

SMLOUVA
o poskytnutí účelové podpory na řešení projektu výzkumu a vývoje
č.j.: MSMT-355/2025-25

podprogramu INTER-ACTION, programu INTER-EXCELLENCE II
(dále jen „smlouva“)

Smluvní strany

Česká republika – Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

IČO: 00022985

se sídlem Karmelitská 529/5, 118 12 Praha 1,

zastoupená: [REDACTED]

(dále jen „poskytovatel“)

a

Univerzita Palackého v Olomouci

IČO: 61989592

právní forma: veřejná vysoká škola

se sídlem: Křížkovského 511/8, 77900, Olomouc

číslo účtu: [REDACTED]

zastoupená: prof. MUDr. Martinem Procházkou, Ph.D., rektorem

(dále jen „příjemce“)

(společně dále také jako „smluvní strany“)

uzavírají

podle ustanovení § 9 odst. 1, 2 a 3 zákona č. 130/2002 Sb., o podpoře výzkumu, experimentálního vývoje a inovací z veřejných prostředků a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o podpoře výzkumu, experimentálního vývoje a inovací), ve znění pozdějších předpisů, (dále jen „zákon č. 130/2002 Sb.“), podle zákona č. 500/2004 Sb., správní řád, části páté § 159, podle ustanovení § 17 zákona č. 218/2000 Sb., o rozpočtových pravidlech a o změně některých souvisejících zákonů (rozpočtová pravidla), ve znění pozdějších předpisů, v souladu s Nařízením Komise (EU) č. 651/2014 ze dne 17. června 2014, kterým se v souladu s články 107 a 108 Smlouvy o fungování EU prohlašují určité kategorie podpory za slučitelné s vnitřním trhem (dále jen „nařízení“), tuto **smlouvu**:

Článek 1
Předmět smlouvy

- 1) Předmětem této smlouvy je úprava práv a povinností poskytovatele a příjemce v souvislosti s účelovou podporou, poskytnutou podle § 4 odst. 1 písm. e) zákona č. 130/2002 Sb. ze státního rozpočtu na řešení projektu výzkumu, vývoje a inovací s identifikačním kódem **LUAUS25235** a s názvem **„Experimentální využití mitogenem aktivovaných proteinkinas a moderních mezioborových přístupů pro perspektivní zlepšení odolnosti vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení“** (dále jen „Projekt“), jak plyne z Přílohy I této smlouvy (dále jen „Příloha I“) a Přílohy II této smlouvy (dále jen „Příloha II“), realizovaného v rámci podprogramu INTER-ACTION (LUA25), programu INTER-EXCELLENCE II (dále jen „Podprogram“). Příloha I obsahuje schválený návrh Projektu, jehož realizace představuje **účel poskytnuté podpory** – specifikovaný mj. rozsahem a cíli řešení Projektu, indikátory jejich plnění a jejich cílovými hodnotami (tj. očekávané výsledky řešení, způsob a harmonogram jejich dosažení a ověření). Příloha II obsahuje rozpočet

Projektu, zahrnující celkovou výši uznaných nákladů Projektu, jejich výši v jednotlivých kalendářních letech podle jejich dalšího položkového členění podle článku 2 odst. 1 této smlouvy, a dále celkovou výši finančních prostředků určených ke krytí schválených způsobilých nákladů (tj. uznaných nákladů) Projektu v jednotlivých kalendářních letech, výši krytí těchto finančních prostředků v kategoriích: schválená podpora podle této smlouvy, další veřejné zdroje a neveřejné zdroje. Příloha III této smlouvy (dále jen „Příloha III“) obsahuje plán hodnocení Projektu. Příloha IV specifikuje sankce při porušení smlouvy nebo ustanovení obecně závazných předpisů (dále jen „Příloha IV“).

- 2) Účelem podpory je dosažení stanovených cílů Projektu uvedených v Příloze I smlouvy, Rámec projektu.
- 3) Příjemce je povinen realizovat Projekt za podmínek a v rozsahu této smlouvy.
- 4) Osobou, odpovědnou příjemci za odbornou úroveň Projektu (tj. řešitelem Projektu) a současně určenou pro komunikaci mezi příjemcem a poskytovatelem, je [REDACTED]

Článek 2 Způsobilé a uznané náklady Projektu

- 1) Způsobilými náklady Projektu ve smyslu článku 25 odst. 3 nařízení, § 2 odst. 2 písm. m) zákona č. 130/2002 Sb. mohou být pouze takové náklady, které jsou hrazeny výlučně v souvislosti s Projektem a jsou zařazeny do jedné z následujících kategorií:
 - a. osobní náklady/výdaje včetně povinných zákonných odvodů a přidělu do fondu kulturních a sociálních potřeb (nebo jiného obdobného fondu);
 - b. odpisy dlouhodobého majetku (hmotný a nehmotný);
 - c. ostatní zboží a služby;
 - d. subdodávky, maximálně do 10 % celkových nákladů projektu
 - e. cestovné;
 - f. nepřímé náklady/výdaje, maximálně do výše 25 % z přímých nákladů Projektu.

Způsobilé náklady musejí být vynaloženy v období řešení Projektu stanoveném v článku 3 této smlouvy.

- 2) Uznanými náklady¹ Projektu ve smyslu § 2 odst. 2 písm. n) zákona č. 130/2002 Sb. jsou způsobilé náklady schválené poskytovatelem.
- 3) Poskytovatel stanovuje celkovou výši uznaných nákladů na celé období řešení Projektu podle článku 3 této smlouvy na **7 444 976,- Kč** (slovy **sedm milionů čtyři sta čtyřicet čtyři tisíc devět set sedmdesát šest korun českých**) a to v členění na jednotlivé kalendářní roky a v položkovém členění podle Přílohy II smlouvy.
- 4) Při úhradě uznaných nákladů z podpory je příjemce povinen dodržet intenzitu podpory (tj. podíl účelové podpory na celkových uznaných nákladech) podle Přílohy II. Současně je příjemce povinen jednoznačně a průkazně doložit úhradu zbývajících uznaných nákladů z ostatních zdrojů.

¹⁾ pokud příjemce podpory neúčtuje o „nákladech“ ale o „výdajích“, lze termínem „náklady“ rozumět i tyto výdaje. Pro účely výpočtu podpory a vykazování v Projektu je však nutné tyto výdaje časově rozlišovat ve vztahu k období řešení Projektu (a to i mimoúčetně)

- 5) Příjemce, který je účetní jednotkou, je v rámci účetnictví podle zákona č. 563/1991 Sb., o účetnictví, ve znění pozdějších předpisů, pro Projekt povinen vést oddělenou evidenci o vynaložených výdajích nebo nákladech Projektu a v rámci této evidence sledovat náklady nebo výdaje hrazené z podpory. Příjemce, který není účetní jednotkou, vede tuto oddělenou evidenci v rámci daňové evidence v souladu se zvláštním právním předpisem² a interními účetními postupy, a to tak, aby jeho vnitřní účetní a kontrolní postupy dovozovaly přímé srovnání položek deklarovaných jako součást Projektu (aktiv a pasiv, nákladů a výnosů) s položkami obsaženými v odpovídajících finančních výkazech a ostatních podkladových účetních dokumentech.
- 6) Příjemce je povinen vynakládat finanční prostředky Projektu správně, efektivně, hospodárně, účelně a přiměřeně k cenám v místě a čase obvyklým v souladu se zvláštními právními předpisy³. Příjemce je povinen postupovat při vynakládání prostředků z podpory podle zákona č. 134/2016 Sb., o zadávání veřejných zakázek, ve znění pozdějších předpisů. Příjemce současně nese plnou odpovědnost za to, že v průběhu řešení Projektu nedojde ke dvojímu financování a vykazování těchto uznaných nákladů (též výzkumné aktivity) Projektu z veřejných nebo neveřejných prostředků.

Článek 3 Zahájení a ukončení Projektu

Příjemce je povinen:

- 1) zahájit řešení Projektu v souladu s Přílohou I, nejdříve však **1. března 2025** a nejdéle do **60 kalendářních dnů** ode dne nabytí účinnosti této smlouvy,
- 2) ukončit řešení Projektu, tj. ukončit věcně zaměřené projektové aktivity a čerpání poskytnuté podpory podle Přílohy I a Přílohy II nejpozději do **31. prosince 2028**.

Článek 4 Poskytnutí podpory, její výše a podmínky jejího čerpání

- 1) Poskytovatel poskytne příjemci účelovou podporu na řešení Projektu ve formě dotace ve výši podle odstavce 2 tohoto článku (dále jen „podpora“) na účet příjemce, který je uvedený v této smlouvě.
- 2) Poskytovatel stanovuje celkovou výši podpory přidělenou na celé období řešení Projektu podle článku 3 této smlouvy na **7 444 976,- Kč** (slovy **sedm milionů čtyři sta čtyřicet čtyři tisíc devět set sedmdesát šest korun českých**) a to v členění na jednotlivé kalendářní roky a v položkovém členění podle Přílohy II smlouvy.
- 3) Nedojde-li v důsledku rozpočtového provizoria podle rozpočtových pravidel k regulaci čerpání rozpočtu, je povinností poskytovatele začít poskytovat podporu do 60 kalendářních dnů ode dne nabytí účinnosti smlouvy o poskytnutí podpory. U víceletých projektů ve druhém roce řešení a dalších letech řešení je povinností poskytovatele začít poskytovat podporu do 60 kalendářních dnů od začátku kalendářního roku, nedojde-li v důsledku rozpočtového provizoria podle zvláštního právního předpisu k regulaci čerpání výdajů státního rozpočtu, a to za podmínky, že jsou splněny závazky příjemce vyplývající ze smlouvy o poskytnutí podpory a že jsou zařazeny

²⁾ zákon č. 586/1992 Sb., o daních z příjmů, ve znění pozdějších předpisů

³⁾ § 2 zákona č. 320/2001 Sb., o finanční kontrole ve veřejné správě a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů

údaje do informačního systému výzkumu, vývoje a inovací v souladu se zákonem č. 130/2002 Sb., a se zákonem č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím.

- 4) Příjemce je povinen použít podporu výlučně na úhradu uznaných nákladů Projektu vymezených Přílohou II hrazených z podpory.

Článek 5 Změny uznaných nákladů a výše poskytnuté podpory

- 1) Podle § 9 odst. 7 zákona č. 130/2002 Sb. nesmí být v průběhu řešení Projektu změněna výše uznaných nákladů o více než **50 %** výše uznaných nákladů stanovené v článku 2 odst. 3 této smlouvy a výše podpory o více než **50 %** výše podpory stanovené v článku 4 odst. 2 této smlouvy.
- 2) Změnu celkové výše uznaných nákladů Projektu nebo celkové výše poskytnuté podpory lze provést jen na základě uzavření dodatku ke smlouvě po předchozí písemné žádosti příjemce. Změny výše uznaných nákladů projektu, navrhované v žádosti, a s tím související výše podpory musí být zdůvodněné, podložené schválenými činnostmi a musí být odsouhlasené poskytovatelem.
- 3) Změny finančních objemů v položkovém členění podle věcné specifikace uznaných nákladů Projektu podle Přílohy II, které nemají vliv ani na celkovou výši uznaných nákladů Projektu, ani na celkovou výši podpory, poskytovatel schvaluje na žádost příjemce svým písemným souhlasem. Předchozí souhlas poskytovatele není vyžadován pouze v případě, kdy přesuny mezi položkami nepřesáhnou v daném kalendářním roce v souhrnu sumu rovnající se 10 % z poskytnuté podpory v daném roce, přičemž do tohoto souhrnu se započítávají pouze přesuny mezi položkami ve smyslu jejich navýšení. To se nevztahuje na změny finančních objemů nebo položkové přesuny v rámci osobních nákladů, kdy je vyžadován předchozí souhlas poskytovatele bez výjimky. Nepřímé náklady/výdaje nelze navyšovat nad rámec stanovený v článku 2 odst. 1.
- 4) Příjemce má možnost podat žádost o souhlas se změnou v položkovém členění podle věcné specifikace uznaných nákladů Projektu podle odst. 3 tohoto článku nejpozději do **15. listopadu** daného kalendářního roku, nejméně však **60 kalendářních dnů** před datem ukončení řešení Projektu podle článku 3 odst. 2 této smlouvy. O souhlas se změnou výše uznaných nákladů nebo poskytnuté podpory Projektu podle odst. 2 tohoto článku, s následným uzavřením dodatku k této smlouvě, může příjemce požádat do **31. října** daného kalendářního roku, nejméně však **60 kalendářních dnů** před datem ukončení řešení Projektu podle článku 3 odst. 2 této smlouvy.
- 5) Na souhlas poskytovatele se změnou uznaných nákladů Projektu nebo změnou výše podpory podle tohoto článku nemá příjemce právní nárok.

Článek 6

- 1) Příjemce je povinen vracet zpět nevyčerpané finanční prostředky na:
 - a) výdajový účet ministerstva č. ■■■■■■■■■■, pokud příjemce vrátí nevyčerpané prostředky v průběhu kalendářního roku, na který byla podpora poskytnuta,

- b) účet cizích prostředků ministerstva č. [REDAKCE], pokud příjemce vrací nevyčerpané prostředky v rámci finančního vypořádání vztahů se státním rozpočtem.
- 2) Příjemce při vrácení finančních prostředků může postupovat obdobně dle odstavce 1 tohoto článku i před dokončením projektu, pokud je mu zřejmé, že finanční prostředky nebudou využity.
 - 3) Příjemce je povinen vyrozumět poskytovatele avízem o vrácení finančních prostředků souvisejících s poskytnutou podporou, a to formou datové zprávy nebo zprávou opatřenou zaručeným elektronickým podpisem na e-mailovou adresu [REDAKCE] a rovněž je povinen o této skutečnosti informovat ve stejné lhůtě oddělení řízení mezinárodních programů VaVal. Poskytovatel musí avízo obdržet nejpozději v den připsání vratky na účet.
 - 4) Příjemce je povinen vypořádat dotaci se státním rozpočtem podle § 75 zákona č. 218/2000 Sb. a platné vyhlášky vydané Ministerstvem financí k jeho provedení.
 - 5) Souhrnné vyúčtování podpory a celkových uznaných nákladů Projektu, které je také součástí průběžné zprávy podle odst. 6 Přílohy III, příjemce předkládá za jednotlivé kalendářní roky vždy do **30. ledna** následujícího kalendářního roku, souhrnné vyúčtování uznaných nákladů Projektu, které je součástí závěrečné zprávy podle odst. 6 Přílohy III, příjemce předkládá do **30 kalendářních dnů** po ukončení Projektu. V případě ukončení řešení Projektu před termínem uvedeným v článku 3 odst. 2 této smlouvy příjemce předloží poskytovateli souhrnné vyúčtování uznaných nákladů nejpozději do **60 kalendářních dnů** po tomto mimořádném ukončení řešení Projektu.
 - 6) V případě, že příjemce vytváří fond účelově určených prostředků (dále jen „FÚUP“) a převádí do něj prostředky z účelové podpory na řešení Projektu, je povinen tyto prostředky uvést v Souhrnném vyúčtování podpory a celkových uznaných nákladů Projektu a v následujícím roce je využít prioritně před prostředky účelové podpory Projektu na další kalendářní rok. Prostředky FÚUP může příjemce použít výhradně k účelu, ke kterému mu byly poskytnuty.

Článek 7 Další povinnosti příjemce

Příjemce je dále povinen:

- 1) uvádět v souvislosti s Projektem ve všech zveřejňovaných informacích identifikační kód Projektu podle článku 1 odst. 1 této smlouvy a skutečnost, že na řešení Projektu byla poskytnuta podpora v rámci programu INTER-EXCELLENCE II, včetně správného oficiálního názvu nebo oficiální zkratky poskytovatele a oficiálního loga poskytovatele v souladu s pravidly, která jsou zveřejněna na adrese www.msmt.gov.cz,
- 2) písemně informovat poskytovatele o všech změnách, které nastaly v době účinnosti této smlouvy a které se dotýkají právní osobnosti příjemce, údajů požadovaných pro prokázání způsobilosti příjemce nebo údajů, které by mohly mít vliv na řešení Projektu, respektive na dosahování jeho cílů nebo jeho rozpočet, a to nejdéle do **7 kalendářních dnů** ode dne, kdy se o takové skutečnosti dozvěděl,
- 3) o případnou změnu v osobě řešitele požádat písemně poskytovatele. V případě souhlasu poskytovatele se změnou dojde k uzavření dodatku k této smlouvě,

- 4) v případě změn ostatních členů řešitelského týmu, které neovlivní předmět, cíl a rozpočet Projektu, poskytovatele informovat prostřednictvím průběžné nebo závěrečné zprávy,
- 5) umožnit řešiteli a ostatním členům řešitelského týmu uvedeným v Příloze I řešení Projektu v plném rozsahu pracovních úvazků podle Přílohy I v rámci jejich pracovněprávního vztahu uzavřeného s příjemcem,
- 6) neprodleně informovat poskytovatele o podezření na nesrovnalosti zjištěné při řešení Projektu. Nesrovnalostí se rozumí porušení některého z ustanovení:
 - a) práva Evropské unie,
 - b) právních předpisů České republiky,
 - c) této smlouvy.
- 7) předávat poskytovateli zprávy o řešení Projektu podle Přílohy III,
- 8) řádně uchovávat originály všech rozhodnutí, smluv a dalších dokumentů týkajících se řešení Projektu v souladu s obecně závaznými předpisy po dobu **10 let** od data posledního poskytnutí podpory nebo její části,
- 9) po celou dobu řešení Projektu nakládat s veškerým majetkem získaným z prostředků na Projekt hospodárně, efektivně a účelně, zejména jej zabezpečit proti poškození, ztrátě nebo odcizení,
- 10) vyvinout veškeré nezbytné úsilí k dosažení cílů uvedených v Projektu a splnění veškerých závazků vůči poskytovateli.
- 11) vytvořit a v průběžné zprávě o řešení Projektu poskytovateli předložit Plán správy dat; dále jej v průběhu řešení pravidelně aktualizovat a aktualizovanou verzi předložit jako součást každé další zprávy o řešení Projektu.
- 12) předávat ve všech zprávách o řešení Projektu informace o dostupnosti a způsobu šíření výsledků výzkumu a výzkumných dat, pokud byly vytvořeny za podpory z veřejných prostředků, a to v souladu se zásadou, že výsledky výzkumu a výzkumná data nejsou zveřejňovány pouze v odůvodněných případech.

Článek 8 Kontrola řešení Projektu

- 1) Veřejnosprávní kontrola použití podpory probíhá u příjemce na základě § 39 zákona č. 218/2000 Sb., § 8 odst. 2 zákona č. 320/2001 Sb., o finanční kontrole ve znění pozdějších předpisů, § 4 a ostatních příslušných ustanovení zákona č. 255/2012 Sb., o kontrole (kontrolní řád) ve znění pozdějších předpisů a § 13 zákona č. 130/2002 Sb.
- 2) Kontrola plnění cílů Projektu je poskytovatelem prováděna v souladu s § 13 zákona č. 130/2002 Sb. podle pokynů poskytovatele v termínech a způsobem, které jsou uvedeny v Příloze III.
- 3) Poskytovatel je oprávněn v průběhu řešení Projektu a následně až po dobu **10 let** po ukončení jeho řešení provádět kontroly čerpání a využívání podpory a účelnosti vynaložených nákladů Projektu podle této smlouvy.

- 4) Příjemce je povinen umožnit pověřeným zaměstnancům poskytovatele kontrolu realizace projektu, hospodaření s poskytnutou podporou a zpřístupnit jim k tomu veškeré potřebné doklady.
- 5) Pokud zaměstnanci poskytovatele na základě provedené kontroly dojdou k závěru, že na straně příjemce podpory mohlo dojít k porušení rozpočtové kázně, je vedoucí kontrolní skupiny povinen po případném vypořádání námitek k protokolu o kontrole dát podnět příslušnému finančnímu úřadu, který je oprávněn o porušení rozpočtové kázně rozhodnout.
- 6) Příjemce je povinen informovat poskytovatele o kontrolách, které u něj byly v souvislosti s poskytnutou podporou provedeny externími kontrolními orgány, včetně závěrů těchto kontrol, a to bezprostředně po jejich ukončení.

Článek 9 **Porušení rozpočtové kázně**

- 1) Porušení povinností uvedených v této smlouvě nebo stanovených právními předpisy představuje porušení rozpočtové kázně podle ustanovení § 44 odst. 1 s odkazem na § 3 písm. e) zákona č. 218/2000 Sb.
- 2) Odvodem za porušení rozpočtové kázně se podle § 44a zákona č. 218/2000 Sb. rozumí povinnost provést na základě rozhodnutí místně příslušného finančního úřadu odvod za porušení rozpočtové kázně, případně penále z prodlení s jeho provedením. V příloze IV jsou specifikována rozpětí hodnot snížených odvodů u vybraných porušení smluvních ujednání vyplývajících pro příjemce z této smlouvy.
- 3) Správu odvodů za porušení rozpočtové kázně a penále vykonávají místně příslušné finanční úřady podle zákona č. 280/2009 Sb., daňový řád ve znění pozdějších předpisů.

Článek 10 **Odvod, odnětí nebo zastavení podpory**

- 1) Dle § 44a zákona č. 218/2000 Sb. se za porušení rozpočtové kázně vyměřuje odvod a v případě prodlení i penále. Seznam je uveden v příloze IV této smlouvy.
- 2) Neoprávněným použitím nebo zadržením peněžních prostředků poskytnutých ze státního rozpočtu a použitím podpory příjemcem na jiný účel, než na jaký mu byla podle této smlouvy podpora poskytnuta, nebo v rozporu s jejich časovým určením, i jakékoliv jiné použití podpory v rozporu s podmínkami stanovenými právními předpisy nebo touto smlouvou, které přímo souvisí s účelem, na který byla podpora poskytnuta, je porušením rozpočtové kázně ve smyslu § 44 odst. 1 zákona č. 218/2000 Sb.
- 3) Smluvní strana může podat písemný návrh na zrušení smlouvy v případech uvedených v § 167 odst. 1 zákona č. 500/2004 Sb., správní řád, ve znění pozdějších předpisů.
- 4) Návrh na zrušení smlouvy může smluvní strana podat také v případě, došlo-li po uzavření této smlouvy
 - a) k vázání prostředků státního rozpočtu,

- b) ke zjištění, že údaje, na jejichž základě byla podpora poskytnuta, byly neúplné nebo nepravdivé,
 - c) ke zjištění, že smlouva je v rozporu se zákonem nebo právem Evropské unie,
 - d) ke zjištění, že nemůže být splněn řádně nebo včas účel, na který byla podpora poskytnuta,
 - e) vydání rozhodnutí Evropské komise o navrácení nebo prozatímní navrácení veřejné podpory.
- 5) Poskytovatel musí na základě zjištění, že příjemce porušil povinnosti stanovené právním předpisem nebo smlouvou, a to zejména nedodržel-li účel poskytnuté podpory nebo porušil jinou podmínku, za které byla podpora poskytnuta, postupovat podle § 14e a § 14f zákona č. 218/2000 Sb.
- 6) Jsou-li do informačního systému výzkumu, vývoje a inovací ve smyslu § 30 odst. 1 zákona 130/2002 Sb. (IS VaVal) předány údaje, které neodpovídají definici datových prvků a které ovlivní výši poskytnuté podpory a Rada pro výzkum, vývoj a inovace proto v návrhu výdajů na výzkum, vývoj a inovace příslušnému poskytovateli výši výdajů na následující pětileté období sníží podle § 14 odst. 5 zákona č. 130/2002 Sb., poskytovatel obdobným způsobem sníží podporu příjemci, který mu nesprávné údaje předal.
- 7) V případě, kdy byl příjemce pravomocně odsouzen pro trestný čin uvedený v § 7 odst. 3 písm. a) až b) zákona č. 130/2002 Sb. může poskytovatel ve smyslu § 14a zákona č. 130/2002 Sb. od této smlouvy zcela nebo zčásti odstoupit. Odstoupením z tohoto důvodu se tato smlouva od počátku zcela nebo zčásti ruší a příjemce je povinen vrátit veškerou podporu nebo její část.
- 8) Příjemce podpory je povinen vrátit poskytovateli poskytnutou podporu nebo její část, pokud je příjemci známo, že Projekt nedokončí. Příjemce je povinen tento svůj záměr oznámit poskytovateli bezprostředně poté, co bude mít objektivní možnost zjistit, že Projekt nebude možné realizovat.

Článek 11

Závazek mlčenlivosti

- 1) Příjemce je povinen zachovávat mlčenlivost o údajích, podkladech a vnesených právech, které mu byly poskytnuty jako důvěrné a jejichž předání dalším subjektům by mohlo být pro toho, kdo je poskytl, nevýhodné. Vnesenými právy se pro účely této smlouvy rozumí poznatky a informace, které jsou vlastnictvím příjemce Projektu před uzavřením této smlouvy, nebo které příjemce získá paralelně, avšak mimo naplňování této smlouvy, a které jsou nezbytné pro řešení Projektu. K vneseným právům patří autorská práva a práva k výsledkům na základě návrhu patentu nebo jeho udělení, zlepšovacích návrhů, užitných vzorů, průmyslových vzorů, chráněných druhů a dalších rozhodnutí nebo jinak srovnatelných ochranných opatření.
- 2) Závazek mlčenlivosti zaniká:
- a) pokud se obsah těchto údajů, podkladů a vnesených práv stane veřejně přístupným, a to na základě jiných prací prováděných mimo rámec Projektu nebo na základě opatření, která nesouvisejí s těmito pracemi,
 - b) sdělením těchto údajů, podkladů a vnesených práv bez požadavku mlčenlivosti nebo pozdějším odvoláním požadavku mlčenlivosti těmi, kteří požadavek stanovili.
- 3) Pokud je příjemce na základě této smlouvy oprávněn předávat údaje, podklady a vnesená práva dalším osobám, je povinen zajistit, aby tyto osoby zachovávaly mlčenlivost a veškeré údaje používaly jen k účelům, k nimž jim byly předány.

Článek 12

Poskytování informací a údajů o Projektu a jeho výsledcích

- 1) Příjemce je povinen předávat poskytovateli úplné, pravdivé a včasné informace o Projektu a získaných poznatcích a jiných výsledcích Projektu. Za tímto účelem je Příjemce povinen postupovat podle pokynů poskytovatele a v souladu s § 31 odst. 3 zákona č. 130/2002 Sb. předávat poskytovateli požadované údaje. Současně příjemce souhlasí se zveřejňováním těchto požadovaných údajů a se zpřístupněním redakčně upravené závěrečné zprávy Projektu veřejnosti poskytovatelem. Poskytovatel předává údaje o Projektu do IS VaVal a evropských informačních systémů.
- 2) Příjemce souhlasí, že v případě, kdy jako další zdroj financování Projektu jsou finanční prostředky státního rozpočtu České republiky poskytnuté některým jiným poskytovatelem, mohou být poskytovatelem tomuto jinému poskytovateli (pokud o to požádá) sděleny údaje o Projektu, které jsou jinak považovány za důvěrné ve smyslu čl. 11 odst. 1 této smlouvy.
- 3) Pokud je předmět řešení Projektu předmětem obchodního tajemství, je příjemce povinen poskytnout konkrétní informace o Projektu a poznatcích a jiných výsledcích Projektu v takovém rozsahu a formě, aby byly zveřejnitelné. Pokud předmět řešení Projektu nebo jiné aktivity výzkumu a vývoje podléhají mlčenlivosti, stanovené příslušným zvláštním právním předpisem, poskytovatel a příjemce poskytují informace o prováděném výzkumu, vývoji a jejich výsledcích s vyloučením těch informací, o nichž to stanoví příslušný zvláštní právní předpis.

Článek 13

Další účastníci Projektu a účast třetích stran

- 1) Příjemce je povinen poskytnout část podpory připadající na další účastníky Projektu nejpozději v prvním roce jejího poskytnutí do **20 kalendářních dnů** ode dne, kdy ji obdržel od poskytovatele a v dalších letech jejího poskytování do **30 kalendářních dnů** ode dne, kdy ji obdržel od poskytovatele.

Článek 14

Výsledky a jejich využití

- 1) Práva k výsledkům a jejich využití se řídí ustanovením § 16 zákona 130/2002 Sb.
- 2) Příjemce je povinen zajistit, aby výsledky, k nimž má vlastnická práva a které mohou být využity, byly přiměřeně a účinně chráněny a využít je nebo umožnit jejich využití při respektování nezbytné ochrany vlastnických a uživatelských práv k výsledkům a mlčenlivosti podle zvláštních právních předpisů.
- 3) Výsledky, které nelze chránit podle zvláštních právních předpisů nebo nejsou předmětem obchodního tajemství, jiného tajemství nebo utajované informace podle zvláštního právního předpisu nebo mezivládních právních aktů týkajících se Programu, a současně mají publikační charakter, je příjemce podpory povinen aktivně veřejně šířit.
- 4) Příjemce je oprávněn postoupit majetková práva k výsledkům Projektu třetím osobám pouze s předchozím písemným souhlasem poskytovatele. Poskytovatel je oprávněn tento souhlas

odmítnout, pokud by postoupení mělo dopad na plnění účelu smlouvy. Postoupí-li příjemce majetková práva k výsledkům Projektu třetím osobám, zajistí odpovídajícími opatřeními nebo smlouvami, aby jeho závazky přešly na nového nositele majetkových práv k výsledkům Projektu tak, aby byly zajištěny zájmy poskytovatele vyplývající z této smlouvy.

Článek 15 **Práva k majetku**

Práva k majetku pořízenému nebo částečně pořízenému z podpory poskytnuté na řešení Projektu se řídí § 15 zákona č. 130/2002 Sb. Příjemce, který je vlastníkem tohoto majetku, není oprávněn bez souhlasu poskytovatele s tímto majetkem disponovat⁴ ve prospěch třetí osoby po celé období řešení Projektu.

Článek 16 **Odpovědnost za škodu**

Poskytovatel nenese odpovědnost za jednání nebo naopak nečinnost příjemce. Poskytovatel žádným způsobem neodpovídá za nedostatky výrobků nebo služeb, které spočívají na poznatcích dosažených v rámci Projektu.

Článek 17 **Spory smluvních stran**

Spory smluvních stran vznikající z této smlouvy a v souvislosti s ní budou řešeny podle § 169 zákona č. 500/2004 Sb., správní řád, ve znění pozdějších předpisů.

Článek 18 **Závěrečná ustanovení**

- 1) Tato smlouva se uzavírá na dobu řešení Projektu a následující období potřebné pro vyhodnocení výsledků řešení Projektu, včetně vypořádání poskytnuté podpory podle zákona č. 218/2000 Sb., ne však na dobu delší než 180 dnů ode dne ukončení řešení Projektu.
- 2) Tato smlouva nabývá platnosti dnem podpisu poslední ze smluvních stran a účinnosti dnem jejího zveřejnění v registru smluv podle zákona o registru smluv. Změny této smlouvy mohou být prováděny pouze dohodou smluvních stran formou písemných vzestupně číslovaných dodatků, podepsanými oprávněnými zástupci smluvních stran.
- 3) Právní vztahy, které nejsou touto smlouvou přímo upravené, se řídí rozpočtovými pravidly, zákonem č. 130/2002 Sb., zákonem č. 500/2004 Sb., zákonem č. 89/2012 Sb., občanský zákoník ve znění pozdějších předpisů a dalšími souvisejícími zvláštními právními předpisy.
- 4) Nedílnou součástí této smlouvy je:
 - a) Příloha I – Schválený návrh Projektu,
 - b) Příloha II – Uzané náklady a finanční zdroje Projektu,

4) tj. není oprávněn bez souhlasu poskytovatele tento majetek zcizit, pronajmout, půjčit, zapůjčit či zastavit.

- c) Příloha III – Plán hodnocení Projektu,
- d) Příloha IV – Tabulka snížených odvodů za porušení rozpočtové kázně
- 5) Poskytovatel zajistí uveřejnění smlouvy a metadat smlouvy v registru smluv včetně případných oprav uveřejnění s tím, že nezajistí-li poskytovatel uveřejnění smlouvy nebo metadat smlouvy v registru smluv ve lhůtě 30 dnů ode dne uzavření smlouvy, pak je oprávněn zajistit jejich uveřejnění příjemce ve lhůtě 3 měsíců ode dne uzavření smlouvy.
- 6) Příjemce souhlasí s uveřejněním celého obsahu smlouvy vyjma informací, které nelze poskytnout při postupu podle předpisů upravujících svobodný přístup k informacím.
- 7) Smluvní strany souhlasně prohlašují, že si tuto smlouvu řádně přečetly, jejímu obsahu porozuměly, nejsou jim známy žádné důvody, pro které by tato smlouva nemohla být řádně plněna nebo které by způsobovaly její neplatnost, a že tato smlouva je projevem jejich vážné vůle, což stvrzují svými podpisy.

Za poskytovatele:

V Praze dne:

17. 3. 2025



Za příjemce:

V dne:

25. 3. 2025

prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.
rektor

Příloha I.
Schválený návrh Projektu

NÁVRH PROJEKTU - PODPISOVÁ STRANA UCHAZEČ

ID projektu v systému ISIX:	LUAUS25235
Název projektu:	Experimentální využití mitogenem aktivovaných proteinkinas a moderních mezioborových přístupů pro perspektivní zlepšení odolnosti vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení
Doba řešení projektu:	od 1.3.2025 do 31.12.2028
Řešitel/ka:	
Celkové náklady projektu:	7444976 Kč
Požadovaná podpora MŠMT:	7444976 Kč
Uchazeč:	Univerzita Palackého v Olomouci #35
Adresa:	Křížkovského 511/8, 77900, Olomouc Olomouc
IČO:	61989592
Statutární zástupce:	Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.

Návrh projektu byl zpracován a uložen v informačním systému programu INTER-EXCELLENCE ISIX (dále jen „systém ISIX“). Statutární zástupce uchazeče je seznámen s návrhem projektu a všemi jeho částmi a souhlasí s jeho zařazením do veřejné soutěže ve výzkumu, vývoji a inovacích.

Návrh projektu v části Kap. 7 Příloha I. ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ obsahuje informaci o identifikaci podle § 14, odst. 3 zákona č. 218/2000 Sb. o rozpočtových pravidlech a o změně některých souvisejících zákonů (rozpočtová pravidla).

Statutární zástupce výše uvedeného subjektu prohlašuje, že nebyly zahájeny příslušné činnosti v oblasti VaVal na projektu (s výjimkou studie proveditelnosti) před podáním návrhu (žádosti o podporu). Statutární zástupce dále souhlasí, že data vložená do systému ISIX budou předmětem hodnocení podle zadávací dokumentace.

Datum: _____

2. 7. 2024

Razítko a podpis: _____

Poučení:

Tato podpisová strana byla vygenerována informačním systémem ISIX pro návrh projektu s konkrétním ID projektu a s uloženým, dále neměnitelným obsahem. Jakákoliv případná změna projektu prostřednictvím mechanismu znovuvotevení návrhu projektu v systému ISIX podle zadávací dokumentace bude mít za následek nezbytnost opětovného vygenerování podpisové strany.

Není-li návrh projektu prostřednictvím této podpisové strany podepsován statutárním zástupcem výzkumné organizace (ředitelem, rektorem), bude poskytovateli doručena PLNÁ MOC od statutárního zástupce, která podepisující/ho k danému kroku opravňuje.

NÁVRH PROJEKTU v programu INTER-EXCELLENCE podprogramu INTER-ACTION

Název poskytovatele podpory:	MŠMT	Evidenční číslo:	LUAUS25235
Veřejná soutěž:	INTER-ACTION-LUAUS25		
Doba řešení (počet let):	1.3.2025 - 31.12.2028 (4 roky)		
Řešitel/ka projektu:			
Název projektu:	Experimentální využití mitogenem aktivovaných proteinkinas a moderních mezioborových přístupů pro perspektivní zlepšení odolnosti vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení		
Projekt uzavřen před podáním dne:	2.7.24 10:08		

NÁKLADY PROJEKTU

Celkové náklady projektu	Plánované zdroje financování	Požadovaná podpora MŠMT	Intenzita podpory
7444976	7444976	7444976	100%

IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE O PŘEDKLÁDAJÍCÍ ORGANIZACI

Registrační název:	Univerzita Palackého v Olomouci #35		
IČ:	61989592		
Adresa:	Křížkovského 511/8, 77900, Olomouc Olomouc		
Kraj:	Olomoucký kraj	Okres:	Olomouc
Telefon:			
E-mail:		Prezentace na internetu:	
Číslo účtu:		Bankovní ústav:	
Datová schránka:	ffsj9ei		
Právní subjektivita:	Vysoká škola (veřejná, státní)		
Adresa a název příslušného FÚ:	Finanční úřad pro Olomoucký kraj - územní pracoviště v Olomouci (3101)		

KAPITOLY PROJEKTU DETAILNĚ

1B. IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE

1B. IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE	
Název projektu (česky)	Experimentální využití mitogenem aktivovaných proteinkinas a moderních mezioborových přístupů pro perspektivní zlepšení odolnosti vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení
Doba řešení OD	1.3.2025
Doba řešení DO	31.12.2028
Převažující kategorie výzkumu	ZV - základní výzkum
Klasifikace hlavního oboru řešení	10611 Plant sciences, botany
Klasifikace vedlejšího oboru řešení	10608 Biochemistry and molecular biology
Klasifikace dalšího vedlejšího oboru řešení	nevybráno
Klíčová slova (česky)	vojtěška; biotechnologie; CRISPR/CAS9; sucho; chlad; editace genů; Medicago sativa L.; mikroskopie; mitogenem aktivované protein kinázy; multi-OMICS technologie; nadexprese; fosforylace; ROP GEF1; zasolení; SIMK; SPEECHLESS; transkripční faktor

**Anotace projektu
(česky)**

Vojtěška (*Medicago sativa* L.) je jednou z nejvýznamnějších píceňin na světě. Pěstuje se na více než 34 milionech hektarů. Silný a hluboký kořenový systém vojtěšky zabraňuje erozi půdy, zlepšuje její úrodnost a strukturu a pomáhá snižovat kontaminaci povrchových a podzemních vod (Radović et al. 2009). Tato plodina poskytuje kvalitní píci, ale také vysoce kvalitní proteiny a výživové doplňky pro lidskou výživu. Obsahuje antioxidanty, minerály, enzymy a vitamíny (Bora a Sharma 2011). Vojtěška dokáže fixovat velké množství atmosférického dusíku díky symbióze s půdními bakteriemi rodu *Rhizobium* a obohacuje půdy o tento prvek, což eliminuje použití průmyslových hnojiv nepříznivě zatěžujících ekosystém (Doyle a Luckow 2003). Mění se klimatické podmínky, sucho, zasolení půdy a nízké teploty, však mohou výhodné vlastnosti vojtěšky výrazně omezit. Aktuálně je přibližně 6 % půdy a 20 % zavlažovaných půd zasaženo nadměrným zasolením (Rahman et al. 2015). Souběžně, globální změny klimatu zvyšují výskyt a trvání půdního sucha. Dnes se nadměrné vysušování půdy týká již zhruba 30 % orné půdy. Letní měsíce v posledním období pravidelně přinášejí silné vlny veder v kombinaci se suchem, což závažně poškozuje zemědělství. Odolnost vojtěšky vůči chladu je rozhodující pro přezimování. Jarní a podzimní mrazy ale nejvíce limitují výnos zelené hmoty. Mění se klima je doprovázena nárazovými mrazy zejména v jarním období a nebezpečné jsou především extrémní náhlé poklesy teploty (Ergon et al. 2018). Udržitelná produkce plodin proto vyžaduje vývoj nových genotypů, které přinesou kvalitní a stabilní výnos s vysokou produkcí biomasy, a zároveň budou schopny odolat i měnícím se klimatickým podmínkám. Tento projekt změřený v plné shodě se zadávací dokumentací na základní výzkum na vojtěšce tak reaguje na poptávku po cíleném zvyšování tolerance důležitých plodin vůči chladu, suchu a zasolení půdy v ČR a USA.

Pomocí genového inženýrství jsme připravili unikátní transgenní linie vojtěšky s geneticky upravenou *STRESEM INDUKOVANOU MITOGENEM AKTIVOVANOU PROTEIN KINÁZOU (SIMK)* a nadřazenou *STRESEM INDUKOVANOU MITOGENEM AKTIVOVANOU PROTEIN KINÁZOU KINÁZOU (SIMKK)*. Zjistili jsme, že zvýšená exprese SIMK hraje klíčovou roli při regulaci produkce biomasy, tvorby kořenových vlásků, vytváření kořenových hlízek a velikosti semen. Všechny tyto parametry byly u rostlin s nadexpresí SIMK zvýšeny. Naopak, transgenní rostliny s potlačenou expresí SIMKK vykazovaly nižší hodnoty (Hrbáčková et al. 2020; Obrázek 1, příloha). V současnosti připravujeme linii vojtěšky s knockout (KO) mutacemi v genu SIMK pomocí CRISPR/CAS9 technologie, což poskytne další funkční genetický důkaz o fenotypu podmíněných tímto genem v kontrolních a stresových podmínkách (Obrázek 2, příloha). Tato nová technologie je navíc v plné shodě s připravovanou legislativou EU, ve které CRISPR/CAS9 plodiny s malými bodovými mutacemi nebudou označovány za geneticky modifikované organismy a nebudou na ně uplatňovány žádné dosavadní restrikce. V USA tento v EU umělo-vytvořený problém neexistuje, protože CRISPR/CAS9 plodiny jsou tam již dávno povoleny. Tento aspekt spolupráce představuje další přidanou hodnotu a důvod, proč tento projekt kvůli zkomplikované legislativě EU podáváme právě s partnerem v USA, který do přípravné fáze už vložil nemalé finanční prostředky, zejména na proteomické analýzy.

Molekulární mechanismus, kterým nadměrná exprese *SIMK* podporuje žádané fenotypy a zemědělsky zajímavé vlastnosti vojtěšky, včetně zvýšené odolnosti na abiotické stresy, však není známý. **Hlavním cílem projektu je proto odhalit funkční mechanismus působení SIMK na produkční parametry rostlin a využít genovou manipulaci pro zvyšování odolnosti vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení půdy.** K tomu použijeme moderní technologie editace a modifikace genů pomocí CRISPR/CAS9, RNA interference a nadexprese genů, spolu s fenotypizací, multi-omickými přístupy (proteomika, fosfoproteomika a metabolomika) a pokročilou mikroskopií. Předpokládáme, že odhalení mechanismu významně pomůže funkční charakterizaci proteinů fosforylovaných pomocí SIMK jako jsou transkripční faktor *SPEECHLESS* a *ROP GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR 1 (ROP GEF1)*.

Očekáváme, že cílená genová editace pomocí nejmodernější technologie CRISPR/CAS9 a modifikace exprese genů pro výše zmíněné proteiny interagující se SIMK významně ovlivní schopnost vojtěšky produkovat biomasu a vyrovnat se s abiotickými stresy. Navíc budou objeveny nové markerové proteiny a metabolity vojtěšky pomocí multi-omických přístupů. Nové metody umožní komplexní a přesný pohled na funkční molekulární mechanismus kontrolující toleranci k abiotickým stresům u vojtěšky. Naš inovativní výzkum přispěje k řešení dlouhodobých cílů vývoje nových genotypů vojtěšky s vyšší produkcí biomasy, účinnější tvorbou kořenových vlásků a hlízek, které budou zároveň více odolné na suchu, chlad a zasolení půdy. Celková strategie, metody a cíle jsou shrnuty na Obrázku 3 v příloze.

2A. ZAHRANIČNÍ PARTNEŘI

2A. ZAHRANIČNÍ PARTNEŘI	
Počet zahraničních partnerů	1
Název instituce / organizace zahraničního partnera	Mississippi State University
Jméno a příjmení odpovědného řešitele zahraničního partnera	
Pracoviště zahraničního partnera	Institute for Genomics, Biocomputing & Biotechnology
Adresa pracoviště zahraničního partnera	IGBB, Portera HPC Building, 2 Research Boulevard, Starkville, MS 39759
Internetová adresa pracoviště / organizace zahraničního partnera	https://www.igbb.msstate.edu/
Role zahraničního partnera v projektu	(Institute for Genomics, Biocomputing and Biotechnology (IGBB), Mississippi State University (MSU)), bude provádět proteomické a metabolické analýzy rostlin, bude spoluzodpovědný za analýzu získaných dat a přispěje ke zpracování výsledků. Analýzy budou nadále financovány ze zdrojů zahraničního partnera (viz LOI, příloha), tudíž neplatí, že tento projekt zahraničního partnera dotuje, protože je tomu naopak a zahraniční partner proplácením analýz dotuje partnera v ČR. Bude přispívat k přípravě vědeckých publikací. IGBB má pět laboratoří o celkové ploše cca 1000 m², z nichž dvě jsou určeny pro proteomiku a metaboliku. přístrojového vybavení na proteomiku a metaboliku a má také přímý přístup a kontrolu nad hardwarem a softwarem. Pro řešení projektu je kriticky důležitý systém nano-UPLC 3000 napojený na hmotnostní spektrometr Orbitrap-LTQ Velos (ThermoFisher Scientific), vybavený modulem pro disociaci pomocí přenosu elektronů (Electron Transfer Dissociation; ETD) vhodným pro detekci fosforylačních posttranslačních modifikací. Společně se softwarovými balíky Proteome Discoverer a Compound Discoverer (ThermoFisher Scientific) je systém vynikajícím nástrojem pro kvalitativní a kvantitativní analýzu proteinů a metabolitů. Důležitá pro metabolomickou analýzu je schopnost hmotnostního spektrometru Orbitrap-LTQ Velos provádět sběr dat MSⁿ (n = až 10), což umožňuje shromažďovat spektrální stromy, zatímco k jejich vytvoření bude použit software Mass Frontier (ThermoFisher Scientific) s vlastní databází detekovaných metabolitů a standardů. Pro rozsáhlé experimenty a náročnější bioinformatiku bude využita laboratoř centra „High Performance Computing Collaboratory (HPC²)“, kterého je IGBB součástí. HPC² poskytuje značné výpočetní zdroje včetně (ale nejen) 5,5 PetaFLOPS clusteru se 72 000 jádrovými procesory Intel Xeon Gold 6148 (Skylake), ukládání dat na 20 petabajtů vysoce výkonných diskových polí s podporou RAID.

2B. DALŠÍ ÚČASTNÍCI PROJEKTU (CZ)

2B. DALŠÍ ÚČASTNÍCI PROJEKTU (CZ)	
Počet dalších účastníků projektu	

3A. PŘEDSTAVENÍ PROJEKTU

3A. PŘEDSTAVENÍ PROJEKTU	
Krátké představení projektu	Mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK) jsou fosforylační enzymy podílející se na signalizaci a vývoji rostlin, a při regulaci jejich reakcí na vnější impulzy z prostředí prostřednictvím přeprogramování genové exprese, fosforylace proteinů, nebo modulování cytoskeletu. Transgenní linie vojtěšky (<i>Medicago sativa</i> L.) se zvýšenou expresí <i>STRESEM INDUKOVANÉ MITOGENEM AKTIVOVANÉ PROTEIN KINÁZY (SIMK)</i> vykazuje výrazně zlepšenou produkci zelené biomasy, růst kořenových vlásků a tvorbu kořenových hlízek. Naopak, linie se sníženou expresí <i>STRESEM INDUKOVANOU MITOGENEM AKTIVOVANOU PROTEIN KINÁZOU KINÁZOU (SIMKK)</i>, která je nadřazená SIMK mají tyto agronomicky důležité parametry snížené (Obrázek 1). Cílem tohoto projektu je odhalit mechanismus působení SIMK při regulaci produkčních parametrů transgenních rostlin, především identifikací a charakteristikou fosforylačních cílů SIMK (transkripční faktor <i>SPEECHLESS</i>) a interakčních partnerů SIMK (<i>ROP GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR 1</i>, <i>Rop2 GTPáza</i>). Výsledky budou využity k odhalení funkce a molekulárního mechanismu signalizace SIMK během abiotického stresu ze sucha, chladu a zasolení půdy. K dosažení cílů projektu budou využity moderní metody a technologie jako editace genů pomocí <i>CRISPR/CAS9</i>, <i>RNA interference</i>, nadexprese genů, fenotypizace, multi-omické přístupy a pokročilá mikroskopie. Výsledkem bude vytvoření nových linií vojtěšky s geneticky upravenými interakčními partnery SIMK se zvýšenou odolností vojtěšky vůči abiotickým stresům a se zlepšenými agronomickými vlastnostmi, které budou prospěšné pro produkci zelené biomasy a efektivnější symbiotické fixaci vzdušného dusíku.
Zdůvodnění mezinárodní spolupráce	Potřeba přizpůsobení vlastností plodin k měnícím se klimatickým podmínkám je globálním problémem, který vyžaduje komplexní výzkumné přístupy. Metodické expertízy obou pracovišť jsou navzájem vysoce komplementární. Katedra biotechnologií PŘF UP disponuje špičkovým vybavením pro metody genové editace a modifikace rostlin, transformaci vojtěšky a pokročilou mikroskopii. Má také bohaté zkušenosti v odhalování molekulárních mechanismů působení stresů u rostlin. Na druhé straně Laboratoř IGBB disponuje jedinečným a špičkovým hardwarovým a softwarovým vybavením a zkušenostmi v oblasti integrovaných proteomických, fosfoproteomických a metabolomických (OMICs) analýz u plodin, především u vojtěšky. Podobné pracoviště v ČR není. Propojení přístupů obou laboratoří má vysoký potenciál pro odhalení molekulárních mechanismů odpovědí rostlin vojtěšky na nepříznivé faktory prostředí. OMICs metody odhalí změny na molekulární úrovni, které mohou vysvětlit strukturní změny. Naopak, mikroskopické metody doplní data z OMICs přístupů o prostorovou lokalizaci proteinů nebo metabolitů zájmu. Oba přístupy také dokážou komplexně vysvětlit fenotypové projevy geneticky modifikovaných transgenních rostlin včetně produkce biomasy, tvorby kořenových vlásků a hlízek. Toto unikátní metodické propojení je zárukou, že výsledky projektu budou prospěšné nejenom na lokální úrovni (ČR, USA), ale také globálně.

3B. RÁMEC PROJEKTU

3B. RÁMEC PROJEKTU	
Naplnění cílů programu	<u>Obecný cíl 2 Růst kvality a zvýšení míry excelence VaVal v ČR skrze participaci na projektech mezinárodního výzkumu, vývoje a inovací.</u> Projekt značně zintenzivní dlouhodobou spolupráci mezi partnery a pomůže k implementaci nových fosfoproteomických a metabolomických metod do výzkumu českého partnera. Tyto metody výrazně posilí excelenci českého partnera, protože poskytují hlubší chápání a vedou k objasnění dějů probíhajících v rostlině během působení abiotických stresů. To povede k identifikaci nových molekulárních mechanismů (proteinů a metabolitů) podmiňujících zvýšenou produktivitu a odolnost vojtěšky vůči těmto abiotickým stresům, a tím se rozšíří možnosti biotechnologických aplikací v této oblasti. Z dlouhodobého hlediska projekt zvýší konkurenceschopnost českého partnera nejen v oblasti výzkumu, ale také v získávání dalších národních a mezinárodních výzkumných projektů. <u>Specifické cíle 2.1 Rozvoj bilaterální spolupráce na poli VaVal se strategickými zahraničními partnery, s nimiž má ČR uzavřenu platnou dohodu/prováděcí dokument charakteru bilaterální mezivládní či mezirezortní dohody pro aktivity VaVal.</u> V rámci projektu se plánují krátkodobé návštěvy členů řešitelského týmu v laboratoři amerického partnera. Jejich součástí budou aktivity vedoucí k popularizaci českého výzkumu v USA a navázání nových kontaktů. Projekt má kromě prohloubení spolupráce vést také k podpoře jejího dalšího trvání. Předpokládá se, že projekt povede k přípravě dalších společných projektů (např. USDA) v oblasti biotechnologického zlepšování plodin.

Potřebnost a aktuálnost projektu	Vojtěška je obligátně cizosprašná autotetraploidní plodina ($2n = 4X = 32$), což přispívá k její velké genetické diverzitě. V současnosti je poměrně intenzivně studována, včetně abiotických a biotických stresových reakcí s využitím moderních genomických, proteomických a metabolomických přístupů (Hrbáčková et al., 2020). Signální transdukční kaskády mohou modulovat reorganizaci cytoskeletálních složek nebo regulovat transkripční faktory a spouštět expresi genů souvisejících se stresem. Mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK) představují velkou skupinu fosfotransferáz katalyzujících fosforylaci různých substrátových proteinů včetně transkripčních faktorů a cytoskeletálních a metabolických proteinů během vývoje rostlin (Komis et al., 2018) a reakcí na stres (Bigeard a Hirt, 2018). Typická MAPK kaskáda se skládá minimálně ze tří sekvenčně působících serin/threonin kináz, jmenovitě MAPK kinázy kinázy (MAPKKK), MAPK kinázy (MAPKK) a MAPK, z nichž každá následně fosforyluje, a tedy aktivuje, podřazenou kinázu (Colcombet a Hirt, 2008; Šamajová et al., 2013). U vojtěšky byla stresem indukovaná MAPK (SIMK) identifikována jako 46 kDa protein indukovaný solným stresem a elicitory (Munnik et al., 1999; Cardinale et al., 2000, 2002). Kvasinkové dvouhybridní (Y2H) screeningové a aktivační studie identifikovaly SIMK kinázu (SIMKK) jako aktivátor SIMK (Kiegerl et al., 2000; Cardinale et al., 2002). Aktivovaná SIMK se přemísťuje z jader do špiček rostoucích kořenových vlásků a spolu s dynamickým aktinovým cytoskeletem reguluje u vojtěšky jejich růst (Šamaj et al., 2002, 2003). Modul SIMK-SIMKK funguje také v symbiotické, patogenní a elicitorové signalizaci. Nedávno jsme prostřednictvím genetických manipulací odhalili pozitivní roli SIMK v nodulaci a vývoji vojtěšky. Pro tuto funkční studii byly použity transgenní SIMKK-RNAi linie, se silným potlačením produkce a aktivity SIMK, a transgenní linie GFP-SIMK konstitutivně nadexprimující aktivovanou SIMK, značenou zeleným fluorescenčním proteinem. Nadměrná exprese a aktivace SIMK podporuje růst kořenových vlásků a vytváření shluků kořenových hlízek, a také pozitivně ovlivňuje další agronomické vlastnosti, jako je produkce zelené biomasy (Obrázek 1). To naznačuje potenciál této kinázy pro její biotechnologické využití (Hrbáčková et al., 2021). Další studie založená na mikroskopii živých buněk pomocí „light sheet“ fluorescenční mikroskopie (LSFM) v kombinaci s imunolokalizační metodou odhalila, že účinnost nodulace u vojtěšky je závislá na přesné časoprostorové aktivaci SIMK (Hlaváčková et al., 2023). Molekulární mechanismus, kterým nadměrná exprese SIMK podporuje žádoucí fenotypy a zemědělsky zajímavé nové vlastnosti vojtěšky však není známý a je cílem studia navrhovaného projektu. Na základě dosavadních znalostí z výzkumu MPK6 u modelového druhu Arabidopsis, který je ortologem SIMK, předpokládáme, že na molekulárním mechanismu regulujícím odpověď vojtěšky na stres ze sucha, chladu a zasolení se podílejí transkripční faktor SPEECHLESS a ROP GEF1. SPEECHLESS (SPCH) společně s MUTE a FAMA patří do skupiny transkripčních faktorů, které regulují iniciaci a vývoj průduchů (MacAlister et al. 2007). SPCH je exprimován v mateřské meristemoidní buňce a po asymetrickém dělení je exprese omezena na menší meristemoid, který představuje prvotní základ průduchu. SPCH je potvrzeným cílovým proteinem, fosforylovaným prostřednictvím MPK6 (Lampard et al. 2008, Samakovli et al. 2020). Funkční regulace SPCH pomocí SIMK-závislé fosforylace u vojtěšky doposud nebyla objasněna, a je proto cílem tohoto projektu. Rostlinné malé GTPázy (ROP, RAN, RAB a ARF) jsou monomerní proteiny vázající guanin nukleotid di- nebo tri-fosfát (GDP nebo GTP) s molekulovou hmotností v rozmezí od 21 do 30 kDa (Müller 2023). Mohou existovat v neaktivním stavu vázané na cytosolový GDP a v aktivní GTP konformaci, ve které jsou vázané pomocí kotvy na membránu (Berken & Wittinghofer 2008). Tímto způsobem slouží malé GTPázy jako molekulární spínače pro různé signály na efektory (Takai et al. 2001). ROP jsou aktivovány pomocí ROP GEF proteinů, které zabezpečují konverzi z neaktivního na aktivní stav. ROP2 se podílí na polárním růstu pylových láček a kořenových vlásků (Carol et al. 2005; Denninger et al. 2019; Duan et al. 2010; Kang et al. 2017). Je aktivována interakcí ROP GEF1-FER (FERONIA Receptor-Like Kinase) během prodlužování kořenových vlásků (Chang et al. 2013; Müller 2023). ROP GEF hrají důležitou roli můstku, propojujícího přenos signálu z receptorových kináz na ROP. Na fosforylaci a regulaci funkce ROP GEF se podílí několik rodin kináz (Muschietti & Wengier 2018; Zhang et al. 2008; Zhu et al. 2018). Funkční fosforylace ROP GEF1 pomocí SIMK je velmi pravděpodobná a predikována, nicméně experimentálně doposud nebyla potvrzena.
--	---

Možnosti uplatnění výsledků, popř. okruh jejich uživatelů	Cíle projektu primárně spadají pod základní výzkum, ale z dlouhodobého hlediska mají předpokládané výsledky projektu veliký potenciál praktického využití pro zemědělství a ekologii. Tento fakt je podpořen připravovanou legislativou pro používání nových genotypů plodin připravených pomocí nových genomických metod, především CRISPR/CAS9 technologií. Návrh legislativní úpravy byl již doporučen Výborem Evropského parlamentu pro životní prostředí, veřejné zdraví a bezpečnost potravin a v prvním čtení v parlamentu schválen 24. dubna 2024. Navíc V USA je CRISPR/CAS9 technologie již dávno povolena a paradoxně EU státy nakupují od USA takovéto plodiny. Výsledky projektu budou publikovány v prestižních vědeckých časopisech (kategorie Jimp, v časopisech v prvním decilu kategorie Plant Science ve WOS). Důležitou cílovou skupinou budou také šlechtitelé a biotechnologové, protože inovativní metodický postup (kombinace metod genové editace, multi-omických přístupů a pokročilé mikroskopie) povedou k objevům nových molekulárních markerů odolnosti vojtěšky vůči abiotickým stresům. Pracoviště navrhovatele (KBT PŘF UP) má navázanou spolupráci s Výzkumným ústavem pícninářským v Troubsku, se kterým bude výsledky projektu diskutovat a sdílet. KBT garantuje výuku ve studijním programu Biotechnologie a Genové inženýrství (BGI). Studenti tohoto programu se zapojí do dílčích úloh projektu v rámci svých kvalifikačních prací. Důležitými členy řešitelského týmu budou dva studenti doktorského programu Biochemie pod vedením školitelů [REDACTED] Tito PhD studenti absolvují pravidelné pracovní stáže v laboratoři IGBB a díky projektu se zdokonalí ve všech plánovaných metodách. Navíc [REDACTED] se zapojí do výuky studentů BGI při jeho pravidelných pracovních cestách v Olomouci. Výsledky projektu také poslouží jako výukový materiál pro studenty programu BGI, který garantuje [REDACTED] Praktické zapojení a výuka studentů bude představovat další důležitou přidanou hodnotu tohoto projektu.
Předpokládané krátkodobé přínosy projektu - komentář	Projekt přispěje k pochopení odpovědi vojtěšky na abiotický stres na různých úrovních, od molekulární (klíčové geny <i>SIMK</i>, <i>SPCH</i> a <i>ROP GEF1</i>, proteom, fosfoproteom a metabolom), přes sub-buněčnou, buněčnou, orgánovou až na úroveň celé rostliny vojtěšky, včetně fenotypické charakterizace nových žádaných mutantů. Očekáváme, že výstupy projektu poskytnou komplexní charakterizaci odolnosti transgenních rostlin vojtěšky vůči chladu, suchu a zasolení. Proteomická, fosfoproteomická a metabolomická analýza identifikuje proteiny a metabolity vojtěšky podporující její odolnost na tento stres v závislosti na signalizačních modulech <i>SIMKK/SIMK/SPCH</i> a <i>SIMKK/SIMK/ROP GEF1</i>. Výsledky budou publikovány ve formě 2 primárních a 1 přehledové publikace v kategorii Jimp v prestižních vědeckých časopisech umístěných v prvním decilu kategorie Plant Science ve WOS (např. Molecular Plant, Plant Biotechnology Journal, Plant Physiology, atd.). Vzhledem na časovou náročnost metod budou publikovány v posledním roce řešení projektu.
Předpokládané dlouhodobé přínosy projektu - popis a komentář	Projekt má vysoký potenciál urychlit vývoj komerčně využitelných genotypů vojtěšky se zvýšenou odolností vůči abiotickým stresům. Tento výzkum může zejména pomoci zabránit snižování výnosů vojtěšky způsobené změnou klimatu a zhoršováním stavu půdy. Projekt významně přispěje k posílení udržitelnosti zemědělských systémů plodin. Z dlouhodobého hlediska bude projekt přínosem pro české a americké farmáře, spotřebitele a širokou veřejnost, stejně jako pro globální ekonomiku, s konečným cílem zajistit dostatek potravin pro rostoucí světovou populaci v průběhu klimatické krize a ohrožení.

3C. CÍLE PROJEKTU

3C. CÍLE PROJEKTU	
------------------------------	--

Popis cílů projektu	<u>Cíl 1: Charakterizace proteomických, fosfoproteomických a metabolomických regulačních sítí u linií vojtěšky s nad-expresí SIMK</u> <u>Úkol 1: Příprava transgenní linie s knock-out mutací SIMK pomocí CRISPR/CAS9 technologie</u> <u>Úkol 2: Fenotypové analýzy za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek s důrazem na tvorbu kořenových vlásků a průduchů</u> <u>Úkol 3: (Fosfo)proteomické analýzy za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek</u> <u>Úkol 4: Metabolomické analýzy za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek</u> Očekáváme, že fenotypy linií vojtěšky s nad-expresí SIMK, které se vyznačují vyšší produkcí nadzemní biomasy budou podmíněny přeprogramováním proteomu, fosfoproteomu a metabolomu. Proto (fosfo)proteomika a metabolomika (ve spolupráci s Tiborem Pechanem) pomohou dešifrovat komplexní proteinové a metabolické regulační sítě, důležité pro tento zemědělsky výhodný fenotyp za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek. Kombinace fosfoproteomiky a bioinformatických přístupů pomůže odhalit nové fosforylační cíle SIMK a tak objasnit mechanismy zodpovědné za fenotypové projevy transgenní linie. Objevené proteiny a metabolity budou validovány pomocí dalších nezávislých metod (imunoblotování, měření specifické aktivity enzymů, lokalizace a ko-lokalizace, metabolické markery, pokročilá mikroskopie jako light-sheet fluorescenční mikroskopie a Airyscan konfokální laserová mikroskopie). <i>Očekávané výsledky pro cíl 1:</i> Rozsáhlé multi-omické analýzy linií s nad-expresí SIMK odhalí (fosfo)proteomické a metabolomické sítě regulované prostřednictvím SIMK. Objevení proteinů a metabolitů podmiňujících změny fenotypů linií vojtěšky s nadprodukcí SIMK za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek. Očekáváme, že pomocí (fosfo)proteomiky a metabolomiky identifikujeme proteiny a metabolity klíčové pro produkci zelené biomasy za kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínek. <u>Cíl 2: Validace protein-proteinových interakcí SIMK a SPCH, SIMK a ROP GEF1</u> <u>Úkol 5. Kvasinkový dvou hybridní systém (Y2H)</u> <u>Úkol 6. Bimolekulární fluorescenční komplementace (BiFC)</u> <u>Úkol 7. Identifikace MAPK-specifických fosforylačních míst u SPCH a ROP GEF1</u> Cílem bude využít dvě nezávislé metody na validaci protein-proteinových interakcí mezi SIMK a SPCH a mezi SIMK a ROP GEF1. Interakce budou potvrzeny pomocí kvasinkového dvou-hybridního systému (Y2H) a bimolekulární fluorescenční komplementace (BiFC). Druhá z metod přinese také cenné informace o subcelulární lokalizaci interagujících proteinů. Paralelním cílem bude také zjistit, zda dochází k fosforylaci interakčních partnerů SPCH a ROP GEF1 pomocí SIMK a identifikace MAPK-specifických fosforylačních míst v aminokyselinových sekvencích těchto cílových proteinů. <i>Očekávané výsledky pro cíl 2:</i> Potvrzení interakce SIMK s SPCH a ROP GEF1 dvěma vzájemně komplementárními, ale nezávislými metodami (Y2H a BiFC). Identifikace SIMK-specifických fosforylačních míst ve SPCH a ROP GEF1. <u>Cíl 3: Funkční studie SPCH a ROP GEF1 v rostlinách</u> <u>Úkol 8: Genová editace, knockout (KO) genů SPCH a ROP GEF1 a jejich nadměrná exprese ve vojtěšce</u> <u>Úkol 9: Fenotypová a fyziologická charakterizace těchto nových linií vojtěšky</u> <u>Úkol 10: (Fosfo)proteomická a metabolomická charakterizace těchto nových linií vojtěšky</u> Cílem bude pomocí moderních metod genové editace (CRISPR/CAS9) připravit fosfomimikující a nefosforylovatelné verze SPCH a ROP GEF1, dále úplně vyřadit jejich expresi (knockout, KO) nebo je nadexprimovat v transgenních liniích vojtěšky. Následovat budou systematické fenotypové analýzy těchto linií, společně s liniemi SIMKK RNAi a GFP-SIMK v podmínkách stresu ze sucha, chladu a zasolení, které poslouží k funkční charakterizaci těchto proteinů u vojtěšky. Cílem je také charakterizovat (fosfo)proteom a metabolom vybraných transgenních linií v podmínkách stresu, což pomůže pochopit mechanismus jejich účinku a odhalit nové proteiny, které jsou regulovány pomocí SPCH a ROP GEF1. <i>Očekávané výsledky pro cíl 3:</i> Budou získány nové knockout (KO) linie vojtěšky v genech SPCH a ROP GEF1 a také s mutacemi ve fosforylačních místech SPCH a ROP GEF1 pro jejich funkční regulaci pomocí SIMK, stejně jako linie s nad-expresí SPCH a ROP GEF1. Budou získány důležité informace o jejich odolnosti vůči suchu, chladu a zasolení a možném mechanismu jejich účinku.
-----------------------------------	--

3D. ETAPY A VÝSLEDKY PROJEKTU

3D. ETAPY A VÝSLEDKY PROJEKTU	
Počet etap projektu	3
Identifikační číslo etapy	1
Název etapy	Komplexní charakterizace linií vojtěšky s nad-expresí SIMK v jejich odpovědi na stres ze sucha, chladu a zasolení
Zahájení etapy	03/2025
Ukončení etapy	12/2026
Popis etapy	V rámci této etapy bude dokončena příprava knock-out (KO) linií vojtěšky v <i>SIMK</i> genu metodou multiplex CRISPR/CAS9. Konstrukt byl již připraven a úspěšně validován v listech <i>Nicotiana tabacum</i>. Dosavadní velmi důležité výsledky transformace vojtěšky již ukazují mutaci ve dvou ze čtyř <i>SIMK</i> alel, přičemž bylo pomocí Western blotu zaznamenáno výrazné snížení abundance SIMK (Obrázek 2). V rámci etapy bude probíhat příprava další generace cizosprášením pomocí čmeláků zemních (http://www.ceskycmelak.cz/, Troubsko) a další selekce pro získání plné KO mutace v genu <i>SIMK</i>. Budou provedeny fenotypové analýzy transgenních linií vojtěšky s nad-expresí <i>SIMK</i> a knock out mutací <i>SIMK</i> v kontrolních podmínkách a při stresu z chladu, sucha a zasolení. Kromě parametrů odolnosti linií na tyto stresy (např. čerstvá hmotnost, peroxidace lipidů), budou kvantitativně sledovány fenotypy průduchů pro vyhodnocení možného zapojení SPCH a kořenových vlásků pro vyhodnocení možného zapojení ROP GEF1 (Cíl 1, úkoly 1-4). Budou také provedeny proteomické, fosfoproteomické a metabolomické analýzy transgenních linií vojtěšky s nadexpresí <i>SIMK</i> a CRISPR/CAS9 KO mutací <i>SIMK</i> v kontrolních podmínkách a při stresu z chladu, sucha a zasolení. V rámci proteomické a fosfoproteomické analýzy bude připravena peptidová směs, která bude v lyofilizované formě odeslána do laboratoře amerického partnera na IGBB, kde bude provedena hmotnostní spektrometrie a kvantifikace proteinů a fosfoproteinů. Kvantitativní data budou bioinformaticky vyhodnocena v laboratoři českého partnera (Katedra biotechnologií PŘF UP) a významné proteiny ovlivňující odpověď nových linií vojtěšky na chlad, sucho a sůl budou validovány již spolehlivě ověřenými a nezávislými biochemickými a buněčně biologickými metodami, stejně jako v našich společných předchozích publikacích s americkým partnerem. V rámci této etapy bude uskutečněna stáž [redacted] PhD studentky a členky řešitelského týmu v laboratoři amerického partnera. PhD studentka se bude podílet na analýzách (fosfo)proteomu a metabolomu nových linií vojtěšky. Získá tak cenné zručnosti a dovednosti v kapalinové chromatografii, hmotnostní spektrometrii včetně identifikace (fosfo)peptidů a proteinů a jejich bioinformatické evaluace. Detailní harmonogram etapy je uveden v Tabulce 1 v příloze.
VÝSLEDKY druhu J (a sice poddruhu Jimp a JSc); dále výsledky druhu B, C a D; popř. výsledky typu P, F, G, R, Z v dané etapě	/ Jimp/ Integrative advanced microscopy-OMICs based approach revealed a SIMK-dependent (fosfo)proteo-metabolic networks underlying alfalfa responses to salt, los temperature and drought stress/ Plant Biotechnology Journal/ IF 10,1 – experimentální odborný článek
VÝSLEDKY ostatních typů v dané etapě	

Identifikační číslo etapy	2
Název etapy	Příprava genových konstruktů a transgenních linií vojtěšky, identifikace MAPK-specifických fosforylačních míst u SPCH a ROP GEF1
Zahájení etapy	03/2025
Ukončení etapy	12/2027
Popis etapy	Budou provedeny aktivity a experimenty zaměřené na validaci interakcí mezi SIMK a SPCH, SIMK a ROP GEF1 pomocí zaběhnutých metod Y2H a BiFC (Cíl 2, úkoly 5-7). Budou také identifikovány SIMK-specifická fosforylační místa v aminokyselinových sekvencích SPCH a ROP GEF1 pomocí kombinace metody „in gel kinase assay“ a hmotnostní spektrometrie (Cíl 2 úkol 7). Navíc budou připraveny konstrukty s funkčně-modifikovanými (mutace fosforylačních míst) a vyřazenými nebo nad-exprimovanými geny pro <i>SPCH</i> a <i>ROP GEF1</i> (Cíl 3, úkol 7). Pomocí těchto konstruktů budou připraveny nové linie vojtěšky zaběhnutou metodou transformace somatických embryí pomocí <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Cíl 3, úkol 8). Detailní harmonogram etapy je uveden v Tabulce 1 v příloze.
VÝSLEDKY druhu J (a sice poddruhu Jimp a JSc); dále výsledky druhu B, C a D; popř. výsledky typu P, F, G, R, Z v dané etapě	2/ Jimp/ SIMK binds and phosphorylates SPEECHLESS transcription factor to regulate alfalfa responses to salt, low temperature and drought stress/ Plant Physiology/ IF 7,4 - experimentální odborný článek
VÝSLEDKY ostatních typů v dané etapě	
Identifikační číslo etapy	3
Název etapy	Funkční analýza nových transgenních linií vojtěšky
Zahájení etapy	09/2027
Ukončení etapy	12/2028
Popis etapy	Bude provedena fenotypová analýza nových linií vojtěšky připravených během etapy 2 vystavených stresu z chladu, sucha a zasolení pomocí konvenčních analýz (měření čerstvé hmotnosti, růstu, a peroxidace lipidů) a také se zaměřením na průduchy a kořenové vlásky (Cíl 3, úkol 9). Během této etapy bude také provedena proteomická, fosfoproteomická a metabolická analýza těchto nových linií vojtěšky v kontrolních a stresových (chlad, sucho, zasolení) podmínkách (Cíl 3, úkol 10). Tyto analýzy povedou k identifikaci na SPCH a ROP GEF1 – závislých mechanismů zodpovědných za změněnou odpověď vojtěšky na chlad, sucho a zasolení. V rámci této etapy budou uskutečněny stáže dvou PhD studentů (členů řešitelského týmu) v laboratoři amerického partnera (rok 2027 a 2028). PhD studenti se budou podílet na analýzách (fosfo)proteomu a metabolomu nových linií vojtěšky. Získají tak cenné zkušenosti v kapalinové chromatografii, hmotnostní spektrometrii včetně identifikace a bioinformatické evaluace (fosfo)peptidů a proteinů. Detailní harmonogram etapy je uveden v Tabulce 1 v příloze.

VÝSLEDKY druhu J (a sice poddruhu Jimp a JSc); dále výsledky druhu B, C a D; popř. výsledky typu P, F, G, R, Z v dané etapě	3/ Jimp/ Proteo-metabolomic insights into alfalfa abiotic stress response. Biotechnological perspective./ Biotechnology advances/ IF 17,681 – přehledový článek
VÝSLEDKY ostatních typů v dané etapě	

3E. STRATEGIE A METODIKA ŘEŠENÍ PROJEKTU

3E. STRATEGIE A METODIKA ŘEŠENÍ PROJEKTU	
---	--

Strategie a metodika	Kvasinkový dvouhybridní systém (Y2H) Interakce mezi SIMK a SPCH a mezi SIMK a ROP GEF1 budou validovány pomocí metody Y2H, ve které interakce 2 proteinů spíná expresi reportérového genu, který umožní růst kvasinek na specifickém selekčním médiu. Vektory pro SIMK byly v naší laboratoři již připraveny. Metoda Y2H bude provedena podle postupu uvedeném v naší předchozí práci (Samakovli et al. 2020). Bimolekulární komplementace fluorescence (BiFC) In vivo interakce mezi SIMK a SPCH a mezi SIMK a ROP GEF1 budou nezávisle testovány a potvrzeny také pomocí BiFC. Vektory pro SIMK potřebné pro BiFC byly v naší laboratoři již připraveny. Experiment BiFC bude proveden podle postupu uvedeném v našich předchozích pracích (Samakovli et al. 2020; Vadovič et al. 2019). Tyto experimenty také odhalí subcelulární místa interakce daných proteinů. Identifikace SIMK specifických fosforylačních míst v SPCH a ROP GEF1 SIMK-závislá fosforylace SPCH a ROP GEF1 bude testována neradioaktivním <i>in vitro</i> kinázovým testem s použitím rekombinantních proteinů. Vektory pro produkci rekombinantní SIMK jsou k dispozici v laboratoři navrhovatele. Gelové pásy odpovídající fosforylovaným SPCH a ROP GEF1 budou vyřezány z gelu a proteiny budou extrahovány. Fosforylační místa budou identifikována hmotnostní spektrometrií s využitím ETD disociace. Výsledky budou korelovány s bioinformatickou predikcí, nebo s publikovanými daty pro AtMPK6, ortologa SIMK z Arabidopsis. Pro MtRopGEF1 jsme bioinformaticky predikovali T239 jako nejpravděpodobnější cíl fosforylace prostřednictvím SIMK. SPCH je fosforylován u Arabidopsis na 5 reziduích, ze kterých se S190 jeví jako nejvýznamnější a specifický pro MPK6 (Lampard et al. 2008). Všechny 5 míst vykazují velkou míru konzervace mezi Arabidopsis a vojtěškou. Funkční genová editace SPCH a ROP GEF1 (fosforylační místa) a jejich knockout a nadměrná exprese Příprava genových konstruktů a transgenních linií vojtěšky s funkčními editacemi <i>SPCH</i> a <i>ROP GEF1</i> (fosforylační místa), knockout mutace (pomocí technologie CRISPR/CAS9) a nadměrná exprese pod kontrolou konstitutivních promotorů <i>UBQ10</i> nebo <i>pEF1α</i>. Pro fosfomimické modifikace budou identifikována rezidua serinu nebo treoninu substituována za kyselinu glutamovou, přičemž fosfomutované (nefosforylovatelné) verze SPCH a ROP GEF1 budou připraveny pomocí substituce serinu nebo treoninu za alanin. Fenotypová charakterizace nových linií vojtěšky Linie vojtěšky s nad-expresí SIMK (Hrbáčková et al. 2021) a také nové transgenní linie se zmíněnými genovými konstrukty pro <i>SPCH</i> a <i>ROP GEF1</i> budou vystaveny chladu (4 °C), zasolení (50-300 mM NaCl a KCl) a suchu (krátkodobému a dlouhodobému nedostatku vody). Jejich odolnost vůči těmto stresům bude vyhodnocena na základě kvantitativního vyhodnocení fenotypů (se zaměřením na průduchy a kořenové vlásky), produkci biomasy a celkovou vitalitu rostlin. (Fosfo)proteomické analýzy Budou stanoveny změny ve (fosfo)proteomu transgenních linií vojtěšky s nad-expresí <i>SIMK</i> a geneticky modifikovanými <i>SPCH</i> a <i>ROP GEF1</i> ve srovnání s kontrolními liniemi na rostlinném materiálu pocházejícím z kontrolních podmínek a stresu ze sucha, chladu a zasolení. Bude využita kvantitativní bezgelová proteomická analýza kombinovaná s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Fosfopeptidy budou obohaceny afinitní chromatografií pomocí Spin-Tip Polymac-Ti. Fosforylační motivy budou zkoumány pomocí bioinformatických nástrojů, jako je databáze NetPhos - 3.1 (https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/) a GPS 6.0 (https://gps.biocuckoo.cn/). Fosfoproteiny nesoucí MAPK-specifická fosforylační místa (motivы SP a TP) a dokovací místa (predikováno pomocí Eukaryotic Linear Motif, http://elm.eu.org/) a vykazující zvýšenou fosforylaci v linii s nadměrnou expresí SIMK budou představovat nejpravděpodobnější cílové proteiny SIMK. Data budou interpretována v kontextu fenotypů rostlin způsobených suchem, chladem a zasolením. (Fosfo)proteomické výsledky budou validovány a doplněny biochemickými a buněčně-biologickými metodami (Takáč et al. 2017). Metabolomické analýzy Budou stanoveny změny v abundanci metabolitů u všech výše uvedených transgenních linií vojtěšky v kontrolních podmínkách a při stresu ze sucha, chladu a zasolení. Metabolity budou extrahovány a frakcionovány směsí terc-butylmethylether/methanolu, derivatizovány a měřeny pomocí tandemového hmotnostního spektrometru Orbitrap-LTQ Velos s možností detekce v MSn módu, zatímco software Mass Frontier (ThermoFisher Scientific) bude použit k vytvoření vlastní databáze detekovaných metabolitů a standardů. Do konečného seznamu identifikovaných sloučenin budou zahrnuty pouze metabolity, které splňují přísná identifikační kritéria (skóre > 90 a DRI < 5 %). Bioinformaticky budou hodnoceny odlišně regulované metabolity, např. G. programem MetaboAnalyst. Tento přístup umožňuje identifikaci a kvantifikaci více než 200 sloučenin relevantních pro reakce rostlin na abiotický stres.
----------------------	--

Analýza rizik ohrožujících dosažení výsledků projektu	Návrh řešení projektu zahrnuje mnoho náročných sofistikovaných metod. Navrhovaný projekt je tedy ambiciózní, ovšem zcela reálně splnitelný. Náš řešitelský tým již zvládl všechny navrhované metody ve své dosavadní vědecké práci a má dostatek zkušeností k tomu, aby věděl, jak správně navrhnout, provést a analyzovat každý experiment z projektového záměru. Efektivní využívání navrhovaných metod dokládá souhrn naší publikační aktivity. Vezmeme-li do úvahy dosavadní vysoce produktivní a efektivní spolupráci se zahraničním partnerem, [REDAKCE] jsme přesvědčeni, že naše budoucí výzkumná spolupráce bude, co se týče kvality výstupů, ještě plodnější. Úspěšné řešení a dokončení projektu bude zabezpečeno detailně naplánovaným finančním zabezpečením. Potřebné pokročilé biochemické, proteomické a mikroskopické vybavení je v přímém užívání navrhovatele projektu a jeho spolupracovníků, kteří jsou výhradními provozovateli tohoto zařízení, s rozsáhlými zkušenostmi a získanými odbornými znalostmi. Samozřejmě bereme do úvahy některé principiální omezení a případná rizika navrhované metodiky. Například může být náročné získat dobrou reprodukovatelnost výsledků kvantitativní proteomiky metodou LC-MS/MS. Budeme proto brát do úvahy několik faktorů, které mohou ovlivnit tyto výsledky, a to od přípravy vzorku přes iontové koeluce až po efekty prostorového náboje v iontové pasti. Test Y2H může být zatížen falešně pozitivními výsledky, a proto vyžaduje vhodné kontroly. Tato metoda proto bude potvrzena jinou nezávislou metodou in vivo interakce, jako je BiFC. Podobný postup jsme zvolili v naší nedávné publikaci v Molecular Plant pro potvrzení interakce mezi HSP90 a YODA kinázou. Potenciální rizika mohou vyplynout z výběru promotoru pro nad-expresi. Tato rizika budou minimalizována použitím dvou různých konstitutivních promotorů <i>UBQ10</i> a <i>EF1α</i> pro nadprodukční linie. V každém transformačním experimentu vytvoříme, vyselektujeme a ověříme alespoň tři nezávislé linie, se kterými budeme provádět další analýzy dle navržených cílů a úkolů. Jsme si vědomi případných těžkostí, které vyplývají ze složitosti genomu vojtěšky. Ačkoliv to může být náročné, modularita a flexibilita klonovacího systému používaného pro CRISPR-KO umožňuje vhodnou optimalizaci. V naší laboratoři jsme již klonovali CAS9 pod kontrolou UBQ10 promotoru, abychom zvýšili aktivitu nukleázy. Alternativně se připraví kazeta indukovatelného promotoru, aby se zabránilo možné buněčné toxicitě a účinkům mimo stanovený cíl v důsledku prodloužené konstitutivní exprese CAS9. Efektivitu mutagenese dále zvýší CAS9 cílený několika gRNA (až 12 různých pozic) v jediném vektoru pod kontrolou promotoru U6 pro každou studovanou sekvenci. V případě nevhodnosti U6::gRNA bude jeden promotor kombinován s polycistronním genovým konstruktem, ve kterém jsou gRNA proloženy sekvencemi transferové RNA nebo rozpoznávacími místy Yersinia 4 (Csy4) systému CRISPR. Nicméně jsme přesvědčeni, že žádné z těchto možných omezení nám nezabrání v dosažení smysluplných a velmi cenných výsledků. Pro zajištění funkční charakterizace studovaných genů bude pro snížení jejich exprese paralelně použita RNAi technologie, která je rutinně zavedena v laboratoři hostitele (např. Bekešová et al., 2015).
--	---

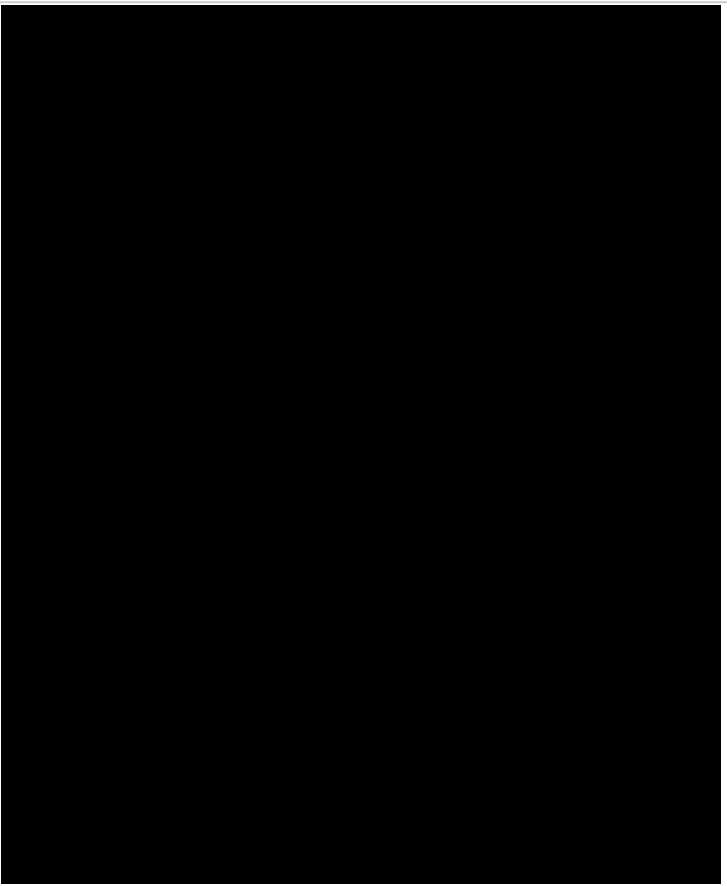
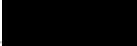
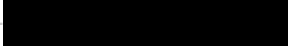
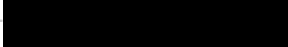
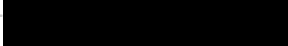
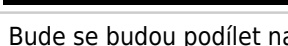
4A. PROJEKTOVÝ A ŘEŠITELSKÝ TÝM

4A. PROJEKTOVÝ A ŘEŠITELSKÝ TÝM	
--	--

Popis týmu	Laboratoř [REDACTED] kombinuje moderní biotechnologické a klonovací strategie, editaci genů pomocí CRISPR/CAS9 a TALEN, RNA interference, nadměrnou expresi a stabilní transformaci rostlin s genetickými, biochemickými a pokročilými mikroskopickými metodami k získání mechanických a funkčních informací o vývoji rostlin a jejich stresových reakcích. Výzkumný tým tohoto projektu má 5 členů. Hlavní řešitel [REDACTED] [REDACTED] Věříme, že náš tým má veškeré potřebné know-how, odbornost, dovednosti, obětavost, historii úspěchů a prostředky k úspěšnému vyřešení tohoto projektu, podobně jako v předchozích excelentně řešených projektech EU, DFG a GAČR.	
Prokázání schopnosti řešit danou problematiku	Katedra biotechnologií, PŘF je výborně vybavena pro realizaci tohoto projektu, včetně laboratoří molekulární biologie, biochemie a proteomiky a pokročilé mikroskopie. Pro pěstování rostlin v přesně definovaných podmínkách jsou laboratoře žadatele vybaveny sofistikovanými fytokomorami a fytotrony, k dispozici jsou i speciální skleníkové kultivační prostory pro práci s vojtěškou (https://www.prf.upol.cz/kbt/). Rozsah a technická úroveň stávajícího vybavení jsou vysoce nadstandardní pro realizaci plánovaného projektu. Členové týmu mají potřebné znalosti a praktické dovednosti ve všech navrhovaných metodách a technikách kromě fosfoproteomiky a metabolomiky, která bude nevyhnutně zabezpečena zahraniční spoluprací s [REDACTED] v USA.	
Titul před jménem	[REDACTED]	
Jméno člena/členky týmu	[REDACTED]	
Příjmení člena/členky týmu	[REDACTED]	
Titul za jménem	[REDACTED]	

Role osoby v projektu	ŘEŠITEL
Název organizace účastníka	Univerzita Palackého v Olomouci
Telefonní číslo	
E-mailová adresa	
Ročník narození	
Státní příslušnost	
Stěžejní vykonávané činnosti při řešení projektu	Bude zajišťovat všechnu infrastrukturu, koordinovat výzkumné úkoly, podílet se na experimentálním plánu, vyhodnocovat výsledky a prezentovat je na mezinárodních konferencích, připravovat publikace, mentorovat a školit jednoho nového PhD studenta.
Pracovní kapacita vymezená na projekt (část úvazku)	0,2
Prokázání odborné způsobilosti (5 nejlepších dosažených výsledků)	
Titul před jménem	
Jméno člena/členky týmu	
Příjmení člena/členky týmu	
Titul za jménem	
Role osoby v projektu	ČLEN TÝMU
Název organizace účastníka	Univerzita Palackého v Olomouci
Telefonní číslo	
E-mailová adresa	
Ročník narození	
Státní příslušnost	

Stěžejní vykonávané činnosti při řešení projektu	Bude hlavní osobou odpovědnou za přípravu vzorků, vyhodnocení a interpretaci (fosfo)proteomických a metabolomických experimentů z MS analýz provedených [REDACTED] a PhD studenty s Katedry biotechnologií. Bude mentorovat PhD studentku [REDACTED] které bude školitelem.	
Pracovní kapacita vymezená na projekt (část úvazku)	0,2	
Prokázání odborné způsobilosti (5 nejlepších dosažených výsledků)	[REDACTED]	
Titul před jménem	[REDACTED]	
Jméno člena/členky týmu	[REDACTED]	
Příjmení člena/členky týmu	[REDACTED]	
Titul za jménem	[REDACTED]	
Role osoby v projektu	ČLEN TÝMU	
Název organizace účastníka	Univerzita Palackého v Olomouci	
Telefonní číslo	[REDACTED]	
E-mailová adresa	[REDACTED]	
Ročník narození	[REDACTED]	
Státní příslušnost	[REDACTED]	
Stěžejní vykonávané činnosti při řešení projektu	Přispěje zejména účinnou transformací a kultivací vojtěšky v kontrolních a stresových podmínkách ve fytotronech, kultivačních komorách a skleníku. Bude provádět molekulární klonování a přípravu konstruktů CRISPR/CAS9 pro SPCH a ROP GEF1, Y2H a BiFC experimenty, transformaci vojtěšky těmito konstrukty a část fenotypových analýz. Dále bude pracovat v oblasti pokročilé mikroskopie (LSFM a Airyscan CLSM).	
Pracovní kapacita vymezená na projekt (část úvazku)	0,7	

Prokázání odborné způsobilosti (5 nejlepších dosažených výsledků)		
Titul před jménem		
Jméno člena/členky týmu		
Příjmení člena/členky týmu		
Titul za jménem		
Role osoby v projektu	ČLEN TÝMU	
Název organizace účastníka	Univerzita Palackého v Olomouci	
Telefonní číslo		
E-mailová adresa		
Ročník narození		
Státní příslušnost		
Stěžejní vykonávané činnosti při řešení projektu	Bude se budou podílet na molekulárním klonování proteinu ROP GEF1, přípravu KO konstruktů CRISPR/CAS9, experimenty Y2H, BiFC a mikroskopické zobrazování a analýzy. Bude se také podílet v úzké spolupráci s americkým partnerem na přípravě a analýze materiálu a vzorků pro všechny OMICs analýzy. Bude odpovědna za imuno-lokalizační experimenty a část fenotypových analýz.	
Pracovní kapacita vymezená na projekt (část úvazku)	0,5	

Prokázání odborné způsobilosti (5 nejlepších dosažených výsledků)		
Titul před jménem		
Jméno člena/členky týmu		
Příjmení člena/členky týmu		
Titul za jménem		
Role osoby v projektu	ČLEN TÝMU	
Název organizace účastníka	Univerzita Palackého v Olomouci	
Telefonní číslo		
E-mailová adresa		
Ročník narození		
Státní příslušnost		
Stěžejní vykonávané činnosti při řešení projektu	Přispěje zejména účinnou transformací a kultivací vojtěšky v kontrolních a stresových podmínkách ve fytotronech, kultivačních komorách a skleníku. Bude provádět molekulární klonování a přípravu konstruktů CRISPR/CAS9 pro SPCH a ROP GEF1, Y2H a BiFC experimenty, transformaci vojtěšky těmito konstrukty a část fenotypových analýz. Dále bude pracovat v oblasti pokročilé mikroskopie (LSFM a Airyscan CLSM).	
Pracovní kapacita vymezená na projekt (část úvazku)	0,5	
Prokázání odborné způsobilosti (5 nejlepších dosažených výsledků)	je perspektivní student navazujícího studia programu Biotechnologie a genové inženýrství s vynikajícími studijními výsledky, který plánuje pokračovat ve studiu na doktorském studijním programu Biochemie pod vedením školitele od 1.9.2025	

5A. NÁKLADY PROJEKTU

5A. NÁKLADY PROJEKTU - JEDNOTLIVÉ POLOŽKY UVÁDĚJTE V CELÝCH ČÍSLECH A BEZ MEZER (1000 - ANO; 1 000 - NE)	
--	--

Univerzita Palackého v Olomouci #35	2025	2026	2027	2028	Celkem	
	Osobní náklady - celkem	928792	1248452	1248452	1248452	4674148
	Osobní náklady - požadovaná podpora	928792	1248452	1248452	1248452	4674148
		Osobní náklady v roce 2025 (1.3.-31. 12. 2025, 10 měsíců) činí celkem 928792 Kč. Náklady na mzdy navrhovatele a spolupracovníků činí 916792 Kč, včetně sociálního a zdravotního pojištění a sociálního fondu. Budou vyplaceny mzdy pro hlavního řešitele členů řešitelského týmu	Osobní náklady v roce 2026 (1. 1. - 31. 12. 2026, 12 měsíců) činí celkem 1 248 452 Kč. Náklady na mzdy navrhovatele a spolupracovníků činí 1 236 452 Kč, včetně sociálního a zdravotního pojištění a sociálního fondu. Budou vyplaceny mzdy pro hlavního řešitele členů řešitelského týmu	Osobní náklady v roce 2027 (1. 1. - 31. 12. 2027, 12 měsíců) činí celkem 1 248 452 Kč. Náklady na mzdy navrhovatele a spolupracovníků činí 1 236 452 Kč, včetně sociálního a zdravotního pojištění a sociálního fondu. Budou vyplaceny mzdy pro hlavního řešitele členů řešitelského týmu	Osobní náklady v roce 2028 (1. 1. - 31. 12. 2028, 12 měsíců) činí celkem 1 248 452 Kč. Náklady na mzdy navrhovatele a spolupracovníků činí 1 236 452 Kč, včetně sociálního a zdravotního pojištění a sociálního fondu. Budou vyplaceny mzdy pro hlavního řešitele členů řešitelského týmu	---
	Komentář	Od 1. 9. 2025 příbude do řešitelského týmu Výše pracovních úvazků je ušmárná pracovním úkolům uvedeným v návrhu projektu. V rámci dohod o provedení práce bude vyplacena odměna magisterským studentům studijního programu BGI (celkem 12 000 Kč) podléjícím se na řešení projektu mimo rámec jejich diplomových prací.	Výše pracovních úvazků je ušmárná pracovním úkolům uvedeným v návrhu projektu. V rámci dohod o provedení práce bude vyplacena odměna magisterským studentům studijního programu BGI (celkem 12 000 Kč) podléjícím se na řešení projektu mimo rámec jejich diplomových prací.	Výše pracovních úvazků je ušmárná pracovním úkolům uvedeným v návrhu projektu. V rámci dohod o provedení práce bude vyplacena odměna magisterským studentům studijního programu BGI (celkem 12 000 Kč) podléjícím se na řešení projektu mimo rámec jejich diplomových prací.	Výše pracovních úvazků je ušmárná pracovním úkolům uvedeným v návrhu projektu. V rámci dohod o provedení práce bude vyplacena odměna magisterským studentům studijního programu BGI (celkem 12 000 Kč) podléjícím se na řešení projektu mimo rámec jejich diplomových prací.	---
	Ostatní zboží a služby - celkem	300000	350000	350000	200000	1200000
	Ostatní zboží a služby - požadovaná podpora	300000	350000	350000	200000	1200000
		V rámci projektu jsou požadovány poměrně nízké finanční prostředky (zhruba polovina v porovnání s běžnými standardními projekty GAČR excelentně vyřešenými na stejném pracovišti v nedávné minulosti). Část prostředků na Ostatní zboží a služby bude využita na nákup spotřebního materiálu pro kultivaci rostlin a transgenických linií vojtěšky v in vitro a in vivo podmínkách (celkem cca 50 tis Kč za Petriho misky a kultivační nádoby (např. cena kultivačních nádob činí 11 tis Kč/180 ks, cena Petriho misek 2 tis Kč/180 ks), chemikálie pro přípravu médií včetně růstových regulátorů (např. MS médium 1,5 tis Kč/500l, Phytigel 8 tis Kč/0,5 kg, kinetin 600 Kč/1g)), půdní substrát (280 Kč/70l), květináče) potřebných pro fenotypové, (festo)proteomické a metabolické analýzy (úkol 2-4). Další prostředky (celkem cca 80 tis Kč) použijeme na nákup chemikálií a spotřebního materiálu pro molekulární biologii, klonování a genovou editaci vojtěšky (úkol 1, 8, média pro kultivaci bakterií např. LB médium cca 8 tis. Kč/kg), primery (cca 150 Kč/kus), kity na čištění plasmidové DNA (cca 15 tis Kč/kus), restrikční enzymy (obvykle kolem 2 tis Kč/kus), vektory (cca 2 tis Kč/kus), DNA polymerazy (cca 4 000 Kč/kus), klonážy (cca 30 tis Kč/kus), ligázy (cca 2 tis Kč/kus)). Bude zakoupen spotřební materiál a chemikálie pro přípravu vzorků na proteomické a metabolické analýzy (úkol 3, 4; celkem 80 tis Kč: gravitační C18 kolony (12 tis Kč), trypsin (6 tis Kč), lys-C (10 tis Kč), biotovací membrány (10 tis Kč), kit pro enrichment fosfopeptidů - 24 reakcí 18 000 Kč, inhibitory fosfatáz a proteáz (12 tis Kč), acetonitril (4 tis Kč, atd), ale také pro biochemické analýzy pro validaci proteomických dat (celkem 60 tis Kč), jako např. protilátky (cena 1 protilátky činí kolem 13000 Kč), běžné chemikálie pro extrakci proteinů, polyakrylamidovou elektroforézu a western blot (např. glycin 3,5 tis Kč/kg, akrylamid roztok 3,5 tis Kč/500ml, SDS 13000 Kč/lkg; BSA 25000 Kč/lkg). Budou zakoupeny potřeby pro pokročilou mikroskopii (celkem za cca 70 tis Kč), která bude využita na validaci proteomických a metabolických analýz (úkol 3, 4). Materiál bude zahrnovat např. tuňá a tekutá média (4 tis Kč), drážky vzorků (20 tis Kč), řezáčka FEP kapilár (8 tis Kč) a FEP tubičky o různém průměru (16 tis Kč). Prostředky budou také použity na nákup základních potřeb pro mikroskopii včetně podložních a krycích skel, na nákup specifických protilátek (orientačně cena protilátky činí 15 tis Kč), inhibitorů a vitálních fluorescenčních barvivček (např. FM4-64 za 17 tis Kč). Prostředky budou využity k nábřežné opořbovovaného drobného hmotného majetku (cca 30 tis Kč, automatické pipety, vortexy, mikrocetrifuga, UV lampy, osvětlovací tělesa do kulturních místností apod.). Budou také hrazeny náklady na sekenační služby, registrační poplatky na mezinárodní konferenci a případné opravy stávajícího zařízení (celkem za 40 tis Kč).	Část prostředků bude využita na nákup spotřebního materiálu pro kultivaci rostlin a transgenických linií vojtěšky v in vitro a in vivo podmínkách (celkem cca 50 tis Kč za Petriho misky a kultivační nádoby (např. cena kultivačních nádob činí 11 tis Kč/180 ks, cena Petriho misek 2 tis Kč/180 ks), chemikálie pro přípravu médií včetně růstových regulátorů (např. MS médium 1,5 tis Kč/500l, Phytigel 8 tis Kč/0,5 kg, kinetin 600 Kč/1g)), půdní substrát (280 Kč/70l), květináče) potřebných pro fenotypové, (festo)proteomické a metabolické analýzy (úkol 2-4). Další prostředky (celkem cca 80 tis Kč) použijeme na nákup chemikálií a spotřebního materiálu pro molekulární biologii, klonování a genovou editaci vojtěšky (úkol 1, 8, média pro kultivaci bakterií např. LB médium cca 8 tis. Kč/kg), primery (cca 150 Kč/kus), kity na čištění plasmidové DNA (cca 15 tis Kč/kus), restrikční enzymy (obvykle kolem 2 tis Kč/kus), vektory (cca 2 tis Kč/kus), DNA polymerazy (cca 4 000 Kč/kus), klonážy (cca 30 tis Kč/kus), ligázy (cca 2 tis Kč/kus)). Bude zakoupen spotřební materiál a chemikálie pro přípravu vzorků na proteomické a metabolické analýzy (úkol 3, 4; celkem 80 tis Kč: gravitační C18 kolony (12 tis Kč), trypsin (6 tis Kč), lys-C (10 tis Kč), biotovací membrány (10 tis Kč), kit pro enrichment fosfopeptidů - 24 reakcí 18 000 Kč, inhibitory fosfatáz a proteáz (12 tis Kč), acetonitril (4 tis Kč, atd), ale také pro biochemické analýzy pro validaci proteomických dat (celkem 40 tis Kč), jako např. protilátky (cena 1 protilátky činí kolem 13000 Kč), běžné chemikálie pro extrakci proteinů, polyakrylamidovou elektroforézu a western blot (např. glycin 3,5 tis Kč/kg, akrylamid roztok 3,5 tis Kč/500ml, SDS 13000 Kč/lkg; BSA 25000 Kč/lkg). Budou zakoupeny potřeby pro pokročilou mikroskopii (celkem za cca 70 tis Kč), která bude využita na validaci proteomických a metabolických analýz (úkol 3, 4). Materiál bude zahrnovat např. tuňá a tekutá média (4 tis Kč), drážky vzorků (20 tis Kč), řezáčka FEP kapilár (8 tis Kč) a FEP tubičky o různém průměru (16 tis Kč). Prostředky budou také použity na nákup základních potřeb pro mikroskopii včetně podložních a krycích skel, na nákup specifických protilátek (orientačně cena protilátky činí 15 tis Kč), inhibitorů a vitálních fluorescenčních barvivček (např. FM4-64 za 17 tis Kč). Prostředky budou využity k nábřežné opořbovovaného drobného hmotného majetku (cca 30 tis Kč, automatické pipety, vortexy, mikrocetrifuga, UV lampy, osvětlovací tělesa do kulturních místností apod.). Budou také hrazeny náklady na sekenační služby, registrační poplatky na mezinárodní konferenci a případné opravy stávajícího zařízení (celkem za 40 tis Kč).	Část prostředků bude využita na nákup spotřebního materiálu pro kultivaci rostlin a transgenických linií vojtěšky v in vitro a in vivo podmínkách (celkem cca 50 tis Kč za Petriho misky a kultivační nádoby (např. cena kultivačních nádob činí 11 tis Kč/180 ks, cena Petriho misek 2 tis Kč/180 ks), chemikálie pro přípravu médií včetně růstových regulátorů (např. MS médium 1,5 tis Kč/500l, Phytigel 8 tis Kč/0,5 kg, kinetin 600 Kč/1g)), půdní substrát (280 Kč/70l), květináče) potřebných pro fenotypové, (festo)proteomické a metabolické analýzy (úkol 2-4). Další prostředky (celkem cca 80 tis Kč) použijeme na nákup chemikálií a spotřebního materiálu pro molekulární biologii, klonování a genovou editaci vojtěšky (úkol 1, 8, média pro kultivaci bakterií např. LB médium cca 8 tis. Kč/kg), primery (cca 150 Kč/kus), kity na čištění plasmidové DNA (cca 15 tis Kč/kus), restrikční enzymy (obvykle kolem 2 tis Kč/kus), vektory (cca 2 tis Kč/kus), DNA polymerazy (cca 4 000 Kč/kus), klonážy (cca 30 tis Kč/kus), ligázy (cca 2 tis Kč/kus)). Bude zakoupen spotřební materiál a chemikálie pro přípravu vzorků na proteomické a metabolické analýzy (úkol 3, 4; celkem 80 tis Kč: gravitační C18 kolony (12 tis Kč), trypsin (6 tis Kč), lys-C (10 tis Kč), biotovací membrány (10 tis Kč), kit pro enrichment fosfopeptidů - 24 reakcí 18 000 Kč, inhibitory fosfatáz a proteáz (12 tis Kč), acetonitril (4 tis Kč, atd), ale také pro biochemické analýzy pro validaci proteomických dat (celkem 40 tis Kč), jako např. protilátky (cena 1 protilátky činí kolem 13000 Kč), běžné chemikálie pro extrakci proteinů, polyakrylamidovou elektroforézu a western blot (např. glycin 3,5 tis Kč/kg, akrylamid roztok 3,5 tis Kč/500ml, SDS 13000 Kč/lkg; BSA 25000 Kč/lkg). Budou zakoupeny potřeby pro pokročilou mikroskopii (celkem za cca 70 tis Kč), která bude využita na validaci proteomických a metabolických analýz (úkol 3, 4). Materiál bude zahrnovat např. tuňá a tekutá média (4 tis Kč), drážky vzorků (20 tis Kč), řezáčka FEP kapilár (8 tis Kč) a FEP tubičky o různém průměru (16 tis Kč). Prostředky budou také použity na nákup základních potřeb pro mikroskopii včetně podložních a krycích skel, na nákup specifických protilátek (orientačně cena protilátky činí 15 tis Kč), inhibitorů a vitálních fluorescenčních barvivček (např. FM4-64 za 17 tis Kč). Prostředky budou využity k nábřežné opořbovovaného drobného hmotného majetku (cca 30 tis Kč, automatické pipety, vortexy, mikrocetrifuga, UV lampy, osvětlovací tělesa do kulturních místností apod.). Budou také hrazeny náklady na sekenační služby, registrační poplatky na mezinárodní konferenci a případné opravy stávajícího zařízení (celkem za 40 tis Kč).	Část prostředků bude využita na nákup spotřebního materiálu pro kultivaci rostlin a transgenických linií vojtěšky v in vitro a in vivo podmínkách (celkem cca 50 tis Kč za Petriho misky a kultivační nádoby (např. cena kultivačních nádob činí 11 tis Kč/180 ks, cena Petriho misek 2 tis Kč/180 ks), chemikálie pro přípravu médií včetně růstových regulátorů (např. MS médium 1,5 tis Kč/500l, Phytigel 8 tis Kč/0,5 kg, kinetin 600 Kč/1g)), půdní substrát (280 Kč/70l), květináče) potřebných pro fenotypové, (festo)proteomické a metabolické analýzy (úkol 2-4). Další prostředky (celkem cca 80 tis Kč) použijeme na nákup chemikálií a spotřebního materiálu pro molekulární biologii, klonování a genovou editaci vojtěšky (úkol 1, 8, média pro kultivaci bakterií např. LB médium cca 8 tis. Kč/kg), primery (cca 150 Kč/kus), kity na čištění plasmidové DNA (cca 15 tis Kč/kus), restrikční enzymy (obvykle kolem 2 tis Kč/kus), vektory (cca 2 tis Kč/kus), DNA polymerazy (cca 4 000 Kč/kus), klonážy (cca 30 tis Kč/kus), ligázy (cca 2 tis Kč/kus)). Bude zakoupen spotřební materiál a chemikálie pro přípravu vzorků na proteomické a metabolické analýzy (úkol 3, 4; celkem 80 tis Kč: gravitační C18 kolony (12 tis Kč), trypsin (6 tis Kč), lys-C (10 tis Kč), biotovací membrány (10 tis Kč), kit pro enrichment fosfopeptidů - 24 reakcí 18 000 Kč, inhibitory fosfatáz a proteáz (12 tis Kč), acetonitril (4 tis Kč, atd), ale také pro biochemické analýzy pro validaci proteomických dat (celkem 40 tis Kč), jako např. protilátky (cena 1 protilátky činí kolem 13000 Kč), běžné chemikálie pro extrakci proteinů, polyakrylamidovou elektroforézu a western blot (např. glycin 3,5 tis Kč/kg, akrylamid roztok 3,5 tis Kč/500ml, SDS 13000 Kč/lkg; BSA 25000 Kč/lkg). Budou zakoupeny potřeby pro pokročilou mikroskopii (celkem za cca 70 tis Kč), která bude využita na validaci proteomických a metabolických analýz (úkol 3, 4). Materiál bude zahrnovat např. tuňá a tekutá média (4 tis Kč), drážky vzorků (20 tis Kč), řezáčka FEP kapilár (8 tis Kč) a FEP tubičky o různém průměru (16 tis Kč). Prostředky budou také použity na nákup základních potřeb pro mikroskopii včetně podložních a krycích skel, na nákup specifických protilátek (orientačně cena protilátky činí 15 tis Kč), inhibitorů a vitálních fluorescenčních barvivček (např. FM4-64 za 17 tis Kč). Prostředky budou využity k nábřežné opořbovovaného drobného hmotného majetku (cca 30 tis Kč, automatické pipety, vortexy, mikrocetrifuga, UV lampy, osvětlovací tělesa do kulturních místností apod.). Budou také hrazeny náklady na sekenační služby, registrační poplatky na mezinárodní konferenci a případné opravy stávajícího zařízení (celkem za 40 tis Kč).	
	Rozpočet					
	Subdodávky (max 10%) - celkem	0	0	0	0	0
	Subdodávky - požadovaná podpora	0	0	0	0	0
	Komentář	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	---
	Odpisy DHM a DDMM - celkem	0	0	0	0	0
	Odpisy DHM a DDMM - požadovaná podpora	0	0	0	0	0
	Komentář	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	nejsou plánovány žádné náklady v této poloze	---
	Cestovné - celkem	30000	100000	100000	100000	330000
	Cestovné - požadovaná podpora	30000	100000	100000	100000	330000
	Komentář	Výše plánovaných cestovních nákladů je 30000 Kč na hrazení nákladů spojených s účastí 2 členů řešitelského týmu na renomované mezinárodní vědecké konferenci v Evropě. Náklady zahrnují cestovní listek, stravné a ubytování.	Výše plánovaných cestovních nákladů je 100000 Kč. Náklady jsou plánovány na krátkodobou (10 nocí) stáž jednoho člena řešitelského týmu (PhD studentů) na pracovišti amerického partnera. Předpokládáné náklady (Spolu 70000 Kč): Letenka 20000 Kč, ubytování 10 nocí 25000 Kč, stravné 20000 Kč. Prostředky budou využity pro hrazení cestovních výdajů spojených s aktivní účastí 2 pracovníků (30000 Kč) na renomované mezinárodní konferenci v Evropě. Náklady zahrnují cestovní listek, stravné a ubytování.	Výše plánovaných cestovních nákladů je 100000 Kč. Náklady jsou plánovány na krátkodobou (10 nocí) stáž jednoho člena řešitelského týmu (PhD studentů) na pracovišti amerického partnera. Předpokládáné náklady (Spolu 70000 Kč): Letenka 20000 Kč, ubytování 10 nocí 25000 Kč, stravné 20000 Kč. Prostředky budou využity pro hrazení cestovních výdajů spojených s aktivní účastí 2 pracovníků (30000 Kč) na renomované mezinárodní konferenci v Evropě. Náklady zahrnují cestovní listek, stravné a ubytování.	Výše plánovaných cestovních nákladů je 100000 Kč. Náklady jsou plánovány na krátkodobou (10 nocí) stáž jednoho člena řešitelského týmu (PhD studentů) na pracovišti amerického partnera. Předpokládáné náklady (Spolu 70000 Kč): Letenka 20000 Kč, ubytování 10 nocí 25000 Kč, stravné 20000 Kč. Prostředky budou využity pro hrazení cestovních výdajů spojených s aktivní účastí 2 pracovníků (30000 Kč) na renomované mezinárodní konferenci v Evropě. Náklady zahrnují cestovní listek, stravné a ubytování.	---
	Nepřímé náklady celkem (0-25%):	20				
	Nepřímé náklady celkem: Náklady projektu celkem	251758	339690	339690	309690	1240828
	Nepřímé náklady celkem: Požadovaná podpora	251758	339690	339690	309690	1240828
	Náklady projektu celkem	1510550	2038142	2038142	1858142	7444976
	Požadovaná podpora	1510550	2038142	2038142	1858142	7444976
	Celkové náklady za všechny účastníky					
		2025	2026	2027	2028	Celkem
	Náklady projektu celkem	1510550	2038142	2038142	1858142	7444976
	Požadovaná podpora	1510550	2038142	2038142	1858142	7444976

5B. ZDROJE

5B. ZDROJE	
Zdroje	Položka
	Kč
	MŠMT
	7444976
	Ostatní veřejné zdroje
	0
	Ostatní neveřejné zdroje (konkretizujte)
	0

5C. KATEGORIE VÝZKUMU

5C. KATEGORIE VÝZKUMU	
Podíl kategorií výzkumu	Univerzita Palackého v Olomouci #35
	2025
	2026
	2027
	2028
	Základní výzkum
	100
	100
	100
	100
	Průmyslový výzkum
	0
	0
	0
	0
	Experimentální vývoj
	0
	0
	0
	0

6A. DOPLŇUJÍCÍ INFORMACE

6A. DOPLŇUJÍCÍ INFORMACE	
Název projektu (anglicky)	Experimental exploitation of mitogen-activated protein kinases and modern interdisciplinary approaches for perspective enhancement of alfalfa resilience to cold, drought, and salt stresses.
Klíčová slova (anglicky)	alfalfa; biotechnology; CRISPR/CAS9; drought; cold; gene editing; Medicago sativa; microscopy; mitogen-activated protein kinase; multi-OMICS technologies; overexpression; phosphorylation; ROP GEF1; salinity; SIMK; SPEECHLESS; transcription factor

**Anotace projektu
(anglicky)**

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is one of the most important legume forage crops in the world. It is grown on more than 34 million hectares worldwide, providing high biomass yield, good forage quality, and palatability for ruminants. Alfalfa has a relatively vigorous and deep root system improving soil fertility and structure, preventing soil erosion and helping to reduce the contamination of surface and ground water (Radović et al. 2009). It contains valuable proteins, antioxidants, minerals, enzymes (peroxidase, amylase, coagulase, erepsin, invertase and pectinase), and vitamins (A, C, K and E) (Bora and Sharma 2011). Therefore, it serves as a favorite livestock feed and source of human nutrient supplements. Importantly, legumes are valuable for modern agriculture because of their ability to grow in nitrogen-depleted soils and to replenish nitrogen through crop rotation. Alfalfa can fix a large amount of atmospheric nitrogen due to the symbiosis with rhizobia in newly formed symbiotic organs, the root nodules (Doyle and Luckow 2003). This ability allows alfalfa to grow in a wide range of soil types. In the crop rotation regime, the natural nitrogen fixed in the soil is available for other crops without the need to use industrial fertilizers that are polluting ecosystem. However, the changing climate and environmental stresses can severely limit these benefits. Approximately 6% of the total land and 20% of irrigated land is substantially affected by salinity (Rahman et al. 2015). In parallel, global climate change increases the frequency and duration of drought. Already nowadays, desertification affects roughly 30% of arable land. Moreover, recent summers regularly bring powerful heat waves with drought causing severe damage to European agriculture. The resistance of alfalfa to the cold is decisive for wintering. However, spring and autumn frosts limit the yield of green biomass the most. The changing climate is accompanied by sudden frosts, especially in spring, and extreme sudden drops in temperature are especially dangerous (Ergon et al. 2018). Therefore, sustainable crop production requires the development of genotypes able to withstand the changing climatic conditions and to provide a stable yield. There is a high demand to increase the tolerance of crops to the most limiting abiotic stress factors. Innovation and novelty of the project We obtained stable and unique transgenic alfalfa lines with genetically engineered *STRESS-INDUCED MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE (SIMK)* and its upstream activator *STRESS-INDUCED MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE (SIMKK)*. Our recently published work revealed that SIMK plays a critical role in regulating shoot biomass production, root hair formation and the number of clustered nodules on roots (Hrbáčková et al. 2021). However, the molecular mechanism by which overexpression of SIMK promotes desirable phenotypes and agriculturally interesting new traits including increased resistance to abiotic stresses is unknown. **Therefore, the main objective of the proposed project is to reveal the drought, cold and salt stress-dependent functional and mechanistic molecular framework of SIMK, a pivotal signalling protein showing a considerable impact on root hair and nodule development, and especially on green biomass production in alfalfa.** This project will combine and integrate targeted genetics (CRISPR/CAS9, overexpression), phenotyping, (phospho)proteomics, metabolomics, advanced cell biology and microscopy applied to novel genetically engineered alfalfa lines. **We propose that the confirmation and detailed characterization of SIMK phosphorylation targets, namely transcription factor SPEECHLESS (SPCH) and ROP GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR 1 (ROP GEF1), will address this knowledge gap.** We expect that targeted gene editing by CRISPR/CAS9 technology and overexpression of SPCH and ROP GEF1 genes will have considerable impact on alfalfa's ability to cope with cold, drought and salinity. In addition, new marker (phospho)proteins and metabolites will be discovered by multi-omics approaches in transgenic alfalfa lines. Such novel frontier methodologies will allow a complex and precise view on functional molecular mechanisms controlling alfalfa resistance or tolerance to cold, drought and salinity. **This innovative and effective research will contribute to the long-term goal of developing new alfalfa genotypes with enhanced adaptability to diverse abiotic stresses.**

Další projekty řešitele - běžící (podpořené v jakémkoliv programu v ČR)	ne
Další projekty řešitele - podané (podané do jakékoliv veřejné soutěže ve VaVal poskytovatele v ČR)	1. Program: GAČR EXPRO-2025 Název projektu: Deciphering new molecular and cellular mechanisms regulating early alfalfa interaction with <i>Sinorhizobium meliloti</i> 2. Program: GAČR Standardní projekty-2025 Název projektu: Role of annexins ANN1-ANN4 in Arabidopsis root and root hair growth and development
Komentář - vymezení se vůči uvedeným projektům	Cíle uvedených projektů nesouvisí s projektovým návrhem LUAUS25. Projektový návrh GAČR EXPRO-2025 se týká hledání mechanismů důležitých pro nastolení interakce mezi vojtěškou a rhizobii, což jsou biotické interakce, na rozdíl od odolnosti vojtěšky k abiotickým stresům řešených v projektu LUAUS2025. Druhý projektový návrh řeší funkce vybraných isoform proteinů z rodiny annexinů u huseníčku rolního. Projekt bude řešit vývojové role annexinů, což je téma zcela nezávislé od návrhu projektu LUAUS2025. Navíc, objektem studia bude modelový rostlinný druh huseníček rolní a ne vojtěška.
Stupeň důvěrnosti údajů	C - Předmět řešení projektu podléhá obchodnímu tajemství (§17 až 20 obč. zák.), ale název projektu, anotace projektu a u ukončeného nebo zastaveného projektu zhodnocení výsledku řešení projektu dodané do CEP jsou upraveny tak, aby byly zveřejnitelné.
NACE kód	M 72 - Výzkum a vývoj

7. SEZNAM PŘÍLOH

POVINNÉ PŘÍLOHY - DO KAŽDÉ KOLONKY JE POTŘEBA NAHRÁT JEDEN SOUBOR A PAK JE NAJEDNOU ULOŽIT POMOCÍ TLAČÍTKA NA KONCI STRÁNKY. PO ULOŽENÍ JE MOŽNÉ SE NA STRÁNKU VRÁTIT A PŘIDAT DALŠÍ SOUBORY					
7A. Čestné prohlášení o způsobilosti k řešení projektu	<table> <tr> <td>Název souboru</td><td>Čestné prohlášení o způsobilosti k řešení projektu (PDF, 495.46 kB)</td></tr> <tr> <td>Datum nahrání</td><td>30.6.24 21:20</td></tr> </table>	Název souboru	Čestné prohlášení o způsobilosti k řešení projektu (PDF, 495.46 kB)	Datum nahrání	30.6.24 21:20
Název souboru	Čestné prohlášení o způsobilosti k řešení projektu (PDF, 495.46 kB)				
Datum nahrání	30.6.24 21:20				
7B. Návrh smlouvy o účasti na řešení projektu - český partner/partneři					
7C. Dokument o spolupráci se zahraničním partnerem	<table> <tr> <td>Název souboru</td><td>IGBB_ [REDACTED] 2024_LOI.pdf (PDF, 474.92 kB)</td></tr> <tr> <td>Datum nahrání</td><td>30.6.24 21:27</td></tr> </table>	Název souboru	IGBB_ [REDACTED] 2024_LOI.pdf (PDF, 474.92 kB)	Datum nahrání	30.6.24 21:27
Název souboru	IGBB_ [REDACTED] 2024_LOI.pdf (PDF, 474.92 kB)				
Datum nahrání	30.6.24 21:27				

7D. Životopis hlavního řešitele a dalších hlavních spoluřešitelů (včetně klíčových osob)	Název souboru	CV.pdf (PDF, 99.11 kB)
	Datum nahrání	1.7.24 09:38
7E. Další povinné přílohy	Název souboru	CZ_pověření UPOL.pdf (PDF, 226.39 kB)
	Datum nahrání	30.6.24 21:20
	Název souboru	Speciálních oprávnění pro práci s GMO (PDF, 815.65 kB)
	Datum nahrání	30.6.24 21:31
NEPOVINNÉ PŘÍLOHY		
7F. Ostatní přílohy	Název souboru	Harmonogram projektu (PDF, 430.79 kB)
	Datum nahrání	30.6.24 21:36
	Název souboru	Příloha - Obrázky (PDF, 838.08 kB)
	Datum nahrání	1.7.24 10:56
	Název souboru	Seznam použité literatury (PDF, 373.87 kB)
	Datum nahrání	1.7.24 12:34
	Název souboru	Seznam hodnotitelů, kterým by nebylo vhodné návrh projektu k posouzení zasílat (PDF, 184.02 kB)
	Datum nahrání	2.7.24 09:51
NÍŽE UVEDENÝ PŘEHLED OBSAHUJE DOKUMENTY, KTERÉ JSTE VLOŽILI V PROFILU VAŠÍ ORGANIZACE DO KAPITOLY "DOKUMENTY ORGANIZACE" V ČÁSTI "ÚDAJE O ORGANIZACI"		
Vyberte dokumenty, které si přejete připojit k této žádosti		

Příloha II.
Uznané náklady a finanční zdroje Projektu

Program:
Podprogram:
Veřejná soutěž ve VaVal:

INTER-EXCELLENCE II
INTER-ACTION
LUAUS25 (Bilaterální projekty ČR-USA)

Kód projektu:

LUAUS25235
Experimentální využití mitogenem aktivovaných proteinkinas a moderních mezioborových přístupů pro
perspektivní zlepšení odolnosti vojtěšky vůči chladu,
suchu a zasolení

Název projektu:

Tabulka uznaných nákladů - PŘÍJEMCE

Příjemce:
IČO:

Univerzita Palackého v Olomouci
61989592

NÁKLADY		ROKY								CELKEM	
		2025		2026		2027		2028			
		Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)
Osobní náklady		928 792	928 792	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	4 674 148	4 674 148
Ostatní zboží a služby		300 000	300 000	350 000	350 000	350 000	350 000	200 000	200 000	1 200 000	1 200 000
Subdotávky (max. 10%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Odpisy DHM a DNM		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cestovné		30 000	30 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	330 000	330 000
Nepřímé náklady	20,0%	251 758	251 758	339 690	339 690	339 690	339 690	309 690	309 690	1 240 828	1 240 828
Náklady celkem		1 510 550	1 510 550	2 038 142	2 038 142	2 038 142	2 038 142	1 858 142	1 858 142	7 444 976	7 444 976
ZDROJE		ROKY								CELKEM	
		2025		2026		2027		2028			
Podpora MŠMT		1 510 550		2 038 142		2 038 142		1 858 142		7 444 976	
Ostatní veřejné zdroje		0		0		0		0		0	
Neveřejné zdroje		0		0		0		0		0	
Zdroje celkem		1 510 550		2 038 142		2 038 142		1 858 142		7 444 976	

Tabulka uznaných nákladů za PROJEKT

NÁKLADY		ROKY							CELKEM		
		2025		2026		2027		2028			
		Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)	Uznané náklady (Kč)	z toho podpora MŠMT (Kč)
Osobní náklady		928 792	928 792	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	1 248 452	4 674 148	4 674 148
Ostatní zboží a služby		300 000	300 000	350 000	350 000	350 000	350 000	200 000	200 000	1 200 000	1 200 000
Subdotávky (max. 10%)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Odpisy DHM a DNM		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cestovné		30 000	30 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	330 000	330 000
Nepřímé náklady	20,0%	251 758	251 758	339 690	339 690	339 690	339 690	309 690	309 690	1 240 828	1 240 828
Náklady celkem		1 510 550	1 510 550	2 038 142	2 038 142	2 038 142	2 038 142	1 858 142	1 858 142	7 444 976	7 444 976
ZDROJE		ROKY							CELKEM		
		2025		2026		2027		2028			
Podpora MŠMT		1 510 550		2 038 142		2 038 142		1 858 142		7 444 976	
Ostatní veřejné zdroje		0		0		0		0		0	
Neveřejné zdroje		0		0		0		0		0	
Zdroje celkem		1 510 550		2 038 142		2 038 142		1 858 142		7 444 976	

**Příloha III. k rozhodnutí o poskytnutí podpory
Plán hodnocení Projektu**

- 1) Poskytovatel provádí kontrolu a hodnocení Projektu (dále jen „kontrola“) podle tohoto plánu hodnocení Projektu v souladu s § 13 zákona č. 130/2002 Sb.
- 2) Poskytovatel, pokud nerozhodne jinak, provádí kontrolu u projektů, jejichž řešení trvá více než 2 roky, zpravidla dvakrát – jednou přibližně v polovině řešení Projektu a jednou po ukončení řešení Projektu. U projektů, jejichž řešení trvá kratší dobu, se kontrola provádí zpravidla jednou až po ukončení řešení Projektu.
- 3) Poskytovatel provádí kontrolu ve dvou stupních:
 - I. Monitoring: kontrola I. stupně se provádí zpravidla v polovině délky řešení Projektu, a to u projektů, u nichž je podpora poskytována na dobu delší než 2 roky. U projektů, u nichž je podpora poskytována na dobu řešení 2 roky a kratší, se zpravidla kontrola I. stupně provádí až po ukončení řešení projektu a stává se tak součástí kontroly II. stupně. Kontrola probíhá vždy za účasti člena/členů odborného poradního orgánu poskytovatele nebo poskytovatelem určeného odborníka/určených odborníků, a to na základě příjemcem předložené průběžné zprávy. Průběžná zpráva obsahuje informace a přílohu podle odst. 6 písm. a) této přílohy. Závěrečná zpráva obsahuje informace a přílohu podle odst. 6 písm. b) této přílohy. Poskytovatel si však vyhrazuje právo uskutečnit kontrolu I. stupně i v jiných časových úsecích řešení Projektu.
 - II. Evaluace: kontrola II. stupně navazuje vždy až na kontrolu I. stupně a je realizována za účasti člena/členů odborného poradního orgánu poskytovatele nebo poskytovatelem určeného odborníka/určených odborníků, a to na základě příjemcem předložené průběžné zprávy či závěrečné zprávy. Závěrečná zpráva obsahuje informace a přílohu podle odst. 6 písm. b) této přílohy. Evaluace může být navázána na provedení finanční nebo veřejnosprávní finanční kontroly, kterou provádí rovněž poskytovatel. Poskytovatel provádí hodnocení II. stupně (evaluaci) vždy při zjištění nesouladu v I. stupni hodnocení (monitoringu) a vždy po ukončení řešení Projektu.
- 4) Podle výsledku hodnocení ve II. stupni bude Projekt zařazen do jedné z následujících kategorií:

V	Projekt úspěšně plní/splnil stanovené cíle v souladu se smlouvou; bylo dosaženo vynikajících výsledků ve výzkumu a vývoji mezinárodního významu. Výsledek hodnocení Projektu v této kategorii je třeba podrobně odůvodnit popisem skutečností, které prokazatelně ovlivňují nebo ovlivnily aktuální světové trendy výzkumu a vývoje.
U	Projekt plní/splnil stanovené cíle v rozsahu stanoveném ve smlouvě („uspěl podle zadání“) a byly získány kvalitní výsledky ve výzkumu a vývoji na národní úrovni.
O	Projekt neplní/nesplnil stanovené cíle z důvodů, které nemohl poskytovatel ani příjemce předvídat. Ostatní podmínky stanovené ve smlouvě byly ale dodrženy. Výsledek hodnocení Projektu v této kategorii je třeba podrobně odůvodnit popisem a vysvětlením skutečností, které příjemce objektivně nemohl předvídat a které mu z prokazatelně objektivních důvodů znemožnily splnit všechny cíle stanovené v Příloze II. Nesplněné cíle jsou kategorizovány na cíle, které nebyly naplněny vůbec a cíle, které byly naplněny

	zčásti. V druhém případě je třeba specifikovat, do jaké míry byly cíle naplněny. Protože výsledek hodnocení Projektu v kategorii „O“ znamená nesplnění některých závazků příjemce stanovených ve smlouvě, případné uplatnění sankcí je třeba posuzovat v souladu s článkem 10 smlouvy.
S	Projekt neplní/nesplnil stanovené cíle, podmínky stanovené smlouvou nebyly ze strany příjemce dodrženy. Výsledek hodnocení Projektu v této kategorii znamená neplnění podmínek smlouvy a uplatnění sankcí je třeba posuzovat v souladu s článkem 10 smlouvy. V případě, že půjde o výsledek průběžného hodnocení Projektu, promítne se do výše poskytované podpory Projektu pro další etapu řešení, kdy původně stanovená výše podpory pro následující kalendářní rok nebo pro celé následující období může být snížena až o 50 % oproti hodnotě uvedené ve smlouvě. Výsledek hodnocení v této kategorii v posledním roce řešení Projektu bude spojen s uplatněním postihu, který může mít i formu úplného odnětí podpory, požadavku na její vrácení nebo vrácení její části podle článku 10 smlouvy.

- 5) V souvislosti s vyhodnocením Programu může poskytovatel požadovat, aby příjemce předložil další podklady pro závěrečné zhodnocení výsledků Projektu, případných přínosů Projektu a jejich socioekonomických dopadů v návaznosti na vyčerpanou podporu v období až do 180 dnů ode dne ukončení poskytování podpory v rámci Programu.
- 6) Pro účely kontroly Projektu v průběhu a na konci jeho řešení má příjemce povinnost předložit poskytovateli ke schválení následující dokumenty:
- a) průběžnou zprávu o řešení Projektu, je-li podle ustanovení odst. 3) této přílohy vyžadována. Průběžná zpráva musí obsahovat
- informace o postupu prací na Projektu,
 - zhodnocení dosažených dílčích cílů Projektu,
 - porovnání skutečně provedených prací na Projektu s plánovaným harmonogramem,
 - přehled a zdůvodnění případných změn, které během řešení Projektu nastaly oproti původním plánům v harmonogramu a rozpočtu, včetně uvedení stanoviska poskytovatele,
 - porovnání výše skutečně vynaložených uznaných nákladů a výše skutečně čerpané podpory s plánovaným rozpočtem,
 - porovnání skutečných výstupů Projektu s daty zveřejněnými příjemcem,
 - roční vyúčtování uznaných nákladů Projektu, včetně souhrnného a položkového výpisu nákladů z účetní evidence, za monitorovací období.

V rámci průběžného hodnocení je rovněž posuzováno plnění informační povinnosti příjemce a předávání informací do IS VaVal. Povinnou přílohou průběžné zprávy jsou dva oponentní posudky dvou nezávislých oponentů a zápis z oponentního řízení. Průběžné oponentní řízení se provádí podle pokynů poskytovatele¹⁾;

¹⁾ Poskytovatel zveřejní pokyny k oponentnímu řízení na internetových stránkách Programu. Podle pokynů poskytovatele si tento zpravidla vyhrazuje právo určit oponenty a členy oponentní rady nebo členy kontrolní komise, termín, místo konání a způsob provedení oponentního řízení nebo kontrolního dne. Příjemce má právo se k návrhu poskytovatele vyjádřit, a to nejdéle **7 kalendářních dnů od jeho doručení**. Pokud tak neučiní, má se za to, že s návrhem poskytovatele souhlasí. Případné námitky příjemce však poskytovatel není povinen akceptovat.

b) závěrečnou zprávu o řešení Projektu, která obsahuje

- veškeré informace o průběhu řešení Projektu v posledním kalendářním roce a za celé období řešení Projektu (tj. ode dne oznámeného zahájení Projektu do dne jeho ukončení),
- souhrnné zhodnocení a přehled dosažených výsledků a výstupů s ohledem na všechny stanovené cíle,
- plnění předepsaných indikátorů,
- vyúčtování celkových uznaných nákladů Projektu a přehled vynaložených nákladů včetně specifikace jejich položek a souhrnného a položkového výpisu z účetní evidence,
- výpis o čerpání přidělené podpory Projektu,
- přehled a zdůvodnění případných změn, které během řešení Projektu nastaly oproti původním plánům v harmonogramu a rozpočtu, včetně uvedení stanoviska poskytovatele.

Součástí závěrečné zprávy je redakčně upravená závěrečná zpráva, tj. závěrečná zpráva upravená k publikování tak, aby poskytla třetím stranám natolik dostatečnou informaci o dosažených výsledcích, že mohou požádat příjemce o licenci na výsledky, aniž by byla ohrožena priorita příjemce výsledky publikovat, autorsky nebo jinak právně chránit, komerčně využít či jiným způsobem zveřejnit. (Redakčně upravená závěrečná zpráva se nepředkládá v případě, kdy lze závěrečnou zprávu zveřejnit v plném znění). Povinnou přílohou závěrečné zprávy jsou dva oponentní posudky dvou nezávislých oponentů a zápis z oponentního řízení. Závěrečné oponentní řízení se provádí podle pokynů poskytovatele¹;

c) dodatečné zprávy, tj. jakékoliv další zprávy vyžádané poskytovatelem za účelem kontroly.

- 7) Příjemce zpracuje dokumenty podle odst. 6 této přílohy v rozsahu a formátech podle pokynů poskytovatele, a předkládá je v listinné a elektronické formě, za jejichž obsahovou shodnost sám odpovídá. Příjemce předává listinnou formu dokumentů poskytovateli doporučenou poštou nebo prostřednictvím podatelny poskytovatele.
- 8) Příjemce předkládá průběžnou zprávu poskytovateli (je-li podle odst. 3) vyžadována), podle odst. 6 písm. a) této přílohy, bez zbytečného prodlení do 60 kalendářních dnů od výzvy učiněné poskytovatelem, nejdéle však do **30. ledna** následujícího kalendářního roku. Poskytovatel si může vyžádat mimořádné předložení průběžné zprávy o řešení Projektu i mimo výše uvedené termíny.
- 9) Příjemce předkládá závěrečnou zprávu podle odst. 6 písm. b) této přílohy poskytovateli nejdéle do **30 kalendářních dnů** po ukončení Projektu podle článku 3 odst. 3 smlouvy.
- 10) Poskytovatel je oprávněn nařídit příjemci uspořádat kontrolní den kdykoli v průběhu řešení Projektu a předložené zprávy podle odst. 6 této přílohy nechat v rámci kontrolního dne posoudit kontrolní komisí. Kontrolní den se provádí podle pokynů poskytovatele.
- 11) Oponentní řízení nebo kontrolní den organizačně a finančně zajišťuje příjemce a konají se zpravidla v místě řešení Projektu, pokud poskytovatel po předchozí dohodě s příjemcem nestanoví jinak. Příjemce je povinen osobám, které se účastní oponentního řízení nebo kontrolního dne nebo jsou jmenovitě určeny poskytovatelem, poskytnout v předem dohodnuté době přístup na pracoviště, kde je Projekt řešen, k osobám podílejícím se na řešení Projektu, ke všem dokumentům, počítačovým záznamům a zařízením, které přísluší k Projektu. Od osob účastnících se oponentního řízení nebo kontrolního dne se požaduje slib mlčenlivosti ve vztahu k obchodnímu či jinému typu tajemství definovaného podle zvláštních právních předpisů.

- 12) Oponentní rada při oponentním řízení a kontrolní komise při kontrolním dnu a jednáních souvisejících s průběhem řešení a ukončením Projekt postupují zejména v souladu se zákonem č. 130/2002 Sb., pokyny poskytovatele a Metodikou hodnocení výsledků výzkumných organizací a hodnocení výsledků ukončených programů schvalovanou vládou ČR a platnou pro hodnocení uplynulého kalendářního roku.
- 13) Z kontrolního dne je pořizován zápis, který je vyhotoven vždy na místě ve dvou vyhotoveních, přičemž jeden z nich náleží poskytovateli a druhý příjemci. Příjemce je povinen doručit poskytovateli zprávu z kontrolního dne do **7 kalendářních dnů** ode dne jeho konání.

Příloha IV. k rozhodnutí o poskytnutí podpory
Tabulka snížených odvodů za porušení rozpočtové kázně

Pořadové číslo	Typ porušení rozpočtové kázně	Sankce
I. Porušení rozpočtové kázně v souvislosti s povinnostmi vyplývajícími ze ZVZ¹		
1.	• Neprovedení zadávacího řízení na výběr dodavatele/zhotovitele • Neuveřejnění oznámení o zahájení zadávacího řízení pokud je oznámení o zahájení požadováno zákonem	100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky
2.	Rozdělení předmětu veřejné zakázky s důsledkem snížení předpokládané hodnoty pod finanční limity stanovené v ZVZ	100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky v případě, že tento postup vede až k zadání veřejné zakázky bez jakéhokoli výběrového řízení
3.	Neuveřejnění oznámení o zakázce v souladu s příslušnými pravidly (např. zveřejnění v Úředním věstníku Evropské unie (OJEU), pokud to vyžadují směrnice)	50 - 80 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky, podle závažnosti porušení pravidel
4.	• Nedostatečné definování předmětu zakázky v oznámení/výzvě o zahájení zadávacího řízení, nebo v zadávací dokumentaci • Nastavení kvalifikačních předpokladů a/nebo hodnotících kritérií v rozporu se ZVZ (např. nastavení kvalifikačních předpokladů, jež nesouvisí s předmětem veřejné zakázky nebo nejsou přiměřené vzhledem k předmětu zakázky nebo stanovení diskriminačních technických podmínek)	10 - 100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky

¹ ZVZ = zákon č. 134/2016 Sb., o zadávání veřejných zakázek, ve znění zákona č. 368/2016 Sb. (viz zadávací dokumentaci kpt. 4.4.4)

5.	- Neposkytnutí zadávací dokumentace případným uchazečům/zájemcům v dostatečném časovém předstihu (před koncem lhůty pro podání nabídek) - Nedodržení lhůt pro podání nabídek nebo lhůt pro doručení žádosti o účast nebo nezveřejnění jejich prodloužení	80 - 90 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky
6.	- Úprava kvalifikačních kritérií po otevření nabídek, mající za následek neoprávněné přijetí uchazečů - Nedostatek transparentnosti/nerovné zacházení během hodnocení nabídek nebo změna nabídky během hodnocení - Nezákonné vyjednávání o nabídkách - Odmítnutí nabídky obsahující mimořádně nízkou nabídkovou cenu ve vztahu k předmětu veřejné zakázky bez vyzvání uchazeče k písemnému zdůvodnění částí nabídky, jež jsou pro výši nabídkové ceny podstatné	100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky
7.	- Uzavření smlouvy s dodavatelem/zhotovitelem, který se neúčastnil zadávacího řízení - Uzavření smlouvy s uchazečem, který měl být dle zákona obligatorně vyloučen ze zadávacího řízení - Nezákonné vyloučení zájemce/uchazeče ze zadávacího řízení mimo případ, kdy tato skutečnost nemá vliv na výběr nejvhodnější nabídky, respektive vliv na pořadí uchazečů, s nimiž je možné uzavřít smlouvu (první 3 v pořadí)	100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky
8.	Nezákonné použití jednacího řízení bez uveřejnění	100 %

	nebo podstatná změna původních zadávacích podmínek v jednacím řízení s uveřejněním • Zadání dodatečných zakázek na služby/dodávky (pokud toto zadání představuje podstatnou změnu původních podmínek zakázky) bez soutěže, a to pokud neplatí jedna z následujících podmínek: - mimořádná naléhavost způsobena nepředvídatelnými událostmi - nepředvídatelná okolnost pro doplňkové služby, dodávky	částky dotace, použité na financování předmětné zakázky 100 % hodnoty dodatečných zakázek
9.	Nezveřejnění hodnotících a kvalifikačních kritérií veřejné zakázky v IS CEDR ² před plánovaným vyhlášením	0 - 60 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky, podle závažnosti porušení povinností
10.	Jiné závažné porušení pravidel pro zadávání veřejných zakázek, jestliže mělo či mohlo mít vliv na výběr na nejvhodnější nabídky	60 - 100 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky, podle závažnosti porušení pravidel
11.	Ostatní méně závažná porušení výše výslovně neuvedených povinností vyplývajících ze ZVZ	0 - 75 % částky dotace, použité na financování předmětné zakázky
II. Porušení rozpočtové kázně v souvislosti s ostatními povinnostmi vyplývajících ze smlouvy		
12.	Nearchivování veškeré dokumentace spojené s implementací projektu minimálně po dobu deseti let od data posledního poskytnutí podpory nebo její části	60 - 100 % celkové částky dotace 0 - 50 % celkové částky dotace, v méně závažných případech

² IS CEDR = informační systém centrální registr dotací

13.	Nevedení evidence práce jednotlivých zaměstnanců příjemce/dalšího účastníka projektu	50 - 100 % celkové částky dotace, podle závažnosti porušení
14.	Neoznámení podstatné změny v projektu	100 % celkové částky dotace, použité na financování předmětné aktivity
	Neoznámení nepodstatné změny v projektu	0 - 50 % částky dotace, použité na financování předmětné aktivity, v méně závažných případech
15.	Nevytvoření podmínek k provedení kontroly vztahující se k realizaci projektu a/nebo neposkytnutí součinnosti při prováděné kontrole	80 - 90 % celkové částky dotace
16.	Předkládání nepravdivých a/nebo neúplných informací poskytovateli	100 % částky dotace, použité na financování konkrétní aktivity, v případě úmyslného jednání, vážně poškozujícího realizaci/udržitelnost projektu
		0 - 40 % částky dotace, použité na financování konkrétní aktivity, v méně závažných případech
17.	Nezacházení s majetkem spolufinancovaným z prostředků na financování projektu s péčí řádného hospodáře. Zejména nepojištění,	60 - 90 % celkové částky dotace

	nezabezpečení proti poškození, odcizení nebo ztrátě	
18	- Neposkytnutí informací o kontrolách provedených jinými subjekty, podezřeních na nesrovnalosti zjištěných v průběhu realizace projektu - Neposkytnutí informací o přijetí a splnění uložených opatření k nápravě	40 - 90 % celkové částky dotace 0 - 30% celkové částky dotace, v méně závažných případech
19.	Neplnění/porušení jiných ve smlouvě o poskytnutí podpory stanovených Podmínek	30 - 100 % celkové částky dotace, týkající se dané Podmínky 0 - 20 % celkové částky dotace, týkající se dané Podmínky, v méně závažných případech
20.	Neplnění/porušení jiných ve smlouvě o poskytnutí podpory stanovených Dalších podmínek	30 - 100 % celkové částky dotace, týkající se dané Další podmínky 0 - 20 % celkové částky dotace, týkající se dané Další podmínky, v méně závažných případech
21.	Neplnění/porušení jiných ve smlouvě o poskytnutí podpory stanovených Ostatních povinností	0 - 70 % celkové částky dotace, týkající se dané Ostatní povinnosti