

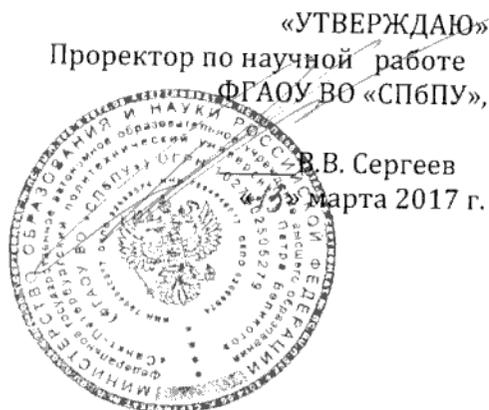


**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**  
федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«Санкт-Петербургский политехнический  
университет Петра Великого»  
(ФГАОУ ВО «СПбПУ»)

ИНН 7804040077, ОГРН 1027802505279,  
ОКПО 02068574

Политехническая ул., 29, С.-Петербург, 195251  
Телефон (812) 297-20-95, факс 552-60-80  
E-mail: office@spbstu.ru

№ \_\_\_\_\_  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_



#### ОТЗЫВ

ведущей организации – **федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет (ФГАОУ ВО «СПбПУ»)** на диссертационную работу **Василины Владимировны Коврижных «Компьютерный анализ особенностей экспрессии транспортеров ауксина семейства PIN в корне *Arabidopsis thaliana* L.»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Фитогормон ауксин играет важную роль в регуляции роста и развития корня растения. Значительная часть ауксина синтезируется в надземной части и переносится к корню, причем гены семейства *PIN-FORMED (PIN)* кодируют трансмембранные белки-транспортеры, которые осуществляют отток ауксина из клетки. Понимание механизмов регуляции экспрессии PIN белков ауксином необходимо для расшифровки многих морфогенетических процессов растения. Исследование влияния положительных и отрицательных обратных связей в генной сети регуляции транспорта ауксина на формирование его распределения

требует применения комбинированных экспериментально-компьютерных методов. Именно такой подход применен в работе В.В. Коврижных, целью которой как раз и является определение роли ауксина в формировании паттернов экспрессии семейства PIN-транспортеров в меристеме корня *Arabidopsis thaliana* L.

Актуальность темы диссертации очевидна как с точки зрения изучения фундаментальной биологической проблемы - морфогенеза растений, так и с точки зрения использованного подхода, в основе которого лежат механизмы самоорганизации паттернов экспрессии PIN в зависимости от концентрации ауксина. Действительно, такую модель можно адаптировать для исследования действия ауксина на морфогенез.

#### Характеристика диссертационной работы

Диссертация занимает 102 страницы, содержит 22 рисунка и 3 таблицы.

Она состоит из введения, трех глав, заключения и выводов. Список литературы содержит 108 наименований.

Первая глава, согласно традиции, представляет собой обзор литературы. Приводится обзор работ, посвященных описанию анатомии корня *A.thaliana*, механизмам действия и метаболизма ауксина, описание транспорта ауксина. Подробно описаны семейства PIN транспортеров ауксина, методы компьютерного анализа изображений, получаемых конфокальным микроскопом, и используемые для этих целей программы. Приводится общее описание математического моделирования пространственного распределения морфогенов и примеры математических моделей динамики распределения ауксина PIN-транспортерами в апикальной меристеме корня. Весь этот материал диссертанту удалось изложить достаточно понятно и логично.

Вторая глава, хотя и называется Экспериментальное изучение паттернов экспрессии PIN транспортеров в корне, на самом деле посвящена обработке изображений, полученных в лаборатории К.Пальме во

Фрайбурге, с помощью компьютерных программ ZEN, iRoCs Toolbox, а также пакета ImageJ. На основании компьютерного анализа конфокальных изображений впервые составлены карты картин экспрессии белков-транспортеров ауксина PIN1, PIN2, PIN3, PIN4, PIN7 и определена вариабельность доменов их экспрессии в растениях *A. thaliana* дикого типа. Предложена гипотеза о дозозависимой регуляции ауксином экспрессии PIN белков и их полярной локализации в клетках корня. В растениях с измененным уровнем ауксина выявлены качественные и количественные изменения в паттернах PIN белков, подтверждающие предложенную гипотезу. Оказалось, что ауксин в низких концентрациях активирует экспрессию PIN2, в промежуточных – PIN1, а экспрессию PIN3, PIN4, PIN7 как при низких, так и при высоких концентрациях. Впервые установлено, что при низких концентрациях ауксина PIN белки локализуются на мембране клеток по направлению к побегу, при промежуточных – по направлению к корню, а при высоких – PIN белки локализуются на всех сторонах клетки.

Третья глава посвящена математическому моделированию картин экспрессии PIN транспортеров в корне. Распределение ауксина исследовалось в модели типа «клеточный автомат», разработанной ранее Ф.В.Казанцевым (ИЦиГ СО РАН) для описания распределения морфогена по прямоугольному массиву клеток. В диссертационной работе автор развила эту модель для описания перераспределения ауксина по слою клеток, расположенных на продольном срезе меристемы корня, с учетом регуляции дифференцировки клеток (выбор экспрессирующихся в клетке PIN транспортеров ауксина и их полярной локализации) в зависимости от дозы ауксина. В модели изменения полярности клеток и набора экспрессирующихся в них PIN белков заданы в виде логических правил. Такой подход позволил впервые описать самоорганизацию PIN-опосредованных потоков ауксина в меристеме корня. Важно, что предсказания модели для картин экспрессии PIN белков в линии *35S::PIN1* были подтверждены экспериментально.

### Новизна исследования и наиболее существенные результаты

Важным достоинством работы является то, что автору удалось развить подходы к моделированию распределения ауксина в корне. Отличительной особенностью PIN белков является их способность быстро передислоцироваться на поверхности мембраны клетки, изменяя тем самым поток ауксина в ответ на внешнее воздействие. Математическое моделирование таких процессов проблематично в силу необходимости динамического переписывания уравнений модели. В этой работе для моделирования распределения ауксина использована модель типа «клеточный автомат», в которой изменения полярности клеток и набора экспрессирующихся в них PIN белков задаются в виде логических правил. Благодаря этому, автору впервые удалось описать самоорганизацию PIN-опосредованных потоков ауксина в меристеме корня. Другим принципиально новым результатом является исчерпывающая характеристика особенностей экспрессии белков PIN1-PIN4, PIN7 в меристеме корня *A. thaliana* и демонстрация вариабельности доменов их экспрессии в растениях дикого типа. Это позволило сформулировать гипотезу о том, что экспрессия семейства PIN транспортеров и их полярная локализация на мембране определяются специфическими концентрациями ауксина в клетках меристемы корня. Правильность этой гипотезы была подтверждена автором при изучении качественных и количественных изменений в паттернах PIN белков у растений с измененным уровнем ауксина.

### Значимость результатов, полученных в работе

Важными теоретическими достоинствами работы является то, что она проливает свет на механизмы действия ауксина. Более того, математическая модель, предложенная в работе, может быть использована для исследования функционирования меристемы корня в ответ на

внешние стимулы. Отметим, что расшифровка механизмов действия ауксина важна и в практическом плане, поскольку ауксин давно и активно используются в сельском хозяйстве для вегетативного размножения растений.

#### Замечания по диссертационной работе

По работе есть несколько существенных вопросов и замечаний:

1. Не ясно, почему в модели не учтен опосредованный транспортерами вход ауксина в клетку (влияние генов AUX)?
2. Сопоставима ли вариабельность концентраций белков PIN в модели с таковой в экспериментальных данных?
3. Может ли концентрация ауксина в модели принимать отрицательные значения?
4. Согласно закону Фика скорость диффузии пропорциональна площади поперечного сечения образца, а также разности концентраций. Насколько описание диффузии в модели соответствует этому определению?

#### Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Результаты исследования могут быть использованы в курсах лекций по биоинформатике и системной биологии на биологических и математических факультетах высших учебных учреждений, а также в Институте физиологии растений РАН, Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, центре «Биоинженерия» РАН, на Биологическом факультете МГУ, в Институте цитологии и генетики СО РАН, Ботаническом институте РАН, Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н.И.Вавилова, в Всероссийском научно-исследовательском институте защиты растений.

Автореферат В. В. Коврижных соответствует основным положениям диссертации и адекватно отражает ее содержание. По теме диссертации опубликовано 2 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ, в

которых диссертант первый автор в статье. Результаты работы доложены на международных конференциях.

### Заключение

Диссертационная работа В.В. Коврижных «Компьютерный анализ особенностей экспрессии транспортеров ауксина семейства PIN в корне *Arabidopsis thaliana* L.», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика является законченным научным исследованием, посвященным расшифровке роли ауксина в формировании паттернов экспрессии семейства PIN-транспортеров в меристеме корня *Arabidopsis thaliana* L.. В работе описаны качественные и количественные изменения в экспрессии PIN белков, разработана предикативная математическая модель формирования паттернов экспрессии PIN-транспортеров в меристеме корня под управлением ауксина. Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом уровне. Таким образом, диссертация В.В. Коврижных является актуальным и достоверным исследованием. Полученные результаты, а также выводы и рекомендации, сформулированные автором, имеют большое значение для науки и практики.

Все это позволяет заключить, что по актуальности проблемы, методическому уровню, объему представленного материала и научной новизне полученных результатов исследование В.В.Коврижных отвечает требованиям п. 9 “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации. N 842 от 24.09.2013г, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.01.09 – Математическая биология, биоинформатика.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании лаборатории Математическая биология и биоинформатика Института прикладной математики и

механики Санкт-Петербургского политехнического университета,  
протокол N 12 от 15.02.2017.

Отзыв составлен профессором  
кафедры Прикладная математика  
и заведующей лабораторией  
Математическая биология и  
биоинформатика ИПММ Санкт-Петербургского  
политехнического университета  
Петра Великого



д.б.н. Мария Георгиевна Самсонова  
8 марта 2017 г.

Сведения о составителе отзыва:

Мария Георгиевна Самсонова, доктор биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, профессор кафедры Прикладная математика и заведующая лабораторией Математическая биология и биоинформатика Института прикладной математики и механики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (ФГАОУ ВО «СПбПУ»)

29, Политехническая ул., Санкт-Петербург, 195251 Россия, тел  
+7(911)1522142, m.samsonova@spbstu.

Подпись <u>Самсоновой М.Г.</u>
УДОСТОВЕРЯЮ
Ведущий специалист
по кадрам <u>Климова М.А.</u>
«13» 03 2017 г.