



**INNOWACYJNA  
GOSPODARKA**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

**UNIA EUROPEJSKA**  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO



## **RAPORT Z REALIZACJI PROJEKTU**

*"Metoda identyfikacji indukowanej zmienności w kulturach in vitro"*

(„A method of indentfuing variability in *in vitro* cultures”)

Projekt realizowany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka w latach 2010-2014. Priorytet 1. „Badania i rozwój nowoczesnych technologii”. Działanie 1.3 „Wsparcie projektów B+R na rzecz przedsiębiorców realizowanych przez jednostki Naukowe”. Poddziałanie 1.3.2 „Wsparcie ochrony własności przemysłowej tworzonej w jednostkach naukowych w wyniku Prac B+R”. Numer umowy o dofinansowanie UDA-POIG.01.03.02-14-019/10-00.

Podstawowym celem Projektu było przeprowadzenie na terenie Unii Europejskiej oraz innych państw procedur patentowych dotyczących sposobu jakościowej i ilościowej oceny zmienności indukowanej w kulturach *in vitro*.

Wykorzystując zarówno specjalnie do tego celu stworzony model wyprowadzenia roślin w kulturach *in vitro* polegający na uzyskaniu regenerantów na drodze andro- i embriogenezy z wyjściowych roślin DH oraz opracowany system markerów molekularnych, zaproponowano sposób analizy danych molekularnych, zwany dalej metodą metAFLP, polegający na symultanicznej analizie wyników profilowania DNA roślin wyjściowych i ich regenerantów w dwóch układach endonukleaz. W przypadku jednej pary DNA jest cięty na fragmenty bez rozpoznawania metylacji DNA, w drugim, jeżeli miejsca restrykcji są metylowane, to nie są one hydrolizowane. Biorąc pod uwagę fakt, że stosowane układy endonukleaz zawierają izoschizomery (enzymy rozpoznające takie same miejsca restrykcji) otrzymywane profile markerowe można przypisać do określonych typów profili. Profile te odpowiadają obecności lub brakowi odpowiedniego fragmentu u rośliny donorowej i jej regeneranta w obu parach endonukleaz. To właśnie te wzory dają możliwość i stanowią podstawę wyliczania ilościowych charakterystyk zmienności indukowanej w kulturach *in vitro*. W ramach Projektu opracowano i przedstawiono szczegółowe procedury wyliczania zmienności sekwencyjnej, metylacji *de novo*, demetylacji oraz szeregu innych parametrów opisujących zmiany indukowane w kulturach *in vitro*, które następnie przyszykowano w postaci dokumentacji patentowej odpowiedniej dla Urzędów Patentowych poszczególnych państw.

Celem opatentowania wynalazku, jeszcze przed rozpoczęciem projektu, w dniu 22.12.2005 dokonano międzynarodowego zgłoszenia o numerze PCT/PL2005/000083 pt. „A method of identifying induced variability in *in vitro* cultures”. Ze wspomnianego zgłoszenia wyodrębnione zostały trzy oddzielne postępowania: zgłoszenie europejskie w EPO (PCT/PL2005/000083), zgłoszenie w USA (US numer 12/097,955) oraz zgłoszenie w Australii (AU 2005339395i). Odpowiednia dokumentacja poszczególnych zgłoszeń jest przechowywana w IHAR – PIB oraz w kancelarii patentowej JWP prowadzącej wszelkie postępowania związane z niniejszym patentem.

W wyniku wieloletnich działań w roku 2012 uzyskano prawa patentowe w Australii, (Patent nr 2005339395; Patent Office, Commonwealth of Australia. 29 of November 2012). Patent EP 1999271 przyznany został 03.07.2013 w Unii Europejskiej. Z powodzeniem przeprowadzono procedury uzyskania praw patentowych w Niemczech, Wielkiej Brytanii, Francji, Hiszpanii i Finlandii. Natomiast działania dotyczące patentowania w USA nie zostały zakończone.

W trakcie realizacji projektu podjęto również działania których celem było propagowanie objętego procedurą patentową wynalazku. W trakcie wyjazdów zagranicznych zostały przeprowadzone rozmowy w USA (Kansas State University, USDA-ARS, Wheat Genetics and Germplasm Improvement). Nie doprowadziły one do komercjalizacji. Podobne rozmowy były również prowadzone w Polsce. Zainteresowanie wykorzystaniem patentu wykazywały Spółki Hodowlane. Spółki te w swojej praktyce wykorzystują metody kultur *in vitro* do uzyskiwania materiałów wyjściowych. Tak więc ocena poziomu zmian jakie indukują kultury *in vitro* jest dla nich bardzo istotna, gdyż w zdecydowanej mierze mogła by pomóc w ocenie wyrównania uzyskiwanych materiałów. Obecnie takie rozmowy są prowadzone i dążymy do podpisania stosownych Umów.

Niezależnie od powyższego, badania realizowane z wykorzystaniem przedmiotu patentu były prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych:

1. Konferencja Naukowa - Nauka Dla Hodowli I Nasiennictwa Roślin Uprawnych - 7-11 lutego 2011 w Zakopanem.
2. Kongres Biotechnologii EUROBIOTECH w dniach 12-14 października 2011 roku w Krakowie.
3. Kongres Biotechnologii EUROBIOTECH w dniach 9-14 października 2013 roku w Krakowie.
4. 19<sup>th</sup> General Congress of EUCARPIA „Plant Breeding for Future Generations” (Węgry, Budapeszt), 21-24.05.2012
5. Plant Biotechnology: Green for Good II June 17 – 21, 2013, Olomouc - Czech Republic.

Zgodnie z wymogami projektu podjęto działania których celem było zaprojektowanie LOGO. Było ono wykorzystywane we wszystkich oficjalnych prezentacjach powiązanych z Projektem oraz zostało umieszczone na stronie www Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB w Radzikowie.

## **PODSUMOWUJĄC**

Podstawowe cele projektu, a mianowicie uzyskanie co najmniej trzech patentów, zostały osiągnięte. Został również spełniony wymóg popularyzacji Patentu zarówno w Kraju jak i poza jego granicami. Podejmowane były również działania na rzecz komercjalizacji wynalazku poprzez zainteresowanie możliwościami jego wykorzystania przez Spółki Hodowli Roślin stosujące kultury in vitro do wyrównywania materiałów roślinnych.