

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

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Марии Сергеевны Савиной посвящена актуальной проблеме исследования механизмов, относящихся к системе обеспечения жизнедеятельности растений – в частности, процессов самоорганизации и поддержания ниш ствольных клеток. В качестве объекта исследования выбран кончик корня растения *Arabidopsis thaliana* (в котором происходит деление клеток, обеспечивающее его рост и развитие), в качестве подхода к его изучению – компьютерное моделирование. Объект активно исследуется как отечественными, так и зарубежными учеными уже на протяжении нескольких десятилетий, что позволило к настоящему времени сформировать достаточно подробное представление о нём. Однако, ввиду сложности молекулярных и генетических процессов, связанных с функционированием *A. thaliana*, включая, в ряде случаев, нелинейные процессы и петли обратной связи, а также с учетом ряда имеющихся технологических ограничений при проведении экспериментальных исследований, можно с уверенностью сказать, что многие научные открытия в этой области ещё впереди.

Проведенный Марией Сергеевной анализ литературных данных об объекте исследования позволил выявить наиболее важные факторы, влияющие на механизм поддержания ниши ствольных клеток в кончике корня *A. thaliana*:

- Вещества из группы ауксинов (фитогормоны роста),
- Ряд белков-транспортеров семейства PIN, осуществляющих ауксин-зависимую регуляцию экспрессии кодирующих их генов,
- Экспрессирующийся в клетках покоящегося центра ниши ствольных клеток ген-регулятор *WOX5*,
- Морфология и клеточная структура кончика корня (оказывающая влияние на распределение в нём ауксина и других веществ),
- Данные о воздействии холодового стресса на объект исследования,

Перечисленные факторы и информация о взаимосвязях между ними, а также ряд других дополнительных данных учитываются автором в моделях, созданных в рамках работы над диссертацией.

Научная новизна полученных результатов

В рамках данной диссертационной работы её автором, Марией Сергеевной Савиной получен ряд новых, биологически значимых результатов, вносящих весомый вклад в понимание процессов функционирования исследуемого объекта:

- 1) Создана одномерная динамическая модель колумеллы корня (центральной части корневого чехлика, клетки которой постоянно обновляются за счет деления стволовых клеток покоящегося центра). В ней деление и гибель клеток являются дискретными событиями, а рост клеток и изменение концентраций влияющих на него веществ (в рамках данной модели – ауксина и белка TAA1) описаны системой дифференциальных уравнений. Результаты, полученные при моделировании (для контроля, мутантной линии *wox5-1* и трансгенной линии *35S::WOX5-GR*) оказались достаточными для объяснения наблюдаемых в эксперименте особенностей строения корневого чехлика во всех трех случаях.
- 2) Разработана программа для «оцифровки» микрофотографий структуры корня, определяющая геометрию и взаимное расположение образующих его клеток. Достаточно сложный набор правил и параметров оптимизированы специально для исследуемого объекта и обеспечивают высокое качество распознавания. Её использование позволило произвести моделирование в рамках двумерной модели с учетом реальной морфологии и клеточной структуры кончика корня.
- 3) Среди созданных моделей наиболее детальной и реалистичной представляется портретная - основанная на реальной клеточной структуре корня, учитывающая площади клеток и разное число соседей у них (описана в диссертации в разделе 4.2). еременных выступают концентрации ауксина и всех пяти белков-переносчиков этого вещества, с учетом особенностей их экспрессии в различных типах клеток корня. Согласно разработанной математической модели, динамика концентраций вышеупомянутых веществ в каждой из клеток, входящих в состав клеточного ансамбля, описывается системой дифференциальных уравнений (всего более 1500 переменных и 37 параметров). Настолько реалистичная и детальная модель исследуемого объекта создана впервые – она значительно превосходит предшествующие разработки в этой области как в России, так и в мире.
- 4) Реализована ещё одна разновидность двумерной модели, с упрощенной морфологией клеточного ансамбля, но дополнительно включающая механизмы деления стволовых клеток и избирательной гибели некоторого количества клеток инициалей колумеллы, что имитирует результат воздействия на растение холодового стресса. Ряд численных экспериментов, проведенных с помощью этой модели, позволил получить еще один выдающийся новый результат и сформулировать принцип работы защитного механизма, согласно которому погибшие клетки служат механическим барьером для транспорта ауксина. Это, свою очередь, позволяет поддержать максимум концентрации ауксина в покоящемся центре и тем самым сохранить целостность ниши стволовых клеток.

Научная и практическая ценность полученных результатов

Значимость полученных результатов и их научная ценность определяется множеством факторов, наиболее важные из которых перечислены ниже:

- 1) Созданию новых моделей предшествовал квалифицированный анализ биологических данных об объекте исследования, предшествующего опыта его моделирования другими научными коллективами, а также аргументированное представление о том, какие именно дополнительные свойства и функции системы должны быть отражены в её новых моделях.
- 2) Высокая реалистичность и детализацией, как с точки зрения структуры и морфологии продольного среза кончика корня, так и в плане рассмотренных биохимических и генетических процессов, лежащих в основе рассматриваемых функций объекта исследования.
- 3) Разнообразие разработанных моделей, каждая из которых создавалась для определенной цели, что позволило в совокупности охватить достаточно широкий спектр различных механизмов, связанных с распределением ауксина в кончике корня *A. thaliana* – как в случае стационарных решений, так и в динамике, как в норме, так и при различных нарушениях.
- 4) Предсказания, основанные на результатах расчетов, оказались в хорошем согласии с экспериментами, проведенными зарубежными коллегами для их проверки. Учитывая, что до сих пор не существует точных методов, позволяющих в эксперименте отследить изменения в содержании ауксина на клеточном уровне, модель с хорошей предсказательной способностью является ценным дополнительным инструментом исследования.

Помимо этого, на мой взгляд, полученные в диссертации наработки можно использовать и за пределами области исследований, непосредственно связанной растением *A. thaliana*. Качественное распознавание и оцифровка двумерной клеточной структуры по микрофотографиям может быть востребовано для множества организмов – как растительных, так и животных. Созданная Марией Сергеевной программа «PlantLayout» представляется хорошим заделом для этого. Если же удастся применить её к серии микрофотографий, извлекаемых из видеозаписей развития растения или животного в ходе его развития, а также применить полученных опыт моделирования транспорта биологически значимых веществ между образующими организм клетками, то это могло бы внести существенный вклад в сложную и весьма востребованную область науки, связанную с исследованием и моделированием процессов онтогенеза.

Достоверность и обоснованность результатов

Достоверность полученных в диссертации результатов определяется адекватностью применяемого математического аппарата и методов численного моделирования, использованием надежных фактических данных о результатах

экспериментального исследования объекта исследования, строгой математической постановкой задач, а также сравнением большинства результатов компьютерного моделирования с экспериментами – которые выявили высокую степень соответствия между моделью и реальностью.

Замечания по диссертации и автореферату

Принципиальных замечаний по содержанию диссертационной работы и автореферата не выявлено. Автореферат адекватно отражает основные результаты диссертации. В диссертации встречаются незначительные ошибки при наборе текста, например, «список литератур» в последнем абзаце стр. 12, «зеленый флуоресцентный белка» на стр. 14, «рзработанная ранее математическая модели» на стр. 55 и др., а также, во втором снизу абзаце на стр. 125 имеется недописанное предложение, частично дублирующее следующее за ним и, по-видимому, являющееся его более ранней версией. Также на Рис. 6 (на стр. 41) видны не все подписи – в некоторых случаях они частично «обрезаны» при пересечении с другими элементами рисунка. Впрочем, подобные ошибки встречаются практически в любой диссертации, и в данном случае их количество незначительно.

Также имеется несколько вопросов по тексту диссертации:

- 1) На Рис. 3 (на стр. 24) приведено несколько вариантов распределения ауксина в кончике корня *A. thaliana*, полученные различными методами. И если изображения, представленные на Рис. 3А, В и Г более-менее согласуются друг с другом, то картина распределения на Рис. 3Г отличается от них весьма существенно. Было бы интересно узнать, в чем причина такого различия?
- 2) На стр. 49 (второй сверху абзац) присутствует следующее предложение: «Корневой чехлик играет важную роль в развитии корня растения, обеспечивая не только механическую защиту ниши ствольных клеток, но целый ряд других важных функций воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды (Иванов, 1987)». Смысл был бы понятен, если бы предложение оканчивалось примерно так: «...важных функций, связанных с воздействием неблагоприятных факторов...» или «...важных функций, связанных с противодействием неблагоприятным факторам окружающей среды...». Хотелось бы прояснить, что на самом деле имелось в виду.

Сделанные замечания несколько не снижают общей высокой оценки уровня диссертационной работы в целом.

Заключение

Диссертация Савиной Марии Сергеевны «Компьютерное моделирование распределения ауксина в апикальной меристеме корня *Arabidopsis thaliana* с учетом анатомии корневого чехлика и нарушений в его структуре» выполнена на высоком научном уровне и является законченной научно-квалификационной

работой. Основные положения диссертационной работы опубликованы в достаточном для кандидатской диссертации количестве статей журналах, удовлетворяющих критериям ВАК (включая весьма авторитетный научный журнал Cell с импакт-фактором Web of Science = 36.2), а также доложены соискателем на ряде научных конференций и семинарах в известных российских и зарубежных научных центрах. В целом работа очень достойная, объем проведенных исследований и их научный уровень весьма высок, а полученные результаты являются существенным вкладом в развитие выбранного Марией Сергеевной научного направления и представляют интерес для мирового научного сообщества, что дополнительно подтверждается высоким уровнем цитирования её публикаций.

Актуальность темы, новизна результатов, а также их теоретическая и практическая значимость полностью соответствуют требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Савина Мария Сергеевна, без сомнений, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент,

директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института систем информатики им. А.П. Ершова

Сибирского отделения Российской академии наук (ИСИ СО РАН),

Кандидат физико-математических наук по специальности

01.04.17 – химическая физика, в том числе физика горения и взрыва

(01.04.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества)



Пальянов Андрей Юрьевич

11.11.2019 г.

Рабочий телефон: +7(383)3308652

Электронная почта: palyanov@iis.nsk.su

Адрес ИСИ СО РАН: 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 6.

Тел.: +7(383) 330-86-52

Факс: +7(383) 332-34-94

Веб-сайт: <https://www.iis.nsk.su>