

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук, Антонца Дениса Викторовича

на диссертационную работу КАЗАНЦЕВА ФЕДОРА ВЛАДИМИРОВИЧА на тему «ИНТЕГРИРОВАННАЯ ИНФОРМАЦИОННО-КОМПЬЮТЕРНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Актуальность. Математическое моделирование является важнейшим инструментом интеграции и анализа экспериментальных данных. Математические модели динамических биологических систем могут быть сформулированы в терминах систем обыкновенных дифференциальных уравнений, уравнений в частных производных или дифференциальных уравнений с запаздывающим аргументом, стохастических моделей, а также в терминах дискретных операций и с помощью гибридных подходов, сочетающих различные подходы, в зависимости от сложности рассматриваемой биологической системы, доступности и точности экспериментальных данных. В настоящее время разработаны тысячи моделей комплексных биомолекулярных систем для различных организмов и их сообществ и количество таких моделей постоянно растет. С другой стороны, повторное использование, расширение или модификация большинства из них представляет собой нетривиальную задачу. Одним из наиболее эффективных способов решения данной проблемы и наиболее естественным для математического моделирования и исследования динамических биологических систем является подход представления моделей в виде комбинации элементарных подсистем, которые используются для описания конкретных биомолекулярных функций и/или процессов. Естественные уровни иерархии в организации организмов, объединение молекулярных процессов в сигнальные и метаболические пути служат основой для разбиения интегральной модели на отдельные взаимосвязанные функциональные подсистемы, которые могут использоваться в качестве «строительных блоков» для создания сложных многоуровневых моделей. Именно такой подход является перспективным в создании комплексных многоуровневых моделей систем живой природы, поддерживающий методы размещения подсистем по компартментам, организации модельных структур в органеллы и ткани. Чрезвычайно важной задачей является и развитие подходов к стандартизации разработки и представления таких модульных моделей, а также расширение их поддержки программами вычислительного моделирования как общего назначения, так и узкоспециальными системами.

Диссертация Казанцева Федора Владимировича посвящена разработке и развитию методов, алгоритмов и программ для построения и анализа иерархических

математических моделей молекулярно-генетических систем и решению с их помощью задач системной биологии. Благодаря разработанным инструментам проведено исследование моделей распределения гормона ауксина в тканях меристемы корня растения *A. thaliana*. Показана способность разработанных моделей предсказывать реальные свойства исследуемых биологических систем. Разработанные программные инструменты позволяют проводить комплексный анализ моделей с применением современных высокопроизводительных вычислительных кластеров, что особенно важно при исследовании сложных многокомпонентных систем.

Научная новизна. С использованием современных технологий программирования разработан оригинальный программный комплекс MGSmodeller для реконструкции моделей молекулярно-генетических систем, основанный на принципах блочно-модульной концепции моделирования. MGSmodeller позволяет проводить комплексный анализ моделей с применением высокопроизводительных вычислительных систем. В проведенном исследовании серии моделей особенностей распределения фитогормона ауксина в структуре клеток корня с применением разработанного программного комплекса был выявлен минимальный и достаточный набор белков транспортёров ауксина для обеспечения нормального развития меристемы корня растения *Arabidopsis thaliana*. Впервые методами математического моделирования был исследован эффект влияния салициловой кислоты на активность белков транспортёров фитогормона ауксина в клетках корня *A. thaliana*. В вычислительных экспериментах показано увеличение концентрации ауксина в клетках эпидермиса, кортекса и эндодермы при воздействии низкими концентрациями экзогенной салициловой кислоты. Увеличение концентрации ауксина предсказало увеличение интенсивности делений в этих тканях, что было подтверждено экспериментально группой Клауса Пальме университета города Фрайбург.

Разработанные программные инструменты MGSmodeller, MGSgenerator и база данных МАММОTh формируют интегральную информационно-компьютерную платформу, которая активно используется в работе отдела системной биологии ИЦиГ СО РАН. В частности, в ряде работ, посвященных изучению процессов синтеза биоэтанола и молочной кислоты термофильными бактериями рода *Geobacillus* (Нуриддинов и др., 2013), регуляторных механизмов поддержания плюрипотентности и дифференцировки эмбриональных стволовых клеток животных (Акбердин и др., 2014), изучению транспортных потоков гормона ауксина по структурам клеток корня растений (Лихошвай и др., 2009; Mironova et al., 2010, 2012; Novoselova et al., 2013, 2015; Hong et al., 2017).

Полученные в диссертации результаты, и в частности, созданная база моделей МАММОTh с коллекцией адаптированных элементарных подсистем дыхания *E. coli*, доступная в сети интернет, используются в чтении лекционного курса на кафедре информационной биологии НГУ.

Структура диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы из 178 наименований и 2-х приложений. Содержание основного текста диссертации изложено на 157 страницах, содержит 31 иллюстрацию и 13 таблиц.

Первая глава посвящена обзору литературы, в рамках которого описан модульный подход моделирования молекулярно-генетических систем и представлены преимущества такого подхода. Рассматриваются существующие программные инструменты для реконструкции и исследования моделей молекулярно-генетических систем. Классификация инструментов представлена по критерию наличия автоматизации в работе при создании математических моделей.

Во второй главе представлены разработанные инструменты моделирования. Описан язык спецификации моделей молекулярно-генетических систем – SiBML. Для создания и исследования моделей в терминах этого языка представлена среда моделирования MGSmodeller. Введены основные понятия, лексемы отношения структур, принципы описания математических моделей и правила интеграции комплексных моделей целевых молекулярно-генетических систем по набору моделей подсистем. Представлены возможности проведения и анализу результатов вычислительных экспериментов на высокопроизводительных вычислительных платформах в полуавтоматическом режиме. Описано применение возможностей разработанных инструментов в исследовании биосинтеза этанола, лактата и ацетата в бактериальной клетке *Geobacillus spp.*, а также механизмов регуляции поддержания состояния плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток животных (*Mus musculus*).

В третьей главе представлено исследование распределения гормона ауксина в корне растения *A. thaliana* методами математического и компьютерного моделирования. В разделе 3.1 представлены основные процессы и их модели, которые являются основными строительными блоками для всей серии используемых далее моделей.

В разделе 3.2 представлена первая из серии модель меристемы корня. В модели описывается поток гормона ауксина по клеткам меристемы благодаря мембранным белкам транспортерам PIN1, PIN2 и PIN3. Математическая модель создана и исследуется в инструменте MGSmodeller. В рамках исследования представлена серия математических моделей размерами 8x100, 8x50, 8x35, 8x20, 8x15, 8x10 и 8x5 клеток. В вычислительных экспериментах показано, что на всех представленных моделях формируется максимум концентрации ауксина в районе ниши стволовых клеток корня. Формирование такого максимума ауксина является необходимым условием для поддержания функции ниши стволовых клеток корня. Показано, что рассмотренных процессов достаточно для регулирования поддержания функции НСК в развивающемся корне. В рамках этой же серии моделей автор исследовал проявления мутаций по генам белков транспортёров

ауксина. Было показано, что распределение ауксина с максимумом в зоне ниши ствольных клеток корня достижимо в моделях соответствующим мутантам с нокаутами: PIN2, PIN3, PIN2 PIN3.

В разделе 3.3 представлено исследование влияния салициловой кислоты на процессы распределения ауксина в меристеме корня *A. thaliana*. Экспериментальные данные для анализа модели были предоставлены лабораторией Клауса Пальме из университета г. Фрайбург. На расширенной версии модели меристемы корня автор показал, что найденные в экспериментах эффекты влияния салициловой кислоты работают одновременно, позволяя получить характерный паттерн ауксина с максимумом в зоне покоящегося центра. Кроме того, при анализе результатов вычислительных экспериментов было найдено повышение концентрации ауксина в слоях эпидермиса, кортекса и эндодермы, по отношению к контролю, и понижение в сосудистых слоях. Этот эффект был подтвержден экспериментально.

В четвертой главе описан интернет-ресурс MAMMOTh, разработанный автором. Это база данных с математическими моделями подсистем принадлежащим метаболическим путям бактерии *E. coli*. Преимуществом этой базы заключается в экспертной адаптации параметров моделей к экспериментальным данным из опубликованных источников. Интересной особенностью базы является наличие прямого доступа к данным по технологии REST API. В этом же разделе представлен инструмент MGSgenerator, который позволяет получить рамочную математическую модель по поданной на вход в программу структурной модели.

В заключении представлены варианты использования разработанной серии программных инструментов как платформы для моделирования комплексных биологических систем и процессов. Объединяющая эту платформу концепция модульной реконструкции моделей является чрезвычайно перспективной в задачах реконструкции конечных модельных объектов в области системной и синтетической биологии. Выводы диссертации носят конкретный характер и адекватно отражают полученные результаты.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертации и выводы будут интересны для ученых, сотрудников научно-исследовательских организаций, а также предприятий, использующих математическое моделирование молекулярно-генетических систем. Результаты исследования распределения фитогормона ауксина по структуре клеток корня могут быть использованы при создании моделей новых модельных объектов и в исследовании воздействия факторов внешней среды на развитие растений. Также результаты работы могут быть полезны исследователям, изучающим эмбриональные ствольные клетки животных и метаболизм бактерий *Geobacillus*. Полученные методические результаты и разработанное программное

обеспечение могут быть использованы в рамках образовательных курсов в области биотехнологии и синтетической биологии в профильных ВУЗах.

Автореферат. Текст автореферата соответствует содержанию диссертационной работы. Содержание работы детально и качественно отражено в публикациях. По теме работы опубликованы 11 статей в изданиях из списка ВАК. Разные этапы и результаты работы были доложены на профильных российских и международных конференциях.

Замечания. Представленная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, поэтому большинство замечаний касается лишь оформления диссертации. В тексте диссертации встречаются немногочисленные орфографические и пунктуационные ошибки и опечатки. Встречаются пробелы в изложении, несущественные для работы в целом. Данные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертации Казанцева Ф.В.

Закключение. В рамках данной работы получил развитие оригинальный язык моделирования SiBML, основы которого были заложены Лихошваем В.А. Разработанные соискателем инструментарий MGSgenerator и база данных MAMMOTh позволяют получать стартовые математические модели с частично адаптированными параметрами, инструментарий MGSmodeller позволяет проводить оптимизацию параметров, анализ и валидацию комплексных моделей сложных биологических систем и процессов с использованием современного высокопроизводительного вычислительного оборудования. Представленная работа представляет не только фундаментальный научный интерес, но и важное практическое значение. С помощью разработанных методических подходов и программной платформы были выполнены задачи моделирования в исследованиях синтеза биоэтанола и молочной кислоты термофильными бактериями рода *Geobacillus* (Нуриддинов и др. 2013); регуляторных механизмов поддержания плюрипотентности и дифференцировки эмбриональных стволовых клеток животных (Акбердин и др. 2014a); транспортных потоков гормона ауксин по структурам клеток корня растения (Лихошвай и др. 2009; Mironova et al. 2010; Mironova et al. 2012; Novoselova et al. 2013; Novoselova et al. 2015; Hong et al. 2017; Pasternak et al. 2019). Модели меристемы корня, разработанные в рамках диссертации, используются в новых исследованиях влияния факторов внешней среды на функционирование растений.

Диссертационная работа Казанцева Федора Владимировича «Интегрированная информационно-компьютерная платформа для исследования молекулярно-генетических систем», представленная на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, является завершенной научно-исследовательской работой в области математического моделирования молекулярно-генетических систем. Кроме важных теоретических результатов автором описано создание инструментов автоматизации реконструкции

моделей, приведены сценарии и примеры их использования. Тема диссертации, публикации по работе и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют специальности 03.01.09. Научная новизна положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы из 178 наименований и 2-х приложений. Содержание основного текста диссертации изложено на 157 страницах, содержит 31 иллюстрацию и 13 таблиц. Структура представленной диссертационной работы всесторонне и в логической последовательности позволяет соискателю изложить свои научные взгляды, сформулировать цели работы и описать методы и результаты исследований. Выводы диссертации носят конкретный характер и адекватно отражают полученные результаты. Диссертационная работа Казанцева Ф.В. апробирована на многих российских и международных профильных научных конференциях. Текст автореферата соответствует содержанию диссертационной работы. Содержание работы детально и качественно отражено в публикациях – опубликованы в 11 статьях в изданиях из списка ВАК.

Представленная работа полностью соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении научных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Казанцев Федор Владимирович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

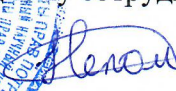
Официальный оппонент,
старший научный сотрудник
теоретического отдела,
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук

28.09.2020

 Антонеч Денис Викторович

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека»
630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
+7(383)336-60-10
antonec@yandex.ru

Подпись Д.В. Антонца заверяю
и.о. заместителя генерального директора
по научно-методической работе и международному сотрудничеству
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук

 Непомнящих Т.С.