

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Коврижных Василины Владимировны «**Компьютерный анализ особенностей экспрессии транспортеров ауксина семейства PIN в корне *Arabidopsis thaliana* L.**», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – Математическая биология, биоинформатика

Насколько важны для развития биологической науки и **актуальны** исследования морфогенетических процессов, происходящих в клетках растений при их развитии, и, в частности, как необходимо понимание механизмов регуляции экспрессии белков и роль фитогормона ауксина в этих процессах, очень хорошо и убедительно сказано в диссертации. Однако, **актуальность темы диссертации**, название которой «Компьютерный анализ ...» определяется не только, необходимостью исследовать особенности экспрессии транспортеров ауксина семейства PIN в корне растения, но и развить метод компьютерного моделирования этих процессов, что для современной биологии не менее актуально.

Работа, результаты которой являются предметом защиты оцениваемой диссертации, выполнена на **самом современном уровне** научных исследований так называемых «трудно наблюдаемых естественных явлений». Этот уровень включает в себя три части, две из которых активно используют компьютер. Первые две части: традиционное экспериментальное исследование процессов *in vivo* с микроскопическим анализом результатов, и компьютерная обработка полученных изображений, позволили сформулировать главный результат – гипотезу о механизме регуляции экспрессии PIN белков ауксином. В третьей части предложена математическая модель исследуемых процессов, которая не только подтверждает справедливость выдвинутой гипотезы, но и выявляет много новых полезных свойств.

Такой подход к исследованию определил **научную новизну** полученных результатов, которая имеет три составляющих: 1) систематическое исчерпывающее описание особенностей экспрессии PIN1-PIN4, PIN7 в меристеме корня *Arabidopsis thaliana*; 2) доказательство дозозависимой регуляции ауксином экспрессии PIN белков и их полярной локализации; и 3) эффективное применение клеточно-автоматной модели, позволившей выявить полезные динамические свойства процесса (диапазоны устойчивости, механизмы самоорганизации).

Изложение результатов естественным образом разбивается на три главы. **В первой главе** описаны известные сведения об объекте исследования, а именно, о корне растения, о строении его апикальной меристемы, а также известные из литературы результаты исследований влияния ауксина на экспрессию генов, методы детекции ауксина и измерения его концентраций. Отдельный подраздел посвящен активному полярному межклеточному транспорту ауксина. Дан содержательный анализ литературы о системе PIN белков, их регуляции и локализации на мембране клетки. В этой же главе описаны методы анализа цифровых изображений конфокальных микроскопов высокого разрешения. Дан критический анализ известных математических моделей пространственного формирования распределения ауксина через PIN-опосредованный

транспорт, определяющий требования к новой модели. Обзор литературы заканчивается вытекающей из него постановкой задач, решенных в диссертации.

**Вторая глава** имеет две части. Первая часть посвящена результатам экспериментального исследования паттернов экспрессии PIN, которые были получены с помощью конфокального микроскопа и обработаны путем применения специальных программ обработки изображений для удобной визуализации и количественных оценок. Результатом этой работы является карта экспрессии PIN транспортеров с точными границами их доменов и областями перекрывания этих доменов. Приводится детальный анализ паттернов экспрессий белков PIN1-PIN4 и PIN7. Особенно подробно анализируется экспрессия белка PIN1, для которого проводится послойная обработка 3D изображения кончика корня. Интересны также полученные изображения процесса развития бокового корня. Во второй части составляется карта распределения ауксина в АМК. Анализ этой карты и сравнение её с картой распределения белков привело к формулировке главного результата исследования: гипотезы о зависимости экспрессии разных белков и их полярной локализации от разных доз ауксина. Этот факт далее подтвержден исследованием чувствительности разных PIN на внешнее воздействие ауксина.

В **третьей главе** предложена математическая модель процесса формирования паттернов экспрессии PIN-транспортёров в меристеме корня растения. Обоснован выбор клеточно-автоматной модели, которая является, вероятно, единственно возможной для получения полной картины пространственной самоорганизации белков. Хотя автор диссертации считает, что она адаптировала известную ранее модель, представленное здесь математическое описание следует считать оригинальной клеточно-автоматной моделью исследуемого процесса. Клеточный автомат (КА) имитирует движение ауксина по массиву клеток. Имитация перемещения ауксина моделируется так называемой «нерегулируемой диффузией» и «активным транспортом». Правила переходов КА, ограничения и подбор параметров выполнены разумно и правильно. В отличие от классического клеточного автомата размеры клеток различаются, что учитывается в правилах перехода КА. Компьютерная реализация модели подтвердила выдвинутую гипотезу, тем самым выполнив главную свою задачу. Но, кроме того, модель позволила проследить процесс пространственной самоорганизации, что дополняет гипотезу объяснением механизма формирования паттерна каждого белка. Более того, моделирование позволило определить диапазоны начальных концентраций, диапазоны значений порогов включения и выключения экспрессий белков. Таким образом, разработанная модель и её реализация обогатили новыми знаниями предпринятое исследование, что следует считать его научным результатом.

Представление результатов диссертации выполнено очень хорошо. Если не считать небольшого количества опечаток, текст написан великолепно. Прекрасно выполнены рисунки с подробными подписями под ними. Читать диссертацию приятно и интересно.

#### **Замечания**

1. Судя по названию диссертации, основной акцент должен быть сделан на компьютерном анализе особенностей экспрессии транспортеров ауксина, и

результаты работы этому названию соответствуют. Однако, компьютерная модель в вынесенных на защиту положениях не фигурирует.

2. В основе процессов самоорганизации, что упомянуто автором в обзоре, лежит взаимодействие активаторных и ингибиторных влияний. Это надо было бы отметить при анализе функционирования клеточно-автоматной модели.
3. Написание правил перехода клеточно-автоматной модели выполнено в виде равенств. Такая запись была бы допустима, если бы в правых и левых частях этих уравнений были бы указания на разные значения дискретного времени:  $(t+1)$  и  $t$ , соответственно.

Высказанные выше замечания не умаляют достоинств представленного исследования, выполненного на **высоком научном уровне**. Диссертация представляет собой завершенное научное исследование. Все выносимые на защиту положения обладают **научной новизной**. Полученные результаты **строго доказаны** и **опубликованы** в рецензируемых изданиях. Содержание автореферата соответствует идеям и выводам диссертации

Из вышесказанного следует, что **диссертация удовлетворяет критериям** для кандидатских диссертаций, установленным Правительством РФ в Постановлении №842 от 24 сентября 2013 с изменениями и дополнениями от от 21 апреля 2016 года. Василина Владимировна Коврижных заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 - Математическая биология, биоинформатика

Официальный оппонент

Бандман О. Л.

27.02.2016

Главный научный сотрудник  
Лаборатории синтеза параллельных программ  
Федерального государственного бюджетного  
Учреждения науки Института вычислительной  
математики и математической геофизики  
Сибирского отделения Российской академии наук,  
доктор технических наук,  
профессор по специальности 05.13.11  
e-mail: [bandman@ssd.sccc.ru](mailto:bandman@ssd.sccc.ru)  
630090, Новосибирск-90, Морской пр. 62, кв5  
Тел. +7 960 787 7081

Подлинность подписи О.Л.Бандман удостоверяю  
Уч. секр. ИВМиМГ СО РАН  
к.ф.м.н.



М.А.Марченко