

## ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу САВИНОЙ Марии Сергеевны «Компьютерное моделирование распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с учетом анатомии корневого чехлика и нарушений в его структуре», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 математическая биология, биоинформатика.

Из всех фитогормонов только для индолилуксусной кислоты (ИУК) характерно ярко выраженное полярное передвижение по тканям растительного организма. Градиенты концентрации ИУК, создавая позиционную информацию, действуют как мощнейший морфогенетический фактор и являются главным элементом, обеспечивающим формирование осей симметрии у высших растений на организменном уровне. Полярный, т.е. векторный транспорт ауксина лежит в основе регуляции практически всех процессов морфогенеза. Полярные потоки ИУК контролируют эмбриогенез и апикальное доминирование, формирование почек и побегов, филлотаксис и опадение листьев, цветение и тропизмы, формирование сосудистой системы и боковых корней. Главными переносчиками, формирующими полярные потоки ауксина в растениях, является семейство белков, которые у арабидопсиса называют PIN (Pin-formed). Полярный транспорт ИУК в растительных тканях является результатом полярного распределения PIN-белков в клетке путем их везикулярного транспорта по актиновым микрофиламентам. У арабидопсиса выявлено 8 генов, кодирующих ауксиновые переносчики этого типа. Благодаря различной мембранной локализации белков этого семейства полярный транспорт ауксина в растении возможен в самых разных направлениях. Именно благодаря PIN-белкам осуществляется тонкая регуляция уровня этого важнейшего фитогормона в клетках растения.

Цель диссертационной работы М.С.Савиной заключалась в разработке компьютерной модели распределения ауксина в апикальной меристеме корня арабидопсиса и выяснении роли корневого чехлика в поддержании ниши стволовых клеток.

Диссертационная работа М.С.Савиной оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ и построена по традиционному плану. Она изложена на 153 страницах, содержит 40 рисунков и 7 таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, трех глав, включающих результаты работы, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (182 источника).

Во введении рассмотрена актуальность выбранной темы, поставлены цель и задачи исследования, отмечены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Дана общая характеристика работы, представлены положения, выносимые на защиту, отражён личный вклад соискателя, описана структура диссертации и апробация полученных результатов, приведены публикации соискателя.

Обзор литературы состоит из девяти разделов и заключения. Первые три раздела посвящены подробному описанию строения и функций корня *A. thaliana*, его апикальной меристемы и корневого чехлика. В четвертом разделе описаны особенности экспрессии гена *WOX5* – основного регулятора поддержания ниши стволовых клеток в апикальной меристеме корня арабидопсиса. Далее следуют описание синтеза и функций ауксина, а также подробный анализ самых современных представлений о механизмах мембранного транспорта и принципах распределения ИУК в тканях растительного организма (разделы 1.5-1.7). Раздел 1.8 посвящен

анализу современной литературы, посвященной моделированию молекулярно-генетических процессов в биологии с использованием химико-кинетического подхода и метода обобщенных функций Хилла. Обзор литературы завершается детальным анализом различных математических моделей, которые позволяют описывать и предсказывать распределения ауксина в тканях растительных организмов.

Экспериментальную часть работы условно можно разделить на 3 этапа. Первый этап работы посвящен моделированию воздействия пониженных температур на морфологию колумеллы и распределение ауксина в корне арабидопсиса с использованием прямоугольного клеточного ансамбля. На основе созданной модели и её экспериментальной верификации М.С. Савиной предложен оригинальный механизм адаптации растений к действию низких положительных температур который был назван «Жертва ради спасения». Суть этого механизма адаптации заключается в следующем. Длительный холодовой стресс вызывает повреждения ДНК в нише ствольных клеток апикальной меристемы корня *A. thaliana*, которые инициируют селективную гибель дочерних клеток инициалей колумеллы. Это обеспечивает механический барьер для потоков ауксина в меристеме и позволяет поддерживать повышенный уровень ауксина в покоящемся центре. В результате обеспечивается целостность ниши ствольных клеток и создаются адаптивные преимущества при воздействии неблагоприятных условий окружающей среды.

На втором этапе работы моделировались нарушения в структуре колумеллы при сверхэкспрессии и потере функции гена *WOX5* (кодирует гомеодомен-содержащий фактор транскрипции *WOX5*, который является основным регулятором функционирования ниши ствольных клеток). С помощью методов компьютерного моделирования М.С.Савиной было показано, что нарушения экспрессии гена *WOX5* приводят к аномалиям корневого чехлика и меристемы корня, через изменение *ТАА1*-зависимого синтеза ауксина. На этом основании М.С.Савина приходит к логичному выводу о том, что основной функцией *WOX5* является регуляция *ТАА1*-зависимого синтеза ауксина в нише ствольных клеток (*ТАА* – триптофан-аминотрансфераза, участвует в синтезе ауксина из триптофана).

Во третьем разделе диссертации решалась задача: выяснить влияние особенностей строения корневого чехлика на распределения ауксина в меристеме корня *Arabidopsis thaliana* в модели с реалистичным клеточным ансамблем. Был создан пакет программ PlantLayout на языке MATLAB, который позволяет получать количественные и качественные характеристики клеточного ансамбля: размеры каждой клетки (объем и периметр клетки); размеры каждой клеточной стенки между любыми двумя соседними клетками (длина и ширина); ориентацию клеточных стенок («верхняя», «нижняя», «правая», «левая»). В данной модели впервые было описано распределение ауксина в апикальной меристеме корня арабидопсиса, учитывающее наличие 5 типов специфических транспортеров ауксина из клетки – PIN1, PIN2, PIN3, PIN4 и PIN7. Важным преимуществом этой модели является формирование явно выраженных градиентов в распределении ауксина и белков семейства PIN, наблюдаемых в экспериментах. Впервые была получена право-левая асимметрия в распределении ауксина и белка PIN2 в меристеме корня, которая может объяснять волнообразный характер роста корня и очередность закладки боковых корней.

Итоги экспериментальной части диссертационной работы подведены в разделе «Заключение», в котором суммируются полученные результаты и проводится их детальное обсуждение.

Существенных замечаний по работе нет. Имеются только ряд вопросов:

1. В диссертационной работе показано, что длительный холодовой стресс инициирует селективную гибель дочерних клеток-инициалей колумеллы. Чем объясняется специфичность повреждающего действия низких температур именно на клетки?
2. Как оценивался уровень ауксина и экспрессии PIN-белков в тканях корня (рис. 15, 16, 17)?
3. На рис. 3А (стр. 24) диссертант приводит данные Petersson с коллегами (2009) (полученные с помощью GC-SRM-MS) о содержании ИУК в суспензиях протопластов, выделенных из различных тканей корня арабидопсиса, из которых следует, что *содержание ауксина клетках колумеллы гораздо ниже*, чем в окружающих клетках. Однако этому противоречат данные, полученные другими авторами с помощью репортерных ауксин-чувствительных конструкций (рис. 3; 34). Кто прав (или неправ)?
4. Некоторая неясность возникает при рассмотрении вывода 5, в котором утверждается, что градиенты распределения ауксина “могут обеспечивать волнообразный характер роста корня” (стр. 128). Однако для обеспечения волнообразного характера роста корня недостаточно существования только асимметричных градиентов распределения ауксина относительно центральной оси корня; необходимо, чтобы эти градиенты ауксина периодически изменялись во времени. Предсказывает ли модель периодические изменения градиентов ауксина во времени?
5. Автор использует привычную в биологии, но не используемую в математике терминологию, связанную с определением направления градиента (стр. 22-23): “недиссоциированная часть молекул [ауксина] проникает через мембрану в клетку по градиенту концентрации”. Здесь имеется в виду, что молекулы переходят из области более *высокой концентрации* в область с более *низкой концентрацией*. Однако понятие градиент имеет и математическое определение, в соответствии с которым градиент представляет собой *вектор*, своим направлением указывающий направление наибольшего *возрастания* некоторой величины. То есть с точки зрения математики движение по градиенту концентрации – это движение из области, в которой концентрация растворенного вещества низкая, в область, в которой концентрация растворенного вещества высокая. К сожалению, в русскоязычной биологической и физиологической литературе понятие градиента используется в смысле, противоположном его математическому определению, но в работах по математическому моделированию желательнее использование термина градиент в исконном математическом смысле.

В целом диссертация представляет хорошо продуманное, цельное и оригинальное фундаментальное исследование. М.С.Савиной получены новые сведения, углубляющие современные представления о защитных механизмах, позволяющих сохранять нишу ствольных клеток при неблагоприятных воздействиях. Открыт механизм адаптации апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana* к действию низких положительных температур (4°C), при котором селективная гибель дочерних клеток инициалей колумеллы позволяет поддерживать максимум концентрации ауксина в клетках покоящегося центра. Разработана серия компьютерных математических моделей, описывающих самоорганизацию паттернов распределения ауксина и его транспортеров PIN-белков. Впервые показано, что одной из ключевых функций гена *WOX5* для поддержания ниши ствольных клеток меристемы корня *Arabidopsis thaliana* является активация и поддержание триптофан-зависимого синтеза ауксина.

Считаю, что диссертация Савиной Марии Сергеевны “Компьютерное моделирование распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с учетом анатомии корневого чехлика и нарушений в его структуре” отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Диссертация М.С.Савиной актуальна, хорошо иллюстрирована, легко и с интересом читается, выполнена на высоком методическом уровне, в ней получены новые данные, имеющие важное теоретическое и практическое значение. Автор диссертационной работы САВИНА Мария Сергеевна, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 математическая биология, биоинформатика.

*Официальный оппонент:*

профессор, заведующий кафедрой физиологии и биохимии  
растений биологического факультета  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
Санкт-Петербургский государственный  
университет, доктор биологических наук,  
профессор (03.01.05 – физиология и биохимия растений)

199034, Санкт-Петербург,  
Университетская наб., 7-9,  
тел. +7(812)328-96-95  
E-mail: sergei.medvedev.spb@gmail.com



Медведев Сергей Семенович

«12» ноября 2019 г.

*С.С. Медведев*  
**Личную подпись** **заверяю**  
Документ подготовлен по личной инициативе  
Текст документа размещён в открытом доступе  
на сайте  
СПбГУ по адресу <http://spbu.ru/science/expert.html>  
специалист по кадрам **Р.Г. Рогдер**

