

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Зубаировой Ульяны Станиславовны

**«Компьютерное моделирование морфодинамики в меристемах
растений с учётом морфогенетической регуляции
и биомеханических свойств клеток»**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика

Актуальность

Диссертационная работа Зубаировой Ульяны Станиславовны «Компьютерное моделирование морфодинамики в меристемах растений с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток» посвящена актуальной проблеме – разработке методов математического моделирования морфогенетических процессов растений, интегрирующих данные по генетической регуляции морфогенеза, дифференцировки, генетической регуляции и биомеханических свойств клеток. В настоящее время эти подходы широко применяются в исследованиях паттернов экспрессии генов, управляющих разметкой (pre-patterning) в живых объектах, а вычислительный эксперимент становится одним из обязательных компонентов публикаций на эту тему.

Для решения поставленных задач Зубаировой У.С. были использованы подходы моделирования на основе делящихся линейных рядов клеток, представления о симпластном росте и описывающих это явление алгоритмах «склеенных» dL-систем. До сих пор не до конца понятны механизмы, обеспечивающие координированное поведение элементов в клеточных ансамблях (включая скоординированную экспрессию генов). Представленная работа вносит существенный вклад в их изучение.

Соискатель Зубаирова У.С., исследуя комплексные физиологические механизмы, взяла на себя сложную задачу по оценке значимости отдельных факторов (позиционной информации, распределения зон деления и растяжения, морфогенетической индукции по модели активатор-ингибитор и др.) на формирование паттернов, близких к наблюдаемым в экспериментах. Подобный анализ очень важен для разработки алгоритмов моделирования роста и развития растений, создания удобных для пользователей-биологов пакетов программ, пригодных для обработки экспериментальных данных в области динамики развития растений. В связи с этим тему диссертации Зубаировой У.С. следует считать актуальной.

Новизна

Диссертантом впервые были получены результаты с использованием модифицированного формализма «склеенных» дифференциальных L-систем, учитывающих симпластный характер роста растительных тканей (до этих исследований такой подход не применялся). Доказано, что в рядах делящихся клеток с выраженной меристематической зоной вероятность разрушения пространственной структуры возрастает с увеличением отношения характерного времени распространения морфогенов к средней длине клеточного цикла. Методами моделирования изучена корреляция между осмотическими явлениями и упругими натяжениями клеточных стенок в процессе роста линейного листа. Впервые показана возможность получения пространственного паттерна распределения трихомов, наблюдаемого у пшеницы, в модели активатор-ингибитор путем латеральной диффузии факторов морфогенеза. Диссертантом выполнен большой объем вычислительных экспериментов, имеющих высокий уровень новизны, что отражено в публикациях по теме диссертации в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ.

Общая характеристика работы

Диссертационная работа Зубаировой У.С. изложена на 186 страницах и построена по традиционному принципу. Работа состоит из введения, 5 глав, включающих обзор литературы, описание исходных допущений, методов и результатов моделирования, обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, состоящего из 205 ссылок, в том числе 191 – на английском языке. Иллюстративный материал диссертации представлен 57 рисунками и 5 таблицами.

Значимость основных научных результатов

В ходе представленного исследования диссертанту удалось построить модели нескольких морфогенетических процессов деления в клеточном ряду / поле, состоящем из «склеенных» рядов клеток с выраженной меристематической зоной. Такой подход представляется особенно удачным для моделирования роста и дифференцировки либо у живых объектов с нитчатой организацией (таких, как цианобактерии). В частности, автору удалось построить простую и элегантную модель дифференцировки гетероцист у цианобактерий. Как показано в диссертации, рост и дифференцировка линейного листа злаков (Poaceae) хорошо аппроксимируется формализмом «склеенных» dL-систем, состоящих из симпластно растущих рядов клеток. В этой части работы продемонстрирована возможность моделирования распределения симметрично и асимметрично делящихся клеток, растущих клеток, а также

возникновение дифференцировки по типу трихомов вдоль растущего ряда клеток. К сожалению, за рамками работы остался вопрос о том, почему в некоторых рядах клеток (клеточных файлах) происходит дифференцировка трихомов, тогда как в других рядах этот процесс не идет. Интересны результаты, показывающие возникновение механических напряжений в клеточных стенках по мере симпластного роста линейного листа. В работе проведено последовательное сравнение результатов, полученных *in silico* и *in vivo*.

Исследована стабильность созданных виртуальных объектов к существенным отклонениям параметров при моделировании: к изменению скорости распространения позиционного сигнала и к изменению скорости клеточных делений. Хотя по стерическим соображениям этот подход не вполне адекватен по отношению к заявленному объекту (апикальная меристема побега *Arabidopsis*), он наверняка найдет применение для других объектов, состоящих либо из одиночных рядов клеток, либо из линейных клеточных файлов. Выдвинутые в работе принципы моделирования позволили получить пространственные паттерны распределения делящихся клеток, дифференцированных трихомов и др., близкие к наблюдаемым на живых объектах, что указывает на применимость созданных моделей для интерпретации экспериментальных данных.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Считаем целесообразным продолжить работу по разработке алгоритмов моделирования морфогенетических процессов у растений в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН». (г. Новосибирск). Выводы и результаты, полученные диссертантом, можно рекомендовать для включения в материал лекционных курсов по биоинформатике, общей и частной физиологии растений, эмбриологии, росту и развитию, генетике растений в ВУЗах со специализацией по биологии (биологические факультеты Санкт-Петербургского государственного университета, Московского государственного университета, Новосибирского государственного университета и др.).

Общие замечания

Хотелось бы высказать некоторые замечания к работе.

1. В обзоре литературы при описании структуры меристемы и ее производных есть терминологические неточности. Так, не совсем правомерно считать, что слой L2 дает субэпидермис (есть не у всех объектов), а слой L3 – кортекс. У рассматриваемого модельного объекта – *Arabidopsis* – кортекс является производным как раз слоя L2 и L3. Слой L3 не имеет определенного направления делений только у *Arabidopsis*, тогда как у многих других объектов

эти деления достаточно строго организованы (как в слоях L1 и L2). У некоторых растений выделяют до 6 слоев туники, в которых происходят строго упорядоченные деления. На стр. 30 указано, что в синтезе целлюлозы участвуют микротрубочки. На самом деле они участвуют только в процессе укладки микрофибрилл целлюлозы, тогда как собственно синтез целлюлозы происходит на целлюлозосинтазных комплексах. На стр. 31 допущена стилистическая неточность: осмолиты накапливаются в цитозоле, а не внутри клеточной мембраны. Не указана роль других осмотиков, которые накапливаются в вакуолях при росте растяжением. Соседство растительных клеток в биологическом смысле этого термина не изменяется на протяжении жизни клетки, это больше свойственно для животных объектов.

2. При моделировании взаимоотношений клеток в АМП вызывает сомнение адекватность самого подхода моделирования системы как линейного ряда клеток. С биологической точки зрения организационный центр не может удаляться от поверхности за счет деления клеток центральной зоны, поскольку в пространстве эти клетки делятся антиклинально. При этом производные клетки располагаются перпендикулярно выбранному направлению моделирования процесса. Дифференцировка удаленных от поверхности клеток (на большом расстоянии от центральной зоны) в элементы ксилемы также не находит биологического подтверждения. В живом объекте в этой позиции располагается сердцевина, а механизмы закладки ксилемы не зависят от моделируемых взаимоотношений CLAVATA-WUSHEL.

3. Короткий пептид CLV3 и его рецепторный комплекс CLV1/2 имеют различные паттерны экспрессии и играют разную роль в передаче сигнала. Поэтому вряд ли целесообразно в модели объединять их под общим параметром «Вещество С». Более целесообразным кажется объединение рецепторов CLV1/2 с транскрипционным фактором WUS, зоны экспрессии которых совпадают в большей мере, чем зоны экспрессии CLV3 и CLV1/2.

4. В исходных допущениях при моделировании зоны асимметричных делений и последующем развитии трихомов позиционный фактор Z2 в модели явно избыточный. Достаточно задать второй порог в восприятии позиционного сигнала Z1, и задать условием асимметричного деления $Z_{\text{sym}} > Z1 > Z_{\text{asym}}$, где Z_{sym} – нижний порог для симметричных делений, а Z_{asym} – нижний порог для асимметричных делений. Кроме того, для *Arabidopsis* при формировании трихомов обсуждается «временное окно компетентности» (developmental time window), где роль сигнала выполняет время, прошедшее с момента выхода клетки из зоны стеловых клеток. Такой подход к моделированию трихомов был бы более адекватным.

5. На стр. 92 предполагается, что увеличение сухого вещества в клетках происходит в ходе биосинтеза. На самом деле оно осуществляется благодаря притоку органических и минеральных веществ из других частей растения (аттрагирующий эффект). Фотосинтез в

растущих клетках у рассматриваемых модельных растений не может служить основным источником увеличения сухой массы.

6. Отождествление сосущей силы и водного потенциала клетки, проведенное на стр. 93, не является правомерным. Понятие водного потенциала термодинамическое, в него входят как гидравлическая, так и осмотическая компоненты. Повышение осмотического давления в связи с биосинтезом белков в фазе G1 сомнительна, поскольку процесс биосинтеза требует полимеризации растворенных аминокислот, что должно приводить к понижению осмотического давления в ячейке. Лучше рассматривать поглощение осмотически активных веществ из окружающей среды (например, ионов K^+ , которые вносят наибольший вклад в колебания осмотического давления).

7. Изоосмотический объем введен недостаточно строго, поскольку клетка без клеточной стенки не может придти в равновесие с питательными растворами, обычно используемыми в экспериментальной практике. По-видимому, лучше говорить о поведении такой клетки в изоосмотическом растворе (не важно – питательном или нет). Параметр «изоосмотическая длина» предполагает, что после удаления клеточной стенки протопласт сохраняет свою форму параллелепипеда. На самом деле он приобретает форму сферы. Поэтому в модели нужно вводить эти параметры более строго, например, как линейный размер параллелепипеда с основанием, равным основанию моделируемой клетки, имеющий изоосмотический объем. Впрочем, строгость определения в данном случае не влияет на результаты моделирования.

8. На рис. 4.4 в составе эпидермиса указаны сосуды, что является неверной интерпретацией микроскопических данных. По-видимому, имеется в виду область эпидермиса, лежащая над сосудами ксилемы.

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не снижают общего благоприятного впечатления от диссертационной работы.

Заключение

В целом диссертационная работа Зубаировой У.С. «Компьютерное моделирование морфодинамики в меристемах растений с учетом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток» представляет комплексное, оригинальное и завершенное научное исследование на актуальную тему. Выводы диссертационной работы обоснованы как теоретически, так и полученными экспериментальными данными, соответствуют поставленным целям и задачам. Основные положения диссертации в достаточной мере опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Автореферат соответствует содержанию

диссертации. Высказанные замечания имеют в основном рекомендательный характер. Представленная диссертационная работа полностью соответствует критериям, установленным в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, а ее автор – Зубаирова Ульяна Станиславовна несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – «Математическая биология, биоинформатика».

Профессор кафедры физиологии растений
биологического факультета
Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова,
доктор биологических наук,
доцент по кафедре

21 марта 2016 г.



Чуб В.В.

Почт. адрес: ул. Заводская, д. 41-А, кв. 79, г. Железнодорожный, Московская обл.,
143980

Тел. 8-906-044-12-08

e-mail: choob_v@mail.ru

site: <http://plantphys.bio.msu.ru>

Подпись руки профессора кафедры физиологии растений
Биологического факультета МГУ Чуба В.В.

ЗАВЕРЯЮ

Декан биологического факультета
Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова, академик



Кирпичников М.П.