

Ustanowienie ciąży wymaga wzajemnych interakcji między zarodkami a błoną śluzową macicy (*endometrium*). Interakcje te indukują unikalny profil ekspresji genów w *endometrium*, który determinuje optymalne warunki wewnątrzmaciczne dla rozwoju i implantacji zarodków. Wciąż nie wiadomo jednak, w jaki sposób geny te są precyzyjnie regulowane i koordynowane, aby manifestować globalną reakcję *endometrium*. Dynamika acetylacji/deacetylacji histonów ma istotne znaczenie w modulacji struktury chromatyny i kontroli transkrypcji genów. Aczkolwiek brakuje informacji o roli enzymów modulujących „kod” acetylacji histonów w *endometrium* i ich wpływie na rozwój i implantację zarodków u świń.

Sirtuiny należą do rodziny deacetylaz histonowych klasy III, zależnych od NAD⁺. Enzymy te deacetylują zarówno histony, jak i białka niehistonowe, regulując w ten sposób wiele procesów komórkowych, w tym metabolizm, różnicowanie, apoptozę, odpowiedź immunologiczną i odporność na stres oksydacyjny. Jednak stosunkowo niewiele wiadomo o roli sirtuin w rozrodzie. Nasze badania wstępne wskazują na obecność sirtuin, SIRT1-3 i SIRT6 w *endometrium* loszek w okresie wczesnej ciąży i sugerują dynamiczną regulację ich ekspresji przez czynniki uwalniane przez zarodek. Ponadto, wykazaliśmy względnie wysokie poziomy transkryptów wspomnianych enzymów w tkance trofoblastu świń podczas implantacji i w okresie wczesnego tworzenia łożyska. Dlatego też, nasza hipoteza badawcza zakłada, że sirtuiny wspierają interakcje pomiędzy zarodkami a macicą poprzez przygotowanie *endometrium* do implantacji i ochronę zarodków przed stresem oksydacyjnym w macicy.

Głównym celem projektu jest określenie roli sirtuin w *endometrium* macicy i trofoblastach zarodków w okresie implantacji u świń. Aby ten cel osiągnąć, przeprowadzimy badanie *ex vivo* i szereg doświadczeń *in vitro* z wykorzystaniem tkanki i skrawków *endometrium*, komórek nabłonka powierzchniowego, zarodków i komórek trofoblastu pozyskanych od loszek będących we wczesnej ciąży.

W pierwszym zadaniu, zamierzamy określić profil ekspresji i aktywności wybranych sirtuin w tkance *endometrium* w okresie okołoinplantacyjnym u świń. Następnie, planujemy zastosować globalne podejście analizy genomu poprzez integrację danych z dwóch technik, ChIP-seq i RNA-seq. Pozwoli to zidentyfikować te geny, których ekspresja zmienia się pod wpływem aktywatorów sirtuin, jako konsekwencja deacetylacji określonych histonów i/lub białek niehistonowych w skrawkach *endometrium*. W dalszej kolejności, wykorzystamy komórki nabłonka powierzchniowego do zbadania wpływu produktów uwalnianych przez zarodek na transkrypcję i aktywność sirtuin w *endometrium* loszek we wczesnej ciąży. Wreszcie, aby określić rolę sirtuin w *endometrium* i trofoblastach zarodków u tego gatunku, zamierzamy przeprowadzić kompleksowe analizy na poziomie molekularnym i komórkowym z użyciem farmakologicznych inhibitorów i aktywatorów sirtuin, oraz konstruktów siRNA w celu wyciszenia genów poszczególnych sirtuin w izolowanych komórkach nabłonka powierzchniowego i trofoblastu; komórki nabłonka powierzchniowego zostaną użyte do analizy proliferacji, apoptozy, odpowiedzi immunologicznej i funkcji mitochondriów; z kolei komórki trofoblastu zostaną wykorzystane do zbadania potencjalnej roli sirtuin w ochronie przed stresem oksydacyjnym, poprzez analizę funkcji mitochondriów, proliferacji i apoptozy w warunkach fizjologicznych lub stresu oksydacyjnego. Ponadto, oba typy komórek będą hodowane w kokulturze w celu określenia biologicznej funkcji sirtuin w interakcjach pomiędzy zarodkami a *endometrium* w czasie implantacji.

Realizacja tego projektu dostarczy nowych informacji na temat czynników, genów, modyfikacji epigenetycznych i procesów zaangażowanych w implantację zarodków u świń. W szczególności, zrozumienie zmian molekularnych i epigenetycznych indukowanych przez sirtuiny w *endometrium* oraz roli tych enzymów w zarodkach poszerzy podstawową wiedzę o procesach regulacyjnych i ścieżkach sygnałowych warunkujących implantację u tego gatunku. Zmniejszona płodność u zwierząt hodowlanych jest poważnym problemem, gdyż znacznie obniża opłacalność produkcji. U świń, wysoka śmiertelność zarodków występuje przed 30 dniem ciąży, co może wynikać z niewłaściwych interakcji między zarodkami a *endometrium* matki. Dlatego uzyskane wyniki mogą w dalszej perspektywie służyć opracowaniu metod poprawy przeżywalności zarodków.