

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лавреши Виктории Вадимовны «Компьютерный анализ и моделирование процессов формирования и поддержания структуры апикальной меристемы корня *Arabidopsis Thaliana* L.», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Изучение механизмов роста и развития корня является чрезвычайно актуальной задачей, так как понимание этих механизмов позволяет приблизиться к решению фундаментальной проблемы морфогенеза растений. При этом одним из вопросов биологии развития растений является то, как в апикальной меристеме корня (АМК) контролируются пространственно-разделенные процессы, такие как пролиферация клеток и увеличение размеров клеток в зоне растяжения, которые определяют скорость роста корня на разных стадиях развития и в ответ на внешние факторы. Важную роль в регуляции пространственно-распределенных процессов играют морфогены, ауксин и цитокинин, которые неравномерно распределены в ткани и в зависимости от концентрации могут по-разному влиять на клеточную динамику. Однако всё еще остаётся неясным, каким образом эти фитогормоны обеспечивают баланс процессов пролиферации и дифференцировки клеток меристемы в условиях их интенсивного роста и деления.

Выявление механизмов действия ауксина и цитокинина в регуляции координации этих процессов определило цели и задачи представленной диссертационной работы.

Диссертационная работа Лавреши В.В. представляет собой комплексное исследование. Поставленные в диссертационной работе задачи автор решает с использованием как теоретических, так и экспериментальных методов, в том числе методов математического моделирования. Для выявления ключевых регуляторных механизмов, обеспечивающих прохождение клеточного цикла в делящихся клетках по мере их дифференцировки, Лавреха В.В. разработала комплекс математических моделей различной степени сложности, провела их

исследование и верификацию с использованием полученных экспериментальных данных.

При этом автор убедительно продемонстрировала возможности математического моделирования для изучения механизмов регуляции сложных биологических систем, включая:

- интеграцию и обобщение существующих знаний в предметной области;
- анализ данных и генерацию гипотез;
- построение и исследование моделей, формализующих сформулированные гипотезы;
- планирование экспериментов для верификации моделей и проверки гипотез;
- генерацию новых знаний в данной предметной области.

Фактически проведен всесторонний системный анализ в области ауксин-цитоканин-зависимой регуляции морфогенеза корневой системы растений.

Диссертация состоит из Введения, трех глав, Заключение, Выводов, Списка литературы из 127 источников, Списка сокращений. Работа изложена на 137 страницах, содержит 51 рисунок и 9 таблиц. Разделы диссертации логически связаны между собой таким образом, что каждый последовательно отражает этапы анализа и моделирования системы, нацеленные на решение поставленных задач.

Первая глава диссертации содержит обзор литературы, в котором проведен всесторонний анализ данных в области структурно-функциональной организации апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana* L. Детально проанализированы особенности регуляции клеточного цикла растения ауксином и цитокинином, биосинтез, транспорт, пути передачи и взаимодействие фитогормонов при поддержании структуры АМК. Рассмотрены типы моделей, описывающие рост и деление клеток в меристемах растения. Заключение по обзору литературы содержит постановку задач исследования. Здесь автор диссертации убедительно демонстрирует глубокое понимание проблемы исследования.

Вторая глава диссертационной работы посвящена математическому моделированию формирования и поддержания структуры АМК. Фактически данная глава содержит формулировку и решение обратной задачи, нацеленной на выявление механизмов, лежащих в основе морфогенетических процессов. Учитывая сложную сеть взаимосвязей между фитогормонами ауксином и цитокинином, а также их опосредованное влияние на формирование корня через регуляцию клеточного цикла, решение «обратной задачи» автор осуществляет в два этапа.

На первом этапе соискатель сосредотачивает внимание на выяснении роли ауксина и цитокинина в регуляции ключевых стадий клеточного цикла и ставит задачу проверить гипотезу, согласно которой границы меристемы регулируются в соответствие с распределением концентраций ауксина и цитокинина в ткани, так что их влияние на регуляцию клеточного цикла является концентрационно-зависимым. Для этого автор снижает сложность исследуемой системы, приняв ряд допущений, на основе которых строит логическую модель минимального регуляторного контура клеточного цикла под контролем ауксина и цитокинина. С учетом сделанных допущений решение обратной задачи показало, что регуляция контрольных точек клеточного цикла осуществляется при низких концентрациях ауксина и цитокинина. При этом каждый из переходов регулируется только одним фитогормоном, переход G1/S – ауксином, а G2/M – цитокинином. Кроме того, из решения обратной задачи следовало, что наличие специфического распределения растительных гормонов в меристеме корня является достаточным для формирования трех зон с принципиально отличающейся клеточной динамикой.

Для подтверждения полученных результатов на втором этапе проводился анализ достаточности и непротиворечивости выявленного регуляторного контура с помощью математического моделирования. Для этого была создана оригинальная гибридная математическая модель, объединяющая механизмы синтеза и распределения ауксина и цитокинина, а также регуляцию фитогормонами клеточного цикла. Путем подбора параметров модели удалось показать, что распределение ауксина с дистальным максимумом концентрации

и распределение цитокинина с дистальным и проксимальным максимумами не меняются при росте клеточного ансамбля. При этом расчеты показали, что происходит формирование трех устойчивых областей с различной пролиферативной активностью, в которых распределение клеток по принципу фазовой принадлежности хорошо согласуется с имеющимися экспериментальными данными, что подтверждает правомерность предложенного механизма гормональной регуляции клеточного цикла.

В заключение второй главы диссертации Лавреха В.В. провела анализ чувствительности модели к варьированию параметров, связанных с интенсивностью поступления фитогормонов в систему и параметров, отвечающих за регуляцию клеточного цикла. Полученные результаты показали, что выбранные значения констант изменения концентрации фитогормонов являются оптимальными. При варьировании значений параметров наблюдались изменения в положениях максимумов концентрации ауксина и цитокинина и, как результат, изменения размеров пролиферационного домена.

Анализ полученных результатов позволил автору сформулировать ряд предположений (предсказаний), касающихся влияния ауксина и цитокинина на пролиферативную активность отдельных тканей корня. Для проверки этих предсказаний было проведено планирование экспериментов, их сопровождение и анализ полученных результатов с применением новейших компьютерных технологий. Полученные результаты представлены в третьей главе диссертации.

Чтобы получить достоверные различия распределения митозов во всех тканях корня Лавреха В.В. реконструировала трехмерные изображения кончиков корней с конфокального микроскопа с помощью программы iRoCS, которая позволяет аннотировать изображения с получением трехмерных координат всех ядер, в том числе находящихся в митозе. Компьютерный анализ полученных трехмерных изображений позволил автору верифицировать предсказания модели и впервые показать, что ткани меристемы имеют различную симметрию, а именно, сосудистая ткань – диархную симметрию, перицикл и эндодермис – билатеральную, кортекс и эпидермис – радиальную.

Кроме того, имея полную карту ядер с распределением митозов, автор смогла впервые определить границы транзитного и пролиферационного доменов не только по распределению митозов, но и по морфологии бокового корневого чехлика.

В совокупности полученные результаты представляют собой новые знания, касающиеся участия фитогормонов ауксина и цитокинина в регуляции формирования и поддержания структуры апикальной меристемы корня.

Полученные результаты имеют не только теоретическое, но и практическое значение. Действительно, полученные в ходе выполнения диссертации знания о концентрационно-зависимом механизме регуляции клеточного цикла ауксином и цитокинином могут быть полезны для подбора условий перевода растений в культуру тканей путем оптимизации концентраций и временных интервалов обработки тканей этими фитогормонами.

Диссертационная работа В.В. Лаврехи производит хорошее впечатление, она выполнена на высоком профессиональном уровне, написана хорошим языком, достаточно иллюстрирована и не дает повода для серьезных критических замечаний.

В целом, следует высоко оценить диссертационную работу В.В. Лаврехи. Она является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для развития исследований в области математического моделирования и системного анализа данных по регуляции ауксином и цитокинином морфогенеза корневой системы растений. Новизна и значимость представленной работы не вызывают сомнений. Основные результаты и выводы исследования сформулированы ясно и убедительно, являются обоснованными и логически подводят итог проведенного исследования. Автореферат адекватно и полно отражает содержание работы. Материал диссертации соответствует указанной специальности. Диссертация апробирована на многих российских и международных научных конференциях. Основные результаты диссертации представлены в двух статьях, опубликованных в журналах из списка ВАК, а

также в семи тезисах, опубликованных в материалах международных конференций.

Таким образом, по совокупности новых, актуальных, биологически значимых и достоверных результатов диссертационная работа Лавреши Виктории Вадимовны соответствует требованиям ВАК, которые сформулированы в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842. Считаю, что Лавреха Виктория Вадимовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук по специальности

03.00.03 - молекулярная биология

заведующий теоретическим отделом



Бажан Сергей Иванович

04.05.2018

р.т. +7 (383) 363-47-00 вн. номер 2001,

e-mail: bazhan@vector.nsc.ru

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора)

Почтовый адрес: 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Телефоны: 8(383)-3634710, 8(383)-3366010;

Факс: 8(383)-3367409;

E-mail: vector@vector.nsc.ru

web-сайт: <http://www.vector.nsc.ru>

Подпись заведующего отделом, д.б.н. С.И. Бажана заверяю:

Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

канд. биол. наук, доцент



О.А. Плясунова

4 мая 2018 г.

