

Cukrzyca stanowi ogromne zagrożenie dla zdrowia na całym świecie. Od dawna wiadomo, że objawia się między innymi upośledzeniem funkcji komórek  $\beta$ , a regeneracja masy komórek  $\beta$  jest celem terapeutycznym, który do tej pory nie został osiągnięty. W tym projekcie planujemy zbadać strategię terapeutyczną mającą na celu zwiększenie czynnika homeobox-1 trzustki i dwunastnicy (PDX-1), który ma kluczowe znaczenie dla produkcji insuliny, a także dla różnicowania i przeżycia komórek  $\beta$ .

PDX-1 jest celem innego białka o nazwie SPOP, które pośredniczy w jego degradacji. SPOP jest odpowiedzialny za łączenie Pdx1 z ligazą ubikwitynowo-białkową Cullin-3 E3, powodując w ten sposób jego degradację. Wiadomo, że zakłócenie tego procesu prowadzi do poprawy homeostazy glukozy poprzez poprawę funkcji, żywotności i ilości komórek  $\beta$ . Dlatego celowanie w PDX-1 wydaje się obiecującą opcją terapeutyczną w celu poprawy homeostazy glukozy u pacjentów z cukrzycą.

Niedawno opublikowano pierwsze inhibitory SPOP jako potencjalne terapeutyki raka nerki. Jednak nie przeprowadzono jeszcze badań nad potencjalnym wpływem tych cząsteczek na komórki  $\beta$ . W naszych wstępnych pracach inicjujących ten projekt wykorzystaliśmy wspomniane inhibitory do przetestowania oddziaływania pomiędzy białkami SPOP-PDX-1 (PPI) w kontekście poszukiwania leku przeciwko cukrzycy. Zespół prof. Olivera Plettenburga z Uniwersytetu Leibniza w Hanowerze (LUH) zsyntetyzował nowe cząsteczki o zoptymalizowanym działaniu. Zostały one następnie przebadane przez grupę dr Anny Czarnej z Małopolskiego Centrum Biotechnologii (MCB) na esejach biologicznych. Wyniki naszych eksperymentów wykazały **znaczny wzrost poziomu insuliny w izolowanych wysepkach trzustkowych, podkreślając obietnicę tego podejścia do kondycji komórek  $\beta$ .**

W niniejszym wniosku dążymy do rozszerzenia tych wstępnych wyników poprzez **walidację inhibitorów PDX-1-SPOP jako obiecującego mechanizmu prowadzącego do obserwowanych, wysoce pożądaných funkcji wysepek trzustkowych**. W pierwszej kolejności zamierzamy zwiększyć siłę oddziaływania naszych związków, wykorzystując wiedzę z zakresu biologii strukturalnej i modelowania molekularnego. Następnie zweryfikujemy związki na różnych poziomach, w tym komórkowym i dzięki wykorzystaniu ludzkich organoidów w laboratorium MCB poprzez chemoproteomikę. Dodatkowo opracujemy kolejną serię peptydomimetycznych inhibitorów. Zostanie to wykonane przy użyciu danych strukturalnych dotyczących interakcji Pdx1-SPOP w laboratoriach dr Macieja Dawidowskiego na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (WUM). Innym istotnym celem naszego projektu jest celowane dostarczanie inhibitorów SPOP do komórek  $\beta$ , poprzez wykorzystanie internalizacji za pośrednictwem receptora GLP-1. Ma to na celu zapewnienie specyficzności działania oraz pokonanie potencjalnych trudności związanych z przenikaniem do komórek. Niniejsza strategia obejmująca starannie zaprojektowane peptydy, będzie koordynowana w LUH. Dodatkowo, naukowcy z Helmholtz Zentrum Muenchen (HMGU) uzupełnią nasze wysiłki o analizę biologii strukturalnej oddziałujących cząsteczek.

Planowane w naszym wniosku badania biologiczne będą wykorzystywać linie komórek  $\beta$  myszy i szczurów, izolowane wyseпки trzustkowe oraz ludzkie organoidy trzustkowe, zwiększając stopniowo ich złożoność. Naszym celem jest również przeprowadzenie eksploracyjnych badań *in vivo*, wykorzystując najlepsze związki w mysich modelach cukrzycowych, co pozwoli rozwijać nasze prace w kierunku praktycznych zastosowań terapeutycznych. Ostatecznym celem jest dogłębne potwierdzenie skuteczności inhibicji SPOP jako innowacyjnego celu w terapii cukrzycy. Jeśli ten niezbadany dotąd obszar badań okaże się sukcesem, może to otworzyć drogę do opracowania nowatorskich strategii w tworzeniu leków przeciw cukrzycowych. Naszym głównym zadaniem jest wykazanie czy ochrona poziomu białka PDX-1 może efektywnie zapobiegać apoptozie komórek  $\beta$  i ich deficytowi, co stanowi kluczowy etap w dążeniu do skutecznej terapii przeciw cukrzycy.