

МИНОБРАЗОВАНИЯ 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, Санкт-Петербург, 195251
тел.: +7(812)297 2095, факс: +7(812)552 6080
office@spbstu.ru

текст _____ № _____ текст _____
на № _____ текст _____ от _____ текст _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ФГАОУ ВО «СПбПУ»,

В.В. Сергеев

« 8 » ноября 2019 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации – федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (ФГАОУ ВО «СПбПУ») на диссертационную работу Марии Сергеевны Савиной «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.

Функционирование организма требует поддержания ниш стволовых клеток в течение всего жизненного цикла. Одним из наиболее удобных объектов для изучения процессов самоорганизации и поддержания ниши стволовых клеток является апикальная меристема корня *Arabidopsis thaliana* L. Важную роль в поддержании ниши стволовых клеток у *Arabidopsis* играет фитогормон ауксин, и поэтому, изучению характера распределения этого гормона уделяется большое внимание. Однако, такие исследования сталкиваются с большими трудностями, поскольку достаточно точных методов, позволяющих отследить изменения в содержании ауксина на клеточном уровне не существует. Поэтому, в такой ситуации логичным является привлечение методов математического моделирования, поскольку математическое моделирование позволяет исследовать процессы развития под влиянием ауксина в динамике и в пространстве. Именно такой подход применен в работе М.С. Савиной, целью которой как раз и является исследование роли корневого чехлика в поддержании ниши стволовых клеток

апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana* с помощью методов компьютерного моделирования.

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 разработка новых математических моделей распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с различной степенью детализации исследуемых процессов и проведение численных экспериментов по исследованию распределения с учетом анатомических особенностей строения корневого чехлика и при нарушениях. Действительно, разработанные диссертантом математические модели позволили подробно исследовать как структура корневого чехлика, а также аномалии в его развитии влияют на распределение ауксина в нише ствольных клеток.

Характеристика диссертационной работы

Диссертация занимает 153 страницы, содержит 40 рисунков и 7 таблиц. Она состоит из введения, обзора литературы, трех глав, в которых изложены результаты работы, заключения, выводов, списка литературных источников. Список литературы содержит 182 наименования.

Первая глава, согласно традиции, представляет собой обзор литературы. Приводится обзор работ, посвященных описанию анатомии корня и апикальной меристемы, строению и функций корневого чехлика. Подробно описаны особенности экспрессии гена *WOX5*, основного регулятора поддержания ниши ствольных клеток в апикальной меристеме корня, а также особенности распределения и транспорта ауксина в норме и при воздействии внешних стимулов. Затем рассматриваются методы моделирования молекулярно-генетических процессов и различные математические модели, использованные для описания развития у растений. Завершает обзор литературы аналитическое заключение, в котором весь изложенный материал логично обобщен и систематизирован.

Вторая глава начинается с описания экспериментальных данных о влиянии низких положительных температур на анатомию и морфологию корневого чехлика *Arabidopsis thaliana*, предоставленных диссертанту профессором Чен Ксу из Национального Университета Сингапура и использованных для построения и верификации модели распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с прямоугольным клеточным ансамблем, описанию которой посвящен следующий раздел главы. Затем описаны оптимизация параметров математической модели, результаты математического моделирования и экспериментальной верификации полученных предсказаний. Изложены основные выводы по данной главе.

На основании компьютерного анализа было показано, что деление инициалей колумеллы под воздействием холода приводит к потере максимума концентрации ауксина в покоящемся центре, что может свидетельствовать о том, что при таком воздействии

покоящийся центр может потерять свою идентичность, что в свою очередь поставит под угрозу нишу стволовых клеток. Удивительно то, что после гибели дочерних клеток инициалей максимум концентрации ауксина в покоящемся центре восстанавливался и значит, гибель дочерних клеток выступает как защитный механизм, оберегающий нишу стволовых клеток от воздействия холода. Важно и то, что все предсказания модели получили блестящее экспериментальное подтверждение. По результатам моделирования и верификации модели впервые сформулирован механизм адаптации растений к действию низких положительных температур под названием «Жертва ради спасения»: погибшие клетки служат механическим барьером для транспорта ауксина и позволяют поддержать его максимум в покоящемся центре и, тем самым, сохранить целостность всей ниши стволовых клеток.

Третья глава посвящена математическому моделированию нарушений в структуре колумеллы при сверхэкспрессии и потере функции гена *WOX5*. Как и во второй главе, сначала изложены экспериментальные данные, использованные затем для построения двух моделей – двумерной модели с прямоугольным клеточным ансамблем распределения ауксина при сверхэкспрессии и потере функции гена *WOX5* и для оригинальной, разработанной впервые, одномерной компьютерной модели колумеллы корня *A. thaliana* с ростом, делением и слиянием клеток. Описаны генерация начальных данных и оптимизация параметров для одномерной модели и экспериментальная верификация моделей. Механизмы аномального развития колумеллы исследованы в двух условиях – при сверхэкспрессии в трансгенной линии *35S::WOX5-GR* и при потере функции в результате нокаутной мутации *wox5-1*. В моделях доказана непротиворечивость и достаточность гипотезы о генетической регуляции геном *WOX5* экспрессии фермента биосинтеза ауксина TAA1 для воспроизведения наблюдаемой в эксперименте клеточной динамики в колумелле *A. thaliana* и изменений в паттернах экспрессии белков PIN1-4, PIN7 и репортера ауксина *DR5*.

В четвертой главе автор описывает созданную ею программу PlantLayout для построения структурных компьютерных моделей двумерных срезов тканей растений на основании преобработанных экспериментальных изображений. Эта программа позволяет получить количественные и качественные характеристики реалистичного клеточного ансамбля. Используя ее, М.С. Савина адаптировала двумерную математическую модель распределения ауксина и белков транспортеров семейства PIN с прямоугольным клеточным ансамблем для описания распределения ауксина в реалистичном клеточном ансамбле с учетом различий в линейных размерах клеток. Это позволило наблюдать формирование явно выраженных градиентов в распределении ауксина и белков транспортеров PIN 1-4,7, совпадающих с таковыми в экспериментах. Важно также то, что впервые в моделях подобного типа была получена право-левая асимметрия в распределении белка PIN2 в меристеме корня,

которая хорошо соотносится с асимметрией строения бокового корневого чехлика. Это позволило сделать предположение о том, что деления разных типов инициалей могут происходить с различной частотой, при этом деления инициалей одного вида, расположенных на разных полюсах корня, могут происходить одновременно. Оба эти предсказания были подтверждены экспериментально.

Новизна исследования и наиболее существенные результаты

Важным достоинством работы является то, что автору удалось впервые описать механизм адаптации апикальной меристемы корня *A. thaliana* к воздействию низких положительных температур, названный «Жертва ради спасения». Этот механизм заключается в селективной индуцированной холодом гибели дочерних клеток инициалей колумеллы, что, в свою очередь, приводит к восстановлению максимума концентрации ауксина в покоем центре и способствует защите ниши стволовых клеток.

Другим принципиально новым результатом является создание гибридной компьютерной модели, описывающей процессы развития колумеллы корня *A. thaliana* в динамике для исследования роли ауксина в регуляции ниши стволовых клеток. С помощью этой модели показано, что основной функцией *WOX5* является регуляция *TAA1*-зависимого синтеза ауксина в нише стволовых клеток.

Разработана оригинальная и уникальная программа «Создание двумерных моделей тканей растений» (PlantLayout) для конструирования структурной модели двумерного среза тканей растения. Благодаря этой программе автору впервые удалось построить компьютерную модель распределения ауксина в корне растения с реалистичной клеточной структурой, учитывающей регуляцию ауксином своих белков-транспортеров семейства PIN. С помощью этой модели впервые были выявлены механизмы формирования билатеральной асимметрии в меристеме корня, естественно возникающей в развитии корня, в следствие делений клеток в корневом чехлике

Значимость результатов, полученных в работе

Важными теоретическими достоинствами работы является то, что она проливает свет на роль ауксина в поддержании ниши стволовых клеток в норме и при стрессовых воздействиях. Более того, разработанные подходы к проведению численных экспериментов и созданная серия компьютерных математических моделей могут быть адаптированы для решения других исследовательских задач, например, для исследования распределения ауксина при воздействии других факторов окружающей среды или обработки корней растений различными биологически активными веществами.

Большое значение имеет также разработанная автором программа «PlantLayout», которая может с успехом использоваться при создании математических моделей корней растений мутантных и трансгенных линий с известными аномалиями в анатомической структуре, а также моделей других органов и тканей, для которых характерно явление полярного активного транспорта.

Отметим, что расшифровка механизмов действия ауксина и его роли в поддержании ниши ствольных клеток корня важна и в практическом плане, поскольку ауксин давно и активно используются в сельском хозяйстве для вегетативного размножения растений.

Есть замечания по оформлению, опечаткам, неточностям, стилю изложения. К примеру, не ясна формулировка четвертого пункта выводов. Непонятно как пакет программ, который позволяет создавать математические модели внедряет эти модели в другие математические модели. Эти огрехи несколько затрудняют чтение, но отнюдь не умаляют общего благоприятного впечатления от работы и не снижают ее научной значимости.

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 М. С. Савиной соответствует основным положениям диссертации и адекватно отражает ее содержание. По теме диссертации опубликовано 2 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ. Результаты работы доложены на международных конференциях.

Заключение

Диссертационная работа М.С. Савиной «Компьютерное моделирование распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с учетом анатомии корневого чехлика и нарушений в его структуре», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика является законченным научным исследованием, посвященным расшифровке роли корневого чехлика в поддержании ниши ствольных клеток апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana*. В работе создана серия компьютерных математических моделей распределения ауксина в тканях корня *Arabidopsis thaliana* с различной степенью детализации; открыт механизм адаптации апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana* к действию низких положительных температур; показана достаточность WOX5-опосредованной регуляции TAA1-зависимого синтеза ауксина для воспроизведения клеточной динамики в корневом чехлике; разработан пакет программ PlantLayout, благодаря которому автору впервые удалось построить компьютерную модель распределения ауксина в корне растения с реалистичной клеточной структурой, учитывающей регуляцию ауксином своих белков-транспортеров семейства PIN. Диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом уровне. Таким

образом, диссертация М.С. Савиной 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 М.С.Савиной 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 Петра Великого, протокол N 14 от 15.10.2019.

Отзыв составлен профессором

Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики

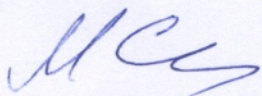
и заведующей лабораторией

Математическая биология и

биоинформатика ИПММ Санкт-Петербургского

политехнического университета

Петра Великого



д.б.н. Мария Георгиевна Самсонова

8 ноября 2019 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.