

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертации Никитюка Александра Сергеевича «Математическая модель нелинейной кинетики молекулы ДНК и ее применение для анализа клеточной динамики», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 05.13.18 – Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ

Актуальность темы диссертации.

В настоящее время отмечается, что механобиологические процессы играют важную роль в структурных превращениях ДНК, определяемых динамикой открытых комплексов двойной спирали ДНК, которые могут быть ассоциированы с переменными мезоскопического масштабного уровня. При этом эффекты коллективного поведения открытых комплексов, образующихся и взаимодействующих в структуре цепи ДНК, играют значительную роль в функциональных процессах данной макромолекулы, таких как транскрипция, репликация, репарация и денатурация. В связи с этим актуальной исследовательской задачей представляется учет коллективного поведения ансамбля открытых комплексов при разработке математических моделей молекулы ДНК, основанных на подходах статистической термодинамики. Также стоит отметить, что перспективными экспериментальными подходами к идентификации и верификации новых математических моделей ДНК являются неинвазивные методы исследования динамики живых клеток. Одним из таких методов является лазерная интерференционная микроскопия. Применение данного метода позволяет исследовать пространственно-временные флуктуации в ядрышке клетки со сверхвысоким пространственным и временным разрешениями. При этом остается открытым вопрос интерпретации полученных данных о клетке на основе сопоставления результатов измерений с модельными представлениями о внутриклеточных процессах, происходящих в том числе в ДНК. Таким образом, можно заключить, что создание математических моделей на базе статистико-термодинамического подхода, предназначенных для описания нелинейной кинетики молекулы ДНК, а также применение данных моделей для интерпретации данных лазерной интерференционной микроскопии клеток является актуальной задачей.

Целью работы является разработка математической модели молекулы ДНК, позволяющей описать её термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов, и применение результатов моделирования для интерпретации данных лазерной интерференционной микроскопии живых клеток.

Данная цель реализуется при решении следующих основных задач:

1. Разработать статистическую математическую модель молекулы ДНК, позволяющую описать её термодинамические и кинетические свойства с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.

2. Разработать и реализовать алгоритмы на основе эффективных численных методов в виде комплексов проблемно-ориентированных программ для проведения моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.

3. Провести натурные эксперименты по измерению морфометрических показателей и прижизненной динамики клеток методом лазерной интерференционной микроскопии с последующей обработкой полученных данных методами Фурье-анализа, вейвлет анализа, мультифрактального анализа и построения фазовых портретов.

4. Выявить объективные критерии дифференциации раковых и нормальных клеток на основе анализа результатов натурального эксперимента.

5. Применить математическую модель нелинейной кинетики ДНК для интерпретации данных натурального эксперимента.

Общая методология и методика исследования.

Общая методология исследования основана на разработках отечественных и зарубежных ученых в области статистической механики и термодинамики биологических молекул, а также математической обработки сигналов биологической природы. Методика исследования основана на использовании алгоритмов математической обработки одномерных временных сигналов и аппарата статистической термодинамики, позволяющей определять поведение физической системы (молекулы ДНК) на основе ее микро- (мезо) структурных свойств.

Достоверность полученных в работе результатов и положений, выносимых на защиту, обеспечивается удовлетворительным соответствием экспериментальным данным, результатами проверки устойчивости и сходимости, согласованностью с результатами других авторов.

Поставленные цели и результаты характеризуются научной новизной, в том числе:

1. Разработана новая статистико-термодинамическая модель молекулы ДНК, описывающая связь коллективного поведения ансамбля открытых комплексов с процессами формирования и развития фенотипа клетки.

2. Разработаны эффективные алгоритмы реализации модели и качественного анализа теоретических и экспериментальных результатов с использованием современных методов обработки сигналов, таких как Фурье-анализ, вейвлет анализ, мультифрактальный анализ и метод построения фазовых портретов. Создан комплекс проблемно-ориентированных программ для ЭВМ, реализующих данные алгоритмы.

3. Впервые предложен объективный диагностический критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток молочной железы человека на основе оценки высоты и объема фазового изображения клетки, измеренных с помощью лазерной интерференционной микроскопии.

4. Впервые установлено, что флуктуации оптической толщины ядрышка эпителиальных клеток в норме характеризуются мультифрактальными свойствами, тогда как динамика ядрышка раковых клеток демонстрирует переход от мультифрактальности к монофрактальности.

5. Впервые предложена теоретическая интерпретация данных лазерной интерференционной микроскопии живых раковых клеток, базирующаяся на закономерностях «критичности» системы для различных диапазонов значений параметров, определяющих энергетический рельеф (эпигенетический ландшафт) биологической системы.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Работа изложена на 110 страницах, содержит 31 рисунок и 5 таблиц. Список литературы включает 135 наименований.

Во Введении содержится обоснование актуальности темы исследования, обзор научной литературы по изучаемой проблеме, формулировку цели и задач исследования, описание новизны, теоретической и практической значимости работы, методологии и методов исследования, также во введении оценена степень достоверности результатов, приведены данные об апробации работы, кратко изложено основное содержание работы.

В первом разделе выполнен литературный обзор основных теоретических и экспериментальных подходов к исследованию молекулы ДНК. Описаны основные свойства двойной спирали с учетом динамики структурных переменных ДНК и некоторые особенности биологической активности цепи ДНК. Показано, что формирование открытых комплексов является важным структурным фактором, определяющим динамику ДНК. Приведена классификация математических моделей ДНК, рассмотрены преимущества и недостатки подходов к моделированию ДНК, сделан и обоснован выбор к какому классу относится разрабатываемая в диссертационной работе модель. Также приведен обзор прямых методов исследования клеточных структур, обосновывается

преимущество метода лазерной интерференционной микроскопии по сравнению с другими экспериментальными методами применительно к решению задачи анализа динамики ДНК.

Второй раздел посвящен описанию разработки математической модели молекулы ДНК, основанной на статистической термодинамике и позволяющей описать термодинамические и кинетические свойства ДНК с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов. В результате исследования разработанной математической модели установлены критические значения структурного параметра δ , определяющих качественные изменения динамики ДНК; выполнена оценка среднего расстояния между открытыми комплексами; определены виды профилей неравновесной свободной энергии системы при различных значениях δ ; установлены типы автомодельных решений и соответствующие им коллективные моды ансамбля открытых комплексов, а именно бризеры, автосолитоны и диссипативные структуры обострения; а также по результатам обработки данных численного моделирования нелинейной кинетики ДНК получено, что они зависят от вида нелинейности модели.

В третьем разделе описываются основные принципы метода лазерной интерференционной микроскопии, а также алгоритмы методов анализа фазовых портретов и максимумов модулей вейвлет-преобразования, реализующего мультифрактальный анализ. Обосновывается перспективность использования лазерной интерференционной микроскопии на примере дифференциации живых раковых и нормальных клеток человека различной области локализации. Приводится оригинальная методика интерпретации результатов измерения прижизненной динамики клеток с помощью современных методов математического анализа. Также предлагается объективный диагностический критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток молочной железы человека на основе оценки высоты и объема фазового изображения клетки, получаемого методом лазерной интерференционной микроскопии, а также устанавливается критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток на основе анализа результатов измерений флуктуаций оптической толщины клетки методом мультифрактального анализа данных лазерной интерференционной микроскопии.

Четвертый раздел посвящен сопоставлению результатов моделирования и данных лазерной интерференционной микроскопии продемонстрирована возможность применения предложенной модели для анализа процессов эволюции клеток, в том числе патологического характера, на основе анализа качественных различий прижизненной динамики клеток, базирующейся на закономерностях «критичности» ДНК-системы для различных диапазонов значений структурного параметра термализации неравновесной системы. Также предложена интерпретация процесса транскрипции на основе предложенной математической модели нелинейной кинетики молекулы ДНК.

Наиболее важными результатами диссертационной работы являются:

1. Разработана математическая модель молекулы ДНК, основанная на статистической термодинамике и позволяющая описать термодинамические и кинетические свойства ДНК с учетом коллективного поведения ансамбля открытых комплексов.

2. Разработаны и реализованы алгоритмы на основе эффективных численных методов в виде комплексов проблемно-ориентированных программ для проведения моделирования нелинейной кинетики молекулы ДНК.

3. Предложен объективный диагностический критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток молочной железы человека на основе оценки высоты и объема фазового изображения клетки.

Установлен критерий дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток на основе анализа результатов измерений флуктуаций оптической толщины клетки методом мультифрактального анализа.

5. На основе сопоставления результатов моделирования и данных лазерной интерференционной микроскопии продемонстрирована возможность применения предложенной модели для анализа процессов эволюции клеток, в том числе патологического характера, на основе анализа качественных различий прижизненной динамики клеток, базирующейся на закономерностях «критичности» ДНК-системы для различных диапазонов значений структурного параметра термализации неравновесной системы.

Работа не свободна от недостатков и уместны следующие замечания:

1. На странице 48 при построении дробно-рациональной аппроксимации Паде в ряд Тейлора будет раскладываться функция (2.25), а не функция (2.26) которая уже является результатом применения алгоритма аппроксимации (см. второй абзац сверху на страницу 48).

2. На странице 49, судя по всему, константа 0.0436 в аппроксимации (2.25) при подстановке в соотношение (2.27), «сворачивается» в константу Γ , после чего и получается уравнение (2.29), но в тексте этот момент никак не оговаривается.

3. На странице 50 в уравнении модели (2.37) присутствует диссипативный член, его влияние на результаты моделирования никак не обсуждается. В работе рассматривается только случай значения коэффициента нелокальности $A'=1$ (страница 53).

4. На странице 53 цитата: «Соотношение (2.37) параболического типа дискретизируется по времени и полученное дифференциально-алгебраическое уравнение решается с помощью разностной схемы неявного метода Гира пятого порядка при заданных начальных и граничных условиях (2.37)»

Неявный метод Гира является частным случаем семейства методов Рунге-Кутты решения задачи Коши для обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ). В цитируемом фрагменте, речь, по-видимому идет, о дискретизации второй производной по пространству. Что приведет к сведению уравнений в частных производных из задачи (2.37) к системе ОДУ. При этом возникают вопросы:

- какого рода аппроксимация второй производной по пространству использовалась;
- значение шага дискретизации по пространству и его влияние на результаты численного моделирования;
- каким образом учитывались (аппроксимировались) граничные условия в задаче (2.37).

5. На странице 63 в соотношения (3.1) используются параметры k и d смысл которых никак не расшифровывается.

6. На странице 70 в формуле (3.8) в конечно-разностной аппроксимация первой производной по времени допущена ошибка в знаке аргументов и в приращении по времени.

7. На странице 77 при выявлении корреляционной зависимости учитывается не только знак, но и значение по модулю коэффициента корреляции. С этих позиций взаимосвязи $h - M(r)$ для НЕК 293 и MCF-10A попросту отсутствуют и знак коэффициента корреляции не имеет содержательного смысла.

8. На странице 79 при обезразмеривании $V/(0.5\lambda S_0)$ никак не оговаривается роль и значение параметра λ . Ранее на с.43 это обозначение использовалось для константы взаимодействия.

9. В таблицах 3.3 (страница 77) и 3.4 (страница 86) часть значений промаркирована символом *, но смысл этой маркировки в тексте диссертации никак не обсуждается, правда в автореферате эта информация имеется.

Отмечу, что замечания в основном носят редакционный, уточняющий характер и не снижают общей оценки диссертации. В целом диссертационная работа А.С. Никитюка является самостоятельным законченным научным исследованием, обладающим

внутренним структурным единством, соответствующим «Положением о диссертационных советах ПНИПУ». Полученные результаты соответствуют поставленным целям и задачам. Выводы и положения, выносимые на защиту, следуют из содержания диссертации. Результаты работы достаточно полно опубликованы в отечественной и международной научной печати. Автореферат и публикации соответствуют содержанию работы и достаточно полно её представляют. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 05.13.18 – Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ, а именно следующим пунктам:

- разработка новых математических методов моделирования объектов и явлений;
- реализация эффективных численных методов и алгоритмов в виде комплексов проблемно-ориентированных программ для проведения вычислительного эксперимента;
- комплексные исследования научных и технических проблем с применением современной технологии математического моделирования и вычислительного эксперимента;
- разработка новых математических методов и алгоритмов интерпретации натурального эксперимента на основе его математической модели.

Значение выводов и положений, представленных в диссертации, можно квалифицировать как существенный вклад в решение проблем, связанных с описанием механизмов, определяющих динамику структурных превращений в молекуле ДНК, и их связь с кинетикой живых нормальных и раковых клеток. Сопоставление результатов моделирования с оригинальными экспериментальными данными лазерной микроскопии позволили верифицировать предложенные модели и использовать для количественной оценки и интерпретации динамики нормальных и раковых клеток.

Считаю, что диссертация удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Никитюк Александр Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 05.13.18 – Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук, профессор,
заведующий кафедрой «Прикладной математики и информатики» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
Почтовый адрес: 614990, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15, Тел. (342) 239-65-84, E-mail: rusakov@psu.ru

«4» сентября

/ Русаков Сергей Владимирович /

Подпись Русаков
Ученый секретарь
ФГБОУ ВО

