

УДК 573.2, 57.017.6

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ ФИТОГОРМОНАМИ ФОРМИРОВАНИЯ МЕРИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ЗОНЫ КОРНЯ

© 2014 г. В.В. Лавреха¹, Н.А. Омелянчук¹, В.В. Миронова^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: vvl@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 15 сентября 2014 г. Принята к публикации 28 октября 2014 г.

Расположенная в кончике корня апикальная меристема растения — один из удобных объектов исследования организации ниши стволовых клеток. В апикальной меристеме корня митотически слабо активные клетки покоящегося центра соседствуют с активно делящимися клетками, которые теряют эту способность на определенном расстоянии от покоящегося центра. Известно, что важную роль в регуляции формирования такой структуры играют фитогормоны ауксин и цитокинин, однако конкретные механизмы поддержания ее в динамике пока неизвестны. В работе предложена математическая модель, которая обобщает экспериментальные данные о распределении ауксина и цитокинина вдоль продольной оси корня и их роли в регуляции клеточного цикла. Минимальный механизм регуляции клеточного цикла ауксином и цитокинином, лежащий в основе модели, позволил продемонстрировать *in silico* самоорганизацию меристематической зоны корня в градиентах концентраций этих веществ.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, математическое моделирование, ауксин, цитокинин, клеточный цикл.

ВВЕДЕНИЕ

Вдоль вертикальной оси от кончика корень растений подразделяется последовательно на колумеллу, меристематическую зону (МЗ), зоны элонгации и дифференцировки (Dolan *et al.*, 1993) (рис. 1, а). В МЗ по продольной оси снизу вверх расположены пролиферационный и переходный (транзитный) домены (Ivanov, Dubrovsky, 2013). Внизу пролиферационного домена находится ниша стволовых клеток (НСК), а далее расположены митотически-активные (транзитно-амплифицирующиеся, ТА) клетки. НСК состоит из стволовых клеток, окружающих митотически слабо активный покоящийся центр (ПЦ), у *Arabidopsis thaliana* L. состоящий из четырех клеток (Dolan *et al.*, 1993). В переходном домене ТА клетки начинают дифференцироваться, теряют способность к делению и выходят из клеточного цикла. Ауксин и цитокинин играют антагонистические роли в

регуляции деления клеток растений: ауксин вызывает деление клеток в МЗ, в то время как цитокинин способствует началу дифференцировки клеток в переходном домене (Dello Ioio *et al.*, 2008). Увеличение концентрации цитокинина в тканях за счет обработки экзогенным гормоном или усиления эндогенного синтеза приводит к ингибированию роста корней и уменьшению размеров пролиферационного домена в МЗ, в то время как снижение эндогенного уровня цитокинина имеет противоположный эффект (Kuderova *et al.*, 2008).

В корне градиент ауксина является основополагающим фактором в установлении местоположения НСК и поддержании ее размеров (Sabatini *et al.*, 1999). Распределение концентрации ауксина имеет максимум в ПЦ и колумелле (рис. 1, б), который формируется через активное перераспределение ауксина PIN транспортерами (Grieneisen *et al.*, 2007). Ауксин, регулируя транскрипцию генов *PIN* (на

рис. 1, *з* представлен паттерн экспрессии гена *PIN1*), стабильность и поляризацию белков PIN, контролирует становление своего градиента (Mironova *et al.*, 2010, 2012). Основываясь на данных об активности цитокинин-чувствительного репортера TCS (Zürcher *et al.*, 2013), можно предполагать повышенную концентрацию цитокинина в клетках кончика корня и переходном домене (рис. 1, *в*).

Приблизиться к изучению связи между распределением морфогенов в кончике корня и их ролью в регуляции роста и деления клеток удалось совсем недавно, с развитием методов математического моделирования. На данный момент опубликовано три работы, в которых с помощью математических моделей проанализированы механизмы гормональной регуляции клеточной динамики в корне (Grieneisen *et al.*, 2007; Mironova *et al.*, 2010; Barrio *et al.*, 2013).

В работе Grieneisen с соавт. (2007) основ-

ным регулятором роста и деления клеток назван ауксин. Регуляция осуществляется по следующим правилам: (1) клетка не растет больше определенного размера; чтобы клетка могла поделиться, (2) ее размер должен быть больше минимального; (3) уровень ауксина должен быть выше порогового. Клеточный цикл в модели состоит из двух фаз: T1 – фазы медленного роста и T2 – фазы быстрого роста, время прохождения клеткой которых зависит от концентрации ауксина.

В работе Barrio с соавт. (2013) регуляторы клеточного цикла в меристеме корня представлены CYCD, CYCA и CYCB циклинами, колебания концентрации которых определяют переходы между фазами G1/S и G2/M. Авторы предположили, что период клеточного цикла обратно пропорционален концентрации ауксина в клетке. Модель Лотки – Вольтерры была выбрана авторами в качестве модели осцил-

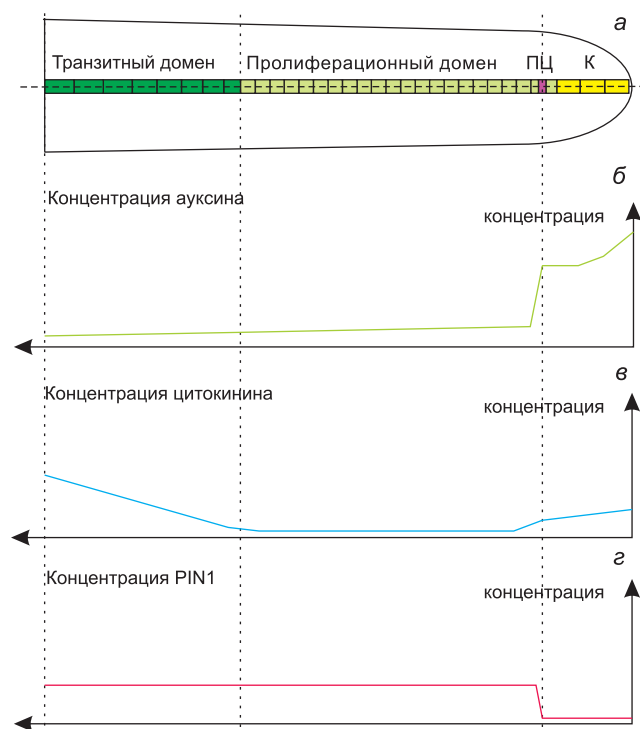


Рис. 1. Структура МЗ и распределение концентраций ауксина, цитокинина и белка-транспортера ауксина PIN1 в соответствии с зонированием: *а* – в кончике корня выделяют следующие подзоны сверху вниз (на рисунке слева направо): транзитный домен, пролиферационный домен с ПЦ в его составе и К (колумеллу); *б* – профиль распределения ауксина в корне, восстановленный по активности ауксин-чувствительного репортера DR5 (Sabatini *et al.*, 1999); *в* – профиль распределения цитокинина в корне, восстановленный по активности цитокинин-чувствительного репортера TCS (Zürcher *et al.*, 2013); *г* – паттерн экспрессии *PIN1* (Dello Ioio *et al.*, 2008).

ляций CYCD и CYCB/CYCA в зависимости от концентрации ауксина (Lotka, Dublin, 1925, Вольтерра, 1976).

В опубликованной нами ранее работе (Mironova *et al.*, 2010) гормональная регуляция клеточного цикла осуществлялась с учетом дополнительного морфогена – фактора деления (*Division Factor*). Мы предположили, что скорость деления клетки нелинейно зависит от концентрации фактора деления: низкая (или нулевая) реализуется при недостатке или избытке фактора деления, а высокая – при средних значениях его концентрации. Распределение фактора деления, в свою очередь, регулируется ауксином. В данной работе математическая модель (Mironova *et al.*, 2010) находит дальнейшее развитие. Мы заменили гипотетический фактор деления на реальные гормоны растений, ауксин и цитокинин, и таким образом получили минимальный необходимый механизм формирования структуры кончика корня (колумеллы, пролиферационного и транзитного доменов) в зависимости от градиентов ауксина и цитокинина. Непротиворечивость и достаточность предложенного механизма формирования меристемы вдоль продольной оси корня были протестированы с помощью математического моделирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Основные допущения модели

Ниже перечислим основные допущения модели и их биологическое обоснование.

1. В ПЦ и колумелле имеется максимум концентрации ауксина (Sabatini *et al.*, 1999). Формирование градиента концентрации ауксина в кончике корня в настоящей модели описано по механизму отраженной волны (рис. 1, а, б), аналогично (Mironova *et al.*, 2010).

2. В работе Мироновой с соавт. (Mironova *et al.*, 2010) единственным источником ауксина в зоне моделирования является его приток из побега, которого недостаточно для сохранения максимума концентрации ауксина при увеличении клеточного ансамбля больше 100 клеток. Дальнейшее развитие корня требует учета синтеза ауксина *de novo*, что соответствует экспериментальным данным Bhalerao с соавт. (2002).

3. Согласно данным о цитокинин-чувствительном репортере TCS (Zürcher *et al.*, 2013), повышенная концентрация цитокинина наблюдается в колумелле и переходном домене меристемы (рис. 1, в). Формирование градиента концентрации цитокинина в корне ранее нигде не исследовано, и в данной работе мы впервые предлагаем его механизм:

а) изменение концентрации цитокинина в клетках зависит от процессов синтеза, диффузии и деградации;

б) так как в клетках с высоким уровнем экспрессии репортера TCS (Zürcher *et al.*, 2013) наблюдается повышенная концентрация ауксина (рис. 1), в модели мы описали ауксин-чувствительный синтез цитокинина (рис. 2, б);

в) другим источником цитокинина, рассмотренным в модели, служит поток цитокинина из побега, который идет по флоэме корня в его кончик (Bishopp *et al.*, 2011).

4. В модели мы рассмотрели упрощенную схему клеточного цикла, состоящего из двух фаз G1 и G2, и двух наиболее важных контрольных точек G1/S и G2/M. Согласно экспериментальным данным, для клеток, расположенных в различных подзонах МЗ, характерно преимущественное нахождение в определенной фазе клеточного цикла (Breuer *et al.*, 2014; рис. 3, а, б). Клетки колумеллы преимущественно находятся в фазе G1. Клетки пролиферационного домена активно делятся, поэтому могут быть в фазах G1 или G2. В переходном домене клетки все еще способны перейти контрольную точку G1/S, но не способны к делению и находятся в фазе G2.

5. Известно, что и ауксин и цитокинин необходимы для прохождения клеточного цикла. Зная информацию о распределении фаз клеточного цикла (рис. 3, б) относительно градиентов концентрации ауксина и цитокинина (рис. 1, б, в), мы предложили упрощенную модель регуляции клеточного цикла в меристеме корня растений (рис. 2, в). Мы предположили, что вероятность прохождения контрольной точки G1/S зависит от двух параметров: размера клетки и концентрации ауксина в ней. Принимая во внимание данные о влиянии цитокинина на размер пролиферационного домена, полученные в работе (Dello Ioio *et al.*, 2008), мы предположили, что вероятность прохождения

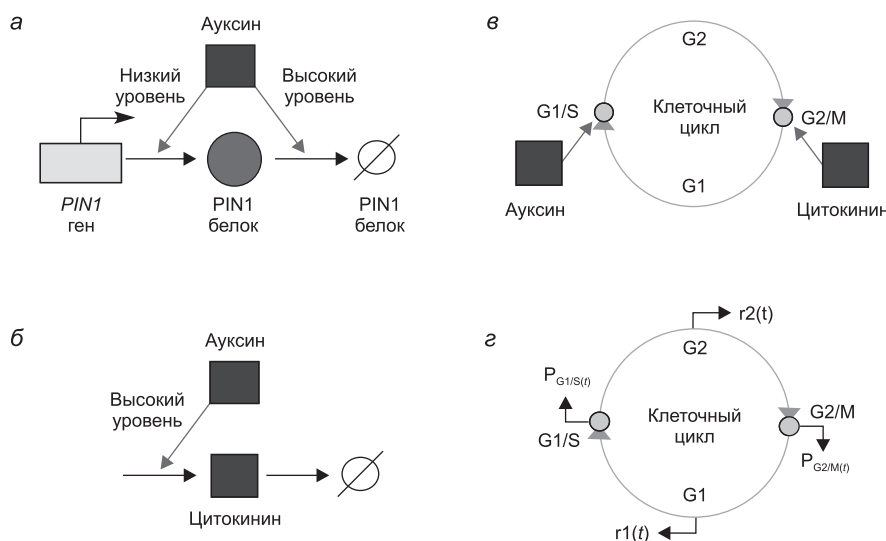


Рис. 2. Схема гормональной регуляции динамических процессов, рассмотренных в модели: а – влияние ауксина на синтез и деградацию белка PIN1 (Mironova *et al.*, 2010); б – влияние ауксина на динамику концентрации цитокинина в настоящей модели; в – схематичное представление гормональной регуляции клеточного цикла в модели; з – функции скоростей роста ($r_1(t)$, $r_2(t)$) и вероятности прохождения контрольных точек клеточного цикла ($P_{G1/S}(t)$, $P_{G2/M}(t)$), рассмотренные в модели.

G2/M зависит от концентрации цитокинина в клетке.

6. Известно, что при выходе из МЗ клетки начинают расти более интенсивно (рис. 3, в), что было учтено в модели: скорость роста клеток в фазе G2 в три раза больше, чем в фазе G1. Вне зависимости от фазы клеточного цикла, существует ограничение на предельный размер клетки (Sablowski, Dornelas, 2014), что было учтено в математической модели.

2. Переменные в математической модели

В модели рассмотрен ансамбль клеток, расположенных вдоль продольной оси корня, количество клеток N может меняться в течение численного расчета. Самая дистальная клетка, находящаяся на кончике корня, имеет номер 1, последняя клетка в ансамбле N находится в переходном домене. Клетка с номером i имеет длину $2r_i$ (r_i – радиус клетки), координаты центра x_i , фазу клеточного цикла G_i , концентрации активных веществ a_i , $PIN1_i$ и c_i . В настоящей модели изменения концентрации ауксина (a_i) и белка PIN1 ($PIN1_i$) описаны в соответствии с предыдущей версией модели (Mironova *et*

al., 2010). Гипотетический *Division Factor* исключен из модели, но введен гормон цитокинин (c_i). Рассмотрим описание модели более подробно.

Транспортер ауксина PIN1

Как и в модели Мироновой с соавт. (Mironova *et al.*, 2010), концентрация белка PIN1 зависит от концентрации ауксина в клетке (см. рис. 2, а) и описана кусочно-линейными функциями:

$$f_{s,pin1}(a_i) = \begin{cases} 0, & \text{if } a_i < T_a^{sp} \\ 1, & \text{else} \end{cases}; \quad (1)$$

$$f_{d,pin1}(a_i) = \begin{cases} 9, & \text{if } a_i > T_a^{dp} \\ 0,01, & \text{else} \end{cases}; \quad (2)$$

$$\frac{dPIN1_i}{dt} = K_{s,pin1} f_{s,pin1}(a_i) - K_{d,pin1} (1 + f_{d,pin1}(a_i)) PIN1_i, \quad (3)$$

где a_i , $PIN1_i$ – концентрации ауксина и белка PIN1 в клетке i ; $K_{s,pin1}$ и $K_{d,pin1}$ – коэффициенты синтеза и деградации PIN1; $f_{s,pin1}(a_i)$ и $f_{d,pin1}(a_i)$ – кусочно-линейные функции управления скоростями синтеза и деградации PIN1 соответственно, в зависимости от концентрации ауксина в

клетке; T_a^{sp} , T_a^{dp} – пороговые значения концентрации ауксина для переключения функций $f_{s, pin1}(a_i)$ и $f_{d, pin1}(a_i)$.

Ауксин

Изменение концентрации ауксина в настоящей модели описано аналогично (Mironova *et al.*, 2010): рассмотрены процессы диффузии, деградации и активного транспорта. Ауксин поступает из побега через сосудистую систему корня в клетку N с интенсивностью $\alpha(t)$, которая растет линейно по времени t (4): $\alpha(t) = \alpha_0 + kt$.

Нерегулируемый (пассивный) транспорт ауксина между клетками осуществляется за счет диффузии с коэффициентом D_a . Скорость деградации ауксина в клетке описана линейно с коэффициентом $K_{d,a}$. Концентрация ауксина в клетке уменьшается за счет ее удлинения, что учтено функцией скорости разбавления $f_d(r_i)$: $f_d(r_i) = \frac{r_i}{r_i}$.

Ауксин активно переносится из клетки с номером i в клетку с номером $i-1$ со скоростью $f_t(PIN1_i)$, определяемой концентрацией PIN1 транспортера в клетке i :

$$f_t(PIN1_i) = K_{at,a} * PIN1_i.$$

Все эти процессы подробно описаны в модели (Mironova *et al.*, 2010). В настоящую модель введено дополнение – нерегулируемый синтез ауксина в каждой клетке с интенсивностью σ_0 . Общая система уравнений, описывающая изменения концентрации ауксина в клетках, представлена ниже:

$$\frac{da_1}{dt} = -D_a(a_1 - a_2) + \sigma_0 - K_{d,a}a_1 + f_t(PIN1_2)a_2 - f_d(r_1)a_1 \quad (4)$$

$$\frac{da_i}{dt} = D_a(a_{i+1} + a_{i-1} - 2a_i) + \sigma_0 - K_{d,a}a_i + f_t(PIN1_{i+1})a_{i+1} - f_t(PIN1_i)a_i - f_d(r_i)a_i \quad (5)$$

$$\frac{da_N}{dt} = \alpha(t) + D_a(a_{N-1} - a_N) + \sigma_0 - K_{d,a}a_N - f_t(PIN1_N)a_N - f_d(r_N)a_N, \quad (6)$$

где N – клетка, ближайшая к побегу, a_i и $PIN1_i$ – концентрации ауксина и белка PIN1 в клетке i ; r_i – размер i -й клетки; $\alpha(t)$ – поток ауксина из

побега; α_0 – базальный уровень интенсивности потока ауксина, поступающего в N -ю клетку, k – константа прироста интенсивности потока ауксина по времени; D_a и $K_{d,a}$ – коэффициенты диффузии и деградации ауксина соответственно; $K_{at,a}$ – константа скорости активного транспорта; σ_0 – константа нерегулируемого синтеза ауксина в клетке; $f_d(r_i)$ – функция скорости разбавления концентрации вещества в клетке i , представляющая отношение скорости прироста радиуса клетки r'_i к ее текущему радиусу r_i ; r'_i – скорость прироста радиуса клетки за время dt .

Цитокинин

Изменение концентрации цитокинина описано процессами диффузии, деградации и синтеза. Один из источников цитокинина – его поток в клетку N с интенсивностью $\beta(t)$, которая растет линейно по времени t : $\beta(t) = \beta_0 + lt$.

Нерегулируемый (пассивный) транспорт цитокинина между клетками осуществляется за счет диффузии с коэффициентом D_c . Скорость деградации цитокинина в клетке описана линейной функцией с коэффициентом $K_{d,c}$. Уменьшение концентрации цитокинина в клетке за счет ее удлинения учтено с использованием функции скорости разбавления $f_d(r_i)$ (см. Ауксин). Регулируемый синтез цитокинина описан кусочно-линейной функцией $f_{s,c}(a_i)$. При концентрации ауксина ниже пороговой (T_a^{sc}) рассматривается базальная (невысокая) скорость синтеза цитокинина, при концентрации ауксина выше T_a^{sc} скорость синтеза цитокинина увеличивается на порядок (рис. 2, б):

$$f_{s,c}(a_i) = \begin{cases} 1, & \text{if } a_i > T_a^{sc} \\ 0,01, & \text{else} \end{cases}$$

Изменение концентрации цитокинина в клетках описано уравнениями:

$$\frac{dc_1}{dt} = -D_c(c_1 - c_2) + K_{s,c}f_{s,c}(a_1) - K_{d,c}c_1 - f_d(r_1)c_1 \quad (7)$$

$$\frac{dc_i}{dt} = D_c(c_{i+1} + c_{i-1} - 2c_i) + K_{s,c}f_{s,c}(a_i) - K_{d,c}c_i - f_d(r_i)c_i \quad (8)$$

$$\frac{dc_N}{dt} = \beta(t) + D_c(c_{N-1} - c_N) + K_{s,c}f_{s,c}(a_N) -$$

$$-K_{d,c}c_N - f_d(r_N)c_N, \quad (9)$$

где a_i, c_i – концентрации ауксина и цитокинина в клетке i ; r_i – размер i -й клетки; D_c и $K_{d,c}$ – коэффициенты диффузии и деградации цитокинина в клетке соответственно; $f_{s,c}(a_i)$ – кусочно-линейная функция скорости синтеза цитокинина, где T_a^{sc} – пороговое значение концентрации ауксина для регуляции скорости синтеза цитокинина, $K_{s,c}$ – константа скорости синтеза цитокинина, $\beta(t)$ – скорость потока цитокинина из сосудистой системы корня с параметрами β_0 и l .

Моделирование роста и деления клеток

Для создания модели с клеточными делениями была использована Динамическая грамматика, реализованная в пакете Plenum для Mathematica® (Yosiphon, Mjolsness, 2007), аналогично (Mironova *et al.*, 2010). Рост и перемещение клеток вдоль оси, активный транспорт и диффузия сигнальных веществ между клетками, а также диссипация веществ описаны непрерывными функциями. Переходы между дискретными событиями описаны стохастическими правилами. На рис. 2, в представлена схема клеточного цикла, моделируемого в данной работе. Время нахождения клетки в фазе G1 и G2 – τ , определяется в соответствии с функциями распределения вероятностей прохождения контрольных точек $P_{G1/S}(\tau)$ и $P_{G2/M}(\tau)$:

$$P_{G1/S}(\tau) = \rho_{GP}(r_i) * \rho_{g1/s}(a_i) * \exp(-\rho_{GP}(r_i) * \rho_{g1/s}(a_i) * \tau) \quad (10)$$

$$P_{G2/M}(\tau) = \rho_{g2/m}(c_i) * P(x_1, x_2|x) * \exp(-\rho_{g2/m}(c_i) * P(x_1, x_2|x) * \tau) \quad (11)$$

Для индивидуальной клетки $P_{G1/S}(\tau)$ зависит от ее размера

$$\rho_{GP}(r_i) = (1 + \exp(-\frac{r_i - r_{min}}{T}))^{-1}$$

и текущей концентрации ауксина

$$\rho_{g1/s}(a_i) = \begin{cases} 1, & \text{if } a_i < T_a^{G1/S} \\ 0, & \text{else} \end{cases}$$

$P_{G2/M}(\tau)$, в свою очередь, зависит от концентрации цитокинина:

$$\rho_{g2/m}(c_i) = \begin{cases} 1 - c_i/T_c^{G2/M}, & \text{if } c_i < T_c^{G2/M} \\ 0,0001, & \text{else} \end{cases}, \quad (12)$$

где $P_{G1/S}(\tau)$, $P_{G2/M}(\tau)$ – функции распределения вероятности прохождения G1/S и G2/M; a_i, c_i – концентрации ауксина, цитокинина в клетке i ; r_i – размер клетки i ; $r_{min} = 1,5$ – минимальный размер клетки способной к делению; $T = 0,01$ – параметр оценки вклада размера клетки в вероятность перехода G1/S; $T_a^{G1/S}$ – пороговое значение концентрации ауксина для перехода G1/S; $T_c^{G2/M}$ – пороговое значение концентрации цитокинина для перехода G2/M; $P(x_1, x_2|x)$ – функция вероятности положения центров дочерних клеток (x_1 и x_2) после деления клетки с координатой центра x .

Скорости роста клеток в фазах G1 и G2 различаются – $r_1(t)$ и $r_2(t)$:

$$r_1(t) = \begin{cases} r_0 + K_{growth} * t, & \text{if } r_1(t) < r_{max} \\ 0, & \text{else} \end{cases} \quad (13)$$

$$r_2(t) = \begin{cases} r_0 + 3K_{growth} * t, & \text{if } r_2(t) < r_{max} \\ 0, & \text{else} \end{cases}, \quad (14)$$

где $K_{growth} = 1/10^4$ – константа роста; $r_{max} = 5$ – максимальный радиус, которого может достичь клетка.

3. Численный расчет модели

В работе проведены численный расчет и анализ двух типов решений модели: статического и динамического. При решении дифференциальных уравнений модели использован численный метод интегрирования, встроенный в пакет Mathematica®, NDSolve с предусмотренными по умолчанию параметрами. При реализации статического решения модели клетки ($N = 20$) не росли и не делились, интенсивности потоков ауксина и цитокинина оставались постоянными (значения параметров модели k и $l = 0$).

В качестве начальных данных использованы равномерные распределения концентраций в клетках: $a_i = 1,0$, $c_i = 0,001$ и $PINI_i = 0$, $i = 1, \dots, N$. Размер клеток в начальный этап времени вычислен как два радиуса клетки (r_i). Радиус выбран случайным образом из интервала от 0,3 до 0,65 условных единиц размера. Исходя

из радиуса клетки рассчитано положение ее центра (x_i) на координатной оси x . Численный расчет велся до $t = 30\,000$.

При реализации динамического решения в модель включались правила динамики клеточного цикла (10)–(14), а также были использованы ненулевые коэффициенты k и l для описания возрастания потоков ауксина и цитокинина во времени. Расчет для динамического решения модели начинали с 15 клеток с распределениями концентраций как для стационарного решения модели: $a_i = 1,0$, $c_i = 0,001$ и $PIN1_i = 0$. В этот момент все клетки находились в фазе G1 клеточного цикла.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данной работе проведено дальнейшее развитие модели Мироновой и соавт. (Mironova *et al.*, 2010) для описания механизма формирования структуры меристемы корня (колумеллы, пролиферационного и переходного доменов) с учетом гормональной регуляции клеточного цикла. Нами был предложен минимальный регуляторный контур (рис. 2, в), включающий в себя регуляцию контрольных точек G1/S и G2/M ауксином и цитокинином. Выбранный контур не противоречит экспериментальным данным и, как показано ниже методами математического моделирования, объясняет механизм самоорганизации МЗ корня в соответствии с градиентами концентраций морфогенов.

Решение модели для постоянного числа клеток N

В системе Mathematica® были описаны процессы изменения концентрации ауксина (4)–(6), белка PIN1 (1)–(3) и цитокинина (7)–(9). Для анализа паттернов распределений морфогенов использовано стационарное решение модели с $N = 20$, которое реализовано при начальном равномерном распределении концентраций ауксина, цитокинина и PIN1 белка.

Нами были подобраны значения параметров (см. таблицу) так, чтобы в процессе расчета модели происходила самоорганизация максимума концентрации ауксина в 4-й клетке от кончика корня и двух максимумов концентрации цитокинина в основании и кончике корня (рис. 3, з). Эти максимумы сохраняли свое положение сколь угодно долго в течение расчета, что позволяет нам говорить о формировании стационарного решения в соответствии с экспериментальными данными (рис. 1, в, з и 3, з).

Решение модели для динамического числа клеток N

На основе предложенных правил регуляции клеточного цикла (10)–(14) получено решение модели с динамическим числом клеток. Расчет велся начиная с $N = 15$ клеток при растущих во времени потоках ауксина и цитокинина. Расчеты проведены со значениями параметров,

Значение некоторых параметров модели, влияющих на распределение концентраций морфогенов, белка PIN1 и регуляцию клеточного цикла

Параметры для описания динамики веществ в модели								
ауксин			цитокинин			PIN1		
α_0	0,06	cu/tu	β_0	0,08	cu/tu	S_p	0,001	$1/tu$
k	0,0001	cu/tu^2	l	0,01	cu/tu^2	D_p	0,001	$1/tu$
σ_0	0,002	cu	$K_{s,c}$	0,01	$1/tu$	T_a^{sp}	0,1	cu
$K_{d,a}$	0,0055	$1/tu$	$K_{d,c}$	0,008	$1/tu$	T_a^{dp}	0,9	cu
D_a	0,06	$1/tu$	D_c	0,08	$1/tu$			
$K_{at,a}$	0,26	$1/tu$	T_a^{sc}	4	tu			
Параметры для описания прохождения контрольных точек								
$T_a^{G1/S}$	1,2	cu	$T_c^{G2/M}$	0,5	cu	r_{min}	1,5	dl

Примечание. Единицы: cu – концентрации, tu – времени, dl – длины.

указанными в таблице. Кроме того, были подобраны значения параметров k и l , отвечающих за увеличение потоков ауксина и цитокинина во времени соответственно. Подбор осуществлялся так, что распределение ауксина с дистальным максимумом концентрации и распределение цитокинина с дистальным и проксимальным максимумами не менялись качественно при росте клеточного ансамбля.

В процессе расчета максимум концентрации ауксина достаточно быстро формировался в 4-й клетке и сохранялся на протяжении численного эксперимента, что полностью соответствует работе (Mironova *et al.*, 2010) и экспериментальным данным (рис. 1, б). Распределение концентрации цитокинина, а именно наличие двух максимумов концентрации, качественно соответствует стационарному решению модели (рис. 3, г, д) и экспериментальными данными (рис. 1, в, г, 3, б). Самоорганизация и поддержание распределения цитокинина в корне во времени с учетом клеточной динамики показаны в первых.

В решении модели мы наблюдали формирование трех областей, различающихся по статусу клетки в клеточном цикле. На рис. 3, е видно, что клетки колумеллы находятся в фазе

G1; клетки переходного домена расположены в фазе G2; клетки пролиферационного домена присутствуют как в фазе G1, так и в фазе G2.

Такое распределение клеток по принципу фазовой принадлежности хорошо соотносится с экспериментальными данными (рис. 3, б). Эти три подзоны кончика корня сохранялись при расчете сколь угодно продолжительное время, что свидетельствует о непротиворечивости предложенного нами механизма гормональной регуляции клеточного цикла (см. рис. 2, в) и его роли в формировании устойчивых в развитии подразделений кончика корня.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе предложен минимальный механизм регуляции фитогормонами клеточного цикла в меристематической зоне корня растений, согласно которому ауксин регулирует прохождение контрольной точки G1/S, а цитокинин – контрольной точки G2/M. Биологическую основу предложенного механизма составляют следующие данные:

1. У *Arabidopsis* рецептор ауксина ABP1 необходим для регуляции G1/S перехода через CYCD/RBR путь (Tomas *et al.*, 2009). Инактивация

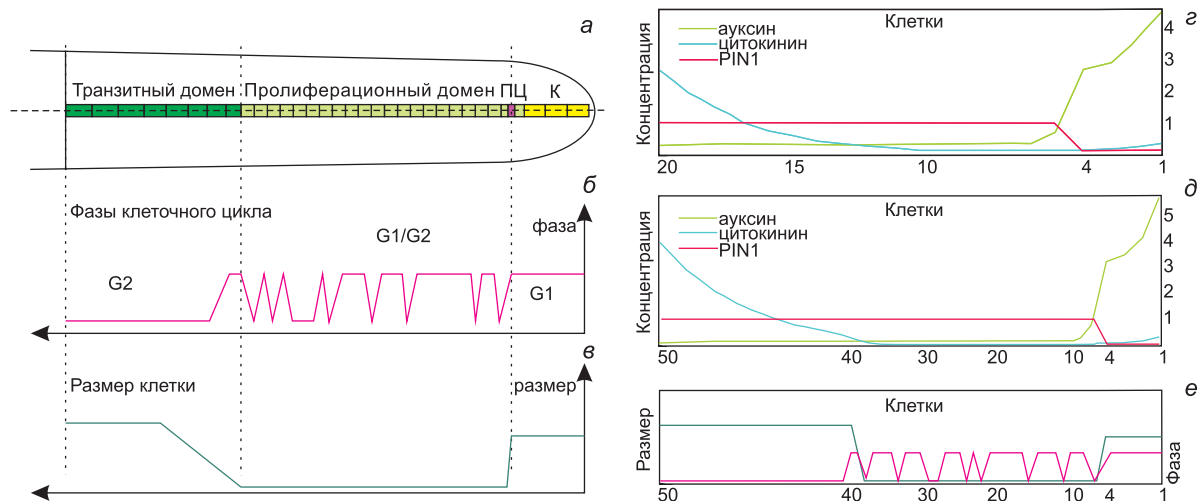


Рис. 3. *In vivo* и *in silico* распределение клеток по фазам клеточного цикла и размерам вдоль центральной оси кончика корня: а – расположение подзон кончика корня вдоль центральной оси корня; б – распределение клеток по фазам клеточного цикла вдоль центральной оси корня; в – распределение клеток по скоростям роста; г – стационарное решение модели для $N = 20$; д – динамическое решение модели в момент времени $t = 27\,916$; е – результат динамического распределения клеток по фазам и скоростям роста.

ABP1 ведет к прекращению делений в меристеме корня, и эти деления не восстанавливаются даже при больших дозах ауксина (Tomas *et al.*, 2009). Через рецепторы TIR1 и SKP2A ауксин вызывает протеолизную деградацию белков E2FC/DPB и Aux/IAA соответственно (Jurado *et al.*, 2010; Del Pozo, Manzano, 2014). E2FC/DPB являются репрессорами клеточного цикла, а Aux/IAA подавляет клеточный ответ на ауксин. Таким образом, ауксин, связываясь с тремя типами своих рецепторов (ABP1, TIR1 и SKP2A), приводит к снятию блокировки с перехода G1/S.

2. В корне *Arabidopsis* цитокинин контролирует переход G2/M, индуцируя экспрессию гена *CDC2* (Hemerly *et al.*, 1993). У *ahk2*, *ahk3*, *ahk4* – мутантов по генам рецепторов цитокинина – укорочен корень в результате уменьшения клеточных делений в M3 (Higuchi *et al.*, 2004). В клетках кончика корня этих мутантов значимо уменьшено число диплоидных клеток и увеличено число тетраплоидных, что также указывает на то, что цитокинин регулирует переход G2/M.

С помощью математического моделирования мы протестировали, является ли этот механизм достаточным для объяснения формирования структуры меристемы корня.

На первом этапе мы провели моделирование самоорганизации распределений ауксина и цитокинина вдоль нерастущего корня, имеющего постоянное число клеток, и подобрали значения параметров, при которых наблюдается распределение ауксина в корне (рис. 3, *з*), аналогичное описанному ранее (Grieneisen *et al.*, 2007; Mironova *et al.*, 2010), а также экспериментально наблюдаемое распределение цитокинина (Zürcher *et al.*, 2013). На втором этапе мы исследовали достаточность механизма гормональной регуляции клеточного цикла для зонирования меристематической зоны в соответствии с экспериментальными данными. В численном расчете модели растущего корня мы наблюдали формирование в градиентах концентрации ауксина и цитокинина трех доменов клеток с принципиально различающейся клеточной динамикой (рис. 3, *б*, *е*).

Из расчетов модели следует, что пролиферационный домен формируется и сохраняется на всем протяжении моделирования между максимумом концентрации ауксина, с одной стороны, и максимумом концентрации цитоки-

нина, с другой. Такой механизм формирования пролиферационного домена во времени показан нами впервые.

Однако стоит отметить, что в настоящей модели нам не удалось получить пролиферационного домена фиксированного размера – он рос с ростом «корня», а значит, для понимания механизмов организации ниши стволовых клеток в кончике корня необходимо дальнейшее исследование дополнительных факторов регуляции клеточной динамики.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом фонда «Династия» для молодых биологов и Российским научным фондом 14-14-00734.

ЛИТЕРАТУРА

- Вольтерра В. Математическая теория борьбы за существование. М.: Наука, 1976. 286 с.
- Barrio R.A., Romero-Arias J.R., Noguez M.A. *et al.* Cell Patterns Emerge from Coupled Chemical and Physical Fields with Cell Proliferation Dynamics: The *Arabidopsis thaliana* Root as a Study System // PLoS Comput. Biol. 2013. V. 9 (5). P. e1003026.
- Bhalerao R.P., Eklöf J., Ljung K. *et al.* Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in *Arabidopsis* seedlings // Plant J. 2002. V. 29 (3). P. 325–332.
- Bishopp A., Lehesranta S., Vaten A. *et al.* Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem // Curr. Biol. 2011. V. 21. P. 927–932.
- Breuer C., Braidwood L., Sugimoto K. Endocycling in the path of plant development // Current Opinion Plant Biology. 2014. V. 17. P. 78–85.
- Del Pozo J.C., Manzano C. Auxin and the ubiquitin pathway. Two players-one target: the cell cycle in action // J. Exp. Bot. 2014. V. 65 (10). P. 2617–2632.
- Dello Ioio R., Nakamura K., Moubayidin L. *et al.* A Genetic Framework for the Control of Cell Division and differentiation in the Root Meristem // Science. 2008. V. 322. P. 1380–1384.
- Dolan L., Janmaat K., Willemsen V. *et al.* Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root // Development. 1993. V. 119. P. 71–84.
- Grieneisen V.A., Xu J., Marée A.F. *et al.* Auxin transport sufficient for maximum and gradient guiding root growth // Nature. 2007. V. 449 (7165). P. 1008–1013.
- Hemerly A.S., Ferreira P., De Almeida E.J. *et al.* Cdc2a expression in *Arabidopsis* is linked with competence for cell division // Plant Cell. 1993. V. 5. P. 1711–1723.
- Higuchi M., Pischke M.S., Mähönen A.P. *et al.* In planta functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family // Proc. Natl. Acad. Sci. 2004. V. 101. P. 8821–8826.

- Ivanov V.B., Dubrovsky J.G. Longitudinal zonation pattern in plant roots: conflicts and solutions // Trends Plant Sci. 2013. V. 18 (5). P. 237–243.
- Jurado S., Abraham Z., Manzano C. *et al.* The Arabidopsis cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin // Plant Cell. 2010. V. 22. P. 3891–3904.
- Kuderova A., Urbankova I., Valkova M. *et al.* Effects of conditional IPT-dependent cytokinin overproduction on root architecture of Arabidopsis seedlings // Plant Cell. Physiol. 2008. V. 49. P. 570–582.
- Lotka A.J., Dublin L.I. On the true rate of natural increase as exemplified by the population of the United States // J. American statistical association. 1925. V. 20 (150).
- Mironova V.V., Novoselova E.S., Doroshkov A.V. *et al.* Combined *in silico/in vivo* analysis of mechanisms providing for root apical meristem self-organization and maintenance // Annals Botany. 2012. V. 110 (2). P. 349–360.
- Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Yosiphon G. *et al.* A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root // BMC Systems Biology. 2010. V. 4. (98).
- Sabatini S., Beis D., Wolkenfelt H. *et al.* An Auxin-Dependent Distal Organizer of Pattern and Polarity in the *Arabidopsis* Root // Cell. 1999. V. 99 (5). P. 463–472.
- Sablowski R., Dornelas M. Interplay between cell growth and cell cycle in plants // J. Exp. Bot. 2014. V. 65 (10). P. 2703–2714.
- Tomas A., Braun N., Muller P. *et al.* The auxin binding protein 1 is required for differential auxin responses mediating root growth // PLoS One. 2009. V. 4 (9). P. e6648.
- Yosiphon G., Mjolsness E. Plenum. 2007. <http://computationaleplant.ics.uci.edu/theses/guy/downloads/papers/thesis>.
- Zürcher E., Tavor-Deslex D., Lituiev D. *et al.* A robust and sensitive synthetic sensor to monitor the transcriptional output of the cytokinin signaling network in planta // Plant Physiol. 2013. V. 161 (3). P. 1066–1075.

MATHEMATICAL MODEL OF PHYTOHORMONE REGULATION OF ROOT MERISTEMATIC ZONE FORMATION

V.V. Lavrekha¹, N.A. Omelyanchuk¹, V.V. Mironova^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: vvl@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

The apical meristem located at the root tip of a plant is one of the most convenient objects to study the organization of the stem cell niche. In the root apical meristem, mitotically inactive cells of the quiescent center coexist with intensely dividing cells, which lose this ability at a certain distance from the quiescent center. It is known that plant hormones auxin and cytokinin play an important role in the regulation of this structure formation, but the mechanisms maintaining the dynamics of this structure remain unknown. We propose a mathematical model that summarizes experimental data on the distribution of auxin and cytokinin along the root longitudinal axis and their role in cell cycle regulation.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, mathematical modelling, auxin, cytokinin, cell cycle.