
AUTOREFERAT

„Ekspansja i specjalizacja transporterów ABCG u roślin bobowatych”

dr Joanna Banasiak
Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk
w Poznaniu

Poznań 2025

I. Imię i nazwisko

Joanna Banasiak

II. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2013 **Doktor nauk chemicznych w zakresie biochemii**, Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu; tytuł rozprawy doktorskiej: „Identyfikacja pełnych transporterów ABCG *Medicago truncatula* oraz wstępna analiza funkcjonalna wybranych genów zaangażowanych w odpowiedź na stres biotyczny”; promotor dr hab. Michał Jasiński, prof. ICHB (praca doktorska wyróżniona przez Radę Naukową ICHB PAN, nagroda Dyrektora za jedną z najlepszych prac doktorskich powstałych w 2013 r. w ICHB PAN)

2007 **Tytuł zawodowy magistra (biologia, specjalizacja biologia molekularna)**; Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu i Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu; tytuł pracy magisterskiej: „Identyfikacja genów transporterów ABC z *Medicago truncatula* oraz uzyskanie kompletnej sekwencji cDNA wybranych kandydatów techniką RT-PCR i RACE”; promotor: prof. dr hab. Marek Figlerowicz (studia ukończone z wyróżnieniem)

2005 **Tytuł zawodowy licencjata (biologia; specjalizacja biologia molekularna)** Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu;
Promotor pracy licencjackiej: dr Mirosława Dabert

III. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych i odbytych stażach naukowych

07. 2014 – obecnie	adiunkt: Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych, od 2017 r. Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin
07. 2022 – 01. 2023	Katedra Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu - staż
3.11-2.12. 2016	Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich (prof. Enrico Martinoia), praca badawcza w ramach grantu SONATA (kierownik projektu dr Joanna Banasiak)

- 7-14.05. 2016 Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich (prof. Enrico Martinoia), praca badawcza w ramach grantu HARMONIA (kierownik projektu prof. dr hab. Michał Jasiński)
08. 2013 – 06. 2014 asystent: Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Zakład Biochemii Produktów Naturalnych
09. 2012 – 07. 2013 specjalista biolog: Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Pracownia Biologii Molekularnej i Systemowej (w tym urlop macierzyński styczeń-czerwiec 2013)

IV. Osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (dz. U. Z 2018 r. Poz. 1668 ze zm.)

1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Ekspansja i specjalizacja transporterów ABCG u roślin bobowatych”

2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

(nazwisko habilitanta jest wytłuszczone; *autor korespondencyjny; #równorzędny pierwszy autor; dane bibliograficzne podano wg Web of Science Core Collection; punkty ministerialne wg systemu punktacji, zgodnie z rokiem poprzedzającym opublikowanie artykułu)

H1. Banasiak J, Jasiński M*.

Defence, symbiosis and ABCG transporters. Geisler M. (ed.), *Plant ABC Transporters, Signaling and Communication in Plants* 22, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, František Baluška and Jorge Vivanco (eds), (2014) pp 163-184.

- Liczba cytowań: 12

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: sformułowaniu wraz z autorem korespondencyjnym koncepcji pracy; analizie literatury, identyfikacji transportów ABCG z różnych gatunków roślin; przeprowadzeniu analiz filogenetycznych; przeprowadzeniu analizy in silico dostępnych danych transkryptomicznych; przygotowaniu manuskryptu wraz z autorem korespondencyjnym.

H2. Biała W[#], Banasiak J[#], Jarzyniak K, Paweł A, Jasinski M*.

[#] równorzędny pierwszy autor

*autor korespondencyjny

Medicago truncatula ABCG10 is a transporter of 4-coumarate and liquiritigenin in the medicarpin biosynthetic pathway. *Journal of Experimental Botany*, (2017) Jun;68(12):3231-3241

- doi: 10.1093/jxb/erx059

- **IF₍₂₀₁₆₎ = 5,830; IF_(5-letni) = 6,538**
- MNiSW₍₂₀₁₆₎ = 45
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 43
- Nagroda Naukowa ICHB PAN za najlepszą publikację eksperymentalną powstałą w Instytucie w roku 2017

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu części eksperymentów (analizy ekspresji genów - ddPCR, analizy aktywności promotorów, lokalizacja subkomórkowa - analizy mikroskopowe); sformułowaniu części hipotez; analizie i interpretacji wyników z udziałem pozostałych współautorów; przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, rycin oraz odpowiedzi do recenzentów wraz z pierwszym równorzędnym współautorem i autorem korespondencyjnym; edycji ostatecznej wersji manuskryptu przy udziale pozostałych współautorów.

H3. Pakuła K, Sequeiros-Borja C, Biała-Leonhard W, Paweła A, **Banasiak J**, Bailly A, Radom M, Geisler M, Brezovsky J, Jasiński M*.

*autor korespondencyjny

Restriction of access to the central cavity is a major contributor to substrate selectivity in plant ABCG transporters. *Cellular and Molecular Life Sciences*, (2023) Mar 23;80(4):105

- doi: 10.1007/s00018-023-04751-6
- **IF₍₂₀₂₂₎ = 8; IF_(5-letni) = 8,7**
- MEiN₍₂₀₂₂₎ = 140
- Biochemistry and Molecular Biology Q1
- Liczba cytowań: 7

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: współudziale w identyfikacji i selekcji białek ABCG pozyskanych z projektu IKP, przeprowadzeniu obserwacji mikroskopowych, edycji ostatecznej wersji manuskryptu przy udziale pozostałych współautorów.

H4. Jarzyniak K, **Banasiak J**, Jamruszka T, Paweła A, Di Donato M, Novák O, Geisler M, Jasiński M*.

*autor korespondencyjny

Early stages of legume–rhizobia symbiosis are controlled by ABCG-mediated transport of active cytokinins. *Nature Plants* (2021) 7, 428–436.

- doi: 10.1038/s41477-021-00873-6
- **IF₍₂₀₂₀₎ = 15,793; IF_(5-letni) = 17,349**
- MNiSW₍₂₀₂₀₎ = 200
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 31
- Nagroda Naukowa ICHB PAN za najlepszą pracę eksperymentalną powstałą w Instytucie w roku 2021
- Wyróżnienie w konkursie im. prof. K. Bassalika przyznawane przez Komitet Biologii Molekularnej i Komórki Polskiej Akademii Nauk

- Nagroda Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN za wybitne osiągnięcie badawcze pt. „Poznanie mechanizmu dystrybucji cytokinin w procesie biologicznego wiązania azotu u roślin bobowatych”

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: przeprowadzeniu wstępnych analiz, które wyłoniły MtABCG56 jako obiekt dalszych badań; zaprojektowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentów (analizy wzoru ekspresji badanych genów - MtABCG56 oraz jego homologów, MtRR4, barwienia histochemiczne, przygotowanie skrawków mikroskopowych, obserwacje mikroskopowe, selekcja linii mutantów i przygotowanie konstruktu wyciszającego, analizy fenotypowe (nici infekcyjne), obserwacje mikroskopowe związane z lokalizacją subkomórkową); interpretacji wyników z udziałem pozostałych współautorów; napisaniu fragmentu manuskryptu; edycji pracy, przygotowaniu rycin i odpowiedzi do recenzentów przy udziale pozostałych współautorów.

H5. Paweł A[#], Banasiak J[#], Biała W, Martinoia E, Jasinski M.

[#] równorzędny pierwszy autor

*autor korespondencyjny

MtABCG20 is an ABA exporter influencing root morphology and seed germination of *Medicago truncatula*. *Plant Journal* (2019) 98(3), 511-523.

- doi: 10.1111/tpj.14234
- **IF₍₂₀₁₈₎ = 5,726; IF_(5-letni) = 6,467**
- MNiSW₍₂₀₁₈₎ = 140
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 45
- Nagroda Naukowa ICHB PAN za najlepszą publikację eksperymentalną powstałą w Instytucie w roku 2019

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: zaplanowaniu i wykonaniu części eksperymentów (selekcji mutantów, przeprowadzeniu analiz fenotypowych, wykonaniu części analiz zmian poziomu ekspresji, obserwacji mikroskopowych); interpretacji wyników z udziałem pozostałych współautorów; przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, rycin oraz odpowiedzi do recenzentów wraz z pierwszym równorzędnym współautorem i autorem korespondencyjnym; edycji ostatecznej wersji manuskryptu przy udziale pozostałych współautorów.

H6. Banasiak J*, Borghi L, Stec N, Martinoia E, Jasiński M

*autor korespondencyjny

The Full-Size ABCG Transporter of *Medicago truncatula* Is Involved in Strigolactone Secretion, Affecting Arbuscular Mycorrhiza. *Frontiers in Plant Science* (2020) 7;11:18,

- doi: 10.3389/fpls.2020.00018
- **IF₍₂₀₁₉₎ = 4,402; IF_(5-letni) = 5,207**
- MNiSW₍₂₀₁₉₎ = 100
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 47
- Publikacja jest efektem realizacji grantu własnego (Sonata)

- Artykuł jako jeden z najczęściej oglądanych i pobieranych w roku 2020 został wybrany do umieszczenia w kolekcji e-booków *Frontiers in Plant Science: 2020 Highlights*

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: sformułowaniu problemu badawczego i koncepcji pracy; zaplanowaniu i wykonaniu większości eksperymentów; interpretacji wyników z udziałem pozostałych współautorów; przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu i rycin; przygotowaniu odpowiedzi do recenzentów i edycji ostatecznej wersji manuskryptu przy udziale pozostałych współautorów; pełnieniu funkcji autora korespondującego; pozyskaniu finansowania na badania.

H7. Banasiak J[#], Jamruszka T[#], Murray J, Jasiński M*.

[#] równorzędny pierwszy autor

*autor korespondencyjny

A roadmap of plant membrane transporters in the arbuscular mycorrhizal and legume-rhizobium symbioses. *Plant Physiology* (2021) 187(4):2071-2091.

- doi: 10.1093/plphys/kiab280
- **IF₍₂₀₂₀₎ = 8,340; IF_(5-letni) = 8,972**
- MNiSW₍₂₀₂₀₎ = 140
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 38
- Publikacja jest efektem realizacji grantu własnego (Sonata)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: sformułowaniu koncepcji pracy wraz z autorem korespondencyjnym; zebraniu i przeanalizowaniu materiałów źródłowych wraz z pierwszym równorzędnym współautorem; przygotowaniu rycin; przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu wraz z pierwszym równorzędnym współautorem i autorem korespondencyjnym; edycji ostatecznej wersji manuskryptu i odpowiedzi do recenzentów przy udziale pozostałych współautorów.

H8. Banasiak J*, Jasiński M*

*autor korespondencyjny

ATP-binding cassette transporters in nonmodel plants. *New Phytologist* (2022) 233: 1597-1612.

- doi: 10.1111/nph.17779
- **IF₍₂₀₂₁₎ = 10,323; IF_(5-letni) = 10,768**
- MEiN₍₂₀₂₁₎ = 140
- Plant Science Q1
- Liczba cytowań: 33
- Artykuł typu *Tansley reviews*, szeroko rozpoznawalny w społeczności naukowej zajmującej się biologią roślin
- Publikacja jest efektem realizacji grantu własnego (Sonata)
- Nagroda Dyrektora ICHB PAN za najlepszą publikację przeglądową powstałą w Instytucie w roku 2022

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: sformułowaniu koncepcji pracy wraz z drugim autorem korespondencyjnym; zebraniu i przeanalizowaniu materiałów źródłowych; przygotowaniu rycin i tabeli; identyfikacji transportów ABCG z różnych gatunków roślin oraz przeprowadzenie analiz filogenetycznych; przygotowaniu manuskryptu i odpowiedzi do recenzentów wraz z drugim autorem korespondencyjnym.

Łączne wskaźniki naukometryczne osiągnięcia naukowego:

- Artykuły na liście Web of Science Core Collection: **8**
- Indeks Hirscha **7**
- Sumaryczny Impact Factor (IF/IF5 letni) czasopism, w których opublikowano cykl publikacji: **58,414/64,001**
- Sumaryczna liczba cytowań/bez autocytowań wg bazy Web of Science Core Collection z dn. 28.08.2025: **256/241**
- Kopie powyższych publikacji zamieszczono w **Załączniku nr 6A**.
- Oświadczenia potwierdzające wkład habilitantki w powstanie prac zamieszczono w **Załączniku nr 7A**.

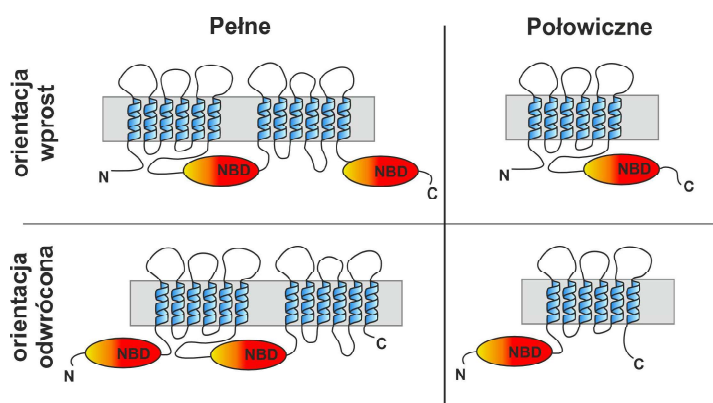
Łączne wskaźniki naukometryczne:

- Artykuły na liście Web of Science Core Collection: **13**
- Indeks Hirscha **11**
- Sumaryczny Impact Factor (IF/IF5 letni) czasopism, w których opublikowano cykl publikacji: **89,503/96,217**
- Sumaryczna liczba cytowań/bez autocytowań wg bazy Web of Science Core Collection z dnia 28.08.2025: **419/391**

3. Omówienie celu naukowego prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz z opisem najważniejszych wyników

3.1 Wprowadzenie i zaprezentowanie celu badawczego

Transportery ABC (ang. *ATP-Binding Cassette Transporters*) tworzą ewolucyjnie starą i szeroko rozpowszechnioną rodzinę białek zachowaną niemal we wszystkich grupach systematycznych. Białka te wykorzystują hydrolizę ATP do translokacji związków przez błony biologiczne, dlatego cechuje je obecność silnie zakonserwowanego rejonu wiążącego ATP. Ponadto posiadają specyficzny domenowy typ budowy, z dwoma podstawowymi rodzajami domen: i) domeną transbłonową (TMD, ang. *Transmembrane Domain*) oraz ii) domeną wiążącą nukleotyd (NBD, ang. *Nucleotide-Binding Domain*). Ze względu na liczbę i układ domen w obrębie jednego polipeptydu wyróżnić można pełne i połowiczne transportery ABC, które mogą przyjmować orientację wprost lub orientację odwróconą (Ryc. 1). Określony typ budowy, a także pokrewieństwo filogenetyczne stały się podstawą podziału białek ABC na poszczególne podrodziny ABCA-ABCI, przy czym przedstawicieli ABCH jak dotąd nie zidentyfikowano wśród roślin (Verrier et al., 2008).



Rycina 1. Podział transportów ABC ze względu na budowę. Pełne białka ABC zbudowane z dwóch domen TMD i dwóch domen NBD oraz połowiczne zbudowane z jednej domeny TMD i jednej domeny NBD. Białka ABC mogą przyjmować orientację wprost (domena TMD na N-końcu lub orientację odwróconą (domena NBD na N-końcu).

Roślinne białka ABC odpowiadają za transport niepowiązanych ze sobą strukturalnie i funkcjonalnie związków, takich jak lipidy, węglowodany, metale ciężkie, produkty katabolizmu chlorofilu, metabolity wtórne czy hormony roślinne. Początkowe badania nad tymi białkami koncentrowały się na ich roli w detoksyfikacji i obronie przed patogenami. Obecnie wiadomo, że transportery ABC odgrywają kluczową rolę w prawidłowym wzroście i rozwoju roślin, uczestniczą w odpowiedzi na stresy abiotyczne oraz biorą udział w szeroko pojętych interakcjach roślin z otoczeniem (Do et al., 2018; Do et al., 2021). Co ważne, katalog rozpoznanych procesów biologicznych, w które zaangażowane są roślinne białka ABC stale się powiększa, co otwiera nowe kierunki badań nad ich funkcją i znaczeniem w fizjologii roślin.

Warto podkreślić, że transportery ABC u roślin są szczególnie liczne i zróżnicowane w porównaniu z innymi taksonami. Zapotrzebowanie na wydajny i rozbudowany system transportu w roślinach może wynikać: i) z niezwyklej plastyczności adaptacyjnej roślin, wymuszonej osiadłym trybem życia ii) z „chemoróżnorodności”, będącej efektem wykształcenia wyspecjalizowanego metabolizmu oraz iii) zdolności do rozwoju

postembrionalnego, w dużej mierze kontrolowanego przez hormony roślinne. Co ciekawe, kluczowa rola białek ABC w przystosowaniu roślin do zmieniających się warunków środowiska odzwierciedlona jest m.in. poprzez podwojenie liczby genów kodujących ABC, które miało miejsce przed pojawieniem się roślin lądowych (One Thousand Plant Transcriptomes, 2019). Dotyczy to w szczególności największej podrodziny ABCG, której przedstawiciele odpowiadają m.in. za prawidłowe formowanie kutykuli chroniącej przed nadmierną utratą wody, nawiązywanie mikoryzy arbuskularnej oraz za transport metabolitów wtórnych i hormonów roślinnych, a zatem fundamentalnych innowacji, które umożliwiły udaną kolonizację lądu (Hwang et al., 2016).

Nasuwa się jednak pytanie, czy transportery ABCG mogły odegrać rolę w ewolucji poszczególnych linii rozwojowych w obrębie roślin kwiatoowych, np. ważnych rolniczo i gospodarczo roślin bobowatych (Fabaceae). Wiadomo, że bobowate stanowią trzecią co do wielkości oraz drugą pod względem znaczenia ekonomicznego rodzinę roślin okrytonasiennych. Co ważne, nawiązują swoistą symbiozę z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny (LRS, ang. *legume rhizobium symbiosis*), a także starszą ewolucyjnie i bardziej powszechną mikoryzę arbuskularną (AM, ang. *arbuscular mycorrhiza*) (Larrainzar and Wienkoop, 2017). Ponadto produkują specyficzną klasę metabolitów wtórnych jaką są 5-deoxy(izo)flawonoidy, które mogą pełnić zarówno funkcje obronne, jak i promować nawiązywanie oddziaływań symbiotycznych (Shimada et al., 2003).

Biorąc pod uwagę zaangażowanie białek ABCG w transport związków aktywnych biologicznie i ich rolę w szeroko pojętych interakcjach z mikroorganizmami, pytanie o ich znaczenie w biologii roślin bobowatych wydaje się być jak najbardziej zasadne, a odpowiedź na nie stało się głównym celem prowadzonych przeze mnie badań po uzyskaniu stopnia doktora.

Warto podkreślić, że wiedza o roślinnych białkach ABC, wykraczająca poza kanoniczny model *Arabidopsis thaliana* (przedstawiciel Brassicaceae), jest nadal bardzo ograniczona. Tym samym rola białek ABC w procesach unikalnych dla określonych taksonów jak np. symbioza roślin bobowatych z bakteriami wiążącymi azot jest wciąż słabo poznana. Dlatego w swoich badaniach skupiłam się na transporterach ABCG z *Medicago truncatula*, która jest organizmem modelowym dla roślin bobowatych (Ryc. 2). W pierwszej kolejności wymagało to ustanowienia odpowiedniego warsztatu badawczego i wypracowania lub zaadaptowania protokołów poświęconych *M. truncatula*. Ponadto niezbędne było opracowanie narzędzi pozwalających przeprowadzać szeroko rozumiane analizy funkcjonalne transporterów ABCG. Byłam zaangażowana we wszystkie te działania w trakcie budowania zespołu przez prof. dr. hab. Michała Jasińskiego. Ostatecznie pozwoliły one na efektywne testowanie hipotez dotyczących funkcji białek ABCG u *M. truncatula*. Warto podkreślić, że wpływ na rozwój

warsztatu badawczego miały m.in. moje wyjazdy stażowe do jednego z najlepszych ośrodków naukowych zajmujących się badaniami transporterów ABC, *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich* i możliwość prowadzenia badań w grupie kierowanej przez prof. Enrico Martinoia, niekwestionowany autorytet w tej dziedzinie. Uzyskane doświadczenie wykorzystałam podczas realizacji grantów badawczych. Jako postdoc i wykonawca zaangażowana byłam m.in. w realizację dwóch projektów dotyczących białek ABCG i ich roli w oddziaływaniach z bakteriami symbiotycznymi. Miałam także możliwość rozwijania własnych kierunków badawczych. W ramach kierowanego przeze mnie projektu SONATA, poszerzyłam tematykę Zakładu Fizjologii Molekularnej Roślin ICHB PAN o kolejny typ oddziaływań roślin bobowatych z mikroorganizmami – mikoryzę arbuskularną. Ponadto jako członek komitetu zarządzającego oraz vice lider grupy roboczej zaangażowałam się w realizację działań w ramach europejskiej akcji COST (European Cooperation in Science and Technology) CA22142 „Beneficial root-associated microorganisms for sustainable agriculture (ROOT-BENEFIT)”, która dotyczy wykorzystania pożytecznych mikroorganizmów glebowych w rozwoju rolnictwa zrównoważonego.

Wszystko to wpłynęło na mój rozwój naukowy oraz powstanie cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, w których wykazano ekspansję oraz specjalizację białek ABCG w pełnieniu funkcji związanych z biologią roślin bobowatych, w tym: i) przystosowania do specyficznego tła chemicznego (**H1, H2, H3, H8**), ii) nawiązywania swoistych oddziaływań symbiotycznych (**H1, H4, H5, H7, H8**) czy iii) specyficznej budowy anatomicznej korzeni (**H6**). Uzyskane wyniki pozwoliły poszerzyć i pogłębić wiedzę o transporterach ABCG odnośnie ich roli w oddziaływaniach roślin bobowatych z mikroorganizmami oraz translokacji metabolitów wtórnych i hormonów roślinnych. Poza znaczeniem naukowym, wyniki te mogą w przyszłości przyczynić się do rozwoju bardziej zrównoważonych praktyk rolniczych poprzez promowanie upraw roślin bobowatych, a tym samym ograniczenie zależności od chemicznych środków wykorzystywanych w produkcji rolnej.



Rycina 2. *Medicago truncatula*, różne formy materiału roślinnego wykorzystywane w badaniach roli białek ABCG w biologii roślin bobowatych. Rośliny rosnące w doniczkach, siewki hodowane *in vitro*, rośliny złożone z części nadziemnych typu dzikiego i transgenicznych korzeni, hodowle korzeni włosowatych i hodowle zawiesinowe.

3.2 Selekcja przyszłych obiektów badawczych (H1)

Jednym z etapów prowadzonych przez mnie badań był wybór przyszłych obiektów badawczych, w tym białek ABCG potencjalnie zaangażowanych w określone procesy biologiczne. Punktem wyjścia do ich selekcji była kompleksowa analiza dostępnych danych transkryptomicznych dotyczących zmian profilu ekspresji genów *M. truncatula* w kontekście symbiozy z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny (LRS), a także mikoryzy arbuskularnej (AM). Jako źródło informacji wykorzystywałam dane wygenerowane z użyciem Affymetrix Medicago GeneChip oraz RNAseq, które zostały uzyskane przez różne grupy badawcze. Pozwoliło to na wyselekcjonowanie genów ABC, których ekspresja zmienia się w specyficznych komórkach/tkankach korzenia, na różnych etapach LRS i AM. Dodatkowo na podstawie sekwencji genomowej zidentyfikowałam geny kodujące pełne i połowiczne transportery ABCG z *M. truncatula*. Następnie brałam udział w analizie ich ekspresji w organach Medicago, w warunkach promujących nawiązywanie symbiozy, jak deficyt azotu lub fosforu, po potraktowaniu bakteriami symbiotycznymi, uczestniczyłam także w analizie zmian poziomu ich mRNA pod wpływem hormonów roślinnych i metabolitów wtórnych.

Ponadto odpowiadałam za wyszukiwanie i systematyczną aktualizację listy genów ABC z *M. truncatula* oraz innych gatunków roślin, należących do różnych grup systematycznych. Zdobyte doświadczenie pozwoliło mi, przy współpracy z prof. M. Jasińskim oraz bioinformatykiem dr. Marcinem Radomem, stworzyć program ABCReader. Pozwala on automatycznie wyszukiwać, weryfikować oraz przyporządkowywać sekwencje białek ABC do poszczególnych podrodzin. Program ABCReader jest w szczególności dedykowany danym transkryptomicznym wygenerowanym w ramach inicjatywy 1KP (ang. 1000 Plant transcriptomes initiative), w ramach której przesekwencjonowano transkryptomy ponad 1000 gatunków roślin w obrębie Archaeplastida (glaukofity, krasnorosty, zielenice i rośliny lądowe) (One Thousand Plant Transcriptomes, 2019). Uzyskane sekwencje roślinnych białek ABC posłużyły mi do konstruowania drzew filogenetycznych, które pozwalają na określenie zależności ewolucyjnych pomiędzy badanymi białkami.

Warto zauważyć, że zestawienie danych transkryptomicznych z analizami filogenetycznymi przy jednoczesnym uwzględnieniu funkcji scharakteryzowanych białek ABCG z różnych gatunków roślin, pozwoliło wskazać najbardziej obiecujących kandydatów do szczegółowych analiz funkcjonalnych. Przykładem tego są białka MtABCG56 (**H4**), MtABCG20 (**H5**) i MtABCG59 (**H6**). Analizy filogenetyczne połowicznych i pełnych białek ABCG ze szczególnym uwzględnieniem tych z roślin bobowatych, a także interpretacja danych transkryptomicznych zostały częściowo opisane w rozdziale książkowym **H1**, którego jestem pierwszą autorką.

3.3 Określenie roli transportera MtABCG10 w szlaku biosyntezy specyficznych dla bobowatych 5-deoxy(izo)flawonoidów oraz ich pochodnych (H2, H3, H8)

Pierwsze badania roślinnych transporterów ABCG wskazywały na ich udział w sekrecji końcowych produktów metabolizmu wtórnego, związanych z odpowiedzią obronną. Jak wspomniano wcześniej, rośliny bobowate są szczególnie bogate w metabolity wtórne należące do klasy flawonoidów, wśród których 5-deoksy(izo)flawonoidy obecne są niemal wyłącznie w tej grupie roślin (Shimada et al., 2003). W przypadku *M. truncatula* 5-deoksy(izo)flawonoidy są prekursorami w biosyntezie głównej fitoaleksyny – medikarpiny posiadającej właściwości antygrzybiczne i antibakteryjne (Ryc. 3) (Naoumkina et al., 2007). Produkcja i wydzielanie tego pterokarpanu stanowi ważny element podstawowej odpowiedzi obronnej rośliny chroniącej przed szerokim spektrum patogenów. Może także odpowiadać za wzmocnienia specyficzności symbiozy. Wykazano, bowiem, że mikrosymbiont *M. truncatula* – *Ensifer meliloti* (dawniej *Sinorhizobium meliloti*), w kontraście do szeregu innych gatunków bakterii z grupy rhizobiów, wykazuje oporność na toksyczne działanie medikarpiny (Liu and Murray, 2016). W ramach swojej pracy doktorskiej wykazałam, że wyciszenie ekspresji *MtABCG10*, w warunkach stresu biotycznego, powoduje obniżenie produkcji *de novo* medikarpiny w korzeniach oraz spadek jej wydzielania do ryzosfery. Skutkuje to zwiększeniem wrażliwości *M. truncatula* na infekcje grzybowe. Co istotne do zaburzeń dochodzi na bardzo wczesnym etapie szlaku biosyntezy medikarpiny, sugerując rolę *MtABCG10* w dystrybucji prekursora/ów, a nie produktu końcowego (publikacja N4). W celu weryfikacji tej hipotezy podjęliśmy próbę identyfikacji transportowanych przez *MtABCG10* związków, a także wyjaśnienia zasadności translokacji związków pośrednich w szlaku fenylopropanoidowym (PP, ang. *phenylpropanoid pathway*) w obrębie tkanek korzenia, odnosząc się jednocześnie do opisywanego w literaturze konceptu funkcjonowania metabolonów. Zostało to opisane w publikacji H2, której jestem pierwszą równorzędną autorką, i omówione poniżej.

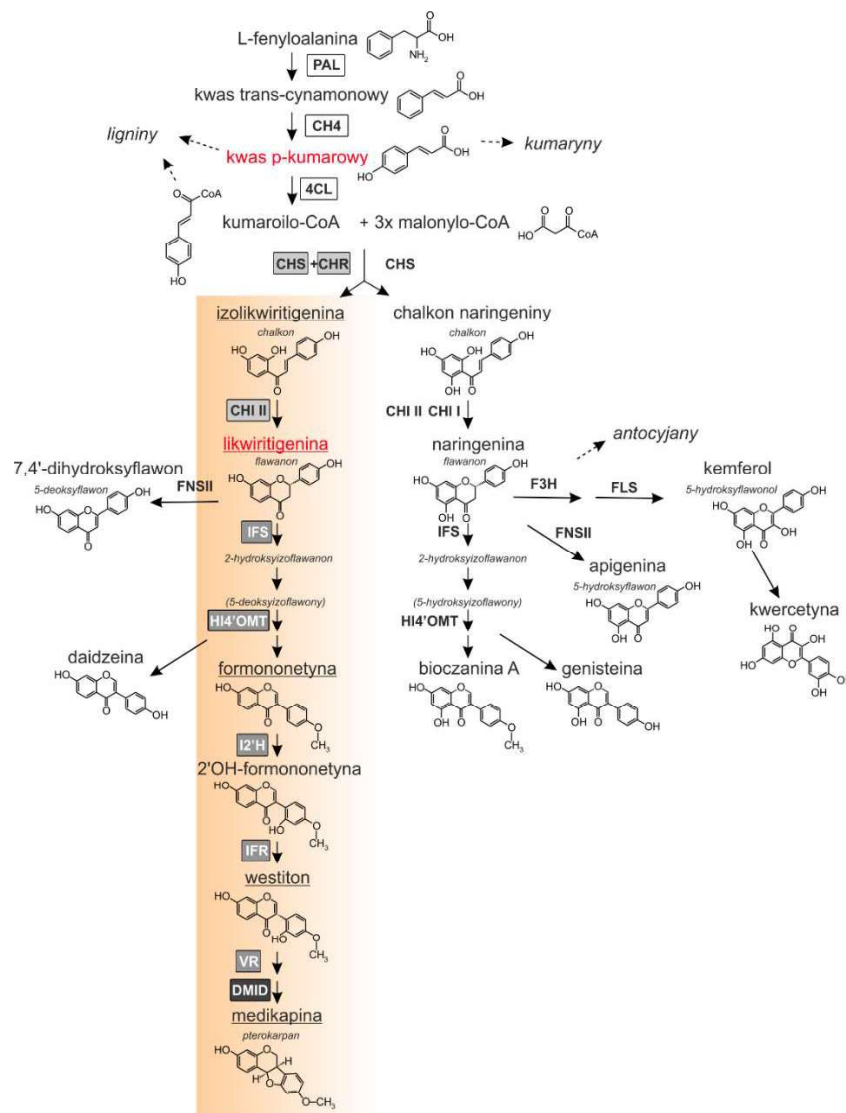
W przypadku białek ABCG egzogenna aplikacja transportowanych molekuł często prowadzi do wzrostu poziomu ekspresji ich genów. Dlatego w pierwszej kolejności przeprowadzono ilościową (ddPCR) analizę zmian akumulacji transkryptu *MtABCG10* po potraktowaniu korzeni *Medicago* szeregiem związków ze szlaku PP, będących związkami pośrednimi w produkcji medikarpiny (kwasem *p*-kumarowym, izolikwiritigeniną, likwiritigeniną, formononetyną) (Ryc. 3). Wśród nich kwas *p*-kumarowy wykazywał najwyższy potencjał w indukcji ekspresji *MtABCG10*. Jednak, eksperymenty komplementacji roślin z wyciszoną ekspresją *MtABCG10*, z użyciem związków ze szlaku PP, sugerowały udział transportera *MtABCG10* w translokacji więcej niż jednego substratu. Ostatecznie eksperymenty transportu przeprowadzone w układzie heterologicznym z wykorzystaniem komórek tytoniu BY2 z nadekspresją *MtABCG10* dowiodły, że *MtABCG10* w sposób selektywny transportuje kwas *p*-kumarowy i likwiritigeninę. Analizy transportu oraz komplementacji przy wykorzystaniu wysokoprzepustowej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) wykonane zostały przez Wandę Białą w ramach jej

pracy doktorskiej, której byłam promotorem pomocniczym na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu.

Warto zauważyć, że opisane do tej pory pełne transportery ABCG zaangażowane w transport metabolitów wtórnych brały udział w translokacji produktów końcowych. MtABCG10 był pierwszym przypadkiem związanym z dystrybucją wczesnych prekursorów. Pozwala to szerzej spojrzeć na rolę ABCG, nie tylko w kontekście relokacji metabolitów wtórnych, ale także modulacji ich biosyntezy. Oba transportowane przez MtABCG10 związki znajdują się w ważnych punktach rozgałęzienia szlaku PP (Ryc. 3). Kwas *p*-kumarowy jest prekursorem w biosyntezie monolignoli, kumaryn oraz 5-deoksy i 5-hydroksy (izo)flawonoidów. Likwiritigenina z kolei jest substratem zarówno dla syntazy flawonów (FNSII) jak i syntazy izoflawonów (IFS). Tym samym jest prekursorem w biosyntezie kolejno 7,4'-dihydroksyflawonu, który jest cząsteczką sygnałową w interakcjach symbiotycznych oraz 5-deoksyizoflawonoidów i ich pochodnych związanych z odpowiedzią obronną u *Medicago* (Ryc. 3).

Nasuwa się więc pytanie, w jaki sposób transport związków przejściowych/pośrednich (wspólnych dla kilku gałęzi szlaku) determinuje powstanie konkretnego produktu końcowego w danym scenariuszu biologicznym, w tym przypadku biosyntezy medikarpiny w odpowiedzi na stres biotyczny? Aby odpowiedzieć na to pytanie przyjrano się bliżej enzymom ze szlaku PP, które potencjalnie mogą tworzyć tymczasowe, funkcjonalne kompleksy enzymatyczne, tzw. metabolony. Te ostatnie odpowiadają m.in. za koordynację przebiegu reakcji w różnych gałęziach szlaku, wykorzystujących te same prekursory. Co istotne poszczególne izoformy enzymów ze wczesnych etapów szlaku PP mogą być zaangażowane w produkcję odrębnych klas fenylopropanoidów, a ich geny mogą być w odmienny sposób regulowane w zależności od stanu rozwoju rośliny, rodzaju tkanki, czy bodźców środowiskowych. Postuluje się, że wszystkie etapy biosyntezy poszczególnych klas związków fenolowych mogą zachodzić w jednej komórce przy udziale określonego metabolonu (Nakayama et al., 2019). Jest to jednak w kontraście do obserwowanego przez nas fenotypu metabolicznego roślin z wyciszoną ekspresją *MtABCG10*, a także wynikami komplementacji i transportu wskazującymi na udział MtABCG10 w translokacji prekursorów medikarpiny pomiędzy komórkami. Aby zweryfikować potencjalną przestrzenną separację etapów biosyntezy medikarpiny zidentyfikowano, a następnie określono przestrzenny wzór ekspresji genów *PAL* (ang. *Phenylalanine Ammonia-Lyase*) i *IFS* (ang. *Isoflavone Synthase*), które podobnie jak *MtABCG10* były indukowane po potraktowaniu elicytorem grzybowym, uruchamiającym syntezę *de novo* medikarpiny. Do określenia aktywności promotorów analizowanych genów wykorzystano dwa systemy reporterowe: *uidA* (kodujący GUS, β -glukuronidazę) oraz ii) z *nls-gfp* (kodujący NLS-GFP, białko zielonej fluorescencji połączone z sygnałem lokalizacji jądrowej). Uzyskane wyniki sugerują przestrzenne rozdzielenie etapów biosyntezy medikarpiny pomiędzy różne tkanki korzenia i udział MtABCG10 w przekierowywaniu prekursorów. Wyniki te mogą rzucać nowe światło na nasze rozumienie funkcjonowania metabolonów. Nie można wykluczyć bowiem, że transportery ABCG tworzą jednostki

operacyjne z izoformami enzymów ze szlaku PP, „przekierowując” cząsteczki prekursorowe/pośrednie do określonych gałęzi szlaku, w zależności od potrzeb rośliny.



Rycina 3. Schemat przedstawiający szlak fenylpropanoidowy u *Medicago truncatula*. Związki, których poziom był obniżony w korzeniach z wyciszoną ekspresją *MtABCG10* zostały podkreślone. Kolorem czerwonym zaznaczono związki transportowane przez MtABCG10. PAL, amoniakoliza feniloalaniny; C4H, hydroksylaza kwasu cynamonowego; 4CL, ligaza 4-kumaroilo-CoA; CHS, syntaza chalkonowa; CHR, reduktaza chalkonowa; IFS, syntaza izoflawonowa; CHI, izomeraza chalkonowa; FNS, HI4'OMT, 4'-O-metylotransferaza izoflawonowa; I2'H, 2'-hydroksylaza izoflawonowa; IFR, reduktaza izoflawonowa; VR, reduktaza westitonu; DMID, dehydrataza 4'-metoksyizoflawonolowa, F3H, 3-hydroksylaza flawanonowa; FNSII, syntaza flawonowa II; FLS, syntaza flawonolowa. (Zaadaptowano z publikacji **H2**).

Ponieważ MtABCG10 (aktualnie określany jako MtABCG46) charakteryzuje się wysoką selektywnością transportu wobec kwasu *p*-kumarowego i likwiritigeniny, w kolejnych badaniach podjęto próbę określenia molekularnych determinantów leżących u podstaw tej selektywności (artykuł **H3**). Zastosowanie kombinacji różnych metod w tym analiz filogenetycznych i biochemicznych, przewidywania struktury z wykorzystaniem AlphaFold2,

symulacji dynamiki molekularnej oraz mutagenyzy pozwoliło zdefiniować przejściową ścieżkę dostępu substratu do kieszeni centralnej MtABCG46 oraz zidentyfikować kluczowy aminokwas (F562) wpływający na jej architekturę, a co za tym idzie selektywność transportera. Mój udział w tych badaniach polegał na przygotowaniu zestawu sekwencji pełnych białek ABCG z różnych gatunków roślin, które posłużyły do analiz porównawczych i wyselekcjonowania aminokwasów, w obrębie kieszeni centralnej MtABCG46, potencjalnie zaangażowanych w rozpoznawanie lub translokację substratu. Ponadto przeprowadziłam obserwacje mikroskopowe komórek BY2 transformowanych konstrukcjami genetycznymi, w których różne warianty MtABCG46 (WT, F562Y, F562L, F562I, F562A) połączono z sekwencją kodującą białko zielonej fluorescencji GFP. Wprowadzone mutacje punktowe nie wpływały na lokalizację subkomórkową poszczególnych wariantów MtABCG46, tym samym wykazano, że różnice obserwowane w testach biochemicznych (eksperymentach transportu wyselekcjonowanych substratów) nie wynikały z nieprawidłowej lokalizacji białka w błonie komórkowej.

Co istotne na drzewie filogenetycznym można zaobserwować ekspansję białek ABCG z roślin bobowatych w obrębie subkladu, do którego należy MtABCG10/46. Może to wynikać z adaptacji do wyspecjalizowanego metabolizmu, dostosowanego do specyficznych wymagań danej grupy roślin, czy gatunku. W tym przypadku translokacji flawonoidów i ich prekursorów. Podobny wzrost liczby genów ABCG ma miejsce również w rodzinach Solanaceae i Brassicaceae i dotyczy białek ABCG zaangażowanych w transport odpowiednio terpenoidów i glukozynolanów. Rozwinięcie myśli o ekspansji genów *ABCG* w odniesieniu do „chemoróżnorodności” roślin okrytonasiennych zawarte zostało w publikacji przeglądowej **H8** i rozwinięte w dalszej części autoreferatu.

Podsumowując, wyniki opisane w publikacjach **N4**, **H2**, **H3** i **H8** łączą funkcję transportera MtABCG10/46 z translokacją metabolitów wtórnych powiązanych ze specyficznym dla roślin bobowatych rozgałęzieniem szlaku PP. Wskazują tym samym na specjalizację białka MtABCG10/46 w pełnieniu funkcji związanych z biologią tej grupy roślin, w szczególności z odpowiedzią obronną opartą na biosyntezie związków o właściwościach przeciwgrzybiczych i antybakteryjnych. Interesującym i perspektywicznym zagadnieniem w tym obszarze badań może być identyfikacja transporterów izo(flawonoidów), które odgrywają rolę w rozpoznawaniu partnerów na etapie presymbiotycznym LRS oraz zaangażowanych w proces formowania brodawek korzeniowych. Wspomniana wcześniej ekspansja homologów MtABCG10/46 w roślinach bobowatych może sugerować ich potencjalną funkcję nie tylko w mechanizmach obronnych, ale również w interakcjach symbiotycznych związanych z transportem izo(flawonoidów), co zostało zaproponowane w publikacjach przeglądowych **H7** i **H8**.

3.4 Określenie roli transporterów ABCG w dystrybucji cytokinin podczas nawiązywania symbiozy *M. truncatula* z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny (H1, H4, H8)

Obok metabolitów wtórnych również fitohormony odgrywają kluczową rolę w oddziaływań symbiotycznych. Co istotne rośliny bobowate stanowią najliczniejszą grupę w obrębie tzw. kladu roślin tworzących brodawki korzeniowe, w których zachodzi wiązanie azotu atmosferycznego (N₂) (NFN ang. *nitrogen-fixing root nodule clade*) (Griesmann et al., 2018; van Velzen et al., 2019). Przy czym symbioza roślin bobowatych z bakteriami należącymi do grupy rhizobiów (LRS) jest jednym z najlepiej zbadanych nieantagonistycznych oddziaływań międzygatunkowych. Wynika to z olbrzymiego znaczenia symbiotycznego wiązania azotu dla rozwoju rolnictwa zrównoważonego, którego celem jest zapewnienie wydajności upraw przy jednoczesnym zachowaniu dbałości o środowisko naturalne. Wiele laboratoriów na całym świecie zajmuje się poznaniem mechanizmów leżących u podstaw LRS. Jednym z kluczowych zagadnień i tematem debat od lat było określenie roli cytokinin (CK, ang. *cytokinin*) jako potencjalnego mobilnego sygnału koordynującego zdarzenia między ryzodermą, gdzie dochodzi do infekcji przez bakterie, a korą pierwotną będącą miejscem formowania zawiązków brodawek korzeniowych. Wyniki zawarte w publikacji **H4** są niezwykle ważne w toczącej się dyskusji, dostarczyły bowiem kluczowego argumentu przemawiającego za istotną rolą translokacji CK w procesie brodawkowania. W publikacji H4, której jestem drugą autorką, po raz pierwszy udało się wykazać, że CK są transportowane z ryzodermy do kory pierwotnej na wczesnych etapach symbiozy, za co odpowiada transporter MtABCG56. Co więcej proces ten ma istotne znaczenie w regulacji wydajności brodawkowania. Artykuł H4 jest wynikiem realizacji grantu OPUS, pt. „Rola transporterów błonowych w kaskadzie sygnałowej cytokinin podczas symbiozy bobowatych z bakteriami brodawkowymi”, kierowanego przez prof. M. Jasińskiego, w którym byłam wykonawcą. Znacząca część wyników zawartych w publikacji H4 stanowi element pracy doktorskiej Karoliny Jarzyniak, której byłam promotorem pomocniczym na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu.

Przeprowadzone przeze mnie i ujęte w rozdziale książkowym **H1**, a następnie rozwinięte w publikacji **H8** analizy filogenetyczne pełnych białek ABCG wykazały wydzielenie na drzewie filogenetycznym subkladu specyficznego dla roślin bobowatych. W jego obrębie widać wyraźną ekspansję genów ABCG, sugerującą adaptację do funkcji specyficznych dla bobowatych. Obserwacja ta stała się punktem wyjścia do poszukiwań transporterów ABCG potencjalnie zaangażowanych w LRS. Wstępne badania zmian poziomu ekspresji genów ABCG z *M. truncatula* należących do wspomnianego subkladu w warunkach powiązanych z LRS, jak np. traktowanie *Ensifer meliloti*, egzogenna aplikacja CK (*trans*-zeatyny) oraz analiza dostępnych danych mikromacierzowych pozwoliły wyselekcjonować MtABCG56, jako interesującego kandydata do dalszych badań.

Bardziej szczegółowe analizy wykazały, że mRNA *MtABCG56* specyficznie akumuluje w korzeniach i brodawkach korzeniowych, a jego ekspresja po inokulacji *E. meliloti* zależy od czynnika Nod i ogranicza się do rejonu infekcji. Ponadto wzór ekspresji w obrębie tkanek

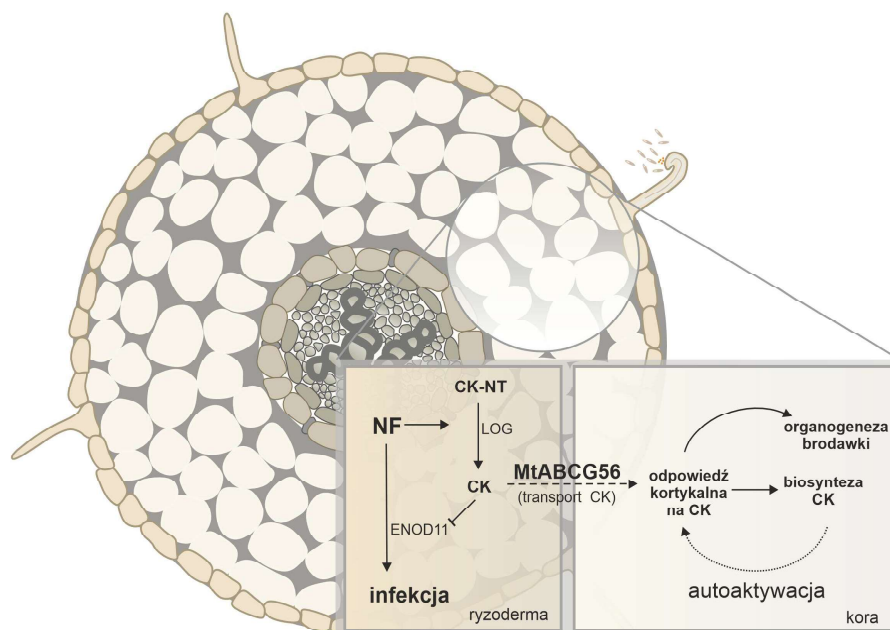
korzenia zmienia się w czasie po traktowaniu *E. meliloti*, początkowo obejmując walec osiowy i merystem apikalny, a następnie rozszerzając się na ryzodermę i korę pierwotną. Eksperymenty transportu wykonane we współpracy z partnerem zagranicznym (Markus Geisler, *Department of Biology, University of Fribourg, Switzerland*) dowiodły, że MtABCG56 jest transporterem bioaktywnych CK. Aby określić biologiczną rolę MtABCG56 przeprowadzono szereg analiz fenotypowych linii mutantów *mtabcg56* oraz linii z wyciszoną ekspresją *MtABCG56*. W przypadku tych ostatnich zastosowano dodatkowo tkankowo-specyficzne promotory (ryzodermalny i korykalny) w celu ekspresji „konstruktu wyciszającego” w określonych tkankach korzenia. Analizy dystalnej odpowiedzi korykalnej na CK, oparte na ekspresji genu markerowego *MtRR4*, wskazały na rolę MtABCG56 w translokacji CK z ryzodermy do kory pierwotnej. Co istotne, brak funkcjonalnego MtABCG56 w ryzodermie prowadził do akumulacji CK w tej tkance, czego konsekwencją było zniesienie indukcji genu markerowego *MtNOD11* pod wpływem *E. meliloti* oraz zmniejszenie liczby formowanych nici infekcyjnych. Obserwacja ta jest zgodna z wcześniej opisaną negatywną rolą ryzodermalnych CK w regulacji LRS. Ponadto zarówno linie mutantów *mtabcg56*, jak i linie RNAi *MtABCG56* wykazywały obniżony poziom brodawkowania, jednoznacznie wskazując na ważną rolę MtABCG56 w tym procesie.

W publikacji **H4** zaproponowano model, w którym MtABCG56 transportuje bioaktywne CK z ryzodermy do kory pierwotnej, niwelując w ten sposób negatywne działanie CK na proces infekcji. Ponadto MtABCG56 stanowi ważny element pozytywnego sprzężenia zwrotnego, rozszerzającego odpowiedź komórek na CK w wewnętrznych warstwach kory. To z kolei stymuluje podziały komórkowe prowadzące do powstania zawiązków brodawek korzeniowych (Ryc. 4). Warto podkreślić, że białko MtABCG56 może stanowić przykład zaadaptowania ewolucyjnie starego systemu transportu do nowej funkcji, jaką jest kontrola LRS. Przynależność MtABCG56 do subkladu specyficznego dla bobowatych, w którym zaobserwowano wyraźną ekspansję genów *ABCG*, dodatkowo wspiera hipotezę o funkcjonalnej specjalizacji tego transportera w regulacji procesu brodawkowania (**H1, H8**).

Warto zauważyć, że bliski homolog MtABCG56, MtABCG40 jest również zaangażowany w kontrolę tworzenia brodawek korzeniowych, na co wskazują nasze aktualne badania. Odpowiada on za translokację ksylemowych CK w kierunku perycyklu. W ten sposób negatywnie reguluje inicjację formowania zarówno zawiązków korzeni bocznych, jak i brodawek korzeniowych w ramach wspólnego programu rozwojowego (dane nieopublikowane). Obserwowana przeciwstawna rola CK w formowaniu zawiązków brodawek korzeniowych, może zatem zależeć od: i) źródła cytokinin (ksylem, ryzoderma), ii) mechanizmu ich transportu (MtABCG40, MtABCG56) oraz iii) czasu i miejsca percepcji CK (perytykl, wewnętrzne warstwy kory). Uzyskane wyniki rzucają nowe światło na rozumienie roli transportu hormonów w procesach morfogenetycznych powiązanych z brodawkowaniem.

O znaczeniu wyników zawartych w publikacji **H4** może świadczyć fakt, że zostały one opublikowane w czasopiśmie *Nature Plants*. Co więcej praca ta zostało wyróżniona szeregiem nagród, w tym prestiżową Nagrodą Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych za wybitne

osiągnięcie badawcze pt. „Poznanie mechanizmu dystrybucji cytokinin w procesie biologicznego wiązania azotu u roślin bobowatych”.



Rycina 4. Proponowana funkcja transportera cytokinin MtABCG56 na wczesnych etapach interakcji symbiotycznej. MtABCG56 transportuje bioaktywne CK z ryzodermy do kory pierwotnej. W ten sposób stanowi ważny element pozytywnego sprzężenia zwrotnego, rozszerzającego odpowiedź komórek na CK w wewnętrznych warstwach kory. Prowadzi to do stymulacji podziałów komórkowych w korze i formowania zawiązków brodawek korzeniowych. Jednocześnie MtABCG56 przeciwdziała negatywnemu wpływowi CK ryzodermalnych na proces infekcji. (NF, czynnik NOD; CK-NT, nukleotydowe prekursorzy CK; CK, bioaktywne formy CK); (Na podstawie publikacji **H4**).

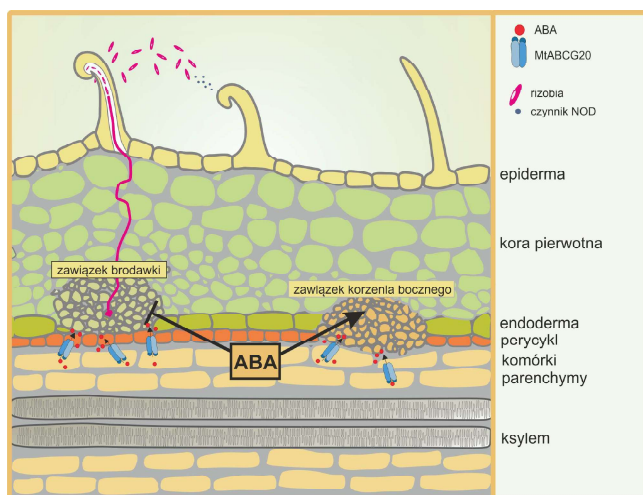
3.5 Rola transportera kwasu abscysynowego – ABCG20 – w kontroli brodawkowania oraz jego znaczenie w kiełkowaniu nasion *M. truncatula* (**H5**)

Prowadzone przeze mnie badania nad rolą transportu hormonów roślinnych podczas LRS obejmowały nie tylko CK, ale także kwas abscysynowy (ABA, ang. *abscisic acid*). ABA jest jednym z kluczowych hormonów dostrajających fizjologię rośliny do panujących warunków środowiska, szczególnie tych związanych z niedoborem wody. Co ciekawe wykazano, że kosztowny energetycznie proces brodawkowania jest hamowany w warunkach suszy, a ABA odgrywa istotną rolę w kontroli tego procesu na różnych etapach symbiozy roślin bobowatych z bakteriami należącymi do grupy rhizobiów (Ding et al., 2008). W związku z tym podjęto próbę identyfikacji transportera ABA, którego aktywność wpływa na brodawkowanie. Zostało to opisane w publikacji **H5**, której jestem pierwszą równorzędną współautorką. Artykuł **H5** jest wynikiem realizacji grantu HARMONIA, pt. „Transport ABA u bobowatych – między odpowiedzią na stres suszy a wydajnym wiązaniem azotu atmosferycznego”, kierowanego przez prof. M. Jasińskiego, w którym zatrudniona byłam na stanowisku postdoc i w ramach którego odbyłam staż w *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich*.

Wykorzystując wiedzę na temat scharakteryzowanych transporterów ABA z *Arabidopsis* w połączeniu z analizami filogenetycznymi wyselekcjonowano połowiczny transporter MtABCG20 potencjalnie zaangażowany w translokację ABA u *M. truncatula*. Ekspresja MtABCG20 indukowana była w korzeniach zarówno pod wpływem egzogennej aplikacji ABA, jak również w warunkach symulujących stres osmotyczny (traktowanie glikolem polietylenowym, PEG). Co ciekawe wzrost akumulacji transkryptu *MtABCG20* pod wpływem ABA był niezależny od wewnątrzkomórkowego szlaku sygnałowego tego hormonu (ang. *ABA core signaling pathway*), działającego w komórkach efektorowych. Wskazywały na to badania zmian poziomu ekspresji *MtABCG20* oraz genów markerowych w transgenicznym korzeniach *M. truncatula* z nadekspresją dominującego negatywnego allelu *abi1-1* z *Arabidopsis*, wyłączającego wspomnianą kaskadę sygnałową. Uzyskane wyniki sugerują, że MtABCG20 działa w miejscu biosyntezy ABA, co dodatkowo wsparte zostało analizą aktywności jego promotora obserwowaną w komórkach parenchymy walca osiowego korzenia.

Wykonane przez Aleksandrę Pawełę, w ramach jej pracy doktorskiej, eksperymenty transportu i wielokolorowej dwucząsteczkowej komplementacji fluorescencji (*mcBiFC*, ang. *multicolor Bimolecular Fluorescence Complementation*), wykazały, że MtABCG20 jako homodimer jest zdolny eksportować ABA.

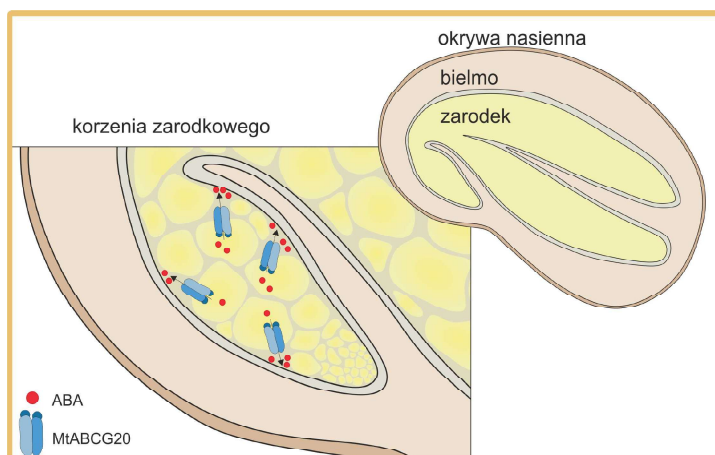
Kolejnym etapem badań było określenie biologicznej roli MtABCG20. Wiadomo, że ABA w zależności od gatunku rośliny odmiennie wpływa na architekturę korzeni. Może hamować formowanie korzeni bocznych, jak w przypadku *Arabidopsis* lub stymulować ich powstawanie co ma miejsce u *M. truncatula*. Przyjmuje się, że zmiana odpowiedzi na ABA w przypadku roślin bobowatych wiąże się z uzyskaniem przez nie zdolności do formowania brodawek korzeniowych (Liang and Harris, 2005). Co istotne ABA uznawany jest za negatywny regulator LRS. Aby sprawdzić, czy zaburzenie w dystrybucji tego fitohormonu wpływa na procesy morfogenetyczne korzenia przeprowadzone zostały analizy fenotypowe polegające na porównaniu liczby korzeni bocznych i brodawek formowanych w warunkach symulujących stres suszy pomiędzy liniami mutantów insercyjnych *mtabcg20* a roślinami typu dzikiego. Brak transportera MtABCG20 w obu przypadkach powodował nieznaczne zniesienie odpowiedzi na ABA, manifestujące się spadkiem liczby korzeni bocznych i wzrostem liczby brodawek. Uzyskane wyniki sugerują udział MtABCG20 w eksporcie ABA z miejsca biosyntezy, w celu stymulacji bądź zahamowania podziałów komórkowych odpowiednio w miejscu tworzenia korzenia bocznego i brodawki (Ryc. 5).



Rycina 5. Proponowana rola MtABCG20 w korzeniu *Medicago truncatula*. MtABCG20 jest eksporterem kwasu absycynowego (ABA) z miejsca biosyntezy (komórki parenchymy) do miejsca odpowiedzi na ABA. W ten sposób MtABCG20 pozytywnie wpływa na tworzenie zawiązków korzenia bocznego i wywiera negatywny wpływ na rozwój brodawek korzeniowych. (Zaadaptowano z publikacji H5).

Ponieważ ABA pełni ważną rolę w kontroli spoczynku i kiełkowania nasion postanowiliśmy przyjrzeć się bliżej MtABCG20 również w tym kontekście. U *Arabidopsis* scharakteryzowano szereg transporterów ABCG zaangażowanych w dystrybucję ABA w nasionach. Wśród nich AtABCG25 i AtABCG31 funkcjonują jako eksportery ABA z miejsca biosyntezy – bielma, z kolei AtABCG30 i AtABCG40 importują ABA do zarodka. Ich skoordynowane działanie prowadzi do supresji kiełkowania nasion w niekorzystnych warunkach. Przeprowadzone analizy wykazały, że aktywność promotora *MtABCG20* w nasionach jest bardzo specyficzna i ogranicza się do strefy wzrostu pomiędzy hipokotylem a korzeniem zarodkowym. Obecność eksportera ABA w zarodku nasion *M. truncatula* rodzi jednak pytanie o jego funkcję, która wydaje się być odmienna od tej opisaną dla transporterów ABA z *Arabidopsis*. Przeprowadzone analizy fenotypowe mutantów *mtabcg20* wskazały na udział MtABCG20 w promowaniu kiełkowania oraz zwiększoną akumulację ABA w zarodkach mutantów *mtabcg20* w porównaniu z typem dzikim.

Podsumowując, MtABCG20 prawdopodobnie uczestniczy w usuwaniu ABA ze specyficznej strefy wzrostu korzenia zarodkowego, co uwalnia to miejsce od blokującego wpływu ABA i promuje kiełkowanie (Ryc. 6). Tym samym zaproponowany został dotąd nieopisany mechanizm kontroli kiełkowania, który w pośredni sposób wspiera założenie o istnieniu przestrzennie odseparowanych centrów decyzyjnych w zarodku i konieczności komunikacji między nimi, np. za pośrednictwem transportu hormonów (Topham et al., 2017). Kwestia, czy opisany mechanizm jest unikalny dla roślin bobowatych, pozostaje jednak otwarta.



Rycina 6. Proponowana rola MtABCG20 w kiełkowaniu nasion. MtABCG20 odpowiada za usuwanie ABA z korzenia zarodkowego w ten sposób pozytywnie wpływa na kiełkowanie. (Zaadaptowano z publikacji H5).

3.6 Określenie roli transportera MtABCG59 w sekrecji stigolaktonów podczas nawiązywania mikoryzy arbuskularnej – w kontekście specyficznej budowy anatomicznej korzeni roślin bobowatych (H6)

Rozwijając własne kierunki badawcze skupiłam się na określeniu roli białek ABCG z *M. truncatula* w kolejnym typie oddziaływań symbiotycznych, a mianowicie mikoryzie arbuskularnej (AM). AM jest najbardziej rozpowszechnioną formą symbiozy nawiązywaną przez większość roślin lądowych z grzybami należącymi do podtypu Glomeromycotina (Parniske, 2008). Główną korzyścią wynikającą z ustanowienia AM dla rośliny jest ułatwiony dostęp do składników mineralnych, zwłaszcza fosforanów. W zamian roślina dostarcza partnerowi grzybowemu węglowodany i lipidy. Wymiana związków odżywczych zachodzi za pośrednictwem błony otaczającej silnie rozgałęzione struktury grzybowe wewnątrz komórki, zwane arbuskulami. Początki AM zbiegają się z wyjściem roślin na ląd (Pirozynski and Malloch, 1975), a pierwsze etapy szlaku sygnałowego AM zostały zaadaptowane przez rośliny bobowate w celu nawiązywania specyficznej symbiozy z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny (Oldroyd and Downie, 2006).

Wiadomo, że ustanowienie AM jest poprzedzone uwolnieniem cząsteczek sygnałowych do ryzosfery. Wśród nich strigolaktyny (SL, ang. *strigolactones*) odgrywają najważniejszą rolę, stymulując metabolizm arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AMF, ang. *arbuscular mycorrhizal fungi*) i prawdopodobnie kierując strzępki grzybów do korzeni gospodarza (Akiyama et al., 2005). W ramach publikacji H6, której jestem pierwszą i korespondującą autorką, zidentyfikowano i przeprowadzono analizę funkcjonalną potencjalnego transportera SL z *M. truncatula* – MtABCG59. Co ważne udało się wykazać, że sekrecja SL, w której pośredniczą białka ABCG jest zależna od specyficznych cech anatomicznych korzeni, w tym obecności lub braku tzw. egzodermy. Artykuł H6, jest wynikiem realizacji grantu własnego SONATA pt. „Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący “molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej” oraz współpracy z partnerami zagranicznymi (Lorenzo Borghi i Enrico Martinoia). Ponadto część wyników

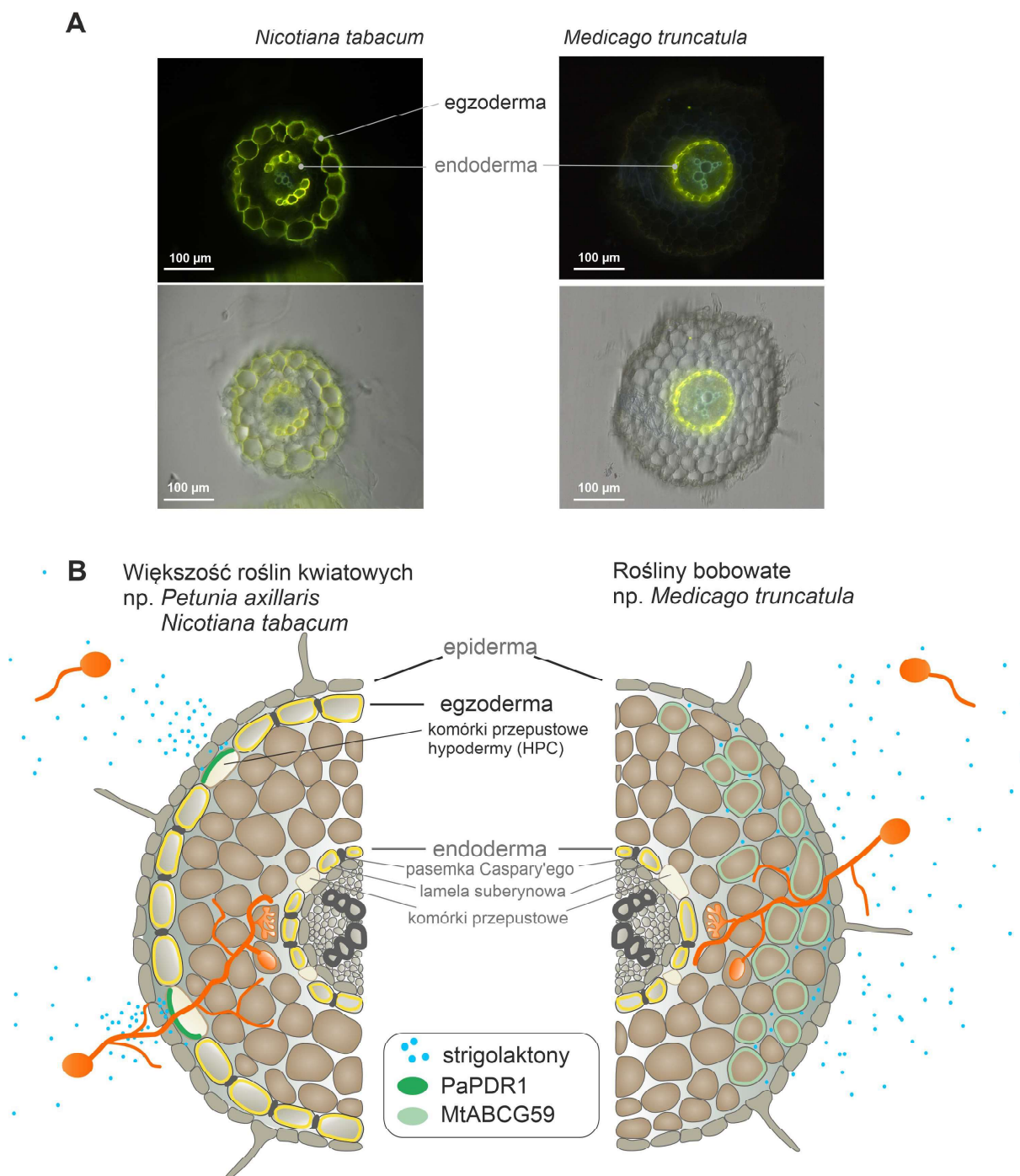
zawartych w publikacji została uzyskana podczas mojego pobytu na stażu w *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich*.

Wcześniejsze badania realizowane w laboratorium prof. Enrico Martinoia wykazały, że za sekrecję SL w petunii, należącej do rodziny Solanaceae odpowiada pełny transporter ABCG (PDR1) obecny w tzw. komórkach przepustowych egzodermy/hypodermy (HPCs, ang. *hypodermal passage cells*), które są jednocześnie miejscem wnikania strzępek AMF do wnętrza korzenia (Kretschmar et al., 2012). Co istotne większość roślin bobowatych nie tworzy egzodermy, czyli składającej się z silnie suberynizowanych komórek apoplastycznej bariery dyfuzyjnej leżącej pod epidermą (Peterson and Perumalla, 1990). Tak jest też w przypadku *M. truncatula*, co potwierdzono analizując jej korzenie potraktowane barwnikiem fluorescencyjnym Fluorol Yellow 088, służącym wybarwianiu suberynu w tkankach roślinnych (Ryc. 7A). Obserwacja ta stała się punktem wyjścia do zbadania wpływu różnic w anatomicznej budowie korzenia na uwalnianie SL i nawiązywanie AMS oraz sprawdzenia, czy mechanizm transportu SL oparty na pełnych białkach ABCG funkcjonuje również poza roślinami z rodziny Solanaceae.

W tym celu, w pierwszej kolejności przeprowadzono analizy fenotypowe *M. truncatula* z nadekspresją *PaPDR1* z *Petunia axillaris*. Transgeniczne rośliny wykazywały szereg cech powiązanych z aktywnością SL, w tym podwyższony poziom kolonizacji AMF w porównaniu do typu dzikiego. Potwierdzenie funkcjonalności *PaPDR1* w *Medicago* skłoniło mnie do identyfikacji endogennego białka ABCG odpowiedzialnego za translokację SL w tej roślinie bobowatej. Bazując na analizach filogenetycznych oraz badaniach zmian poziomu ekspresji genów ABCG z *Medicago* w warunkach promujących AMS (deficyt fosforanów) oraz pod wpływem egzogennie dodanego syntetycznego SL (GR24) wyselekcjonowano *MtABCG59* jako kandydata do dalszych analiz funkcjonalnych. Wykazano, że *MtABCG59* jest genem korzeniowo specyficznym. Głównym miejscem aktywności jego promotora są komórki zewnętrznej części kory pierwotnej, co jest w zgodzie z proponowaną funkcją w sekrecji SL do ryzosfery. We współpracy z Lorenzo Borghi przeprowadzono analizy fenotypowe mutantów insercyjnych *Tnt1 mtabcg59*. Mutacja w obrębie *MtABCG59* powodowała obniżenie poziomu kolonizacji korzeni *Medicago* przez *Rhizophagus irregularis*, co było szczególnie wyraźne na wczesnych etapach interakcji. Jednocześnie struktury arbuskul grzybowych, które są miejscem wymiany związków odżywczych, okazały się nienaruszone. Uzyskane wyniki pokazały, że *MtABCG59* jest wymagany do zainicjowania AMS, a nie jej podtrzymania. Aby sprawdzić, czy *MtABCG59* jest zaangażowany w sekrecję SL przeprowadzono analizę eksudatów korzeniowych mutantu *mtabcg59* oraz roślin typu dzikiego, oceniając ich zdolność do stymulowania kiełkowania nasion pasożytniczej rośliny *Phelipanche ramosa*, procesu całkowicie zależnego od obecności SL. Zaobserwowano obniżone kiełkowanie nasion po ekspozycji na eksudaty korzeniowe mutantu *mtabcg59*, ale wyłącznie w przypadku nasion znajdujących się w pewnej odległości od korzenia. Nasiona w bezpośrednim kontakcie kiełkowały jak w kontroli, co może wskazywać na dyfuzję SL, możliwą w przypadku braku egzodermy.

Podsumowując, uzyskane wyniki pozwoliły zaproponować model porównujący pierwsze etapy nawiązywania AMS, zależne od SL, pomiędzy *P. axillaris* (Solanaeae) i *M. truncatula* (Fabaceae). W przypadku *P. axillaris* SL są uwalniane do ryzosfery przy udziale PaPDR1, który jest zlokalizowany w komórkach przepustowych egzodermy. Formowany przez PaPDR1 gradient SL nakierowuje strzępki grzybowe do miejsca wnikania, tj. niesuberyzowanych HPC umożliwiającego późniejszą penetrację warstw kory pierwotnej. U *M. truncatula* SL mogą biernie dostawać się do ryzosfery ponieważ nie napotykają bariery dyfuzyjnej. Jednak aby osiągnąć pełny zakres kolonizacji AMF, wymagany jest aktywny eksport SL przy udziale MtABCG59. Działanie tego ostatniego zapewnia osiągnięcie dostatecznie wysokiego stężenia SL w ryzosferze, które jest potrzebne do stymulacji metabolizmu AMF znajdujących się w pewnej odległości od korzenia. Ponadto brak egzodermy sprawia, że miejsce wnikania strzępek grzybowych prawdopodobnie nie jest ograniczone do określonych rejonów korzenia, jak w przypadku roślin wytwarzających egzodermę (Ryc. 7B).

Obok AM, także LRS może być kontrolowana przez strigolaktyny na co wskazują badania prowadzone na różnych gatunkach roślin bobowatych (Foo and Davies, 2011; Liu et al., 2013). Brak różnic fenotypowych w liczbie formowanych brodawek oraz ich morfologii między roślinami typu dzikiego i mutantami sugeruje brak znaczącej roli MtABCG59 w procesie brodawkowania. Niewykluczone jednak, że funkcję tę pełni jego bliski homolog *MtABCG43*, którego ekspresja indukowana jest niedoborem azotu, jak i potraktowaniem czynnikiem NOD, inicjującym LRS.



Rycina 7. Wpływ struktury anatomicznej korzenia na pierwsze etapy formowania mikoryzy arbuskularnej (AMS). Przekrój poprzeczny korzeni *Nicotiana tabacum* (Solanaceae) i *Medicago truncatula* (Fabaceae), wybarwionych Fluorol Yellow 088 na obecność suberynu w tkankach roślinnych, pokazujący brak egzodermy w korzeniach *M. truncatula* (A). Porównanie wczesnych etapów nawiązywania AMS, zależnych od strigolaktonów (SL), pomiędzy *Petunia axillaris* (Solanaceae) i *M. truncatula* (Fabaceae). W przypadku *P. axillaris* SL są uwalniane do ryzosfery przy udziale PaPDR1, który jest zlokalizowany w komórkach przepustowych egzodermy. Formowany przez PaPDR1 gradient SL nakierowuje strzępki grzybowe do miejsca wnikania, tj. niesuberyzowanych HPC umożliwiającę późniejszą penetrację warstw kory pierwotnej. U *M. truncatula* SL mogą biernie dostawać się do ryzosfery ponieważ nie napotykają bariery dyfuzyjnej. Jednak aby osiągnąć pełny zakres kolonizacji AMF, wymagany jest aktywny eksport SL przy udziale MtABCG59. Ponadto brak egzodermy sprawia, że miejsce wnikania strzępek grzybowych nie jest ograniczone do określonych rejonów korzenia, jak w przypadku roślin wytwarzających egzodermę (B). (Zaadaptowano z publikacji H6).

3.7 Ekspansja genów ABCG związana z adaptacją do tła biochemicznego oraz nowych funkcji (H7, H8)

Artykuł przeglądowy **H7**, którego jestem pierwszą współautorką oraz artykuł przeglądowy **H8**, którego jestem pierwszą oraz korespondującą współautorką wspólnie z prof. M. Jasińskim, stanowią podsumowanie osiągnięć/wyników zawartych w publikacjach **H1-H6**, które zostały wpisane w szerszy kontekst aktualnej wiedzy: i) na temat systemów transportu (w tym białek ABC) funkcjonujących na różnych etapach AM i LRS oraz ii) dotyczących roślinnych białek ABC, z uwzględnieniem ich ewolucji, adaptacji do nowych funkcji i potencjalnego znaczenia dla rozwoju rolnictwa zrównoważonego.

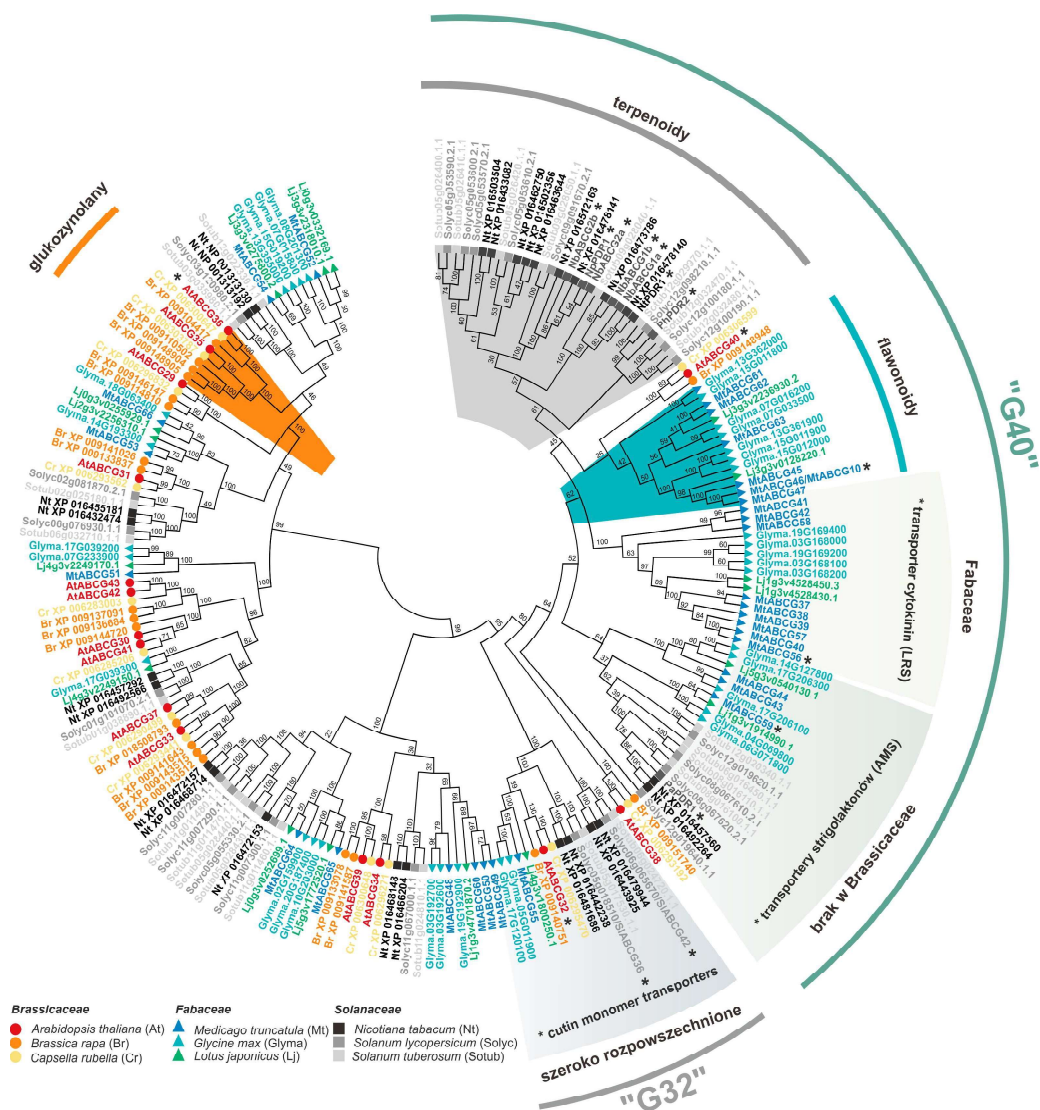
Publikacja **H7** kompleksowo opisuje rolę różnego typu systemów transportu podczas nawiązywania AM i LRS. W artykule przedstawiono aktualną wiedzę na temat transportu związków sygnałowych na etapie presymbiotycznym, warunkującym rozpoznanie partnerów oraz potencjalną rolę transporterów podczas inwazji. Ponadto szczegółowo opisano transportery zlokalizowane w błonie periarbuskularnej i błonie symbiosomu, które odpowiadają za wymianę związków odżywczych między symbiontami. W pracy zwrócono uwagę na najnowsze odkrycia w tym zakresie, m.in. konieczność translokacji związków lipidowych należących do klasy sn2-monoacylogliceroli, stanowiących ważne źródło węgla dla grzybów mikoryzowych czy identyfikację transporterów żelaza niezbędnych dla wiązania azotu atmosferycznego w brodawkach korzeniowych. Ponadto wskazano na istotne luki w wiedzy, w tym wciąż słabo poznane mechanizmy transportu hormonów roślinnych, modulujących oddziaływanie symbiotyczne.

Z kolei w publikacji **H8** przyjrano się bliżej transporterom ABC, co istotne wykraczając poza opisany wcześniej w licznych pracach przeglądowych klasyczny model, jakim jest Arabidopsis. W pierwszej kolejności zestawiono dostępne dane transkryptomiczne wygenerowane w ramach projektu One Thousand Plant Transcriptomes (1KP), dotyczące roślinnych genów ABC. Pozwoliło to prześledzić zmiany w dystrybucji transporterów ABC w różnych grupach taksonomicznych w obrębie Archaeplastida (glaukofity, krasnorosty, zielenice i rośliny lądowe). Pokróćce omówione zostały również mechanizmy ewolucyjne prowadzące do zmian w liczbie genów ABC, a także informacje o znaczeniu ABC transporterów w kolonizacji łądy przez rośliny.

W kolejnej części artykułu uwaga skupiona została na pełnych białkach ABCG pochodzących z trzech ważnych gospodarczo rodzin roślin kwiatowych Fabaceae, Solanaceae i Brassicaceae. W ich obrębie zaobserwowaliśmy bowiem ekspansję genów ABCG, którą można powiązać z przystosowaniem do specyficznego tła biochemicznego i obecnością określonych grup metabolitów wtórnych, kolejno flawonoidów (**H2**), terpenoidów i glukozynolanów (Ryc. 8). Warto zwrócić również uwagę, że przedstawione w osiągnięciu habilitacyjnym białka ABCG pochodzące z Medicago – MtABCG10/46 (**H2, H3**), MtABCG56 (**H4**) i MtABCG59 (**H6**) – na drzewie filogenetycznym leżą w obrębie wyraźnie rozbudowanego i największego kladu, określanego jako „G40”, który obejmuje tylko jednego

przedstawiciela z *A. thaliana*, AtABCG40 (Ryc. 8) **(H8)**. Wyniki własne, jak i innych grup badawczych pozwalają przypuszczać, że kład „G40” odgrywa istotną rolę w szeroko pojętych oddziaływaniach roślin z mikroorganizmami. Obejmuje on bowiem białka odpowiedzialne zarówno za obronę przed patogenami (transport metabolitów wtórnych – NtPDR1, NpPDR1, NbABCG2, MtABCG46), jak i interakcje symbiotyczne (LRS, AMS – MtABCG56, PhPDR1, MtABCG59). Jego wyodrębnienie podkreśla zasadność prowadzenia badań podstawowych nad transporterami ABCG, wykraczających poza kanoniczny model *A. thaliana*, co jest kluczowe dla pełnego zrozumienia ich funkcji. Na unikalność kładu „G40” wskazuje m.in. fakt, że transportery ABCG, tworzące inny odseparowany kład „G32” i odpowiedzialne za translokację monomerów kutyny, są szeroko rozpowszechnione i zakonserwowane wśród gatunków roślin kwiatowych, co jest z kolei zgodne z ich uniwersalną funkcją (Ryc. 8). W obrębie kładu „G40” wyróżnić można m.in. specyficzny dla roślin bobowatych subkład obejmujący białko MtABCG56 **(H4)**, zaangażowane w promowanie LRS. Nie wykluczone zatem, że nabycie zdolności do nawiązywania specyficznych oddziaływań symbiotycznych mogło być powiązane z ekspansją genów *ABCG* z roślin bobowatych i ich funkcjonalną specjalizacją. Z kolei wśród gałęzi grupującej transportery strigolaktonów (związki sygnałowe w AMS), w tym MtABCG59 **(H6)** brak jest przedstawicieli ABCG z roślin Brassicaceae, nienawiązujących symbiozy z arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi (Ryc. 8) **(H8)**.

Biorąc pod uwagę olbrzymi aplikacyjny potencjał transporterów ABC, w ostatniej części pracy **H8** jako pierwsi zebraliśmy i zestawiliśmy przykłady białek ABC, które pozytywnie wpływają na cechy użytkowe roślin, przez co mogą stanowić ważne cele służące poprawie wydajności i jakości upraw.



Rycina 8. Drzewo filogenetyczne pełnych białek ABCG z gatunków roślin należących do trzech rodzin Brassicaceae, Fabaceae i Solanaceae. „G32” i „G40” reprezentują kłady, przyjmując swoje nazwy od homologów z *Arabidopsis thaliana*. Na drzewie można wyróżnić dalsze podgrupy białek ABCG wydzielone na podstawie filogenezy i potencjalnej specjalizacji funkcjonalnej. Gwiazdka wskazuje wcześniej scharakteryzowane transportery ABCG, należące do oznaczonych klastrow, dla których znane/postulowane są transportowane związki. (Zaadaptowano z publikacji H8).

3.8 Podsumowanie

Omówione powyżej badania składające się na moje osiągnięcie naukowe zatytułowane „Ekspansja i specjalizacja transporterów ABCG u roślin bobowatych” realizowałam w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN (ICHB PAN) w Poznaniu oraz w *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich* (dwa pobyty stażowe). Składa się na nie cykl ośmiu publikacji wieloautorskich, z których pięć przedstawia wyniki oryginalnych badań, jedna jest rozdziałem w książce, pozostałe dwie publikacje mają charakter przeglądowy i stanowią podsumowanie osiągnięć oraz wyników uzyskanych w trakcie moich badań nad transporterami ABC, wpisując je w szerszy kontekst aktualnego stanu wiedzy. Jestem pierwszą autorką trzech

spośród nich, pierwszą równorzędną autorką w trzech kolejnych, jednocześnie autorką korespondującą i równorzędną autorką korespondującą w dwóch artykułach. Przedstawione prace ukazały się w prestiżowych czasopismach, takich jak *Nature Plants*, *New Phytologist*, *Plant Physiology*, *Plant Journal*, *Journal of Experimental Botany*, *Frontiers in Plant Science*, *Cellular and Molecular Life Science*, uzyskały szereg nagród, a wyniki w nich zawarte prezentowałam na wielu konferencjach o zasięgu międzynarodowym zarówno w formie plakatów naukowych, jak i wystąpień ustnych.

Wyniki zawarte w cyklu publikacji znacząco poszerzyły wiedzę na temat roli białek ABCG w transporcie metabolitów wtórnych i hormonów roślinnych, a także ich znaczenia w procesach rozwojowych, odpowiedzi na stresy środowiskowe oraz interakcjach z mikroorganizmami. Co istotne prowadzone badania miały charakter unikatowy i wskazały na kluczową rolę białek ABCG w biologii roślin bobowatych. Wykazano bowiem, że ekspansja transporterów ABCG i ich funkcjonalna specjalizacja u bobowatych mogą być związane z adaptacją do tła chemicznego, czyli obecności określonej klasy metabolitów wtórnych, oraz z pełnieniem nowych funkcji, takich jak nawiązywanie specyficznych oddziaływań symbiotycznych.

Jednym z kluczowych osiągnięć było określenie roli białka MtABCG10/46 w biosyntezie specyficznych dla roślin bobowatych 5-deoxy(izo)flawonoidów oraz ich pochodnych. Wykazano, że MtABCG10 odpowiada za przekierowywanie prekursorów (kwasu *p*-kumarowego i likwiritigeniny), w warunkach stresu biotycznego, do gałęzi szlaku PP odpowiedzialnego za biosyntezę medikarpiny. Tym samym po raz pierwszy powiązano aktywność transportera ABCG z dystrybucją wczesnych prekursorów i modulowaniem biosyntezy metabolitów wtórnych, a nie transportem produktów końcowych. Dodatkowo określono przejściową ścieżkę dostępu substratów do kieszeni centralnej transportera oraz zidentyfikowano kluczowy aminokwas wpływający na jego selektywność.

Kolejnym istotnym osiągnięciem było odkrycie długo poszukiwanego transportera CK, zaangażowanego w inicjację formowania brodawek korzeniowych. Wykazano, że MtABCG56 odpowiada za translokację CK z ryzodermy do kory pierwotnej na wczesnych etapach symbiozy. Wpływa w ten sposób na dystalną odpowiedź korytkalną i formowanie zawiązka brodawki korzeniowej oraz niweluje negatywne działanie ryzodermalnych CK na proces infekcji. Odkrycie to dostarczyło nowych argumentów wspierających hipotezę o roli CK jako mobilnego sygnału koordynującego zdarzenia między ryzodermą, a korą pierwotną podczas nawiązywania LRS.

Ważnym krokiem w badaniach nad transporterami ABCG było również określenie roli MtABCG20 w procesie brodawkowania oraz w architekturze korzenia w warunkach symulujących stres suszy. Uzyskane wyniki sugerują udział MtABCG20 w eksporcie ABA z miejsca biosyntezy w celu stymulacji bądź zahamowania podziałów komórkowych odpowiednio w miejscu tworzenia korzenia bocznego i brodawki, dostosowując morfologię

korzenia do panujących warunków środowiska. Ponadto wykazano, że MtABCG20 może uczestniczyć w usuwaniu ABA ze specyficznej strefy wzrostu korzenia zarodkowego, uwalniając to miejsce od blokującego wpływu ABA i promując kiełkowanie. Tym samym zaproponowano nowy mechanizm kontroli kiełkowania nasion przez transportery ABA, należące do podrodziny ABCG, który jest odmienny od mechanizmu opisanego wcześniej dla *Arabidopsis*.

Kolejne badania doprowadziły do identyfikacji potencjalnego transportera SL z *M. truncatula* – MtABCG59, co pozwoliło na wskazanie uniwersalnego mechanizmu transportu SL w różnych grupach systematycznych roślin (Solanaceae, Fabaceae). Jednocześnie wykazano, że różnice w sekrecji SL mogą wynikać z adaptacji do cech anatomicznych korzeni, w tym obecności egzodermy, która nie występuje u wielu gatunków bobowatych. Obecność lub brak egzodermy, a co za tym idzie lokalizacja transporterów SL, może z kolei wpływać na dyspersję SL w ryzosferze i determinować miejsce wnikania strzępek grzybowych do korzenia.

Oprócz znaczenia czysto poznawczego, uzyskane wyniki mogą w przyszłości pozytywnie wpłynąć na rozwój bardziej zrównoważonego rolnictwa wykorzystującego w większym stopniu rośliny bobowate, i w konsekwencji prowadzić do zmniejszenia chemizacji środowiska. Na podstawie mojej ekspertyzy zostałam zaproszona jako członek komitetu zarządzającego do udziału w akcji COST (European Cooperation in Science and Technology) CA22142 „Beneficial root-associated microorganisms for sustainable agriculture (ROOT-BENEFIT)” i wybrana na vice lidera grupy roboczej skupiającej się na molekularnych mechanizmach leżących u podstaw interakcji roślin z mikroorganizmami. Celem tej akcji jest multidyscyplinarna współpraca wzmacniająca potencjał badawczy i ułatwiająca transfer wiedzy do podmiotów społeczno-gospodarczych dotyczący wykorzystania pożytecznych mikroorganizmów glebowych w rozwoju rolnictwa zrównoważonego.

3.9 Perspektywy dalszego rozwoju

W przyszłości planuję kontynuować badania nad mechanizmami molekularnymi warunkującymi cechy użytkowe roślin bobowatych. Jedną z tych cech jest kontrola kiełkowania nasion, wpływająca na jakość i wydajność upraw. Moje zainteresowanie tym tematem wynika bezpośrednio z doświadczenia nad badaniem roli transportu ABA w procesie kiełkowania, które stało się impulsem do zgłębienia wciąż słabo poznanej tematyki biologii nasion *M. truncatula*. Kiełkowanie, a zatem przejście ze stanu embrionalnej odporności, charakterystycznego dla dojrzałych nasion, do stanu wrażliwej siewki jest kluczowym etapem rozwoju rośliny, decydującym o jej przetrwaniu. Proces ten jest ściśle regulowany, a zrozumienie mechanizmów leżących u jego podstaw ma istotne znaczenie zarówno poznawcze, jak i praktyczne. W związku z tym obecnie jako *PI* zaangażowana jestem w realizację projektu własnego OPUS, pt. „Nowe mechanizmy działania białka MFT, warunkujące wrażliwość nasion *Medicago truncatula* na kwas abscysynowy podczas kiełkowania”.

Białko MFT (ang. *MOTHER OF FT AND TFL1*) należy do rodziny białek wiążących fosfatydyloetanolaminę (PEBP) i jest uznawane za przodka dobrze zbadanych białek typu FT (ang. *FLOWERING LOCUS T*) i TFL1 (ang. *TERMINAL FLOWER1*), które kontrolują czas kwitnienia (Karlgrén et al., 2011). Postuluje się, że białko MFT moduluje aktywność czynników transkrypcyjnych i w ten sposób reguluje ekspresję genów docelowych odpowiedzialnych za kontrolę spoczynku i kiełkowania nasion (Xi et al., 2010). Biorąc pod uwagę złożoność tych procesów oraz specyficzne wymagania gatunkowe podjęłam się próby kompleksowej analizy funkcjonalnej białka MFT z *M. truncatula*. Jej celem jest określenie potencjalnej roli MtMFT w ustanawianiu spoczynku podczas rozwoju nasion, a także inhibicji kiełkowania w niekorzystnych warunkach środowiska. Jednocześnie wskazanie zaangażowanych w te procesy szlaków sygnałowych i partnerów białkowych (czynników transkrypcyjnych) wchodzących w interakcje z MtMFT, a także potencjalnych genów, których ekspresja regulowana jest przez MtMFT. Co więcej, we współpracy z krystalografami planowane jest określenie struktury krystalicznej białka MtMFT.

Wykorzystując zdobyte doświadczenie odnośnie biologii nasion oraz swoją ekspertyzę dotyczącą białek ABCG, zamierzam również kontynuować swoje badania nad znaczeniem transporterów ABCG w tym kontekście. Dotyczy to zarówno roli białek ABCG w ustanawianiu uśpienia fizjologicznego, jak i uśpienia fizycznego, a także hamowania kiełkowania w niesprzyjających warunkach środowiska. W przypadku roślin bobowatych szczególnie istotne znaczenie ma spoczynek fizyczny, a *M. truncatula* wykorzystywana jest jako model do badania tego zjawiska na poziomie ekologicznym i genetycznym (Renzi et al., 2020). Szereg transporterów ABCG jest potencjalnie zaangażowanych w transport monomerów suberyny i kutyny. Co ważne, przyjmuje się, że formowanie apoplastycznej, lipidowej bariery dyfuzyjnej stanowi istotny czynnik wpływający na jakość nasion. Wszystko to uzasadnia badanie białek ABCG w kontekście odkładania tych związków lipidowych w okrywie nasiennej oraz ich roli w regulacji uśpienia fizycznego i żywotności nasion. Ponadto moje wstępne badania sugerują, że ta sama grupa białek ABCG może uczestniczyć w tworzeniu bariery dyfuzyjnej dla tlenu w brodawkach korzeniowych. W ten sposób potencjalnie odpowiada za równoważenie wysokiego zapotrzebowania energetycznego niezbędnego dla aktywności nitrogenazy, z ochroną tego ekstremalnie wrażliwego na tlen enzymu przed inaktywacją. Identyfikacja białek ABCG wpływających jednocześnie na dwie kluczowe cechy użytkowe roślin bobowatych – kiełkowanie i wydajne wiązanie azotu – może mieć istotne znaczenie nie tylko poznawcze, ale także praktyczne, szczególnie w kontekście selekcji markerów cech użytkowych roślin bobowatych. W przyszłości zamierzam rozszerzyć badania nad rolą białek ABCG zarówno w nasionach, jak i brodawkach korzeniowych, eksplorując tym samym wciąż słabo poznany obszar nauki.

W dalszej perspektywie planuję również rozszerzyć analizy funkcjonalne białek ABC o aspekt regulatorowy, koncentrując się na mechanizmach kontroli na poziomie transkrypcyjnym. W ostatnich latach zaproponowano bowiem istnienie specyficznych jednostek operacyjnych obejmujących czynnik transkrypcyjny kontrolujący ekspresję genów

ze szlaku biosyntezy oraz transportu określonych substratów. Przykładem tego może być regulowany przez czynnik transkrypcyjny RAM1 (ang. *Required for Arbuscular Mycorrhization 1*) szlak eksportu lipidów, obejmujący specyficzne dla arbuskularnej mikoryzy enzymy FatM i RAM2, regulujące biosyntezę lipidów oraz transportery ABCG, niezbędne do formowania mikoryzy arbuskularnej (Keymer et al., 2017). Identyfikacja takich jednostek operacyjnych znacząco poszerzy wiedzę odnośnie funkcjonowania białek ABC. Co więcej, może znaleźć zastosowanie m.in. w biologii systemowej oraz przyczynić się do opracowania nowych narzędzi biotechnologicznych wykorzystywanych w produkcji związków pochodzenia naturalnego.

Ponadto w kręgu moich zainteresowań naukowych znajdują się zagadnienia związane z ewolucją białek ABC, ich ekspansją i specjalizacją. Obecnie, w ramach współpracy z dr. Markusem Geislerem z Uniwersytetu w Fryburgu podjęłam się identyfikacji pełnych białek ABCB, w tym potencjalnych transporterów auksyn pochodzących z różnych grup systematycznych w obrębie Archeoplastida, a także Xantophyta, Phaeophyta i Bacillariophyta. Analizy te stanowią część szerszego projektu, którego celem jest prześledzenie ewolucyjnych początków transportu auksyn.

V. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

Dorobek naukowy jaki posiadam wiąże się z moją aktywnością naukową realizowaną w trzech jednostkach badawczych.

Ośrodki polskie:

1. Instytut Chemii Bioorganicznej, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu (podstawowe miejsce zatrudnienia)
2. Katedra Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, staż badawczy

Ośrodki zagraniczne:

3. *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich.*

Moja kariera naukowa jest w dużej mierze związana z Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu oraz badaniami nad transporterami ABC w modelowej roślinie bobowate *M. truncatula*. W ICHB PAN ukończyłam studia doktoranckie i uzyskałam stopień doktora w 2013 r. W trakcie studiów doktoranckich przyznano mi grant promotorski oraz stypendium w ramach „Wsparcia stypendialnego dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”. Po uzyskaniu stopnia doktora jako postdoc i wykonawca realizowałam grant badawczy HARMONIA i OPUS, a następnie kierowałam własnym

projektem SONATA. Obecnie jako kierownik grantu OPUS zajmuję się badaniem roli białka MFT w biologii nasion *M. truncatula*.

W ramach realizacji grantów NCN (HARMONIA i SONATA) odbyłam dwa staże naukowe w *Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich*, gdzie prowadziłam badania w zespole prof. Enrico Martinoia. Ich wyniki zostały uwzględnione m.in. w publikacji H6, oraz były prezentowane w formie plakatów i wystąpień ustnych na międzynarodowych konferencjach.

Oprócz głównego nurtu badań, dotyczącego transporterów ABC z *M. truncatula*, w ramach stażu na *Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu* brałam udział w pracach nad określeniem potencjalnej roli transporterów MATE (ang. *Multidrug and Toxic Compound Extrusion*) z innej modelowej rośliny bobowatej *Lotus japonicus* w oddziaływaniach z grzybami mikoryzowymi oraz w odpowiedzi na stres suszy. Uzyskane wyniki prezentowane były w formie plakatów naukowych na konferencjach o zasięgu międzynarodowym, m.in. EMBO Workshop on Plant Membrane Biology (WPMB). Helsingør, Denmark (2025).

VI. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Wykaz publikacji niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego

(nazwisko habilitanta jest wytłuszczone; *oznacza autora korespondencyjnego, # równorzędny pierwszy autor); dane bibliograficzne podano wg *Web of Science Core Collection*, punkty ministerialne wg systemu punktacji, zgodnie z rokiem poprzedzającym opublikowania artykułu

Prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora:

N1. Xia J, Siffert A, Torres O, Iacobini F, **Banasiak J**, Pakuła K, Ziegler J, Rosahl S, Ferro N, Jasiński M, Hegedüs T, Geisler MM*.

A key residue of the extracellular gate provides quality control contributing to ABCG substrate specificity. *Nature Communications*. (2025) 5;16(1):4177.

- doi: 10.1038/s41467-025-59518-3
- IF₍₂₀₂₄₎ = 15,7; IF(5-letni) = 17,2
- MN₍₂₀₂₄₎ = 200
- Liczba cytowań: 0

Współpraca z dr. Markusem Geislerem zaowocowała powstaniem publikacji, w której opisano ważny element strukturalny decydujące o selektywności białek ABCG względem transportowanych związków. Na przykładzie jednego z najlepiej opisanych transporterów ABCG z *Arabidopsis*, AtABCG36/PEN3 wskazano na kluczową rolę aminokwasu (L704), będącego częścią zewnątrzkomórkowej hydrofobowej bramki, kontrolującej wyjście substratu

z kieszeni centralnej i zapewniającej specyficzność substratową. Dowiedziono, że rejon ten może być kontrolowany allosterycznie, co z kolei wpływa na preferencję białka względem jego dwóch strukturalnie spokrewnionych substratów, prekursora auksyn IBA i związku obronnego kamaleksyny. Dzięki temu możliwe jest precyzyjne rozróżnianie i selekcja substratów, co pozwala roślinie na zachowanie równowagi pomiędzy procesami wzrostu a mechanizmami obronnymi.

N2. **Banasiak J***

System odpornościowy roślin – model zygzakowy. *Postępy Biochemii* (2022)

- doi.org/10.18388/pb.2021_427
- MEiN₍₂₀₂₁₎ = 70
- Liczba cytowań: 0

N3. Stec N[#], **Banasiak J[#]**, Jasiński M*. [#] równorzędny pierwszy autor

Abscisic acid - an overlooked player in plant-microbe symbioses formation? *Acta Biochimica Polonica*, (2016) 63(1) 53-58.

- doi: 10.18388/abp.2015_1210
- IF₍₂₀₁₅₎ = 2,403; IF(5-letni) = 1,534
- MNiSW₍₂₀₁₅₎ = 15
- Liczba cytowań: 26

Prace opublikowane podczas wykonywania pracy doktorskiej

N4. **Banasiak J**, Biała W, Staszków A, Swarczewicz B, Kepczynska E, Figlerowicz M, Jasinski M*.

A *Medicago truncatula* ABC transporter belonging to subfamily G modulates the level of isoflavonoids. *Journal of Experimental Botany*, (2013) Feb;64(4):1005-15

- doi: 10.1093/jxb/ers380
- IF₍₂₀₁₂₎ = 5,242; IF(5-letni) = 5,542
- MNiSW₍₂₀₁₂₎ = 45
- Liczba cytowań: 74

N5. Staszków A, Swarczewicz B, **Banasiak J**, Muth D, Jasiński M, Stobiecki M*.

LC/MS profiling of flavonoid glycoconjugates isolated from hairy roots, suspension root cell cultures and seedling roots of *Medicago truncatula*. *Metabolomics*, (2011) Dec;7(4):604-613.

- doi: 10.1007/s11306-011-0287-2
- IF₍₂₀₁₀₎ = 3,608; IF(5-letni) = 3,637
- MNiSW₍₂₀₁₀₎ = 30
- Liczba cytowań: 39

N6. Jasiński M, **Banasiak J**, Radom M, Kalitkiewicz A, Figlerowicz M*.

Full-Size ABC Transporters from the ABCG Subfamily in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (2009) 22(8): 921-931.

- doi: 10.1094/MPMI-22-8-0921
- IF₍₂₀₀₈₎ = 4,136; IF(5-letni) = 4,303
- MNiSW₍₂₀₀₈₎ = 24
- Liczba cytowań: 24

N7. Jasinski M, **Banasiaak J**, Figlerowicz M*.

Transportery PDR – czyli historia jeszcze nienapisana. Od syntezy chemicznej do biologii syntetycznej, *Ośrodek Wydawnictw Naukowych*, (2009)147-160.

Prace opublikowane podczas wykonywania pracy magisterskiej

N8. Jasiński M, **Banasiaak J**, Figlerowicz M*.

Roślinne transportery ABC. Na pograniczu chemii i biologii, Wydawnictwo Naukowe UAM, (2007) t. XVII: 257-274.

N9. Jasiński M, **Banasiaak J**, Frankowska M, Figlerowicz M*.

Rośliny jako reaktory do produkcji biofarmaceutyków. *Biotechnologia*, (2006) 3 (73): 53-66.

VII. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

Osiągnięcia dydaktyczne:

Sprawowałam opiekę naukową nad doktorantami, studentami i stażystami, jako:

Promotor pomocniczy prac doktorskich:

- **Wanda Biała**
„Rola transportera ABCG10 w szlaku biosyntezy medikarpiny - fitoaleksyny *Medicago truncatula*”
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, obrona 2017
- **Karolina Jarzyniak**
„Analiza funkcjonalna wybranych transporterów ABCG *Medicago truncatula*, zaangażowanych w modulację oddziaływań symbiotycznych" "
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, obrona 2018
- **Tomasz Jamruszka**
„Analiza funkcjonalna transportera ABCG biorącego udział w negatywnej regulacji gęstości korzeni bocznych i liczby brodawek u *Medicago truncatula*”

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, obrona 2023

- **Maciej Nowak** od 2023 r. (w trakcie)

Tematyka pracy: „Nowe mechanizmy działania białka MFT, warunkujące wrażliwość nasion *Medicago truncatula* na kwas abscysynowy podczas kiełkowania”

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

Promotor prac magisterskich:

- **Joanna Matuszek**

„Wybrane elementy analizy funkcjonalnej genu MtPDR23 - potencjalnego transportera strigolaktonów – w *Medicago truncatula*”

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 2018

- **Adwoa Ansomaa Tenkorang**

„Subcellular Localisation Of Mother of FT and TFL1 in *Medicago truncatula*„

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 2021

Opiekun stażystów:

- **Natalia Stec**

Wydział Biologii UAM w Poznaniu, 2016

- **Maria Klimas**

Wydział Biologii UAM w Poznaniu, 2018

- **Wiktoria Brożyńska**

Wydział Biologii UAM w Poznaniu, 2020

- **Magdalena Brzózka**

Wydział Biologii UAM w Poznaniu, 2022

- **Abinaya Manoharan Geetha Ponmalar**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 2025

- **Aleksandra Marszałek**

Wydział Biologii UAM w Poznaniu, 2025

Recenzent prac inżynierskich:

- **Paulina Bierwagen**

„Optymalizacja metody oczyszczania wirusów BMV i RCNMV izolowanych z tkanek roślinnych”

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 2014

Osiągnięcia organizacyjne:

Kierowanie projektami finansowanymi ze źródeł zewnętrznych:

1. Narodowe Centrum Nauki (NCN) grant, SONATA9: „Aktywne systemy transportu jako element kontrolujący “molekularną rozmowę” między symbiontami podczas formowania mikoryzy arbuskularnej”. 2015/17/D/NZ3/03625, 2016-2020, IChB PAN, (**kierownik**)
2. Narodowe Centrum Nauki (NCN) grant, OPUS22: „Nowe mechanizmy działania białka MFT, warunkujące wrażliwość nasion *Medicago truncatula* na kwas abscysynowy podczas kiełkowania”. 2021/43/B/NZ3/00672, 2022-2025, IChB PAN, (**kierownik**)

Organizacja konferencji:

1. 11th PSEPB Conference, Poznań, 19-22. 09. 2023 r. (członkini komitetu organizacyjnego)

Popularyzacja nauki:

1. Popularyzacja nauki podczas Nocy Naukowców oraz Festiwalu Nauki i Sztuki
2. Popularyzacja nauki w Zespole Szkolno-Przedszkolnym nr 11 w Poznaniu:
Grupa Krasnale (Przedszkole Bajkonutki) – 2020
Klasa II b oraz świetlica szkolna (Szkola Podstawowa nr 11 w Poznaniu) – 2022
3. Popularyzacja nauki w Szkole Podstawowej nr 64, klasa III a – 2025

VIII. Oprócz wymienionych powyżej kwestii, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej

Nagrody:

1. Brązowy Krzyż Zasługi za zasługi w działalności naukowo-badawczej przyznany przez Prezydenta RP (2023)
2. Nagroda Dyrektora IChB PAN za najlepszą pracę przeglądową opublikowaną w roku 2022; **Banasiak J**, Jasiński M. (2023)
3. Nagroda zespołowa Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych za wybitne osiągnięcie badawcze pt. „Poznanie mechanizmu dystrybucji cytokinin w procesie biologicznego wiązania azotu u roślin bobowatych” dla Jasiński M, Jarzyniak K, **Banasiak J**, Jamruszka T, Pawela A. (2022)
4. Wyróżnienie zespołowe w Konkursie im. prof. K. Bassalika przyznawane przez Komitet Biologii Molekularnej Komórki Polskiej Akademii Nauk za artykuł „Early stages of legume–rhizobia symbiosis are controlled by ABCG-mediated transport of active cytokinins” opublikowany w Nature Plants; Jarzyniak K, **Banasiak J**, Jamruszka T, Pawela A, Di Donato M, Novák O, Geisler M, Jasiński M. (2022)
5. Nagroda Naukowa IChB PAN za najlepszą pracę eksperymentalną opublikowaną w roku 2021; Jarzyniak K, **Banasiak J**, Jamruszka T, Pawela A, Di Donato M, Novák O, Geisler M, Jasiński M; (2022)
6. Nagroda Naukowa IChB PAN za najlepszą pracę eksperymentalną opublikowaną w roku 2019; Pawela A, **Banasiak J**, Biała W, Martinoia E, Jasiński M; (2020)

7. Nagroda Naukowa IChB PAN za najlepszą pracę eksperymentalną opublikowaną w roku 2017; Biała W, **Banasiak J**, Jarzyniak K, Paweła A, Jasinski M; (2018)
8. Nagroda Naukowa IChB PAN za najlepszą pracę eksperymentalną opublikowaną w roku 2013; **Banasiak J**, Biała W., Staszków S., Swarcewicz B., Figlerowicz F., Jasinski M. (2014)
9. Nagroda Dyrektora IChB PAN za jedną z najlepszych dysertacji obronionych w IChB w roku 2013 (2014 r.).
10. Krajowa Nagroda Naukowa z Zakresu Genetyki Roślin im. Stefana Barbackiego (2012).
11. Stypendium w ramach projektu „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Program Operacyjny Kapitał Ludzki, finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego (2012).
12. Nagroda za wyróżniające wyniki w nauce w czasie studiów na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Wystąpienia ustne na konferencjach naukowych:

1. **EMBO Workshop on Plant Membrane Biology** (WPMB). Helsingør, Denmark (2025) (wykład na zaproszenie)
2. Cytokinin Forefront Research. Olomouc, Czech Republic (2024)
3. **Gordon Research Conference: Plant Communication: Understanding Signal Creation, Transmission, and Perception in Plant Systems.** Holderness, New Hampshire, USA (2024)
4. Third International Legume Society Conference ILS3. Poznań, Polska (2019)
5. XI Parnas Conference - Young Scientists Forum, "Biochemistry and Molecular Biology for Innovative Medicine". Kyiv, Ukraine (2018)
6. 1st Congress of the Polish Biochemistry, Cell Biology, Biophysics and Bioinformatics BIO. Warszawa, Polska (2014)

Inna aktywność:

1. Sekretarz Rady Naukowej ICHB PAN 2015-2018; 2019-2022; 2023-obecnie
2. Członkini komitetu zarządzającego oraz vice liderka grupy roboczej (WG2) w Europejskim projekcie COST (European Cooperation in Science and Technology) CA22142 „Beneficial root-associated microorganisms for sustainable agriculture (ROOT-BENEFIT)
3. Członkini Kolegium Redakcyjnego czasopisma Postępy Biochemii
4. Członkini grupy roboczej HR Excellence in research w ICHB PAN
5. Recenzentka w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: New Phytologist; Plant Molecular Biology; DNA Research; Plant, Cell & Environment; BioTechnologia; Acta Physiologiae Plantarum; Journal of Soil Science and Plant Nutrition

Literatura:

- Akiyama, K., Matsuzaki, K., and Hayashi, H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* **435**, 824-827.
- Ding, Y., Kalo, P., Yendrek, C., Sun, J., Liang, Y., Marsh, J.F., Harris, J.M., and Oldroyd, G.E. (2008). Absciscic acid coordinates nod factor and cytokinin signaling during the regulation of nodulation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell* **20**, 2681-2695.
- Do, T.H.T., Martinoia, E., and Lee, Y. (2018). Functions of ABC transporters in plant growth and development. *Curr Opin Plant Biol* **41**, 32-38.
- Do, T.H.T., Martinoia, E., Lee, Y., and Hwang, J.U. (2021). 2021 update on ATP-binding cassette (ABC) transporters: how they meet the needs of plants. *Plant Physiol* **187**, 1876-1892.
- Foo, E., and Davies, N.W. (2011). Strigolactones promote nodulation in pea. *Planta* **234**, 1073-1081.
- Griesmann, M., Chang, Y., Liu, X., Song, Y., Haberer, G., Crook, M.B., Billault-Penneteau, B., Laressergues, D., Keller, J., Imanishi, L., Roswanjaya, Y.P., Kohlen, W., Pujic, P., Battenberg, K., Alloisio, N., Liang, Y., Hilhorst, H., Salgado, M.G., Hoher, V., Gherbi, H., Svistoonoff, S., Doyle, J.J., He, S., Xu, Y., Xu, S., Qu, J., Gao, Q., Fang, X., Fu, Y., Normand, P., Berry, A.M., Wall, L.G., Ane, J.M., Pawlowski, K., Xu, X., Yang, H., Spannagl, M., Mayer, K.F.X., Wong, G.K., Parniske, M., Delaux, P.M., and Cheng, S. (2018). Phylogenomics reveals multiple losses of nitrogen-fixing root nodule symbiosis. *Science* **361**.
- Hwang, J.U., Song, W.Y., Hong, D., Ko, D., Yamaoka, Y., Jang, S., Yim, S., Lee, E., Khare, D., Kim, K., Palmgren, M., Yoon, H.S., Martinoia, E., and Lee, Y. (2016). Plant ABC Transporters Enable Many Unique Aspects of a Terrestrial Plant's Lifestyle. *Mol Plant* **9**, 338-355.
- Karlgren, A., Gyllenstrand, N., Källman, T., Sundström, J.F., Moore, D., Lascoux, M., and Lagercrantz, U. (2011). Evolution of the PEBP Gene Family in Plants: Functional Diversification in Seed Plant Evolution. *Plant Physiology* **156**, 1967-1977.
- Keymer, A., Pimprakar, P., Wewer, V., Huber, C., Brands, M., Bucerius, S.L., Delaux, P.M., Klingl, V., Ropenack-Lahaye, E.V., Wang, T.L., Eisenreich, W., Dormann, P., Parniske, M., and Gutjahr, C. (2017). Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *Elife* **6**.
- Kretschmar, T., Kohlen, W., Sasse, J., Borghi, L., Schlegel, M., Bachelier, J.B., Reinhardt, D., Bours, R., Bouwmeester, H.J., and Martinoia, E. (2012). A petunia ABC protein controls strigolactone-dependent symbiotic signalling and branching. *Nature* **483**, 341-U135.
- Larrazar, E., and Wienkoop, S. (2017). A Proteomic View on the Role of Legume Symbiotic Interactions. *Front Plant Sci* **8**, 1267.
- Liang, Y., and Harris, J.M. (2005). Response of root branching to abscisic acid is correlated with nodule formation both in legumes and nonlegumes. *Am J Bot* **92**, 1675-1683.
- Liu, C.W., and Murray, J.D. (2016). The Role of Flavonoids in Nodulation Host-Range Specificity: An Update. *Plants-Basel* **5**.
- Liu, J., Novero, M., Charnikhova, T., Ferrandino, A., Schubert, A., Ruyter-Spira, C., Bonfante, P., Lovisolo, C., Bouwmeester, H.J., and Cardinale, F. (2013). Carotenoid cleavage dioxygenase 7 modulates plant growth, reproduction, senescence, and determinate nodulation in the model legume *Lotus japonicus*. *J Exp Bot* **64**, 1967-1981.
- Nakayama, T., Takahashi, S., and Waki, T. (2019). Formation of Flavonoid Metabolons: Functional Significance of Protein-Protein Interactions and Impact on Flavonoid Chemodiversity. *Front Plant Sci* **10**, 821.
- Naoumkina, M., Farag, M.A., Sumner, L.W., Tang, Y., Liu, C.J., and Dixon, R.A. (2007). Different mechanisms for phytoalexin induction by pathogen and wound signals in *Medicago truncatula*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 17909-17915.
- Oldroyd, G.E.D., and Downie, J.A. (2006). Nuclear calcium changes at the core of symbiosis signalling. *Current Opinion in Plant Biology* **9**, 351-357.
- One Thousand Plant Transcriptomes, I. (2019). One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. *Nature* **574**, 679-685.

- Parniske, M.** (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol* **6**, 763-775.
- Peterson, C.A., and Perumalla, C.J.** (1990). A Survey of Angiosperm Species to Detect Hypodermal Casparian Bands .2. Roots with a Multiseriate Hypodermis or Epidermis. *Bot J Linn Soc* **103**, 113-125.
- Pirozynski, K.A., and Malloch, D.W.** (1975). The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Biosystems* **6**, 153-164.
- Renzi, J.P., Duchoslav, M., Brus, J., Hradilová, I., Pechanec, V., Václavek, T., Machalová, J., Hron, K., Verdier, J., and Smykal, P.** (2020). Physical Dormancy Release in Seeds Is Related to Environmental Variations. *Plants-Basel* **9**.
- Shimada, N., Aoki, T., Sato, S., Nakamura, Y., Tabata, S., and Ayabe, S.** (2003). A cluster of genes encodes the two types of chalcone isomerase involved in the biosynthesis of general flavonoids and legume-specific 5-deoxy(iso)flavonoids in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol* **131**, 941-951.
- Topham, A.T., Taylor, R.E., Yan, D.W., Nambara, E., Johnston, I.G., and Bassel, G.W.** (2017). Temperature variability is integrated by a spatially embedded decision-making center to break dormancy in seeds. *P Natl Acad Sci USA* **114**, 6629-6634.
- van Velzen, R., Doyle, J.J., and Geurts, R.** (2019). A Resurrected Scenario: Single Gain and Massive Loss of Nitrogen-Fixing Nodulation. *Trends Plant Sci* **24**, 49-57.
- Verrier, P.J., Bird, D., Burla, B., Dassa, E., Forestier, C., Geisler, M., Klein, M., Kolukisaoglu, U., Lee, Y., Martinoia, E., Murphy, A., Rea, P.A., Samuels, L., Schulz, B., Spalding, E.J., Yazaki, K., and Theodoulou, F.L.** (2008). Plant ABC proteins--a unified nomenclature and updated inventory. *Trends Plant Sci* **13**, 151-159.
- Xi, W.Y., Liu, C., Hou, X.L., and Yu, H.** (2010). Regulates Seed Germination through a Negative Feedback Loop Modulating ABA Signaling in. *Plant Cell* **22**, 1733-1748.



PODPIS ZAUFANY

JOANNA
BANASIAK

01.09.2025 14:45:56 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Joanna Banasiak