



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Instytut Biologii Rozwoju i Nauk Biomedycznych
Zakład Cytologii
prof. dr hab. Maria Anna Ciemerych-Litwinienko



Warszawa, 21 listopada 2025

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Edyty Urbaniak
Rola FKBP2 w fałdowaniu insuliny i powstawaniu komórek β trzustki zróżnicowanych z ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych

Praca doktorska mgr Edyty Urbaniak została wykonana w Laboratorium Komórek Macierzystych Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorką była dr hab. Małgorzata Borowiak, prof. UAM. Rozprawa ma formę hybrydową - składa się z obszernego wprowadzania w języku polskim oraz angielskim zawierającego Streszczenie, Listę skrótów, Wstęp, Cele i założenia badawcze, Założenia badawcze i ich charakterystykę, Najważniejsze ustalenia rozprawy doktorskiej, Dyskusję, Wnioski, Oświadczenia autorów, Spis publikacji niezwiązanych z pracą, Referencje oraz załączniki - czyli dwie prace przeglądowe oraz jeden manuskrypt zawierający wyniki dokotratu, zdeponowany w bioRxiv. Ta ostatnia praca nie została jeszcze opublikowana.

Tematyka rozprawy

Tytuł rozprawy brzmi "Rola FKBP2 w fałdowaniu insuliny i powstawaniu komórek β trzustki zróżnicowanych z ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych". Tematyka ujęta w tytule jest niezwykle istotna z punktu widzenia pełnego zrozumienia zarówno rozwoju jak i funkcjonowania trzustki, oraz oczywiście opracowywania terapii takich chorób jaką jest cukrzyca. Prace prowadzone przez mgr Urbaniak w zespole prof. Borowiak z pewnością mają szansę wpłynąć nie tylko nasz stan wiedzy, ale też dają szansę na aplikację uzyskanych wyników. To kolejna praca doktorska z zespołu prof. Borowiak, którą recenzuję i tak jak i poprzednio tak i teraz z ogromnym uznaniem odnoszę się do postępu w prowadzonych badaniach.

Pierwsza publikacja przeglądowa (Jędrzejak i wsp., 2022) dotyczy roli SARS-Cov-2 w rozwoju cukrzycy. Jest to bardzo interesująca publikacja wskazująca na istotne powiązania między infekcją a chorobą, świetnie zestawiająca dane z bardzo wielu prac na ten temat. Jestem pełna uznania dla doktorantki za udział w przygotowaniu tak szerokiego podsumowania. Praca nie dotyczy jednak FKBP2 czy procesu fałdowania insuliny ani hPSC, wymienionych w tytule doktoratu, nie będę jej

więc szczegółowo omawiać i oceniać. Drugi artykuł przeglądowy (Urbaniak i wsp., 2025), którego doktorantka jest pierwszą autorką, to świetne wprowadzenie w tematykę badań przedstawionych w manuskrypcie pracy oryginalnej. Precyzyjnie opisuje on kolejne etapy fałdowania insuliny, jej modyfikacje postranslacyjne, wydzielanie. Przedstawia istotność tego procesu dla funkcjonowania trzustki oraz jego zaburzenia na różnych etapach dojrzewania insuliny i przypadku schorzeń takich jak cukrzyca (MIDY, T2D). Wskazuje na konsekwencje nieprawidłowego fałdowania insuliny, implikacje terapeutyczne oraz nowe kierunki badań. Jest to świetnie napisana i doskonale ilustrowana praca przeglądowa. Jednak zgodnie z artykułem 187 Ustawy z dnia 30 sierpnia 2018 - Prawo o Szkolnictwie Wyższym: "Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne" jedynie załącznik numer 3, czyli manuskrypt pracy oryginalnej, powinien służyć jako podstawa oceny doktoratu. Załączone prace przeglądowe nie stanowią bowiem "oryginalnego rozwiązania problemu naukowego". Załącznik ten zawiera manuskrypt pracy, którego pierwszą autorką jest mgr Edyta Urbaniak. Dotyczy on roli FKBP2, a więc tematyki przedstawionej w tytule doktoratu. Opisane w nim badania miały na celu realizację 3 hipotez sformułowanych przez doktorantkę. Pierwszej mówiącej o FKBP2 jako białku odpowiedzialnym za prawidłowe fałdowanie proinsuliny w siateczce śródplazmatycznej; drugiej stanowiącej o tym, że białko to jest regulatorem rozwoju komórek endokrynnych trzustki; w końcu trzeciej mówiącej, że efekty rozwojowe i strukturalno-funkcjonalne wynikające z braku genu kodującego FKBP2 są od siebie niezależne. Przeprowadzone badania świetnie zweryfikowały postawione hipotezy. Ich wyniki bez wątpienia stanowią nowatorskie i oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Wiedza i samodzielność doktorantki

Poziom wiedzy teoretycznej doktorantki oceniam bardzo wysoko. Robię to w oparciu o **Wstęp**, opis **Założeń badawczych i ich charakterystyki**, **Najważniejsze ustalenia rozprawy doktorskiej**, **Dyskusję** oraz oczywiście załączone prace. **Wstęp** oraz **praca przeglądowa** (Urbaniak i wsp., 2025) w doskonały sposób wprowadzają czytelnika w problematykę prowadzonych badań, są bogato ilustrowane schematami stosownymi podsumowaniami. Lektura tej pracy pozwala mi z dużą dozą pewności stwierdzić, że doktorantka (i oczywiście pozostali jej autorzy), mają szeroką wiedzę i są świetnie przygotowani do prowadzenia pracy naukowej. **Założenia badawcze i ich charakterystyka** przedstawia wszystkie metody badawcze zastosowane podczas prowadzenia badań. Ich opis jest zwięzły a zarazem precyzyjny, co świadczy o dużym doświadczeniu doktorantki i sugeruje doskonałą znajomość przedstawionych technik. Weryfikując postawione hipotezy mgr Urbaniak wykorzystwała m.in.: techniki modyfikacji genetycznych metodami CRISPR/Cas9 - analizowała więc efekt delecji (także indukowanej) sekwencji kodującej FKBP2 oraz doprowadzała do nadekspresji FKBP2 w hESC. Opracowała model różnicowania tak zmodyfikowanych genetycznie hPSC a uzyskane komórki scharakteryzowała stosując różnorodne techniki, w tym także analizę ich transkryptomu. W końcu podjęła się analiz cytologicznych i fizjologicznych badanych komórek, w tym także oceny roli HDAC9 i NFAT podczas różnicowania hPSC. Opis ten znajduje odzwierciedlenie w oświadczeniu o wkładzie w badania opisane w manuskrypcie, w którym podsumowano, że mgr Urbaniak: 1) projektowała i realizowała eksperymenty, w tym uzyskała linię hPSC

pozbawioną funkcjonalnego genu kodującego FKBP2 oraz taką z nadekspresją tego białka (w manuskrypcie wskazano jedynie uzyskanie hPSC KO); 2) przeprowadziła różnicowanie hPSC w kierunku komórek trzustki; 3) przeprowadziła analizę wyników uzyskanych sekwencjonowania RNA pojedynczych komórek - hPSC kontrolnych i pozbawionych funkcjonalnego genu kodującego FKBP2; 4) analizowała dane; 5) przygotowała ryciny; 6) przygotowała manuskrypt; 7) a co szczególnie istotne pozyskała finansowanie - projekt PRELUDIUM NCN. Taki wkład pracy jest wystarczający, aby uznać ogrom zaangażowania doktorantki w prowadzone badania oraz dokumentuje jej samodzielność. Praca oryginalna, podkreśla wyżej przedstawione konkluzje. Fragment **Najważniejsze ustalenia rozprawy doktorskiej** zgrabnie i zwięźle podsumowuje osiągnięcia doktorantki oraz krótka, ale bardzo klarowna **Dyskusja** będąca częścią **Wstępu** do załączonych prac, również wskazuje na samodzielność i krytycyzm doktorantki. Uważam, że mgr Edyta Urbaniak jest w pełni przygotowana do dalszej pracy naukowej, jeżeli taką drogę wybierze, nie tylko "technicznie", ale także "intelektualnie".

Oryginalność rozprawy

Rozprawa stanowi w pełni oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jakim było określenie roli FKBP2, jako białka opiekuńczego zaangażowanego w siateczce śródplazmatycznej, w prawidłowe fałdowanie proinsuliny oraz określenie roli tego białka w różnicowaniu hPSC w komórki trzustki. Jej meritum, jak już wspomniałam, to anglojęzyczny manuskrypt przedstawiający badania prowadzone przez doktorantkę z naukowczyniami i naukowcami z UAM, we współpracy z prof. Michałem Marcem z Uniwersytetu w Kopenhadze. Wykonane przez doktorantkę zadania miały na celu uzyskanie narzędzia do prowadzenia analiz roli FKBP2 w różnicujących hPSC. Uzyskane przez nią linie komórkowe oraz przeprowadzone analizy były kluczowe dla wykazania, że pozbawienie różnicujących komórek FKBP2 zaburza sekrecję insuliny oraz wpływa na różnicowanie hPSC. Przykładowo, prowadzi do zmniejszenia populacji komórek o fenotypie PP2 i EP2, czy subpopulacji SC-β, zwiększenia populacji komórek EP1 i czy wczesnych SC-α. Doktorantka zidentyfikowała też geny, których ekspresja ulega znaczącej zmianie w sytuacji gdy brakuje FKBP2. Analiza bioinformatyczna wskazała na obniżenie poziomu transkryptów kodujących czynniki związane z procesami takimi jak na przykład fałdowanie czy wydzielanie białek. Obok wielu istotnych wyników opisanych w omawianej publikacji kluczowe było wskazanie, że FKBP2 reguluje los różnicujących komórek - decyzje rozwojowe - α czy β? Kolejnym ważnym wynikiem była identyfikacja mRNA kodującego HDAC9, jako tego którego ekspresja odbiega od normy w różnicujących hPSC KO. Wyniki tych i innych badań, których wykonanie nie byłoby możliwe bez udziału doktorantki, wskazują na istotną rolę FKBP2 w powstawaniu komórek endokrynnych trzustki. Jest to znaczące i nowatorskie odkrycie. Jestem pewna, że uzyskane narzędzia (hPSC) znajdą swoje miejsce w kolejnych projektach.

Ergo, realizując badania opisane w pracy doktorskiej jej autorka udowodniła, że FKBP2 odgrywa kluczową rolę jako regulator fałdowania proinsuliny i różnicowania hPSC w kierunku komórek trzustki. Uzyskane dane i ich interpretacja znacząco poszerzają wiedzę na temat funkcji tego białka. Są nowatorskie.

Pytania i uwagi krytyczne

1. Wyniki badań opisane w doktoracie (manuskrypt pracy oryginalnej) są świetnie ilustrowane i dobrze udokumentowane. Manuskrypt zawiera także dobre schematy ułatwiające śledzenie przebiegu doświadczeń i zrozumienie ogromu uzyskanych wyników. Nie mam żadnych dręczących pytań i uwag do opisanych wyników.
2. We **Wstępie** do rozprawy doktorantka stwierdziła, że rola FKBP2 jest stosunkowo słabo poznana. W samej rozprawie została ona opisana podczas procesu powstawania komórek trzustki. Jakie inne patologie niż te opisane przez doktorantkę, związane z zaburzeniami w funkcji FKPB2?
3. Stres ER to jedyne w moim odczuciu zjawisko, które wg **Najważniejszych ustaleń rozprawy doktorskiej** delikatnie łączy pracę #1 z tematyką rozprawy doktorskiej. W samej publikacji temat ten nie był jednak omówiony. Także wpływ SARS-Cov-2 na fałdowanie białek nie był opisany w zamieszczonej publikacji. Co na ten temat wiadomo? Czy są dane wskazujące na tego typu zależności?

Uwagi, na które nie oczekuję odpowiedzi podczas obrony doktoratu:

4. Strona formalna pracy. Większość części rozprawy jest bardzo dobrze przygotowana. Niedosyt budzą oświadczenia autorów - są bardzo lakoniczne, często pokrywają się, w poszczególnych dokumentach pojawiają się stwierdzenia o analizie danych, napisaniu poszczególnych części tekstu bez informacji, których części itd. Przykładowo: w oświadczeniu prof. Michała Marca (ale także innych autorów) zawarta jest informacja - analiza danych. Nie wiadomo jednak jakie dane analizował on, jakie doktorantka, a jakie inni autorzy pracy; Artur Jankowski oświadcza, że wykonał analizę TEM - brak szczegółów co kryje się za tym opisem; Wojciech J. Szlachcic pisze, że m.in. przygotował figury, które? wszystkie? itd. itp. W przypadku doktoratu składającego się z publikacji/manuskryptów opisy wkładu badaczy powinny być bardzo szczegółowe - mają bowiem za zadanie wykazać, że rola doktorantki była wiodąca i kluczowa dla realizacji badań. Oświadczenia autorów powinny klarownie dokumentować ten fakt.
5. W rozprawie nie umieszczono linku do tabel S1-S5.
6. W rozdziale 7 dotyczący **Założeń badawczych i ich charakterystyki**. Jeżeli doktorantka zdecydowała się na wprowadzenie tego rodzaju rozdziału (przypominającego nieco Materiały i Metody), powinna dodać szersze informacje o wykorzystywanym materiale czy stosowanych metodach. Tymczasem brakuje ich w wielu podrozdziałach. Przykładowo, zabrakło danych dotyczących badanych linii komórkowych; nie wiadomo jaki materiał był badany w ocenie przetwarzania insuliny w komórkach β czy badaniu ultrastruktury, poziomu Ca^{2+} , analizy transkryptomu itd. Domyślnie hPSC, ale czy na pewno?
7. Kolejne polskojęzyczne części pracy napisane są dobrym językiem. Co prawda doktorantka nie ustrzegła się kilku niezręcznych określeń, ale nobody's perfect. Każdemu zdarzają się też uproszczenia. Moje ulubione to "kierunek trzustkowy", czy "spalanie tłuszczów". Nie stanowi to jednak znaczącego obciążenia pracy. Opierając się na autorytecie genetyków (np. Genetyki

molekularnej pod redakcją prof. Piotra Węgleńskiego, PWN czy nieustających nawoływań prof. Golika) postuluję aby używać określenia ekson (od expression) nie egzon.

Ocena końcowa

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **mgr Edyty Urbaniak** spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne UAM o dopuszczenie **mgr Edyty Urbaniak** do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.