEB meeting in Seville, 2-5 July, 2019, where a member of our team Roman Skokan will present his data. Together with other colleagues, we plan to establish on this occasion “the molecular biology consortium for streptophyte algae”, which initiative was stimulated already during research stay of Roman Skokan in the laboratory of Henrik Buschmann. We hold also very fruitful and long-lasting collaboration with Prof. Hiroyuki Sekimoto (Japan Women University), who support our research with *Closterium* unpublished sequence information and his plasmids and protocols for transformation of this algae. Applicant and co-applicant collaborate also with Prof. Stefan Rensing (Marburg University, Germany), which has been, besides sharing protocols for cultivation of algae, documented by our involvement in *Chara* sequencing project. We also share effort with Prof. Jiri Friml (IST, Austria), long-lasting collaborator of the applicant, who shares his constructs for the expression of ancient PIN homologs with us. We are also in communication with Prof. Dolf Weijers (Wageningen University), who share with us his transcriptome profiling capability and we plan short research stay of Roman Skokan in his laboratory. Among other collaborators, we share protocols also with Prof. Klaus von Schwartzberg (Hamburg University, Germany).

## 7. References

- Abe, J., Hiwatashi, Y., Ito, M., Hasebe, M., Sekimoto, H. *Plant and Cell Physiology* 49: 625–632, 2008.
- Abe, J. *et al. Plant and Cell Physiology* 52, 1676-1685, 2011.
- Abe, J., Hiwatashi, Y., Ito, M., Hasebe, M. & Sekimoto, H. *Plant and Cell Physiology* 49, 625-632, 2008.
- Barbez, E. *et al. Nature* 485, 119, 2012.
- Beilby, M. J., Turi, C. E., Baker, T. C., Tymm, F. J. M. & Murch, S. J *Plant Signaling & Behavior* 10, 2015.
- Beilby, M., Schneider, S. C., Puckacz, A. & Martin-Closas, C. *Botany Letters* 165, 7-10, 2018.
- Boot, K. J. M., Libbenga, K. R., Hille, S. C., Offringa, R. & van Duijn, B. *Journal of Experimental Botany* 63, 4213-4218, 2012.
- Bischoff, H.W. & Bold, H.C. University of Texas Publications 6318: 1-95, 1963.
- Cheng S, Melkonian M, Smith SA, Brockington S, Archibald JM, Delaux PM, Li FW, Melkonian B, *et al. GigaScience* 7: 1-9, 2018.
- De Smet, I. *et al. Plant Physiology* 155, 209-221, 2011.
- De Smet, I. & Beeckman, T. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 12, 177-188, 2011.
- de Vries, J., Curtis, B. A., Gould, S. B. & Archibald, J. M. *PNAS* 115(15), E3471-E3480, 2018.
- Delwiche, C. F. in Vol. 78 *Advances in Botanical Research* (ed Rensing SA) 255-270, Acad Press Ltd-Elsevier Science Ltd, 2016.
- Dharmasiri, N., Dharmasiri, S., Estelle, M. *Nature* 435: 441–445, 2005.
- Domozych DS, Popper ZA, Sørensen I. *Frontiers in Plant Science* 7: 1-8, 2016.
- Falk T, Mai D, Bensch R, Çiçek Ö, Abdulkadir A, Marrakchi Y, Böhm A, Deubner J, *et al. Nature Methods* 16: 67–70, 2019.
- Feraru, E., Vosolsobe, S., Feraru, M. I., Petrásek, J. & Kleine-Vehn, J. *Frontiers in Plant Science* 3, 2012.
- Fu, S. F. *et al. Indole-3-acetic acid: Plant Signaling & Behavior* 10, 9, 2015.
- Fuhrmann, M., Oertel, W. & Hegemann, P. *Plant Journal* 19, 353-361, 1999.
- Hirano, N. *et al. Plant and Cell Physiology* 56, 1456-1462, 2015.
- Hori, K. *et al. Nature Communications* 5, 9, 2014.
- Ichimura, T. Proceedings of the Seventh International Seaweed Symposium, University of Tokyo Press, Tokyo, 208-214, 1971.
- Ikegaya, H., Sonobe, S., Murakami, K. & Shimmen, T. *Journal of Plant Research* 121, 571-579, 2008.
- Kanda, N. *et al. Scientific Reports* 7, 9, 2017.
- Kepinski S, Leyser O. *Nature* 435: 446-451, 2005.
- Laňková M, Humpolíčková J, Vosolsobě S, Cit Z, Lacek J *et al. Microscopy and Microanalysis* 22, 290-299, 2016.
- Leyser, O. Auxin Signaling. *Plant Physiology* 176, 465-479, 2018.
- Mikhailiyuk, T., Holzinger, A., Massalski, A. & Karsten, U. *European Journal of Phycology* 49, 395-412, 2014.
- Moody, L. A., Kelly, S., Rabbinowitsch, E. & Langdale, J. A. *Current Biology* 28, 473-478, 2018.
- Mutte, S. K. *et al. Elife* 7, 25, 2018.
- Nishiyama, T. *et al. Cell* 174, 448-464, 2018.
- Ohtaka, K., Hori, K., Kanno, Y., Seo, M. & Ohta, H. *Plant Physiology* 174, 1621-1632, 2017.
- Petrásek J, Mravec J, Bouchard R, Blakeslee JJ, Abas M, Seifertová D, Wisniewska J, Tadele Z *et al. Science* 312: 914-8, 2006.
- Piotrowska-Niczyporuk, A. & Bajguz, A. *Plant Growth Regulation* 73, 57-66, 2014.
- Pratt, R. *American Journal of Botany* 25, 498-501, 1938.
- Reemmer J, Murphy A. In: Zažímalová E., Petrášek J., Benková E. (eds) Vienna, Austria: Springer, 75-100, 2014.
- Regensdorff, M. *et al. Journal of Phycology* 54, 840-849, 2018.
- Scheuring D, Kleine-Vehn J. In: Zažímalová E., Petrášek J., Benková E. (eds) Vienna, Austria: Springer, 61-73, 2014.
- Singh, G., Retzer, K., Vosolsobe, S. & Napier, R. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 12, 2018.
- Skokan, R.: Auxin transport in algae. Diploma thesis repository <https://is.cuni.cz/webapps/zzp/detail/127123/?lang=en>, 2014.
- Sorensen, I., Fei, Z., Andreas, A., Willats, W.G., Domozych, D.S., and Rose, J.L. *Plant Journal* 77, 339-351, 2014.
- Sugano, S. S. *et al. Plant and Cell Physiology* 55, 475-481, 2014.
- Thelander, M., Landberg, K. & Sundberg, E. *Journal of Experimental Botany* 69, 277-290, 2018.
- Ulmasov, T., Hagen, G., Guilfoyle, T.J. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 5844–5849, 1999.
- Umen, J. G. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6, 27, 2014.
- Vanneste, S. & Friml, J. *Cell* 136, 1005-1016, 2009.
- Wood, N. L. & Berliner, M. D. *Plant Science Letters* 16, 285-289, 1979.
- Zabka, A. *et al. Plant Cell Reports* 35, 1655-1669, 2016.
- Zuo, J., Niu, QW., Chua, N.H. *Plant Journal* 24 (2), 265-273, 2000.