



*Системная компьютерная биология II:
математическое моделирование,
оптимизация и обратные задачи*

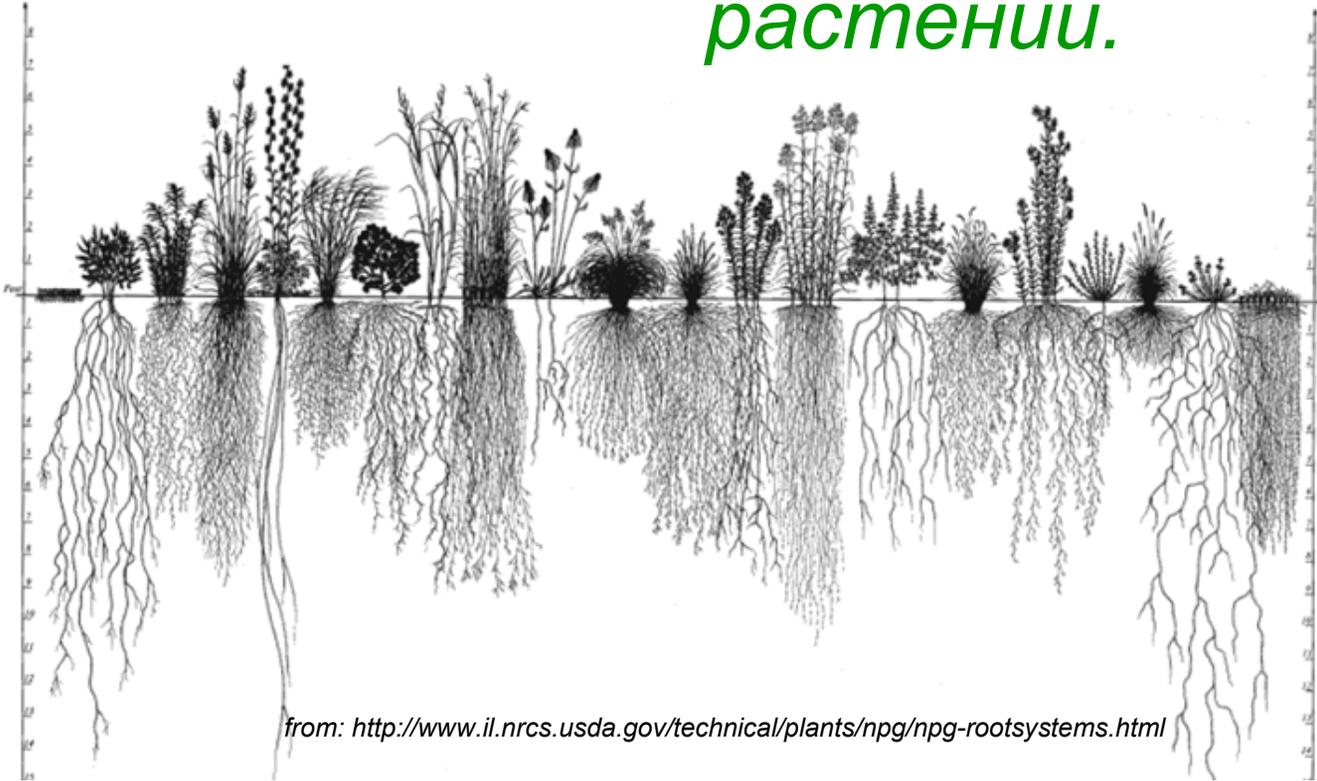
Моделирование распределения ауксина в корне растений

*Докладчик: Миронова Виктория
Лаборатория Теоретической Генетики*

План лекции.

- *Биология развития корня растения – строение и функционирование.*
- *Ауксин и его влияние на развитие корня.*
- *Моделирование распределения ауксина в корне с заданной анатомической структурой (Grieneisen et al., 2007)*
- *Моделирование распределения ауксина в корне без привязки к строению кончика корня (Лихошвай и др, 2007)*
- *Биологическая интерпретация результатов расчета модели Лихошвай и др., 2007*

Разнообразие корневых систем растений.



from: <http://www.il.nrcs.usda.gov/technical/plants/npg/npg-rootsystems.html>

Корневая система:

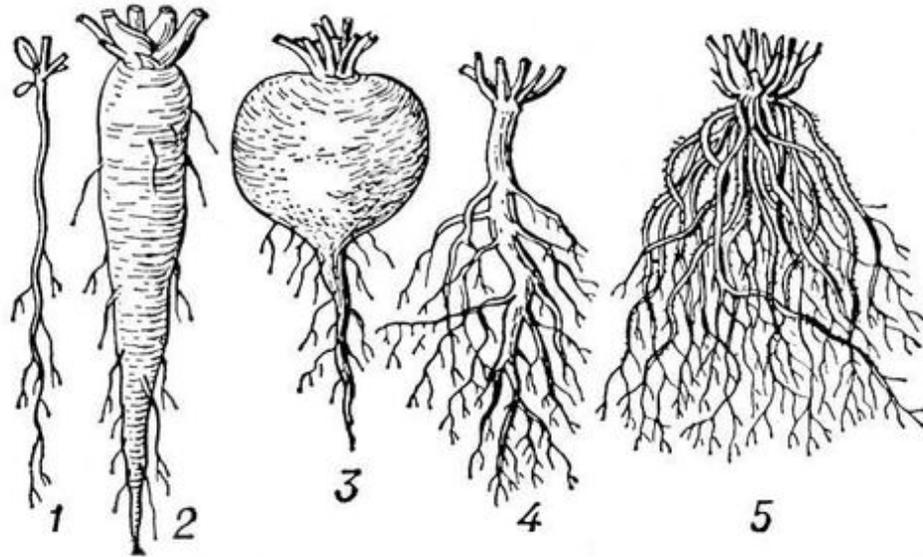
совокупность всех корней растения, расположенных в почве, в воздухе, в воде или - в случае паразитирующих видов - в теле растения-хозяина.

Функции корневой системы:

- поглощение воды и минеральных веществ;
- закрепление растения в почве;
- отложение питательных веществ;
- взаимодействие с корнями других растений, грибами, микроорганизмами, обитающими в почве (микориза, клубеньки бобовых).

Главные и придаточные корни

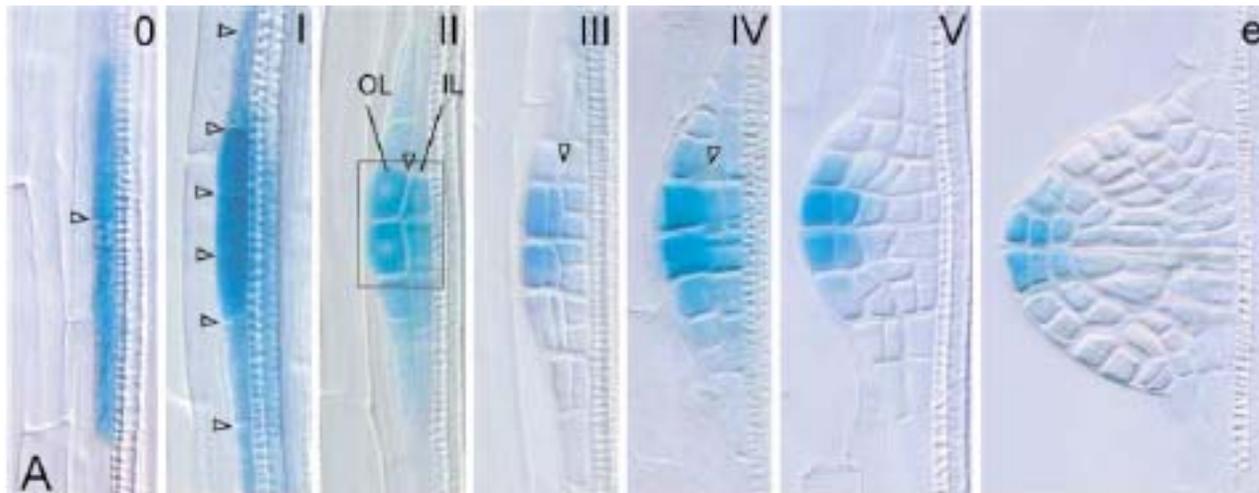
Ярко
выраженный
главный
корень



Большое
количество
придаточных
(латеральных)
корней

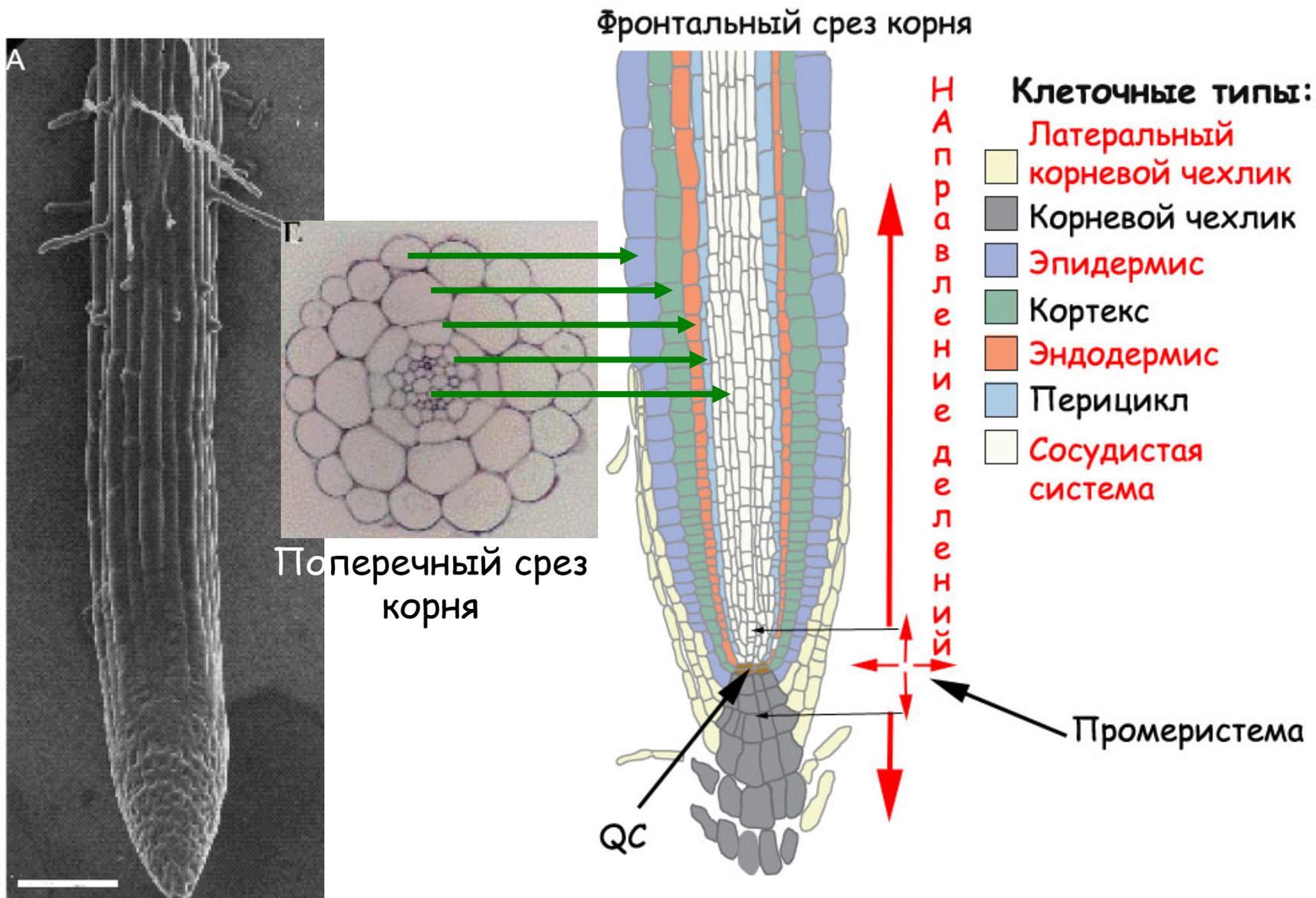
Стрежневая

Мочковатая

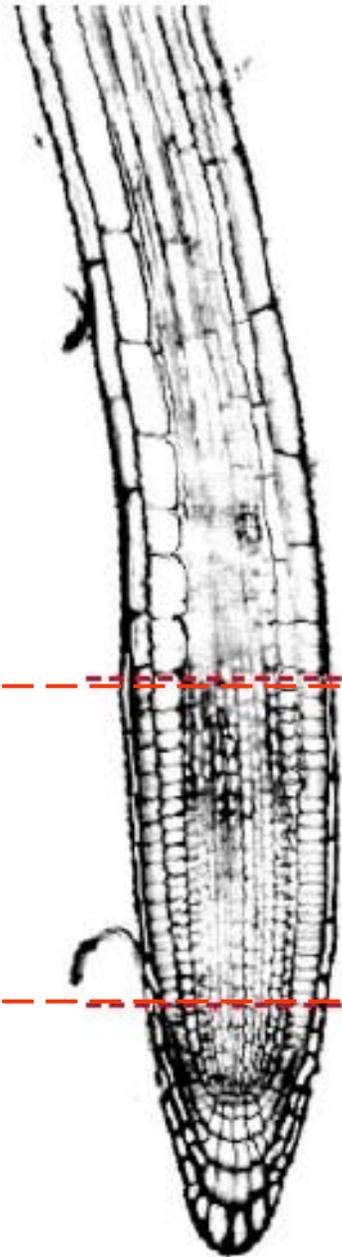


Этапы формирования зачатка бокового корня

Простая анатомическая структура корня.



Удобство объекта для моделирования



Зона элонгации:

удлинение клеток



Биомеханика.
Модели
растяжения клеток,
роста корня

Меристематическая зона:

активно делящиеся клетки



Модели клеточного
цикла,
митотической
активности клеток

Промеристема:

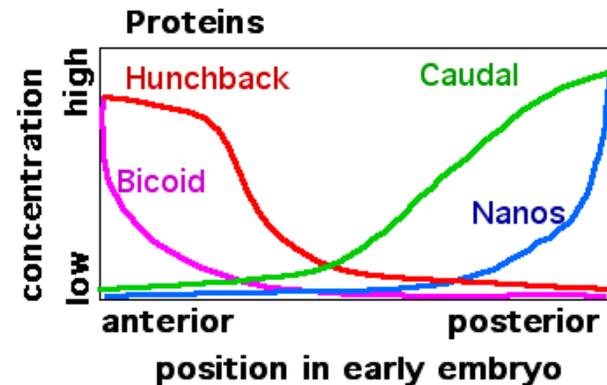
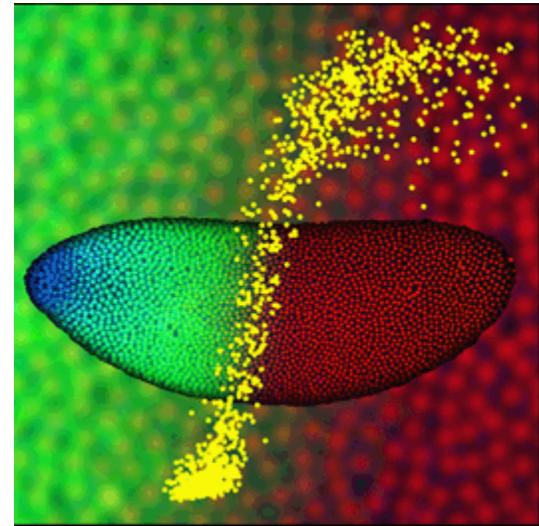
стволовые клетки.



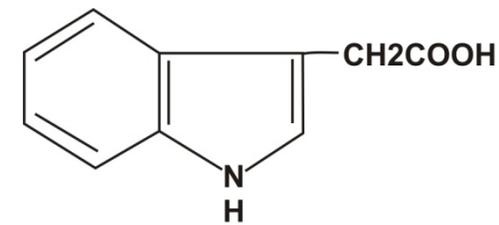
Модели ниши
стволовых клеток

Морфогенез

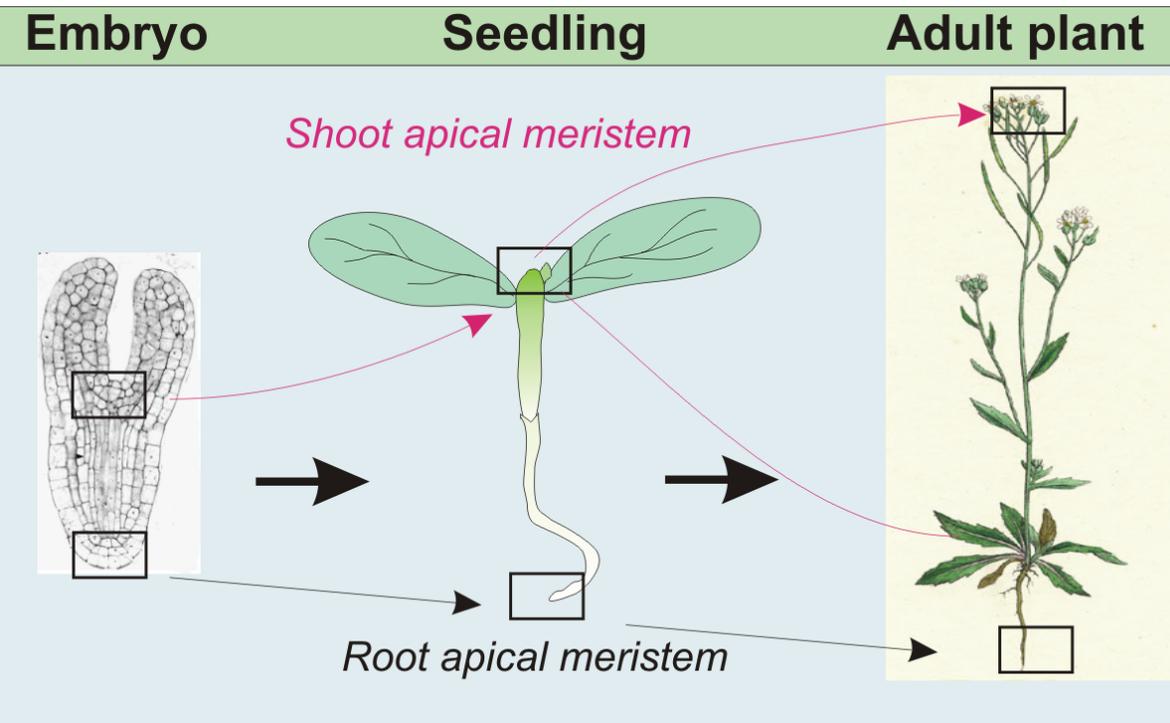
- Морфоген – вещество, которое управляет формированием паттернов в развитии ткани, а именно, положением клеток разных типов относительно друг друга в ткани организма. Морфоген распределяется в ткани от места синтеза и формирует градиенты и максимумы в ткани
- Согласно **теории позиционной информации**, клетка принимает специфические характеристики в градиенте морфогена как а координатной системе и интерпретирует данные о концентрации морфогена в соответствии со своей генетической программой (Wolpert, 1996)



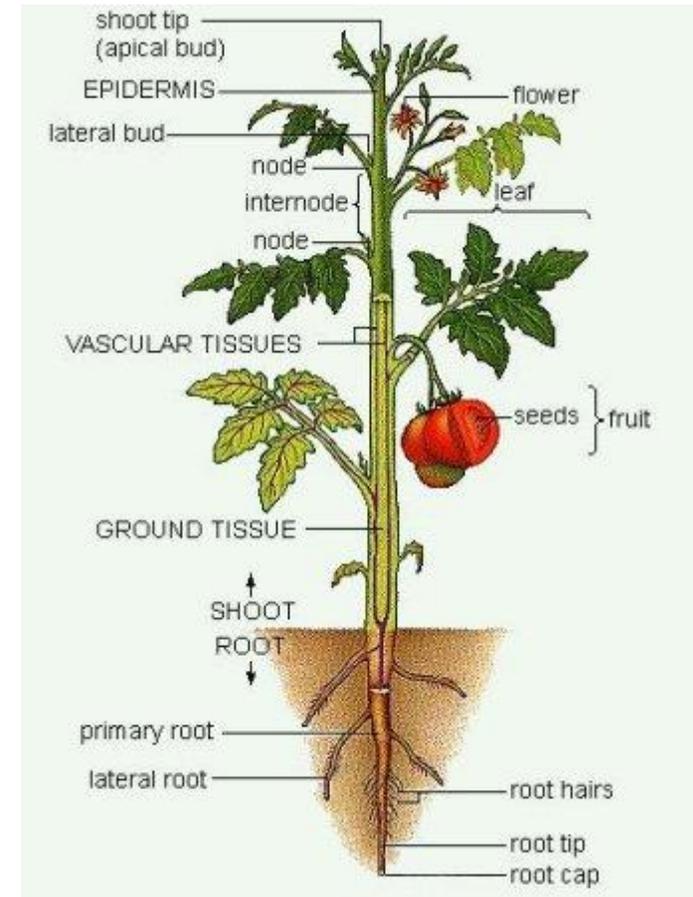
Ауксин – растительный гормон регулирующий морфогенез растения



*indole-3-acetic acid
(natural auxin)*



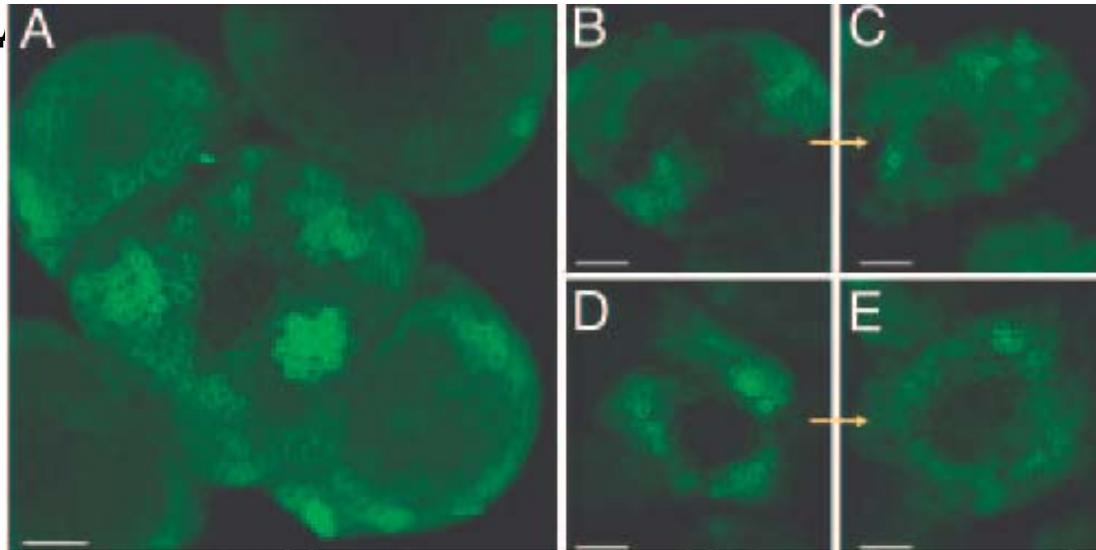
Ауксин работает на всех стадиях развития...



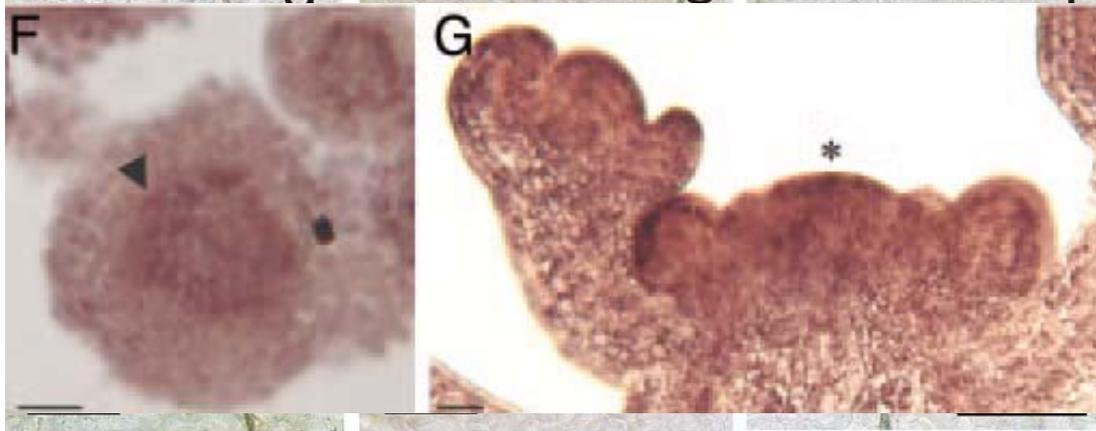
...И ВО ВСЕХ ТКАНЯХ

Ауксин - морфоген

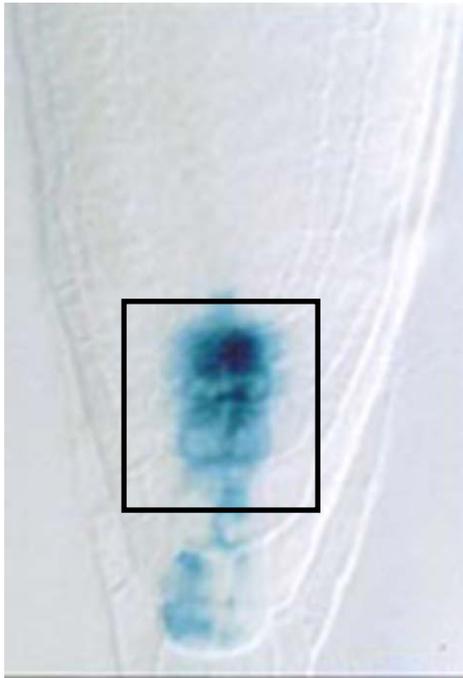
- Все клетки потенциально могут синтезировать ауксин
- Ауксин перераспределяется в ткани растения, формирует градиенты и максимумы концентрации
- В зависимости от концентрации по разному действует на



Auxin distribution in
shoot apical meristem
(de Reuille et al., 2006)

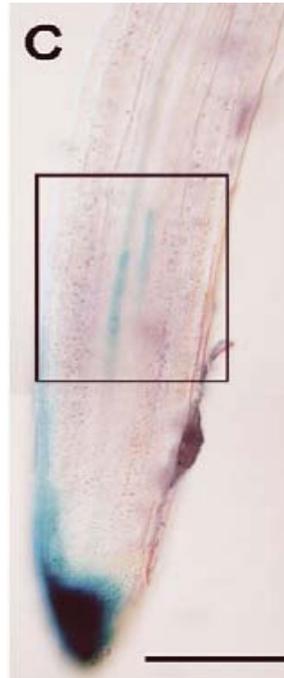


В корневой системе максимумы концентрации совпадают с положением инициации и функционирования меристем



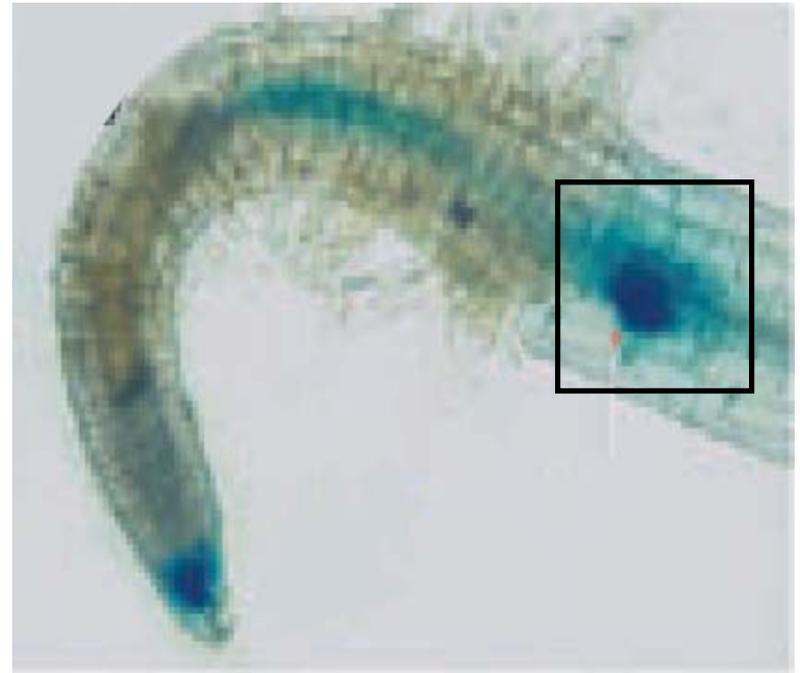
Меристема
корня

Sabatini et al., 1999



Точка
инициации
бокового корня

De Smet et al., 2007



Точка инициации
придаточного корня

Gonzali et al., 2005

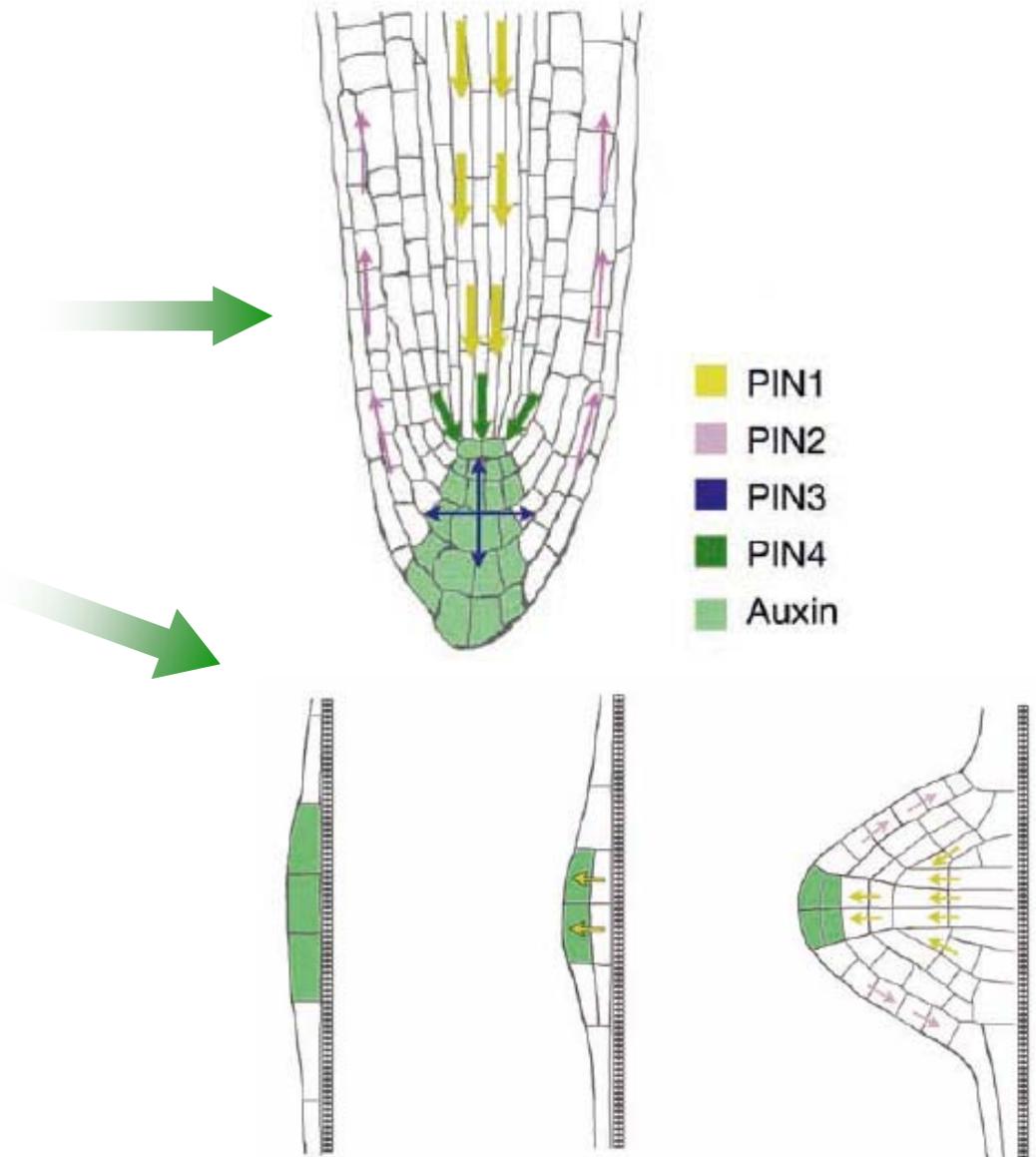
Влияние ауксина на развитие корня

**Ауксин регулирует
клеточные деления и
рост в корне**

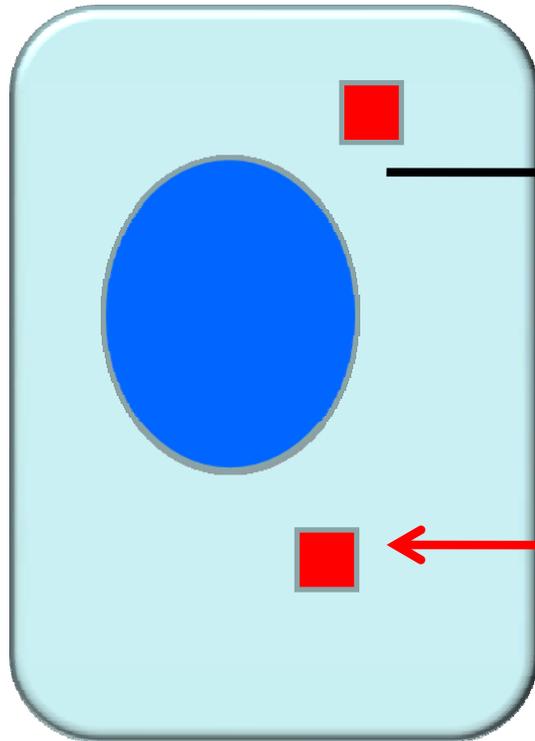
**Ауксин регулирует
функционирование
меристемы корня**

**Ауксин вызывает
развитие
латеральных
меристем корня**

**Ауксин ответственен
за гравитропизм**

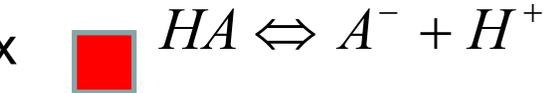


Транспорт ауксина в/из клетки



- Ауксин- слабая кислота, легко ВХОДИТ в клетку, НО ПЛОХО ВЫХОДИТ

Efflux



$$D_{H_2O}(HA) = 6.77 \cdot 10^{-10} m^2 / c$$

$$D_{inf/eff}(HA) = (3.2 \pm 1.4) \cdot 10^{-11} m^2 / c$$

$$D_{inf/eff}(A^-) \rightarrow 0$$

Influx

$$HA = a_i * \frac{1}{1 + 10^{pH - pK}}$$

$$A^- = a_i * \frac{10^{pH - pK}}{1 + 10^{pH - pK}}$$

$$pH(\text{апопласт}) = 5.5$$

$$pH(\text{клетки}) = 7.2$$

$$pK(IAA) = 4.8$$

$$HA_c = a_i * 0.004$$

$$A_c^- = a_i * 0.996$$

$$HA_p = a_i * 0.166$$

$$A_p^- = a_i * 0.83$$

Полярный транспорт ауксина в корне

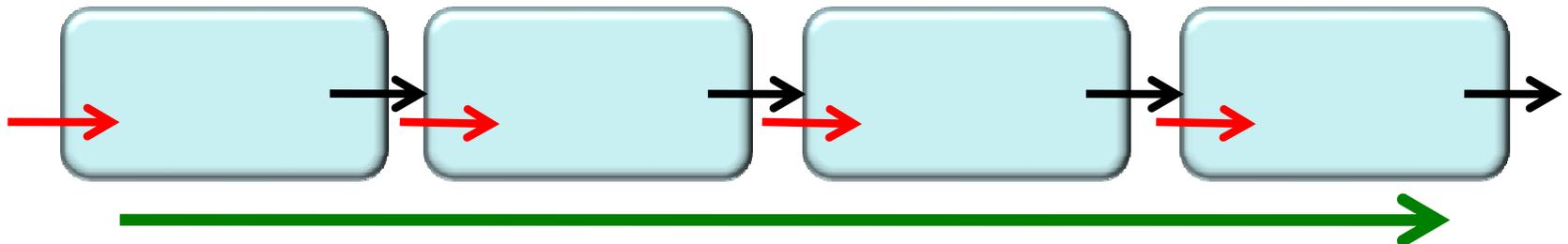
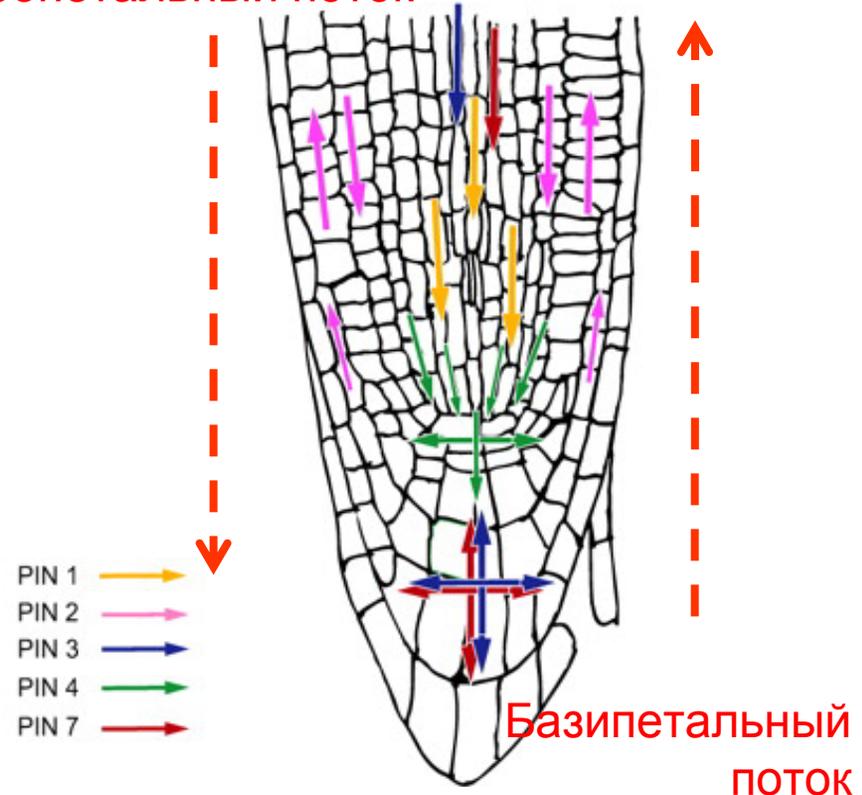
Белки притока: AUX1.
(располагается на апикальной стороне клетки)

Белки оттока: белки семейства PIN.
(располагаются на базальной стороне клетки)

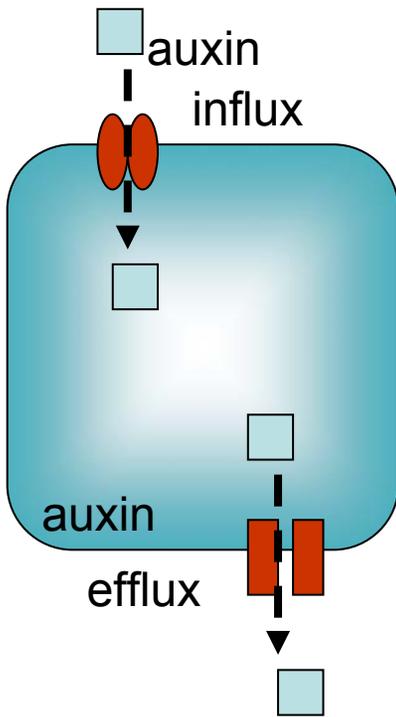
Полярный транспорт ауксина-

Белки, осуществляющие ввод и вывод ауксина из клетки располагаются неравномерно на поверхности клетки (на определенной стороне).

Акропетальный поток

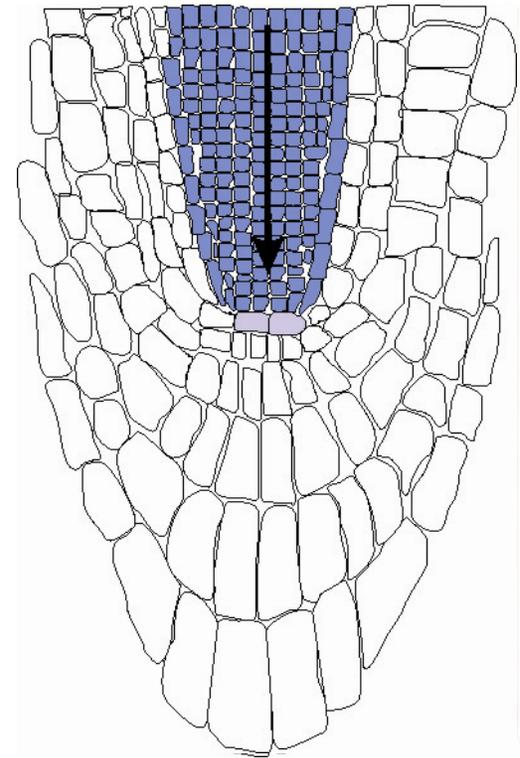


Перемещение ауксина в кончике корня



и полярный транспорт ауксина, который они регулируют

Паттерны экспрессии белков PIN семейства



PIN1

In vivo и *in silico* эксперименты показали, что белки оттока семейства PIN играют основную роль в формировании паттерна распределения ауксина в корне (Friml et al., 2002, Blilou et al., 2005, Grieneisen et al., 2007)

Grieneisen et al., 2007: структурный механизм формирования

- **Структурная гипотеза:**
Стабильный максимум концентрации ауксина в кончике корня образуется как результат перераспределения потоков через белки PIN семейства

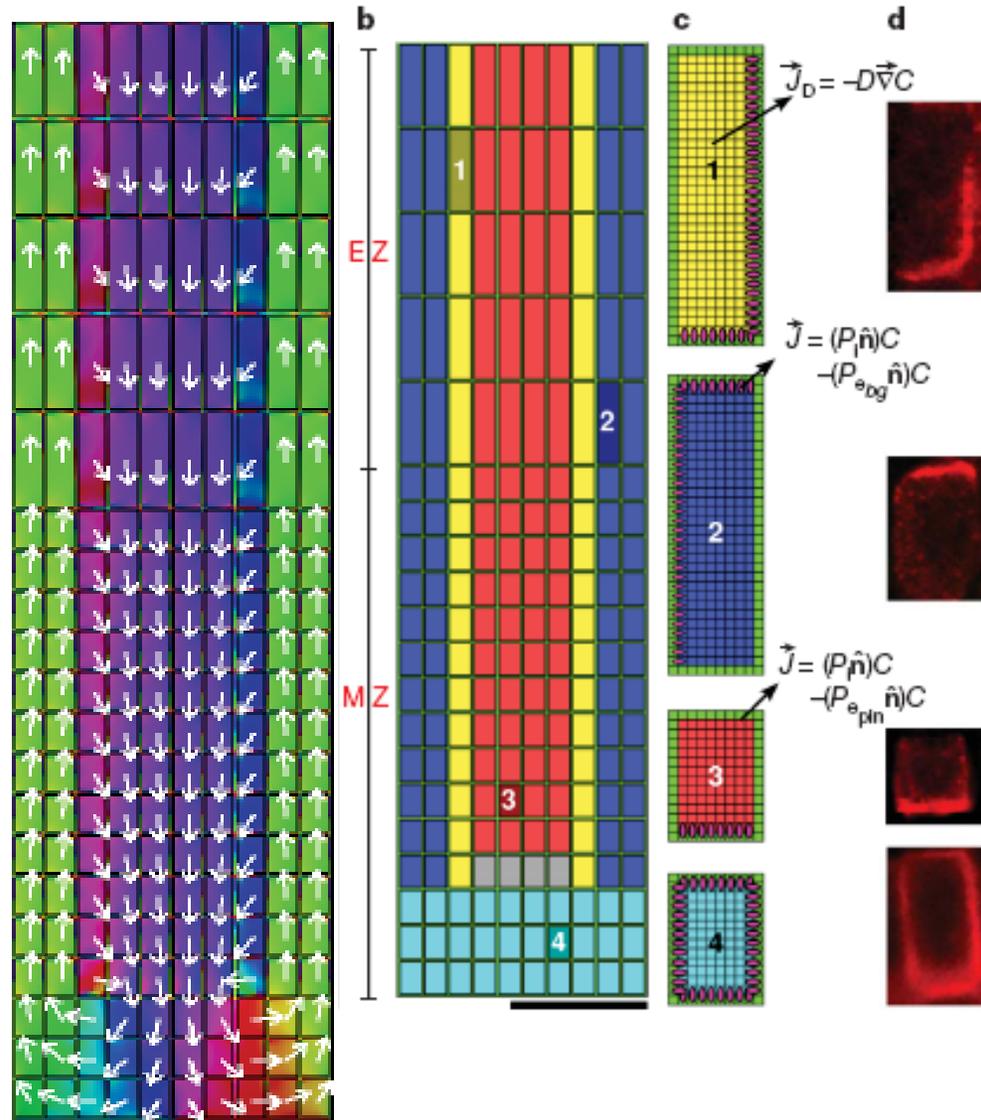
В модели анатомия корня была представлена в виде 4-х типов клеток:

Сосудистые клетки (3): PIN белки только на базальной стороне клеток

Перицикл (1): PIN на базальной и латеральной сторонах

Эпидермис (2): PIN на апикальной стороне

Корневой чехлик (4): PIN на всей поверхности мембраны



Недостаток такого подхода: Максимум концентрации возникает в изначально специализированной ткани

Grieneisen *et al.*

Supplementary Movie 1

Establishment of the auxin maximum in a root receiving shoot-derived auxin influx (simulation of Fig. 2b). Relative auxin concentrations according to the colour bar of Fig. 2d. Scale bar 100 μm .

Ауксин- морфоген. Согласно теории позиционной информации, градиент морфогена в ткани определяет ее дальнейшее развитие, а не наоборот. **Морфоген не так нужен в развитых тканях.**

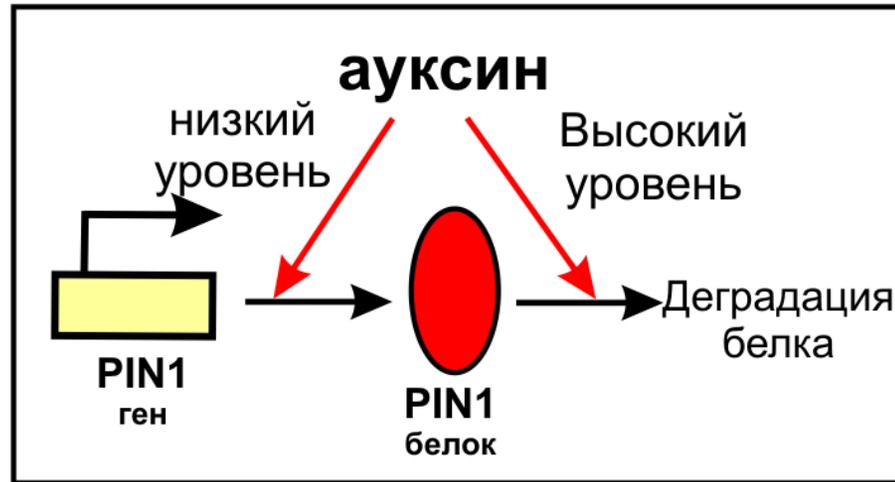
Структурная гипотеза **не объясняет как максимум ауксина формируется в развивающихся тканях** (эмбриональное развитие корневой меристемы, закладка боковых и придаточных корней, восстановление меристемы после повреждения).

Модель (Grieneisen *et al.*, 2007) **не воспроизводит данных по восстановлению максимума концентрации ауксина на расстоянии от выжженного лазером покоящегося центра**

Динамическая гипотеза формирования максимума концентрации ауксина

- Что если ауксин регулирует экспрессию своих транспортеров в неспециализированной ткани? Эта регуляция может быть дозозависимой, что позволит формировать градиенты концентрации ауксина, которые смогут предоставить клеткам позиционную информацию.

Ауксин регулирует свой транспорт



$$\frac{dPIN}{dt} = k_1 A(a) - k_2 I(a) PIN$$

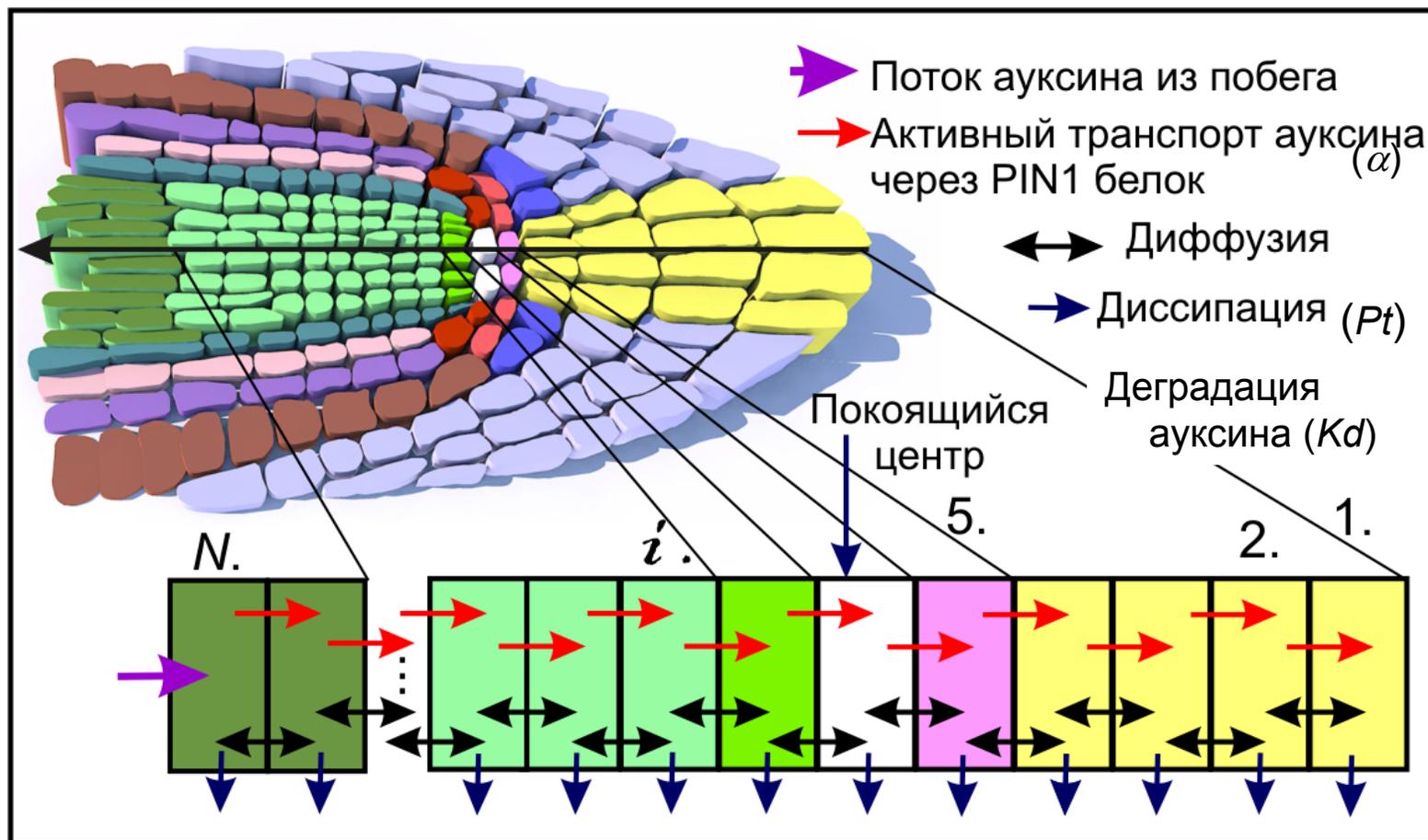
+ Положительная связь

- Primary response to auxin in plant cells is realized through **ARF family (auxin response factors)**. Expression of PIN genes is activated through this way (Vieten et al., 2005) (Sauer et al., 2006).

- Отрицательная связь

- High concentrations of auxin decreases its own efflux by auxin-dependent post-transcriptional downregulation of PIN proteins (Vieten et al., 2005) by proteasome-dependent mechanism (Sieberer et al., 2000)

Элементарные подсистемы, учтенные в модели

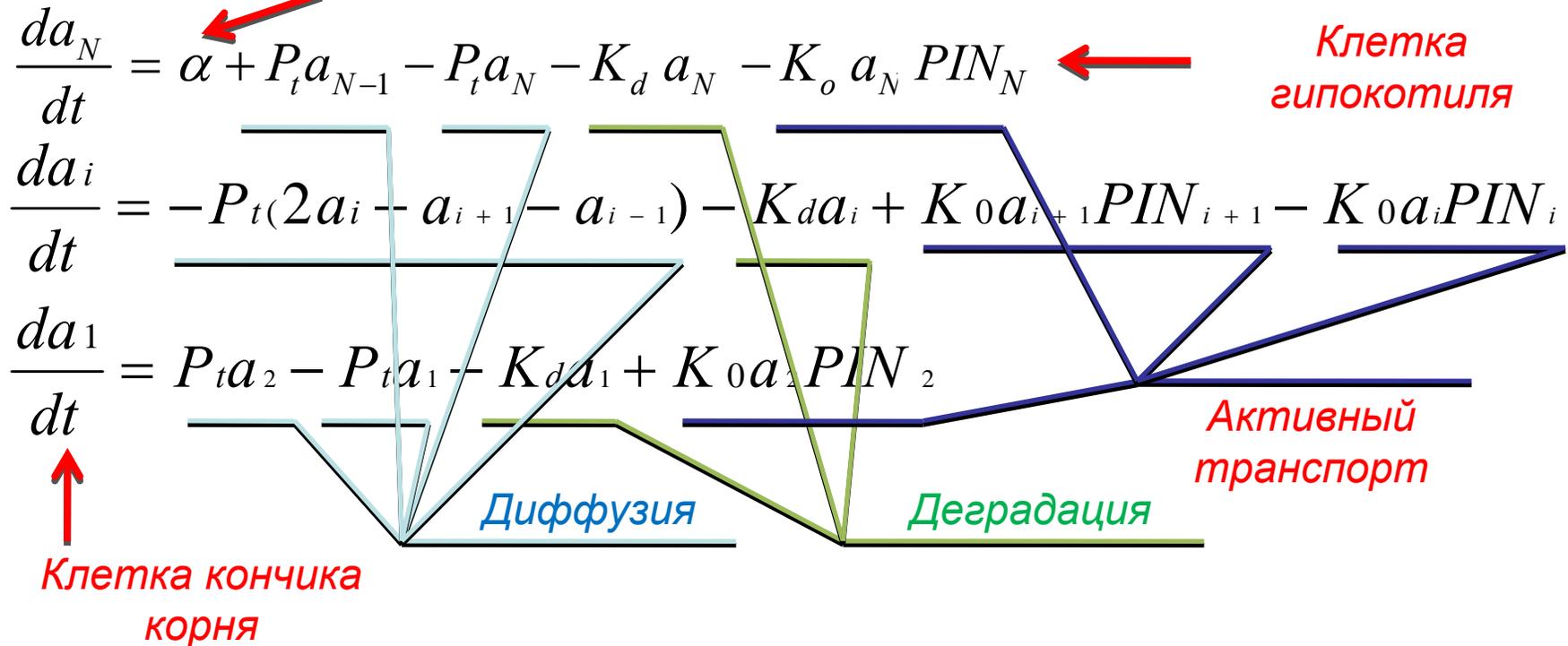


Все клетки в модели имеют одинаковые характеристики
(Клетки 1 и N имеют граничные условия)

1D модель: уравнения

Распределение ауксина

Поток ауксина из побега



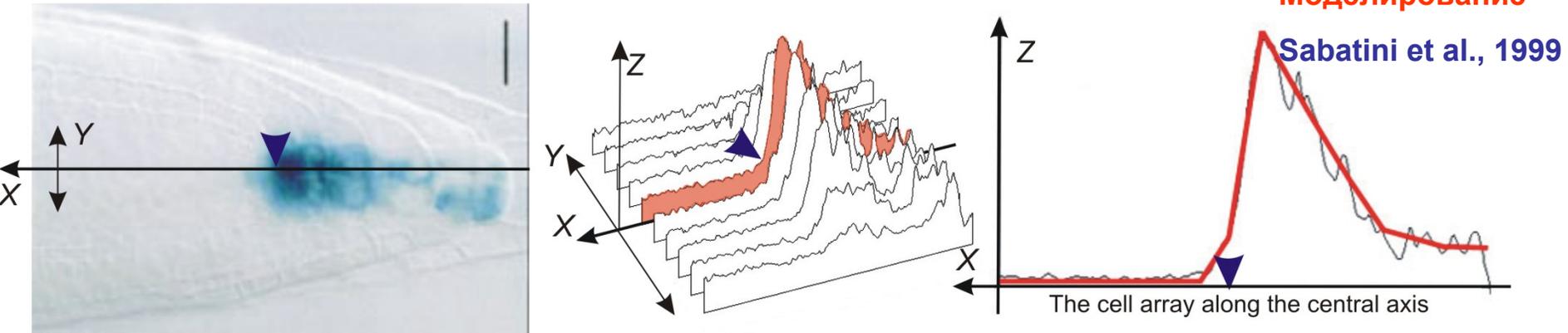
Экспрессия PIN1

$$\frac{dPIN_i}{dt} = k_1 A(a_i) - k_2 I(a_i) PIN_i$$

$$A(a_i) = \frac{\left(\frac{a_i}{q_{11}}\right)^{p_1}}{1 + \left(\frac{a_i}{q_{12}}\right)^{p_1}}$$

$$I(a_i) = 1 + \left(\frac{a_i}{q_2}\right)^{p_2}$$

Результаты расчета модели



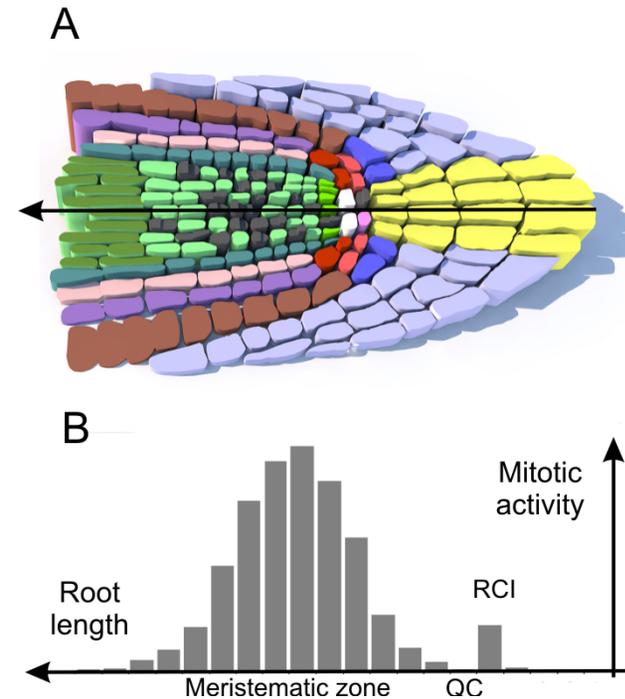
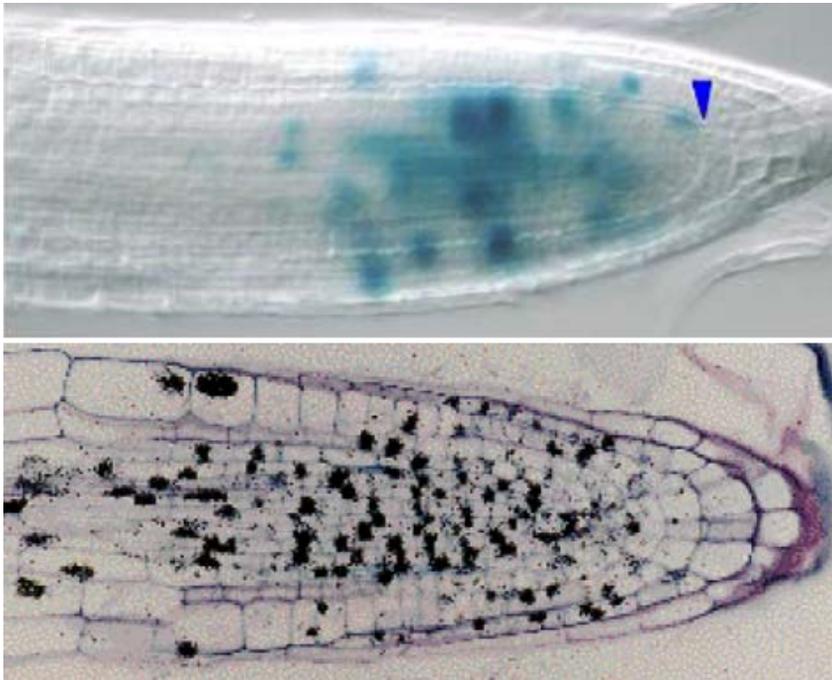
Набор параметров, который дает экспериментально наблюдаемое решение

Параметр	α^*	P_t	K_d	k_o	q_{11}	q_{12}	q_2	p_1	p_2
<i>Единица измерения</i>	cu/tu	$1/tu$	$1/tu$	$1/tu$	cu	cu	cu	dl	dl
<i>Значение</i>	1	0.066	0.0045	0.19	1	6.7	3.2	2.13	4

Моделирование распределения ауксина в ансамбле делящихся клеток

- Клетки в меристеме корня постоянно делятся, не смотря на это положение максимума концентрации ауксина стабильно в развитии.

Экспериментально наблюдаемая митотическая активность клеток в корне



Такое распределение митотической активности клеток может быть получено с помощью дополнительного регулятора (Y).

Правила деления клеток в расширенной модели.

$$\frac{dy_i}{dt} = \beta - k_{degr_y}(a_i)y$$

$$V_{cell_div} = k_{cell_div}(y)V_0$$

$$k_{degr_y}(a_i) = 0.0045 + \frac{k_{degr_y}^0 \left(\frac{a_i}{k_{degr_y}^1} \right)^{p1}}{1 + \left(\frac{a_i}{k_{degr_y}^2} \right)^{p2}}$$

$$k_{cell_div}(y_i) = 0.005 + \frac{k_{cell_div}^0 \left(\frac{y_i}{k_{cell_div}^1} \right)^{h1}}{1 + \left(\frac{y_i}{k_{cell_div}^2} \right)^{h2}}$$

Значения параметров:

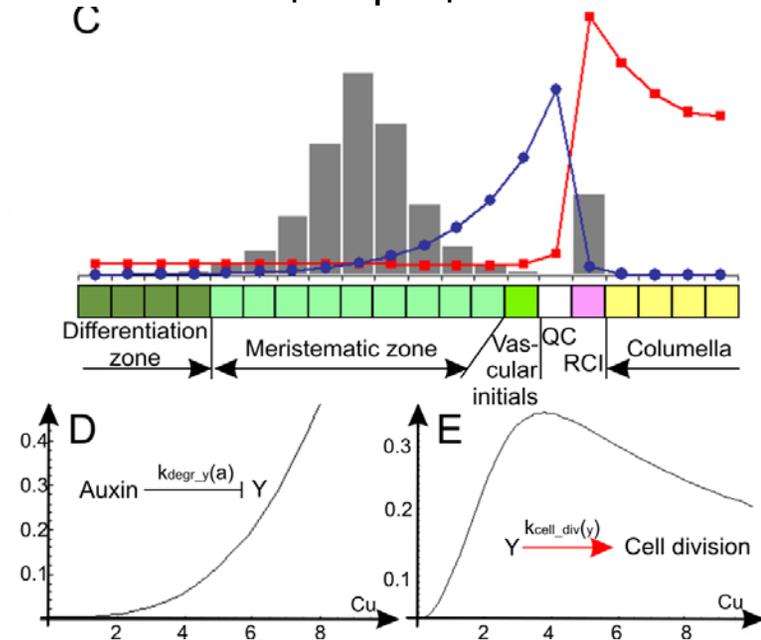
$$k_{degr_y}^0 = 0.3; k_{degr_y}^1 = 3.5; k_{degr_y}^2 = 0.5; p1 = 4; p2 = 1;$$

$$k_{cell_div}^0 = 0.7; k_{cell_div}^1 = 0.1; k_{cell_div}^2 = 0.01; h1 = 2; h2 = 3.$$

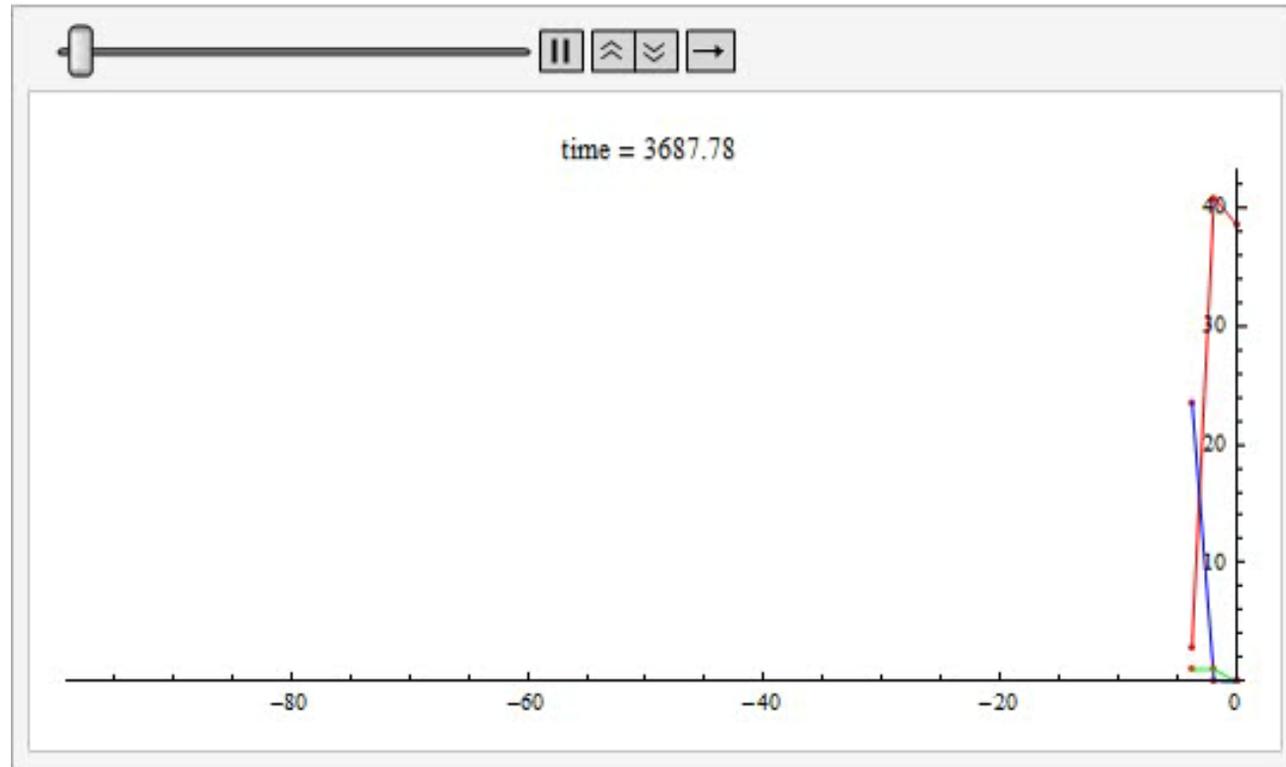
- Y конститутивно экспрессируется в QC
- Деградация Y зависит от концентрации ауксина
- Y перемещается по ткани диффузией
- Скорость деления клеток нелинейно зависит от концентрации Y в клетке:

Скорость низкая при низких концентрациях Y и его избытке.

Скорость высокая при промежуточных значениях концентрации Y.



Распределение ауксина устойчиво к изменению количества клеток в модели

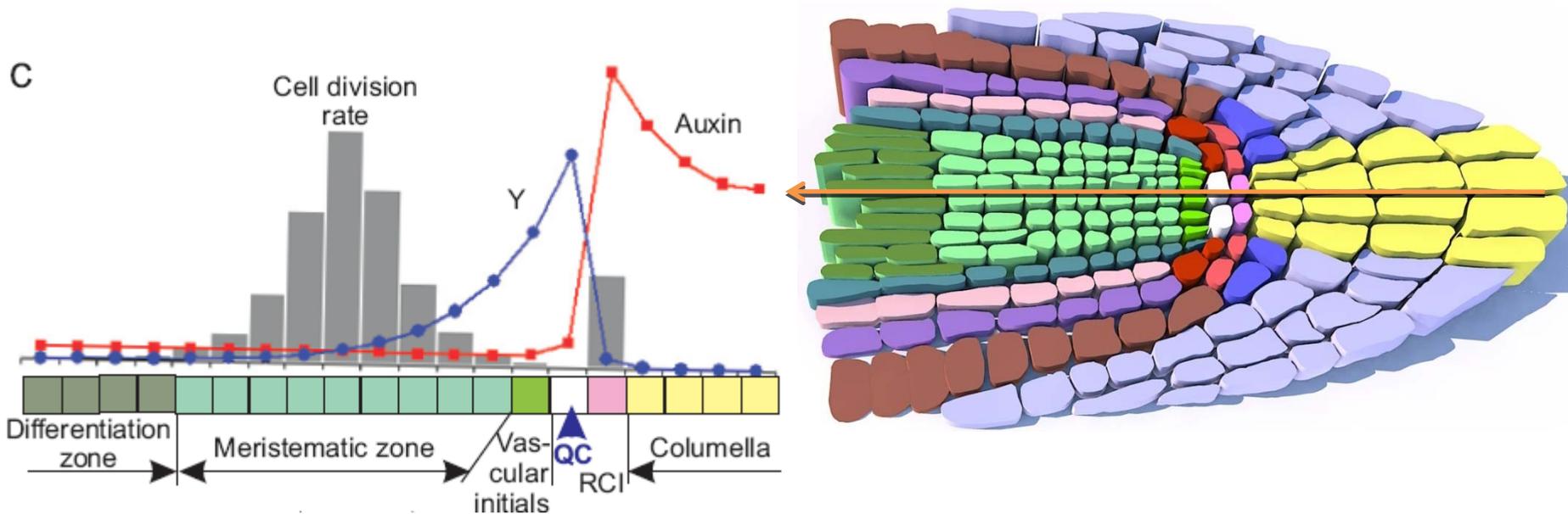


— auxin

— Y

Нам удалось «вырастить» корень с трех до более чем 100 клеток так, что максимум концентрации ауксина сохранялся на расстоянии от кончика корня

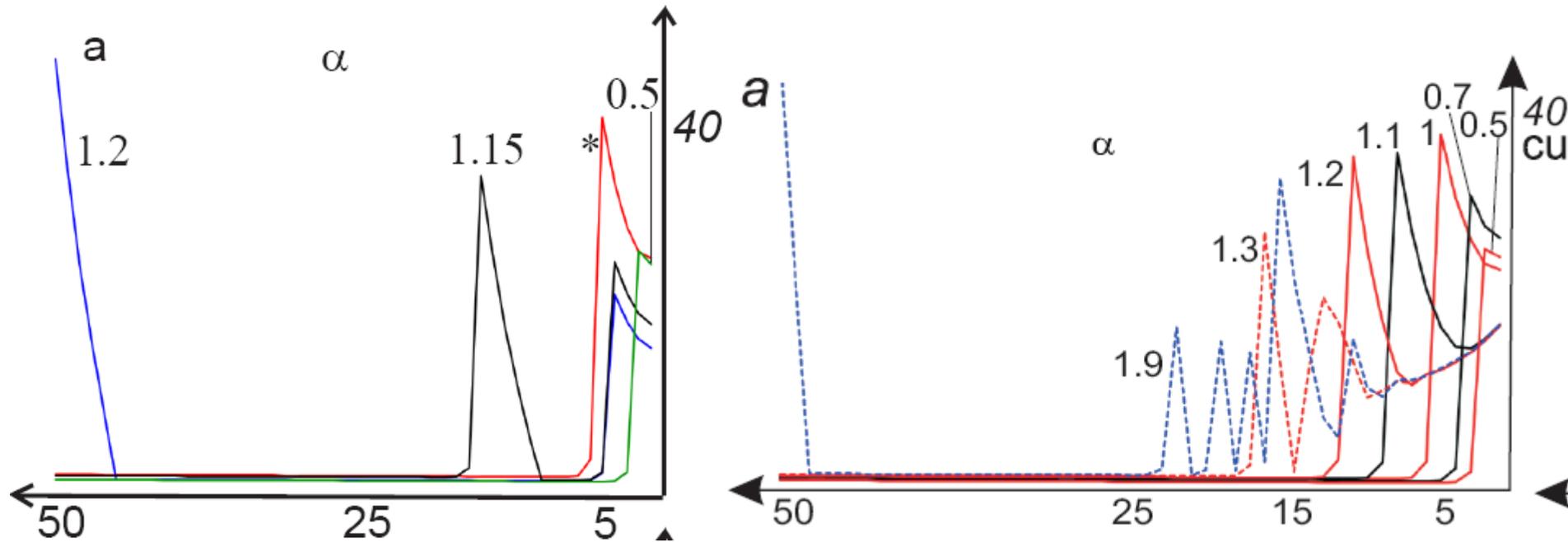
- «Морфогенез» в модели распределения ауксина



1. Three–four nondividing cells with a high auxin concentration are located in root end. Their characteristics match the characteristics of *in vivo* columella cells;
2. The next cell is rarely dividing and adopts the global maximum of auxin concentration. Its characteristics match those of the root cap initials;
3. The next cell is almost nondividing and corresponds in its characteristics to the QC;
4. The next cells in the *in silico* root are rarely dividing cells with a low auxin concentration. These characteristics are typical of the vascular initials;
5. The actively dividing cells with a low auxin concentration correspond to the meristematic zone of RAM; and
6. Finally, the nondividing cells with a low auxin concentration correspond to the differentiation zone of the vascular system.

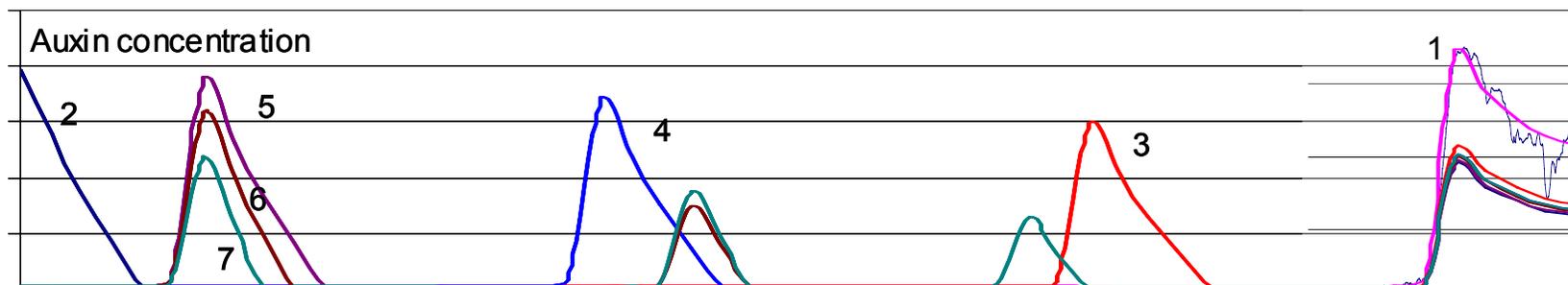
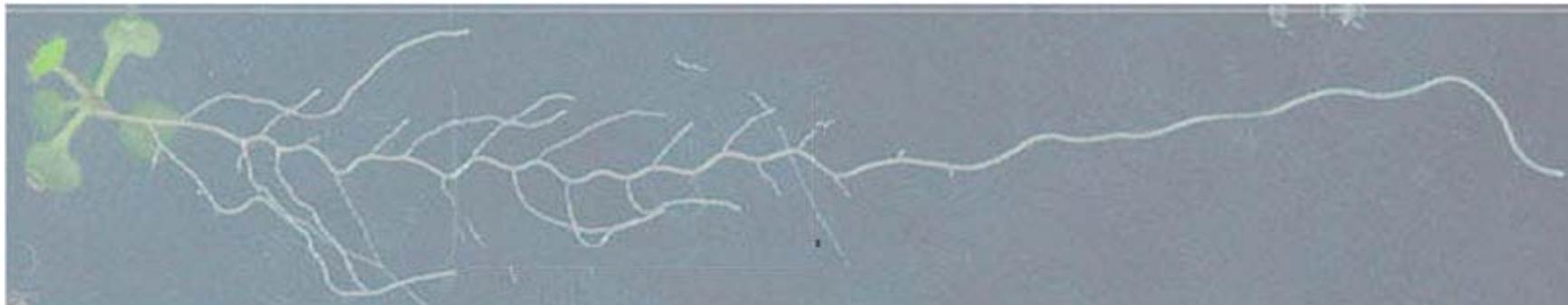
Увеличение потока ауксина из побега вызывает формирование дополнительных максимумов в корне

- Повышение потока ауксина из побега наблюдается при развитии растения (Lovin et al., 2004) колебания величины потока так же наблюдаются в суточных ритмах (Jouve et al., 1999).



Эти максимумы концентрации могут соответствовать наблюдаемым *in vivo* максимумам в меристематической зоне корня, которые дают начало развитию боковых корней (de Smet et al., 2007).

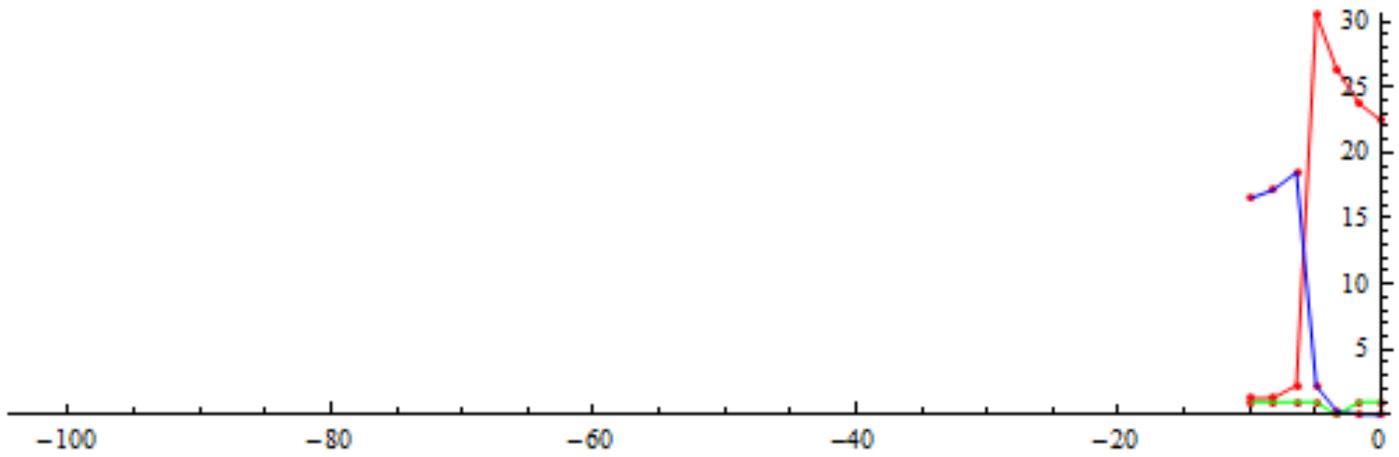
Роль дополнительных максимумов в формировании боковых корней



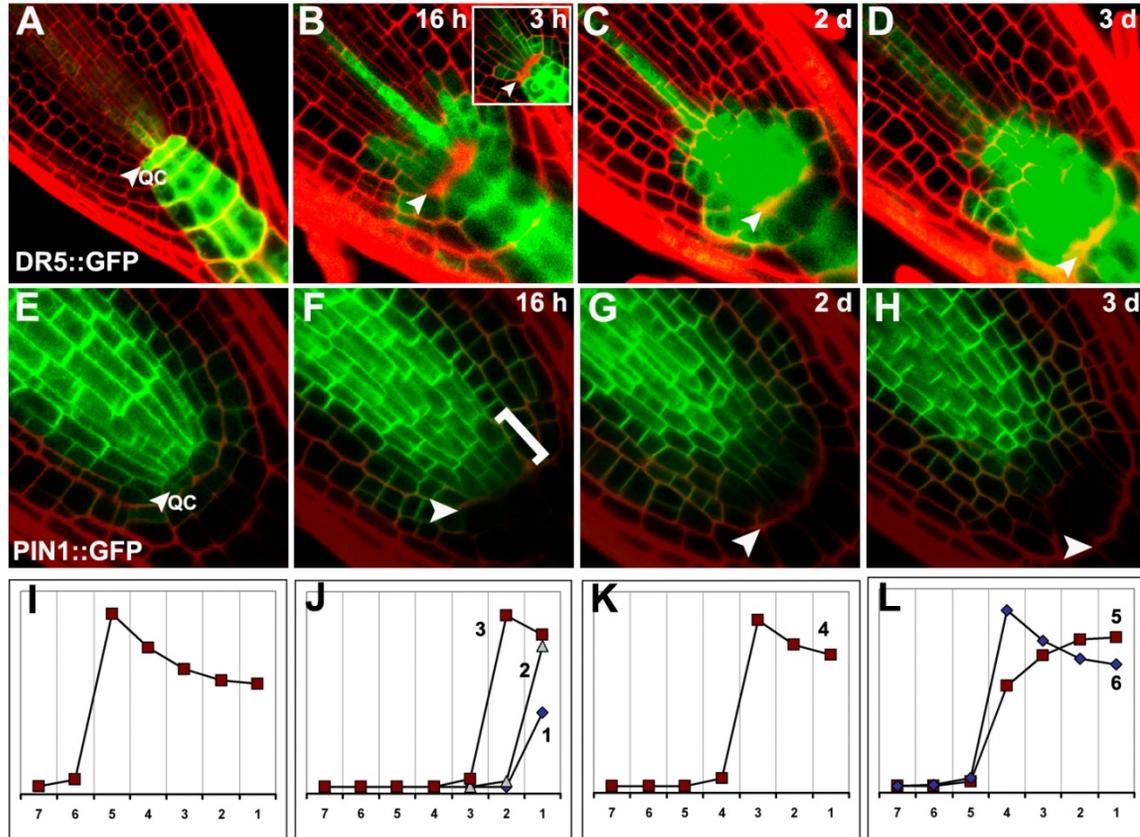
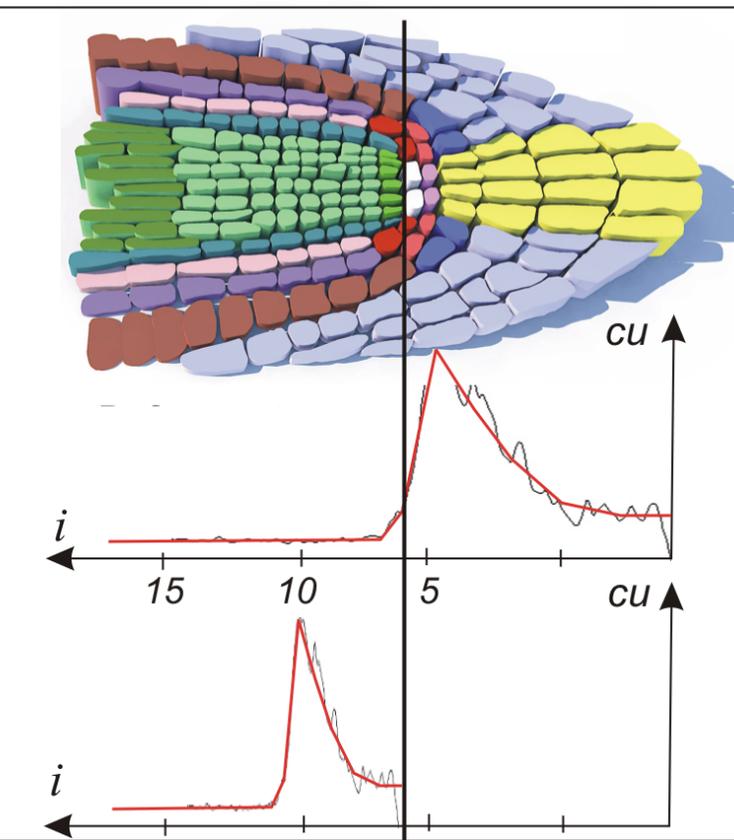
Периодическое повышение акропетального транспорта ауксина из побега в суточном ритме может быть ответственно за формирование ризотаксиса – паттерна закладки боковых корней с определенной периодичностью.



time = 2919.19



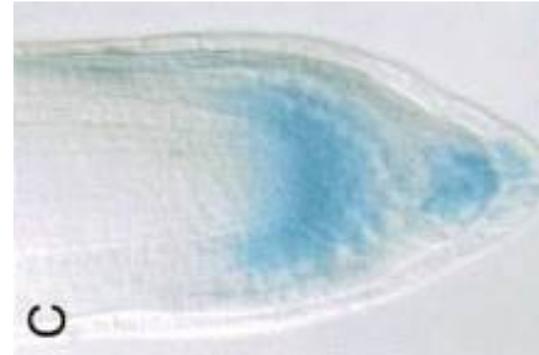
Сравнение процессов регенерации меристемы после удаления кончика корня *in vivo* и *in silico*



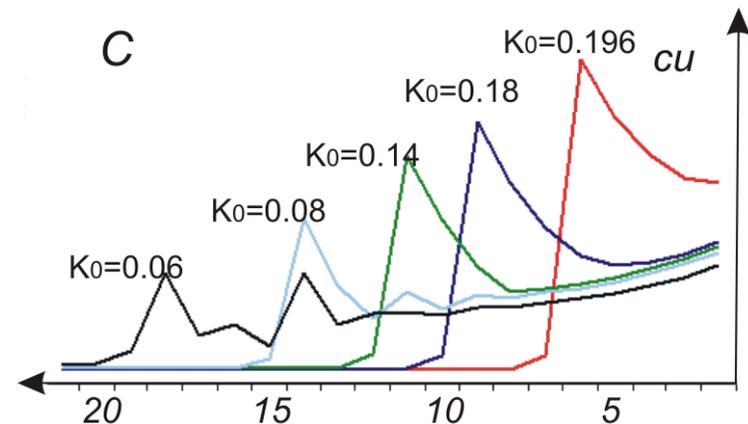
После удаления кончика корня, регенерации меристемы предшествует восстановлению максимума ауксина в клетках меристематической зоны

Обработка корней ингибиторами транспорта ауксина

После обработки корней ингибиторами транспорта ауксина NPA или TIBA, был зафиксирован эффект размывания максимума концентрации ауксина в кончике корня (Sabatini et al., 1999).



В экспериментах *in silico* наблюдается сдвиг максимума и одновременное уменьшение концентрации ауксина в нем.

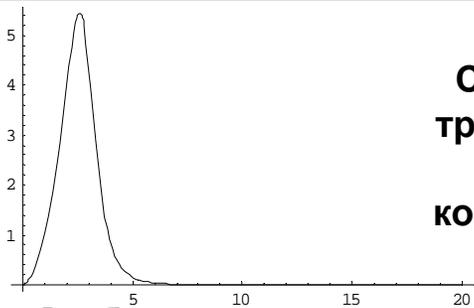


Разные наборы параметров могут реализовываться в разных видах растений

«Жесткий»

«Мягкий»

P_t	K_d	k_o	q_{11}	q_{12}	q_2	p_1	p_2	P_t	K_d	k_o	q_{11}	q_{12}	q_2	p_1	p_2
$1/tu$	$1/tu$	$1/tu$	cu	cu	cu	dl	dl	$1/tu$	$1/tu$	$1/tu$	cu	cu	cu	dl	dl
0.08	0.0045	0.25	1	100	3	2	10	0.066	0.0043	0.193	1	6.73	3.26	2.13	4



Скорость активного транспорта ауксина, в зависимости от концентрации ауксина

Стабильность распределения в клеточно-ориентированной модели

Развивается минимум с 5 клеток, максимум не стабилен – «плавает» в определенных границах (15-5 клетка)

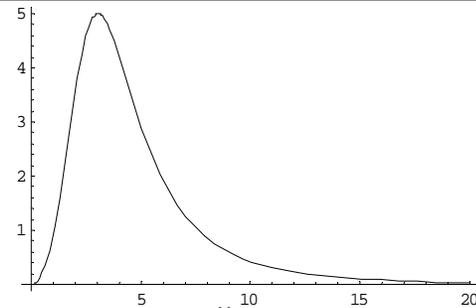
Стабильность распределения при увеличении эндогенного уровня ауксина

Распределения с несколькими максимумами конц-ии

Стабильность распределения при увеличении потока ауксина из побега

Происходит эпизодическое формирование внутренних, и иногда базальных, максимумов распределения

Более характерно для растений с мочковатой или переходной корневой системой



Развивается с 3 клеток. Максимум стабилен в развитии

Чрезвычайно устойчиво к флуктуациям.

Наблюдается сдвиг максимума и осцилляции концентрации ауксина в начале корня

Более характерно для растений со стержневой корневой системой (*Arabidopsis thaliana*)

Эффективность ингибирования активного транспорта определяет развитие разных корневых систем растений

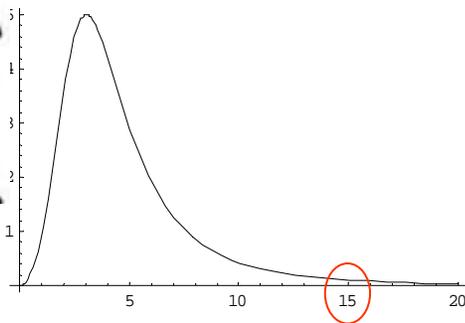


«Мягкий» набор

меристема маленькая

периодическое формирование боковых корней

Мало придаточных корней



«Жесткий» набор

меристема больших разме

случайное формирование боковых корней

Много придаточных корней



Скорость
активного
транспорта:
Efficiency of
inhibition by auxin

