



INSTYTUT
GENETYKI CZŁOWIEKA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Poznań, 27 października, 2025

Prof. dr hab.
Jadwiga Jaruzelska
ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań

tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail: jadwiga.jaruzelska@igcz.poznan.pl
www.igcz.poznan.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. **"Rola FKBP2 w fałdowaniu pro-insuliny i powstawaniu komórek β trzustki
zróżnicowanych z ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych"**

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem Prof. UAM Pani dr hab. Małgorzaty Borowiak

Doktorantka: **Pani mgr Edyta Urbaniak**

Rozprawa wpisuje się w bardzo ważne zagadnienie medyczne, a mianowicie chorobę cukrzycy, która dotyka wielu milionów ludzi na całym świecie. W centrum choroby są trzustkowe komórki β których zadaniem jest produkcja insuliny w organizmie a których dysfunkcja prowadzi do hiperglikemii. Zgłębienie mechanizmów molekularnych zaangażowanych w produkcję i wydzielanie insuliny w komórkach β oraz zaburzeń tych procesów jest niezbędne do optymalizacji metod leczenia. Rozprawa została przygotowana w laboratorium Pani prof. UAM Małgorzaty Borowiak, której dorobek w zagadnieniach dotyczących komórek β , ich różnicowania oraz roli jest wybitny.

W centrum rozprawy są badania nad rolą białka FKBP2 w fałdowaniu insuliny w komórkach β oraz jego rola w procesie ich różnicowania. Rozprawa stanowi kontynuację badań doktorantki, w których wraz z zespołem pokazała ekspresję FKBP2 w ludzkich komórkach β *in vivo*. Zagadnienie to jest istotne ponieważ zaburzenie procesu fałdowania prowadzi do zmniejszenia ilości funkcjonalnej insuliny, aktywacji stresu ER, a w konsekwencji do obumierania komórek β i progresji cukrzycy. Rozprawa ma formę zbioru trzech tematycznie powiązanych artykułów rozpoczynającym się dwoma przeglądowymi. W obu przeglądach Pani mgr Urbaniak jest pierwszą autorką, w jednej z nich dzieli pierwsze autorstwo ze współautorem. Artykuły przeglądowe zostały opublikowane w *Frontiers in Cell and Developmental Biology* i ukazują

szerszy kontekst badań podjętych w artykule oryginalnym. Rozprawa zawiera odpowiednie oświadczenia współautorów o ich udziale.

PIERWSZY ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY, na podstawie bardzo rozległej analizy dostępnych danych, opisuje w jaki tzw. choroby towarzyszące przyczyniały się do cięższego przebiegu zakażenia wirusem SARS-CoV-2 traktując zakażenie jako stres ogólnoustrojowy. Doktorantka rozważała to zagadnienie na przykładzie osób zakażonych wirusem a jednocześnie cierpiących na cukrzycę. Bardzo ważna jest zawarta w tym przeglądzie druga informacja o tym, że infekcja SARS-CoV-2 bywa zasocjowana z pojawieniem się cukrzycy *de novo* oraz cukrzycowej keto-acydozy. Autorka proponuje również dalszy kierunek badań w tym zakresie. Bardzo doceniłam wartość Ryciny 1 pokazującej ekspresję różnych receptorów SARS-CoV-2 w różnych typach komórek ludzkiej trzustki oraz częstość infekcji.

DRUGI ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY jest jeszcze bardziej związany z przedmiotem rozprawy. Dotyczy kolejnych etapów procesu dojrzewania insuliny w komórkach β , w której jednym z ważnych aspektów jest fałdowanie białka. Artykuł ten znakomicie wprowadza do zagadnień podjętych w rozprawie.

ARTYKUŁ ORYGINALNY z pierwszym autorstwem Pani Urbaniak znajduje się w centrum rozprawy i jest dostępny w *BioRxiv*. Coraz więcej dowodów wskazuje, że błędy w fałdowaniu pro-insuliny w retikulum endoplazmatycznym (ER) odgrywają fundamentalną rolę w utracie funkcji komórek β . W artykule oryginalnym została podjęta próba zgłębienia tego powiązania. Koncentruje się na FKBP2, izomerazie odpowiedzialnej za przekształcenie proliny z formy *cis* w *trans* w pro-insulinie, pełniącej w tym procesie również rolę molekularnego chaperonu, oraz na poznaniu znaczenia białka FKBP4 w różnicowaniu komórek β . Zamieszczony wstęp napisany w języku polskim i angielskim doskonale wprowadza w zagadnienia podjęte w rozprawie. W omówieniu założeń rozprawy również w polskim i angielskim języku zamieszczono ich 13-punktowy opis, a następnie omówienie wyników najważniejszych. Stanowiło to logiczne powiązanie z 7 bardzo pojemnymi Rycinami głównymi oraz tyłuż dodatkowymi zamieszczonymi w artykule oryginalnym. Badania prowadzono w oparciu o 4 modele badawcze, wszystkie oparte o różnicowanie ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych (hPSCs) *in vitro* jako komórek β . Pierwszy charakteryzował się endogenną prawidłową ekspresją FKBP2, drugi reprezentował *knockout* genu *FKBP2*, trzeci jego nadekspresję, natomiast czwarty umożliwiał *knockout* w wybranym stadium różnicowania hPSCs. Kombinacja tych czterech modeli oraz szerokiego wachlarza metodologii były podstawą uzyskania wysokiej wartości wyników popierających wysunięte hipotezy. Skoro nieprawidłowości w procesie fałdowania insuliny

stanowią jeden z krytycznych sygnałów upośledzonej funkcji komórek β w cukrzycy T2D, czy wiadomo, jakie są mechanistyczne konsekwencje braku izomeryzacji proliny, za którą odpowiada m.in. FKBP2? Innymi słowy, na ile/czy sam fakt braku izomeryzacji proliny wpływa na tworzenie mostków dwusiarczkowych, przejścia konformacyjne, procesowanie białka, glikozylację i tworzenie struktury trzeciorzędowej?

Ponadto, czy ziarnistości insulinowe, tak wyraziście pokazane na Rycinie 1N za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz mikroskopii ze strukturalnym oświetleniem, można traktować jako specyficzne kondensaty powstające poprzez zjawisko separacji faz ciecz-ciecz (liquid-liquid phase separation)? Jeśli tak, czy brak izomeryzacji proliny w łańcuchach insuliny sam w sobie mógłby indukować zmiany w tworzeniu owych kondensatów zilustrowanych na Rycinie 1N? Istotnym elementem w tworzeniu kondensatów są wewnętrznie nieuporządkowane regiony białek (tzw. IDRs), a także fosforylacja. Czy białka uczestniczące w tworzeniu ziarnistości, FKBP2 lub inne chaperony molekularne zaangażowane w proces dojrzewania insuliny, posiadają tego typu regiony, które na skutek braku izomeryzacji proliny mogłyby ulegać strukturalnemu remodelingowi przyczyniając się do powstania nieprawidłowych ziarnistości insulinowych?

Bardzo ciekawym wątkiem badań była analiza trajektorii różnicowania i określenie odległości molekularnych pomiędzy modelem kontrolnym a modelem reprezentującym brak FKBP2. Przy pomocy odpowiednich narzędzi analizowano trajektorie przejścia od stadium endokrynnych progenitorów do w pełni dojrzałych komórek β , w modelu typu dzikiego oraz reprezentującym knockout genu *FKBP2*. Zmierzenie tych odległości pokazało różnice w trajektoriach różnicowania pomiędzy tymi modelami. To kluczowy dowód na to, że FKBP2 ma funkcję w różnicowaniu komórek β . W kontekście tej roli interesujące byłoby określenie bezpośrednich oddziaływań białka FKBP2 w trakcie różnicowania pomiędzy stadium EP a komórkami β , zapewniające odpowiednią masę komórek β . Skoro doktorantka wspomina o planowanych badaniach proteomicznych, zapewne to pytanie ją interesuje.

We wstępie artykułu znajduje się sformułowanie „genetic polymorphisms in FKBP2 are associated with an increased susceptibility to T2D”. Nasuwa się pytanie, czy znany jest przypadek występowania mutacji genu *FKBP2* z cukrzycą lub jakąkolwiek inną chorobą?

Drobne uwagi/pytania:

W abstrakcie graficznym pierwszego artykułu przeglądowego artykułu brak nazw komórek zaznaczonych w 3 różnych kolorach czyni go niejasnym.

Str 15, W Rycinie 2 Wstępu nie zaznaczono jakie kolory jakim komórkom odpowiadają. Opis znaczenia kolorów pojawia się dopiero w opisie Ryciny 1B artykułu oryginalnego.

Str 33. Czy uzyskane dane z analizy płodowych próbek tkanek trzustki przyniosły wzbogacenie danych zawartych w bazach danych scRNAseq? Czy może chodziło o potwierdzenie danych z scRNAseq? Czy były rozbieżności?

Str 47. Przewlekły stres ER, wynikający z zaburzeń w procesie fałdowania pro-insuliny, stanowi kluczowy czynnik „patogenetyczny” prowadzący do dysfunkcji i apoptozy komórek β trzustki, co w konsekwencji przyczynia się do progresji cukrzycy, może raczej „patologiczny”?

W liście Tabel dodatkowych 1-5 brak adresu miejsca gdzie można się z nimi zapoznać.

Podsumowanie

Rozprawę przeczytałam z dużym zainteresowaniem, czerpiąc przyjemność z bardzo klarownego przekazu oraz struktury. Rozprawa zawiera imponującą porcję oryginalnych wyników i, co ważne, poza dostarczeniem wiedzy, stawia kolejne pytania. Odpowiedzi na te pytania bez wątplenia pozwolą zgłębić rolę białka FKBP2 w procesie różnicowania komórek β . Zgadzam się z Autorką, że dalsze badania nad FKBP2 mogą doprowadzić do planowania nowych terapii cukrzycy, opierających się na farmakologicznym celowaniu w to białko, i życzę jej osiągnięcia takiego sukcesu.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska bez wątpienia spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu Adama Mickiewicza o dopuszczenie Pani mgr Edyty Urbaniak do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora. Biorąc pod uwagę wysoką wartość rozprawy wnioskuję również o jej wyróżnienie.