

Зубаирова Ульяна Станиславовна

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
МОРФОДИНАМИКИ В МЕРИСТЕМАХ РАСТЕНИЙ
С УЧЁТОМ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ
И БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК**

03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в лаборатории биоинформатики
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии
и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Николаев Сергей Васильевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Омельянчук Леонид Владимирович,
заведующий лабораторией генетики клеточ-
ного цикла ФГБУН Институт молекулярной
и клеточной биологии СО РАН, г. Новоси-
бирск.

доктор биологических наук, доцент
Чуб Владимир Викторович, профес-
сор кафедры физиологии растений Биоло-
гического факультета Московского государ-
ственного университета им. М.В. Ломоносо-
ва, г. Москва.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего об-
разования «Санкт-Петербургский политех-
нический университет Петра Великого»,
г. Санкт-Петербург.

Защита диссертации состоится «____» _____ 2016 г. на утрен-
нем заседании диссертационного совета Д 003.011.01 на базе Феде-
рального государственного бюджетного научного учреждения «Фе-
деральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук», в конференц-зале
Института по адресу: пр. академика Лаврентьева 10, г. Новосибирск,
630090, тел.: (383) 363-49-06 (1321); факс: (383) 333-12-78;
e-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и
на сайте института www.bionet.nsc.ru.

Автореферат разослан «____» _____ 2016 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Хлебодарова Т. М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Одной из фундаментальных задач современной биологии является изучение регуляции формообразования (морфодинамики) в процессе роста организма (Chickarmane et al., 2010). В настоящее время благодаря развитию экспериментальных и вычислительных методов ведётся интенсивное теоретическое изучение механических свойств клеток и тканей и роли биомеханики как интегрирующего фактора в функционировании живых систем. В частности, компьютерное моделирование стало одним из основных методов теоретического изучения механизмов, лежащих в основе регуляции динамики пространственных паттернов в развивающихся тканях и/или органах, возникающих за счет роста, деления и дифференцировки клеток.

Среди основных направлений исследований в этой области можно выделить следующие.

(1) Описание роста растительной ткани с учётом биофизических свойств и геометрии клеток. В большинстве работ используются дискретные клеточные модели с упруго-пластическими стенками (Honda et al., 2004, Merks et al., 2011, Dupuy et al., 2008). В этих моделях клетки представляются многоугольниками в двумерном случае и многогранниками в трехмерном, вершины которых перемещаются под воздействием различных сил.

(2) Изучение морфогенетических механизмов формирования распределения роста и дифференцировки клеток в тканях, в частности, формирование пространственных паттернов специализированных клеток в эпидермисе листа и корня растений (Ryu et al., 2013). Для моделирования применяют пространственно-распределённые модели типа «реакция-диффузия». Такими моделями описывают, например, взаимодействия в системе генов *CLAVATA3-WUSCHEL*, которые являются основными регуляторами, обеспечивающими постоянство структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега арабидопсиса (Николаев и др., 2007, 2013, Chickarmane et al., 2012, Yadav et al., 2013).

Эффективность исследований морфодинамики с применением компьютерного моделирования существенно зависит от развития математического аппарата и вычислительных технологий для описания растущих пространственных структур. В частности, для имитации роста (двумерного) клеточного слоя разработаны программы, созданные с помощью математических пакетов, таких как, например, Mathematica, MATLAB, а также узко специализированные пакеты для моделирования растительных тканей (напри-

мер, Virtual Laboratory и L-studio (Prusinkiewicz, 2004), OpenAlea (Pradal et al., 2008), VirtualLeaf (Merks et al., 2011), CellModeller (Dupuy et al., 2008)), написанные на языках программирования общего назначения.

Стоит отметить, что даже самые развитые модели не дают полной картины внутренних и внешних механизмов, управляющих процессами роста, деления и дифференцировки клеток, в силу сложности происходящих процессов. Данная работа посвящена исследованию методами компьютерного моделирования закономерностей пространственного распределения скоростей роста и деления клеток в меристеме, а также механических свойств клеток, определяющих наблюдаемую морфодинамику ткани. С одной стороны, давно известно влияние генов на морфогенез (Barton, 2010; Zhao et al., 2010). Известно также, что пространственные паттерны дифференциальной активности генов могут формироваться в результате синтеза и распространения сигнальных молекул, что может быть основой регуляции ростовых процессов, влияющих на биомеханические свойства клеток (Traas and Sassi, 2014). С другой стороны, известно, что механические напряжения и деформации, возникающие в процессе роста, сами могут быть регуляторами генной активности, и тем самым регулировать рост (Sampathkumar et al., 2014). Важность изучения взаимодействия этих компонент и свойств получающейся регуляторной системы для понимания механизмов морфодинамики растительных тканей подтверждает актуальность данной работы.

Цель и задачи работы: Целью работы являлось исследование методами компьютерного моделирования влияния морфогенетической регуляции и биомеханики клеток на рост и морфодинамику меристематических тканей растений, растущих в одном направлении.

В ходе работы решались следующие задачи:

1. Разработка методики и пакета программ для моделирования одностороннего симпластного роста растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток.
2. Изучение методами компьютерного моделирования устойчивости системы регуляции структуры ниши ствольных клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса к возмущениям, вызываемым изменением пространственной структуры клеток.
3. Построение модели и изучение закономерностей одностороннего симпластного роста эпидермального слоя линейного листа с учётом механики клеток методами компьютерного моде-

лирования.

4. Построение модели и изучение механизма формирования пространственного паттерна трихом на растущем листе пшеницы методами компьютерного моделирования.

Научная новизна. В настоящей работе впервые: (1) разработана модификация формализма дифференциальных L-систем для моделирования однонаправленного симпластного роста двумерной растительной ткани («склеенные» dL-системы); (2) на модели регуляции пространственной структуры ниши ствольных клеток в апикальной меристеме арабидопсиса показано, что вероятность разрушения пространственной структуры возрастает с увеличением отношения характерного времени распространения морфогенов к средней длине клеточного цикла; (3) на модели, интегрирующей представления о клетке как об осмотической ячейке в полупроницаемой упруго-пластической оболочке и о симпластном росте клеток в растительной ткани, продемонстрировано, как в вычислительных экспериментах оценить влияние симпластного роста на биомеханику клеток; (4) на модели формирования пространственного паттерна клеток-трихом показано, что механизм латерального ингибирования сигналом, исходящим из клеток-трихом, приводит к наблюдаемому пространственному распределению клеток-трихом на листе пшеницы.

Научная и практическая ценность. Методика моделирования и пакет программ, представленные в диссертации, могут быть использованы в качестве основы для построения компьютерных моделей органов растений, для которых характерен однонаправленный рост. Результаты вычислительных экспериментов с моделью роста эпидермиса листа позволяют спланировать эксперименты по изучению динамики осмотических и тургорных давлений в клетках. Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом может использоваться в сравнительных эколого-физиологических исследованиях опушения листа пшеницы разных сортов для выяснения приспособительных механизмов к условиям роста растения.

Разработанные модели позволяют анализировать согласованность качественных представлений о механизмах роста и формирования растительных тканей и планировать эксперименты для изучения молекулярно-генетической системы регуляции этих процессов.

Дальнейшее развитие этих моделей позволит решать задачи по гено- и биоинженерии растений с целью их оптимизации для биотехнологических целей.

Положения, выносимые на защиту.

1. Вероятность разрушения пространственной структуры ниши

стволовых клеток в апикальной меристеме побега арабидопсиса возрастает с увеличением отношения характерного времени распространения морфогенов к средней длине клеточного цикла.

2. При симпластном росте растительной ткани автономная пролиферация клеток приводит к биологически значимой вариабельности механических напряжений и осмотических давлений в клетках.
3. Предложенный механизм формирования пространственного паттерна трихом в продольном ряду клеток на листе пшеницы на основе латерального ингибирования и кинетики роста клеток в меристеме листа позволяет получить распределение трихом, согласующееся с экспериментально наблюдаемым.

Апробация работы. Материалы работы вошли в отчёты по грантам Российского фонда фундаментальных исследований и Российского научного фонда. Результаты работы представлены на одиннадцати российских и одной зарубежной конференциях в виде устных докладов и стендовых сообщений, среди которых Международные конференции по биоинформатике, структуре и регуляции генома (BGRS 2010, BGRS 2012, BGRS 2014, г. Новосибирск), Международная конференция по математической биологии и биоинформатике (ICMBB 2010, г. Пущино), Европейская конференция по математической и теоретической биологии (ECMTB 2011, г. Краков, Польша) и международной конференции «Актуальные проблемы вычислительной и прикладной математики — 2015», посвященной 90-летию со дня рождения Гурия Ивановича Марчука (АМСА 2015, г. Новосибирск).

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 22 публикациях, из них 8 статей в рецензируемых журналах из списка ВАК РФ, 12 тезисов конференций, 1 глава в монографии и 1 учебное пособие.

Личный вклад автора. Основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю С. В. Николаеву и руководителю аспирантуры академику Н. А. Колчанову за внимание к работе и ценные замечания, а также А. В. Дорошкову за предоставленные изображения.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста, содержит 60 рисунков и 5 таблиц. Список литературы включает 205 ссылок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы.

В первой части обзора литературы приведена информация об объекте исследования — меристемах растений. Меристемы, или образовательные ткани, обладают способностью к активному росту за счет деления клеток и формируют таким образом все ткани растения.

Для того чтобы моделировать процессы роста ткани из разных типов делящихся и неделящихся клеток, приводящие к изменению клеточной структуры ткани, целесообразно использовать формализм, предназначенный для описания динамических систем с динамической структурой. Во второй части обзора описаны некоторые формализмы и их программные реализации, которые используются для моделирования растительных тканей и приведены примеры моделей.

Глава 2. Методика моделирования и структура пакета «Морфодинамика растительной ткани»

Глава посвящена методике моделирования и пакету программ «Морфодинамика растительной ткани» («МРТ»). Пакет основан на методе моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем и реализован в виде программных модулей в системе Mathematica. Пакет позволяет имитировать однонаправленный симпластный рост растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток.

Формально *L-система* имеет три составляющих: $G = \langle V, \omega, P \rangle$, где V — алфавит системы (набор символов, обозначающих типы элементов), $\omega \in V^+$ — непустое слово, называемое аксиомой (начальная структура системы), $P \in V \times V^*$ — конечное множество правил переписывания (возможные превращения элементов друг в друга). Исходно в L-системе переписывание происходит синхронно в дискретное время. Для более реалистичного моделирования надо допустить асинхронные изменения элементов системы. Это позволяет делать дифференциальная параметризованная dL-система с единым для системы непрерывным временем. Каждый элемент системы снабдили одним или несколькими параметрами, которые могут изменяться в зависимости от времени. Правила перехода, единые для всех элементов, и определяющие превращения элементов из одного типа в другой, срабатывают теперь индивидуально для каждого элемента при достижении некоторого порога определенным параметром в этом элементе. И в зависимости от того, какой параметр достиг в данный момент своего порога, может зависеть, какое превращение будет совершать

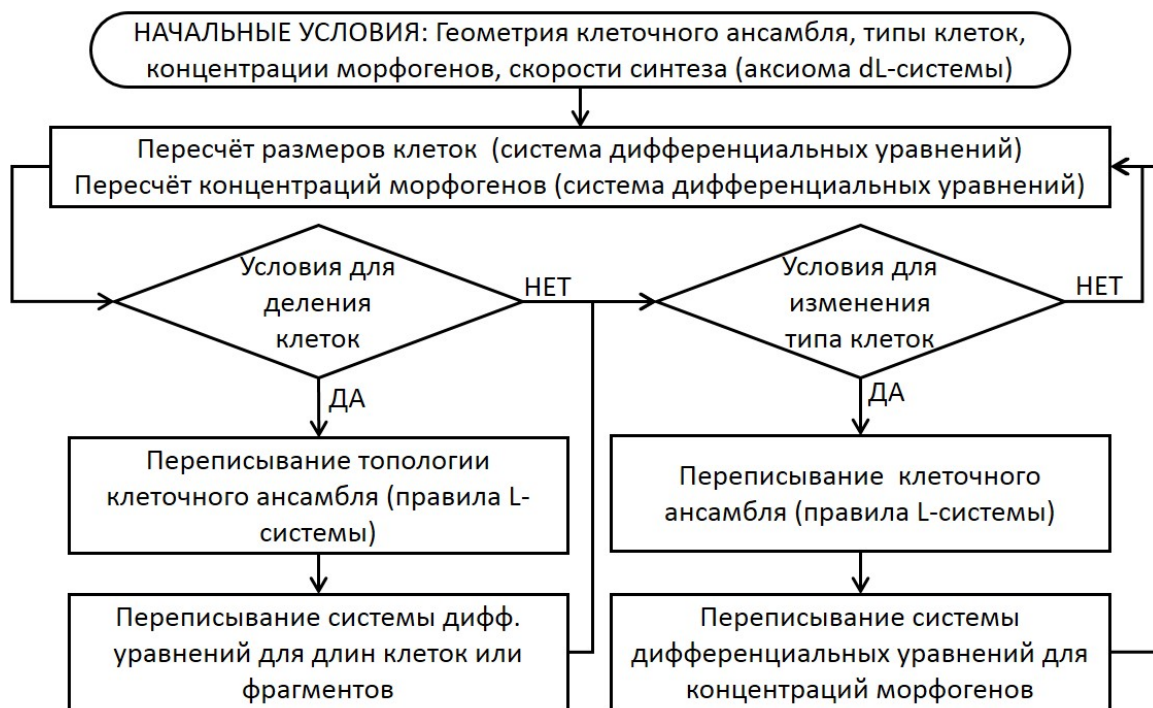


Рис. 1. Обобщённая блок-схема программы «Морфодинамика растительных тканей» для дискретно-непрерывных моделей развития растений.

элемент.

Каждая модель в данной работе представлена в виде дискретно-непрерывной системы. Параметры соответствующей L-системы являются переменными состояния динамической части модели. Модели собираются из модулей-функций, входящих в разработанный пакет «МРТ», и считаются программой, блок-схема которой представлена на рис. 1. В качестве начальных условий необходимо задать геометрию ткани и начальные значения переменных состояния. На каждом шаге интегрирования происходит пересчёт переменных состояния модели и проверка условий для изменения структуры системы. При изменении структуры системы переписывается система дифференциальных уравнений.

Комбинируя модули разработанного пакета, мы построили компьютерные модели для решения задач диссертации.

Глава 3. Модель регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса

В рамках первой модели изучалось, каким образом соотношение характерных времен диффузии-распада морфогенов и пролиферации клеток влияют на пространственную структуру ткани.

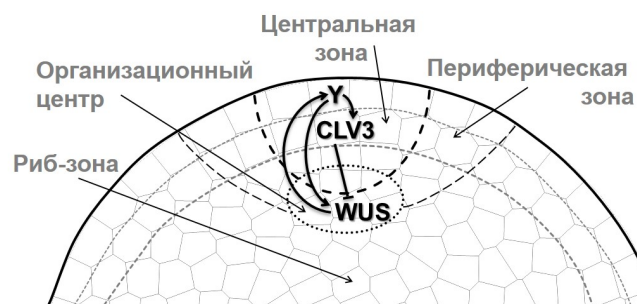


Рис. 2. Схема регуляции пространственной структуры апикальной меристемы побега

Биологические предпосылки и качественное описание модели. Объектом для изучения являлась структура ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега (АМП) арабидопсиса. В нише стволовых клеток выделяют следующие зоны: в самых верхних слоях расположена центральная зона (ЦЗ), которая состоит из стволовых клеток, ниже располагаются клетки организационного центра (ОЦ), а клетки периферической зоны (ПЗ) окружают ЦЗ (рис. 2).

Структура ниши стволовых клеток апикальной меристемы побега определяется взаимной регуляцией генов *CLAVATA3* (*CLV3*) и *WUSCHEL* (*WUS*). Продуктами экспрессии этих генов являются белки соответствующих названий. Эти белки могут распространяться по меристеме и регулировать экспрессию генов. Результатом взаимной регуляции является стабильное расположение зон в АМП (рис. 2). В результате роста и деления происходит смена клеток, составляющих зоны, так что клетки ЦЗ, перемещаясь вниз, становятся клетками ОЦ, в свою очередь, клетки ОЦ должны переместиться вниз и стать клетками риб-зоны (РЗ).

Была построена модель и исследована устойчивость системы регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса, к возмущениям, вызываемым ростом и делением клеток ткани. Для построения одномерной модели рассматривали столбец клеток вдоль центральной оси меристемы. В начале массива расположены клетки ЦЗ, затем клетки ОЦ, и далее — клетки риб-зоны. Клетки центральной зоны и организационного центра могут делиться.

Модель регуляции построена на взаимодействии генов *CLV3* (морфоген *c*) и *WUS* (морфоген *w*). Гипотетический ген *Y* (морфоген *y*) может экспрессироваться только в первой клетке, и его продукт диффундирует по массиву клеток, где активирует экспрессию генов *CLV3* и *WUS*. Продукт гена *CLV3* подавляет экспрессию гена *WUS*. Продукт гена *WUS* диффундирует по массиву

клеток и активирует экспрессию гена Y . Эти зависимости представлены на схеме (рис. 2). Кроме того, все вещества распадаются с определенными скоростями.

Формализация модели в виде dL-системы. Для того, чтобы изучать влияние роста и деления клеток на устойчивость пространственной структуры АМП, модель была реализована в виде dL-системы. Алфавит $V = \{Z, C, R\}$ составляют 3 символа, соответствующие клеткам ЦЗ, ОЦ и РЗ. Состояние каждой клетки описывается вектором из четырёх параметров $\{l, y, c, w\}$ — возраст клетки и концентрации 3-х морфогенов.

Правила описывают деление и дифференцировку клеток в зависимости от значений параметров. Если возраст клетки ЦЗ или ОЦ достиг максимального значения, то клетка делится на две неравные клетки: $Z(l, y, c, w) \rightarrow Z(d \cdot l, y, c, w)Z((1 - d)l, y, c, w)$ или $C(l, y, c, w) \rightarrow C(d \cdot l, y, c, w)C((1 - d)l, y, c, w)$, соответственно. Если концентрация морфогенов меньше порога, клетка переходит в другую зону: при $c < c_{min}$ $Z \rightarrow C$, при $y < y_{min}$ $C \rightarrow R$.

Динамика параметров для каждой клетки определяется системой дифференциальных уравнений (1):

$$\begin{aligned} \frac{dl}{dt} &= \mu \cdot l, \\ \frac{dy}{dt} &= v_y g(h_y + E_{yw}w) + \beta_y(y_{left} - 2y + y_{right}) - d_y y, \\ \frac{dc}{dt} &= v_c g(h_c + E_{cy}y_k) - d_c c, \\ \frac{dw}{dt} &= v_w g(h_w + E_{wy}y + E_{wc}c) + \beta_w(w_{left} + 2w - w_{right}) - d_w w, \end{aligned} \quad (1)$$

где v_i — скорости синтеза, β_i — коэффициенты диффузии, d_i — коэффициенты деградации и h_i — пороговые коэффициенты синтеза для компонентов $i = y, c, w$, а E_{ij} — коэффициенты взаимного влияния морфогенов, $g(\cdot)$ — сигмоидная функция. Индексы *left* и *right* означают левую и правую клетку по отношению к данной. В первой и последней клетках задаются условия непроницаемости. Общая система уравнений выписывается с учётом клеточной структуры и изменяется в процессе счёта. Были определены параметры (Николаев и др., 2006), при которых стационарное распределение концентраций веществ совпадает с зонами ниши ствольных клеток.

Результаты вычислительных экспериментов и их биологическая интерпретация. Поведение модели изучалось при ро-

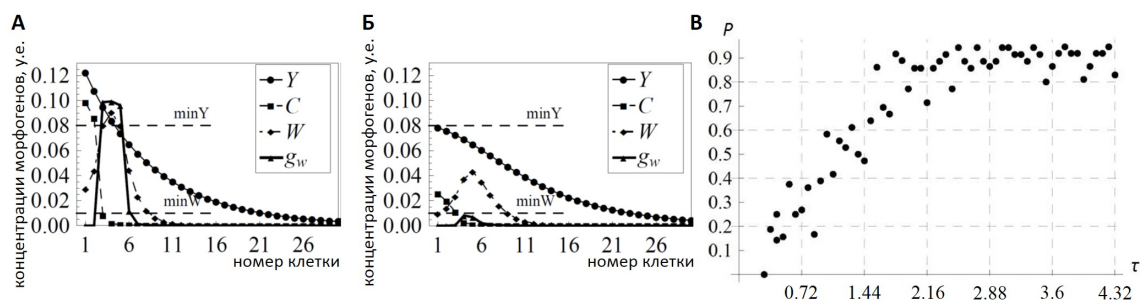


Рис. 3. **А** и **Б** — Распределение концентраций морфогенов в клетках вдоль центральной оси АМП (на графиках — ось абсцисс). (**А**) стабильная структура, (**Б**) разрушение структуры. **В**. Вероятность P разрушения структуры ниши стволовых клеток за время 20 клеточных циклов в зависимости от τ (см. пояснения в тексте).

сте и делениях клеток. В вычислительных экспериментах было показано, что предложенная модель регуляции структуры ниши стволовых клеток в АМП при определенном наборе параметров устойчива к возмущениям, вносимым ростом и делением клеток в АМП (рис. 3 А).

Распространение сигналов в модели описывается диффузией, поэтому отношение (τ) безразмерного характерного времени распространения морфогена w от ОЦ до первой клетки к средней длине клеточного цикла играет ключевую роль в устойчивости структуры ниши стволовых клеток. В качестве характерного времени распространения морфогена w было выбрано время достижения определенной концентрации w в первой клетке в результате диффузии из клеток ОЦ, где происходит его синтез. В частности, было показано, что увеличение отношения τ приводит к возрастанию вероятности разрушения структуры ниши стволовых клеток (рис. 3 В). Последнее означает, что после возмущения нарушается правильная взаимная регуляция экспрессии генов, и в итоге экспрессия генов прекращается (рис. 3 Б).

Глава 4. Модель однонаправленного симпластного роста эпидермиса линейного листа

В рамках второй модели на примере эпидермиса листа пшеницы мы изучали закономерности однонаправленного симпластного роста растительной ткани с учётом биомеханики клеток.

Биологические предпосылки и качественное описание модели. При *симпластном* росте растительной ткани клетки не сдвигаются друг относительно друга, и топология ткани изменяется только в результате деления клеток. Плоскость деления клетки перпендикулярна направлению роста, поэтому потомки одной клетки расположены в одном продольном ряду (рис. 4 А). Ряды различа-

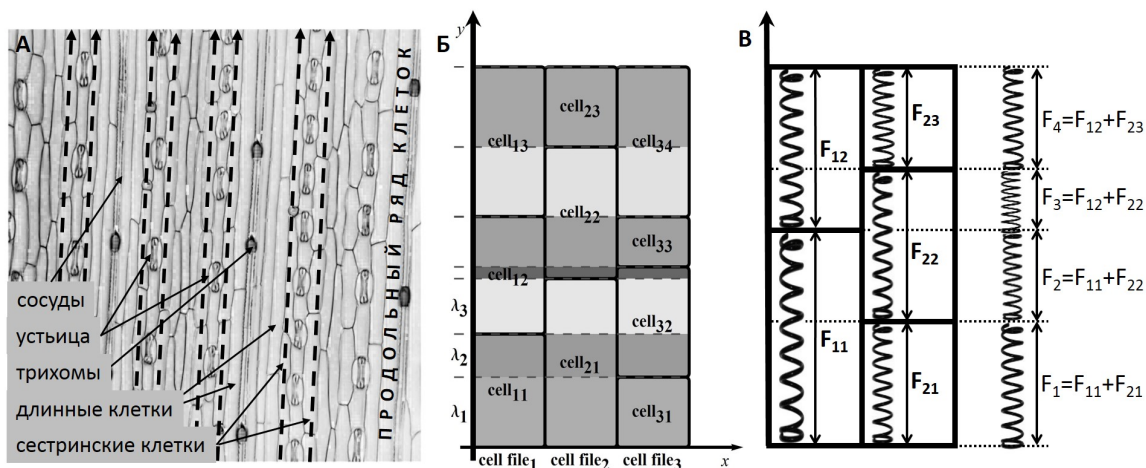


Рис. 4. А. Эпидермис листа пшеницы (Изображение получено А.В. Дорошковым, и обработано автором в системе Mathematica). Б. Схема разбиения клеток «модельного листа» на фрагменты $\{\lambda_1, \lambda_2, \dots\}$. При таком разбиении, например, фрагмент λ_2 принадлежит клеткам $cell_{11}$, $cell_{21}$ и $cell_{32}$. В. Сила, растягивающая фрагмент, есть сумма сил, растягивающих клетки, в которые входит фрагмент.

ются разным типом клеток, составляющих ряд. Механика симпластного роста позволяет рассматривать упрощенную модель эпидермиса, состоящего из однотипных рядов клеток (пунктирные стрелки на рис. 4 А). Линейный лист увеличивается за счёт роста и деления клеток у его основания, здесь находится зона роста делением, здесь клетки растут и делятся. Затем следует зона роста растяжением, здесь клетки быстро увеличивают свои размеры и не делятся. Далее следует зона зрелых клеток, и здесь клетки не растут. Модель формирования зон роста листа построена по аналогии с моделью зоны регуляции структуры меристемы, рассмотренной ранее.

Модель роста растительной клетки. Для моделирования симпластного роста эпидермиса на основе подходов Локхарта (Lockhart, 1965) и Ортеги (Ortega, 2010) была разработана модель роста отдельной клетки (уравнения (2)–(5)). С точки зрения механики роста, клетка — это осмотическая ячейка в упруго-пластической оболочке. Накопление сухого вещества (c) в клетке за счет биосинтеза (2) ведет к повышению осмотического давления (P_{osm}) внутри клетки (3), которое вызывает приток воды в клетку и повышение гидростатического давления внутриклеточной жидкости на клеточную стенку. Под влиянием внутреннего гидростатического (тургорного) давления (P_{turg}) клеточная оболочка растягивается и переходит в напряженно-деформированное состояние — тургор (4). Давление, под действием которого вода осмотически притекает (dV/Vdt) в клетку, равно разности между осмотическим давлением и тургорным давле-

нием (5). При повышении тургорного давления выше определенного порога, разного для разных типов клеток, начинается биосинтез вещества клеточной стенки. Эти вещества доставляются в стенку, и она начинает расти. С механической точки зрения происходит пластическая деформация. При этом напряжение в клеточной стенке и тургорное давление падают, что способствует возобновлению потока воды внутрь клетки. Это и есть видимый рост клетки.

$$\frac{dc}{dt} = \mu c + \frac{\partial c}{\partial V} \frac{dV}{dt} \quad (2)$$

$$P_{osm} = c R T \quad (3)$$

$$P_{turg} = E \epsilon \quad (4)$$

$$\frac{dV}{V dt} = S L (P_{osm} - P_{turg}) \quad (5)$$

Клетку эпидермиса листа мы представили в виде параллелепипеда. При однонаправленном росте ткани клетки растут только в длину. Это позволило нам перейти к описанию механики роста клетки в терминах: l — видимая длина клетки, l^r — релаксированная длина клетки (длина стенки в ненапряженном состоянии), l^i — изоосмотическая длина клетки (длина клетки, если бы ее не сдерживала растянутая клеточная стенка). В этих переменных мы выразили тургорное и осмотическое давления: $P_{osm} = \alpha \frac{l^i - l}{l}$, $P_{turg} = \frac{S_w}{S_c} E \frac{l^r - l}{l}$.

По условиям симпластного роста стенки клеток в соседних рядах «склеены» друг с другом (рис. 4 Б), и поэтому вынуждены расти с одинаковой скоростью. Поскольку скорости автономного роста этих клеток различаются, в них создаются разные тургорные давления, и разные фрагменты стенки одной клетки испытывают разные силы и растут с разными скоростями. В то же время при однонаправленном росте механическая связь между клетками приводит к тому, что соответствующие фрагменты для клеток во всех рядах испытывают одну и ту же растягивающую силу (рис. 4 В), что приводит к их одинаковой скорости роста λ_k (рис. 4 Б), которая определяется по формуле (6):

$$\frac{d\lambda_k}{dt} = \frac{\lambda_k}{N} \sum_{n=1}^N \mu_{nm}^0, \quad \lambda_k \in \{l_{nm}\}, \quad \mu_{nm}^0 = \frac{dl_{nm}}{l_{nm} dt}, \quad (6)$$

где $\{l_{nm}\}$ — множество клеток, в которые входит фрагмент λ_k , μ_{nm}^0 — их удельные скорости роста, если бы они росли свободно, N — количество продольных рядов клеток, k — индекс фрагмента, n — индекс продольного ряда, m — индекс клетки в ряду.

Формализация модели в виде dL-системы. С учётом специфики геометрии линейного листа для моделирования однонаправленного роста двумерной растительной ткани мы модифицировали формализм дифференциальных L-систем в так называемые «Склеенные dL-системы». Динамику клеточной структуры линейного листа, состоящего из N параллельных продольных рядов клеток, мы моделировали с помощью N одномерных dL-систем, каждая из которых моделирует динамику структуры отдельного продольного ряда. Алфавит каждой dL-системы состоит из 3-х букв, обозначающих клетку зоны деления, клетку переходной зоны и клетку зоны растяжения ($V = \{D, T, E\}$). Состояние каждой клетки описывается вектором из трёх параметров $\{li, l, lr\}$ — изоосмотическая, наблюдаемая и релаксированная длины клетки. Для того чтобы обеспечить согласованную динамику всех dL-систем, была введена еще одна управляющая одномерная dL-система, которая моделирует динамику структуры фрагментов клеток. Алфавит этой dL-системы состоит из одной буквы (λ), а параметрами являются длина фрагмента и вектор длины N , i -й компонентой которого является номер клетки, содержащей данный фрагмент в i -м продольном клеточном ряду. Динамика переменных состояния определяется общей системой дифференциальных уравнений, составляющих модель симпластного роста клеток в составе ткани.

Результаты вычислительных экспериментов. Основываясь на опубликованных данных о росте клеток в ткани, мы проверили несколько функций роста: экспоненциальную, линейную и сигмоидную.

В вычислительных экспериментах с разными функциями роста клетки во всех случаях (кроме экспоненциального роста клетки) было показано, что при симпластном росте растительной ткани автономная пролиферация клеток приводит к вариабельности механических напряжений и осмотических давлений в клетках и существенному отличию характера их динамики по сравнению со свободно растущими клетками. Из этого следует, в частности, что общепринятая процедура оценки скорости роста клеток в ткани листа по видимым размерам клеток может быть некорректна, поскольку не учитывается, что клетки в ткани находятся в напряженно-деформированном состоянии.

Для линейной функции роста клеток были подобраны кинетические параметры, при которых модель воспроизводит экспериментальные данные о распределении средних размеров клеток вдоль листа пшеницы при значениях механических параметров из биологически

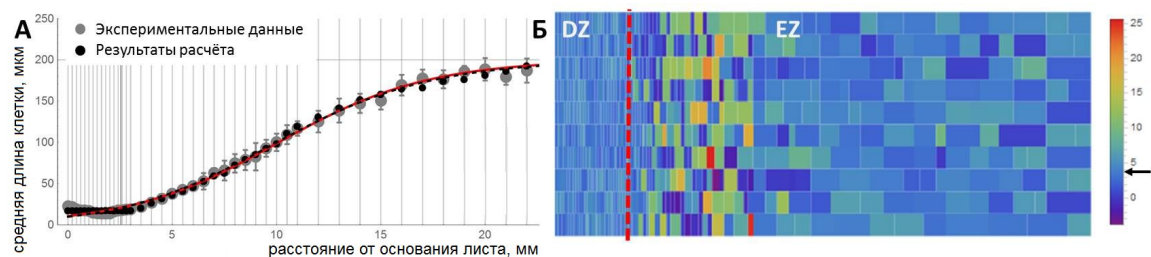


Рис. 5. **А.** Распределение средней длины клеток вдоль листа пшеницы. Точки соответствуют средним экспериментально наблюдаемым и рассчитанным по модели длинам клеток на отрезках листа. **Б.** Распределение осмотических давлений (бар) в клетках листа. DZ — зона роста делением, EZ — зона роста растяжением. Стрелка на шкале указывает давление в свободной клетке.

оправданного диапазона (рис. 5 А). При этих параметрах наибольшие вариации давлений сосредоточены в переходной зоне (рис. 5 Б).

Глава 5. Модель формирования пространственного паттерна трихом на листе пшеницы. В рамках 3-й модели мы изучали механизм формирования трихом на растущем листе пшеницы.

Биологические предпосылки и качественное описание модели. Трихомы представляют собой выросты эпидермальных клеток листа размером от нескольких микрометров до миллиметров. Расположение клеток-трихом на поверхности листовой пластинки закладывается в процессе роста листа. Ранее показано (Dupuy et al., 2008), что механизм «латерального ингибирования» хорошо объясняет формирование пространственного паттерна трихом на листовой пластинке растения арабидопсиса. Следует отметить, что лист арабидопсиса растет так, что области роста распределены по всей листовой пластинке. У пшеницы совершенно другая феноменология закладки трихом: лист растёт за счёт деления клеток в основании листа (рис. 6 А). У самого основания расположена зона симметричных делений клеток, дальше клетки делятся асимметрично: маленькая клетка-трихома при делении образуется на дистальном конце материнской клетки, в то время как проксимальная клетка остаётся недифференцированной. Трихомы формируются в отдельных продольных рядах.

Была разработана модель механизма формирования трихом на листе пшеницы, основанная на гипотезе о существовании латерального ингибирования сигналом, исходящим из трихом. При построении модели были использованы данные о длине трихом и их расположении в продольных рядах в зоне роста листа пшеницы (рис. 6 Б).

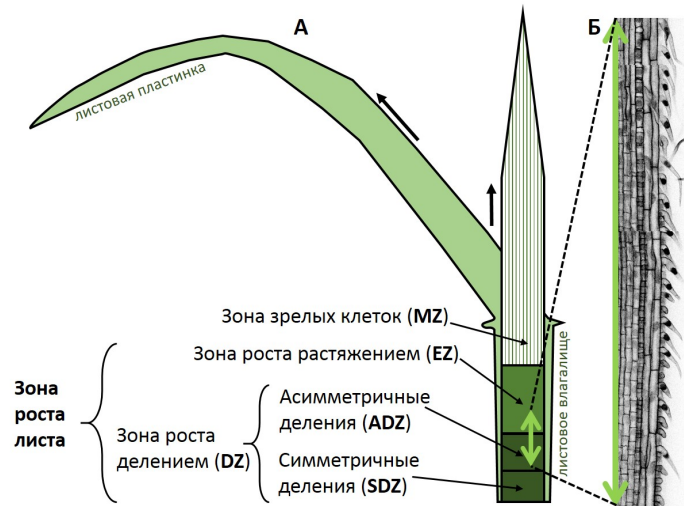


Рис. 6. А. Структура зоны роста листа пшеницы. Б. Длины клеток-трихом, расположенных в одном продольном ряду, увеличиваются немонотонно (изображение получено А.В. Дорошковым, и обработано автором диссертации в системе Mathematica).

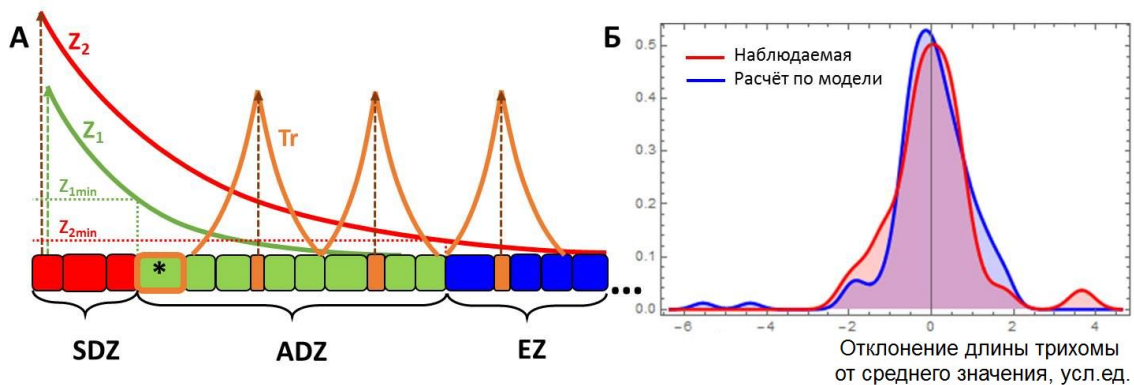


Рис. 7. А. Схема клеточной структуры зоны роста и распределения концентраций морфогенов (Z_1 , Z_2 и Tr) в модели. Красные клетки — зона симметричных делений (SDZ), зелёные клетки — зона асимметричных делений (ADZ), синие клетки — зона растяжения (EZ), оранжевые — клетки-трихомы. Б. Плотность распределения длин клеток-трихом: красная кривая — наблюдаемая (рис. 6 Б), синяя кривая — расчёт по модели.

Формализация модели в виде dL-системы. Для изучения механизма формирования пространственного паттерна трихом в продольном ряду клеток на листе пшеницы, модель была реализована в виде dL-системы. Алфавит $V = \{S, A, E, T\}$ составляют четыре символа — клетки зоны симметричных и асимметричных делений, зоны растяжения и клетки-трихомы. Состояние каждой клетки описывается пятью параметрами: $\{l, a, z_1, z_2, tr\}$ — длина и возраст клетки и концентрации 3-х морфогенов. Правила выражают деление и диффе-

ренцировку клеток в зависимости от значений параметров. Если длина клетки зоны деления достигает максимального значения, то клетка делится: $S(l, a, z_1, z_2, tr) \rightarrow S(d \cdot l, a, z_1, z_2, tr)S((1-d)l, a, z_1, z_2, tr)$, $A(l, a, z_1, z_2, tr) \rightarrow A(d \cdot l, a, z_1, z_2, tr)A((1-d)l, a, z_1, z_2, tr)$, где коэффициент $d \sim N(0.5, 0.1)$ (нормально распределённая случайная величина), при этом если концентрация морфогена-ингибитора формирования трихом меньше порога, то для клетки из зоны асимметричных делений коэффициент $d \sim N(0.7, 0.1)$. Если концентрация морфогена, определяющего структуру зоны деления, меньше порога, то клетка переходит в другую зону: при $z_1 < z_{1 \min}$ $S \rightarrow A$, при $z_2 < z_{2 \min}$ $A \rightarrow E$ (см. схему на рис. 7 А). Динамика переменных состояния определяется системой дифференциальных уравнений.

Результаты вычислительных экспериментов. При заданных параметрах модели вычислительный эксперимент имитирует формирование трихом в продольном ряду клеток. В результате было получено распределение возраста трихом вдоль ряда, которое с использованием разных функций роста преобразовывалось в распределение длин и сравнивалось с экспериментальными данными. Такое сравнение позволяет настроить параметры так, что распределение длин трихом в продольном ряду клеток в вычислительном эксперименте совпадает с экспериментальным (рис. 7 Б).

Кроме того, модель предсказывает, что увеличение длины зоны асимметричного деления клеток, где происходит закладка трихом, приводит к увеличению вариации возрастов соседних трихом в ряду.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны методика и пакет программ «Морфодинамика растительной ткани» («МРТ») для моделирования морфодинамики растительной ткани. Пакет основан на методе моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем, реализован в виде программных модулей в системе Mathematica и позволяет имитировать односторонний симпластный рост растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток и воспроизводить экспериментально наблюдаемые паттерны клеточной структуры ткани. Разработаны и реализованы в пакете «МРТ» модели: (а) регуляции структуры ниши ствольных клеток апикальной меристемы побега арабидопсиса на растущей ткани, (б) роста эпидермиса линейного листа, (в) формирования трихом на листе пшеницы.

2. На основе модели регуляции пространственной структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме арабидопсиса с учётом роста и деления клеток, учитывающей взаимодействие генов *CLAVATA3* и *WUSCHEL*, показано, что вероятность разрушения пространственной структуры возрастает с увеличением отношения характерного времени распространения морфогенов к средней длине клеточного цикла.
3. На основе модели однонаправленного симпластного роста эпидермиса линейной листовой пластинки (а) подобраны кинетические параметры роста клеток, при которых она воспроизводит экспериментальные данные о распределении средних размеров клеток вдоль листа пшеницы; (б) показано, что автономная пролиферация клеток в условиях симпластного роста приводит к биологически значимой вариабельности механических напряжений и осмотических давлений в клетках.
4. На основе модели формирования пространственного паттерна трихом на листе пшеницы с учётом модифицированного механизма латерального ингибирования и геометрии роста листа показано, что (а) при варьировании параметров в вычислительных экспериментах можно получить пространственные паттерны трихом, сходные с экспериментально наблюдаемыми, что позволяет использовать модель в сравнительных эколого-физиологических исследованиях опушения листа пшеницы, и (б) в вычислительном эксперименте при определённых размерах зоны асимметричного деления клеток получены характерные закономерности пространственного распределения длин трихом, наблюдение которых в эксперименте будет служить дополнительным обоснованием механизма латерального ингибирования.

Список основных работ по теме диссертации

- [1] **Zubairova U.**, Golushko S., Penenko A., Nikolaev S. A computational model of the effect of symplastic growth on cell mechanics in a linear leaf blade // *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*. — 2015. — Т. 13, № 1. — С. 1540005 (15 pages).
- [2] **Николаев С. В., Зубаирова У. С., Фадеев С. И., Мйолснесс Э., Колчанов Н. А.** Исследование одномерной модели регуляции размеров возобновительной зоны в биологической ткани с учётом деления клеток // *Сибирский журнал индустриальной математики*. — 2010. — Т. 13, № 4(44). — С. 70–82.

- [3] **Зубаирова У.С., Пененко А.В., Николаев С.В.** Моделирование роста и развития растительных тканей в формализме L-систем // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2012. — Т. 16, № 4/1. — С. 816–824.
- [4] **Николаев С.В., Колчанов Н.А., Голушко С.К., Палаки Ж.-К., Урбан О., Амелина Е.В., Юрченко А.В., Голушко К.С., Зубаирова У.С., Пененко А.В., Трубую А.** Моделирование морфодинамики на ранних стадиях эмбриогенеза растения // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2012. — Т. 16, № 4/1. — С. 805–815.
- [5] **Николаев С.В., Зубаирова У.С., Пененко А.В., Мелснесс Э.Д., Шапиро Б.Е., Колчанов Н.А.** Модель регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега *Arabidopsis thaliana* // *Доклады Академии Наук*. — 2013. — Т. 452, № 3. — С. 336–338.
- [6] **Зубаирова У.С., Николаев С.В.** Модели регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2013. — Т. 17, № 4/1. — С. 738–747.
- [7] **Зубаирова У.С., Голушко С.К., Пененко А.В., Николаев С.В.** L-система для моделирования плоских одномерно растущих растительных тканей // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2014. — Т. 18, № 4/2. — С. 945–952.
- [8] **Пененко А.В., Троеглазова Т.С., Зубаирова У.С., Байшибаев Д.Ж., Николаев С.В.** Применение технологии CUDA для моделирования процессов реакции-диффузии на двумерном клеточном ансамбле // *Математическая биология и биоинформатика*. — 2014. — Т. 9, № 2. — С. 491–503.
- [9] **Zubairova U., Nikolaev S., Doroshkov A., Afonnikov D.** A model of trichome spacing pattern formation on growing wheat leaf // *Proceedings of the 9th international conference "Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology" (BGRS/SB-2014), Novosibirsk, Russia*. — 2014. — С. 174.

Подписано к печати 17.02.2016.
Формат 60х90 1/16. Печ. л. 1. Уч.-изд. л. 0,7.
Тираж 110 экз. Заказ №38.

Отпечатано на полиграфической базе ИЦиГ СО РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10