

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

На правах рукописи

Зубаирова Ульяна Станиславовна

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

03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук

Николаев Сергей Васильевич

Новосибирск 2016

Оглавление

| | |
|--|-----------|
| Введение | 7 |
| Список работ автора по теме диссертации | 13 |
| 1 Обзор литературы | 15 |
| 1.1 Меристемы растений как объект для изучения морфодинамики | 15 |
| 1.1.1 Меристематические ткани растений | 15 |
| 1.1.2 Формирование пространственного паттерна клеток эпидермиса листа | 23 |
| 1.1.3 Механические аспекты роста растительных клеток и тканей | 27 |
| 1.2 Компьютерное моделирование морфодинамики растительных тканей | 33 |
| 1.2.1 Развивающиеся организмы — динамические системы с динамической структурой | 33 |
| 1.2.2 Формализмы для описания динамических систем с динамической структурой | 35 |
| 1.2.3 Методы моделирования морфодинамики ткани | 41 |
| 1.2.4 Клеточно-ориентированные компьютерные системы для моделирования растительной ткани | 45 |
| 1.2.5 Модели регуляции ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега арабидопсиса | 47 |
| 1.3 Заключение по обзору литературы и постановка задач исследования | 54 |
| 2 Методика моделирования и структура пакета «Морфоди- | |

| | |
|--|-----------|
| намика растительной ткани» | 57 |
| 2.1 Концепция исследования морфодинамики растительной ткани с использованием компьютерного моделирования | 57 |
| 2.2 Общее описание методики моделирования морфодинамики растительной ткани | 61 |
| 2.3 Формализация методики моделирования морфодинамики растительной ткани с использованием dL-систем | 64 |
| 2.3.1 Дискретные события | 65 |
| 2.3.2 Непрерывные процессы | 67 |
| 2.3.3 «Склеенные» dL-системы | 68 |
| 2.4 Реализация пакета «Морфодинамика растительной ткани» в системе Mathematica | 71 |
| 2.4.1 Реализация работы L-системы в системе Mathematica | 71 |
| 2.4.2 Структура данных | 71 |
| 2.4.3 Схема расчёта | 72 |
| 2.5 Иллюстрация методики на примере моделирования формирования клеточного паттерна водоросли <i>Anabaena catenula</i> . | 74 |
| 2.5.1 Биологические предпосылки и качественное описание модели | 74 |
| 2.5.2 Представление модели в dL-системе | 74 |
| 2.6 Заключение к главе 2 | 76 |
| 3 Компьютерное моделирование регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса | 78 |
| 3.1 Биологические предпосылки и назначение модели | 78 |
| 3.1.1 Пространственная структура ниши стволовых клеток | 78 |
| 3.1.2 Клеточная структура и основные положения модели . | 79 |
| 3.2 Математическое описание модели | 80 |
| 3.2.1 Формализация модели в виде dL-системы | 84 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.3 | Вычислительные эксперименты, результаты и обсуждения | 84 |
| 3.4 | Заключение к главе 3 | 87 |
| 4 | Компьютерное моделирование роста эпидермиса линейной листовой пластинки | 89 |
| 4.1 | Биологические предпосылки и назначение модели | 89 |
| 4.1.1 | Объект моделирования | 89 |
| 4.1.2 | Зоны роста и кинетика роста листа пшеницы | 90 |
| 4.1.3 | Механика и кинетика роста растительной клетки | 92 |
| 4.1.4 | Симпластный рост растительной ткани и проблема ко- ординации роста клеток | 95 |
| 4.1.5 | Назначение клеточно-ориентированной модели роста листа | 96 |
| 4.2 | Математическое описание модели | 97 |
| 4.2.1 | Логика построения модели симпластного роста и ос- новные блоки модели | 97 |
| 4.2.2 | Модель биомеханики автономного роста растительной клетки | 98 |
| 4.2.3 | Геометрическая модель линейной листовой пластинки и механика симпластного роста клеток | 104 |
| 4.2.4 | Формализация модели симпластного роста в виде dL- системы | 107 |
| 4.3 | Вычислительные эксперименты, результаты и обсуждение | 108 |
| 4.3.1 | План вычислительных экспериментов | 108 |
| 4.3.2 | Исследование роста одиночной клетки | 109 |
| 4.3.3 | Исследование влияния симпластного роста на механи- ку клеток в линейной листовой пластинке | 117 |
| 4.3.4 | Моделирование роста эпидермиса листа пшеницы | 123 |
| 4.4 | Исследование чувствительности видимой длины клеток к па- раметрам модели | 126 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.4.1 | Методы теории сопряжённых уравнений для исследования чувствительности | 126 |
| 4.4.2 | Исследование чувствительности видимой длины свободно растущей клетки к механическим параметрам . | 127 |
| 4.4.3 | Исследование чувствительности видимой длины клетки при симпластном росте в составе ткани | 130 |
| 4.5 | Заключение к главе 4 | 136 |
| 5 | Компьютерное моделирование формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе пшеницы | 139 |
| 5.1 | Биологические предпосылки модели | 139 |
| 5.1.1 | Пространственный паттерн клеток-трихом на листе пшеницы | 139 |
| 5.1.2 | Структура зоны роста и закладка трихом | 140 |
| 5.1.3 | Формирование пространственного паттерна клеток-трихом на основе механизма латерального ингибирования | 142 |
| 5.2 | Математическое описание модели | 144 |
| 5.2.1 | Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом в одном продольном ряду | 144 |
| 5.2.2 | Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе с учётом биомеханики роста . | 147 |
| 5.3 | Результаты вычислительных экспериментов | 150 |
| 5.3.1 | Исследование закономерностей формирования паттерна клеток-трихом в одном продольном ряду | 150 |
| 5.3.2 | Исследование закономерностей формирования паттерна клеток-трихом на листе | 157 |
| 5.4 | Заключение к главе 5 | 159 |
| | Заключение | 160 |

| | |
|-------------------|-----|
| Выводы | 162 |
| Список литературы | 164 |

Введение

Актуальность работы. Одной из фундаментальных задач современной биологии является изучение регуляции формообразования (морфодинамики) в процессе роста организма [42]. 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 [82, 114, 55]. 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 [155]. 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 [5, 6, 43, 202].

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 (например, Virtual Laboratory и L-studio [146], OpenAlea [142], VirtualLeaf [114], CellModeller [55]), 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 [21, 205]. 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 [184]. С другой стороны, известно, что механические напряжения и деформации, возникающие в процессе роста, сами могут быть регуляторами генной активности, и тем самым регулировать рост [161]. 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 однонаправленного симпластного роста растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток.
2. Изучение методами компьютерного моделирования устойчивости системы регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса к возмущениям, вызываемым изменением пространственной структуры клеток.
3. Построение модели и изучение закономерностей однонаправленного симпластного роста эпидермального слоя линейного листа с учётом механики клеток методами компьютерного моделирования.
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 стволовых 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 полупро-

нищаемой 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 формообразования 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 ствольных 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 (AMCA 2015, г. Новосибирск).

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы. В первой главе содержится обзор литературы по современным представлениям о структуре и росте растительной ткани, механизмах формирования и поддержания ниш стволовых клеток, а также по современным подходам к моделированию морфодинамики растительных тканей. В главе 2 описывается методика моделирования и структура разработанного пакета «Морфодинамика Растительных Тканей». Глава 3 содержит описание модели и обсуждение результатов моделирования структуры ниши стволовых клеток в апикаль-

ной меристеме растущего побега растения. Глава 4 содержит описание модели и обсуждение результатов моделирования симпластного однонаправленного роста эпидермиса линейной листовой пластинки. В главе 5 приводится описание модели и обсуждение результатов моделирования формирования пространственного паттерна трихом на листе пшеницы. В заключении обсуждаются и обобщаются основные результаты исследования. Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста, содержит 60 рисунков и 5 таблиц. Список литературы включает 205 ссылок.

Личный вклад автора. Основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно: построены компьютерные модели и проанализированы результаты вычислительных экспериментов. Программа для расчёта модели симпластного роста листа пшеницы была разработана А.В. Пененко при участии автора диссертации. Изображения листа пшеницы, использованные для получения экспериментальных данных для модели формирования паттерна трихом, были получены А.В. Дорошковым и обработаны автором диссертации.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.б.н. С.В. Николаеву, а также руководителю аспирантуры академику Н.А. Колчанову. Автор благодарит д.т.н. О.Л. Бандман и к.б.н. Т.А. Пшеничникову за полезные критические замечания на стадии подготовки рукописи диссертации. Автор благодарит к.ф.-м.н. А.В. Пененко за поддержку в области анализа моделей и программирования и к.б.н. А.В. Дорошкова за помощь в получении экспериментальных данных для модели. Автор выражает искреннюю благодарность Н.Л. Подколюдному и Д.А. Афонникову за консультации и плодотворные научные дискуссии и всем сотрудникам Отдела системной биологии ИЦиГ СО РАН, кто так или иначе повлиял на данную работу.

Список работ автора 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.

1. Обзор литературы

В первой части обзора литературы приведена информация об объекте исследования — меристемах растений, — образовательных тканях, которые обладают способностью к активному росту за счет деления и образования новых клеток и формируют, таким образом, все ткани растения. Для того чтобы моделировать процессы роста ткани, состоящей из разных типов делящихся и неделящихся клеток, в результате чего изменяется клеточная структура 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.

1.1. Меристемы растений как объект для изучения морфодинамики

1.1.1. Меристематические ткани растений

Развиваясь, любой живой организм многократно и закономерно изменяет свою форму. В физиологии растений изучение роста особенно важно, так как постоянный рост — необходимое условие функционирования растений [2]. Клеточная структура растительной ткани закладывается в меристеме. Таким образом, меристемы растений являются не только «точкой роста» растительной ткани, так как именно здесь закладывается будущий клеточный паттерн, но и «точкой роста» новых научных знаний о механизмах реализации генетической информации в ходе онтогенеза.

Выделяют четыре вида меристем:

1. Верхушечные (апикальные) меристемы обеспечивают рост побегов и корней в длину.
2. Боковые (латеральные) меристемы обуславливают нарастание стеблей и корней в толщину и называются камбием.
3. Вставочные (интеркалярные) меристемы временно сохраняются в междоузлиях стебля и в основаниях молодых листьев, обеспечивая рост этих участков, но затем превращаются в постоянные ткани.
4. Раневые (травматические) меристемы возникают в местах повреждения растения, где образуют защитный каллус.

Дифференцированные клетки составляют основную часть клеток взрослого организма. Такие клетки, как правило, не делятся и являются специализированными для выполнения определенной функции в составе определенной ткани и/или органа. Но и во взрослом организме существуют клетки, которые не дифференцированы, хотя могут быть «преддетерминированы», т.е. судьба их в какой-то степени predetermined в том смысле, что они могут стать клетками определенного типа или некоторого ограниченного множества типов [31, 26, 27, 44, 51, 101]. Эти клетки, называемые стволовыми, продолжают с определенной (как правило, низкой) скоростью делиться. Стволовые клетки имеют большое значение для жизни взрослого организма. В тканях животных (рис. 1.1 Б) они являются источником клеток для постоянно обновляющихся тканей, а у растений (рис. 1.1 А) стволовые клетки апикальных меристем побега и корня обеспечивают рост растения на протяжении всей его жизни [165, 56, 39, 51].

По современным представлениям в процессе развития в ткани возникают «островки» возобновительной ткани, которые, как правило, имеют следующую структуру: в центре зоны находится одна или несколько стволовых клеток, которые делятся и создают пул переходных делящихся клеток (transit amplifying cells) [49]. Переходные клетки делятся гораздо

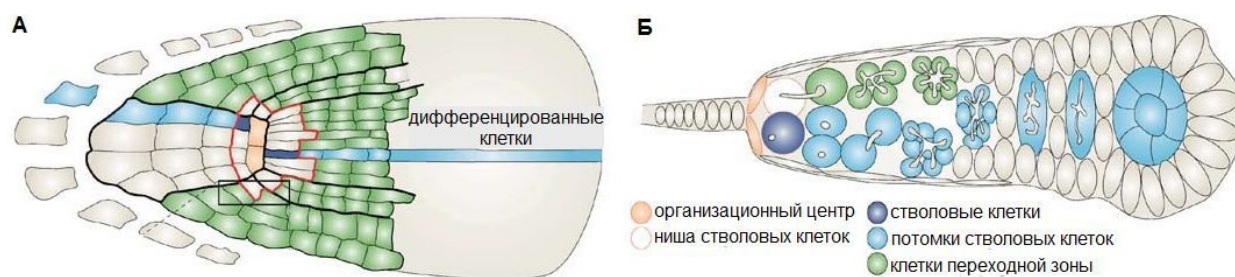


Рис. 1.1. Ниши стволовых клеток в растительных и животных организмах. **А.** Ниша стволовых клеток в корне *Arabidopsis thaliana*, **Б.** ниша стволовых клеток в яичнике *Drosophila melanogaster* (рисунок переработан из статьи [165]).

быстрее стволовых клеток и создают основную клеточную массу для возобновительного процесса. Когда переходные клетки выходят из возобновительной зоны ткани, они дифференцируются в клетки ткани и прекращают делиться. Такая структура возобновительной зоны формирует «нишу» для поддержания стволовых клеток и длительное время сохраняется в ткани [15, 136]. Размеры возобновительной зоны должны регулироваться в зависимости от потребностей организма, поскольку поток клеток из возобновительной зоны зависит от ее размеров. Нарушение регуляции (например, в возобновительных зонах эпидермиса) может являться причиной патологических новообразований [83, 87, 179].

Изолированные стволовые клетки не способны долго поддерживать свою популяцию и быстро дифференцируются. За редкими исключениями, исследователям до сих пор не удается длительно поддерживать пул стволовых клеток в полностью искусственной среде. Наибольший прогресс в этой проблеме был сделан при регенерации растений, а именно табака. В используемых для поддержания стволового состояния клеток средах присутствует огромное количество разнообразных химических соединений. Для поддержания стволовых клеток животных, помимо питательных и активных веществ, используют так называемый питательный слой, состоящий из фибробластов (стволовые клетки соединительной ткани) мыши

[166]. Существующая проблема привела к формированию новой концепции в биологии — концепции ниши стволовых клеток. Стволовая клетка до тех пор может оставаться стволовой пока сохраняется ее специфическое микроокружение. Стволовые клетки, их микроокружение и клетки, которые генерируют и поддерживают это микроокружение, называются нишей стволовых клеток. В нише происходят процессы регуляции пролиферации и дифференцировки стволовых клеток, что позволяет с одной стороны поддерживать относительный покой и постоянство количества стволовых клеток, а с другой постоянно пополнять пул дифференцирующихся клеток в ткани [25, 28, 38, 156]. У растений нишами стволовых клеток являются меристемы: апикальные меристемы корня и побега (Рис. 1.2), [50, 35, 39, 40, 53, 63, 72, 76, 106, 168, 182, 183, 196, 205, 177].

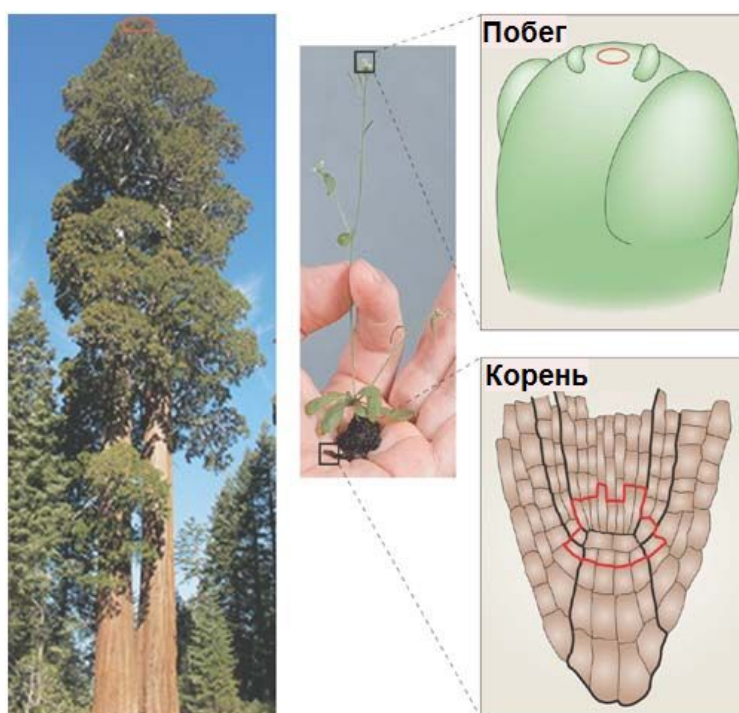


Рис. 1.2. Ниши стволовых клеток у растений. Слева — *Sequoia sempervirens*, в центре — *Arabidopsis thaliana*, справа — ниши стволовых клеток (выделены красной линией) апикальной меристемы побега и корня (рисунок переработан из статьи [165]).

В данной работе механизмы морфодинамики изучались на примере

апикальной меристемы побега и интеркалярной (вставочной) меристемы, расположенной в основании листа однодольного растения.

Апикальная меристема побега

Все наземные органы взрослого растения формируются из апикальной меристемы побега (АМП), находящейся на кончике каждого вегетативного побега. АМП является одной из важнейших структур для роста и развития, т.к. именно здесь находится ниша стволовых клеток, дающих начало всем клеткам наземной части растения [174].

Несмотря на то, что АМП имеет небольшие размеры, её структура достаточно сложна и отличается у растений из разных таксонов [1]. В структуре АМП выделяют зоны и области клеток, отличающихся по своим свойствам и функциям [126], маркированных экспрессией различных генов и находящихся в определенном пространственном расположении друг относительно друга на протяжении всей жизни растения [32, 35, 183]. В АМП арабидопсиса выделяют следующие зоны [72, 103, 106]: центральная (ЦЗ), периферическая (ПЗ), риб зона (РЗ), зона листовых примордиев (ЛП), а также организационный центр (ОЦ). В ЦЗ содержится запас стволовых клеток, которые в процессе деления вытесняются в ПЗ и РЗ, клетки в этой зоне характеризуются низкими темпами деления. ПЗ является переходной зоной, клетки здесь делятся быстрее, в дальнейшем клетки из ПЗ переходят в ЛП, РЗ или зону между зачатками листьев. Как и ПЗ, ОЦ также является переходной зоной, она лежит непосредственно под ЦЗ и имеет важную функцию в поддержании ее размеров. Клетки, вытесненные из ОЦ, переходят в РЗ, где образуют сосудистую систему и паренхиму стебля.

Помимо этих зон в структуре АМП арабидопсиса также выделяют три слоя L1 (эпидермис), L2 (субэпидермис) и L3 (кортекс). Клетки слоёв L1 и L2, которые также называют туникой, делятся в основном антиклинно,

обеспечивая поверхностный рост организма. Клетки L3 не имеют определенного направления деления и тем самым обеспечивают объемный рост организма. Рост и деление клеток приводят к потоку клеток из ЦЗ в ПЗ и ОЦ, и далее по корпусу АМП. Однако, несмотря на такой поток клеток, положения зон относительно верхушки АМП остаются постоянными. В результате гистоморфологического и клонального анализов было выяснено, что стволовые клетки расположены в трёх верхних слоях АМП (L1, L2, L3), концентрируясь вокруг её центральной оси [103, 72, 106].

К настоящему времени у арабидопсиса выявлен ряд генов, мутации которых приводят к изменению структуры АМП и ниши стволовых клеток в ней. Так, характерной особенностью клеток ЦЗ является экспрессия гена *CLV3*, а в клетках ОЦ наблюдается экспрессия гена *WUS* [200]. В клетках ОЦ и его ближайшего окружения наблюдается экспрессия генов *CLV1* и *CLV2*, продуктами которых являются субъединицы гетеродимерного рецепторного комплекса *CLV1/CLV2*, локализованного на клеточной мембране [168, 196]. Показано, что образующийся в результате процессинга белка *CLV3* короткий пептид выходит из клетки, связывается с *CLV1/CLV2* в клетках вокруг ОЦ, и подавляет в этих клетках экспрессию гена *WUS* [168, 129, 154, 106]. Связывание пептида *CLV3* с *CLV1/2* в клетках, окружающих ОЦ, приводит к снижению его поступления в клетки ОЦ, в результате чего в норме в клетках ОЦ наблюдается экспрессия гена *WUS* [106]. Белок *WUS* перемещается в клетки ЦЗ и активирует в них экспрессию гена *CLV3* посредством прямого контроля транскрипции [201].

Интеркалярная меристема линейного листа

Длинные узкие вложенные друг в друга листья злаков разделены на листовые пластинки (leaf blade) и влагалища (leaf sheath) — основания листа, которые охватывают стебель и при этом защищают меристематическую ткань следующего листа (рис. 1.3). На границе между листовой пла-



Рис. 1.3. Схема строения листа однодольного растения на примере классического культурного риса сорта *Nipponbare* (рисунок переработан с сайта Gramene (<http://gramene.org>)).

стинкой и влагалищем находится листовая воротничок (leaf collar). Морфологические особенности воротничка используются ботаниками как признак для классификации видов злаков. Клональный анализ показывает, что зачаток листа (примордий) возникает из трёх клеточных слоёв и состоит примерно из 100 клеток (для табака [137], кукурузы [138] и хлопка [52]). Вскоре после закладки листа закладывается «воротничок» — меристема разделяется на верхнюю и нижнюю, — появляется листовая пластинка и листовое влагалище.

Рост листа происходит за счёт деления клеток базальной интеркалярной меристемы [96]. Зачаток листа образуется внутри влагалища предыдущего, более старшего, листа (рис. 1.4). По мере роста зачатка его интеркалярная меристема разделяется на верхнюю и нижнюю интеркалярные меристемы. Нижняя меристема образует клетки для листового влагалища, а верхняя меристема — для листовой пластинки. Верхняя меристема в конечном итоге дифференцируется в листовую воротничок — место соединения листового влагалища и листовой пластинки.

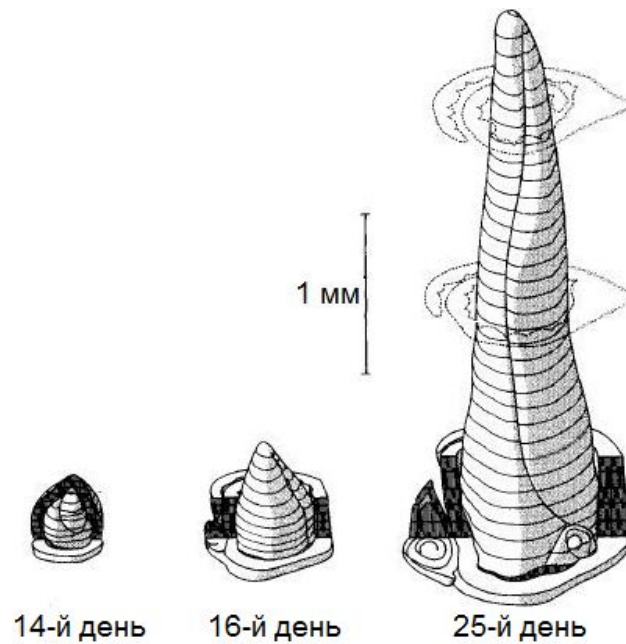


Рис. 1.4. Стадии развития зачатка листа пшеницы (рисунок из книги [197]).

Процесс развития листьев варьируется в зависимости от вида растения. У однодольных растений рост и деление клеток во время развития листа, как правило, происходит преимущественно в одном направлении. Клональный анализ показывает, что потомки одной клетки расположены в одном ряду параллельно центральной жилке [138], так что все клетки ряда имеют общего предка в меристеме. Зона активного роста тканей листа находится у его основания на расстоянии от 2 до 8 см от точки прикрепления листа к стеблю (данные для плевела [167], пшеницы [23] и кукурузы [24]), причём собственно деление клеток происходит лишь на небольшом участке (от 5 до 25 мм для пшеницы и кукурузы [23, 24]). Кроме собственно меристемы, где происходит деление клеток, зона роста содержит зону, в которой клетки быстро растут за счёт растяжения. На листе кукурузы показано [123], что переход между зоной роста делением и зоной роста растяжением определяется распределением концентраций фитогормонов (рис. 1.5).

В листьях однодольных широко используются кинетические методики для изучения вопросов о координации деления и растяжения клеток в

ответ на факторы окружающей среды [23, 112]. В итоге было показано, что (1) производство клеток в листовой меристеме имеет решающее значение в объяснении количественных различий в темпах роста как за счет генетической изменчивости, так и экологических факторов, (2) существует возможность оценки параметров деления клеток в неповрежденных меристемах листьев для разных видов однодольных; (3) для понимания механизмов роста важно интегрировать данные о растяжении клеток с данными о делении клеток и данными о параметрах клеточного цикла.

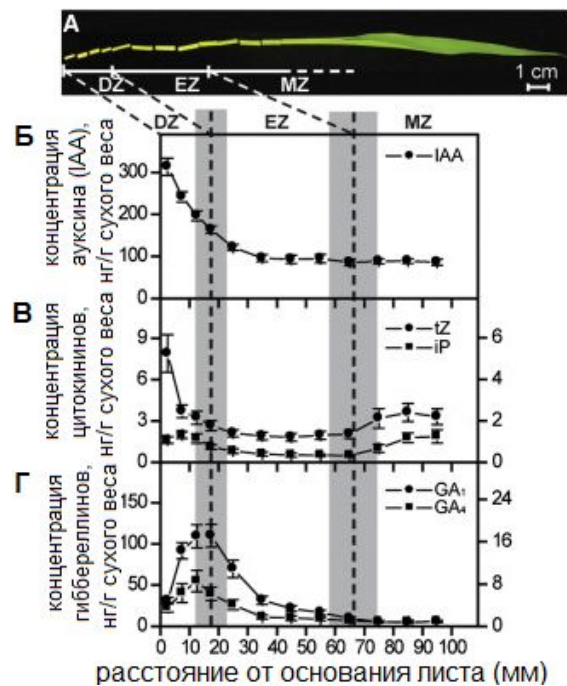


Рис. 1.5. Распределение концентраций фитогормонов вдоль листа кукурузы. Пунктиром обозначены границы между зонами роста делением (DZ) и растяжением (EZ) и зоной зрелых клеток (MZ). А. Лист кукурузы, Б-Г распределение концентраций фитогормонов (рисунок из работы [123]).

1.1.2. Формирование пространственного паттерна клеток эпидермиса листа

Эпидермис листа пшеницы состоит из разных типов клеток [22]. Ряды клеток разных типов (рис. 1.6) образуют регулярный паттерн, который

тесно связан с расположением жилок в мезофилле. Между двумя соседними жилками, как правило, расположены два ряда с устьицами, которые состоят из устьичных комплексов (замыкающие клетки и связанные с ними вспомогательные клетки, отмечены символом *st*), перемежающиеся с межустыичными клетками (отмечены символом *i*). Рядом с этими рядами расположены ряды более широких «сестринских клеток» (отмечены символом *s*) которые называются так потому, что они являются дочерними от одних и тех же «материнских клеток», что и вспомогательные клетки устьиц. Два внутренних ряда сестринских клеток, расположенные между двумя соседними рядами устьиц, разделены несколькими рядами неспециализированных, длинных и узких «вытянутых» клеток (отмечены символом *e*). Один-два ряда клеток, расположенные над жилкой состоят из склеренхимных клеток. Клетки-трихомы (отмечены символом *t*) могут быть расположены в рядах сестринских клеток и/или в рядах вытянутых клеток.

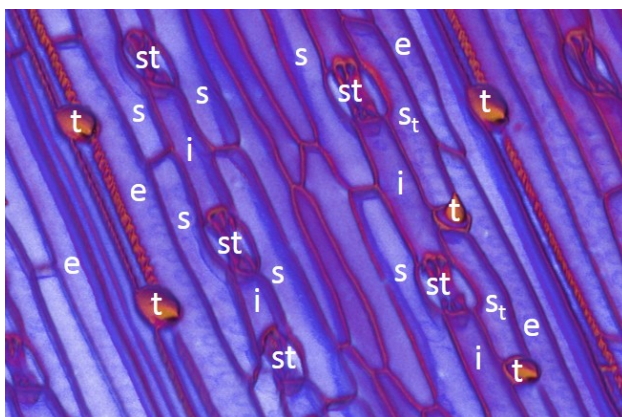


Рис. 1.6. Строение эпидермиса листа пшеницы (сорт Родина). Символы означают разные типы клеток: *e* — длинные неспециализированные клетки, *st* — устьица, *i* — межустыичные клетки, *s* — сестринские клетки, *t* — клетки-трихомы. Индекс *t* используется для клеток, ассоциированных с трихомами (изображение получено А.В. Дорошковым, и обработано автором диссертации в системе Avizo).

Трихомы — клетки эпидермиса, образующие опушение на поверхностных органах растений (рис. 1.7, 1.8). Морфология трихом разнообразна:

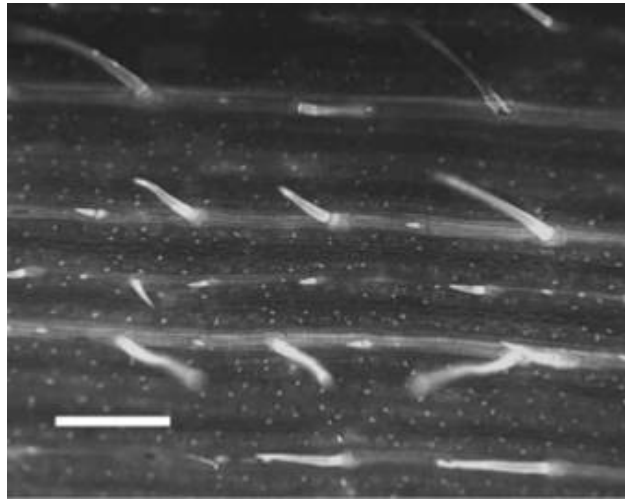


Рис. 1.7. Паттерн клеток-трихом на листе пшеницы. Флуоресцентная микрофотография поверхности листа пшеницы, масштаб 500 мкм (рисунок из статьи [66])

встречаются одноклеточные и многоклеточные волоски, ветвистые и простые, одревесневшие и живые (физиологически активные) [9]. Трихомы пшеницы представляют собой неразветвлённые одноклеточные выросты (рис. 1.7). Их размер составляет от нескольких микрометров до миллиметров в длину. Трихомы помогают в защите от вредителей (например показано, что насекомые задерживаются трихомами бобовых [181]), влияют на формирование микроклимата вблизи поверхности листовой пластинки. В работе [204] выдвинуто предположение о том, что трихомы функционируют как части биомеханической системы растений и служат в качестве дополнительного резервуара гидростатического давления.

Изучение механизма формирования паттерна клеток-трихом представляет большой интерес с точки зрения оценки вклада генетических и структурных факторов в процессы морфогенеза [203]. В настоящее время генетические основы механизма формирования опушения листа пшеницы изучены слабо [54]. Однако некоторые общие закономерности морфогенеза трихом являются общими для растений разных видов. На основе наблюдений за фенотипическими проявлениями мутаций клеток-трихом

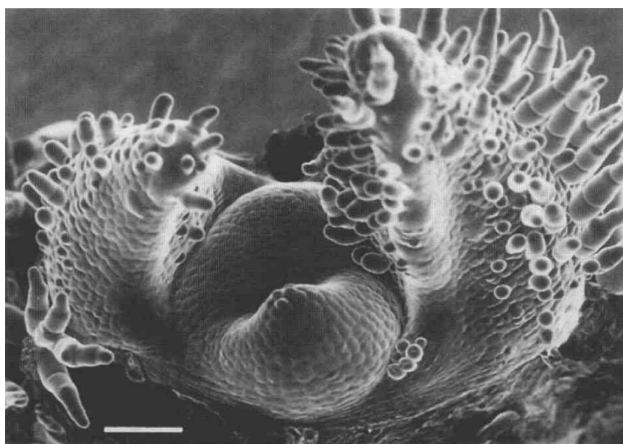


Рис. 1.8. Апикальная меристема побега табака с четырьмя зачатками листьев (изображение сканирующего электронного микроскопа, масштаб 100 мкм). На изображении хорошо видны трихомы, которые развиваются на поверхности молодых зачатков листьев ещё до начала формирования собственно листовой пластинки (рисунок из статьи [139])

на листе арабидопсиса была построена концептуальная схема отношений между некоторыми генами [163]. В частности было показано, что в регуляции инициации трихом в ключевую роль играет инициаторный комплекс, состоящий из белков TTG1 (TRANSPARENT TESTA GLABRA1), GL1 (GLABRA1) и GL3 (GLABRA3). Этот комплекс вызывает наработку белка GL2 (GLABRA2), запускающего каскад генов, вызывающих развитие трихомы в той клетке, в которой они экспрессируются. Также, одновременно с этим происходит запуск генов *TRY* (*TRIPTYCHON*), *TCL1* (*TRICHOMLESS1*), *TCL2* (*TRICHOMLESS2*), *ETC2*, осуществляющих ингибирование наработки белка GL2. Продукты этих генов способны транспортироваться в соседние клетки, ингибируя в них образование в них трихом. Таким образом, реализуется механизм латерального ингибирования, обеспечивающий равномерное распределение трихом по эпидермису с определённой плотностью [104].

С другой стороны благодаря своему расположению клетки-трихомы удобны для наблюдения. В то же время разработаны эффективные тех-

нологии морфометрии этих клеток [66], что позволяет оценивать их количественные морфометрические параметры и использовать эти данные для верификации компьютерных моделей.

1.1.3. Механические аспекты роста растительных клеток и тканей

Координированный рост и пролиферация клеток, как основа роста и формообразования ткани, является предметом интенсивных исследований [93, 37, 158, 57]. В частности, показано, что механические напряжения и деформации, возникающие за счет неравномерного роста разных областей ткани, могут быть регуляторными сигналами для дифференциальной активности генов, и влияют на рост, пролиферацию и дифференцировку клеток [186, 124, 175, 88, 58].

Рост и пролиферация клеток в растительной ткани изучаются экспериментально и теоретически [187, 91]. Для моделирования роста ткани используются модификации модели Хонды, в которой морфодинамика ткани моделируется движением вершин многоугольников в потенциале обобщенных сил, включающих механические напряжения границ клеток, их объемов, и других параметров [82, 114, 77]. В работах с использованием таких моделей, например, показано, что механические напряжения в ткани влияют на потоки ауксинов [77, 122]. В свою очередь, в ряде работ показано, что диффузионные потоки морфогенов могут так регулировать рост и пролиферацию клеток, что при определенном соотношении параметров поддерживаются пространственные паттерны концентраций морфогенов, необходимые для функционирования ткани [43, 202, 7]. Однако вопрос о контурах регуляции роста клеток в ткани остается предметом исследований [16]. Не ясно, например, как клетка должна регулировать свой рост в зависимости от механического напряжения в том месте ткани, где данная клетка находится.

Характерной особенностью растительной ткани является симпластный рост [143], при котором клетки не сдвигаются друг относительно друга, и топология ткани изменяется только в результате деления клеток. На тканевом уровне механические напряжения возникает как следствие коллективного «поведения» клеток во время роста ткани [184, 161]. Поскольку клеточные стенки всех клеток в ткани склеены между собой, различные скорости и/или направления роста нескольких соседних клеток или соседних слоев клеток могут вызывать сильные механические напряжения, которые при отсутствии локальной координации роста клеток могут привести даже к разрушению ткани или остановке роста органа [111, 188]. Ещё в XIX веке было отмечено, что механические напряжения в ткани возникают из-за различия в скорости роста между соседними клетками. Немецкий ботаник Грегор Краус, вырезав кусочек стебля подсолнечника, заметил, что внутренние ткани стебля продолжали увеличиваться, а внешние, наоборот, сократились, что свидетельствует о том, что эпидермальный слой, как правило, находится в растянутом состоянии [102]. На протяжении последующих лет было проведён ряд экспериментов, показавших, что биомеханика является важным аспектом в регуляции морфогенеза растений [169, 29]. Однако этот вопрос всё ещё не решён до конца, в частности, из-за сложности экспериментальных методов измерения механических параметров роста клеток и тканей [189]. В настоящее время вопрос о биофизической регуляции морфогенеза растений находит отражение в ряде междисциплинарных исследований, задача которых прояснить, каким образом механические силы, вызванные ростовыми процессами, могут влиять на конкретные аспекты развития растений. Эти исследования также дают представление о том, каким образом биомеханика связана с биохимической регуляцией [12]. Наибольший интерес исследователей вызывают эксперименты, которые позволяют явно показать, что морфогенез является результатом взаимодействия между биофизическими и биохимическими сигналами [184]. Характерным примером является формирование филло-

таксиса [125].

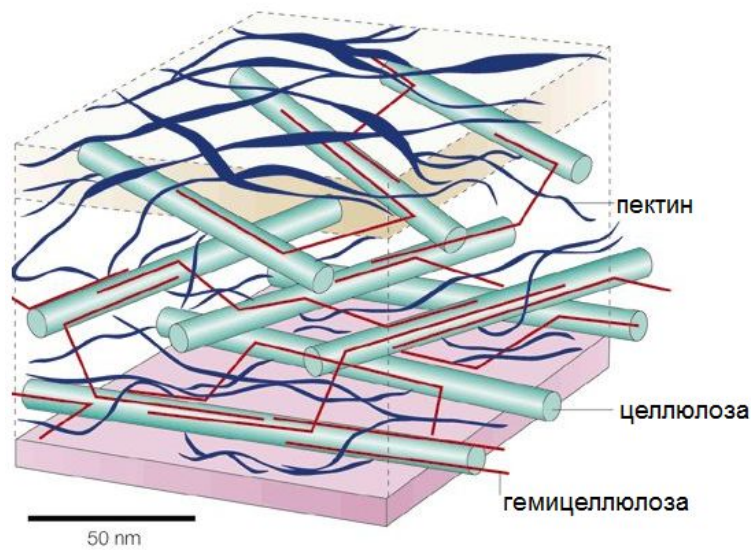


Рис. 1.9. Схема строения растительной клеточной стенки (рисунок из статьи [176]).

Для того, чтобы понять, какова роль биомеханики в развитии растения, в первую очередь нужно сказать об основных свойствах растительной клетки. Клеточная стенка растительной клетки сохраняет её форму, придаёт прочность и защищает протопласт — содержимое клетки. У некоторых растений клеточные стенки способны к одревеснению, образуя своеобразный скелет растения, выполняющий опорную функцию. Основу клеточной стенки составляют высокополимерные углеводы, молекулы целлюлозы собраны в сложные пучки (фибриллы), образующие каркас клеточной оболочки (рис. 1.9). Поэтому анизотропия микрофибрилла (микроволокон) является главным фактором определяющим направление роста [41]. Этот каркас погружён в матрикс, который состоит из гемицеллюлозы и пектинов. Увеличение размеров растительной клетки является результатом противодействия между тургорным давлением внутри клетки и жёсткой, но деформируемой клеточной стенкой. Тургорное давление в клетке может в десять раз превышать атмосферное, вызывая сильное механическое напряжение в клеточной стенке. Рост клеточной стенки происходит, когда

механическое напряжение превышает определённый порог в результате чего элементы матрикса разрушаются и стенка увеличивается (пластическая деформация) за счёт постоянного синтеза и вставок нового материала клеточной стенки. Ориентация новых целлюлозных волокон находится под контролем цитоскелета, и экспериментально показано, что микротрубочки непосредственно участвуют в процессе синтеза целлюлозы [135, 75]. Скорость роста клеточной стенки зависит от уровня порога, выше которого начинается пластическая деформация, а также от динамики процесса разрушения / вставки элементов клеточной стенки [17]. Такая перестройка клеточного матрикса является результатом интенсивной и регулируемой молекулярной работы многочисленных энзимов, которые кодируются большим семейством генов.

Таким образом, клеточная стенка играет центральную роль в контроле паттернов роста, потому что она интегрирует и механический и генетический фактор контроля морфогенеза. Основными источниками экспериментальных данных о механических свойствах клеточной стенки в настоящее время служат методы обработки изображений, позволяющие измерять параметры роста клеток, и методы исследования эластичности клеточной стенки с применением атомно-силового микроскопа [47, 192, 117, 60]. В связи со сложностью технологий, позволяющих проводить измерения биомеханических параметров *in planta*, большую роль в изучении вопроса о влиянии механики на развитие растений играют теоретические исследования и моделирование.

Биофизические уравнения, описывающие механику клеточной стенки и рост растяжением

Модель Локхарта.

Рост клеток водорослей, грибов и растений (т.е. тех, у которых есть клеточная стенка) является результатом взаимодействия биохимических и

биофизических процессов [130]. С физической точки зрения рост клеток всех эти эволюционно далёких друг от друга организмов можно рассматривать единым образом, как постоянное увеличение объема клеток. Клеточная стенка должна увеличивать площадь поверхности, A_{cw} , и объем, V_{cw} ($V_{cw} = A_{cw} \cdot \tau_{cw}$, где τ_{cw} — толщина клеточной стенки), так как объем камеры, окруженный клеточной стенкой, V_{cwc} , должен быть равным объему содержимого клетки, V_{cc} , которое находится внутри клеточной камеры. Хотя V_{cw} не обязательно меняется с той же скоростью, как A_{cw} на различных этапах развития клетки [48], в большинстве случаев зависимость между этими параметрами линейная.

В процессе роста скорость изменения объёма содержимого клетки примерно совпадает со скоростью изменения объёма воды, т.е. $\frac{dV_{cc}}{dt} \approx \frac{dV_w}{dt}$. Синтез и накопление осмотиков внутри клеточной мембраны вызывает *осмотическое давление*, которое заставляет воду поступать из внеклеточной среды внутрь клетки. Движущая сила для потока воды обычно вычисляется как разность между осмотическим давлением внутри клетки (π_i) и осмотическим давлением вне клетки (π_o), т.е. $\Delta\pi = \pi_i - \pi_o$. Поток воды увеличивает объём содержимого клетки и объём клеточной камеры. Из-за того, что клеточная стенка сопротивляется растяжению (т.е., растягивается упруго), увеличение объёма содержимого клетки ведёт к увеличению внутреннего гидростатического давления (P_i). Как только P_i становится больше внешнего давления (P_o), вода начинает выходить из клетки. Величина $P = P_i - P_o$ называется *тургорным давлением*. Результирующее поступление воды в клетку есть разница между потоком внутрь клетки (пропорциональным $\Delta\pi$) и потоком наружу (пропорциональным P), т.е., пропорционально $\Delta\pi - P$. Тургорное давление P вызывает напряжение в клеточной стенке. В ответ на это напряжение клеточная стенка растягивается (деформируется) и увеличивает площадь поверхности. В результате добавления нового материала в клеточную стенку изменяется её толщина, τ_{cw} , и увеличивается объём V_{cw} . Механическое поведение клеточной стенки

(ее деформация) зависит от её механических свойств и «биологического состояния», которое определяется экспрессией генов, ответственных за перестройку клеточной стенки.

Уравнения, связывающие рост растительных клеток со скоростью поглощения воды и ростом клеточной стенки, впервые были опубликованы в работе Локхарта [110]:

$$\frac{1}{V_w} \frac{dV_w}{dt} = L_{pr}(\Delta\pi - P), \quad (1.1)$$

$$\frac{1}{V_{cwc}} \frac{dV_{cwc}}{dt} = \phi(P - P_c), \quad (1.2)$$

$$P = \frac{L_{pr}\Delta\pi + \phi P_c}{\phi - L_{pr}}, \quad (1.3)$$

Уравнение 1.1 связывает относительную скорость изменения объёма воды в клетке со скоростью поглощения воды, здесь $L_{pr} = L_p A_m / V_w$ — относительная гидравлическая проводимость. Уравнение 1.2 связывает относительную скорость изменения объёма клеточной камеры и скорость (необратимого) пластического растяжения клеточной стенки (собственно рост), здесь ϕ — коэффициент растяжимости клеточной стенки, P_c — Пороговое значение тургорного давления, при котором начинается рост. Последнее соотношение 1.3 определяет тургорное давление, когда рост объёма содержимого клетки за счет поступления воды равен росту клеточной камеры за счет её пластического растяжения.

Модель Ортеги.

Уравнения роста (1.1) – (1.3) описывают рост клетки при постоянном тургорном давлении. Для того чтобы моделировать рост в более общем случае уравнения Локхарта были дополнены слагаемыми, учитывающими изменяющееся тургорное давление (в результате обратимой упругой деформации) и транспирацию:

$$\frac{1}{V_{cwc}} \frac{dV_{cwc}}{dt} = \phi(P - P_c) + \frac{1}{\epsilon} \frac{dP}{dt}, \quad (1.4)$$

$$\frac{1}{V_w} \frac{dV_w}{dt} = L_{pr}(\Delta\pi - P) - \frac{1}{V_w} \left(\frac{dT}{dt} \right)_w, \quad (1.5)$$

$$\frac{dP}{dt} = \epsilon \left(L_{pr}(\Delta\pi - P) - \frac{1}{V_w} \left(\frac{dT}{dt} \right)_w - \phi(P - P_c) \right). \quad (1.6)$$

Модель Ортеги [131] (1.4) – (1.6) использовались для анализа и интерпретации экспериментов по росту клеток на коротких временных интервалах (от минут до часов): для клеток водорослей [144, 145], клеток грибов [132] и органов растений [45]. Позднее применение уравнений было расширено до более длинных временных интервалов (дней) [107].

1.2. Компьютерное моделирование морфодинамики растительных тканей

1.2.1. Развивающиеся организмы — динамические системы с динамической структурой

Выяснение механизмов, которые управляют ростом и развитием организмов, является одной из интереснейших задач биологии. Одним из методов изучения этих явлений является построение формализованных моделей явления, которые должны помочь выяснить взаимную согласованность представлений об отдельных процессах, и их соответствие экспериментальным данным. Отличительной чертой изучаемых систем в биологии является изменчивость структуры при условии сохранения определенных обобщенных структурных особенностей — структурных инвариантов. В результате, наряду с динамикой переменных состояния системы требуется моделировать динамику её структуры, что приводит к задачам математического моделирования динамических систем с динамической структурой.

В некотором приближении состояние каждой клетки в ткани можно охарактеризовать уровнем экспрессии определенного набора генов — эти

показатели будут являться переменными состояния каждой клетки и, в целом, ткани. Описание в этих переменных функционирующей во времени ткани, изменяющей свое состояние под воздействием внешних и / или внутренних причин, дает нам пример динамической системы. Естественно представить ткань как систему, структура которой определяется набором клеток-подсистем, между которыми имеются определенные связи (например, потоки сигналов между соседними клетками). В результате роста и деления клеток клеточное строение ткани меняется — меняется соседство клеток, и, следовательно, изменяются потоки сигналов между ними. С абстрактной точки зрения это пример динамической структуры системы. Динамическая структура системы вносит дополнительную сложность при моделировании, так как мы вынуждены учитывать структурные изменения системы в процессе моделирования (и соответственно изменять систему дифференциальных уравнений).

Для моделирования таких систем известно несколько формализмов и их реализаций в виде компьютерных программ, например, различные варианты L-систем [108, 148, 147], стохастические параметризованные грамматики [119], реализованные в пакете Plenum (<http://computableplant.ics.uci.edu/guy/Plenum.html>), клеточная модель Поттса [70], реализованная в пакете CompuCell3D [85] (<http://www.compuCell3d.org/>). Первые два формализма, в отличие от третьего, не имеют заранее определённой пространственной структуры. Основное отличие L-систем от стохастических параметризованных грамматик состоит в том, что в первом формализме состояние системы описывается упорядоченным массивом, а во втором — неупорядоченным.

1.2.2. Формализмы для описания динамических систем с динамической структурой

Л-системы

Системы Линденмайера (Lindenmayer systems), Л-системы, были предложены венгерским биологом Аристидом Линденмайером в 1968 году в работе [108] в качестве формализма для моделирования развития многоклеточных организмов, образующих линейные и ветвящиеся филаменты (то есть очень тонкие нитевидные структуры) [148].

Главная идея Л-систем — *параллельное* переписывание строки из модулей, представляющих структуру растения. Если переписывание каждого модуля происходит независимо от соседних, то такая Л-система называется контекстно-свободной Л-системой и обозначается «0L-система» (0 в этом обозначении показывает, что длина контекста равна нулю), иначе Л-система называется контекстно-зависимой. Для того, чтобы привести определения некоторых классов Л-систем введём следующие обозначения. Пусть A — произвольный алфавит (т.е. множества символов) обозначим A^* — множество всех, в том числе пустых, слов над A (т.е. строк, составленных из символов алфавита), A^+ — множество всех непустых слов над A .

Контекстно-свободной Л-системой (0L-системой) называется упорядоченная тройка $G = \langle A, \omega, P \rangle$, где A — алфавит системы, $\omega \in A^+$ — непустое слово, называемое аксиомой, а $P \in A \times A^*$ — конечное множество правил. Правило $(a, u) \in P$ записывается в виде $a \rightarrow u$. Символ a называется предшественником, u — последователем в этом правиле. Предполагается, что для каждого символа $a \in A$ существует как минимум одно слово, такое что правило $a \rightarrow u$ принадлежит P . Если специальное правило для предшественника a не определено, то предполагается, что множеству P принадлежит тождественное правило $a \rightarrow a$ [148]. Л-система называется *детерминированной* (обозначение D0L-система), если и только если для

каждого $a \in A$ существует в точности одно слово $u \in A^*$, такое что $a \rightarrow u$ принадлежит P , иначе L-система называется *недетерминированной*.

Пусть G — L-система, определённая выше, а $\mu = a_1 \dots a_n$ — слово из n символов a_i алфавита A . Если существуют слова $\chi_1, \dots, \chi_n \in A^*$ такие, что правило $a_i \rightarrow \chi_i \in P$, тогда в L-системе G существует прямой переход $\mu \xrightarrow{G} v$ от слова μ к слову $v = \chi_1, \dots, \chi_n$. Обозначим \xrightarrow{G} рефлексивное и транзитивное замыкание оператора \xrightarrow{G} , тогда язык L-системы G , определяется как множество всех слов, которые можно вывести из аксиомы за конечное множество прямых переходов, и обозначается $L(G) = \left\{ v \in A^* \mid \alpha \xrightarrow{G^*} v \right\}$.

Интерпретация строки, полученной в результате работы L-системы, зависит от биологической задачи. В простейшем случае слово из $L(G)$ может интерпретироваться как линейная последовательность структурных элементов объекта моделирования. Для описания более сложной топологии, например, *ветвящихся структур*, в алфавит L-системы добавляют новые служебные символы: «[» и «]» — для обозначения начала и конца ветви, соответственно, «+» и «-» — для обозначения стороны, с которой новая ветвь крепится к материнской. Ветвь «крепится» к символу, за которым непосредственно следует «[». Ветви могут быть многократно вложены друг в друга: на каждой из ветвей может быть несколько подветвей, которые также имеют свои ответвления и так далее. Сразу заметим, что введённые новые символы не определяют, под каким углом к исходной оси будет располагаться новая ветвь. И конечный результат во многом зависит от того, как мы будем интерпретировать полученную итоговую строку. Можно, например, использовать для интерпретации «черепашью» графику — в этом случае мы будем получать двумерные изображения. Можно ввести другую интерпретацию и сразу после символа начала ветви добавлять значение угла, под которым эта ветвь будет располагаться по отношению к материнской ветви.

Ввиду дискретной природы L-систем, непрерывный рост структурной

единицы моделируемого растения (модуля) в промежутках между применениями правил не описывается моделью, то есть мы получаем картину через определённые временные интервалы. Однако, если формализовать процесс морфодинамики растительной ткани в виде динамической системы с динамической структурой, то мы получим два разные по своей природе процесса: изменение признаков модулей (концентрация веществ, размер и т.п.) и изменение структуры (число и тип модулей). Для моделирования таких систем была разработана модификация, называемая *параметризованной L-системой*: дополнительно с модулем связан вектор параметров, которые вместе с символом, обычно обозначающим тип, характеризуют состояние модуля. Существенной особенностью параметризованной L-системы является то, что правила переписывания цепочки символов, которые моделируют изменение структуры системы (динамическая структура), срабатывают только при выполнении определенных условий на параметры символов (переменные состояния). Параметризованная L-система «работает» на параметризованных словах.

Параметризованное слово — это строка, составленная из модулей, каждый из которых содержит букву и связанные с ней параметры. Буква принадлежит алфавиту A , параметры — множеству \mathbf{R} . Модуль, соответствующий букве $Q \in A$ и параметрам $q_1, q_2, \dots, q_n \in \mathbf{R}$ обозначается $Q(q_1, q_2, \dots, q_n)$. Каждый модуль принадлежит множеству $M = A \times \mathbf{R}^*$, где \mathbf{R}^* — множество всех конечных последовательностей параметров.

Множество всех строк из модулей и множество всех непустых строк обозначаются соответственно $M^* = (A \times \mathbf{R}^*)^*$ и $M^+ = (A \times \mathbf{R}^*)^+$. Вещественнозначные реальные параметры, появляющиеся в словах, связаны с формальными параметрами, используемыми в описании правил L-системы. Пусть Σ — множество формальных параметров, тогда $C(\Sigma)$ — логическое выражение с параметрами из Σ , $E(\Sigma)$ — арифметическое выражение с параметрами из этого же множества. Выражения обоих типов состоят из формальных параметров и числовых констант, соединенных с помощью ариф-

метических операторов $+$, $-$, \times , \div , оператора степени, операторов отношения $<$, $>$, $=$, логических операторов $!$, $\&$, $|$ (не, и, или) и круглых скобок $(,)$.

Параметризованная OL-система — это упорядоченная четвёрка $G = \langle A, \Sigma, \omega, P \rangle$, где A — алфавит системы; Σ — множество формальных параметров; $\omega \in (A \times \mathbf{R}^*)^+$ — непустое параметрическое слово, называемое аксиомой; $P \subset (A \times \Sigma^*) \times C(\Sigma) \times (A \times E(\Sigma))^*$ — конечный набор правил.

В статье [147] вводится математический аппарат для моделирования растений, ключевая концепция которого состоит в интеграции дискретного и непрерывного аспектов поведения модели в единый формализм, называемый дифференциальные L-системы (dL-системы). В данной модели правила L-системы выражают качественное изменение модели (например, деление клетки или появление новой ветви), а дифференциальные уравнения описывают непрерывные процессы (например, рост клетки, диффузию веществ в клеточном ансамбле или постепенное удлинение междоузлий).

Дифференциальные L-системы являются разновидностью параметризованных L-систем. Вместо дискретных шагов вывода вводится непрерывное течение времени. Пока параметр w модуля $B(w)$ остаётся в области определения допустимых значений D_B , модель развивается как непрерывная. Как только значения параметров достигают границы C_B области D_B , правило заменяет модуль $B(w)$ его потомком. Это событие происходит дискретно. Выбор правила может зависеть от того, какой сегмент границы был пересечен (рис. 1.10).

Дифференциальная L-система (dL-система) определяется начальной строкой μ_0 , состоящей из модулей и спецификаций каждого типа модулей, используемых в системе.

Спецификация модуля типа B — это упорядоченная четвёрка $\langle D_B, C_B, f_B, P_B \rangle$, где: открытое множество D_B — область определения допустимых значений параметров модуля типа B ; $C_B = C_{B_1} \cup C_{B_2} \cup \dots \cup C_{B_m}$ — граница D_B , состоящая из непересекающихся сегментов $C_{B_1}, C_{B_2}, \dots, C_{B_m}$;

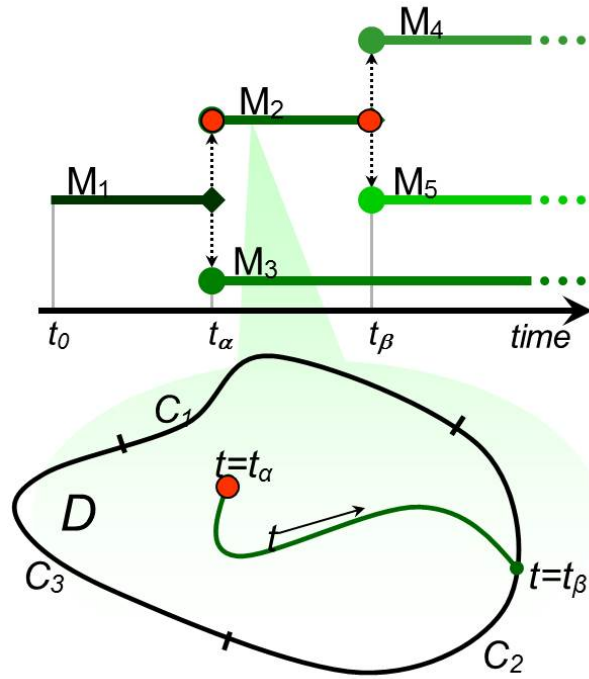


Рис. 1.10. Схематичное изображение процесса функционирования dL-системы (см. пояснение в тексте)

функция f_B определяет систему дифференциальных уравнений, описывающую условия поведения модуля типа B в области допустимых значений параметров D_B ; набор правил $P_B = \{p_{B_1}, p_{B_2}, \dots, p_{B_m}\}$, определяющий дискретное поведение модуля типа B . Правило p_{B_k} применяется, когда параметры модуля M типа B достигают сегмента C_{B_k} границы C_B . В этот момент модуль M исчезает, а вместо него появляются ноль, один или несколько модулей-потомков. Функция $h_{B_{k,j}}$, входящая в состав правила p_{B_k} , определяет начальные значения параметров модулей-последователей (рис. 1.10).

Первоначально L-системы были предложены для описания процессов развития. Однако вскоре они стали использоваться в качестве формальной основы для конструирования программ и языков для моделирования. Для реализации моделей, основанных на L-системах созданы специальные языки программирования и «надстройки» для существующих широко используемых языков программирования, например, на для языка C++ со-

здан язык L+C (L+C modeling language) [95], для языка Java — язык XL (eXtended L-system language) [100], для языка Python — язык L-Py [30]. Возможность использования одной и той же программы на основе L-систем, с разными начальными данными для моделирования разных структур и процессов является одним из ключевых достоинств L-систем в моделировании. Например, в работе [19] L-системы использовались для описания механизма формирования паттерна устьиц на листе. Формализм L-систем настолько универсален, что с успехом используется для разных областей, которые, на первый взгляд, далеки от биологии. Интересна музыкальная интерпретация L-систем, представленная в работе [199].

Стохастические параметризованные грамматики

Стохастические параметризованные грамматики (СПГ) и их обобщения (динамические грамматики) описывают модели, основанные на динамических системах, включая так же модели с динамической структурой, то есть модели, где число объектов и их взаимоотношения друг с другом определяется динамически. Формальное описание этого языка моделирования, основанного на наборе правил вывода приведено в статье [119].

Определение синтаксиса. Рассмотрим правило вывода

$$A_1(x_1), A_2(x_2), \dots, A_n(x_n) \rightarrow B_1(y_1), B_2(y_2), \dots, B_m(y_m) \mathbf{with} \rho(\{x_i\}, \{y_j\}),$$

где A_k и B_l обозначают символы τ_a , которые выбираются из произвольного алфавита «типов» $T = \{\tau_a | a \in A\}$. Кроме того, эти типовые символы содержат выражения для параметров x_i или y_j , принадлежащих базовому языку $L_P(i)$. Символы A и B могут появляться в любом порядке. Различные символы A и B в правиле могут обозначать один и тот же символ алфавита τ_a с эквивалентными или неэквивалентными значениями параметров x_i или y_j . ρ — это неотрицательная функция, записанная с помощью выражений базового языка $L_P(i)$. ρ — это элемент векторного пространства F вещественнозначных функций. Неформально ρ интерпретируется

как неотрицательный вероятностный показатель: независимая вероятность в единицу времени такую, что любая возможная реализация правила работает, если его левая часть остаётся непрерывной в течение небольшого промежутка времени.

СПГ состоит из набора таких правил с общим алфавитом типов T , основанном на множестве пространств D , типа спецификации σ , и языка вероятностной меры L . Необязательные параметры Γ : общий «заголовок правил» ($LHS \rightarrow RHS$ перед каждым конкретным правилом), который определяет какие конкретно термы будут входом и выходом.

Динамические грамматики — это обобщение стохастических параметризованных грамматик. Они включают правила с оператором решения дифференциальные уравнений *solving*. Такие операторы используются для того чтобы включить в динамическую грамматику обыкновенные дифференциальные уравнения, дифференциальные уравнения в частных производных или стохастические дифференциальные уравнения, аналогично дифференциальным L-системам. Их семантика определена в терминах семантики грамматик, содержащих оператор *with*. Таким образом, динамические грамматики могут описывать очень общий класс динамических систем.

Группа учёных под руководством Э. Мйолснесса разработала пакет Plenum для системы Mathematica, в котором реализован интерпретатор для синтаксиса стохастических параметризованных грамматик. Этот пакет использовался в качестве инструмента для реализации модели развития корня [118].

1.2.3. Методы моделирования морфодинамики ткани

Модели динамики вершин

В двумерном случае в рамках модели динамики вершин каждая клетка ткани представляется в виде многоугольника, вершины и рёбра которого

являются общими у двух соседних клеток. При таком представлении ткани между клетками не может быть пустот, поэтому в рамках модели динамики вершин удобно представлять растительную ткань или плотно упакованную эпителиальную ткань животных. Модели динамики вершин берут начало из работ Хонды и соавторов [81], использовавших для построения полигонального разбиения области разбиение Вороного. Морфодинамика ткани моделируется перемещением вершин многоугольников под действием сил, для описания которых предложены разные способы [61, 62]. Сила \mathbf{F}_i , действующая на вершину i с радиус-вектором \mathbf{R}_i , может быть выписана в явном виде (как, например, в работах [194, 193]), либо через обобщённый потенциал энергии E (как, например, в работах [59, 121]):

$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial E}{\partial \mathbf{R}_i} \quad (1.7)$$

Функция энергии может учитывать много факторов, однако чаще всего она учитывает упругую объёмную энергию и поверхностную энергию:

$$E(\mathbf{R}_i) = \sum_{\alpha} K_{\alpha} (A_{\alpha} - A_{\alpha}^0)^2 + \sum_{\langle i,j \rangle} \Lambda_{ij} l_{ij}, \quad (1.8)$$

где A_{α} и A_{α}^0 — текущая и релаксированная площадь клетки α , K_{α} — коэффициент объёмной энергии, l_{ij} — длина ребра между вершинами i и j , Λ_{ij} — коэффициент поверхностной энергии, в первом слагаемом суммирование ведётся по всем клеткам α , которые имеют вершину i ; во втором слагаемом — по всем рёбрам j , которые являются смежными с вершиной i .

Клеточная модель Поттса

Клеточная модель Поттса (Cellular Potts model) [70, 68] — формализм, определённый на пространственной решётке, для изучения морфогенеза биологических тканей на клеточном уровне. Идейно Клеточная модель Поттса происходит от модели Изинга [84], предназначенной для описания процесса намагничивания материала, и от модели Поттса [141], в

рамках которой описывают фазовый переход в ферромагнитных материалах.

Формально эволюция состояния системы в рамках клеточной модели Поттса определяется марковским случайным процессом. Ключевым элементом модели является пространственная решётка, в каждой ячейке x которой записано значение *индекса клетки* — целочисленное значение $\sigma(x)$. Клетки представляют связные множества ячеек решётки с одинаковыми значениями индекса (для ячеек, представляющих внеклеточную среду обычно задают значение индекса равное нулю). Ключевой особенностью клеточной модели Поттса, как и модели Изинга, является алгоритм Метрополиса [116]. На каждом шаге случайно выбирается один из узлов решётки и в нем случайным образом предлагается изменить значение индекса таким образом, чтобы минимизировать гамильтониан функции энергии H , который вычисляется по всей решётке. В оригинальной версии модели [70, 68] гамильтониан H складывается из двух компонент, которые учитывают сжатие клетки и межклеточную адгезию:

$$H = H_v + H_a, \quad (1.9)$$

$$H_v = \sum_{\sigma} \lambda_v (V_{\sigma} - V_{\sigma}^T)^2, \quad (1.10)$$

$$H_a = \sum_{x' \in \epsilon(x)} J(\tau(\sigma(x)), \tau(\sigma(x'))) \cdot (1 - \delta(\sigma(x), \sigma(x'))), \quad (1.11)$$

где V_{σ} и V_{σ}^T — реальный и целевой объёмы клетки, λ_v — коэффициент объёмной энергии, τ — тип клетки, J — функция взаимодействия между клетками разных типов, δ — дельта Кронекера, $\epsilon(x)$ — окрестность ячейки x . Таким образом, слагаемое H_a не равно нулю только для ячеек, которые находятся на межклеточных границах, причём между клетками разных типов. Алгоритм Метрополиса применяется в этой модели следующим образом: случайно выбираются две соседние ячейки x и x' и вычисляется

вероятность изменить значение индекса $\sigma(x')$ в ячейке x' на значение $\sigma(x)$:

$$p(\sigma(x) \rightarrow x') = \begin{cases} 1, & \text{если } \Delta H(\sigma(x) \rightarrow x') < 0 \\ e^{-\frac{\Delta H(\sigma(x) \rightarrow x')}{T}}, & \text{иначе,} \end{cases} \quad (1.12)$$

где параметр T обозначает «температуру», по аналогии с моделью Изинга. Если решётка состоит из N ячеек, то серия из N попыток изменить значение в ячейке составляют один шаг метода Монте-Карло. При компьютерном моделировании реальных морфогенетических процессов число ячеек решётки может быть достаточно большим, поэтому требования к памяти и вычислительные затраты могут быть высокими. Тем не менее, как и для многих алгоритмов, основанных на решётках, модели, построенные на основе клеточной модели Поттса можно эффективно распараллеливать [180].

На основе клеточной модели Поттса разработана система CompuCell3D [180], в которой реализованы компьютерные модели для изучения процессов морфогенеза (например, механизма формирования кровеносных сосудов [115], морфогенеза мочеточника почки [79], морфогенеза крыла цыплёнка [140], сомитогенеза [78]).

Модель субклеточных элементов

В рамках модели субклеточных элементов, предложенной в работе [127], каждая клетка ткани делится на субклеточные элементы, которые могут представлять части цитоскелета, клеточной мембраны, ядра и/или других органелл клетки. Каждый такой элемент математически и вычислительно представляется в виде частицы, которая взаимодействует с другими частицами. Это взаимодействие учитывается с помощью сил, полученных из потенциалов взаимодействия. В простейшем варианте должны быть указаны два потенциала: внутриклеточный потенциал взаимодействия V_{intra} для взаимодействия элементов внутри отдельной клетки, и межклеточный потенциал взаимодействия V_{extra} для взаимодействия элементов между разными клетками.

1.2.4. Клеточно-ориентированные компьютерные системы для моделирования растительной ткани

В большинстве живущих организмов именно клетка представляет собой элементарные структурные и функциональные единицы жизни. Клеточно-ориентированные модели (cell-based model) воспроизводят поведение ансамбля клеток, основываясь на поведении отдельных клеток. В качестве входных данных для клеточно-ориентированных моделей выступают модели поведения отдельных клеток, наблюдаемые в эксперименте или вытекающие из теоретических моделей одной клетки, в том числе реакции клеток на сигналы, исходящие из их микроокружения. Выходными данными таких моделей является морфогенез ткани [134]. Для формализации поведения клеток задаётся набор биологически правдоподобных правил.

В настоящее время благодаря бурному развитию вычислительных технологий ведётся интенсивное экспериментальное и теоретическое изучение механических свойств клеток и тканей и роли биомеханики как интегрирующего фактора в функционировании живых систем [190]. В частности, численное моделирование стало одним из основных методов изучения механизмов, лежащих в основе регуляции динамики пространственных паттернов в развивающихся тканях и/или органах, возникающих за счет роста, деления и дифференцировки клеток, что отражено в многочисленных обзорах [146, 149, 71, 42, 91, 89].

Пакет *Cellzilla* (<http://cellzilla.info/>) [173], разработанный в программной среде Mathematica, позволяет рассчитывать морфодинамику плоской растительной ткани в рамках модели динамики вершин [121] с учётом морфогенетической регуляции. Особенностью пакета является то, что взаимодействие между морфогенами в каждой клетке ткани описывается в терминах химической кинетики с помощью стрелочной нотации пакета *Cellerator* [172]. В этих же терминах описываются потоки веществ между

клетками. Функции пакета позволяют по этим данным автоматически построить и решить систему дифференциальных уравнений, описывающих динамику концентраций морфогенов во всех клетках ткани. Клеточная структура в пакете представлена списком из трёх элементов: список координат вершин, список рёбер, состоящий, из пар номеров вершин, и список клеток, состоящий из списков номеров рёбер, принадлежащих клетке. Для моделирования роста ткани в пакете Cellzilla осуществляется с помощью движения вершин.

В пакете *VirtualLeaf* (<https://code.google.com/p/virtualeaf/>) [114] реализована модель динамики вершин [121], движения вершин на каждом шаге минимизируют гамильтониан энергии алгоритмом Монте-Карло. Для каждой клетки i задаётся ненапряжённая площадь $A_T(i)$, соответствующая такому состоянию клетки, когда тургорное давление сбалансировано с внешним давлением. Для каждого элемента клеточной стенки j задаётся ненапряжённая длина $L_T(j)$, соответствующая длине сегмента клеточной стенки в отсутствии тургорного давления. Фактическая площадь клетки и фактическая длина элемента клеточной стенки обозначены $a(i)$ и $l(j)$, соответственно. Равновесие между тургорным давлением и сопротивлением клеточной стенки может быть описано в терминах обобщённой потенциальной энергии (гамильтониана H):

$$H = \lambda_A \sum_i (a(i) - A_T(i))^2 + \lambda_M \sum_j (l(j) - L_T(j))^2,$$

где суммирование ведётся, соответственно, по всем клеткам (i) и по всем элементам клеточных стенок (j); λ_A — параметр, определяющий сопротивление клетки растяжению или сжатию, λ_M — константа жёсткости элемента клеточной стенки.

В пакете *VirtualLeaf* реализована, например, модель роста корня [191].

1.2.5. Модели регуляции ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега арабидопсиса

Механизмы, обеспечивающие постоянство структуры АМП, являются предметом интенсивных исследований, как экспериментальных, так и теоретических. Результатом большой экспериментальной работы на протяжении последних тридцати лет являются данные о роли отдельных генов в развитии растения. В частности, показано, что отрицательная обратная связь между генами *CLV3* и *WUS* играет центральную роль в поддержании структуры ниши стволовых клеток АМП *A. thaliana* [157, 21]. К настоящему времени разными авторами предложено несколько математических моделей регуляции ниши стволовых клеток в АМП *A. thaliana* [92, 90, 201, 202, 8, 5, 7, 6, 65, 69, 80, 64, 160, 43, 14], ядром которых является генная сеть, описывающая взаимодействие между генами *CLV3* и *WUS*.

Схемы рассматриваемых в данном обзоре моделей [201, 6, 80, 43] регуляции пространственного паттерна экспрессии генов *CLV3* и *WUS* представлены на рис. 1.11 в единообразной форме.

Модели базируются на двух типах экспериментальных данных. Во-первых, это данные о взаимодействии генов и их продуктов, получаемые в молекулярно-генетических экспериментах. Другой тип экспериментальных данных — это пространственное расположение зон экспрессии генов в АМП. Соответственно, исходные предположения, формализуемые в моделях, основаны на представлениях о механизмах взаимодействия генов, природе регуляторных сигналов с учетом данных молекулярно-генетических экспериментов, и механизме распространения этих сигналов между клетками. Выходные данные этих моделей — пространственное расположение зон экспрессии генов в АМП, которое можно сравнить с экспериментально наблюдаемым. Важным аспектом моделируемой системы является также постоянство зон, несмотря на деление клеток в АМП.

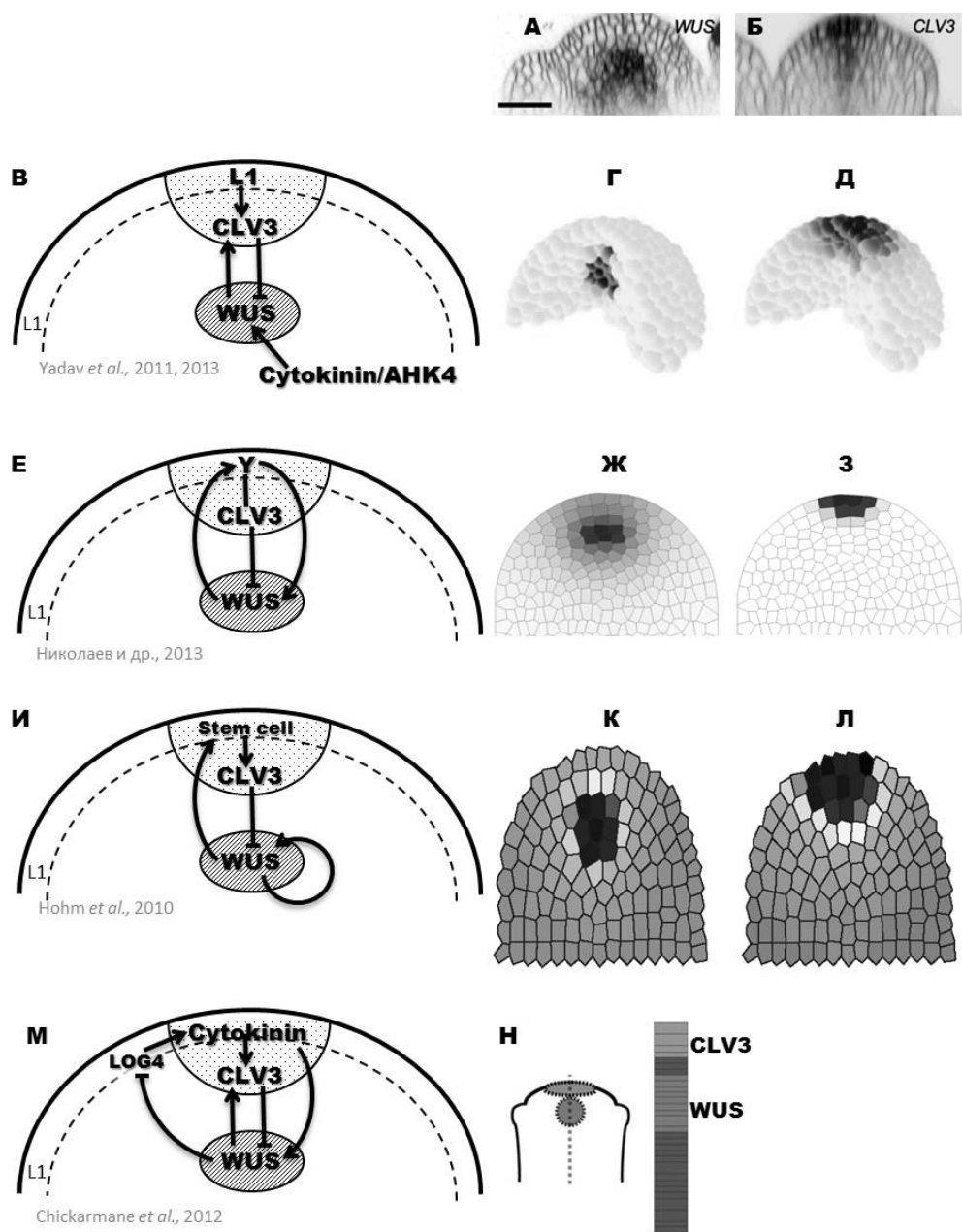


Рис. 1.11. Модели регуляции структуры ниши стволовых клеток АМП: схемы взаимодействия (В, Е, И, М — первая колонка) и решения распределения концентраций (Г, Д, Ж, З, К, Л, Н — вторая (для гена *WUS*) и третья (для гена *CLV3*) колонки) для основных компонент моделей. (А, Б) распределения экспрессии генов *WUS* (рисунок из работы [201]) и *CLV3* (рисунок из работы [152]). (В, Г, Д) модель [201], (Е, Ж, З) модель [6], (И, К, Л) модель [80] и (М, Н) модель [43].

Изучение роли гена WUS в регуляции ниши стволовых клеток в АМП [90, 201, 202, 73]

В статье Н. Jonsson с соавт. [90] была рассмотрена модель позиционирования экспрессии гена *WUS* на двумерном клеточном ансамбле с центральной симметрией. Благодаря симметрии оказалось естественным поместить в «морфологически выделенный» внешний слой клеток некоторый репрессор для гена *WUS*. Модель воспроизводит локализацию экспрессии *WUS* в центре клеточного ансамбля, а также результаты экспериментов, в которых наблюдалось возобновление экспрессии *WUS* после лазерного разрушения ОЦ.

Компьютерная модель [201] объясняет важность поддержания градиента белка *WUS* в регуляции ниши стволовых клеток. Модель (схема модели — рис. 1.11, в) учитывает прямую активацию транскрипции *CLV3* белком *WUS* [201] и отрицательную регуляцию *WUS* сигналом *CLV3*, который происходит из ЦЗ [33, 34, 168]. Дополнительно *WUS* активируется локальным сигналом цитокинина [90, 69, 80], а также для активации *CLV3* используется дополнительный гипотетический сигнал, происходящий из клеток слоя L1 [92].

Геометрия АМП описывается в модели как верхняя треть трехмерной сферы, заполненная 1366 пересекающимися сферическими клетками. Клетки считаются соседними (т.е. между ними осуществляется транспорт), если соответствующие сферы пересекаются. Начальное распределение экспрессии генов *CLV3* и *WUS* строится на основе микрофотографии. Экспрессия *CLV3* в клетках ЦЗ на верхушке меристемы (55 клеток) и экспрессия *WUS* в клетках ОЦ под ЦЗ (42 клетки) задаются равными единице.

Для описания регуляции транскрипции используются функции Хилла; синтез белков линейно зависит от уровня РНК. РНК и белки распадаются, распространение *CLV3* и *WUS* между клетками описывается как пассивный транспорт. Модель представлена следующей системой уравне-

ний:

$$\frac{d[C]}{dt} = V_C \frac{[a1]^n}{k_{a1/C}^n + [a1]^n} \frac{[w]^n}{k_{w/C}^n + [w]^n} - g_C[C], \quad (1.13)$$

$$\frac{d[c]}{dt} = P_c[C] - g_c[c] + D_c \Delta[c], \quad (1.14)$$

$$\frac{d[W]}{dt} = V_W \frac{[a2]^n}{k_{a2/W}^n + [a2]^n} \frac{k_{c/W}^n}{k_{c/W}^n + [c]^n} - g_W[W], \quad (1.15)$$

$$\frac{d[w]}{dt} = P_w[W] - g_w[w] + D_w \Delta[w], \quad (1.16)$$

$$\frac{d[a1]}{dt} = P_{a1}[A1] - g_{a1}[a1] + D_{a1} \Delta[a1], \quad (1.17)$$

$$\frac{d[a2]}{dt} = P_{a2}[A2] - g_{a2}[a2] + D_{a2} \Delta[a2], \quad (1.18)$$

где $[X]$ и $[x]$ обозначают, соответственно, концентрации мРНК и сигнальных молекул (белка для WUS и пептида для CLV3); Δ — дискретный оператор Лапласа, описывающий пассивный транспорт (основанный на градиенте концентраций). C обозначает CLV3, W — WUS. Значения A1 и A2 являются константами, равными единице, в клетках эпидермиса (внешний слой L1) и ОЦ соответственно.

В результате оптимизации авторами были найдены такие значения параметров, при которых решение модели (рис. 1.11, г, д) соответствует экспериментально наблюдаемым зонам экспрессии генов CLV3 и WUS на трехмерной ткани.

Расчеты были произведены с использованием пакета Organism ([http:// dev.thep.lu.se/organism](http://dev.thep.lu.se/organism)), использующего метод Рунге–Кутты 5-го порядка с адаптивной сеткой.

Следующая реализация модели [202] учитывает непосредственную регуляцию транскрипции гена *KAN1* белком WUS. *KAN1* считается одним из генов периферической зоны, непосредственно репрессируемым транскрипционным фактором WUS [97, 202]. Дополнительно ген *KAN1* активируется неким гипотетическим сигналом из слоя L1 (так же, как CLV3 в предыду-

щем варианте модели). Правомерность такой активации объясняется тем, что когда *WUS* не диффундирует, зона экспрессии *KAN1* расположена близко к внешнему слою (L1) меристемы.

Отметим, что в модели используются два дополнительных геометрических ограничения на зоны возможной экспрессии генов: 1) дополнительный фактор активации для *WUS*, представляющий рецепторы АНК4, расположенный в ОЦ; 2) дополнительный фактор активации для *CLV3*, представляющий гипотетические эпидермальные сигналы, расположенный во внешнем слое клеток (L1). Оба ограничения моделируются как гены, т.е. экспрессия гипотетического гена приводит к синтезу сигнальных молекул, которые диффундируют и создают градиент концентрации.

Динамическая модель гомеостаза ниши стволовых клеток в меристеме побега Arabidopsis thaliana [80]

В статье Hohm с соавт. (2010) представлена модель (схема модели — рис. 1.11, и) регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега, основанная на взаимодействии генов *CLV3* и *WUS*. Целью авторов было промоделировать механизм формирования паттернов экспрессии генов *CLV3* и *WUS* на продольном срезе АМП, используя для этого минимальное количество предположений об участниках этого процесса. Модель использовалась для изучения поведения системы при возмущениях, а также для нахождения допустимых значений параметров, при которых сохраняется гомеостаз ниши стволовых клеток в АМП, несмотря на изменяющиеся внешние условия.

Ядром схемы взаимодействия между компонентами модели являются два контура обратных связей, проходящих через *WUS*. Взаимодействия между компонентами модели осуществляются по механизму реакция–диффузия и представлены в виде системы дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{\partial[WUS]}{\partial t} &= D_{WUS}\Delta[WUS] + \xi\rho_{anc}\frac{[WUS]^2[facX]}{1 + ([CLV3] + [CLV3_{ext}])^3} \\ &\quad - \mu_{WUS}[WUS] + \sigma_{WUS}, \end{aligned} \quad (1.19)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial[facX]}{\partial t} &= D_{facX}\Delta[facX] - \xi\rho_{anc}\frac{[WUS]^2[facX]}{1 + ([CLV3] + [CLV3_{ext}])^3} \\ &\quad + \frac{\sigma_{facX}}{1 + \frac{[facX]}{K_{facX}}}, \end{aligned} \quad (1.20)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial[WUS_{sig}]}{\partial t} &= D_{WUS_{sig}}\Delta[WUS_{sig}] + \rho_{WUS_{sig}}[WUS] \\ &\quad - \mu_{WUS_{sig}}[WUS_{sig}], \end{aligned} \quad (1.21)$$

$$\frac{\partial[st]}{\partial t} = D_{st}\Delta[st] + 1_{id}(i)\rho_{st}\frac{\left(\frac{[WUS_{sig}]}{K_{st}}\right)^5}{1 + \left(\frac{[WUS_{sig}]}{K_{st}}\right)^5} - \mu_{st}[st], \quad (1.22)$$

$$\frac{\partial[CLV3]}{\partial t} = D_{CLV3}\Delta[CLV3] + c_{k0}\rho_{CLV3}[st] - \mu_{CLV3}[CLV3]. \quad (1.23)$$

Модель содержит следующие параметры: ρ — коэффициенты скорости реакции, σ — «фоновая» скорость экспрессии (не зависит от концентрации каких-либо веществ), μ — скорости деградации, K — кинетическая константа.

Переменные модели (концентрации веществ), а также основные модельные предположения относительно них приведены ниже:

st — уровень «стволовости» клеток меристемы контролируется WUS-зависимым сигналом, на который способны реагировать только клетки внешнего слоя. Пропорционально уровню «стволовости» в ствольных клетках синтезируется сигнальная молекула CLV3.

CLV3 способен диффундировать с распадом в соседние клетки и ограничивать (в зависимости от своей концентрации) экспрессию WUS.

WUS диффундирует очень медленно и стимулирует образование WUS-сигнала, который является более мобильным и способен диффундировать в соседние клетки. Хотя потенциально все клетки (в рамках модели) способны синтезировать WUS, в модели присутствует

пространственный параметр, который делает клетки, находящиеся ближе к верхушке меристемы, более «компетентными» к синтезу WUS. Введение этого параметра было обусловлено необходимостью корректного позиционирования паттернов экспрессии генов *WUS* и *CLV3*.

WUS_{sig} синтезируется в тех клетках, где есть WUS (в зависимости от его концентрации). Подобно *CLV3*, WUS-сигнал может быстро диффундировать и распадаться с постоянной скоростью. В зависимости от концентрации WUS-сигнала клетки становятся стволовыми. Только внешние слои клеток меристемы являются компетентным к WUS-сигналу.

facX введён в модель для того, чтобы учесть *CLV*-независимую регуляцию экспрессии *WUS*. Изначально *facX* экспрессируется во всех клетках и свободно диффундирует. *facX* стимулирует экспрессию *WUS*, а WUS подавляет экспрессию *facX*, что реализовано в модели через активную деградацию (или потребление) *facX* с помощью WUS. Таким образом взаимодействие между *facX* и WUS основаны на механизме активатор-субстрат, что позволяет получать обособленные области экспрессии *WUS*.

Следует отметить, что для получения правдоподобной картины расположения паттернов экспрессии генов *CLV3* и *WUS* (решение модели для этих генов — рис. 1.11, к, л) авторы использовали дополнительное пространственное ограничение на расположение клеток, в которых разрешена экспрессия этих генов (предписанное расположение компетентных клеток). Noth с соавт. (2010) предположили, что *CLV3*-экспрессирующие (т.е. стволовые) клетки определяются сигналом «стволовости», распространяющимся сверху, в то время как WUS «модулирует» интенсивность этой экспрессии (и распространяется снизу от ОЦ).

Изучение роли цитокинина в регуляции ниши стволовых клеток в АМП [69, 43]

Одномерная модель регуляции расположения зон экспрессии генов вдоль продольной оси АМП с делением клеток была рассмотрена в статье Chickarmane с соавт. (2012). Устойчивое позиционирование ОЦ на определенном расстоянии от верхушки меристемы обеспечивалось петлей регуляции между ОЦ и верхушкой АМП (схема модели — рис. 1.11, м). Транскрипция *WUS* активируется цитокинин-регулируемым транскрипционным фактором, подробнее модель этого механизма исследована в более ранней работе [69]. Диффундирующий сигнал — *CLV3*-сигнал — синтезируется в первой клетке массива и регулируется сигналом «стволовости» *Sstemcells* и диффундирующим сигналом, производным от *WUS*. *CLV3*-сигнал распространяется по клеточному массиву и делает клетки компетентными к экспрессии *CLV3*. Так как *CLV3*-сигнал синтезируется только в первой клетке массива, его градиент экспоненциально уменьшается и поэтому ген *CLV3* экспрессируется лишь в нескольких первых клетках. *WUS* активирует диффундирующий сигнал *Sstemcells*, поддерживающий стволовость клеток и активирующий *CLV3* и *CLV3*-сигнал. Цитокинин синтезируется в первой клетке массива. Таким образом, в начале одномерного массива (сверху) расположены клетки, в которых происходит экспрессия *CLV3*, затем — клетки, маркированные экспрессией *WUS* (решение модели — рис. 1.11, н).

1.3. Заключение по обзору литературы и постановка задач исследования

Одной из фундаментальных задач современной биологии является изучение регуляции формообразования в процессе роста организма [42]. К настоящему времени накоплен значительный методический опыт в применении различных подходов к изучению живых объектов: от

экспериментально-наблюдательных до автоматизированной обработки информации и компьютерного моделирования. Хотя компьютерные модели пока еще не стали основным инструментом для изучения развития растений, ряд работ, рассмотренных в настоящем обзоре, показывает важность их использования наряду с экспериментальными методами для изучения механизмов регуляции морфогенеза.

Важным аспектом, определяющим морфодинамику растительной ткани, являются рост и деление клеток в меристеме, и их регуляция. Происходящее при этом изменение геометрии ткани приводит, с одной стороны, к изменению регуляции молекулярными сигналами, распространяющимися по тканевому пространству, с другой — к возникновению механических напряжений в ткани. В свою очередь, роль этих механических напряжений как интегрирующих сигналов для регуляции морфодинамики является в настоящее время предметом интенсивных исследований методами моделирования и вычислительных экспериментов.

В работе, представленной в данной диссертации, разработаны методы моделирования для изучения молекулярно-генетической и биомеханической регуляции морфодинамики растительных тканей с учетом роста и деления клеток. В частности, изложена работа по изучению устойчивости системы молекулярно-генетической регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега арабидопсиса к возмущениям, вызываемым ростом и делением клеток.

Эпидермис линейного листа является удобной модельной системой для исследования механизмов морфодинамики растительных тканей, так как на нём легко наблюдать развитие и появление специализированных клеток. В эпидермисе растений формируются регулярный паттерн распределения специализированных клеток-трихом. Кроме этого, отмечена гетерогенность в размерах неспециализированных, так называемых основных клеток эпидермиса. В представленной работе были изучены закономерности однонаправленного симпластного роста эпидермального слоя линейно-

го листа. Для этого построена модель с учётом биомеханики роста клеток, на основе модели изучен механизм формирования пространственного паттерна клеток-трихом на растущем листе пшеницы.

Рассмотренные в обзоре примеры показывают, что L-системы являются удобным формализмом для моделирования роста и развития простых организмов с линейной и ветвящейся структурой. Естественным шагом в продолжение рассмотренной в работе тематики является переход к моделям с более сложной пространственной структурой. Например, к моделям морфодинамики клеточных пластов. Примеры применения для этого L-систем показывают, что сам формализм накладывает ограничения на множество порождаемых паттернов роста клеточного пласта [185]. Поэтому для моделирования двумерных растительных тканей, для которых характерен однонаправленный рост, в рамках данной работы была разработана модификация формализма dL-систем — «склеенные» dL-системы. Эта модификация легла в основу программного комплекса для моделирования однонаправленного симпластного роста растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток, который использовался в данной работе в качестве инструмента для вычислительных экспериментов.

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

Глава посвящена описанию методики моделирования морфодинамики растительных тканей и созданного на этой основе пакета программ для моделирования. Пакет программ «Морфодинамика растительной ткани» («МРТ») основан на методе моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем и реализован в виде программных модулей в среде Mathematica. В рамках пакета разработан и реализован оригинальный формализм «склеенные» dL-системы, который позволяет имитировать однонаправленный симпластный рост двумерной растительной ткани. С использованием функций пакета реализованы и исследованы математические модели морфодинамики растительных тканей, представленные далее в главах 3–5.

2.1. Концепция исследования морфодинамики растительной ткани с использованием компьютерного моделирования

В основе современных подходов к исследованию морфодинамики растительных тканей с использованием компьютерного моделирования лежит концепция системной биологии [99], которая отражает междисциплинарный подход к исследованию сложных биологических систем. В рамках этого подхода комплексное представление о биологической системе формируется путем интеграции знаний и экспериментальных данных, полученных на основе различных научных дисциплин (молекулярной генетики и биохимии, клеточной биологии, биофизики и биомеханики, вычислительной биологии, компьютерного моделирования и т.д.) и различных уровней систем-

ного описания растений [86], включая молекулярно-генетические системы регуляции морфодинамики (метаболические и сигнальные пути, генные регуляторные сети, сети интерактомики и т.д.), формирование и функционирование клеточных подструктур (субклеточный уровень), клетки, ткани, органа и организма, экологический уровень, на котором дается описание взаимодействия организма со внешней средой и адаптации к экстремальным условиям, и, наконец, эволюционный уровень, на котором исследуются процессы формирования новых свойств растений и появление новых видов организмов.

Качественно новые возможности системной биологии возникли в постгеномный период с появлением современных высокопроизводительных экспериментальных технологий молекулярной генетики, которые привели к появлению огромных объемов информации о различных аспектах организации и функционирования живых систем.

Однако, ни один, даже самый совершенный, экспериментальный подход сам по себе не может дать целостного представления об изучаемых биологических системах.

Компьютерное моделирование морфодинамики растительной ткани позволяет объяснить сложные временные и пространственные взаимодействия биомеханических процессов роста и морфогенетических процессов регуляции. Наиболее амбициозной задачей является моделирование биологических систем различного уровня, начиная с клетки и субклеточных систем и заканчивая биосферой в целом.

В связи с этим, наиболее перспективным путем развития исследований в области системной биологии является симбиоз теоретических и экспериментальных подходов. Компьютерное моделирование и вычислительный эксперимент становится реальностью и важнейшей составляющей исследовательского процесса.

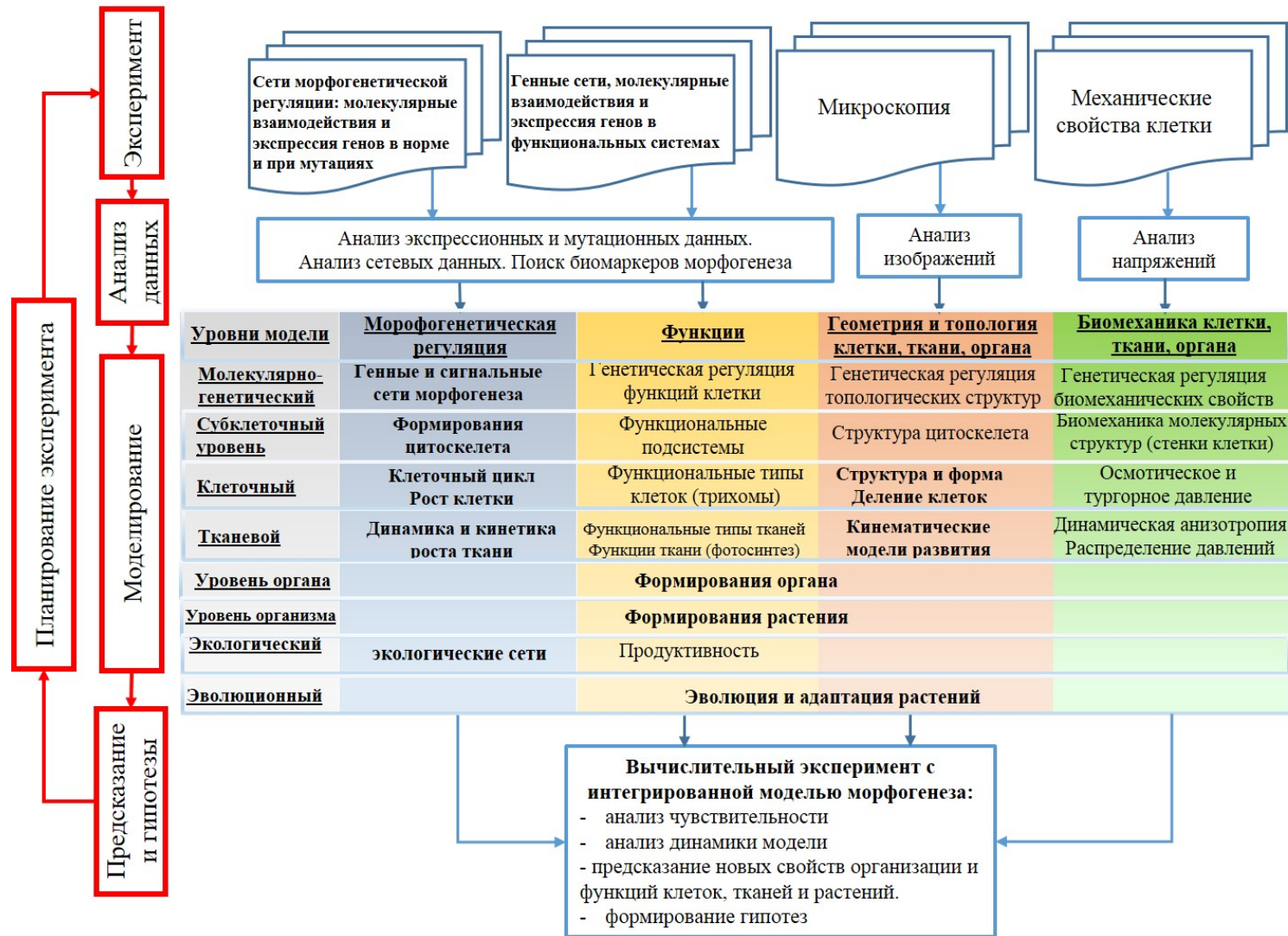


Рис. 2.1. Концептуальная схема исследования морфогенеза растений с использованием компьютерного моделирования

На рис. 2.1 представлена концептуальная схема исследований морфогенеза растений с использованием компьютерного моделирования. Основными этапами современного исследования в области системной биологии с использованием компьютерного моделирования является накопление экспериментальных данных, масштабный анализ гетерогенных данных, построение математической модели, проведение вычислительного эксперимента с целью выявления новых знаний и формирования новых научных гипотез, и, наконец, планирование и проведение новых экспериментов для проверки этих гипотез и уточнения модели [13]. Далее этот технологический цикл исследований повторяется с привлечением новых знаний и использованием новых компьютерных моделей.

Компьютерное моделирование является практически безальтернативной платформой, на базе которой возможно в рамках единой концептуальной схемы объединять колоссальный объем накопленных в настоящее время биологических знаний о морфогенетической регуляции формирования цитоскелета, роста и функционирования клеток и тканей, органов и организма в норме и при различных генетических мутациях. При этом возникает возможность интеграции, систематизации и анализа разномасштабных экспериментальных данных, анализа причинно-следственных связей между молекулярной структурой, динамикой и фенотипическими характеристиками живых систем, получения на этой основе новых фундаментальных и прикладных знаний и выработки стратегий проведения дальнейших экспериментов и т.д.

Для описания этих регуляторных процессов необходимы не только знания о генных сетях, метаболических и сигнальных путях, сетях интерактомики и т.д., но также знания о геометрии и биофизики растущих тканей. Основным источников данных для формирования знаний о геометрии и топологии клеток, тканей и органов растений являются методы микроскопии и анализа изображений. Знания о биомеханических свойствах клеток при их делении и росте, в настоящее время активно используются при

исследовании морфогенеза растений в связи с появлением современных экспериментальных технологий на основе методов атомно-силовой микроскопии [117, 178], которые позволяют измерять напряжение стенок клетки и оценивать тургорное давление в отдельных клетках растений.

Общая концептуальная схема исследований морфодинамики с использованием компьютерного моделирования (рис. 2.1) лежит в основе методов, используемых в настоящей работе для компьютерного моделирования морфодинамики в меристематических тканях растений, которые реализованы в пакете программ «Морфодинамика растительной ткани» («МРТ»).

2.2. Общее описание методики моделирования морфодинамики растительной ткани

В основе используемых в настоящей работе методов компьютерного моделирования морфодинамики в меристематических тканях растений лежит общая концептуальная схема исследований морфодинамики с использованием компьютерного моделирования, представленная на рис. 2.1, а также требования к математическим моделям морфогенеза растений, описанных в обзоре [150], существенно расширенные и уточненные нами.

В рамках методики моделирования решаются различные методические проблемы и вопросы, в частности: Как описывать динамику формы растительной клетки, ткани, органа? Как обеспечить возможность анализа причинности моделируемых явлений? Как моделировать самоорганизацию паттернов растительной клетки, ткани, органа? Как обеспечить декомпозицию проблем моделирования и исследования сложных процессов морфогенеза растений. Какие базовые модели могут лежать в основе методики? Какую минимальную модель, обеспечивающую формирование паттерна ниши стволовых клеток меристемы можно положить в основу методики? Как моделировать динамику роста клетки и ткани растения? Какие параметры

общей модели могут определять разнообразие моделей, ориентированных на класс задач по моделированию морфодинамики растительной ткани? Как учитывать в модели биофизические свойства клетки и ткани растения при их росте? Как проводить верификацию (проверка корректности модели), валидизацию (проверка соответствия модели экспериментально наблюдаемому поведению) и оценку качества моделей морфогенеза. Как проводить анализ чувствительности модели? и т.д.

Для моделирования морфодинамики растительной ткани нами использовались следующие подходы:

1. формализация топологии клеток в ткани и ее морфодинамики (деление и дифференцировка клеток) в виде правил L-системы.
2. формализация взаимной регуляции морфогенов в виде дифференциальных уравнений типа реакция-диффузия.
3. использование механической модели клетки в виде осмотической ячейки, заключенной в упругопластическую полупроницаемую оболочку при моделировании биомеханики роста клеток.

Унифицированность методики моделирования морфогенеза клеток и ткани различных видов растений с учетом топологии и геометрии клетки и ткани, а также морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток достигается путем использования метода моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем. В рамках диссертации разработан и реализован оригинальный формализм «склеенные» dL-системы, который позволяет имитировать однонаправленный симпластный рост двумерной растительной ткани.

Ниже представлены основные особенности моделей морфогенеза растений и пути их реализации в рамках используемой в работе методики моделирования.

Используемая методика моделирования позволяет описывать динамику изменения формы не только в геометрических терминах, но и в терминах топологических структур растительной клетки, ткани, органа, имеющих ясную биологическую интерпретацию.

Возможность анализа причинности обеспечивается средствами биологической интерпретации моделируемых явлений и их взаимосвязей, включая динамические особенности геометрии и топологии клеток и тканей, их биомеханические свойства, морфодинамика и выполняемые функции.

В методике моделирования принимается, что форма растений не кодируется непосредственно в их ДНК, а воспроизводится с помощью иерархии процессов морфогенеза, которые связывают явления молекулярного уровня (морфополе) с их макроскопическим проявлением (формой клетки, ткани или органа). Это позволяет проводить анализ роли регуляторных механизмов молекулярно-генетического уровня в морфогенезе, и выявить, как они могут быть проявляться в глобальном поведении системы (растущего растения). Это обеспечивает возможность моделирования и анализа процессов самоорганизации, которые формируют морфогенетические паттерны.

В методике реализован иерархический подход к моделированию морфодинамики растений на основе моделей клеток, множества взаимодействующих клеток и тканей с учетом топологии и геометрии клетки и ткани, а также морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток. Это позволяет осуществлять декомпозицию и упрощение проблем моделирования сложных биологических систем.

Методику моделирования расширяет разработанный в рамках диссертации набор базовых компьютерных моделей, которые могут быть использованы как паттерны (шаблоны) моделирования при реализации комплексных моделей морфодинамики растительных клеток и тканей. В частности, реализованы модели формирования ниши стволовых клеток меристемы растения (арабидопсиса) с учетом распределения морфогенов, на

основе этого реализована модель симпластного роста листа пшеницы и модель пролиферации растительных клеток и формирование паттерна распределения трихом на листе пшеницы.

Масштабируемость модели и вычислительная эффективность обеспечивается реализацией на языке программирования C/C++ наиболее затратного в вычислительном отношении модуля исследования чувствительности модели. Это позволяет выполнять (при необходимости) расчеты на высокопроизводительном вычислительном кластере [11, 10].

Важной особенностью методики является возможность расширения модели путем включения новых аспектов предметной области, включая морфогенетическую регуляцию, особенности экспрессии генов в клетках дикого типа и при различного рода мутациях и их влияния на морфогенез и биомеханику клетки и т.д. Такого рода расширение модели осуществляется через обобщенное описание модели (паттерна моделирования), включая описание начального состояния объекта моделирования (аксиомы), множества упорядоченных по времени морфодинамических событий, топологических и биомеханических характеристик клетки и ткани, влияющих на их морфодинамику, и правил преобразования моделей морфодинамики растительных клеток и ткани, учитывающих эти свойства.

2.3. Формализация методики моделирования морфодинамики растительной ткани с использованием dL-систем

В основе методики «Морфодинамика растительной ткани» («МРТ») лежит метод моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем. Общая идея состоит в переписывании (преобразовании) клеточной структуры, при котором дискретные события (дифференцировка, деление клеток) происходят на фоне и в зависимости от непрерывных процессов (рост клеток, динамика морфогенов). В рамках методики разработан и реализован оригинальный фор-

мализм «склеенные» dL-системы, который позволяет имитировать односторонний симпластный рост двумерной растительной ткани.

2.3.1. Дискретные события

Деление клеток

При изучении сестринских клеток в кончике корня проростка кукурузы было показано [3], что хотя средняя длительность цикла не изменяется на протяжении значительного периода времени и близка в разных тканях, длительность циклов отдельных сестринских или рядом расположенных клеток различается главным образом из-за неравного деления клеток, так как переход к митозу возникших клеток контролируется достижением ими критического размера. В работе [159] исследовано, как разные правила выбора ориентации клеточной стенки при делении клетки влияют на паттерн клеток в ткани.

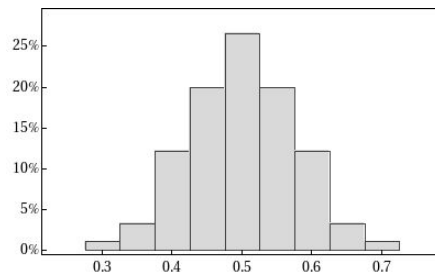


Рис. 2.2. Отношение площади дочерней клетки к площади материнской клетки (рисунок из работы [171]).

При однонаправленном росте ориентация клеточной стенки перпендикулярна направлению роста ткани, поэтому выбор места расположения клеточной стенки при делении клетки определяется параметром деления d . Одна дочерняя клетка имеет размер $d \cdot l$, другая $(1 - d) \cdot l$. Параметр d является в модели случайной величиной, которая имеет усечённое нормальное распределение [153, 20]. Среднее равно 0.5, среднеквадратичное отклонение равно 0.1, дополнительное условие: $0.1 < d < 0.9$. Такое значение средне-

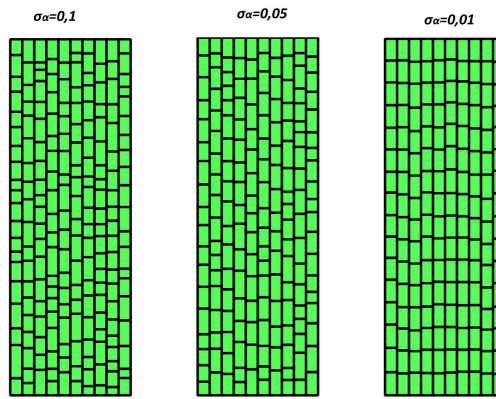


Рис. 2.3. Клеточные паттерны при разных значениях среднеквадратичного отклонения параметра асимметрии деления клеток.

квадратичного отклонения распространено при моделировании роста растительной ткани, например, использовалось в модели [43]. Распределение параметра d для апикальной меристемы побега арабидопсиса показано на рис. 2.2. Клеточные паттерны, которые получаются при однонаправленном росте и делении клеток листа при разных значениях среднеквадратичного отклонения для случайной величины d показаны на рис. 2.3 (визуализация выполнена с помощью функций пакета «МРТ»).

В естественных условиях паттерны синхронного деления клеток обычно не наблюдаются. В меристематической ткани при делении материнской клетки размеры двух дочерних клеток отличаются, что было экспериментально показано, например, на клетках апикальной меристемы арабидопсиса [170], поэтому рост клеток в меристеме разнородный. Однако если начинать моделировать рост ткани с одной клетки, то на протяжении нескольких первых клеточных циклов наблюдаются синхронные деления клеток (рис. 2.4). Время рассинхронизации клеток уменьшается с увеличением среднеквадратичного отклонения параметра d . Для того чтобы получить асинхронную популяцию клеток при моделировании ткани, начиная с одной клетки, авторы модели [191] на первом этапе (первые 4-5 делений) добавили к длительности клеточного цикла каждой клетки 25-процентный шум.

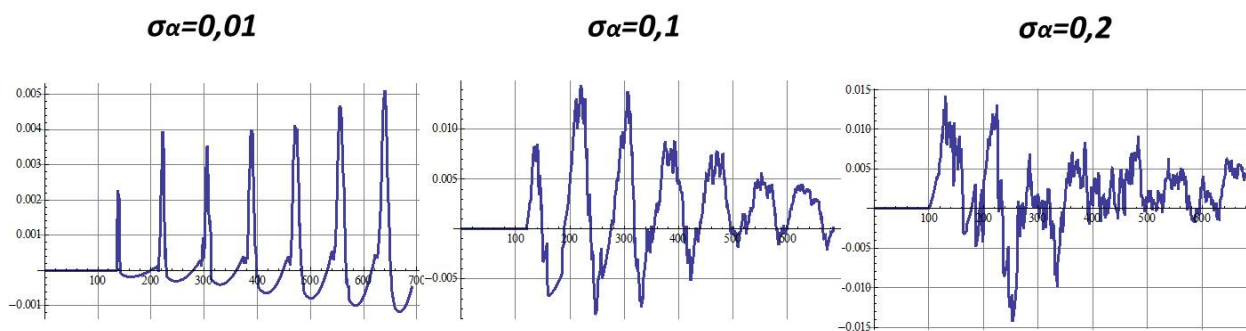


Рис. 2.4. Динамика среднего значения индекса деформированности клеток листа в зависимости от значения параметра асимметрии деления клеток

Дифференцировка клеток

Процесс дифференцировки клеток моделируется правилами L-системы, которые переписывают тип клетки в зависимости от значений концентраций морфогенов в клетке либо от места расположения клетки в ткани (например от расстояния от основания листа или от организационного центра в апикальной меристеме побега). В модели [191] на примере роста кончика корня были изучены разные варианты перехода клеток от зоны роста делением к росту растяжением, авторы пришли к выводу, что переключение типа клеток между зонами вероятнее всего регулируется концентрацией фитогормонов.

2.3.2. Непрерывные процессы

Динамика концентраций морфогенов

Пусть клетки i и j разделены межклеточными границами площади S_{ij} , через которые может происходить перенос вещества P . Межклеточные границы характеризуются коэффициентами проницаемости β_{1P} и β_{2P} (между клетками одного файла и между соседними файлами). В клетках могут происходить реакции синтеза и распада веществ.

Пусть диффузия описывается законом Фика и пусть коэффициент диффузии внутри клеток много больше, чем между клетками, так что

внутри клетки концентрации веществ везде одинаковы. За время Δt в клетке i количество вещества P изменится за счёт: (а) потоков $J_{ij}(\tau)$ вещества P между клеткой i и клетками $j, j \in \epsilon(i)$, где $\epsilon(i)$ — множество соседей клетки i ; (б) синтеза данного вещества в клетке с удельной скоростью gP и (в) его распада в результате реакции первого порядка с коэффициентом скорости d_P . Тогда динамика концентраций вещества P в клетках описывается уравнением:

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j \in \epsilon(i)} \frac{\beta_P S_{ij} (p_i - p_j)}{V_i} + \nu_P - d_P p_i - p_i \frac{1}{V_i} \frac{dV_i}{dt}. \quad (2.1)$$

Рост клеток в одномерном и двумерном клеточном ансамбле

Однонаправленный рост клеток в модели описывается непрерывным изменением параметра длины клетки l и задаётся явной функцией роста F_{gr} или дифференциальным уравнением. В одномерном варианте модели клетки составлены в цепочку. При моделировании однонаправленного роста клеточного пласта несколько цепочек составлены рядом представляют продольные ряды клеток. При этом, для того чтобы учесть особенность рост растительной ткани, необходимо чтобы длины клеток росли согласованно и клетки не сдвигались друг относительно друга. Для этого была разработана модель биомеханики симпластного роста, подробно изложенная в главе 4. Клеточные паттерны, сгенерированные в режиме свободного и симпластного роста, представлены на рис. 2.5.

2.3.3. «Склеенные» dL-системы

Для того чтобы моделировать процессы роста ткани, состоящей из разных типов делящихся и неделящихся клеток, в результате чего изменяется клеточная структура ткани, целесообразно использовать формализм, предназначенный для описания динамических систем с динамической структурой. Одним из таких формализмов является формализм L-

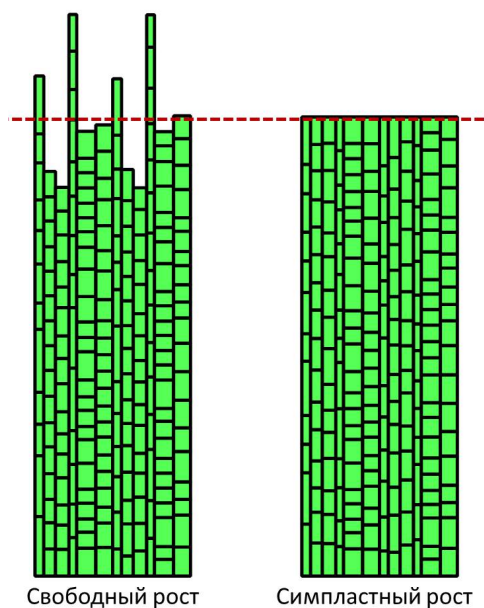


Рис. 2.5. Пример генерации клеточных паттернов двумерной ткани с помощью пакета «МРТ» при свободном и симпластном режиме роста.

систем [108] и его варианты [148].

Формально L-система имеет три составляющих: алфавит (набор символов, обозначающих типы элементов), аксиома (начальная структура системы) и множество правил вывода (возможные превращения элементов друг в друга). Для более реалистичного моделирования развития надо учесть, что клетки, например, растут с различными скоростями, и поэтому могут делиться в несовпадающие моменты времени, то есть асинхронно. Для такого моделирования простую L-систему модифицировали в дифференциальную параметризованную dL-систему. Для этого ввели единое для системы непрерывное время. Каждый элемент системы имеет один или несколько параметров, и эти параметры изменяются индивидуально для каждого элемента в зависимости от единого 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.

Далее, в зависимости от того, какой параметр достиг в данный момент своего порога, может зависеть, какое превращение будет совершать элемент. Например, если длина клетки достигла порога, то происходит ее деление, а если концентрация некоторого вещества достигла порога, то происходит превращение клетки одного типа в другой. При этом можно моделировать синтез и распад веществ в клетках определенного типа и их распространение по клеточному ансамблю.

Итак, при моделировании морфодинамики растительной ткани в формализме dL-систем дискретные события (дифференцировка, деление клеток) происходят на фоне и в зависимости от непрерывных процессов (рост клеток, динамика морфогенов). Комбинируя модули разработанного пакета мы построили компьютерные модели для решения задач диссертации. Детали каждой модели описаны в соответствующих главах.

Учитывая специфику симпластного роста растительной ткани и крайнюю анизотропию роста линейного листа, мы разработали вариант «склеенных» одномерных дифференциальных L-систем. В этом формализме мы описали динамическую модель симпластного роста с учетом его механики, и реализовали модель в системе Mathematica. Для вычисления динамики размеров свободно растущих клеток мы использовали представление о клетке как об осмотической ячейке, помещенной в растущую оболочку из эластичного материала (подробнее будет рассмотрено далее в главе 4).

Формализм dL-систем был модифицирован с учётом специфики геометрии линейного листа — параллельные продольные ряды клеток. 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. Для того чтобы обеспечить согласованную работу dL-систем, моделирующих динамику клеточной структуры отдельных продольных рядов клеток, мы ввели еще одну «управляющую» одномерную dL-систему. Каждая L-система имеет свой алфавит и свою ак-

сиому, согласованная работа определяется тем, что динамика структуры определяется общим набором правил переписывания, а динамика параметров описывается общей системой дифференциальных уравнений.

2.4. Реализация пакета «Морфодинамика растительной ткани» в системе Mathematica

2.4.1. Реализация работы L-системы в системе Mathematica

Для спецификации моделей в формализме L-систем мы использовали систему Mathematica. По своей сути, Mathematica представляет собой язык программирования высокого уровня, позволяющий реализовывать традиционный процедурный и функциональный стили. Поскольку Mathematica имеет встроенную систему переписывания, её просто использовать для реализации работы L-системы. Правила задаются в виде $a \rightarrow b$, здесь символ a заменяется строкой b . Одновременность применения набора правил организуется также с помощью внутренних функций пакета Mathematica. Для правил, срабатывание которых зависит от выполнения условий, наложенных на параметры, применяется запись $a \rightarrow b / ; test$ (такое правило срабатывает только в том случае, если условие $test$ верно). Кроме этого, Mathematica позволяет достаточно просто создавать графические образы с применением различных графических примитивов, что удобно для графической интерпретации текущего состояния.

2.4.2. Структура данных

В системе Mathematica удобно работать с данными, представленными в виде списков. Каждая клетка ткани в пакете «МРТ» представляется в виде списка:

$$CellType[CellParams],$$

где *CellType* — тип клетки, *CellParams* — список параметров клетки (размеры клетки, концентрации морфогенов в клетке и др.), описывающих её состояние. Клетки, расположенные в одном продольном ряду, объединяются в список. Порядок клеток отражает их взаимное расположение в ткани. Несколько списков «продольных рядов» составляют «модельный лист». Таким образом, клеточная структура ткани представляется в виде вложенных списков.

Для моделирования симпластного роста клеток необходимо задать ещё один список, элементами которого являются фрагменты клеток. Каждый фрагмент также представлен в виде списка, в котором записаны длина фрагмента и порядковые номера клеток в «продольных рядах», в которые входит этот фрагмент. Так как направление роста и ориентация плоскости деления клеток не меняются в процессе счёта, то и количество «продольных рядов» тоже остаётся постоянным.

В качестве начальных условий необходимо задать исходную геометрию ткани в виде вложенных списков (для клеток и для фрагментов) и начальные значения переменных состояния клеток их фрагментов.

2.4.3. Схема расчёта

На каждом шаге интегрирования происходит пересчёт переменных состояния модели и проверка условий для изменения структуры системы. Отметим, что при каждом структурном изменении топологии клеточно-го ансамбля переписывается система дифференциальных уравнений для расчёта динамики концентраций морфогенов и для расчёта ростовых процессов. Обобщённая схема потока вычисления представлена на рис. 2.6.

Состояние системы на каждом временном шаге записывается в отдельный список, который отражает все изменения, происходившие со структурой листа во время вычислительного эксперимента, и позволяет визуализировать результаты.



Рис. 2.6. Обобщённая блок-схема программы для дискретно-непрерывных моделей морфодинамики растительных тканей

2.5. Иллюстрация методики на примере моделирования формирования клеточного паттерна водоросли *Anabaena catenula*

В качестве иллюстративного примера мы воспроизвели модель роста нитчатой водоросли *Anabaena catenula* [195] и провели имитационные эксперименты, результаты которых показали совпадение результатов расчётов с экспериментальными данными о паттерне клеток.

2.5.1. Биологические предпосылки и качественное описание модели

Нитчатая водоросль *Anabaena* — один из примеров многоклеточного организма с клеточной специализацией: в одних клетках (вегетативных) осуществляется фотосинтез, в то время, как в других (гетероцистах) — фиксация азота. Продукты, вырабатываемые в разных клетках водоросли распределяются между всеми ее клетками путем диффузии.

Клетки водоросли при делении остаются соединенными, и в результате образуют линейные филаменты длиной 100 клеток и более. В отсутствии аммиака или нитрата в субстрате, отдельные гетероцисты разделены между собой примерно десятью вегетативными клетками разного размера. Филамент растёт за счёт асимметричного деления вегетативных клеток. Так как при этом гетероцисты отодвигаются друг от друга, новые гетероцисты трансформируются из вегетативных клеток приблизительно по середине между уже двумя существующими. Поэтому расстояние между гетероцистами остаётся в фиксированных границах на протяжении всего процесса развития филамента. Эта особенность структуры и является моделируемым структурным инвариантом.

2.5.2. Представление модели в dL-системе

Модель развития *Anabaena* представлена следующей dL-системой:

Алфавит состоит из двух типов клеток: $V = \{F_v, F_h\}$. Начальная конфигурация состоит из трех одинаково ориентированных клеток: $F_h F_v F_h$. Вегетативные клетки F_v и гетероцисты F_h характеризуются длиной l , концентрацией азотсодержащих веществ c и ориентацией $h = \{left, right\}$. Первое правило для вегетативных клеток F_v показывает, что пока длина клетки l меньше максимального значения l_{max} и концентрация вещества c выше порогового значения c_{min} , длина клетки l увеличивается экспоненциально, согласно уравнению:

$$\frac{dl}{dt} = rl,$$

где r — удельная скорость роста. Концентрация вещества c изменяется по закону:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D_c(c_l - 2c + c_r) - cl}{l} - v \cdot c,$$

где D_c — коэффициент диффузии, v — скорость реакции первого порядка. Первое слагаемое в этом уравнении описывает диффузию веществ через клеточные стенки, а второе экспоненциальный спад концентрации веществ в клетках. Следующие два правила описывают деление вегетативных клеток. Если клетка достигает максимальной длины l_{max} , а концентрация вещества ещё выше уровня c_{min} , клетка делится, согласно значению параметра ориентации, на две вегетативные клетки размера $d \cdot l_{max}$ и $(1 - d)l_{max}$, концентрация вещества c наследуется от их родительской клетки. Если концентрация падает до предельного значения c_{min} , клетка дифференцируется в гетероцисту. Все правила отвечают непрерывному критерию: сохраняется общая длина и концентрация азотсодержащих веществ. Последняя строка модели характеризует поведение гетероцист. Их длина и концентрация веществ экспоненциально стремятся к предельным значениям l_{max} и c_{max} . Гетероцисты не подвергаются никаким дальнейшим изменениям. Результаты работы модели приведены на рис. 2.7.

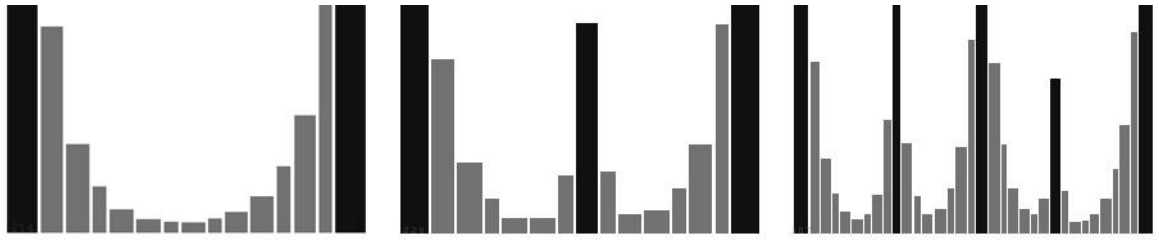


Рис. 2.7. Результаты моделирования *Anabaena catenula* на трёх различных шагах. Ширина столбца — относительная длина клетки, высота — концентрация вещества. Тёмные клетки — гетероцисты, светлые — вегетативные клетки. Длина нити водоросли в каждый момент времени нормирована к единице.

Представленная модель водоросли *Anabaena catenula* показывает, что простой механизм, основанный на изменении концентрации некоторого вещества (вследствие реакции и диффузии) и простых правил поведения клеток в зависимости от этой концентрации, способен объяснить возникновение пространственно неоднородных клеточных ансамблей, сохраняющих определенный структурный паттерн. Модель хорошо воспроизводит наблюдаемые закономерности в распределении гетероцист в процессе развития водоросли *Anabaena catenula*, а именно: гетероцисты появляются периодически (через 8-10 вегетативных клеток), что подтверждается экспериментальными наблюдениями.

2.6. Заключение к главе 2

Разработана методика для моделирования морфодинамики растительной ткани, основанная на методе моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем. Данная методика лежит в основе пакета «МРТ», который реализован в виде программных модулей в среде Mathematica и позволяет имитировать однонаправленный симпластный рост растительной ткани с учётом морфогенетической регуляции и биомеханических свойств клеток и воспро-

изводить экспериментально наблюдаемые паттерны клеточной структуры ткани. Разработаны и реализованы в пакете «МРТ» модели (а) регуляции структуры ниши стволовых клеток апикальной меристемы побега арабидопсиса на растущей ткани, (б) роста эпидермиса линейного листа, (в) формирования трихом на листе пшеницы. Далее, в главах 3–5 будет описана формализация соответствующей модели в виде dL-системы. Программная реализация моделей выполнена в пакете «МРТ».

3. Компьютерное моделирование регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса

Глава посвящена изучению методами компьютерного моделирования устойчивости системы регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме растущего побега арабидопсиса к возмущениям, вызываемым изменением пространственной структуры клеток.

3.1. Биологические предпосылки и назначение модели

3.1.1. Пространственная структура ниши стволовых клеток

Объектом для изучения является структура ниши стволовых клеток апикальной меристемы побега (АМП) арабидопсиса. В нише стволовых клеток выделяют следующие зоны (рис. 3.1). Клетки, расположенные вокруг вертикальной оси меристемы в радиусе 2-4 клетки в самых верхних 3-4 слоях, синтезируют белок, называемый CLV3, и принадлежат центральной зоне (ЦЗ). Клетки ЦЗ постоянно делятся с небольшой скоростью и таким образом дают начало всем клеткам побега. Ниже клеток ЦЗ располагаются клетки, в которых наблюдается экспрессия гена *WUS*. Эти клетки относят к организационному центру (ОЦ), толщина которого в вертикальном направлении может составлять 1-3 клетки. Эти группы формируют в АМП определенную стабильную пространственную структуру и оказывают друг на друга регулирующие воздействия [8, 5, 7].

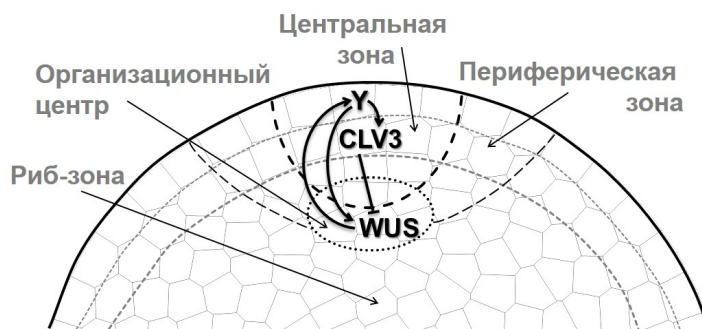


Рис. 3.1. Схема регуляции пространственной структуры апикальной меристемы побега.

3.1.2. Клеточная структура и основные положения модели

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. В рамках модели, представленной в диссертации, был поставлен вопрос о стабильном положении ОЦ на продольной оси АМП относительно верхней точки меристемы и регуляции размера ЦЗ при условии роста и деления клеток.

Для построения одномерной модели был выбран столбец клеток вокруг центральной оси меристемы. Соответственно, в начале массива расположены клетки ЦЗ, затем клетки ОЦ и далее клетки, специализирующиеся в клетки сосудистой системы. В каждой клетке массива могут синтезироваться вещества-морфогены, условно обозначенные символами Y (морфоген, отражающий участие эпидермиса в формировании ОЦ [73]), C (соответствует комплексу генов $CLV1/2+CLV3$) и W (соответствует гену WUS). Скорости синтеза каждого из них зависят от концентраций остальных веществ в данной клетке. Эти зависимости представлены на рис. 3.1. Кроме того, все вещества распадаются с определенными скоростями, и между клетками может происходить перенос веществ Y и W .

«Переключения» клеток выражаются в том, что клетки в определен-

ной зоне синтезируют определенные вещества: в клетках ОЦ (и только в них) синтезируется W , в клетках ЦЗ синтезируется C , а Y синтезируется только в первой клетке массива. Взаимодействие между веществами описывается схемой, изображённой на рис. 3.1 и может быть выражено в следующих положениях:

1. морфоген Y синтезируется в первой клетке. Скорость его синтеза зависит от концентрации вещества W (WUS).
2. В зависимости от концентрации Y в других клетках может синтезироваться вещество C (CLV1/2+CLV3)
3. В зависимости от концентрации веществ Y и C в клетках может синтезироваться вещество W .
4. Между клетками происходит перенос веществ Y и W .

3.2. Математическое описание модели

Рассмотрим одномерный массив из n клеток, в котором распределены три вещества-морфогена, условно обозначенные символами Y , C и W . Эти вещества могут синтезироваться в клетках, распадаться, и между клетками может происходить перенос веществ Y и W .

Реакции синтеза веществ (экспрессии соответствующих генов) в клетках происходят со скоростями, зависящими от присутствия других веществ по следующему закону:

$$\frac{du_k}{dt} = v_k g(x), \quad x = \sum_j E_{kj} u_j + h_k,$$

где $\frac{du_k}{dt}$ и v_k — соответственно реальная и максимальная скорости синтеза вещества k , имеют размерность $\frac{\text{концентрация}}{\text{время}}$; $g(x)$ — безразмерная функция регуляции синтеза в зависимости от безразмерной переменной управления x ; E_{kj} — коэффициенты чувствительности регуляции с размерностью

$\frac{1}{\text{концентрация}}$, которые больше нуля, если вещество j стимулирует синтез вещества k , и меньше нуля — если угнетает. Безразмерные параметры h_k , являются пороговыми значениями переменной управления $x(\bar{u})$. Для описания скоростей реакций в модели используется сигмоидная функция:

$$g(x) = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{x}{\sqrt{1+x^2}} \right), g(x) = \begin{cases} 0, & x \rightarrow -\infty, \\ 1, & x \rightarrow +\infty. \end{cases}$$

В данной модели предполагается, что перенос веществ Y и W между клетками происходит по механизму диффузионного типа. При этом плотность потока вещества между соседними клетками равняется разности концентраций в этих клетках, умноженной на соответствующий коэффициент проницаемости границы: β_y и β_w с размерностями $\frac{1}{\text{время}}$.

Вещество Y синтезируется в первой клетке и диффундирует в другие клетки массива. Скорость его синтеза зависит от концентрации вещества W в клетке 1. В зависимости от концентрации Y в других клетках может синтезироваться вещество C , которое не диффундирует, а только распадается. В зависимости от концентрации веществ Y и C в клетках может синтезироваться вещество W , которое диффундирует по клеточному массиву и, достигая клетки 1, регулирует синтез вещества Y . Распад веществ происходит в каждой клетке по схеме реакции первого порядка:

$$\frac{du_k}{dt} = -d_k u_k,$$

где d_k — коэффициенты распада, размерности которых $\frac{1}{\text{время}}$.

В результате предлагаемая модель процесса формулируется как задача Коши для автономной системы уравнений, определяющей в i -й клетке, $i = 1, 2, \dots, n$, концентрации веществ Y , C и W с компонентами y_i , c_i и w_i , соответственно:

$$\begin{aligned} \frac{dy_1}{dt} &= v_y g(X_y^{(1)}) + \beta_y (y_2 - y_1) - d_y y_1, \\ \frac{dy_i}{dt} &= \beta_y (y_{i-1} - 2y_i + y_{i+1}) - d_y y_i, \quad i = 2, 3, \dots, n-1, \\ \frac{dy_n}{dt} &= \beta_y (y_{n-1} - y_n) - d_y y_n \end{aligned} \quad (3.1)$$

— компоненты концентрации вещества Y ;

$$\frac{dc_i}{dt} = v_c g(X_c^{(i)}) - d_c c_i, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3.2)$$

— компоненты концентрации вещества C ;

$$\begin{aligned} \frac{dw_1}{dt} &= v_w g(X_w^{(1)}) + \beta_w (w_2 - w_1) - d_w w_1, \\ \frac{dw_i}{dt} &= v_w g(X_w^{(i)}) + \beta_w (w_{i-1} - 2w_i + w_{i+1}) - d_w w_i, \quad i = 2, 3, \dots, n-1, \\ \frac{dw_n}{dt} &= v_w g(X_w^{(n)}) + \beta_w (w_{n-1} - w_n) - d_w w_n \end{aligned} \quad (3.3)$$

— компоненты концентрации вещества W .

Начальные условия:

$$y_i = y_i^0, \quad c_i = c_i^0, \quad w_i = w_i^0, \quad i = 1, 2, \dots, n, \quad \text{при } t = 0. \quad (3.4)$$

Здесь $v_y, v_c, v_w, \beta_y, \beta_w, d_y, d_c, d_w, h_y, h_c, h_w, E_{yw}, E_{cy}, E_{wy}, E_{wc}$ — параметры, описанные выше; аргументами функции $g(x)$ являются:

$$X_y^{(1)} = h_y + E_{yw} w_1, X_c^{(k)} = h_c + E_{cy} y_k, X_w^{(k)} = h_w + E_{wy} y_k + E_{wc} c_k. \quad (3.5)$$

Для скоростей синтеза использованы обозначения: $g_y = g(X_y)$, $g_c = g(X_c)$, $g_w = g(X_w)$.

Ранее в работе [7] нами было показано, что существуют значения параметров, при которых система уравнений (3.1) – (3.5) имеет стационарное решение в виде распределений концентраций веществ по клеткам, вид которых представлен на рис. 3.2. Такие распределения концентраций обеспечиваются распределением экспрессии генов C и W , изображенным на рис. 3.3. В свою очередь, максимумы экспрессии этих генов находятся соответственно в центральной зоне и организационном центре, что согласуется с

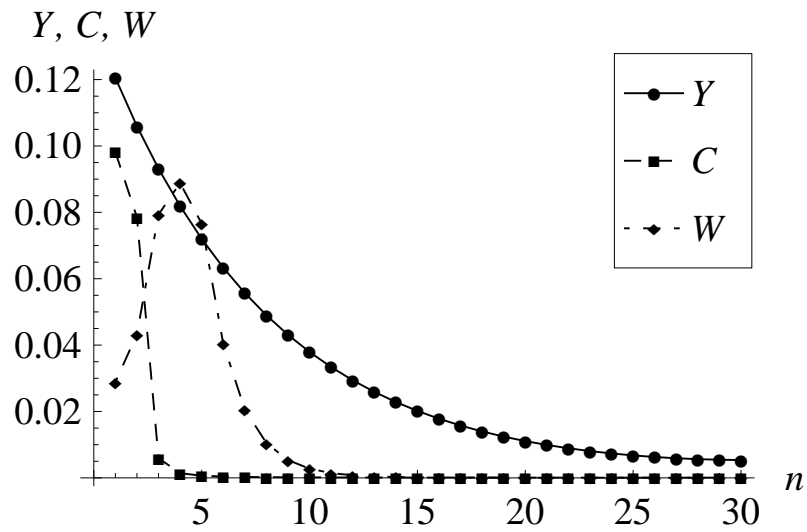


Рис. 3.2. Стационарное распределение концентраций веществ Y , C и W в зависимости от номера клетки n , начиная от верхушки меристемы (рисунок из статьи [7])

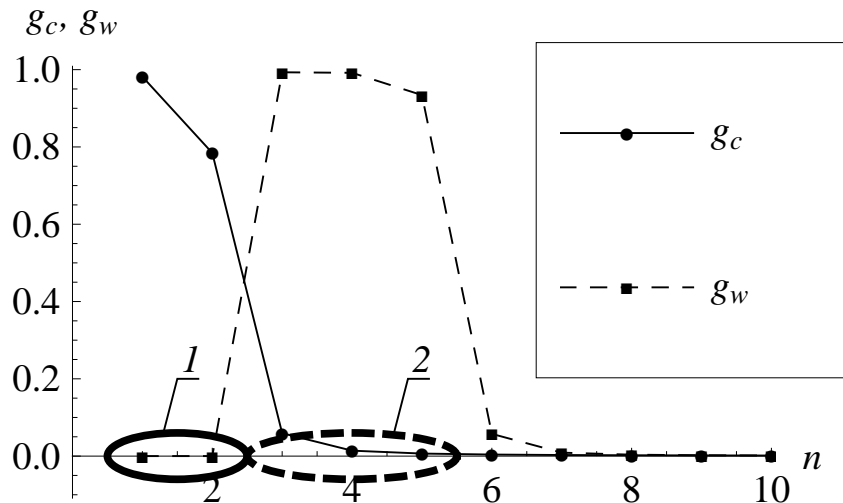


Рис. 3.3. Расположение центральной зоны (1) и организационного центра (2) и соответствующие им уровни экспрессии генов C и W . По оси абсцисс номера клеток n начиная от верхушки меристемы (рисунок из статьи [7])

экспериментальными данными, показанными пунктиром на рис. 3.1. Устойчивость стационарных решений определялась численно через интегрирование задачи Коши (3.1)–(3.5) с начальными данными в виде возмущенного стационарного решения, моделирующими результат деления клеток.

Для последующих вычислительных экспериментов были использованы следующие численные значения параметров: $\beta_y = 60$, $\beta_w = 15$, $d_c = 10$, $d_w = 7.5$, $E_{yw} = 400$, $E_{cy} = 200$, $E_{wy} = 450$, $E_{wc} = -1000$, $h_y = -5$, $h_c = -20.5$, $h_w = -30$.

3.2.1. Формализация модели в виде dL-системы

Для того, чтобы изучать эффект деления клеток на структуру АМП, модель была реализована в виде dL-системы в пакете «МРТ». Как отмечено выше, расположение ЦЗ и ОЦ в АМП определяется пространственным распределением концентраций веществ-морфогенов: Y , C и W . В зависимости от скоростей синтеза этих веществ было выделено три типа клеток: S_w — клетки, в которых синтез вещества W больше определённого порога эти клетки в модели представляют ОЦ; S_c — клетки ЦЗ, расположенные перед клетками S_w ; S_d — клетки, расположенные за клетками S_w , — эти клетки утратили способность делиться и стали специализироваться в клетки сосудистой системы. Клетки типов S_c и S_w при достижении определённого возраста могут делиться.

В модели алфавит L-системы $V = \{S_c, S_w, S_d\}$ состоит из трёх символов, состояние каждой клетки описывается четырьмя параметрами: ϕ — возраст клетки, y , c , w — концентрации соответствующих вещества.

3.3. Вычислительные эксперименты, результаты и обсуждения

Для нормального функционирования ниша стволовых клеток должна иметь определённую структуру, в модели это означает «правильное» пространственное распределение синтеза и концентраций веществ. В резуль-

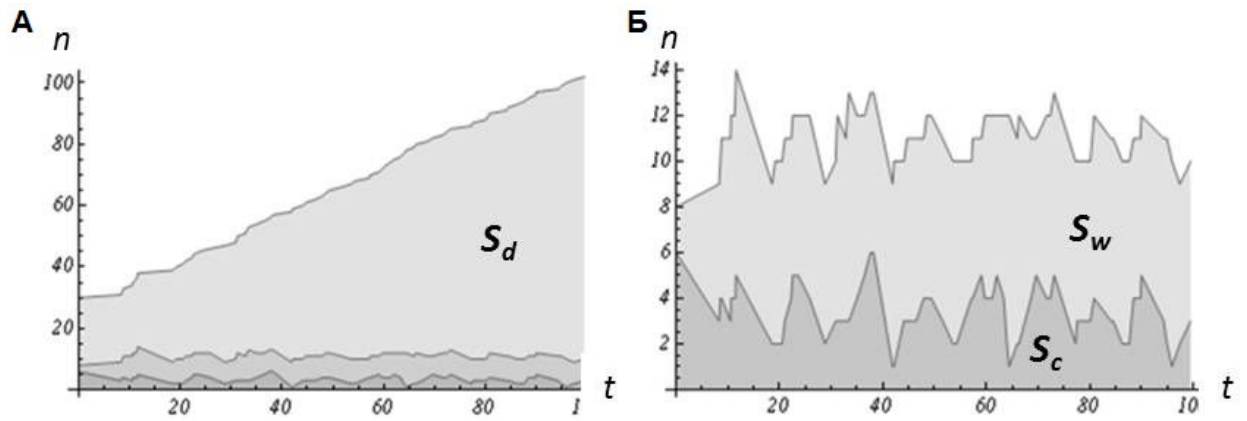


Рис. 3.4. Результат вычислительного эксперимента. Динамика числа клеток типа S_d (рисунок А), S_c и S_w (рисунок Б) в клеточном массиве. t — время в условных единицах, n — число клеток.

тате возмущений, вызываемых делениями клеток, структура ниши стволовых клеток может разрушаться. Это значит, что после возмущения модель вернётся уже не к «правильному» стационарному решению, а к решению, концентрации веществ во всех клетках близки к нулю, что можно интерпретировать как разрушение структуры ниши стволовых клеток. В данной работе принято предположение о том, что АМП является «живучей», если вероятность разрушения «правильной» структуры мала на протяжении времени, равного 20 средним клеточным циклам в АМП (например, для арабидопсиса по времени это в среднем соответствует жизненному циклу растения).

В вычислительном эксперименте поведение модели изучалось при росте и делениях клеток. 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. 3.5 А).

Поскольку в модели диффузия является механизмом распространения сигналов, можно ожидать, что соотношение характерных времен роста и деления клеток, с одной стороны, и диффузии W и Y , с другой стороны,

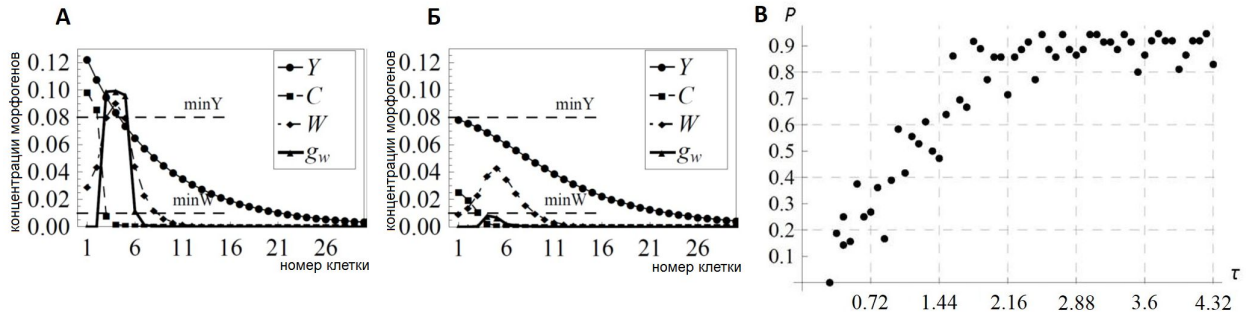


Рис. 3.5. Распределение концентраций морфогенов в клетках вдоль центральной оси АМП. **А.** Стабильная структура **Б.** Разрушение структуры. **В.** Вероятность P разрушения структуры ниши стволовых клеток за время 20 клеточных циклов в зависимости от τ (см. пояснения в тексте).

должно играть ключевую роль в устойчивости структуры АМП. На основании качественных рассуждений можно ожидать, что разрушение структуры АМП произойдет, если в результате серии делений клеток перед ОЦ он окажется достаточно далеко от первой клетки, и в результате в ней снизится концентрация W . Далее упадет скорость синтеза Y , и через некоторое время это приведет к снижению его концентрации в клетках ОЦ, и, следовательно, к снижению в них скорости синтеза W . Таким образом, соотношение характерных времен роста и деления клеток, с одной стороны, и диффузии W и Y , с другой стороны, должно играть ключевую роль в устойчивости структуры АМП. В качестве характерного времени транспортных процессов мы выбрали время достижения определенной концентрации W в первой клетке в результате его распространения из клеток ОЦ, где происходит его синтез.

Характерное время определяется в следующем вычислительном эксперименте. В начальной аксиоме все концентрации веществ и скорости их синтеза заданы равными нулю. Начиная с момента $t = 0$ скорость синтеза вещества W в ОЦ (4-я и 5-я клетки массива) равна 1: $g_{w4} = 1, g_{w5} = 1$. В результате синтеза вещества W в организационном центре и его транспорта будет возрастать его концентрация в первой клетке. Время, необходимое

для достижения в первой клетке концентрации W такой, при которой зависящая от W скорость синтеза Y в первой клетке станет равной его значению при стационарном решении, принимается в качестве *единицы характерного времени* процессов в данной динамической системе.

В серии вычислительных экспериментов было определена зависимость вероятности разрушения пространственной структуры ниши стволовых клеток АМП от отношения (τ) безразмерного характерного времени распространения морфогена w от ОЦ до первой клетки к средней длине клеточного цикла (3.5 В). В частности, было показано, что увеличение отношения τ приводит к возрастанию вероятности разрушения структуры ниши стволовых клеток. Последнее означает, что после возмущения нарушается правильная взаимная регуляция экспрессии генов, и в итоге экспрессия генов прекращается (рис. 3.5 Б). В случаях относительно быстрых темпов клеточного цикла, несмотря на нюансы, разрушение пространственной структуры происходит сходным образом. Например, следующая цепочка событий приводит к разрушению системы. В результате двух подряд случайных делений клеток ОЦ образуется «плато концентрации» вещества Y . Это приводит к тому, что в ОЦ снижается концентрация Y и концентрация W в 1-й клетке. Затем, если разделилась 2-я клетка, зона синтеза вещества W отодвинулась в пятую и шестую клетки, в результате еще более снизилась концентрация W в первой клетке. Это привело к катастрофическому снижению синтеза Y в первой клетке и дальнейшему быстрому обнулению концентраций всех остальных веществ, т.е. разрушению системы.

3.4. Заключение к главе 3

В формализме L-систем построена одномерная модель регуляции структуры возобновительной зоны в биологической ткани на примере апикальной меристемы побега арабидопсиса. Показано, что деление клеток яв-

ляется возмущающим фактором для системы регуляции структуры возобновительной зоны. Показано, что вероятность разрушения пространственной структуры возрастает с увеличением безразмерного характерного времени распространения морфогена w от ОЦ до первой клетки к средней длине клеточного цикла.

4. Компьютерное моделирование роста эпидермиса линейной листовой пластинки

Глава посвящена изучению методами компьютерного моделирования закономерностей однонаправленного симпластного роста эпидермального слоя линейного листа с учётом биомеханики роста клетки и ткани.

4.1. Биологические предпосылки и назначение модели

4.1.1. Объект моделирования

В качестве биологического объекта для моделирования был выбран эпидермис линейной листовой пластинки (далее в тексте этой главы, говоря о листе, имеем в виду листовую пластинку). Линейные листья характерны для однодольных растений, в частности, для злаков. Выбор этого объекта моделирования обусловлен относительно регулярным (по сравнению с поверхностью листа двудольных) паттерном клеток, которые формируют эпидермис. Разделение между эпидермисом и внутренними тканями является существенной особенностью высших растений [162], поэтому мы можем в модели рассматривать эпидермис как отдельную плоскую двумерную структуру.

Клеточная структура эпидермиса листа злаков представляет собой почти параллельные ряды клеток, ориентированные в направлении от основания до кончика листа, которые формируются в результате однонаправленного роста и деления меристематических клеток листа в зоне, расположенной в его основании. Ряды отличаются друг от друга типом клеток, из которых состоит ряд. Есть ряды, в которых формируются устьица, ряды с клетками-трихомами, ряды с сильно удлинёнными клетками и ряды

с «обычными» клетками. Как правило, между парой параллельных жилок линейного листа находится одинаковое количество разнотипных рядов, расположенных в определенном порядке. Симпластный рост растительной ткани позволил на модельном примере изучать, в некоторой степени, искусственный эпидермис, составленный из рядов, содержащих лишь «сестринские» клетки (см. обзор литературы, раздел 1.1.2 и рис. 1.6). С одной стороны, это существенно упрощает модель, с другой, сохраняет все особенности механики симпластного роста, формирования зон роста и динамики роста листа, что и является предметом изучения данной работы.

4.1.2. Зоны роста и кинетика роста листа пшеницы

Продольный рост листовой пластинки осуществляется в сравнительно короткой части листа, расположенной в его основании. Эта растущая часть листовой пластинки состоит из двух зон: меристемы (зоны роста делением клеток) и зоны роста растяжением клеток. Протяженность меристемы существенно меньше, чем зоны роста растяжением. Клетки меристемы растут с определенной скоростью и делятся, поэтому средняя длина клеток в этой зоне мало меняется как от места к месту, так и во времени. С переходом в зону растяжения их деление прекращается, и клетки переходят в фазу быстрого роста за счет продольного растяжения — их средняя длина увеличивается в направлении от основания листа к его вершине. В конце зоны растяжения удлинение клеток прекращается. Существует ряд гипотез относительно возможных механизмов формирования зон роста. Некоторые механизмы перехода клеток от роста делением к росту растяжением были исследованы на модели роста корня [191]. Авторы работы пришли к заключению, что формирование размеров зон происходит под влиянием концентраций ауксина и цитокинина. В то же время в экспериментальной работе [123] на листе кукурузы было показано, что в листе переход между зоной роста делением и зоной роста растяжением может определяться рас-

пределением концентраций фитогормонов (рис. 1.5 из обзора литературы).

В модели, представленной в данной диссертации, принято предположение о том, что переход клеток между зонами определяется порогом концентрации некоторого морфогена, который синтезируется в основании листовой пластинки. Ранее в работе, посвященной регуляции размеров зон в апикальной меристеме побега [7], мы исследовали одномерную модель формирования трех зон на растущем массиве клеток, и показали существование параметров, при которых обеспечивается устойчивость такой регуляции. Это явилось основанием для того, чтобы в рассматриваемой здесь модели роста листовой пластинки не моделировать явно регуляцию формирования зон листа, а просто постулировать наличие стабильных зон роста делением и роста растяжением определенных размеров.

Размеры зоны роста делением и зоны роста растяжением в модели были взяты из экспериментальных измерений кинетических характеристик клеток листа пшеницы из работы [23]. В таблице 4.1 приведены экспериментальные данные о линейных размерах зон роста листа и количестве клеток в каждой зоне для «сестринских клеток» одного из исследованных в этой работе листьев.

Таблица 4.1. Экспериментальные данные о зонах роста листа пшеницы (из статьи [23]). Зона роста листа (GZ) включает зону роста делением (DZ) и зону роста растяжением (EZ).

| Название зоны | GZ | = | DZ | + | EZ |
|---------------------------|------|---|-----|---|------|
| Средняя длина зоны, мм | 23.8 | | 3.3 | | 20.5 |
| Среднее количество клеток | 356 | | 149 | | 207 |

Для верификации модели использовались данные о распределении средних наблюдаемых длин клеток вдоль зоны роста листа пшеницы из работы [23], представленные на рис. 4.1. Зона роста листа была разбита на

отрезки по 0.5 мм около основания листа, далее по 1 мм, затем по 2 мм. Точки на рисунке соответствуют средней длине клеток одного продольного ряда, которые попали на отрезок.

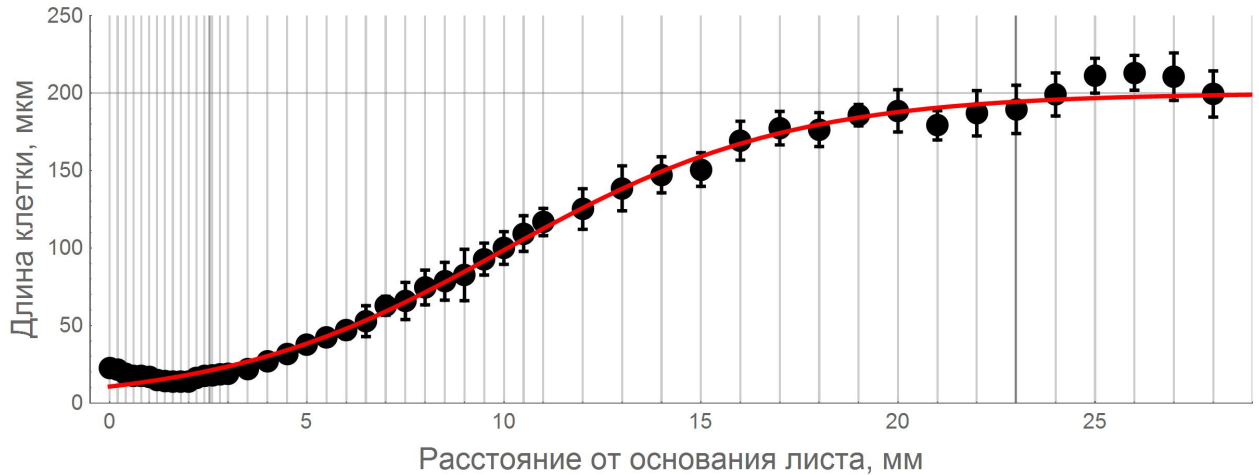


Рис. 4.1. Экспериментальные данные о распределении длин клеток вдоль продольного ряда сестринских клеток листа пшеницы из статьи [23]. Точки обозначают среднюю длину клеток на отрезках, обозначенных серыми линиями, чёрные вертикальные линии — границы зоны роста делением и зоны роста растяжением. Красная кривая — аппроксимация данных функцией Ричардса [120] ($f_R(t) = \frac{l_{max}}{(1+e^{-k(t-x)})^{1/n}}$, где $l_{max} = 200$, $k = 0.27$, $x = 9.72$, $n = 0.93$).

4.1.3. Механика и кинетика роста растительной клетки

Накопленный к настоящему времени экспериментальный материал привел к следующим представлениям о механике роста растительной клетки.

Увеличение концентрации сухого вещества в клетке за счёт биосинтеза ведет к повышению осмотического давления внутри клетки, которое вызывает приток воды в клетку и повышение гидростатического давления внутриклеточной жидкости на клеточную стенку. Под влиянием внутреннего гидростатического (тургорного) давления клеточная оболочка растя-

гивается и переходит в напряженно-деформированное состояние — тургор. Давление, под действием которого вода осмотически притекает в клетку, равно разности между осмотическим давлением и тургорным давлением. Эту величину называют водным потенциалом, или сосущей силой. Таким образом, поток воды внутрь клетки происходит до тех пор пока осмотическое давление превышает тургорное.

С точки зрения механики роста, растительную клетку можно рассматривать как осмотическую ячейку в упруго-пластической оболочке. Увеличение размеров клетки происходит за счёт тургорного давления и пластической деформации клеточной стенки.

Клеточные стенки являются композитными материалами с одинаковым планом строения в основе которого лежат жесткие и устойчивые к напряжению микрофибриллы целлюлозы сшитые с матрицей, состоящей из гемицеллюлозы и/или пектина, структурных белков, и, в некоторых типах клеток, лигнина [198]. При небольших деформациях материал клеточной стенки ведет себя как упруго деформируемое тело, т.е. напряжение σ в теле пропорционально деформации ϵ , $\sigma = E \epsilon$, где E — модуль упругости материала (модуль Юнга). При повышении тургорного давления выше определенного порога, разного для разных типов клеток, и при соответствующем нарастании механического напряжения, клеточная стенка начинает деформироваться пластически за счет двух процессов. Во-первых, начинается разрушение связей, ответственных за упругую деформацию, и происходит перегруппировка частей материала (ползучесть). Во-вторых, начинается биосинтез вещества клеточной стенки, который клетка добавляет в клеточную стенку, чтобы по мере увеличения длины клетки не уменьшалась ее толщина, т.е. можно предполагать, что клетка активно управляет процессом пластической деформации, изменяя релаксированную длину. При такой пластической деформации напряжение в клеточной стенке и тургорное давление падают, что способствует возобновлению потока воды внутрь клетки. Это и есть видимый рост клетки.

Из таких представлений о механике роста растительной клетки следует, что соответствующие модели роста клетки требуют знаний о росте концентрации биомассы и осмолитов в клетке, о росте клеточной стенки и их регуляции.

Изучение роста и регуляции ростовых процессов отдельных клеток (рост размера, общей и сухой биомассы и ее состава) до недавнего времени тормозились большими экспериментальными трудностями. И только сравнительно недавно стали появляться данные о динамике роста размеров и биомассы отдельной клетки, данные о росте клеточной стенки [46], и эти вопросы активно изучаются по настоящее время [98, 74]. Обзор литературы показал, что для роста отдельных клеток приводятся разные функции роста, и нет достаточных оснований для выбора одной функции роста сухой биомассы клетки для модели. В связи с этим, в данной работе исследовалась механика роста растительной клетки при разных предположениях о росте сухой биомассы клетки и его регуляции.

По такой же причине были рассмотрены два варианта возможной регуляции роста клеточной стенки на протяжении клеточного цикла: (а) пропорционально функции роста сухой биомассы, (б) пропорционально скорости роста сухой биомассы.

Исследование автокаталитической модели роста клетки показало, что существует набор параметров, при которых клетка растет с постоянной скоростью. Модель роста ткани с постоянной скоростью роста клетки рассматривалась в качестве одной из альтернативных в работе [191] для моделирования роста корня. Эти обстоятельства определили то, что в модели роста листовой пластинки, представленной в диссертации, также была использована кусочно-линейная функция роста клетки. Для средней продолжительности клеточного цикла в зоне роста делением в модели было использовано значение 24.7 часа, для средней продолжительности периода роста растяжением — значение 71.09 часа (данные из работы [23]). Начальные и конечные значения наблюдаемых средних длин клеток в каждой зоне

приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2. Экспериментальные данные о средних наблюдаемых размерах (в мкм) клеток в зоне роста делением и в зоне роста растяжением.

| Параметр | Значение |
|--|----------|
| Средняя начальная длина клетки в зоне роста делением | 14.74 |
| Средняя конечная длина клетки в зоне роста делением | 29.48 |
| Средняя длина клетки в зоне роста делением | 22.11 |
| Средняя длина клетки в зоне роста растяжением | 197.2 |

4.1.4. Симпластный рост растительной ткани и проблема координации роста клеток

Симпластный рост является отличительным свойством растительной ткани. При симпластном росте растительной ткани клетки не сдвигаются друг относительно друга, и топология ткани изменяется только в результате деления клеток. При этом, если клетки, из которых составлена ткань, растут с разными скоростями, в ткани могут возникать механические напряжения. На рис. 4.2 показан пример, когда в листе видимые размеры двух клеток одинаковы, хотя функции роста их размеров отличаются, поэтому клетки находятся в напряженно-деформированном состоянии.

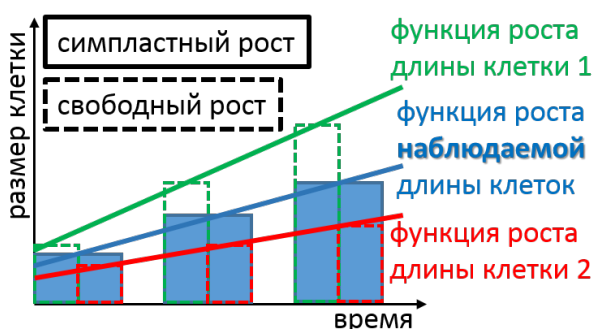


Рис. 4.2. Симпластный и свободный рост клетки

Вопрос о том, как и до какой степени координируется рост клеток в растительной ткани, остается открытым до настоящего времени, и этот вопрос мотивировал исследования, представленные в данной главе. А именно, была поставлена задача определить, какие механические силы начинают испытывать клетки, если они растут автономно (т.е. так, как они росли бы сами по себе), но в составе симпластно растущей ткани. Решение этой задачи является первым шагом к тому, чтобы определить необходимость и способы регуляции роста клетки для его координации с ростом ткани в целом.

С другой стороны, в существующих в настоящее время моделях роста растительной ткани, основанных на моделировании роста клеток (например, модели динамики вершин), по умолчанию принимается автономный рост клеток. И в вычислительных экспериментах показано, что удается подобрать параметры таких моделей так, что они хорошо воспроизводят характерные паттерны клеточного строения ткани и его динамику [191]. Тогда возникает вопрос: какие механические условия испытывают при этом клетки? Современные модели типа динамики вершин не могут на это ответить, т.к. для имитации изменения геометрии клеток при росте ткани в них используются потенциальные силы, трудно интерпретируемые в содержательных терминах механики роста растительной клетки, о которых говорилось в предыдущем разделе. И это обстоятельство также мотивировало данную работу.

4.1.5. Назначение клеточно-ориентированной модели роста листа

Таким образом, были поставлены следующие основные задачи, для решения которых предназначена клеточно-ориентированная модель роста листа, разработанная в рамках диссертации.

1. Изучить давления и механические напряжения, действующие на ав-

тономно растущую клетку в симпластно растущей ткани. Такая задача мотивируется до сих пор не решенной проблемой о роли механических напряжений и деформаций как регуляторов роста клеток при морфогенезе.

2. Проверить, при каких условиях модель динамики вершин, основанная на предложенной нами модели роста клетки, может аппроксимировать рост листовой пластинки. Этот вопрос мотивируется тем, что используемые в настоящее время клеточно-ориентированные модели роста ткани (модель динамики вершин) рассматривают довольно абстрактные потенциалы для описания механики роста.

4.2. Математическое описание модели

4.2.1. Логика построения модели симпластного роста и основные блоки модели

Компьютерное моделирование однонаправленного симпластного роста эпидермиса линейной листовой пластинки включало следующие этапы:

1. моделирование автономного роста одной растительной клетки,
2. моделирование симпластного роста автономно пролиферирующих клеток в зоне роста делением,
3. моделирование симпластного роста автономно пролиферирующих клеток в зоне роста делением и зоне роста растяжением.

На первом этапе была построена *модель биомеханики автономного роста отдельной растительной клетки*. Механика упруго-пластических деформаций клетки в модели описывается уравнением Локхарта [110] в модификации Ортеги [131]. Чтобы явно учесть динамику биомассы, которая является «движущей силой» роста, в разрабатываемую модель был добавлен блок роста биомассы. Полученная модель позволила изучить режимы

автономного роста растительной клетки при разных функциях роста сухой биомассы клетки и разных параметрах, определяющих осмотическое и механическое поведение.

Рассмотрение геометрии однонаправленного роста линейного листа позволило перейти в модели автономного роста клетки к новым переменным состояниям растущей клетки, которые входят и в описание симпластного роста.

На следующем этапе была построена модель механики роста клетки в составе симпластно растущей ткани. Это позволило изучить особенности механических нагрузок на клетку в составе симпластно растущей ткани.

Наконец, учет зон роста делением и растяжением на листовой пластинке в модели позволил при определённых параметрах аппроксимировать экспериментальные данные по росту листа пшеницы, и проанализировать при этом механическое поведение клеток.

4.2.2. Модель биомеханики автономного роста растительной клетки

Общая модель биомеханики автономного роста растительной клетки

С учетом механики роста растительная клетка в модели (4.1)–(4.6) представлена в виде осмотической ячейки (протопласт) в упруго-пластической оболочке (клеточная стенка). Если протопласт растительной клетки (клетку без клеточной стенки) поместить в питательный раствор, в котором эта клетка растёт, то её объём станет таким, что протопласт будет находиться в осмотическом равновесии с раствором. Этот объём обозначили в модели V_i , и назвали изосмотическим объёмом клетки. При таком определении V_i количество сухого вещества в клетке (и, при неизменном составе, — осмолитов) будет пропорционально изосмотическому объёму клетки, следовательно, мы можем принять его в качестве единицы

измерения сухой биомассы клетки. Ясно, что при этом концентрация сухой биомассы в клетке будет пропорциональна V_i/V .

$$\frac{dc}{dt} = F_{grow} + \frac{\partial c}{\partial V} \cdot \frac{dV}{dt} \quad (4.1)$$

$$P_{osm} = c R T \quad (4.2)$$

$$P_{turg} = E \frac{Vr - V}{Vr} \quad (4.3)$$

$$\Psi_w = P_{osm} - P_{turg} \quad (4.4)$$

$$\frac{dV}{V dt} = S L \Psi_w \quad (4.5)$$

$$\frac{dVr}{dt} = \eta \Phi(\{\Xi\}, (P_{turg} - thresh)) \quad (4.6)$$

Изменение концентрации сухого вещества c в клетке (уравнение 4.1) за счет биосинтеза (функция роста F_{grow}) и за счет изменения объема клетки ($\partial c/\partial V$) ведет к изменению осмотического давления внутри клетки (уравнение 4.2, где T — абсолютная температура, R — универсальная газовая постоянная). Это давление является причиной поступления воды в клетку, которая при этом упруго растягивает клеточную стенку, что приводит к возникновению механического напряжения ($\epsilon = (Vr - V) / Vr$) в стенке, и, как следствие, — к возникновению гидростатического давления внутри клетки (это по сути — тургорное давление (уравнение 4.3)). Переменная Vr отражает релаксированный объём клетки, т.е. объём, который примет клеточная стенка, если клетку поместить в гипертонический раствор; при этом клетка потеряет тургор, и клеточная стенка перестанет находиться в напряженно-деформированном состоянии. Поток воды внутрь клетки (уравнения 4.4 и 4.5) происходит пока осмотическое давление превышает тургорное. При повышении тургорного давления выше определенного порога $thresh$, разного для разных типов клеток, начинается биосинтез вещества клеточной стенки. Эти вещества доставляются в стенку, и она начинает расти со скоростью $\eta \Phi$, зависящей от параметров $\{\Xi\}$ и от тургорного давления (уравнение 4.6). Диаграмма динамической системы, опи-

сывающей автономный рост растительной клетки в переменных V_i, V, Vr , представлена на рис. 4.3.

Модель биомеханики однонаправленного роста растительной клетки

Клетка эпидермиса линейной листовой пластинке представлена в модели в виде параллелепипеда объёмом $V = l \cdot r_1 \cdot r_2$. Поскольку эпидермис линейной листовой пластинки является плоской структурой, мы рассматривали его двумерную модель, пренебрегая изменением толщины r_1 клеток в процессе роста. Клетки в эпидермисе линейной листовой пластинки образуют параллельные ряды, из чего можно заключить, что в ширину r_2 клетки, как правило, растут согласованно, и при росте не возникает сдвиговых сил между соседними клетками в ряду. Поэтому в модели роста (4.1) – (4.6) можно также пренебречь изменением ширины клеток и считать, что в процессе их роста изменяется только их длина l . Это рассуждение позволяет перейти от описания механики роста клетки в терминах объёмов к описанию в терминах длин: l — видимая длина клетки, lr — релаксированная длина клетки (длина стенки в ненапряженном состоянии), li — изоосмотическая длина клетки (длина клетки, если бы ее не сдерживала растянутая клеточная стенка). В этих переменных осмотическое и тургорное давления можно выразить следующим образом:

$$P_{osm} = \alpha \frac{li - l}{l}, \quad (4.7)$$

$$P_{turg} = \frac{S_w}{S_c} E \frac{l - lr}{lr}, \quad (4.8)$$

где S_w — площадь сечения клеточной стенки, $S = r \cdot r$ — площадь сечения клетки перпендикулярно её длине (здесь и далее будем считать, что $r = r_1 = r_2$), E — модуль Юнга материала клеточной стенки, α — коэффициент осмотического давления.

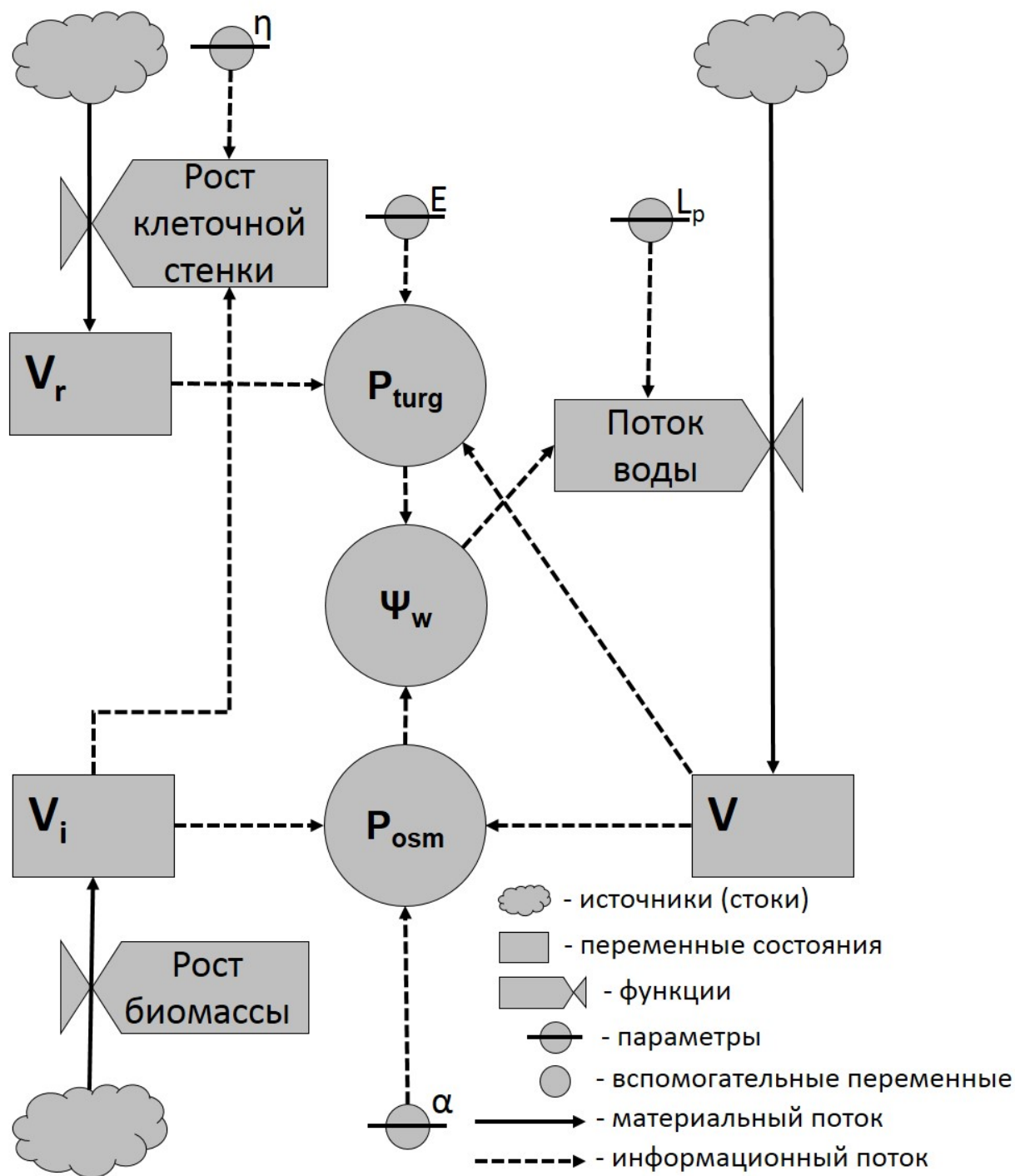


Рис. 4.3. Диаграмма Форрестера для модели автономного роста растительной клетки. Обозначения: V_i — изоосмотический объём клетки, V — наблюдаемый объём клетки, V_r — релаксированный объём клетки, P_{turg} — тургорное давление, P_{osm} — осмотическое давление, Ψ_w — водный потенциал, η — коэффициент роста клеточной стенки, L_p — гидропроводность клеточной стенки, E — модуль Юнга материала клеточной стенки, α — коэффициент пересчета осмотического давления.

Тогда скорость изменения наблюдаемой длины клетки l выражается уравнением:

$$\frac{dl}{dt} = r \cdot l \cdot L \cdot \left(\alpha \frac{li - l}{l} - \frac{S_w}{S_c} E \frac{l - lr}{lr} \right), \quad (4.9)$$

Или для удельной скорости роста:

$$\frac{dl}{l dt} = r \cdot L \cdot \left(\alpha \frac{li - l}{l} - \frac{S_w}{S_c} E \frac{l - lr}{lr} \right). \quad (4.10)$$

Зависимость изменения релаксированной длины клетки lr от времени определяется уравнением:

$$\frac{dlr}{dt} = \eta \Phi \left(\{\Xi\}, \left(\frac{S_w}{S_c} E \frac{l - lr}{lr} - thresh \right) \right). \quad (4.11)$$

Рост изоосмотической длины li задаётся явной функцией роста:

$$li(t) = F_{grow}(t) \quad (4.12)$$

Таким образом, модель однонаправленного роста клетки определяется уравнениями (4.9) – (4.12),

Механика симпластного однонаправленного роста двух растительных клеток

Для моделирования симпластного роста клеток в растительной ткани полезно рассмотреть простой случай симпластного роста двух клеток. Пусть механические свойства клеточной стенки такие, что дополнительная сила, приложенная вдоль одной стороны клетки, параллельной направлению роста клетки, вызывает продольную деформацию клетки без изменения ее формы как прямоугольного параллелепипеда. В этом случае две симпластно растущие клетки остаются прямоугольными параллелепипедами и характеризуются переменными li_1, l_1, lr_1 и li_2, l_2, lr_2 . Чтобы найти скорость их симпластного роста, рассмотрим следующую ситуацию. Пусть

эти две клетки растут автономно с разными скоростями. И пусть в некоторый момент времени они имеют одинаковую длину (l), и в этот момент их склеили продольными сторонами, так что они стали расти симпластно. В результате клетки станут оказывать друг на друга дополнительные силы (одинаковые по величине и разные по направлению). При одинаковых поперечных сечениях клеток и клеточных стенок и одинаковых значениях упругости материалов клеточных стенок эти дополнительные силы можно выразить как дополнительные давления P_{ex} , приложенные вдоль направления роста. В этот момент скорости роста клеток будут выражаться:

$$\frac{dl_1}{dt} = r \cdot l \cdot L \cdot (P_{osm,1} - P_{turg,1} + P_{ex}), \quad (4.13)$$

$$\frac{dl_2}{dt} = r \cdot l \cdot L \cdot (P_{osm,2} - P_{turg,2} - P_{ex}), \quad (4.14)$$

и будут равны $dl_1/dt = dl_2/dt = dl/dt$, поскольку клетки стали расти симпластно. Отсюда величина дополнительного давления, которое клетки оказывают друг на друга равна:

$$P_{ex} = \frac{1}{2} ((P_{osm,2} - P_{turg,2}) - (P_{osm,1} - P_{turg,1})). \quad (4.15)$$

Подстановка P_{ex} в уравнение 4.13 с учетом $dl_1/dt = dl/dt$ дает выражение для скорости симпластного роста клетки:

$$\begin{aligned} \frac{dl}{dt} &= r \cdot l \cdot L \cdot \left(P_{osm,1} - P_{turg,1} + \frac{1}{2} ((P_{osm,2} - P_{turg,2}) - (P_{osm,1} - P_{turg,1})) \right) \\ &= \frac{1}{2} r \cdot l \cdot L \cdot ((P_{osm,1} - P_{turg,1}) + (P_{osm,2} - P_{turg,2})) \\ &= \frac{1}{2} \left(\frac{dl_1}{dt} + \frac{dl_2}{dt} \right). \end{aligned} \quad (4.16)$$

Таким образом, при одинаковых параметрах механических свойств материала клеточных стенок, скорость двух автономно растущих и склеенных между собой клеток (симпластная скорость роста) равна средне-

му арифметическому их автономных скоростей роста. Нетрудно убедиться, что симпластная скорость роста нескольких склеенных между собой клеток так же равна среднему арифметическому их автономных скоростей при определенных выше условиях.

4.2.3. Геометрическая модель линейной листовой пластинки и механика симпластного роста клеток

Хотя эпидермис листа пшеницы состоит из разных типов клеток, механика симпластного роста позволяет в модели эпидермиса рассматривать только ряды с определённым типом клеток. В модели были рассмотрены «сестринские» клетки, обозначенные пунктирными стрелками на рис. 4.4 А. В результате, поверхность линейного листа в модели представлена как «кирпичная кладка» из прямоугольных клеток, уложенных в продольные ряды, в которых все клетки имеют одинаковую и постоянную ширину и разную длину (вследствие разных скоростей роста клеток), при этом «модельный лист» тоже имеет форму прямоугольника. Ввиду такой простой топологии, несмотря на то, что нас интересует поверхность листа, мы можем моделировать ткань не как двумерную, а как несколько одномерных цепочек, которые «склеены» между собой, последнее как раз и учитывает симпластный рост.

В данной работе мы предположили, что клетка в листовой пластинке растет в оптимальных условиях, и её рост описывается такой же зависящей от времени функцией роста для изоосмотической длины, как и для одиночной клетки, и имеет такие же механические параметры (табл. 4.3). Единственным дополнительным условием является то, что её стенки склеены со стенками соседних клеток.

И, так как соседние клетки могут расти с разными скоростями, общие фрагменты их стенок вызывают взаимные дополнительные напряжения друг в друге. В результате скорость роста общего фрагмента становится

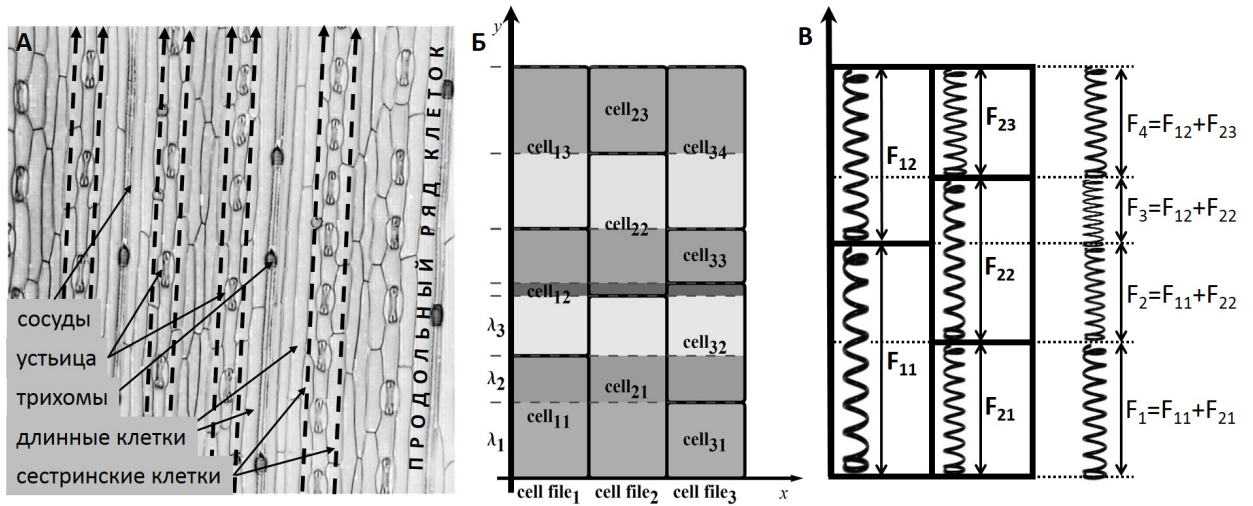


Рис. 4.4. **А.** Эпидермис листа пшеницы (Изображение получено А.В. Дорошковым, и обработано автором диссертации в пакете *Mathematica*). **Б.** Схема разбиения клеток «модельного листа» на фрагменты $\{\lambda_1, \lambda_2, \dots\}$. При таком разбиении, например, фрагмент λ_2 принадлежит клеткам $cell_{11}$, $cell_{21}$ и $cell_{32}$. **В.** Сила, растягивающая фрагмент есть сумма сил, растягивающих клетки, куда входит фрагмент.

отличной от скоростей свободного роста соответствующих клеток, и, следовательно, рост клеточной стенки в пределах одной клетки становится неоднородным.

Рассмотрим прямоугольный пласт из прямоугольных клеток (рис. 4.4 **Б**) в координатах Oxy , так что клетки растут в направлении Oy . Занумеруем продольные ряды клеток в направлении Ox индексом n ($n = 1, \dots, N$), а в каждом продольном ряду в направлении Oy — индексом m , ($m = 1, \dots, M_n$). Для моделирования симпластного роста клеток в линейной ткани каждую клетку разобьем на фрагменты следующим образом. Границу каждой клетки, параллельную Ox продолжим через весь клеточный пласт, в результате, в направлении Oy лист будет разбит на фрагменты, которые занумеруем индексом k , ($k = 1, \dots, K$), а длину k -го фрагмента обозначим через λ_k .

С механической точки зрения фрагмент λ_k листа представляет собой

склеенные фрагменты клеток, на каждый из которых действует своя сила, определяемая тургорным давлением в соответствующей клетке. Следовательно, на весь фрагмент действует сумма этих сил (рис. 4.4 **В**). Если для упрощения модели предположить, что параметры, определяющие механическое поведение (L, η, α, E) , одинаковы для всех клеток, то суммарные значения сечений для всего фрагмента будут равны соответствующим значением для одной клетки, умноженным на количество клеток. Из рассмотренных в разделе 4.2.2 соображений следует, что изменение длины общего для всех клеток фрагмента определяется формулой:

$$\frac{d\lambda_k}{dt} = \frac{\lambda_k}{N} \sum_{n=1}^N \left(\frac{dl_{mn}}{l_{mn}dt} \right)_f, \quad (m : \lambda_k \in l_{mn}), \quad (4.17)$$

где $\left(\frac{dl_{mn}}{l_{mn}dt} \right)_f$ — удельная скорость изменения длины клетки в данный момент времени, *если бы у нее не было механических связей с соседними клетками*. Эта скорость определяется формулой (4.10) для соответствующих клеток.

Наблюдаемая длина каждой клетки *в составе ткани* есть сумма длин принадлежащих ей фрагментов:

$$\frac{dl_{mn}}{dt} = \sum_{\lambda_k \in l_{mn}} \frac{d\lambda_k}{dt} = \sum_{\lambda_k \in l_{mn}} \frac{\lambda_k}{N} \sum_{n=1}^N \left(\frac{dl_{mn}}{l_{mn}dt} \right)_f \quad (4.18)$$

В данной работе мы изучаем следствия предположения, что клетка в ткани растет автономно, поэтому рост изоосмотической длины (li_{mn}) и релаксированной длины (lr_{mn}) регулируется каждой клеткой так как если бы она росла свободно. Функция роста изоосмотической длины $li_{mn}(t, t_0, li_{mn}^0)$ каждой клетки задаётся явной функцией, которая зависит от времени, момента времени t_0 , когда клетка появилась, и от её начальной изоосмотической длины li_{mn}^0 .

4.2.4. Формализация модели симпластного роста 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» (глава 2). 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 параметров $\{li, l, lr, t_0, li_0\}$ — изоосмотическая, наблюдаемая и релаксированная длины клетки, момент времени, когда клетка появилась, и начальная изоосмотическая длина клетки.

Для того чтобы обеспечить согласованную работу 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 для параметров li, lr, λ для всех клеток и фрагментов. При делении какой-либо клетки система перестраивается в соответствии с новым набором переменных и новой клеточной структурой ткани.

Правило переписывания является общим для всех $N + 1$ dL-систем и срабатывает в момент t^* деления какой-либо клетки D из зоны деления, когда её изоосмотическая длина li достигает критического значения li_{max} . В этот момент выбирается параметр деления клетки d и клетка переписы-

вается следующим образом:

$$D(li, l, lr, t_0, li_0) \rightarrow D(d \cdot li, d \cdot l, d \cdot lr, t^*, d \cdot li) \\ D((1 - d)li, (1 - d)l, (1 - d)lr, t^*, (1 - d)li),$$

а именно изоосмотическая, наблюдаемая и релаксированная длины материнской клетки делятся между дочерними клетками в отношении $d : (1 - d)$, начальные изоосмотические длины дочерних клеток получают значения $d \cdot li$ и $(1 - d) li$, моменты времени появления дочерних клеток — значения t^* . Параметр d является нормально распределенной случайной величиной со средним значением $\mu_d = 0.5$ и среднеквадратичным отклонением $\sigma_d = 0.1$, с дополнительным условием $0.1 < d < 0.9$. В соответствии с тем, как разделилась наблюдаемая длина материнской клетки, определяется фрагмент λ_m , который нужно разделить и вычисляется коэффициент его деления, вектор номеров клеток разделившегося фрагмента λ_m переписывается в соответствии с новой структурой клеток.

Аксиома задаётся списком букв алфавита, снабжённых параметрами, которые представляют клетки и составляют «модельный лист» из N продольных рядов, в каждом ряду 10 клеток.

Состояние системы (т.е. клеточная структура листа + параметры клеток) на каждом временном шаге записывается в отдельный список, который отражает все изменения, происходившие со структурой листа во время вычислительного эксперимента, и позволяет обрабатывать и визуализировать результаты.

4.3. Вычислительные эксперименты, результаты и обсуждение

4.3.1. План вычислительных экспериментов

План вычислительных экспериментов, изложенных в данном разделе отражает логику построения моделей. Вначале описывается исследование

автономного роста одиночной клетки. В частности, изучается влияние разных функций роста сухой биомассы и функций регуляции роста клеточной стенки на видимый рост и механические характеристики. Затем исследуются особенности автономного роста клеток в симпластно растущей ткани. И завершается описание вычислительными экспериментами по аппроксимации роста эпидермиса листа пшеницы.

4.3.2. Исследование роста одиночной клетки

Вычислительные эксперименты проводили с моделью автономного роста растительной клетки, формализованной в системе уравнений (4.9) – (4.12). Функция роста для изоосмотической длины клетки $li(t)$ в модели задаётся явной функцией. Основываясь на опубликованных данных о возможных функциях роста клеток и на основе биологических соображений, мы проверили несколько функций роста: экспоненциальную, экспоненциально-квадратичную, линейную и сигмоидную (рис. 4.5).

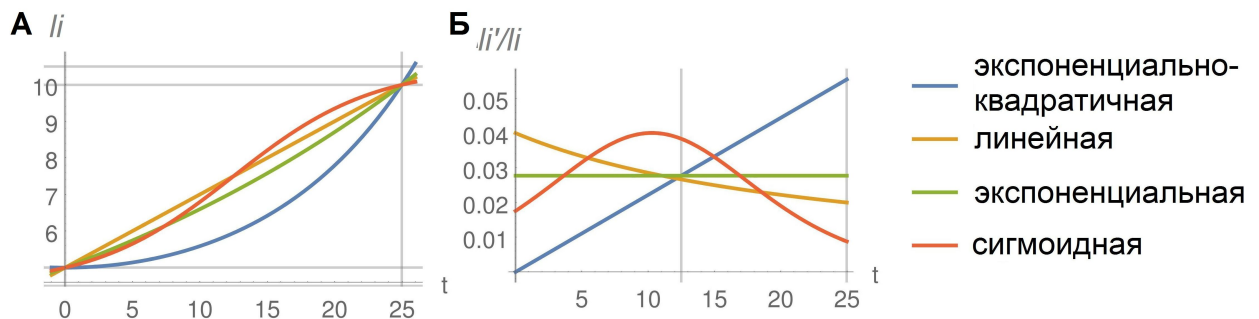


Рис. 4.5. Изменение изоосмотической длины клетки от 5 до 10 мкм за время клеточного цикла, равное примерно 25 часам. **А** Графики функций роста, **Б** графики удельных скоростей роста.

Для моделирования управления ростом релаксированной длины клеточной стенки (dli/dt) функция роста $\Phi(\cdot)$ была представлена в виде

$$\frac{dli}{dt} = \eta \Phi_1(\{\Xi\}) (P_{turg} - thresh)^3 \theta(P_{turg} - thresh), \quad (4.19)$$

где η — коэффициент роста клеточной стенки, $thresh$ — порог тургорного давления, при котором начинается рост релаксированной длины клетки, θ — функция Хевисайда. Строя такую функцию, мы предполагали, что клетка может синтезировать материал на строительство клеточной стенки со скоростью, пропорциональной степенной функции от её деформации и некоторой управляющей функции $\Phi_1(\{\Xi\})$. В вычислительных экспериментах мы рассмотрели два варианта функций управления: $\Phi_1(\{\Xi\}) = li$ и $\Phi_1(\{\Xi\}) = dli/dt$. В первом варианте скорость роста клеточной стенки пропорциональна сухой биомассе клетки, во втором — скорости роста сухой биомассы.

В таблице 4.3 приведены значения «стартового набора» параметров модели, оцененные по косвенным данным, содержащимся в литературе. В вычислительных экспериментах при изучении поведения различных вариантов модели параметры модели варьировались вокруг этого «стартового набора».

Экспоненциально-квадратичная скорость роста.

Экспоненциально-квадратичная функция:

$$li(t) = li(t_0) e^{\nu (t-t_0)^2} \quad (4.20)$$

была получена аппроксимацией экспериментальных данных по росту массы дрожжевой клетки из работы [36], нормировочный коэффициент $\nu = 1/900$ подбирался из условия, что изоосмотическая длина клетки вырастает от 5 мкм до 10 мкм за время $t^* = 30\sqrt{\ln 2} \approx 25$ часов. Такой вид функции был выбран по двум причинам: во-первых, чтобы отобразить наличие лаг-периода в динамике роста массы после появления дочерних клеток, и во-вторых, чтобы функция роста была гладкой, что удобно при моделировании роста ткани. Остальные параметры модели были взяты из таблицы 4.3. Для расчета использовался пакет «МРТ».

Таблица 4.3. Значения параметров модели ($P_{\text{равн.}}$ — механически равновесный режим, $P_{\text{неравн.}}$ — механически неравновесный режим)

| Параметр | $P_{\text{неравн.}}$ | $P_{\text{равн.}}$ | Ссылка |
|---|----------------------|--------------------|--------|
| li_0 — начальная изоосмотическая длина клетки, мкм | 5 | 5 | [197] |
| r — ширина и высота клетки, мкм | 4 | 4 | [197] |
| S_c — поперечное сечение клетки, мкм ² | 4 | 4 | [197] |
| S_w — поперечное сечение клеточной стенки, мкм ² | 1.6 | 1.6 | [197] |
| L — коэффициент гидропроводности, (мкм ч бар) ⁻¹ | 0.2 | 40 | [128] |
| γ — коэффициент для осмотического давления, бар | 750 | 10 | [128] |
| E — модуль Юнга для клеточной стенки, бар | 375 | 1000 | [67] |
| η — коэффициент роста клеточной стенки | 0.15 | 0.15 | [67] |
| $thresh$ — порог тургорного давления, бар | 2 | 2 | [128] |

Метод расчёта начальных значений l_0 и lr_0 . Проблема состоит в том, что нам, как правило, не известны начальные значения наблюдаемой и релаксированной длин. Однако, из соображений (гипотезы) о повторяемости траектории состояния клетки от цикла к циклу, по крайней мере, при симметричном делении, мы пришли к следующему эвристическому алгоритму. Начинаем счёт с одинаковых стартовых значений начальных длин ($li_0 = l_0 = lr_0$). Имитируем рост до удвоения изоосмотической длины, имитируем деление клетки, получая начальные длины делением конечных длин пополам, и запускаем следующий цикл роста также до удвоения изоосмотической длины. Повторяем циклы роста и деления пополам до совпадения траекторий на очередных циклах роста. Таким образом, находим «правильные» начальные длины l_0 и lr_0 . Как правило, для этого достаточно два-три цикла роста и деления.

Рост клетки в квазимеханическом равновесии. Поскольку оценка параметров модели роста клетки проводилась по косвенным литературным данным, а в опубликованных экспериментальных данных имеется значительная вариация, было проведено исследование динамики роста клетки при разных параметрах. В результате выяснилось, что имеется набор параметров, при которых происходит быстрое выравнивание осмотического потенциала и тургорного давления в клетке за счет большой скорости потока воды. Это означает, что рост клетки происходит в условиях механического равновесия — осмотическое давление равно тургорному.

Результаты вычислительных экспериментов при разных комбинациях параметров модели приведены на рис. 4.6. Четыре графика соответствуют разным комбинациям функции управления ростом релаксированной длины клетки и механическому режиму её роста. При сравнении графиков следует отметить, в частности, что при равновесном режиме роста ($P_{\text{равн.}}$) осмотическое и тургорное давления имеют быстрый переходный период сразу после появления дочерней клетки, и потом находятся почти на

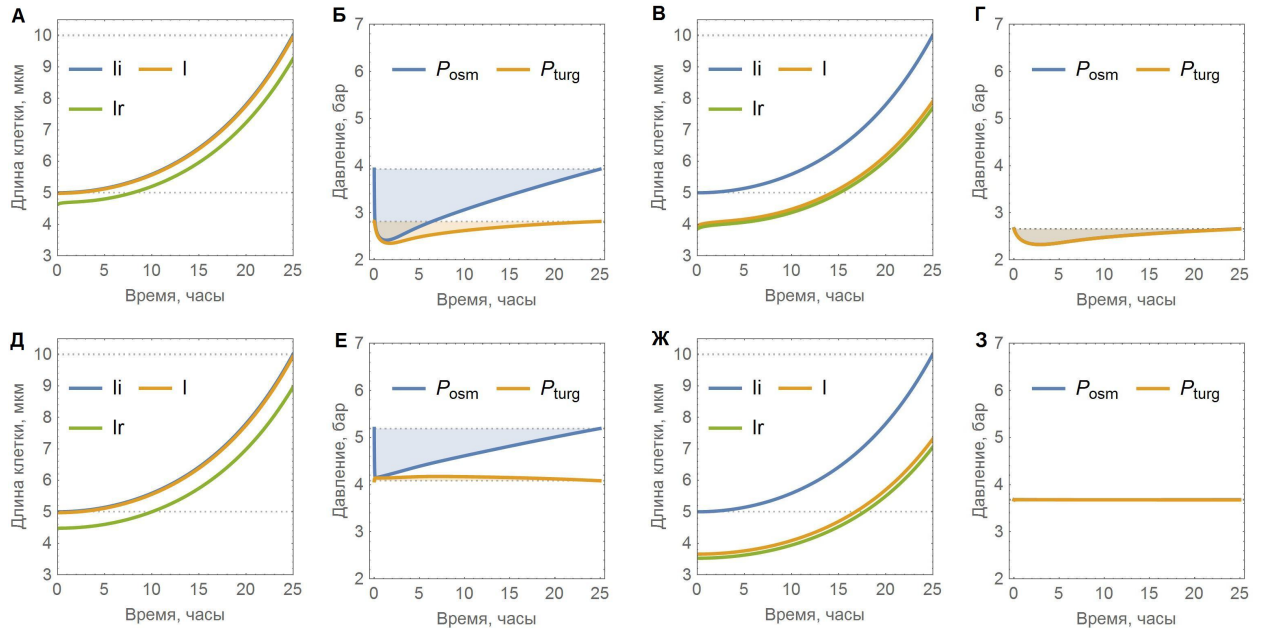


Рис. 4.6. Результаты моделирования автономного роста клетки. Функция роста $li(t) = li(t_0) e^{\nu(t-t_0)^2}$. Функция роста клеточной стенки: (А – Г) $\Phi_1(\{\Xi\}) = li$, (Д – З) $\Phi_1(\{\Xi\}) = \dot{li}$, механически неравновесный режим: А, Б, Д, Е, механически равновесный режим: В, Г, Ж, З.

стационарном уровне. При механически неравновесном режиме ($P_{\text{неравн.}}$) осмотическое и тургорное давления изменяются на протяжении клеточного цикла. Вид функции управления ростом (релаксированной длины) клеточной стенки отражается на изменении величин давлений и практически не изменяет их временного хода для одной и той же функции роста сухой биомассы.

Исследование автономного роста клетки при разных вариантах скорости роста сухой биомассы.

Для сравнительного изучения влияния функции роста сухой биомассы на механическое поведение клетки, другие возможные виды функции роста сухой биомассы (линейную и сигмоидную) строились так, чтобы клетка вырастала от 5 мкм до 10 мкм за время $t^* = 30\sqrt{\ln 2}$ часов, т.е., чтобы длина клеточного цикла была одинаковой для всех вариантов скорости

роста сухой биомассы.

Сигмоидная функция роста сухой массы клетки рассматривалась по следующим соображениям. Как известно, синтез биомассы клетки происходит во время фазы G1 клеточного цикла. Далее, перед митозом следует S фаза, во время которой происходит репликация генома клетки. Мы предположили, что в это время биосинтез компонентов цитоплазмы заторможен, и, таким образом, функция роста массы имеет сигмоидную форму. Результаты вычислительных экспериментов при разных комбинациях параметров модели приведены на рис. 4.7.

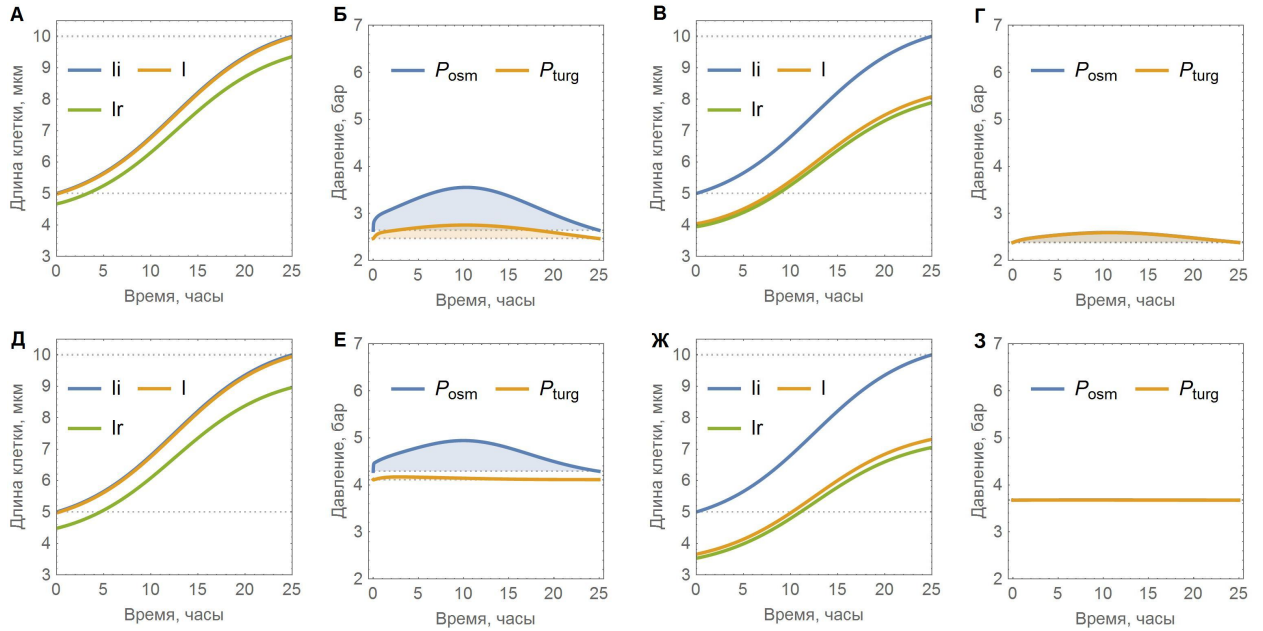


Рис. 4.7. Результаты моделирования автономного роста клетки для сигмоидной функции роста $li(t) = li(t_0) - \delta + \frac{li(t^*) - li(t_0) + 2\delta}{1 + \left(\frac{li(t^*) - li(t_0) + \delta}{\delta}\right)^{-2(t-t_0-0.5t^*)/t^*}}$. Функция роста клеточной стенки: (А – Г) $\Phi_1(\{\Xi\}) = li$, (Д – З) $\Phi_1(\{\Xi\}) = \dot{li}$, механически неравновесный режим: А, Б, Д, Е, механически равновесный режим: В, Г, Ж, З.

Линейная функция роста сухой биомассы получается из автокатали- тических представлений о синтезе компонентов клетки. Именно, предположим, что в отсутствии внешних ограничений в компонентах питания и постоянном парциальном составе сухой биомассы клетки скорость синте-

зов внутри клетки описывается реакцией первого порядка: $\dot{c} = \mu c$, где c — концентрация сухой биомассы в клетке и μ — константа скорости синтеза. С другой стороны, при поступлении в клетку воды её объем увеличивается, что приводит к уменьшению концентрации сухой биомассы. В итоге, скорость изменения концентрации сухой биомассы описывается системой уравнений:

$$\frac{dc}{dt} = \mu c - c \frac{dl}{l dt}, \quad (4.21)$$

$$P_{osm} = c R T, \quad (4.22)$$

$$P_{turg} = E \frac{lr - l}{lr}, \quad (4.23)$$

$$\frac{dl}{dt} = S L (P_{osm} - P_{turg}), \quad (4.24)$$

$$\frac{dlr}{dt} = \eta \Phi_1(\{\Xi\}) (P_{turg} - thresh)^3 \theta[P_{turg} - thresh], \quad (4.25)$$

Из решения системы уравнений 4.21 — 4.25 находим рост сухой биомассы $m(t) = c(t) l(t)$.

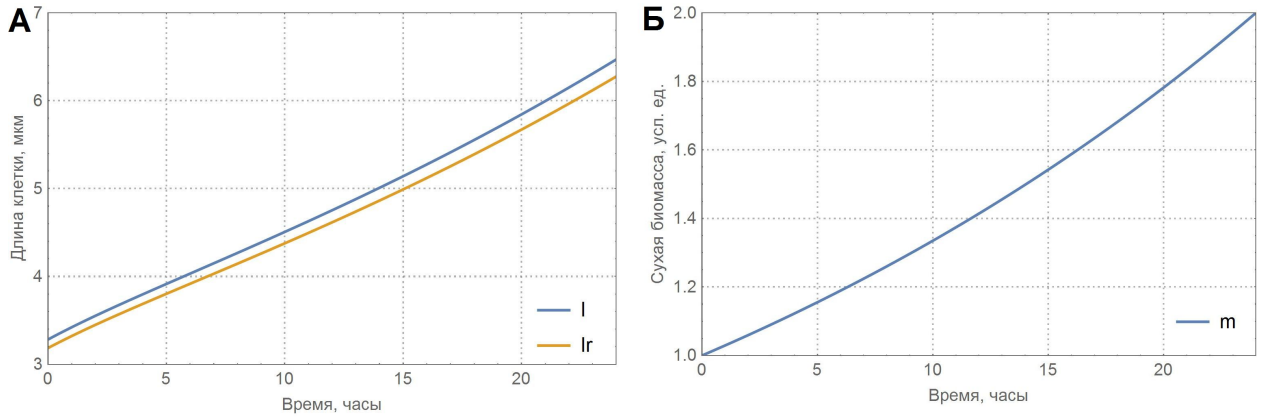


Рис. 4.8. Результаты моделирования автономного роста клетки при автокаталитическом росте сухой биомассы. **А.** Динамика наблюдаемой (l) и релаксированной (lr) длин клетки, **Б.** динамика сухой биомассы клетки (m).

Вычислительные эксперименты с моделью показаны на рис. 4.8. Видно, что при выбранных параметрах рост длины и сухой биомассы (в рамках рассмотренной выше модели li пропорционально m) клетки происходит

практически линейно. Это послужило аргументом для изучения линейной функции роста для сухой биомассы (т.е., для изоосмотической длины).

Результаты вычислительных экспериментов для линейной функции при разных комбинациях параметров модели приведены на рис. 4.9.

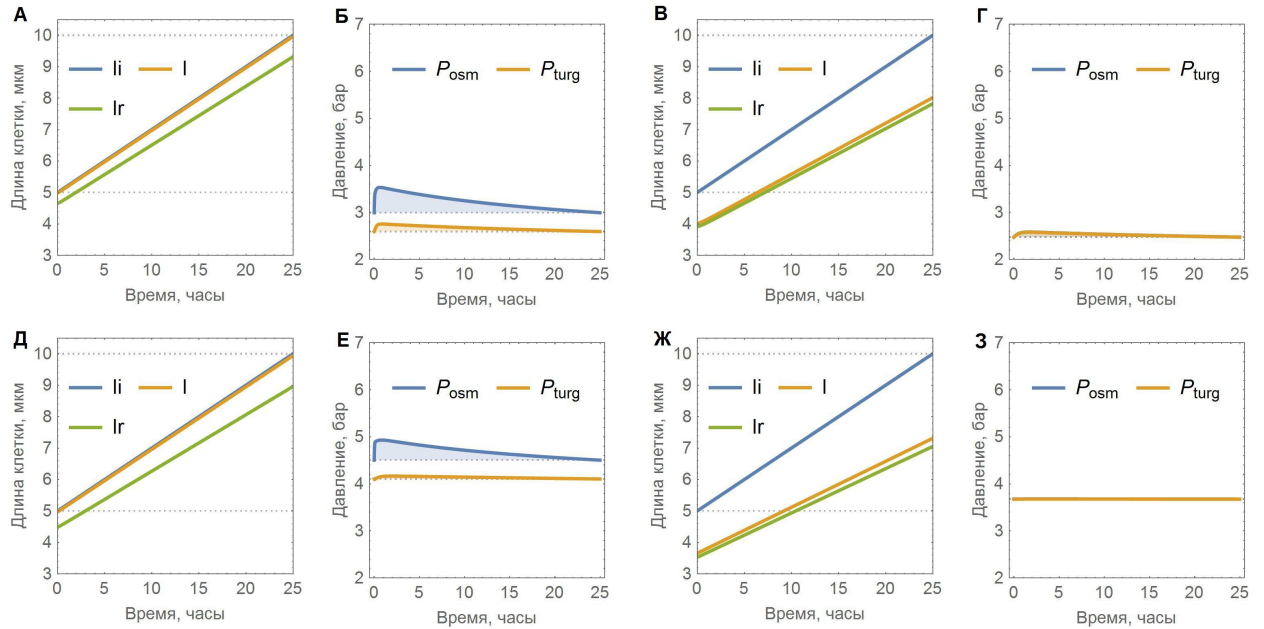


Рис. 4.9. Результаты моделирования автономного роста клетки для линейной функции роста $li(t) = li(t_0) + a(t - t_0)$. Функция роста клеточной стенки: (А – Г) $\Phi_1(\{\Xi\}) = li$, (Д – З) $\Phi_1(\{\Xi\}) = \dot{li}$, механически неравновесный режим: А, Б, Д, Е, механически равновесный режим: В, Г, Ж, З.

Итак, в вычислительных экспериментах с моделью автономного роста клетки показано, что заданная функция роста сухой биомассы клетки определяет функции роста похожей формы для её видимой и релаксированной длин. При механически неравновесном режиме разные функции роста приводят к различному изменению осмотического и тургорного давлений на протяжении клеточного цикла, в то же время при равновесном режиме давления остаются почти постоянными во время клеточного цикла, и вид функции роста сухой биомассы практически не влияет на эти давления. Вид функции управления ростом (релаксированной длины) кле-

точной стенки отражается на изменении величин давлений и практически не изменяет их временного хода для одной и той же функции роста сухой биомассы. Кроме того показано, что уменьшение L ведет к увеличению разницы между осмотическим и тургорным давлениями, и осмотическое давление увеличивается в течение клеточного цикла (т.е., растет концентрация сухой биомассы), а уменьшение η ведет к увеличению давлений, не сильно влияя на форму их динамики.

Следует отметить, что режим роста в состоянии механического квазиравновесия используется при имитации роста ткани в моделях динамики вершин [114].

4.3.3. Исследование влияния симпластного роста на механику клеток в линейной листовой пластинке

Для того, чтобы выявить механические особенности симпластного роста клеток в ткани, мы сравнили длины и давления в этих клетках с клетками, растущими автономно и независимо друг от друга, используя статистические закономерности распределения длин клеток в обоих вариантах роста. Для такого сравнения нам надо было стандартизовать состояние этих популяций, которые начинают расти из одной клетки.

В простой модели, которая принята в данной работе, вариация длительности клеточного цикла зависит от размера дочерней клетки. При среднеквадратичном отклонении параметра деления равном 0.1 (случайное отклонение при делении материнской клетки) вычислительные эксперименты с моделью показали [7], что существенная синхронизация клеточных циклов в файлах продолжается на протяжении 14 делений. За это время число клеток возросло приблизительно до 10000, их суммарная длина стала около 80 мм, а длительность роста около составила 350 часов (при средней длине клеточного цикла около 25 часов). Судя по имеющимся данным, такая синхронность наблюдается только в специальных эксперимен-

тальных условиях [151]. Для того, чтобы рассинхронизировать клеточные циклы, вначале имитировали рост и деление клеток при нереальных отклонениях от симметричного деления клеток — среднеквадратичное отклонение асимметрии 0.2 и ограничения на вариабельность дочерних клеток от 0.1 до 0.9 от размера делящейся клетки (10 мкм). После порождения пула асинхронно делящихся клеток с аномальной вариацией размеров, мы возвращали более правдоподобную вариабельность асимметрии деления, и продолжали счет на протяжении времени, равном двум средним клеточным циклам. За это время вариабельность длин клеток возвращалась к норме. Это было стартовым состоянием для вычислительного эксперимента.

Моделирование пролиферации в популяции свободно растущих клеток

Вычислительный эксперимент проводили по следующей схеме. Из стартовой популяции делали случайную выборку из 100 клеток, и имитировали их рост на протяжении времени около 100 часов (4 средних клеточных цикла). По ходу счета сохраняли координаты концов клеток в каждом клеточном файле. По полученной траектории строили распределение моментов делений клеток. Из-за частичной синхронизации это распределение имело периодическую составляющую. Затем на интервале времени от второго до третьего минимумов распределения клеточных делений (примерно один клеточный цикл) строили гистограммы распределений изоосмотической, релаксированной и реальной длин клеток в моментах времени «min-1» (первый минимум распределения), «increasing» (середина между моментами «min-1» и «max»), «max» (максимум распределения), «decreasing» (середина между моментами «max» и «min-2»), «min-2» (второй минимум распределения).

На рис.4.10 приведены распределения в выбранных точках траекто-

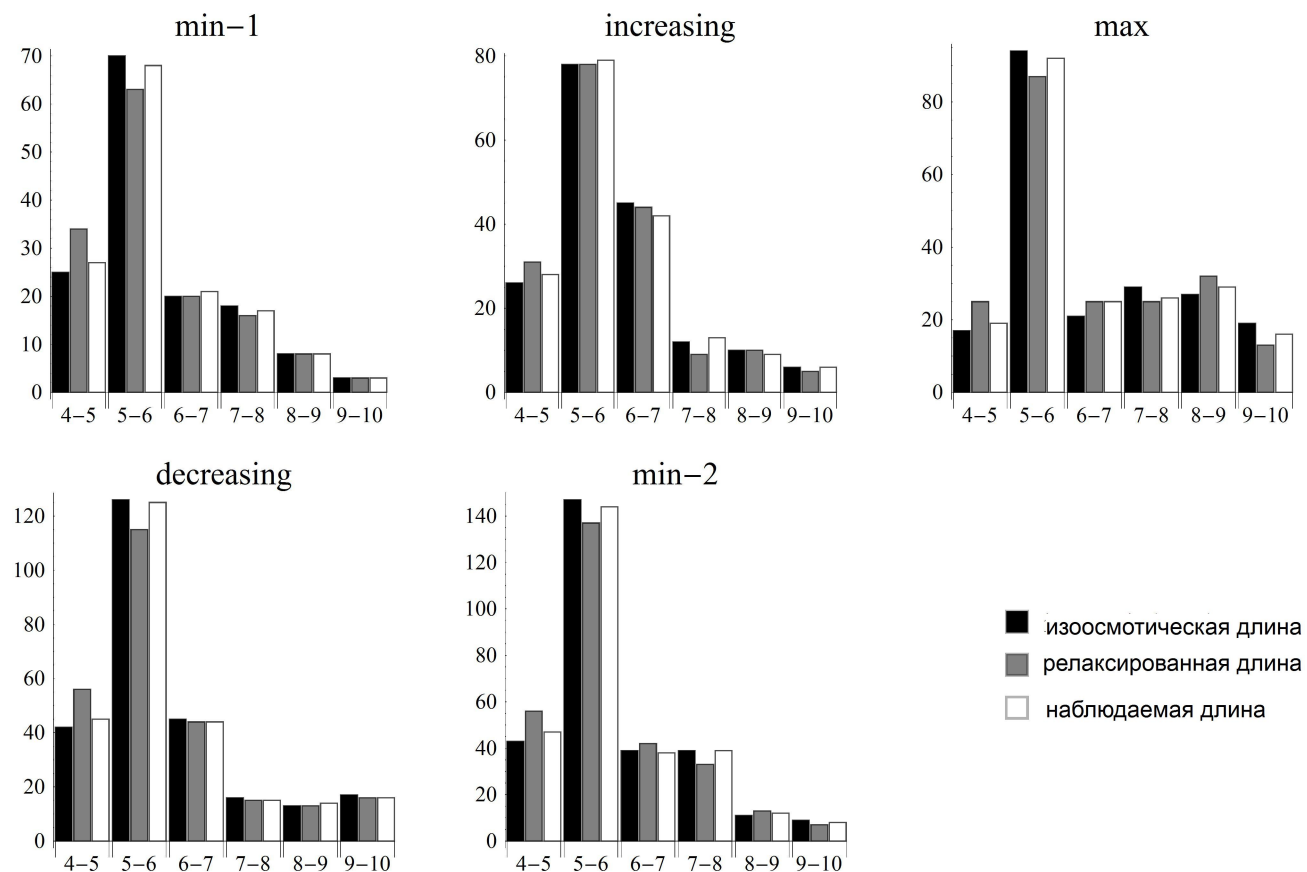


Рис. 4.10. Гистограммы распределений изоосмотической и реальной длин в популяции свободно растущих клеток. Гистограммы построены в моменты времени: «min-1», «increasing», «max», «decreasing», «min-2». («period») — среднее распределение длин за интервал, равный одному клеточному циклу.

рии роста. Как и следовало ожидать исходя из того, что при выбранных параметрах модели рост релаксированной длины для одной клетки одинаково хорошо отслеживает рост изоосмотической длины при любом ее начальном значении, распределения этих длин в свободно растущей популяции практически совпадают.

Влияние симпластного роста клеток на распределение их наблюдаемых размеров

Из 100 клеток, выбранных из стартовой популяции для моделирования свободного роста, путем случайных перестановок получили 10 файлов одинаковой суммарной длины по 100 клеток в каждом. Их расположили параллельно друг другу, чтобы получился прямоугольник — модель листовой пластинки. Рост листовой пластинки считали по алгоритму, описанному в разделе выше, основанному на модели симпластного роста клеток (раздел 4.2.3). Для сравнения состояния популяции клеток в ткани все показатели строились в моменты времени роста ткани аналогичные моментам времени для показателей свободного роста популяции клеток («min-1», «increasing», «max», «decreasing», «min-2»). Рис. 4.11 демонстрирует динамику распределения клеток по клеточному циклу в образцах ткани в выбранные моменты времени.

Для более детального отображения состояния клеток в ткани на рис. 4.12 приведены диаграммы рассеяния точек, представляющих клетки в координатных осях («изоосмотическая длина»/«реальная длина»). Рассеяние точек в моменты времени «min-1», «increasing», «max» показывает, что простая модель управления ростом релаксированной длины клетки при симпластном росте приводит к отклонению реальной и релаксированной длин от изоосмотической, в то время как рассеяние точек для свободного роста формирует биссектрису угла. Ниже биссектрисы расположены клетки, сжатые по сравнению с их реальной длиной при свободном росте, а

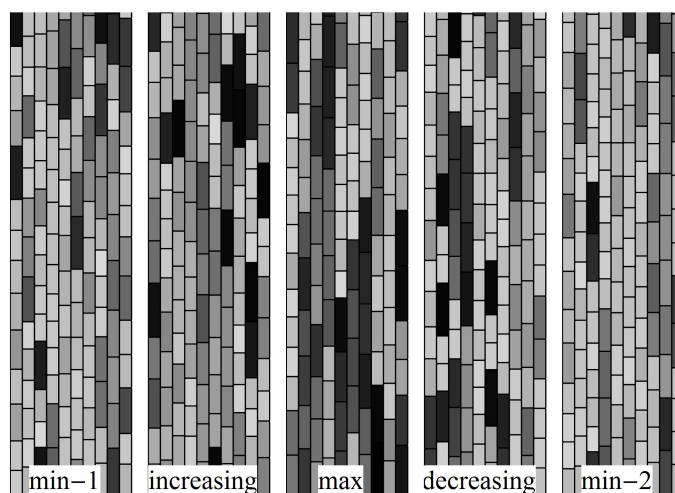


Рис. 4.11. Распределение клеток по фазе клеточного цикла в образцах участков листовой пластинки в разные моменты роста. Оттенкам серого соответствует изоосмотическая длина: светлые клетки — только поделившиеся, черные — около 10 мкм («в фазе деления»). Образцы взяты в моменты времени «min-1», «increasing», «max», «decreasing», «min-2».

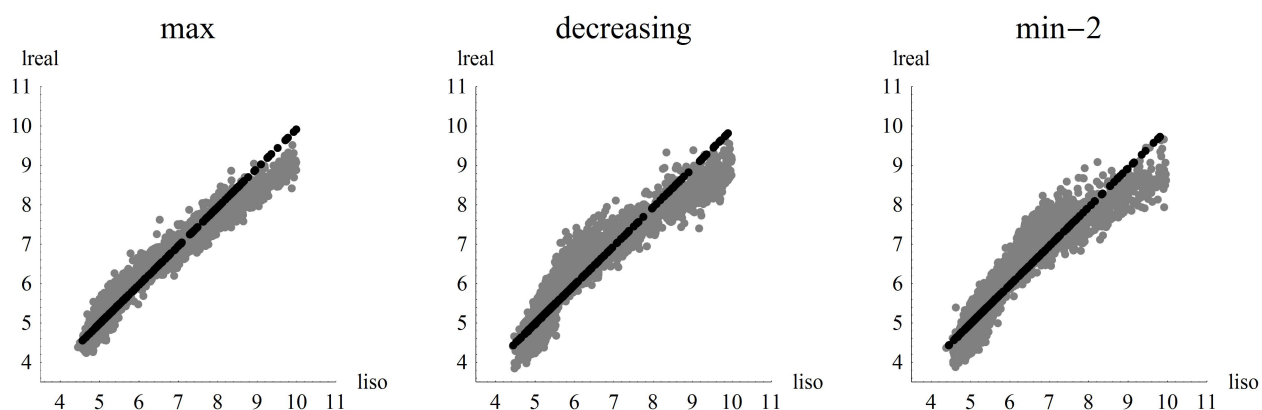


Рис. 4.12. Рассеяние точек, представляющих клетки в координатных осях («изоосмотическая длина»/«реальная длина»), в моменты времени «min-2», «increasing», «max». Серые точки представляют клетки, растущие симпластно, черные — свободно растущие

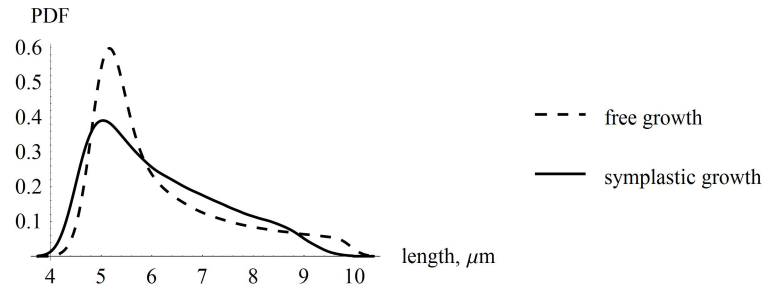


Рис. 4.13. Графики плотности распределений наблюдаемых (реальных) длин в популяциях свободно и симпластно растущих клеток за интервал времени, равный одному клеточному циклу

выше биссектрисы — растянутые. При свободном росте клетки с нормальным тургором, её длины, которые являются переменными состояниями клетки в модели, ранжированы в «естественном» порядке: релаксированная \leq реальная \leq изоосмотическая. При этом движущей силой роста клетки является рост её изоосмотической длины, как функции времени (автономный механизм роста сухой биомассы в оптимальных условиях). Регуляторный механизм роста клеточной стенки (рост релаксированной длины) вместе с параметрами гидропроводимости клеточной границы (в модели — постоянные) обеспечивают регуляцию роста реальной длины клетки. При этом входным сигналом для регуляции скорости роста релаксированной длины является деформация клеточной стенки. И для свободного роста такая регуляция работает. Однако, при симпластном росте реальная длина клетки и её динамика отличаются от таковых для свободной клетки из-за механического влияния склеенных с ней клеток из других файлов, и входной сигнал для механизма регуляции получает «неправильное» значение, что и приводит к неадекватной регуляции. Поэтому распределения наблюдаемых длин клеток при симпластном и свободным росте значительно различаются (см. рис. 4.13).

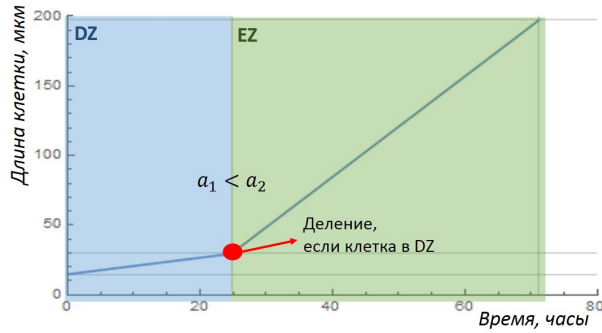


Рис. 4.14. Кусочно-линейная функция роста изоосмотической длины клетки, DZ — зона роста делением, EZ — зона роста растяжением.

4.3.4. Моделирование роста эпидермиса листа пшеницы

Задачей данного этапа моделирования было показать возможность аппроксимации экспериментальных данных по росту листа пшеницы в рамках модели симпластного роста, представленной в разделе 4.2.3. Для моделирования роста листа пшеницы было учтено, что в основании листа клетки растут и делятся, но на некотором расстоянии от основания клетки перестают делиться и начинают расти в длину с более высокой скоростью, чем в зоне деления. Для проверки возможности такой аппроксимации была выбрана кусочно-линейная функция роста изоосмотической длины клетки (рис. 4.14), т.е в каждой зоне выбраны разные значения скорости роста:

$$li(t) = li_0 + a_i(t - t_0), \quad i = \{1, 2\}. \quad (4.26)$$

Таким образом, по экспериментальным данным из работы [23], представленным в разделе 4.1.2, нужно было подобрать коэффициенты a_1 и a_2 (для зоны роста делением и для зоны роста растяжением). Учитывая, что в модели предполагается, что клетка делится или переходит из зоны деления в зону растяжения, когда её начальное значение удваивается, необходимо было подобрать два параметра: начальное значение в зоне роста делением и конечное значение в зоне роста растяжением. Первое приближение значений параметров подбирали по модели роста одной клетки. Затем найден-

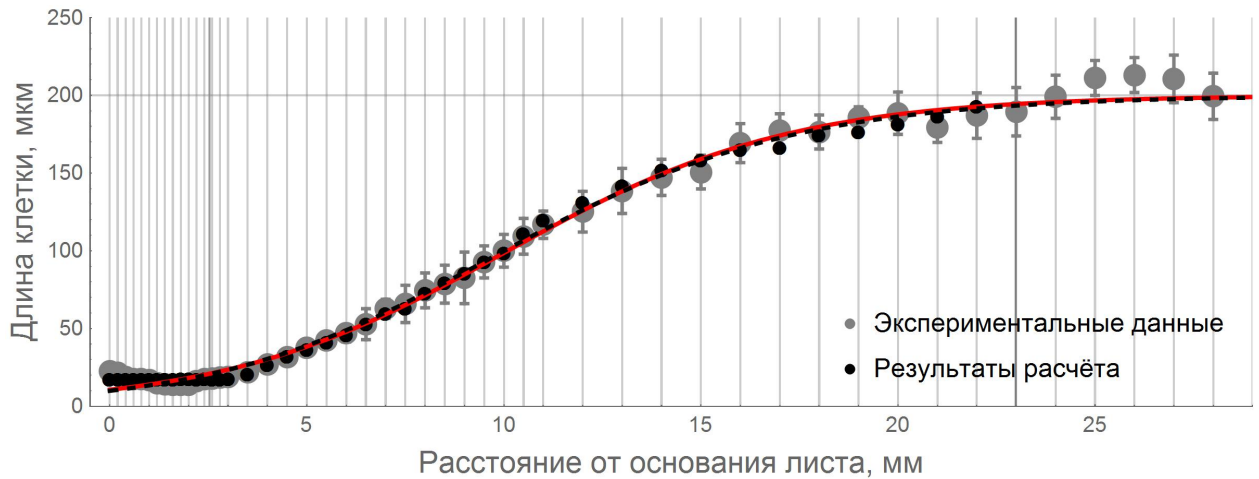


Рис. 4.15. Распределение средних размеров клеток вдоль листа пшеницы. Точки соответствуют среднему размеру клеток на отрезках листа, обозначенных серыми вертикальными линиями. Серые точки — экспериментальные данные, чёрные — результаты расчёта с оптимальными параметрами. Красная и чёрная кривые — аппроксимации экспериментальных и модельных данных функциями Ричардса [120].

ный значения уточняли, используя следующий алгоритм: начальное значение подбирали по сетке, для поиска конечного значения использовался метод золотого сечения (при фиксированном начальном значении).

В результате, для линейной функции роста клеток (рис. 4.14) были подобраны кинетические параметры (a_1 и a_2), при которых модель воспроизводит экспериментальные данные (рис. 4.15) из работы [23] о распределении средних размеров клеток вдоль листа пшеницы при значениях механических параметров для квазиравновесного режима роста. Однако было отмечено, что при симпластном росте равновесие нарушается (рис. 4.16).

Анализ пространственного распределения давлений на листе (4.17 Б-В) показал, что наибольшие вариации давлений при использованных параметрах модели сосредоточены в переходной зоне, обозначенной зелёными клетками на рис. 4.17 А.

Таким образом, в вычислительном эксперименте было показано, что при симпластном росте растительной ткани автономная пролиферация

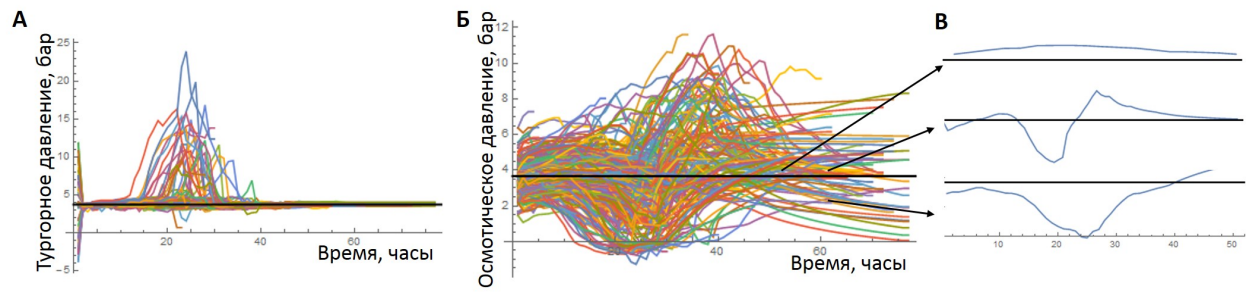


Рис. 4.16. Динамика тургорного (А) и осмотического (Б) давлений в клетках «модельного листа» при симпластном росте. В — динамика осмотического давления в отдельных клетках. Чёрная прямая указывает ход давлений при росте одной клетки.

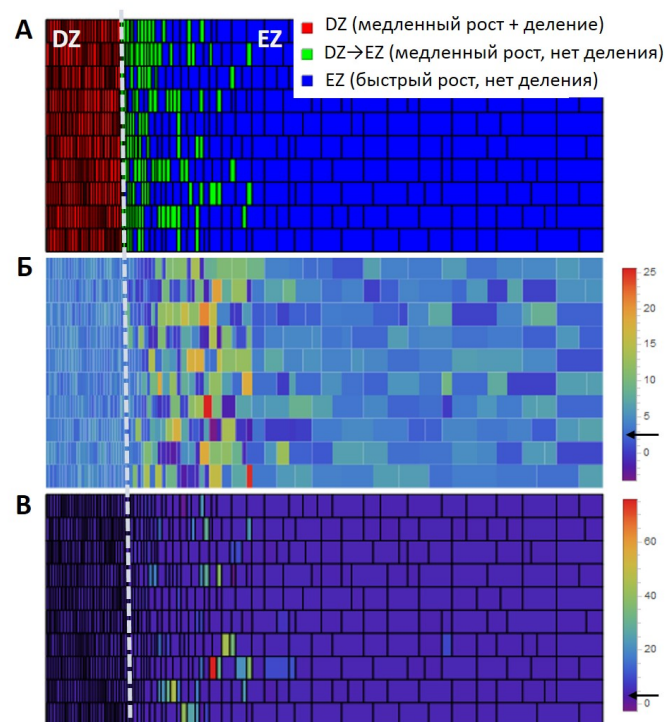


Рис. 4.17. Диаграммы клеток «модельного листа», сгенерированного в вычислительном эксперименте. DZ — зона роста делением, EZ — зона роста растяжением. А Типы клеток, Б Распределение осмотических давлений в клетках листа. В Распределение тургорных давлений в клетках листа. Стрелки на шкале указывают значения давлений в одиночной клетке.

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. На рис. 4.2 приведён пример такой ситуации для двух «склеенных» клеток, которые имеют одинаковый видимый размер, находясь при этом в разных фазах роста.

4.4. Исследование чувствительности видимой длины клеток к параметрам модели

4.4.1. Методы теории сопряжённых уравнений для исследования чувствительности

Исследование чувствительности позволяет судить о влиянии вариаций параметров модели на вектор переменных состояния, а также о роли различных факторов при формировании моделируемых процессов. Самым простым способом исследования чувствительности является сравнение решений уравнений модели для различных наборов параметров. Такой подход называется прямым исследованием чувствительности. Его достоинством является то, что для его реализации достаточно уметь решать прямую задачу. Недостатком подхода является то, что для систем с большим числом изучаемых параметров приходится много раз решать прямые задачи отдельно для вариации каждого параметра. В связи с этим другой способ исследования чувствительности, основанный на методах теории сопряжённых уравнений [4], для моделей с большим числом параметров и переменных состояния является более экономичным, так как решение сопряжённой задачи не зависит от конкретных возмущений параметров и их сочетаний.

В данном разделе представлены результаты исследования чувствительности в модели симпластного роста клеток линейного листа при росте ткани растяжением (без деления клеток) в течение короткого временного интервала. На первом этапе проведена оценка чувствительности видимой длины одиночной клетки (основной наблюдаемой переменной) к механическим параметрам модели. На втором этапе мы исследовали модель симпластного роста «листа», который состоит из 10 продольных рядов, в каждом из которых также по 10 клеток и оценивали чувствительность видимой длины 5-й клетки в 5-м ряду к вариациям длин других клеток массива и их фрагментов.

4.4.2. Исследование чувствительности видимой длины свободно растущей клетки к механическим параметрам

В модели одиночной клетки исследуем чувствительность видимой длины к параметрам, определяющим биомеханику её роста. В этом случае система обыкновенных дифференциальных уравнений имеет следующую общую структуру:

$$\begin{bmatrix} l \\ lr \\ li \end{bmatrix}'(t) = F(l(t), lr(t), li(t), \bar{Y}), \quad (4.27)$$

$$l(0) = l_0, \quad li(0) = li_0, \quad lr(0) = lr_0, \quad (4.28)$$

где $\bar{Y} = (y_1, \dots, y_{N_Y})$ — вектор параметров системы, а вектор-функция F определяется следующим образом:

$$F(l, lr, li, \bar{Y}) = \begin{bmatrix} fl(l, lr, li, \bar{Y}) \\ fr(l, lr, li, \bar{Y}) \\ fi(l, lr, li, \bar{Y}) \end{bmatrix}.$$

Для исследуемой модели запишем систему уравнений в вариациях:

$$\begin{bmatrix} \delta l \\ \delta lr \\ \delta li \end{bmatrix}' (t) = F(l(t) + \delta l(t), lr(t) + \delta lr(t), li(t) + \delta li(t), \bar{Y} + \delta \bar{Y}) - \\ - F(l(t), lr(t), li(t), \bar{Y}), \\ \delta li(0) = \delta li_0, \delta lr(0) = \delta lr_0, \delta l(0) = \delta l_0.$$

Если предположить, что правая часть уравнения в вариациях аппроксимируется её линеаризацией, то уравнение можно упростить так:

$$F(l + \delta l, lr + \delta lr, li + \delta li, \bar{Y} + \delta \bar{Y}) - F(l, lr, li, \bar{Y}) \cong \quad (4.29)$$

$$\cong \nabla_{\{l, lr, li, \bar{Y}\}} F(l, lr, li, \bar{Y}) \begin{bmatrix} \delta l \\ \delta lr \\ \delta li \\ \delta \bar{Y} \end{bmatrix}, \quad (4.30)$$

где оператор градиента определяется соотношением

$$\nabla_{\{l, lr, li, \bar{Y}\}} F(l, lr, li, \bar{Y}) = \begin{bmatrix} \partial_l fl & \partial_{lr} fl & \partial_{li} fl & \partial_{\bar{Y}} fl \\ \partial_l fr & \partial_{lr} fr & \partial_{li} fr & \partial_{\bar{Y}} fr \\ \partial_l fi & \partial_{lr} fi & \partial_{li} fi & \partial_{\bar{Y}} fi \end{bmatrix} (l, lr, li, \bar{Y}).$$

В этом случае верна следующая Лемма.

Лемма. Пусть заданы функции $l(t)$, $li(t)$, $lr(t)$. Тогда для линеаризованного уравнения в вариациях:

$$\begin{bmatrix} \delta l \\ \delta lr \\ \delta li \end{bmatrix}' (t) = \nabla_{\{l, lr, li\}} F(l(t), lr(t), li(t), \bar{Y}) \begin{bmatrix} \delta l \\ \delta lr \\ \delta li \end{bmatrix} (t), \quad (4.31)$$

$$\delta li(0) = \delta li_0, \delta lr(0) = \delta lr_0, \delta l(0) = \delta l_0, \quad (4.32)$$

верно соотношение, следующее из тождества Лагранжа,

$$\delta l(T) = \delta l_0 l i^*(0) + \delta l r_0 l r^*(0) + \delta l_0 l^*(0) + \sum_{k=1}^{N_Y} \delta y_k J_{y_k}.$$

Функции чувствительности $\{J_{y_k}\}$ к параметрам модели определяются как

$$\begin{aligned} J_{y_k} = & \int_0^T f l_{y_k}(l(t), l r(t), l i(t), \bar{Y}) l^*(t) dt + \\ & + \int_0^T f r_{y_k}(l(t), l r(t), l i(t), \bar{Y}) l r^*(t) dt + \\ & \int_0^T f i_{y_k}(l(t), l r(t), l i(t), \bar{Y}) l i^*(t) dt, \end{aligned}$$

где функции $l^*(t), l r^*(t), l i^*(t)$ удовлетворяют сопряжённой по отношению к (4.31) системе уравнений:

$$- \begin{bmatrix} l^* \\ l r^* \\ l i^* \end{bmatrix}' (t) = [\nabla_{\{l, l r, l i\}} F(l(t), l r(t), l i(t), \bar{Y})]^* \begin{bmatrix} l^* \\ l r^* \\ l i^* \end{bmatrix} (t), \quad (4.33)$$

$$l i^*(T) = 0, \quad l r^*(T) = 0, \quad l^*(T) = 1. \quad (4.34)$$

Можно отметить, что решение сопряжённой задачи не зависит от конкретных возмущений параметров и их сочетаний (при фиксированной траектории $l i(t), l(t), l r(t)$).

Результаты численных экспериментов по исследованию чувствительности длины клетки через 24 часа модельного времени к вариациям параметров, определяющих биомеханику роста ($\alpha, E, \eta, L, thresh$), приведены на рис. 4.18 – 4.22. На каждом рисунке слева приводится функция чувствительности, а справа — проверка с помощью прямого исследования чувствительности. Графики даны в логарифмическом масштабе.

Анализируя графики, можно сделать выводы о чувствительности модели в тех или иных диапазонах значений параметров. Чувствительность ко всем рассмотренным параметрам убывает при их увеличении. При ма-

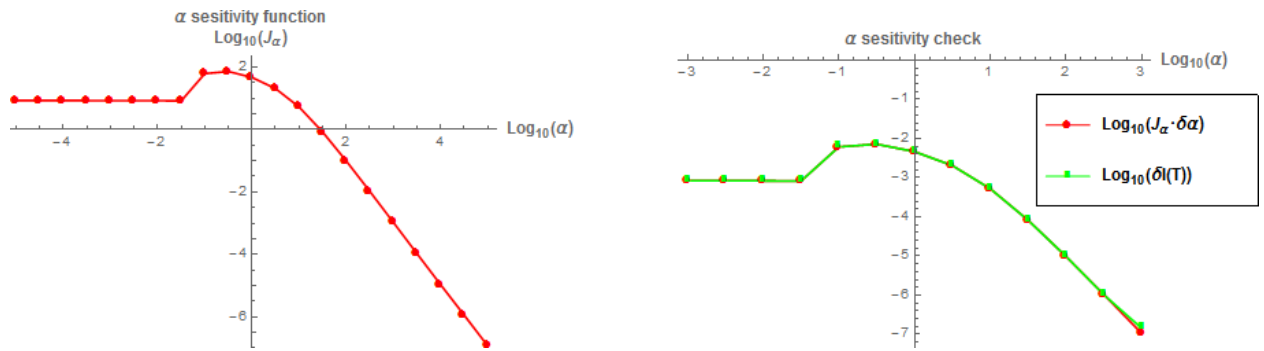


Рис. 4.18. Чувствительность длины клетки к вариациям параметра α (подробности в тексте).

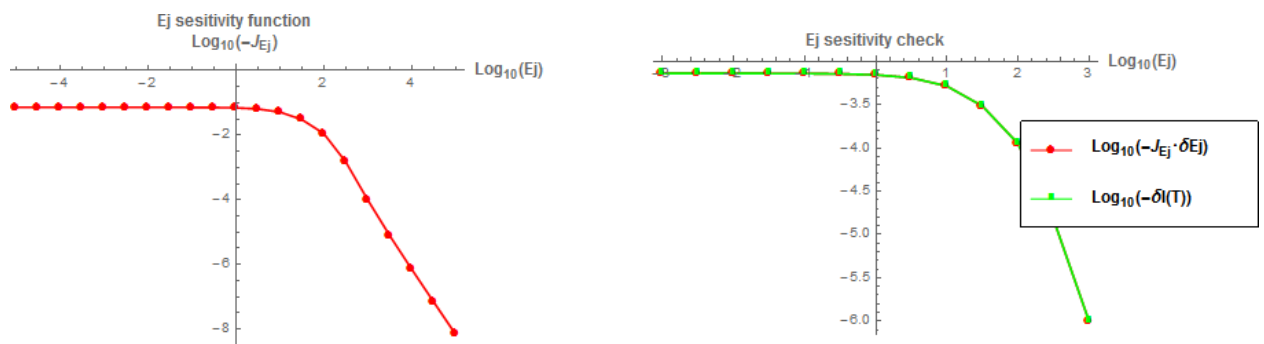


Рис. 4.19. Чувствительность длины клетки к вариациям параметра E (подробности в тексте).

ных значениях параметров (при стремлении к 0) значения функции чувствительности не меняются. По параметру α наблюдается увеличение чувствительности в средних значениях. В таблице 4.4 дана сводная информация о чувствительности модели к параметрам. Анализируя эту информацию, можно сделать вывод, что при данном наборе параметров видимая длина клетки наиболее чувствительна к изменению параметра η , а наименее — к изменению начальной длины.

4.4.3. Исследование чувствительности видимой длины клетки при симпластном росте в составе ткани

Вывод формулы для функции чувствительности. Рассмотрим ситуацию, когда клетки растут симпластно в составе линейного листа и ис-

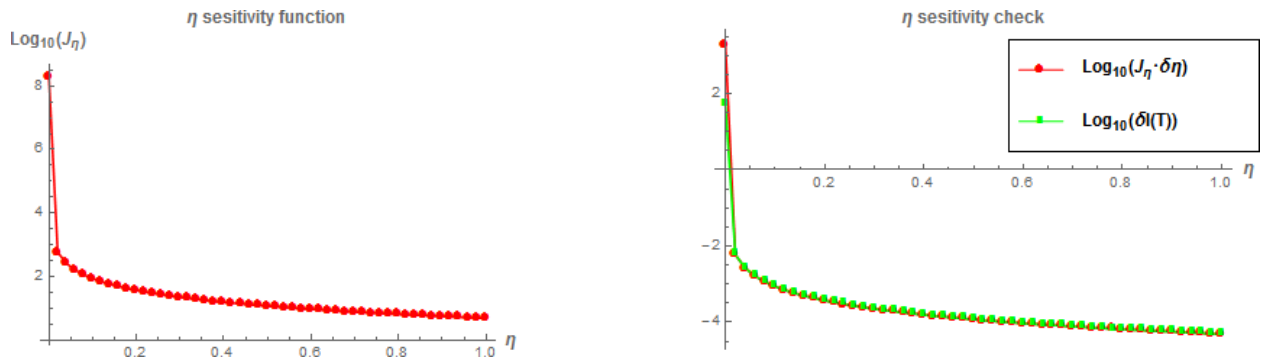


Рис. 4.20. Чувствительность длины клетки к вариациям параметра η (подробности в тексте).

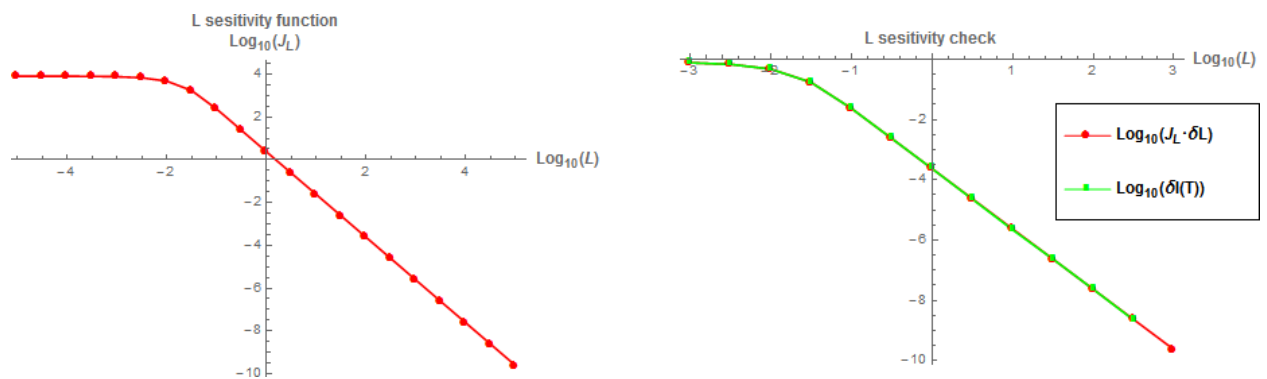


Рис. 4.21. Чувствительность длины клетки к вариациям параметра L (подробности в тексте).

следуем чувствительности видимой длины одной из них. В этом случае система обыкновенных дифференциальных уравнений имеет следующую общую структуру:

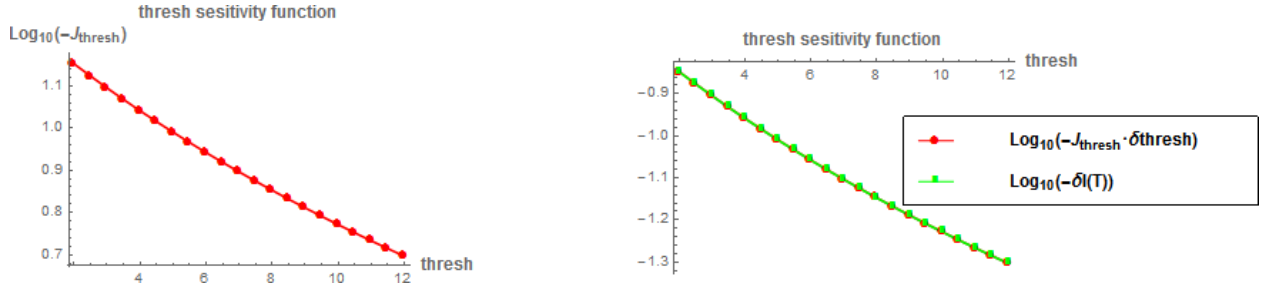


Рис. 4.22. Чувствительности длины клетки к вариациям параметра $thresh$ (подробности в тексте).

$$\begin{aligned}
 L_c(t) &= fl(X_c(t), \bar{Y}), \\
 lr'_c(t) &= fr(X_c(t), \bar{Y}), \\
 li'_c(t) &= fi(X_c(t), \bar{Y}), \\
 l_c(t) &= \sum_i H_{ci} \lambda_i(t), \\
 \lambda'_i(t) &= \frac{\Lambda_i(t)}{N} \lambda_i(t), \\
 \lambda_i(0) &= \lambda_{0i}, \\
 \Lambda_i(t) &= \sum_c H_{ci} L_c(t), \\
 li_c(0) &= li_{0c}, \quad lr_c(0) = lr_{0c},
 \end{aligned}$$

где для краткости $X_c(t) := [l_c(t), lr_c(t), li_c(t)]$, $H_{ci} = 1$ если фрагмент i входит в клетку и $H_{ci} = 0$ иначе. Рассмотрим систему уравнений в вариациях. Предположим, что клеточная структура модельного листа, а значит и принадлежность фрагментов клеткам не меняется в течение рассматриваемого промежутка времени. Тогда система уравнений в вариациях принимает

ВИД:

$$\begin{aligned}
\delta L_c(t) &= fl(X_c(t) + \delta X_c(t), \bar{Y} + \delta \bar{Y}) - fl(X_c(t), \bar{Y}), \\
\delta lr'_c(t) &= fr(X_c(t) + \delta X_c(t), \bar{Y} + \delta \bar{Y}) - fr(X_c(t), \bar{Y}), \\
\delta li'_c(t) &= fi(X_c(t) + \delta X_c(t), \bar{Y} + \delta \bar{Y}) - fi(X_c(t), \bar{Y}), \\
\delta l_c(t) &= \sum_i H_{ci} \delta \lambda_i(t), \\
\delta \lambda'_i(t) &= \frac{\Lambda_i(t)}{N} \delta \lambda_i(t) + \frac{\delta \Lambda_i(t)}{N} \lambda_i(t) + \frac{\delta \Lambda_i(t)}{N} \delta \lambda_i(t), \\
\delta \lambda_i(0) &= \delta \lambda_{0i}, \\
\delta \Lambda_i(t) &= \sum_c H_{ci} \delta L_c(t), \\
\delta li_c(0) &= \delta li_{0c}, \quad \delta lr_c(0) = \delta lr_{0c}.
\end{aligned} \tag{4.35}$$

Аппроксимируя (4.35) по аналогии с (4.29), получим следующее утверждение.

Лемма. Пусть $l_c(t), lr_c(t), li_c(t)$ — заданные функции. Тогда, если

$$\begin{aligned}
\delta L_c(t) &= \partial_l fl(X_c(t), \bar{Y}) \delta l_c(t) + \partial_{lr} fl(X_c(t), \bar{Y}) \delta lr_c(t) + \\
&+ \partial_{li} fl(X_c(t), \bar{Y}) \delta li_c(t) + \partial_{\bar{Y}} fl(X_c(t), \bar{Y}) \delta \bar{Y}, \\
\delta lr'_c(t) &= \partial_l fr(X_c(t), \bar{Y}) \delta l_c(t) + \partial_{lr} fr(X_c(t), \bar{Y}) \delta lr_c(t) + \\
&+ \partial_{li} fr(X_c(t), \bar{Y}) \delta li_c(t) + \partial_{\bar{Y}} fr(X_c(t), \bar{Y}) \delta \bar{Y}, \\
\delta li'_c(t) &= \partial_l fi(X_c(t), \bar{Y}) \delta l_c(t) + \partial_{lr} fi(X_c(t), \bar{Y}) \delta lr_c(t) + \\
&+ \partial_{li} fi(X_c(t), \bar{Y}) \delta li_c(t) + \partial_{\bar{Y}} fi(X_c(t), \bar{Y}) \delta \bar{Y}, \\
\delta l_c(t) &= \sum_i H_{ci} \delta \lambda_i(t), \\
\delta \lambda'_i(t) &= \frac{\Lambda_i(t)}{N} \delta \lambda_i(t) + \frac{\delta \Lambda_i(t)}{N} \lambda_i(t), \\
\delta \lambda_i(0) &= \delta \lambda_{0i}, \\
\delta \Lambda_i(t) &= \sum_c H_{ci} \delta L_c(t), \\
\delta li_c(0) &= \delta li_{0c}, \quad \delta lr_c(0) = \delta lr_{0c},
\end{aligned}$$

то верно соотношение (следует из тождества Лагранжа):

$$\begin{aligned} & \left. \sum_i \lambda_i^*(t) \delta \lambda_i(t) \right|_{t=0}^{t=T} - \left. \sum_i \lambda_i^*(t) \delta \lambda_i(t) \right|_{t=0} - \left. \sum_c l r_c^*(t) l r_c(t) \right|_{t=0} - \left. \sum_c l i_c^*(t) l i_c(t) \right|_{t=0} \\ &= \sum_{l=1}^{N_{\bar{Y}}} \delta \bar{Y}_l \left(\sum_c \int_0^T (\partial_{\bar{Y}_l} f l(X_c(t), \bar{Y}) L_c^*(t) + \partial_{\bar{Y}} f r(X_c(t), \bar{Y}) l r_c^*(t) + \partial_{\bar{Y}} f i(X_c(t), \bar{Y}) l i_c^*(t)) dt \right), \end{aligned}$$

где функции $l_c^*(t)$, $l r_c^*(t)$, $l i_c^*(t)$, $\lambda_i^*(t)$ удовлетворяют системе сопряжённых уравнений:

$$\begin{aligned} L_c^*(t) &= \partial_l f l(X_c(t), \bar{Y}) l_c^*(t) + \partial_l f r(X_c(t), \bar{Y}) l r_c^*(t) + \partial_l f i(X_c(t), \bar{Y}) l i_c^*(t), \\ -l r_c^{*'}(t) &= \partial_{l r} f l(X_c(t), \bar{Y}) l_c^*(t) + \partial_{l r} f r(X_c(t), \bar{Y}) l r_c^*(t) + \partial_{l r} f i(X_c(t), \bar{Y}) l i_c^*(t), \\ -l i_c^{*'}(t) &= \partial_{l i} f l(X_c(t), \bar{Y}) l_c^*(t) + \partial_{l i} f r(X_c(t), \bar{Y}) l r_c^*(t) + \partial_{l i} f i(X_c(t), \bar{Y}) l i_c^*(t), \\ l_c^*(t) &= \sum_i H_{ci} \Lambda_i^*(t), \\ -\lambda_i^{*'}(t) &= \frac{\Lambda_i(t)}{N} \lambda_i^*(t) + \sum_c H_{ci} L_c^*(t), \\ \lambda_i^*(T) &= \lambda_{0i}^*, \\ \Lambda_i^*(t) &= \frac{1}{N} \lambda_i(t) \lambda_i^*(t), \\ l i_c^*(T) &= 0, \quad l r_c^*(T) = 0. \end{aligned}$$

Если теперь для некоторой клетки с номером c принять условие

$$\lambda_{0i}^* = H_{ci},$$

то получим следующее соотношение чувствительности:

$$\begin{aligned} \delta l_c(T) &= \left. \sum_i \lambda_i^*(t) \delta \lambda_i(t) \right|_{t=0} + \left. \sum_c l r_c^*(t) \delta l r_c(t) \right|_{t=0} + \left. \sum_c l i_c^*(t) \delta l i_c(t) \right|_{t=0} \\ &+ \sum_{l=1}^{N_{\bar{Y}}} \delta \bar{Y}_l \left(\sum_c \int_0^T (\partial_{\bar{Y}_l} f l(X_c(t), \bar{Y}) l_c^*(t) + \partial_{\bar{Y}} f r(X_c(t), \bar{Y}) l r_c^*(t) + \partial_{\bar{Y}} f i(X_c(t), \bar{Y}) l i_c^*(t)) dt \right), \end{aligned}$$

которое связывает вариацию видимой длины клетки c с вариациями параметров модели и начальных значений переменных состояния модели (в окрестности траекторий $l_i, l_c, l r_c$).

Чувствительность к вариациям длин фрагментов. Сначала рассмотрим, как длины фрагментов влияют на видимую длину выбранной

клетки. Для этого рассмотрим сопряжённые длины фрагментов $\lambda_i^*(t)$. Их график приведён на рис. 4.23. Он показывает, как механическая вариация длин фрагментов, влияет на длину выбранной клетки. Прежде всего, сравнивая уравнения, описывающие рост фрагментов прямой и сопряженной задачи, можно заключить, что обе системы уравнений включают петлю положительной обратной связи, величина которой определяется коэффициентом $\Lambda_i(t)$. Однако уравнение для сопряжённой длины также содержит источник $\sum_c H_{ci} L_c^*(t)$, который зависит от состояния всех клеток, содержащих данный фрагмент. На рис. 4.23 видно, что функции чувствительности на границах клетки убывают практически параллельно, что объясняется различными начальными условиями и сходными слагаемыми «источников». Наличие отрицательных значений вне фрагментов клетки говорит о том, что увеличение длин соседних клеток может приводить к уменьшению длины рассматриваемой клетки.

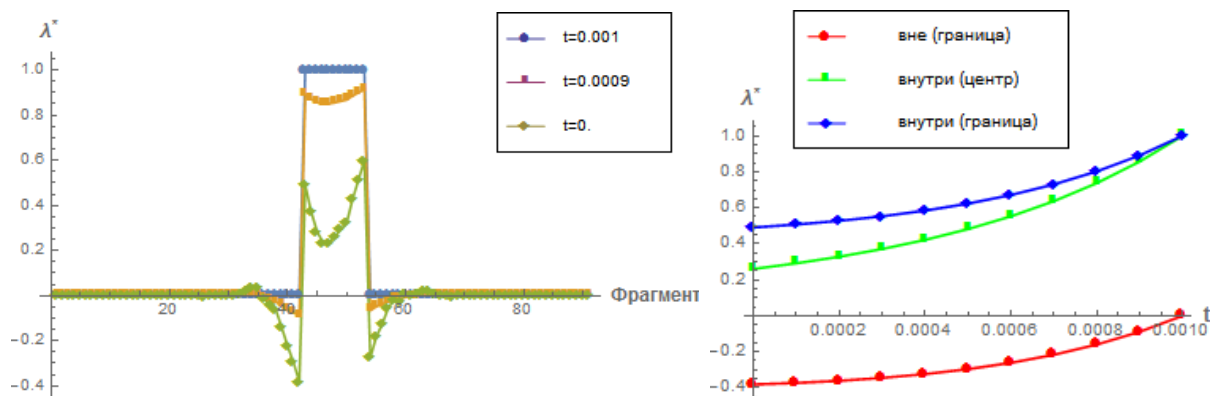


Рис. 4.23. Функция чувствительности видимой длины клетки к возмущениям длин фрагментов (слева). Изменение во времени функции чувствительности длины клетки к возмущениям длин фрагментов (справа).

Чувствительность к вариациям изоосмотических длин других клеток пласта. При исследовании модели одной клетки мы показали (см. таб. 4.4), что из всех переменных видимая длина клетки имеет наибольшую чувствительность к начальному состоянию li , поэтому рассмотрим, как влияет изменение li других клеток пласта на длину выбранной

клетки. На рис. 4.23 представлена функция чувствительности отображённая на клеточном пласте. Важность этого параметра определяется тем, что динамика li не зависит от других переменных модели. Очевидно, что максимальное влияние на видимую длину клетки оказывает её собственная изоосмотическая длина. Анализируя график (рис. 4.24), можно отметить, что положительное влияние оказывают также клетки из других файлов, содержащие те же фрагменты. Причём значения функции чувствительности в клетках, расположенных выше и ниже рассматриваемой клетки в том же клеточном ряду, оказываются отрицательны. Значение функции в этих клетках по модулю на порядок меньше чем в рассматриваемой клетке. Мы предполагаем, что влияние осуществляется как раз через отрицательную обратную связь во фрагментах вне клетки, но находящихся на её границах.

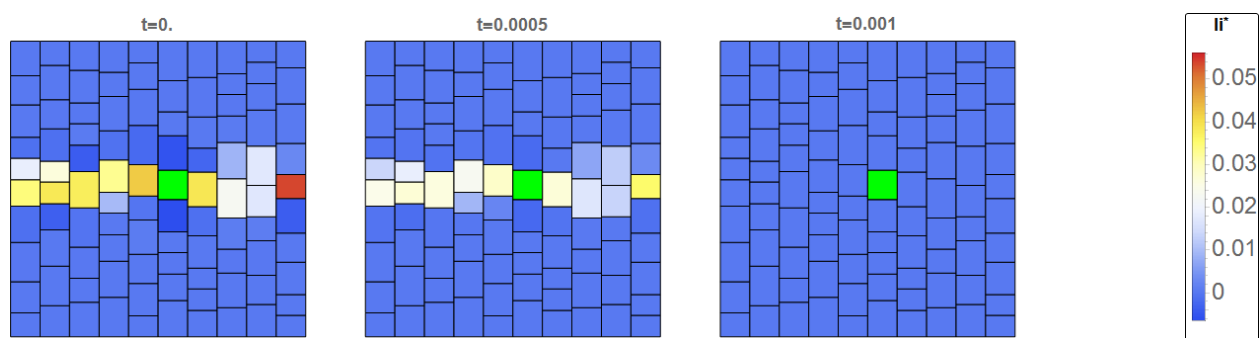


Рис. 4.24. Чувствительность видимой длины выбранной клетки (обозначена зелёным) к вариациям изоосмотических длин других клеток пласта.

4.5. Заключение к главе 4

Предложена математическая модель и ее программная реализация для проведения вычислительных экспериментов по одномерному симпластному росту тканей, и приведены результаты моделирования роста линейного листа в сравнении с ростом популяции свободно растущих растительных клеток. Показано, что в рамках рассмотренной модели симпластный рост приводит к существенному отклонению реальной длины клетки от

ее изоосмотической длины по сравнению со свободным ростом клеток, и клетки в ткани испытывают нестационарный и значительный гипо- и гиперосмотический стресс. Это означает, что симпластный рост предъявляет совершенно другие требования к регуляции роста растительной клетки по сравнению со свободным ростом. В свою очередь, это ставит вопросы об экспериментальной проверке реальности рассмотренной схемы регуляции роста клетки, и делает актуальным изучение других возможных механизмов регуляции в вычислительных экспериментах.

Основным экспериментально наблюдаемым параметром модели является видимая длина клетки в некоторый момент времени, поэтому мы выбрали именно эту переменную состояния в качестве целевого функционала для изучения чувствительности к параметрам модели. Для модели одиночной клетки было показано, что при малых значениях механических параметров чувствительность стремится к постоянному значению, а при их увеличении — падает. В ходе анализа многоклеточной модели было выяснено, что на длину клетки положительное влияние оказывают вариации длин фрагментов, содержащихся в клетке, причем на границах это влияние максимально а внутри клетки ослабевает. Отрицательное влияние наблюдается со стороны длин фрагментов, расположенных близко к границам клетки, но не входящих в нее. Также наблюдается отрицательное влияние со стороны изоосмотических длин клеток, находящихся в продольном клеточном ряду выше и ниже данной.

Таблица 4.4. Параметры модели и значения функции чувствительности

| Параметр | Значени | Чувств.-ть | Описание, ед.изм. |
|----------|---------|-------------|--|
| $l(0)$ | 14.7378 | -8.55e-13 | начальная длина клетки, мкм |
| $li(0)$ | 20.1575 | 0.731144 | начальная изоосмотическая длина клетки, мкм |
| $lr(0)$ | 14.2154 | 1.97e-10 | начальная релаксированная длина клетки, мкм |
| r | 4 | | ширина клетки, мкм |
| S_c | 4.0 | | поперечное сечение клетки, мкм ² |
| S_w | 0.8 | | поперечное сечение клеточ- ной стенки, мкм ² |
| L | 40 | 0.00146894 | коэффициент гидропроводно- сти, мкм ч бар ⁻¹ |
| α | 10 | 5.36703 | коэффициент осмотического давления, бар |
| E | 1000 | -0.00028689 | модуль Юнга материала кле- точной стенки, бар |
| η | 0.15 | 53.9229 | коэффициент роста клеточ- ной стенки |
| $thresh$ | 2 | -14.5014 | порог тургорного давления, бар |

5. Компьютерное моделирование формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе пшеницы

Глава посвящена изучению методами компьютерного моделирования механизма формирования пространственного паттерна трихом на растущем листе пшеницы.

5.1. Биологические предпосылки модели

5.1.1. Пространственный паттерн клеток-трихом на листе пшеницы

Эпидермис высших растений относится к сложным тканям. Помимо основных клеток в эпидермисе, как правило, есть ряд высокоспециализированных клеток, которые сильно отличаются от основных эпидермальных клеток как по строению, так и по выполняемым функциям. К таким клеткам, прежде всего, относят устьица и трихомы — выросты эпидермальных клеток листа размером от нескольких микрометров до миллиметров. Совокупность всех трихом на поверхности органа растения, их распределение и разнообразие принято называть опушением.

Механизмы развития эпидермальных образований растений представляют интерес как с фундаментальной, так и с практической (адаптивный, хозяйственно ценный признак) точек зрения. Трихомы являются удобным объектом для исследования клеточных механизмов морфогенеза. С одной стороны, это связано с их поверхностным расположением и удобством прижизненного наблюдения, с другой стороны с тем, что в отличие от устьиц и корневых волосков, мутанты, имеющие рудиментарные, иска-

жённые трихомы или не образующие трихом, в условиях искусственного выращивания, как правило, жизнеспособны. Кроме того, трихомы растений выполняют важную адаптивную функцию (формируют микроклимат вблизи поверхности листа, защищают от вредителей и т.д). Эти функции трихом представляют для изучения большой интерес, т.к. от них зависит устойчивость растения к засухе и повреждению патогенами.

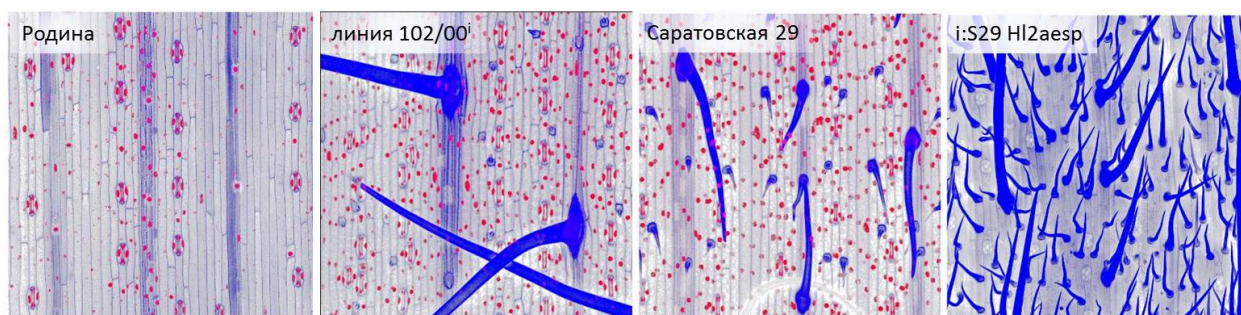


Рис. 5.1. Типы опушения листьев разных сортов пшеницы (синий цвет — клеточные стенки, красный цвет — ядра, изображения получены А.В. Дорошковым, и обработаны автором диссертации в системе Mathematica).

Для ряда двудольных растений опушение достаточно хорошо изучено: известны молекулярные механизмы, обеспечивающие контроль формирования трихом. В существенно меньшей степени изучены молекулярные механизмы формирования трихом у однодольных. Для исследования генетических механизмов формирования опушения у однодольных растений интересным объектом является пшеница благодаря большому разнообразию проявлений этого признака у разных сортов (рис. 5.1). В данной работе механизм формирования пространственного паттерна трихом на растущем листе пшеницы был изучен методами компьютерного моделирования.

5.1.2. Структура зоны роста и закладка трихом

Лист пшеницы имеет линейную структуру. Подробное описание и изучение геометрии роста линейного листа приведено в главах 1 и 4. Так как клетки растений не сдвигаются относительно друг друга, то положение кле-

точной стенки при делении играет важную роль в формировании клеточного паттерна. Расположение клеток-трихом на поверхности листовой пластинки закладывается в процессе роста листа в меристематической зоне. Эта зона деления клеток имеет следующую структуру: ближе к основанию листа расположена зона симметричных делений, далее зона асимметричных делений (рис. 5.2 А). В результате симметричных делений образуются дочерние клетки примерно одного размера и одного типа, при асимметричном делении — клетки разных размеров и разных типов [133]. Известно, что формирование специализированных эпидермальных клеток, трихом и устьиц, происходит в результате асимметричных делений, однако не все детали этого механизма хорошо изучены [109].

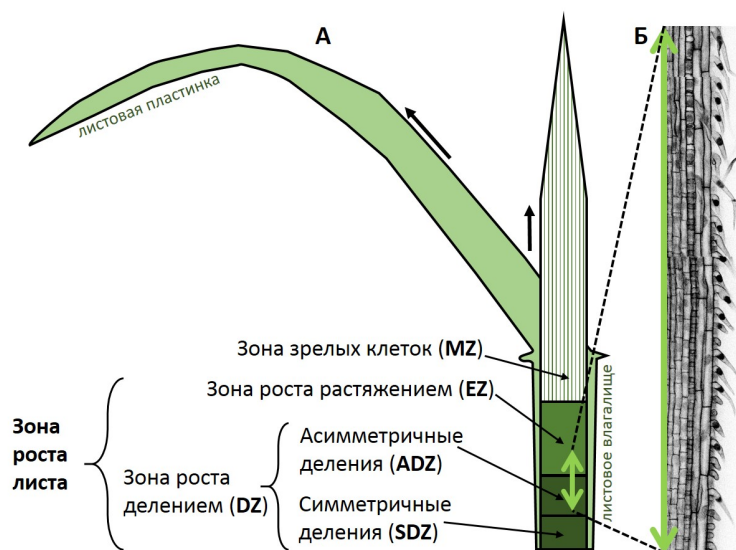


Рис. 5.2. **А.** Структура зоны роста листа пшеницы, стрелка показывает направление роста листа. **Б.** Микрофотография фрагмента эпидермиса основания молодого листа пшеницы, на котором видны зачатки трихом (изображение получено А.В. Дорошковым, и обработано автором диссертации в системе Mathematica).

Трихомы формируются в отдельных продольных рядах в результате деления материнской клетки в зоне асимметричных делений. При этом маленькая клетка-трихома, как правило, образуется на дистальном конце, в

то время как проксимальная клетка остаётся недифференцированной [22] и может поделиться ещё раз. В то же время, в зоне асимметричных делений происходят и обычные (симметричные) деления. Клетка-трихома в дальнейшем не делится и начинает расти в направлении перпендикулярном плоскости листовой пластинки. Если предположить, что на начальном этапе роста длина клетки-трихомы прямо пропорциональна её возрасту (времени, которое прошло от момента деления), то наблюдаемые длины клеток-трихом, расположенных в одном продольном ряду, будут указывать на очерёдность их появления в результате асимметричного деления. На рис. 5.2 Б показан фрагмент эпидермиса листа пшеницы (линии 102/00ⁱ), на котором изображены клетки зоны роста и хорошо видно, что в одном ряду длины клеток-трихом увеличиваются немонотонно (между «длинными» встречаются «короткие»). В модели мы попытались учесть эту особенность, предположив в качестве возможного механизма формирования паттерна опушения листа механизм латерального ингибирования сигналом, который синтезируют клетки-трихомы.

5.1.3. Формирование пространственного паттерна клеток-трихом на основе механизма латерального ингибирования

Механизм латерального ингибирования применяется для объяснения формирования многих биологических паттернов [113], в которых поддерживается относительно постоянное минимальное расстояние между соседними элементами, в частности, таких как паттерн щетинок в эпидермисе насекомых [94, 18], паттерн азотфиксирующих клеток-гетероцист в нитях сине-зеленой водоросли *Anabaena* [195], паттерн трихом на листе и корневых волосков на корне арабидопсиса [164, 105].

Изучение распределения клеток-трихом в молодом листе арабидопсиса показало, что одна трихома закладывается рядом с другой гораздо реже, чем можно было бы ожидать по случайным причинам. Таким образом, эти

результаты согласуются с ролью латерального ингибирования в контроле развития трихом [105].

Трихомы арабидопсиса представляют собой одноклеточные выросты клеток эпидермиса и являются более изученными по сравнению с трихомами пшеницы, так как служат моделью для изучения дифференциации клеток растений. Ранее показано [55], что механизм латерального ингибирования хорошо объясняет формирование пространственного паттерна трихом на листовой пластинке двудольного растения арабидопсиса (рис. 5.3).

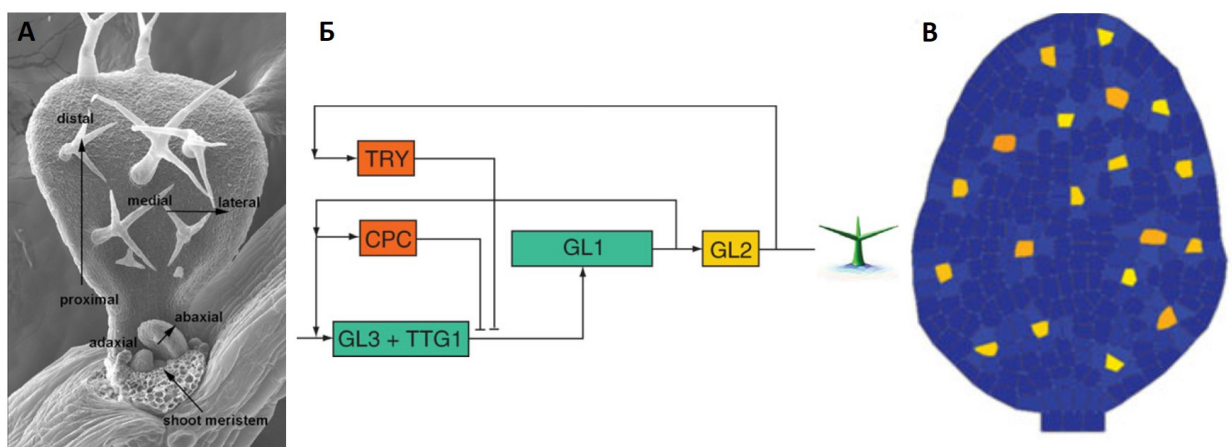


Рис. 5.3. Модель формирования паттерна трихом в эпидермисе листа арабидопсиса на основе механизма «латерального ингибирования» из работы [55]. **А.** Микрофотография листа арабидопсиса. **Б.** Схема регуляции генов, контролирующей закладку трихом. Активаторы (комплекс GL3+TTG1 (*GLABRA3*, *TRANSPARENT TESTA GLABRA1*)) и GL1 (*GLABRA1*) обозначены зелёным, ингибиторы (белки TRY (*TRIPTYCHON*) и CPC (*CAPRICE*)) — красным, жёлтым цветом обозначена группа генов, регулирующих развитие трихомы (в модели это один ген *GL2*) **Б'.** Результат вычислительного эксперимента (распределение концентрации GL2 в клетках листа).

Следует отметить, что лист арабидопсиса растет диффузно, то есть так, что области роста распределены по всей листовой пластинке. В отличие от арабидопсиса, у пшеницы совершенно другая феноменология за-

кладки трихом — лист растёт за счёт деления клеток в основании листа и трихомы формируются в отдельных продольных рядах.

В диссертации представлена модель механизма формирования трихом на листе пшеницы, основанная на гипотезе о существовании латерального ингибирования сигналом, исходящим из клеток-трихом, и учитывающая геометрию и кинетику роста листа. При построении модели мы использовали данные о длине трихом и их расположении в продольных рядах в зоне роста листа пшеницы (рис. 5.2 Б).

5.2. Математическое описание модели

5.2.1. Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом в одном продольном ряду

Для изучения механизма формирования пространственного паттерна трихом в продольном ряду клеток на листе пшеницы была реализована компьютерная модель в пакете «МРТ».

В этой модели клеточная структура представлена одномерным массивом клеток (рис. 5.4). В начале массива расположены клетки зоны симметричных делений (SDZ), затем клетки зоны асимметричных делений (ADZ) и далее клетки зоны растяжения (EZ). В каждой клетке содержатся вещества-морфогены, определяющие её тип: Z_1 и Z_2 — морфогены-маркеры зон симметричных и асимметричных делений клеток, Tr — морфоген-маркер трихом. Z_1 и Z_2 синтезируется в первой клетке и распространяются по клеточному массиву, Tr нарабатывается в клетках-трихомах и является ингибитором образования трихом в соседних клетках. В результате роста ткани расстояние от клетки, отмеченной знаком * (на рис. 5.4), до ближайшей трихомы увеличилось и, следовательно сложились условия для асимметричного деления с образованием новой трихомы, т.к. влияние морфогена Tr уменьшилось (концентрация меньше порога).

Компьютерная модель представлена в виде dL-системы (рис. 5.5).

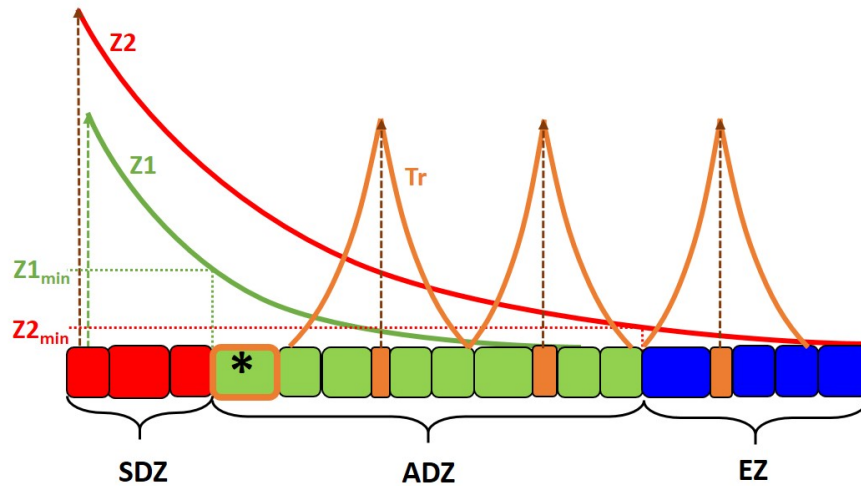


Рис. 5.4. Схема клеточной структуры зоны роста и распределения концентраций морфогенов (Z_1 , Z_2 и Tr) в модели. $Z_{1\ min}$, $Z_{2\ min}$ — пороги концентраций морфогенов. Красные клетки — зона симметричных делений (SDZ), зелёные — зона асимметричных делений (ADZ), синие — зона растяжения (EZ), оранжевые — клетки-трихомы. В клетке, отмеченной знаком *, реализуются условия для асимметричного деления и образования трихомы.

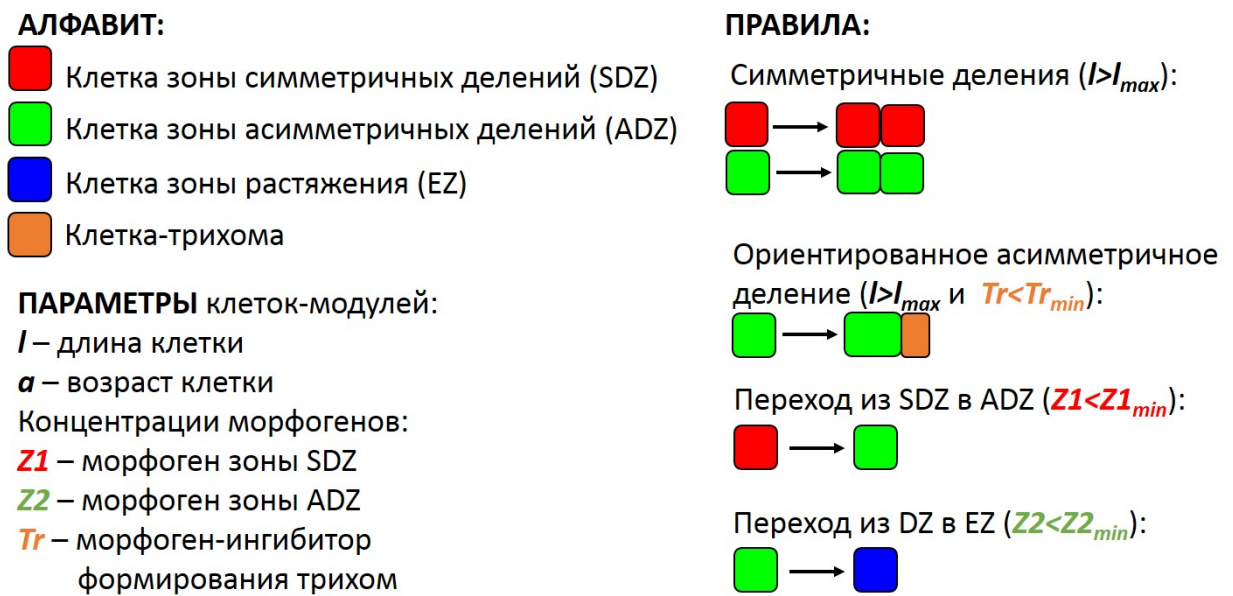


Рис. 5.5. Алфавит, параметры и правила L-системы, формализующей модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом в одном продольном ряду клеток

Алфавит $V = \{S, A, E, T\}$ составляют четыре символа, соответствующие клеткам зоны симметричных и асимметричных делений, зоны растяжения и клеткам-трихомам. 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 дифференцировку клеток в зависимости от значений параметров.

Если длина клетки зоны деления достигает максимального значения, то клетка делится:

- в зоне SDZ: $S(l, a, z_1, z_2, tr) \rightarrow S(d \cdot l, a, z_1, z_2, tr)S((1-d)l, a, z_1, z_2, tr)$,
- в зоне ADZ: $A(l, a, z_1, z_2, tr) \rightarrow A(d \cdot l, a, z_1, z_2, tr)A((1-d)l, a, z_1, z_2, tr)$,

где коэффициент d — случайная нормально распределённая величина со средним 0.5 и среднеквадратичным отклонением 0.1. При этом, если концентрация морфогена-ингибитора формирования трихом Tr в клетках зоны асимметричных делений меньше порога, то реализуется условие для асимметричного ориентированного деления клетки с образованием трихомы. В этом случае коэффициент d распределён по нормальному закону со средним 0.7 и среднеквадратичным отклонением 0.1, т.е. материнская клетка делится в соотношении 7:3 и меньшая дочерняя клетка образует трихому.

Если концентрация морфогена, определяющего структуру зоны деления, меньше порога, то клетка переходит в следующую зону:

- в зоне SDZ: при $z_1 < z_{1 \min}$ $S \rightarrow A$,
- в зоне ADZ: при $z_2 < z_{2 \min}$ $A \rightarrow E$.

Динамика переменных состояния определяется системой дифференциальных уравнений, в частности, для концентраций морфогенов использовались уравнения вида 2.1.

5.2.2. Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе с учётом биомеханики роста

Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе является развитием модели симпластного однонаправленного роста линейного листа, рассмотренной в главе 4. Так как нас не интересует форма кончика листа и, учитывая особенности математического аппарата («склеенные» dL-системы), мы моделируем «прямоугольный лист», состоящий из параллельных продольных рядов клеток. На первом этапе происходит формирование инициального слоя клеток: возникновение точки инициации роста вверх, которая затем разрастается и опоясывает стебель. На втором этапе лист растёт вверх: клетки инициального слоя растут вверх и делятся, таким образом, из каждой клетки получается свой продольный клеточный ряд. Биомеханика роста линейного листа моделировалась точно так же, как в модели симпластного роста эпидермиса линейной листовой пластинки, которая представлена в главе 4. Клеточная структура в модели представлена двумерным массивом клеток (рис. 5.6 А).

В каждой клетке листа содержатся вещества-морфогены, определяющие её тип: Z_1 и Z_2 — морфогены-маркеры клеток зоны SDZ и клеток зоны ADZ, — которые синтезируются в первой клетке каждого продольного ряда. Однако в отличие от одномерной модели, механизм дифференцировки клеток-трихом на «прямоугольном листе» управляется двумя морфогенами. Один из них на ранних стадиях развития листа определяет положение будущих рядов клеток-трихом, другой определяет расположение клеток-трихом в рядах (рис. 5.6). Морфоген-маркер трихом T_0 размечает в ряду инициальных клеток те клетки, из которых будут формироваться ряды клеток с трихомами. T_0 синтезируется только в клетках, отмеченных синим. Морфоген-маркер трихом Tr размечает клетки-трихомы в рядах, «отмеченных» маркером T_0 . Tr синтезируется только в клетках, отмеченных красным. Схема расположения зон на листовой пластинке и граф переключо-

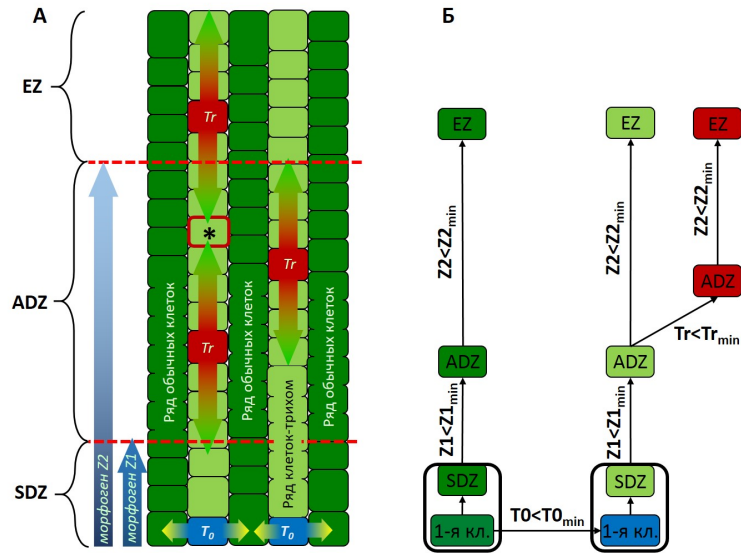


Рис. 5.6. Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе с учётом биомеханики роста. **А.** Клеточная структура «модельного листа». В клетке, отмеченной знаком *, реализуются условия для образования трихомы. **Б.** Схема правил переключения типов клеток в зависимости от концентраций морфогенов.

чения типов клеток представлены на рис. 5.6.

Модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на листе с учётом биомеханики роста и морфогенетической регуляции представлена в формализме «склеенных» dL-систем. Алфавит $V = \{S, A, E, T, S_t, A_t, E_t, t, \}$ составляют 8 символов:

S — «обычные» клетки зоны SDZ,

A — «обычные» клетки зоны ADZ,

E — «обычные» клетки зоны EZ,

T — клетки-трихомы (красные на рис. 5.6),

S_t — клетки зоны SDZ в ряду, где могут формироваться трихомы,

A_t — клетки зоны ADZ в ряду, где могут формироваться трихомы,

E_t — клетки зоны EZ в ряду, где могут формироваться трихомы,

t — инициальные клетки в ряду, где могут формироваться трихомы (синие на рис. 5.6).

Состояние каждой клетки описывается 6-ю параметрами $\{l, a, z_1, z_2, tr, t_0\}$ — длина и возраст клетки и концентрации 4-х морфогенов. Правила выражают деление и дифференцировку клеток в зависимости от значений параметров. Определённые пороговые значения концентраций веществ-морфогенов узнаются клетками и приводят к их дифференцировке. По мере роста листа клетки изменяют свой тип в следующей последовательности: зона симметричных делений, зона асимметричных делений, зона удлинения (рис. 5.6). В каждой зоне клетки характеризуются разной скоростью роста, способностью к делению и дифференцировке в клетки-трихомы. В зоне роста делением (SDZ+ADZ) клетки медленно растут и делятся, в зоне удлинения клетки быстро растут и не делятся. В зоне ADZ могут происходить как симметричные, так и асимметричные деления клеток. В результате асимметричных делений формируются клетки-трихомы.

Динамика концентраций морфогенов Z_1, Z_2, Tr и T_0 в клетках рассчитывается с помощью системы дифференциальных уравнений. Каждое уравнение имеет следующий вид:

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j \in \epsilon_1(i)} \frac{\beta_{1P} S_{ij} (p_i - p_j)}{V_i} + \sum_{j \in \epsilon_2(i)} \frac{\beta_{2P} S_{ij} (p_i - p_j)}{V_i} + \nu_P - d_P p_i - p_i \frac{1}{V_i} \frac{dV_i}{dt}, \quad (5.1)$$

где p_i — концентрация вещества P в i -й клетке (P может принимать значения Z_1, Z_2, Tr и T_0), β_{1P} и β_{2P} — коэффициенты диффузии для вещества P в горизонтальном и вертикальном направлениях, ν_P — максимальная скорость синтеза, d_P — коэффициент распада, $\epsilon_1(i)$ — окрестность i -й клетки (клетки «сверху-снизу» одного продольного ряда клеток), $\epsilon_2(i)$ — окрестность i -й клетки (клетки «справа-слева» из соседних продольных рядов клеток, которые имеют с i -й клеткой общие сегменты границы). При

$\beta_{1P} = \beta_{2P}$, вещество P распространяется изотропно, $\beta_{1P} \neq \beta_{2P}$ — анизотропно.

Записав для каждого вещества в каждой клетке уравнение типа (5.1), получаем систему уравнений, описывающую динамику концентраций веществ во всех клетках листа.

Для данной модели в пакете «МРТ» была разработана программа, которая использовалась для вычислительных экспериментов.

5.3. Результаты вычислительных экспериментов

5.3.1. Исследование закономерностей формирования паттерна клеток-трихом в одном продольном ряду

При наблюдении за развитием листа пшеницы одним из первых фенотипических проявлений дифференцировки клеток эпидермиса, которое можно увидеть в зоне роста, является формирование у некоторых клеток (клеток-трихом) выростов перпендикулярных плоскости листовой пластинки. Такие клетки появляются не хаотично, а расположены в продольных рядах. Клетки, у которых формируется вырост, образуют в продольном ряду регулярный пространственный паттерн. Например, на рис. 5.2 Б они чередуются с обычными эпидермальными клетками через одну. Также важно отметить, что длины выростов неодинаковы и, хотя очевидна общая тенденция их увеличения в базально-апикальном направлении листа, довольно часто встречаются исключения, когда маленькая клетка расположена между двумя большими. Если предположить, что на некотором интервале времени длина выроста пропорциональна возрасту клетки, и учесть геометрические особенности однонаправленного роста линейного листа, то можно считать, что пространственное распределение длин выростов клеток в одном продольном ряду характеризует порядок событий дифференцировки (самая длинная появилась раньше всех). Наблюдаемый пространственный паттерн (расстояние между трихомами) и пространственное распределение

длин выростов клеток являются количественными характеристиками опущения, которые использовались в модели для проверки гипотезы о том, что в основе формирования паттерна распределения трихом лежит механизм латерального ингибирования.

В вычислительном эксперименте одномерная модель генерирует закладку трихом в продольном ряду клеток (рис. 5.7). Расстояние между трихомами регулируется в модели параметром β_{Tr} (скорость диффузии морфогена Tr) и порогом концентрации Tr_{min} , который определяет условие дифференцировки обычной клетки в трихому. Вариабельность возрастов (длин выростов клеток-трихом) регулируется в модели размером зоны ADZ, который в свою очередь, зависит от положения её границ. Базальная граница и апикальная граница зоны ADZ в модели регулируется параметрами β_{Z_1} и β_{Z_2} (скорости диффузии морфогенов Z_1 и Z_2) и порогами концентраций $Z_{1\ min}$ и $Z_{2\ min}$, определяющими переходы $SDZ \rightarrow ADZ$ и $ADZ \rightarrow EZ$, соответственно.

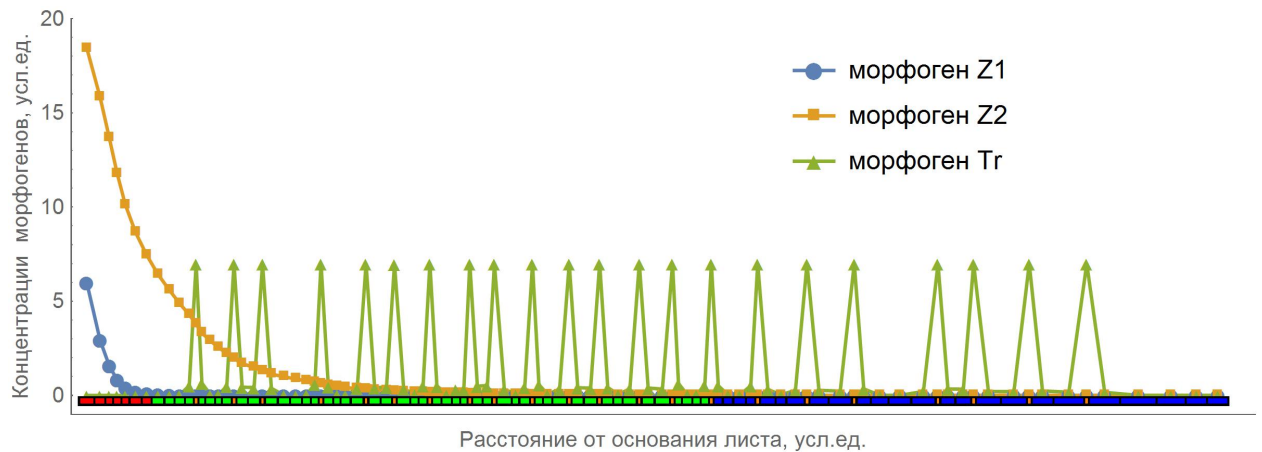


Рис. 5.7. Распределение концентрации морфогенов вдоль продольного ряда клеток. Вдоль оси Ox приведена соответствующая клеточная структура. Красные клетки — зона симметричных делений (SDZ), зелёные клетки — зона асимметричных делений (ADZ), синие клетки — зона растяжения (EZ), оранжевые — клетки-трихомы.

Целью *вычислительного эксперимента №1* было в рамках модели

сравнить два гипотетических механизма закладки трихом в зоне ADZ: (1) выбор между симметричным и асимметричным делением осуществляется случайно, (2) — выбор зависит от концентрации в клетке морфогена *Tr* (т.е. работает механизм латерального ингибирования). Для этих двух механизмов в вычислительных экспериментах были рассчитаны расстояния между соседними трихомами в ряду и построены теоретические распределения (рис. 5.8). При случайном механизме количество клеток между соседними трихомами в ряду подчиняется теоретически ожидаемому экспоненциальному закону распределения. В случае латерального ингибирования расстояния между соседними клетками-трихомами в ряду примерно одинаковые и их распределение можно аппроксимировать нормальным законом.

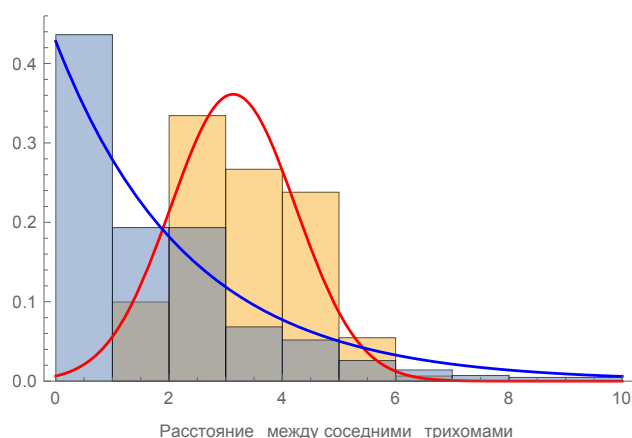


Рис. 5.8. Результаты вычислительного эксперимента №1. Плотности распределений расстояний между соседними клетками-трихомами в ряду для случайного механизма (синяя кривая) и для механизма латерального ингибирования (синяя кривая).

Целью *вычислительного эксперимента №2* было в рамках модели сравнить возможные распределения возрастов клеток-трихом при различных размерах зоны асимметричного деления клеток. Так как в модели закладка трихом регулируется по механизму латерального ингибирования, то увеличение зоны асимметричного деления клеток, где происходит заклад-

ка клеток-трихом, приводит к увеличению вариации возрастов соседних клеток-трихом в ряду. Это происходит потому, что если размер зоны асимметричного деления клеток будет достаточно большой, то будут возможны ситуации, когда новая клетка-трихома возникает между двумя уже существующими, и тогда в модели мы получим немонотонный паттерн «возрастов» клеток-трихом в одном продольном файле. Такой паттерн можно увидеть в зоне роста листа пшеницы (рис. 5.2 Б).

В зоне SDZ, трихом нет, поэтому в клетках концентрация морфогена Tr мала и как только клетка переходит в зону ADZ (и её размер удовлетворяет условию деления) она образует трихому. Такие трихомы назовём трихомами «первого поколения». При высокой концентрации морфогена Tr в зоне ADZ клетки делятся симметрично, увеличивая таким образом расстояние между существующими трихомами. Концентрация морфогена Tr будет минимальна в клетке, которая находится на максимальном возможном расстоянии от двух существующих трихом. Соответственно, эта клетка сможет поделиться асимметрично и образовать трихому. Такие трихомами назовём трихомами «второго поколения».

Результаты математического моделирования процесса формирования трихом при разных размерах зоны ADZ представлены на рис. 5.9. Здесь, на вертикальной оси отображен возраст трихом, по горизонтальной оси номер клетки в ряду. Видно, что зона асимметричного деления и зона роста растяжением отличаются характером зависимостей возраста трихом от номера клетки. Нелинейности в зоне асимметричного деления обусловлены делением клеток и появлением новых трихом «второго поколения». В зоне роста растяжением возраст клеток пропорционален положению клетки в ряду (её номеру). Поэтому, в этой зоне можно аппроксимировать зависимость линейной функцией возраста трихом от номера клетки. В качестве сравнительной характеристики распределения трихом в зависимости от размера зоны ADZ было выбрано распределение отклонения возраста трихом от линии линейной регрессии (рис. 5.9). Можно предположить, что эти распре-

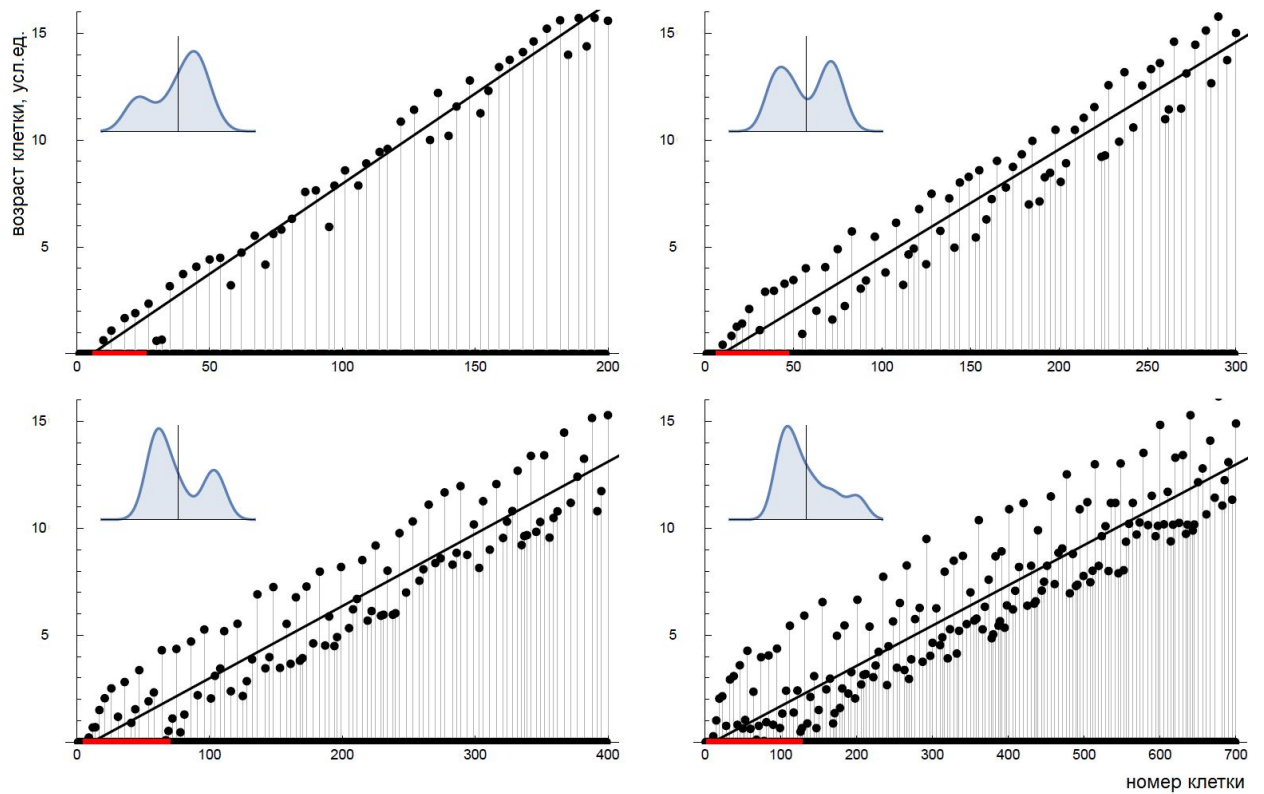


Рис. 5.9. Результаты вычислительного эксперимента №2. Пространственные распределения возрастов трихом при различных размерах зоны ADZ: **А.** 25 клеток, **Б.** 50 клеток, **В.** 100 клеток, **Г.** 200 клеток.

деления можно представить в виде смеси двух нормальных распределений (рис. 5.10): распределение трихом «первого поколения» и распределение трихом «второго поколения», т.е. в виде статистической модели, которая описывается 5 параметрами: среднее значение относительного возраста (μ_1 и μ_2) и среднеквадратичное отклонение (σ_1 и σ_2) для трихом первого и второго поколения, их относительная доля (λ и $(1 - \lambda)$). Критерий согласия Колмогорова-Смирнова показал, что такое представление возможно. (р-значения и параметры распределений представлены в таб. 5.1).

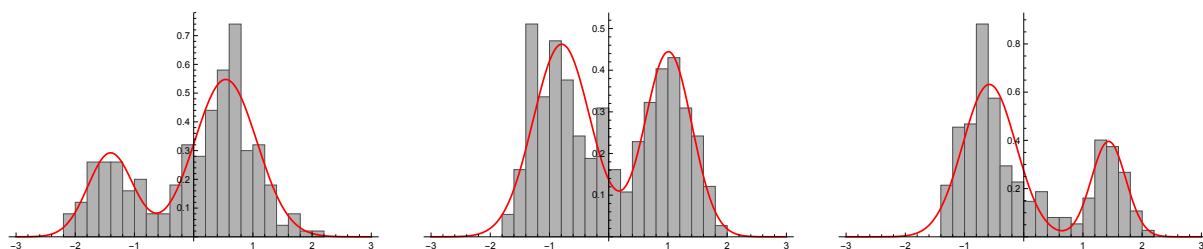


Рис. 5.10. Результаты вычислительного эксперимента №2. Распределения трихом «первого поколения» и «второго поколения» при различных размерах зоны ADZ: **А.** 18 клеток, **Б.** 38 клеток, **В.** 60 клеток.

Таблица 5.1. Размер зоны ADZ, параметры распределения и р-значение критерия Колмогорова-Смирнова

| Число клеток в ADZ | λ | $1 - \lambda$ | μ_1 | σ_1 | μ_2 | σ_2 | р-значение |
|--------------------|-----------|---------------|---------|------------|---------|------------|------------|
| 18 | 0.28 | 0.72 | -1.4 | 0.38 | 0.54 | 0.53 | 0.89 |
| 38 | 0.56 | 0.44 | -0.79 | 0.48 | 1.01 | 0.39 | 0.64 |
| 60 | 0.71 | 0.23 | -0.58 | 0.45 | 1.43 | 0.29 | 0.08 |

Можно отметить, что с увеличением размера зоны растёт доля трихом «второго поколения». Это естественное следствие действия механизма латерального ингибирования, принятого в модели. По экспериментальным данным распределения размеров трихом в ряду можно подобрать параметры модели и оценить размер зоны ADZ.

Построенная модель формирования трихом на листе пшеницы позволяет, используя разные функции роста, настроить параметры модели по экспериментальным данным так, что распределение длин трихом в продольном ряду клеток в вычислительном эксперименте совпадает с экспериментальным распределением (рис. 5.11 В).

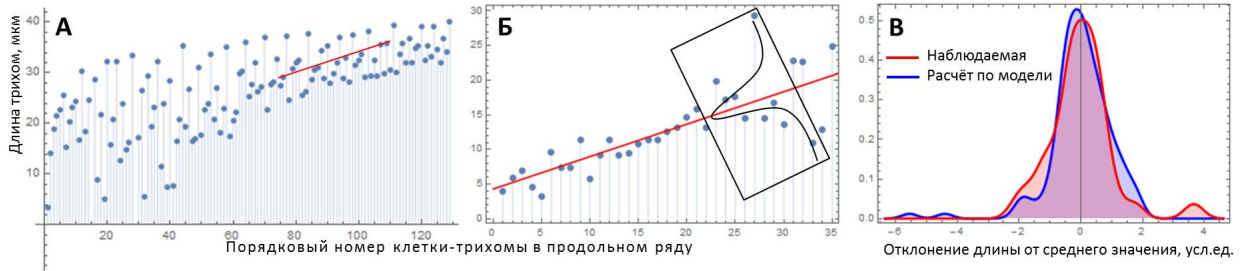


Рис. 5.11. Распределение длин клеток-трихом в продольном ряду, полученное **А.** в вычислительном эксперименте и **Б.** по измерениям длин клеток-трихом зоны роста на листе пшеницы (см. рис. 5.2 Б). **В.** Плотность распределения длин клеток-трихом в эксперименте (красная кривая) и расчёт по модели (синяя кривая).

Итак, механизм латерального ингибирования, который, как нам представляется, лежит в основе формирования паттерна трихом в зоне асимметричного деления клеток, может проявляться в экспериментальных данных несколькими особенностями:

1. В зоне асимметричного деления закладка трихом происходит двумя поколениями. «Первое поколение» трихом формируется под воздействием фонового морфогена-активатора (Z_2), распространяющегося из первой стволовой клетки ряда на начальном участке асимметричной зоны деления.
2. «Второе поколение» трихом появляется между существующими трихомами, когда запрет на появление трихом обусловлен действием морфогенов-ингибиторов от уже сформированных трихом. По мере того как клетки растут появляется зона, где действие морфогенов-

ингибиторов ослабляется и появляются условия для формирования новых трихом.

3. С увеличением размера зоны ADZ доля трихом «второго поколения» увеличивается, что является проявлением механизма латерального ингибирования.

Эти особенности механизма латерального ингибирования дают возможность построить критерий, который позволил бы, при наличии соответствующих экспериментальных данных, оценить достоверность предположения о том, что в основе формирования паттерна распределения трихом лежит механизм латерального ингибирования.

5.3.2. Исследование закономерностей формирования паттерна клеток-трихом на листе

Моделирование формирования паттерна клеток-трихом на листовой пластинке даёт возможность исследовать пространственные особенности механизма.

Целью *вычислительного эксперимента №3* было исследование формирования границ зон симметричного и асимметричного деления клеток при изотропной и анизотропной диффузии морфогенов Z_1 и Z_2 , определяющих зональность. В вычислительных экспериментах было показано, что при изотропной и анизотропной диффузии морфогенов закономерности формирования границ зоны различаются. На рис. 5.12 приведены результаты моделирования при разных режимах распространения морфогенов Z_1 и Z_2 . На рисунках **A** и **B** представлены паттерны клеточной структуры листа, которые были получены в предположении анизотропной диффузии преимущественно поперёк ($\beta_{1T_0} > \beta_{2T_0}$ и $\beta_{1Tr} > \beta_{2Tr}$) или вдоль ($\beta_{1T_0} < \beta_{2T_0}$ и $\beta_{1Tr} < \beta_{2Tr}$) листа, соответственно. Закономерности формирования границ существенно отличаются: в случае **B** формирование зон осуществляется в каждом ряду независимо. В случае **B** реализован вариант изотропной

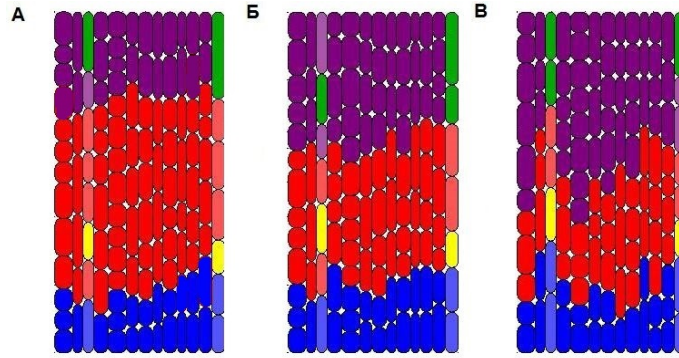


Рис. 5.12. Результаты вычислительного эксперимента №3. Фрагмент клеточной структуры «модельного листа» при изотропной и анизотропной диффузии морфогенов, определяющих зональность. Синие клетки — тип S , красные клетки — тип A , фиолетовые клетки — тип E , зелёные и жёлтые клетки — тип T , светло-синие клетки — тип S_t и t , розовые клетки — тип A_t , светло-фиолетовые клетки — тип E_t . **А.** Анизотропная диффузия преимущественно поперёк листа. **Б.** Изотропная диффузия. **В.** Анизотропная диффузия преимущественно вдоль листа.

диффузии ($\beta_{1T_0} = \beta_{2T_0}$ и $\beta_{1Tr} = \beta_{2Tr}$), при котором формирование зон в каждом продольном ряду клеток является взаимосогласованным.

Целью *вычислительного эксперимента №4* было исследование пространственных паттернов трихом в зависимости от скорости диффузии морфогенов Tr и T_0 , определяющих закладку трихом. В вычислительных экспериментах показано, что варьирование скоростей диффузии морфогенов позволяет получать пространственные паттерны трихом сходные с экспериментально наблюдаемыми (рис. 5.1). При варьировании скорости диффузии морфогена T_0 изменяется расстояние между рядами, в которых могут образовываться трихомы. При варьировании скорости диффузии морфогена Tr изменяется частота появления трихом в ряду. Результаты моделирования при разных скоростях диффузии морфогенов, определяющих дифференцировку клеток-трихом в «горизонтальном» (при росте инициального слоя) и «вертикальном» (при росте листа) направлениях

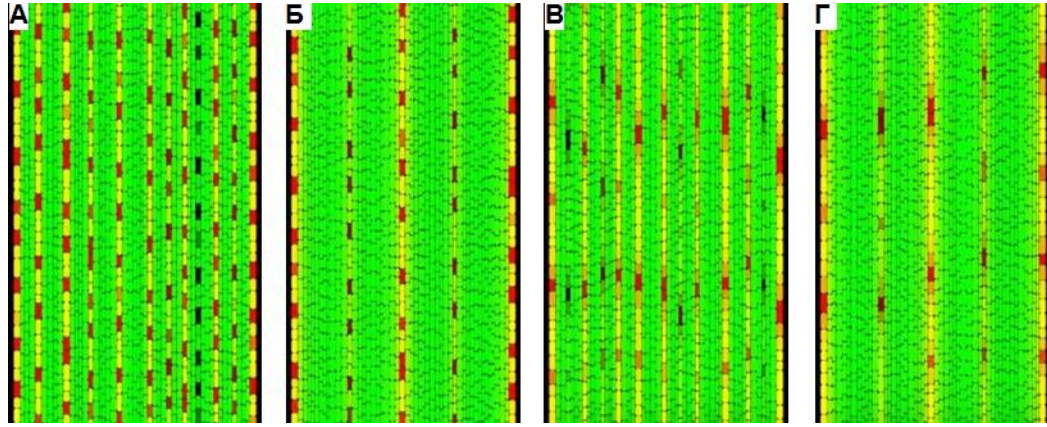


Рис. 5.13. Результаты вычислительного эксперимента №4. Пространственные паттерны трихом (красные клетки) в зависимости от скорости диффузии морфогенов T_0 и Tr . **А.** $\beta_{1T_0} = 1$, $\beta_{2Tr} = 1$, **Б.** $\beta_{1T_0} = 10$, $\beta_{2Tr} = 1$, **В.** $\beta_{1T_0} = 1$, $\beta_{2Tr} = 10$, **Г.** $\beta_{1T_0} = 10$, $\beta_{2Tr} = 10$.

представлены на рис. 5.13.

5.4. Заключение к главе 5

Разработана математическая модель формирования пространственного паттерна клеток-трихом на растущем листе пшеницы. Показано, что (1) формирование пространственного паттерна клеток-трихом в продольном ряду клеток на листе пшеницы может регулироваться механизмом на основе латерального ингибирования сигналом, исходящим из клеток-трихом; (2) вариабельность размеров трихом может зависеть от размеров зоны асимметричного деления клеток; (3) при условии изотропной диффузии морфогенов формирование паттернов клеток в разных продольных рядах может быть согласовано; (4) варьирование скоростей диффузии морфогенов позволяет получать пространственные паттерны сходные с экспериментально наблюдаемыми.

Заключение

Рост и деление клеток в меристеме, и их регуляция являются важным аспектом, определяющим морфодинамику растительной ткани. Происходящее при этом изменение геометрии ткани приводит, с одной стороны, к изменению регуляции молекулярными сигналами, распространяющимися по тканевому пространству, с другой — к возникновению механических напряжений в ткани. Роль этих механических напряжений как интегрирующих сигналов для регуляции морфодинамики является в настоящее время предметом интенсивных исследований методами моделирования и вычислительных экспериментов.

В диссертации изложена методика для моделирования морфодинамики растительной ткани, основанная на методе моделирования динамических систем с динамической структурой в формализме дифференциальных L-систем. Данная методика лежит в основе пакета «МРТ», который реализован в виде программных модулей в среде Mathematica и позволяет имитировать однонаправленный 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 стволовых клеток апикальной меристемы побега арабидопсиса на растущей ткани, (б) роста эпидермиса линейного листа, (в) формирования трихом на листе пшеницы.

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. Разработанные модели позволяют анализировать согла-

сованность качественных представлений о механизмах роста и формообразования 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.

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 однонаправленный 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 стволовых 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 литературы

1. Быкова Е., Лабунская Е., Косенко Я., В.В. Ч. Коэволюция структуры побеговой апикальной меристемы и генетических механизмов контроля клеточной пролиферации // Вестник ТвГУ. 2013. Vol. 32, no. 31. Pp. 25–50.
2. Иванов В. Клеточные механизмы роста растений, Под ред. В. Кузнецов. М.: Наука, 2011.
3. Иванов В. Б. Клеточные основы роста растений, Под ред. И. В. Обреимов. Наука, 1974.
4. Марчук Г. Сопряженные уравнения и анализ сложных систем. Наука М., 1992.
5. Николаев С., Пененко А., Лавреха В. и др. Модельное изучение роли белков CLV1, CLV2, CLV3 и WUS в регуляции структуры апикальной меристемы побега // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 6. С. 457–462.
6. Николаев С. В., Зубаирова У. С., Пененко А. В. и др. Модель регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега *Arabidopsis thaliana* // Доклады Академии Наук. 2013. Т. 452, № 3. С. 336–338.
7. Николаев С. В., Зубаирова У. С., Фадеев С. И. и др. Исследование одномерной модели регуляции размеров возобновительной зоны в биологической ткани с учётом деления клеток // Сибирский журнал индустриальной математики. 2010. Т. 8, № 4(44). С. 70–82.
8. Николаев С. В., Колчанов Н. А., Фадеев С. И. и др. Исследование одномерной модели регуляции размеров возобновительной зоны в био-

- логической ткани // Вычислительные технологии. 2006. Т. 11, № 2. С. 67–81.
9. Николаевская Т. С., Федоренко О. М. Особенности опущения листовой пластинки у растений северных популяций *Arabidopsis Lyrata* Subsp. и *Arabidopsis Thaliana* // Труды Карельского научного центра РАН. 2014. Т. 5. С. 59–70.
 10. Пененко А., Зубаирова У., Николаев С. Применение сопряжённых уравнений для исследования чувствительности в модели симпластного роста клеток линейного листа // Труды международной конференции «Актуальные проблемы вычислительной и прикладной математики - 2015», посвященной 90-летию со дня рождения Гурия Ивановича Марчука. Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук. Новосибирск. 2015. Т. [Электрон. ресурс]. С. 562–572.
 11. Пененко А., Троеглазова Т., Зубаирова У. и др. Применение технологии CUDA для моделирования процессов реакции-диффузии на двумерном клеточном ансамбле // Математическая биология и биоинформатика. 2014. Т. 9, № 2. С. 491–503.
 12. Регирер С., Штейн А. Механохимические модели морфогенеза. Теоретические и математические аспекты морфогенеза. М.: Наука, 1987.
 13. Системная компьютерная биология, Под ред. Н.А.Колчанова, С.С.Гончарова, В.А.Лихошвая, В.А.Иванисенко. Изд-во СО РАН, Новосибирск, 2008.
 14. Чуб В. В., Синюшин А. А. Фасциация цветка и побега: от феноменологии к построению моделей преобразования апикальной меристемы // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 4. С. 1–17.

15. Aberdam D. Epidermal stem cell fate: what can we learn from embryonic stem cells? // *Cell Tissue Res.* 2008. Vol. 331, no. 1. Pp. 103–107.
16. Aegerter-Wilmsen T., Heimlicher M. B., Smith A. C. et al. Integrating force-sensing and signaling pathways in a model for the regulation of wing imaginal disc size // *Development.* 2012. Vol. 139, no. 17. Pp. 3221–3231.
17. Ali O., Mirabet V., Godin C., Traas J. Physical Models of Plant Development // *Annual Review of Cell and Developmental Biology.* 2014. Vol. 30. Pp. 59–78.
18. Artavanis-Tsakonas S., Matsuno K., Fortini M. E. Notch Signaling // *Science.* 1995. Vol. 268. Pp. 225–232.
19. Barlow P., Luck J. *Progress in Botany* // Ed. by U. Luttge, W. Beyschlag, B. Budel, D. Francis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. Pp. 61–99.
20. Barr D. R., Sherrill E. Mean and variance of truncated normal distributions // *The American Statistician.* 1999. Vol. 53, no. 4. Pp. 357–361.
21. Barton M. K. Twenty years on: the inner workings of the shoot apical meristem, a developmental dynamo. // *Dev Biol.* 2010. Vol. 341, no. 1. Pp. 95–113.
22. Beemster G. T., Masle J. Effects of soil resistance to root penetration on leaf expansion in wheat (*Triticum aestivum* L.): composition, number and size of epidermal cells in mature blades // *Journal of Experimental Botany.* 1996. Vol. 47, no. 304. Pp. 1651–1662.
23. Beemster G. T., Masle J., Williamson R. E., Farquhar G. D. Effects of soil resistance to root penetration on leaf expansion in wheat (*Triticum aestivum* L.): kinematic analysis of leaf elongation // *Journal of Experimental Botany.* 1996. Vol. 47, no. 304. Pp. 1663–1678.

24. Ben-Haj-Salah H., Tardieu F. Temperature Affects Expansion Rate of Maize Leaves without Change in Spatial Distribution of Cell Length (Analysis of the Coordination between Cell Division and Cell Expansion) // *Plant Physiology*. 1995. Vol. 109, no. 3. Pp. 861–870.
25. Bhalla P. L., Singh M. B. Molecular control of stem cell maintenance in shoot apical meristem. // *Plant Cell Rep*. 2006. Vol. 25, no. 4. Pp. 249–256.
26. Bickenbach J. R., Stern M. M., Grinnell K. L. et al. Epidermal stem cells have the potential to assist in healing damaged tissues. // *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2006. — Sep. Vol. 11, no. 1. Pp. 118–123.
27. Blagosklonny M. V. Aging, stem cells, and mammalian target of rapamycin: a prospect of pharmacologic rejuvenation of aging stem cells. // *Rejuvenation Res*. 2008. Vol. 11, no. 4. Pp. 801–808.
28. Bleckmann A., Weidtkamp-Peters S., Seidel C. A. M., Simon R. Stem cell signaling in Arabidopsis requires CRN to localize CLV2 to the plasma membrane. // *Plant Physiol*. 2010. Vol. 152, no. 1. Pp. 166–176.
29. Boudaoud A. An introduction to the mechanics of morphogenesis for plant biologists // *Trends in Plant Science*. 2010. Vol. 15. P. 353–360.
30. Boudon F., Cokelaer T., Pradal C., Godin C. L-Py, an open L-systems framework in Python // 6th International Workshop on Functional-Structural Plant Models, Davis, CA, United States. 2010. Pp. 116–119.
31. Boulton M., Albon J. Stem cells in the eye. // *Int J Biochem Cell Biol*. 2004. Vol. 36, no. 4. Pp. 643–657.
32. Bowman J. L., Eshed Y. Formation and maintenance of the shoot apical meristem. // *Trends Plant Sci*. 2000. — Mar. Vol. 5, no. 3. Pp. 110–115.

33. Brand U., Fletcher J., Hobe M. et al. Dependence of stem cell fate in Arabidopsis on a feedback loop regulated by CLV3 activity // *Science*. 2000. Vol. 289, no. 5479. Pp. 617–619.
34. Brand U., Grunewald M., Hobe M., Simon R. Regulation of CLV3 expression by two homeobox genes in Arabidopsis. // *Plant Physiol*. 2002. Vol. 129, no. 2. Pp. 565–575.
35. Brand U., Hobe M., Simon R. Functional domains in plant shoot meristems. // *Bioessays*. 2001. Vol. 23, no. 2. Pp. 134–141.
36. Bryan A. K., Goranov A., Amon A., Manalisa S. R. Measurement of mass, density, and volume during the cell cycle of yeast // *PNAS*. 2010. Vol. 107. P. 999–1004.
37. Bryant D. M., Mostov K. E. From cells to organs: Building polarized tissue // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2008. Vol. 9, no. 11. P. 887–901.
38. Busch W., Miotk A., Ariel F. D. et al. Transcriptional control of a plant stem cell niche. // *Dev Cell*. 2010. Vol. 18, no. 5. Pp. 849–861.
39. Byrne M. E., Kidner C. A., Martienssen R. A. Plant stem cells: divergent pathways and common themes in shoots and roots. // *Curr Opin Genet Dev*. 2003. — Oct. Vol. 13, no. 5. Pp. 551–557.
40. Carles C. C., Fletcher J. C. Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. // *Trends Plant Sci*. 2003. — Aug. Vol. 8, no. 8. Pp. 394–401.
41. Chan J. Microtubule and cellulose microfibril orientation during plant cell and organ growth // *Journal of microscopy*. 2012. Vol. 247, no. 1. Pp. 23–32.

42. Chickarmane V., Roeder A. H., Tarr P. T. et al. Computational morphodynamics: a modeling framework to understand plant growth // *Annual Review of Plant Biology*. 2010. Vol. 61. P. 65–87.
43. Chickarmane V. S., Gordona S. P., Tarra P. T. et al. Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical–basal axis of the growing *Arabidopsis* shoot meristem // *PNAS*. 2012. Vol. 109, no. 10. Pp. 4002–4007.
44. Conrad C., Huss R. Adult stem cell lines in regenerative medicine and reconstructive surgery. // *J Surg Res*. 2005. Vol. 124, no. 2. Pp. 201–208.
45. Cosgrove D. J. Wall relaxation in growing stems: comparison of four species and assessment of measurement techniques // *Planta*. 1987. Vol. 171, no. 2. Pp. 266–278.
46. Cosgrove D. J. Growth of the plant cell wall // *Nature reviews molecular cell biology*. 2005. Vol. 6, no. 11. Pp. 850–861.
47. de Reuille P. B., Routier-Kierzkowska A.-L., Kierzkowski D. et al. MorphoGraphX: A platform for quantifying morphogenesis in 4D // *eLife*. 2015. Vol. 4. P. e05864.
48. Derbyshire P., Findlay K., McCann M. C., Roberts K. Cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls involves dynamic changes in cell wall thickness // *Journal of experimental botany*. 2007. Vol. 58, no. 8. Pp. 2079–2089.
49. Diaz-Flores L., Madrid J. F., Guti?rrez R. at al. Adult stem and transit-amplifying cell location. // *Histol Histopathol*. 2006. — Sep. Vol. 21, no. 9. Pp. 995–1027.
50. Doerner P. Shoot meristems: Intercellular signals keep the balance. // *Curr Biol*. 1999. — May. Vol. 9, no. 10. Pp. R377–R380.
51. Doerner P. Plant stem cells: the only constant thing is change. // *Curr Biol*. 2000. — Nov. Vol. 10, no. 22. Pp. R826–R829.

52. Dolan L., Poethig R. Clonal analysis of leaf development in cotton. // American Journal of Botany. 1998. Vol. 85, no. 3. Pp. 315–315.
53. Dolan L., Scheres B. Root pattern: shooting in the dark? // Semin Cell Dev Biol. 1998. Vol. 9, no. 2. Pp. 201–206.
54. Doroshkov A. V., Afonnikov D. A., Dobrovolskaya O. B., Pshenichnikova T. A. Interactions between leaf pubescence genes in bread wheat as assessed by high throughput phenotyping // Euphytica. 2015. — 01 August. Pp. 1–10.
55. Dupuy L., Mackenzie J., Rudge T., Haseloff J. A System for Modelling Cell–Cell Interactions during Plant Morphogenesis // Ann Bot. 2008. Vol. 101, no. 8. P. 1255–1265.
56. Elo A., Immanen J., Nieminen K., Helariutta Y. Stem cell function during plant vascular development. // Semin Cell Dev Biol. 2009. Vol. 20, no. 9. Pp. 1097–1106.
57. Elsner J., Michalski M., Kwiatkowska D. Spatiotemporal variation of leaf epidermal cell growth: a quantitative analysis of Arabidopsis thaliana wild-type and triple cyclinD3 mutant plants // Annals of Botany. 2012. Vol. 109, no. 5. Pp. 897–910.
58. Engler A. J., Sen S., Sweeney H. L., Discher D. E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification // Cell. 2006. Vol. 126, no. 4. Pp. 677–689.
59. Farhadifar R., Röper J.-C., Aigouy B. et al. The influence of cell mechanics, cell-cell interactions, and proliferation on epithelial packing // Current Biology. 2007. Vol. 17, no. 24. Pp. 2095–2104.
60. Fernandez R., Das P., Mirabet V. et al. Imaging plant growth in 4D: robust tissue reconstruction and lineaging at cell resolution. // Nat Methods. 2010. Vol. 7, no. 7. Pp. 547–553.

61. Fletcher A. G., Osborne J. M., Maini P. K., Gavaghan D. J. Implementing vertex dynamics models of cell populations in biology within a consistent computational framework // *Progress in biophysics and molecular biology*. 2013. Vol. 113, no. 2. Pp. 299–326.
62. Fletcher A. G., Osterfield M., Baker R. E., Shvartsman S. Y. Vertex models of epithelial morphogenesis // *Biophysical journal*. 2014. Vol. 106, no. 11. Pp. 2291–2304.
63. Fletcher J. C., Meyerowitz E. M. Cell signaling within the shoot meristem. // *Curr Opin Plant Biol*. 2000. — Feb. Vol. 3, no. 1. Pp. 23–30.
64. Fujita H., Toyokura K., Okada K., Kawaguchi M. Reaction-Diffusion Pattern in Shoot Apical Meristem of Plants // *PLoS ONE*. 2011. Vol. 6. P. e18243.
65. Geier F., Lohmann J. U., Gerstung M. et al. A quantitative and dynamic model for plant stem cell regulation. // *PLoS One*. 2008. Vol. 3, no. 10. P. e3553.
66. Genaev M. A., Doroshkov A. V., Pshenichnikova T. A. et al. Extraction of quantitative characteristics describing wheat leaf pubescence with a novel image-processing technique // *Planta*. 2012. Vol. 236. Pp. 1943–1954.
67. Gibson L. J. The hierarchical structure and mechanics of plant materials // *Journal of The Royal Society Interface*. 2012. Vol. published online.
68. Glazier J. A., Graner F. Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells // *Physical Review E*. 1993. Vol. 47, no. 3. P. 2128.
69. Gordon S. P., Chickarmane V. S., Ohno C., Meyerowitz E. M. Multiple feedback loops through cytokinin signaling control stem cell number within the Arabidopsis shoot meristem. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009. Vol. 106, no. 38. Pp. 16529–16534.

70. Graner F., Glazier J. A. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model // *Physical review letters*. 1992. Vol. 69, no. 13. P. 2130.
71. Grieneisen V. A., Scheres B. Back to the future: evolution of computational models in plant morphogenesis // *Current Opinion in Plant Biology*. 2009. Vol. 12. P. 606–614.
72. Gross-Hardt R., Laux T. Stem cell regulation in the shoot meristem. // *J Cell Sci*. 2003. — May. Vol. 116, no. Pt 9. Pp. 1659–1666.
73. Gruel J., Landrein B., Tarr P. et al. An epidermis-driven mechanism positions and scales stem cell niches in plants // *Plant sciences*. 2016. Vol. 2. P. e1500989.
74. Guerriero G., Hausman J.-F., Cai G. No stress! Relax! Mechanisms governing growth and shape in plant cells // *International journal of molecular sciences*. 2014. Vol. 15, no. 3. Pp. 5094–5114.
75. Gutierrez R., Lindeboom J. J., Paredez A. R. et al. Arabidopsis cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments // *Nature Cell Biology*. 2009. Vol. 11, no. 7. Pp. 797–806.
76. Haecker A., Laux T. Cell-cell signaling in the shoot meristem. // *Curr Opin Plant Biol*. 2001. Vol. 4, no. 5. Pp. 441–446.
77. Hamant O., Heisler M. G., Jonsson H. et al. Developmental patterning by mechanical signals in Arabidopsis // *Science*. 2008. Vol. 322, no. 5908. Pp. 1650–1655.
78. Hester S. D., Belmonte J. M., Gens J. S. et al. A multi-cell, multi-scale model of vertebrate segmentation and somite formation // *PLoS Comput Biol*. 2011. Vol. 7, no. 10. P. e1002155.

79. Hirashima T., Iwasa Y., Morishita Y. Dynamic modeling of branching morphogenesis of ureteric bud in early kidney development // *Journal of theoretical biology*. 2009. Vol. 259, no. 1. Pp. 58–66.
80. Hohm T., Zitzler E., Simon R. A dynamic model for stem cell homeostasis and patterning in *Arabidopsis* meristems. // *PLoS One*. 2010. Vol. 5, no. 2. P. e9189.
81. Honda H., Eguchi G. How much does the cell boundary contract in a monolayered cell sheet? // *Journal of theoretical biology*. 1980. Vol. 84, no. 3. Pp. 575–588.
82. Honda H., Tanemura M., Nagai T. A three-dimensional vertex dynamics cell model of space-filling polyhedra simulating cell behavior in a cell aggregate // *Journal of Theoretical Biology*. 2004. Vol. 226, no. 4. Pp. 439–453.
83. Hsu Y.-C., Pasolli H. A., Fuchs E. Dynamics between stem cells, niche, and progeny in the hair follicle. // *Cell*. 2011. Vol. 144, no. 1. Pp. 92–105.
84. Ising E. Beitrag zur theorie des ferromagnetismus // *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei*. 1925. Vol. 31, no. 1. Pp. 253–258.
85. Izaguirre J. A., Chaturvedi R., Huang C. et al. CompuCell, a multi-model framework for simulation of morphogenesis // *Bioinformatics*. 2004. Vol. 20, no. 7. Pp. 1129–1137.
86. Jensen O. E., Fozard J. A. Multiscale Models in the Biomechanics of Plant Growth // *Physiology*. 2015. Vol. 30, no. 2. Pp. 159–166.
87. Jensen U. B., Lowell S., Watt F. M. The spatial relationship between stem cells and their progeny in the basal layer of human epidermis: a new view based on whole-mount labelling and lineage analysis. // *Development*. 1999. — Jun. Vol. 126, no. 11. Pp. 2409–2418.

88. Jiang X., Austin P. F., Niederhoff R. A. et al. Mechanoregulation of proliferation // *Molecular and Cellular Biology*. 2009. Vol. 29, no. 18. P. 5104–5114.
89. Jonsson H., Gruel J., Krupinski P., Troein C. On evaluating models in Computational Morphodynamics // *Current Opinion in Plant Biology*. 2012. Vol. 15. P. 103–110.
90. Jonsson H., Heisler M., Reddy G. V. et al. Modeling the organization of the WUSCHEL expression domain in the shoot apical meristem. // *Bioinformatics*. 2005. Vol. 21 Suppl 1. Pp. i232–i240.
91. Jonsson H., Krupinski P. Modeling plant growth and pattern formation // *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. Vol. 13, no. 1. P. 5–11.
92. Jonsson H., Shapiro B. E., Meyerowitz E. M., Mjolsness E. On Growth, Form, and Computers // Ed. by S. Kumar, P. Bentley. Academic Press, London, UK, 2003. Pp. 156–161.
93. Jorgensen P., Tyerse M. How cells coordinate growth and division // *Current Biology*. 2004. Vol. 14, no. 23. P. pR1014–R1027.
94. Kachalo S., Naveed H., Cao Y. et al. Mechanical Model of Geometric Cell and Topological Algorithm for Cell Dynamics from Single-Cell to Formation of Monolayered Tissues with Pattern // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, no. 5. P. e0126484.
95. Karwowski R., Prusinkiewicz P. Design and implementation of the L+ C modeling language // *Electronic Notes in Theoretical Computer Science*. 2003. Vol. 86, no. 2. Pp. 134–152.
96. Kavanova M., Grimoldi A. A., Lattanzi F. A., Schnyder H. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics // *Plant, Cell and Environment*. 2006. Vol. 29. Pp. 511–520.

97. Kerstetter R. A., Bollman K., Taylor R. A. et al. KANADI regulates organ polarity in *Arabidopsis* // *Nature*. 2001. Vol. 411. Pp. 706–709.
98. Kierzkowski D., Nakayama N., Routier-Kierzkowska A.-L. et al. Elastic Domains Regulate Growth and Organogenesis in the Plant Shoot Apical Meristem // *Science*. 2012. Vol. 335. Pp. 1096–1099.
99. Kitano H. Computational systems biology // *Nature*. 2002. Vol. 420, no. 6912. Pp. 206–210.
100. Kniemeyer O., Kurth W. The Modelling Platform GroIMP and the Programming Language XL // *Applications of Graph Transformations with industrial Relevance: Third international Symposium, AGTIVE 2007, Kassel, Germany, October 10-12, 2007*. Vol. 5088 of *Lecture Notes In Computer Science*. 2008. Pp. 570–572.
101. Kotton D. N., Fine A. Lung stem cells. // *Cell Tissue Res*. 2008. Vol. 331, no. 1. Pp. 145–156.
102. Kutschera U., Niklas K. The epidermal-growth-control theory of stem elongation: An old and a new perspective // *Journal of Plant Physiology*. 2007. Vol. 164. Pp. 1395–1409.
103. Kwiatkowska D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments // *Am. J. Bot.* 2004. Vol. 91, no. 9. Pp. 1277–1293.
104. Larkin J. C., Brown M. L., Schiefelbein J. How do cells know what they want to be when they grow up? Lessons from epidermal patterning in *Arabidopsis* // *Annual Review of Plant Biology*. 2003. Vol. 54, no. 1. Pp. 403–430.
105. Larkin J. C., Young N., Prigge M., Marks M. D. The control of trichome spacing and number in *Arabidopsis* // *Development*. 1996. Vol. 122. Pp. 997–1005.

106. Lenhard M., Laux T. Stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot meristem is regulated by intercellular movement of CLAVATA3 and its sequestration by CLAVATA1. // *Development*. 2003. — Jul. Vol. 130, no. 14. Pp. 3163–3173.
107. Lewicka S. General and analytic solutions of the Ortega equation // *Plant physiology*. 2006. Vol. 142, no. 4. Pp. 1346–1349.
108. Lindenmayer A. Mathematical models for cellular interaction in development, Parts I and II // *J. Theor. Biol.* 1968. Vol. 18. P. 280–315.
109. Lipka E., Herrmann A., Mueller S. Mechanisms of plant cell division // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. 2015. Vol. 4, no. 4. Pp. 391–405.
110. Lockhart J. A. An analysis of irreversible plant cell elongation // *Journal of Theoretical Biology*. 1965. Vol. 8, no. 2. P. 264–275.
111. Maeda S., Gunji S., Hanai K. et al. The conflict between cell proliferation and expansion primarily affects stem organogenesis in Arabidopsis // *Plant and Cell Physiology*. 2014. Vol. 55, no. 11. Pp. 1994–2007.
112. Masle J. The Effects of Elevated CO₂ Concentrations on Cell Division Rates, Growth Patterns, and Blade Anatomy in Young Wheat Plants Are Modulated by Factors Related to Leaf Position, Vernalization, and Genotype // *Plant Physiology*. 2000. Vol. 122. Pp. 1399–1415.
113. Meinhardt H., Gierer A. Applications of a theory of Biological pattern formation based on lateral inhibition // *J. Cell Sci.* 1974. Vol. 15. Pp. 321–346.
114. Merks R. M., Guravage M., Inze D., Beemster G. T. VirtualLeaf: An Open-Source Framework for Cell-Based Modeling of Plant Tissue Growth and Development // *Plant Physiology*. 2011. Vol. 155, no. 2. Pp. 656–666.

115. Merks R. M., Perryn E. D., Shirinifard A., Glazier J. A. Contact-inhibited chemotaxis in de novo and sprouting blood-vessel growth // *PLoS Comput Biol.* 2008. Vol. 4, no. 9. P. e1000163.
116. Metropolis N., Rosenbluth A. W., Rosenbluth M. N. et al. Equation of state calculations by fast computing machines // *The journal of chemical physics.* 1953. Vol. 21, no. 6. Pp. 1087–1092.
117. Milani P., Gholamirad M., Traas J. et al. In vivo analysis of local wall stiffness at the shoot apical meristem in *Arabidopsis* using atomic force microscopy // *The Plant Journal.* 2011. Vol. 67, no. 6. Pp. 1116–1123.
118. Mironova V. V., Omelyanchuk N. A., Yosiphon G. et al. A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root // *BMC Systems Biology.* 2010. Vol. 4, no. 1. P. 98.
119. Mjolsness E., Yosiphon G. Stochastic Process Semantics for Dynamical Grammars // *Annals of Mathematics and Artificial Intelligence.* 2006. Vol. 47. Pp. 329–395.
120. Morris A. K., Silk W. K. Use of a flexible logistic function to describe axial growth of plants // *Bulletin of Mathematical Biology.* 1992. Vol. 54, no. 6. Pp. 1069–1081.
121. Nagai T., Honda H. A dynamic cell model for the formation of epithelial tissues // *Philosophical Magazine B.* 2001. Vol. 81, no. 7. Pp. 699–719.
122. Nakamura M., Kiefer C. S., Grebe M. Planar polarity, tissue polarity and planar morphogenesis in plants // *Current Opinion in Plant Biology.* 2012. Vol. 15, no. 6. P. 593–600.
123. Nelissen H., Rymen B., Jikumaru Y. et al. A Local Maximum in Gibberellin Levels Regulates Maize Leaf Growth by Spatial Control of Cell Division // *Current Biology.* 2012. Vol. 22. Pp. 1183–1187.

124. Nelson C. M., Jean R. P., and Wendy F. Liu J. L. T. et al. Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics // PNAS. 2005. Vol. 102, no. 33. P. 11594–11599.
125. Newell A. C., Shipman P. D., Sun Z. Phyllotaxis as an example of the symbiosis of mechanical forces and biochemical processes in living tissue. // Plant Signal Behav. 2008. — Aug. Vol. 3, no. 8. Pp. 586–589.
126. Newman I. V. Pattern in the meristems of vascular plants. III. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell // Journal of the Linnean Society (Botany). 1965. Vol. 59. Pp. 185–214.
127. Newman T. J. Modeling multi-cellular systems using sub-cellular elements // arXiv preprint q-bio/0504028. 2005.
128. Nobel P. S. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Elsevier Inc., 2005.
129. Ogawa M., Shinohara H., Sakagami Y., Matsubayashi Y. Arabidopsis CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. // Science. 2008. Vol. 319, no. 5861. P. 294.
130. Ortega J. K. A quantitative biophysical perspective of expansive growth for cells with walls // Recent research developments in biophysics. 2004. Pp. 297–324.
131. Ortega J. K. Plant Cell Growth in Tissue // Plant Physiology. 2010. Vol. 154, no. 3. Pp. 244–1253.
132. Ortega J. K., Zehr E. G., Keanini R. G. In vivo creep and stress relaxation experiments to determine the wall extensibility and yield threshold for the sporangiophores of *Phycomyces* // Biophysical journal. 1989. Vol. 56, no. 3. P. 465.

133. Paciorek T., Bergmann D. C. The secret to life is being different: asymmetric divisions in plant development // *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. Vol. 13. Pp. 661–669.
134. Palm M. M., Merks R. M. Large-scale parameter studies of cell-based models of tissue morphogenesis using CompuCell3D or VirtualLeaf // *Tissue Morphogenesis*. Springer, 2015. Pp. 301–322.
135. Paredez A. R., Somerville C. R., Ehrhardt D. W. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules // *Science*. 2006. Vol. 312, no. 5779. Pp. 1491–1495.
136. Pierret C., Spears K., Morrison J. A. et al. Elements of a neural stem cell niche derived from embryonic stem cells. // *Stem Cells Dev*. 2007. Vol. 16, no. 6. Pp. 1017–1026.
137. Poethig R., Sussex I. The cellular parameters of leaf development in tobacco: a clonal analysis // *Planta*. 1985. Vol. 165, no. 2. Pp. 170–184.
138. Poethig R., Szymkowiak E. Clonal analysis of leaf development in maize // *Maydica* (Italy). 1995.
139. Poethig R. S. Leaf morphogenesis in flowering plants. // *The Plant Cell*. 1997. Vol. 9, no. 7. Pp. 1077–1087.
140. Popławski N. J., Swat M., Gens J. S., Glazier J. A. Adhesion between cells, diffusion of growth factors, and elasticity of the AER produce the paddle shape of the chick limb // *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 2007. Vol. 373. Pp. 521–532.
141. Potts R. B. Some generalized order-disorder transformations // *Mathematical proceedings of the cambridge philosophical society* / Cambridge Univ Press. Vol. 48. 1952. Pp. 106–109.

142. Pradal C., Dufour-Kowalski S., Boudon F. et al. OpenAlea: a visual programming and component-based software platform for plant modelling // *Functional Plant Biology*. 2008. Vol. 35. Pp. 751–760.
143. Priestley J. Studies in the physiology of cambial activity // *New Physiology*. 1930. Vol. 29. P. 96–140.
144. Proseus T. E., Ortega J. K., Boyer J. S. Separating growth from elastic deformation during cell enlargement // *Plant Physiology*. 1999. Vol. 119, no. 2. Pp. 775–784.
145. Proseus T. E., Zhu G.-L., Boyer J. S. Turgor, temperature and the growth of plant cells: using *Chara corallina* as a model system // *Journal of Experimental Botany*. 2000. Vol. 51, no. 350. Pp. 1481–1494.
146. Prusinkiewicz P. Art and science for life: designing and growing virtualplants with L-systems // *Acta Horticulturae*. 2004. Vol. 630. Pp. 15–28.
147. Prusinkiewicz P., Hammel M., Mjolsness E. Animation of Plant Development. Proceedings of SIGGRAPH 93 // *Computer Graphics Proceedings, Annual Conference Series*. 1993. Pp. 351–360.
148. Prusinkiewicz P., Lindenmayer A. The algorithmic beauty of plants. Springer-Verlag, 1990.
149. Prusinkiewicz P., Rolland-Lagan A.-G. Modeling plant morphogenesis // *Current Opinion in Plant Biology*. 2006. Vol. 9. P. 83–88.
150. Prusinkiewicz P., Runions A. Computational models of plant development and form // *New Phytologist*. 2012. Vol. 193. Pp. 549–569.
151. Qiao F., Petrasek J., Nick P. Light can rescue auxin-dependent synchrony of cell division in a tobacco cell line // *J. Exp. Bot.* 2010. Vol. 61, no. 2. Pp. 503–510.

152. Reddy G. V., Meyerowitz E. M. Stem-cell homeostasis and growth dynamics can be uncoupled in the Arabidopsis shoot apex. // *Science*. 2005. Vol. 310, no. 5748. Pp. 663–667.
153. Robert C. P. Simulation of truncated normal variables // *Statistics and Computing*. 1995. Vol. 5, no. 2. Pp. 121–125.
154. Rojo E., Sharma V. K., Kovaleva V. et al. CLV3 is localized to the extracellular space, where it activates the Arabidopsis CLAVATA stem cell signaling pathway. // *Plant Cell*. 2002. — May. Vol. 14, no. 5. Pp. 969–977.
155. Ryu K. H., Zheng X., Huang L., Schiefelbein J. Computational modeling of epidermal cell fate determination systems // *Current Opinion in Plant Biology*. 2013. Vol. 16, no. 1. Pp. 5–10.
156. Sablowski R. The dynamic plant stem cell niches. // *Curr Opin Plant Biol*. 2007. Vol. 10, no. 6. Pp. 639–644.
157. Sablowski R. Plant stem cell niches: from signalling to execution // *Current Opinion in Plant Biology*. 2011. Vol. 14, no. 1. Pp. 4–9.
158. Sablowski R., Dornelas M. C. Interplay between cell growth and cell cycle in plants // *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65, no. 10. Pp. 2703–2714.
159. Sahlin P., Jonsson H. A Modeling Study on How Cell Division Affects Properties of Epithelial Tissues Under Isotropic Growth // *PLoS ONE*. 2010. Vol. 5, no. 2. P. e11750.
160. Sahlin P., Melke P., Jonsson H. Models of sequestration and receptor cross-talk for explaining multiple mutants in plant stem cell regulation // *BMC Systems Biology*. 2011. Vol. 5, no. 2. Pp. 1–14.
161. Sampathkumar A., Yan A., Krupinski P., Meyerowitz E. M. Physical forces regulate plant development and morphogenesis // *Current Biology*. 2014. Vol. 24, no. 10. P. R475–R483.

162. Savaldi-Goldstein S., Chory J. Growth coordination and the shoot epidermis. // *Curr Opin Plant Biol.* 2008. Vol. 11, no. 1. Pp. 42–48.
163. Schellmann S., Hulskamp M. Epidermal differentiation: trichomes in *Arabidopsis* as a model system // *International Journal of Developmental Biology.* 2005. Vol. 49. Pp. 579–584.
164. Schellmann S., Hulskamp M., Uhrig J. Epidermal pattern formation in the root and shoot of *Arabidopsis*. // *Biochem Soc Trans.* 2007. Vol. 35, no. Pt 1. Pp. 146–148.
165. Scheres B. Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2007. Vol. 8. Pp. 345–354.
166. Schmitt T. M., Zuniga-Pflucker J. C. T-cell development, doing it in a dish // *Immunol Rev.* 2006. Vol. 209. Pp. 95–102.
167. Schnyder H., Seo S., Rademacher I., Kuhbauch W. Spatial distribution of growth rates and of epidermal cell lengths in the elongation zone during leaf development in *Lolium perenne* L. // *Planta.* 1990. Vol. 181. Pp. 423–431.
168. Schoof H., Lenhard M., Haecker A. et al. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. // *Cell.* 2000. — Mar. Vol. 100, no. 6. Pp. 635–644.
169. Selker J. M., Steucek G. L., Green P. B. Biophysical mechanisms for morphogenetic progressions at the shoot apex // *Developmental biology.* 1992. Vol. 153, no. 1. Pp. 29–43.
170. Serrano-Mislata A., Schiessl K., Sablowski R. Active Control of Cell Size Generates Spatial Detail during Plant Organogenesis // *Current Biology.* 2015. Vol. 25, no. 22. P. 2991–2996.

171. Shapiro B. E., Heisler M., Tobin C. et al. Using geometric markers to predict the cell division plane in meristem cells // Proceedings of the 6th International Workshop on Functional-Structural Plant Models / University of California Davis, CA. 2010. Pp. 144–146.
172. Shapiro B. E., Levchenko A., Meyerowitz E. M. et al. Cellerator: extending a computer algebra system to include biochemical arrows for signal transduction simulations // Bioinformatics. 2003. Vol. 19, no. 5. Pp. 677–678.
173. Shapiro B. E., Meyerowitz E., Mjolsness E. Using Cellzilla for Plant Growth Simulations at the Cellular Level // Front Plant Sci. 2013. Vol. 4, no. 408.
174. Sharma V. K., Ramirez J., Fletcher J. C. The Arabidopsis CLV3-like (CLE) genes are expressed in diverse tissues and encode secreted proteins. // Plant Mol Biol. 2003. — Feb. Vol. 51, no. 3. Pp. 415–425.
175. Shraiman B. I. Mechanical feedback as a possible regulator of tissue growth // PNAS. 2005. Vol. 102, no. 9. P. 3318–3323.
176. Smith L. G. Plant cell division: building walls in the right places // Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001. Vol. 2, no. 1. Pp. 33–39.
177. Stahl Y., Simon R. Plant stem cell niches // Int J Dev Biol. 2005. Vol. 49, no. 5-6. Pp. 479–489.
178. Sugimura K., Lenne P.-F., Graner F. Measuring forces and stresses in situ in living tissues // Development. 2016. Vol. 143, no. 2. Pp. 186–196.
179. Sun T., McMinn P., Coakley S. et al. An integrated systems biology approach to understanding the rules of keratinocyte colony formation. // J R Soc Interface. 2007. Vol. 4, no. 17. Pp. 1077–1092.
180. Swat M. H., Thomas G. L., Belmonte J. M. et al. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D // Methods in cell biology. 2012. Vol. 110. P. 325.

181. Szyndler M. W., Haynes K. F., Potter M. F. et al. Entrapment of bed bugs by leaf trichomes inspires microfabrication of biomimetic surfaces // *J. R. Soc. Interface*. 2013. Vol. 10. P. 20130174.
182. Traas J., Bohn-Courseau I. Cell proliferation patterns at the shoot apical meristem. // *Curr Opin Plant Biol*. 2005. Vol. 8, no. 6. Pp. 587–592.
183. Traas J., Doonan J. H. Cellular basis of shoot apical meristem development. // *Int Rev Cytol*. 2001. Vol. 208. Pp. 161–206.
184. Traas J., Sassi M. Plant development: from biochemistry to biophysics and back // *Current Biology*. 2014. Vol. 24, no. 6. Pp. R237–R238.
185. Tuza Z., Lindenmayer A. Lindenmayer systems: Impacts on theoretical computer science, computer graphics, and developmental biology // Ed. by G. Rozenberg, A. Salomaa. Springer-Verlag, Berlin, 1992. Pp. 333–350.
186. Uyttewaal M., Burian A., Alim K. et al. Mechanical Stress Acts via Katanin to Amplify Differences in Growth Rate between Adjacent Cells in Arabidopsis // *Cell*. 2012. Vol. 149, no. 2. Pp. 439–451.
187. Uyttewaal M., Traas J., Hamant O. Integrating physical stress, growth, and development // *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. Vol. 13, no. 1. P. 46–52.
188. Vermeer J. E., von Wangenheim D., Barberon M. et al. A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in Arabidopsis // *Science*. 2014. Vol. 343, no. 6167. Pp. 178–183.
189. Vogler H., Felekis D., Nelson B. J., Grossniklaus U. Measuring the Mechanical Properties of Plant Cell Walls // *Plants*. 2015. Vol. 4, no. 2. Pp. 167–182.
190. Vos D. D., Dzhurakhalov A., Draelants D. et al. Towards mechanistic models of plant organ growth // *Journal of Experimental Botany*. 2012. Pp. 1–13.

191. Vos D. D., Vissenberg K., Broeckhove J., Beemster G. T. S. Putting Theory to the Test: Which Regulatory Mechanisms Can Drive Realistic Growth of a Root? // *PLoS Comput Biol.* 2014. Vol. 10, no. 10. P. e1003910.
192. Weber A., Braybrook S., Huflejt M. et al. Measuring the mechanical properties of plant cells by combining micro-indentation with osmotic treatments // *Journal of experimental botany.* 2015. Vol. 66, no. 11. Pp. 3229–3241.
193. Weliky M., Minsuk S., Keller R., Oster G. Notochord morphogenesis in *Xenopus laevis*: simulation of cell behavior underlying tissue convergence and extension // *Development.* 1991. Vol. 113, no. 4. Pp. 1231–1244.
194. Weliky M., Oster G. The mechanical basis of cell rearrangement // *Development.* 1990. Vol. 109, no. 2. Pp. 373–386.
195. Wilcox M., Mitchison G. J., Smith R. J. Pattern formation in the Blue-Green Alga, *Anabaena I.* Basic Mechanisms // *Journal of Cell Science.* 1972. Vol. 12. Pp. 707–723.
196. Williams L., Fletcher J. C. Stem cell regulation in the Arabidopsis shoot apical meristem. // *Curr Opin Plant Biol.* 2005. Vol. 8, no. 6. Pp. 582–586.
197. Williams R. F. *The Shoot Apex and Leaf Growth: A Study in Quantitative Biology.* New York: Cambridge University Press, 1974.
198. Wolf S., Hematy K., Hofte H. Growth Control and Cell Wall Signaling in Plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2012. Vol. 63. Pp. 381–407.
199. Worth P., Stepney S. *Applications of Evolutionary Computing.* Springer Berlin Heidelberg, 2005. Pp. 545–550.
200. Yadav R. K., Girke T., Pasala S. et al. Gene expression map of the Arabidopsis shoot apical meristem stem cell niche // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2009. Vol. 106, no. 12. Pp. 4941–4946.

201. Yadav R. K., Perales M., Gruel J. et al. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot apex // *Genes and development*. 2011. Vol. 25. P. 2025–2030.
202. Yadav R. K., Perales M., Gruel J. et al. Plant stem cell maintenance involves direct transcriptional repression of differentiation program // *Molecular Systems Biology*. 2013. Vol. 9. P. 654.
203. Yang C., Ye Z. Trichomes as models for studying plant cell differentiation // *Cellular and molecular life sciences*. 2013. Vol. 70, no. 11. Pp. 1937–1948.
204. Zajaczkowska U., Kucharski S., Guzek D. Are trichomes involved in the biomechanical systems of Cucurbita leaf petioles? // *Planta*. 2015. Vol. 242. Pp. 1453–1465.
205. Zhao Z., Andersen S. U., Ljung K. et al. Hormonal control of the shoot stem-cell niche // *Nature*. 2010. Vol. 465, no. 7301. Pp. 1089–1092.