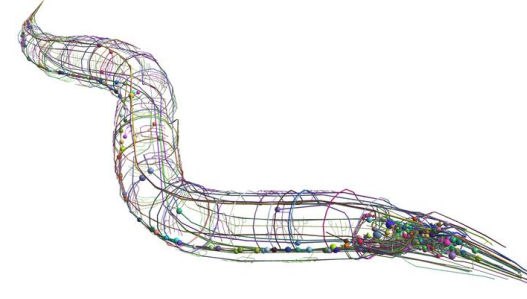


Caracterización y funcionamiento del gen *ssu-1* en la ruta hormonal que afecta a las enfermedades neurodegenerativas



Alba López, Raúl; Pérez Jiménez, M. Mercedes; Muñoz Ruiz, Manuel J.
Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Área de Genética. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD). Universidad Pablo de Olavide/CSIC/JA, Crta. Utrera Km1. 41013 Sevilla

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento y las consecuencias que esto conlleva para la salud, como las enfermedades neurodegenerativas de Parkinson y de Alzheimer, son problemas que están cada vez más presentes en la sociedad actual. Las hormonas juegan un papel importante en la comunicación celular y en los tejidos. También están implicados en diferentes vías de señalización que regulan al envejecimiento y la longevidad (1). La síntesis *de novo* de las hormonas esteroideas es energéticamente costoso para los organismos, por lo que están reguladas por enzimas que les sulfatan o desulfatan para cuando sean necesarias. Como regla general, las hormonas sulfatadas se consideran inactivas.

En el organismo modelo *Caenorhabditis elegans* el gen *sul-2*, homólogo a la STS de humanos, codifica una sulfatasa de hormonas esteroideas, encargada de quitar los grupos sulfatos específicamente de las hormonas esteroideas sulfatadas. En este organismo *sul-2* se expresa en cuatro neuronas sensoriales y su pérdida de función proporciona una vida más larga para el organismo y alivia los síntomas de enfermedades neurodegenerativas. Además, el tratamiento en *C. elegans* con el compuesto STX64, un inhibidor de estas proteínas, imita la pérdida de la función de *sul-2* (2).

En ese mismo organismo el gen *ssu-1*, homólogo a la SULT2A1 de humanos, codifica la sulfotransferasa de hormonas esteroideas, encargada de poner los grupos sulfatos a estas hormonas. *ssu-1* también se expresa en las neuronas sensoriales (3). El estudio de *ssu-1* podría ayudarnos a entender mejor cómo *sul-2* regula el envejecimiento y la proteostasis, por ello nos preguntamos si la expresión de este gen clave está regulado bajo diferentes condiciones.

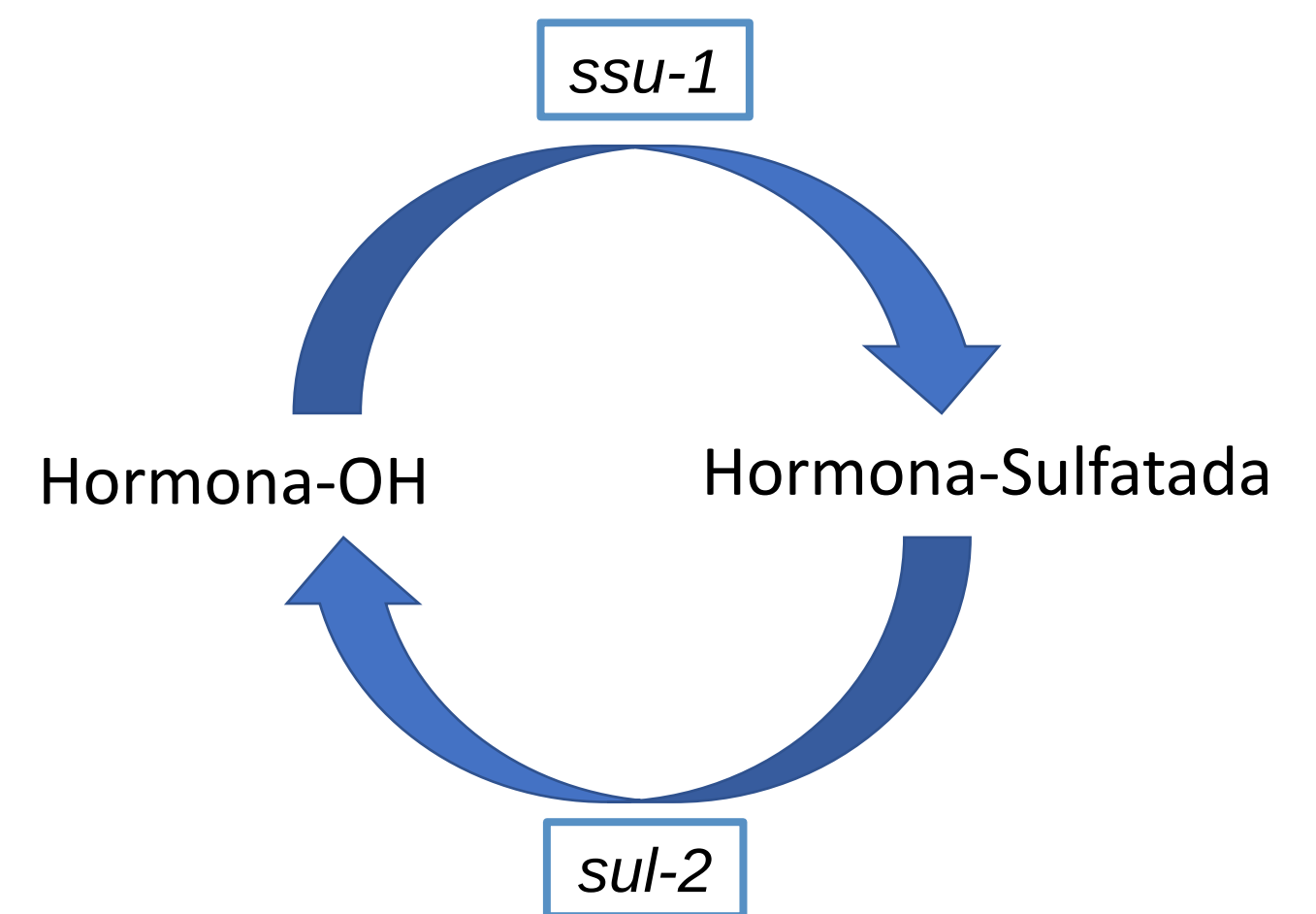


Figura 1: Esquema resumen de la acción sulfotransferasa (*ssu-1*) y sulfatasa (*sul-2*) sobre hormonas esteroideas.

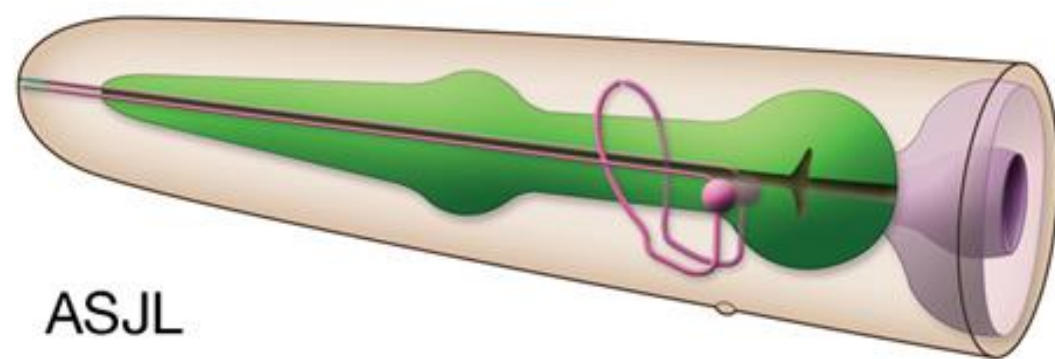


Figura 2: Dibujo 3D de la cabeza de *C. elegans*. En rosa las neuronas ASJ en las cuales se expresa *ssu-1* (4)

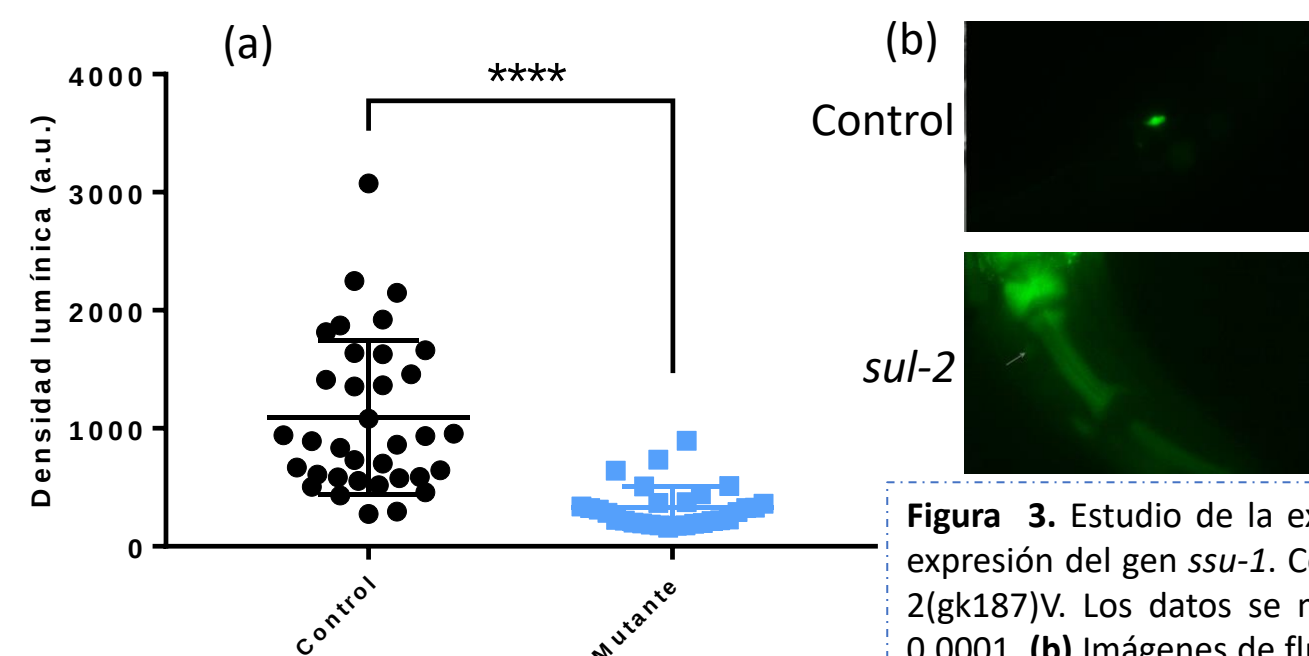
OBJETIVOS

Caracterizar al gen *ssu-1* y entender su funcionamiento bajo diferentes condiciones:

- En el fondo mutante *sul-2*.
- Usando el compuesto STX64 y hormonas sulfatadas.
- Fondo mutante longevo sin línea germinal (*glp-1*).
- A diferentes temperaturas.

RESULTADOS

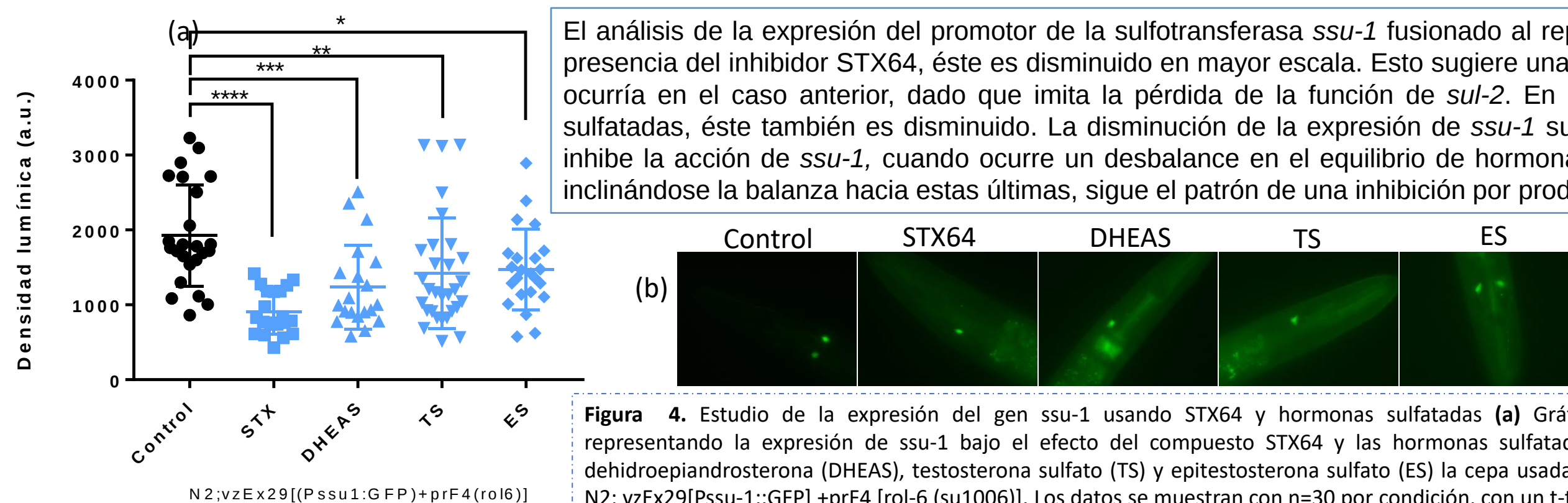
La expresión de *ssu-1* se reduce en un fondo mutante *sul-2*



El análisis de la expresión del promotor de la sulfotransferasa *ssu-1* fusionado al reportero GFP muestra que en el mutante de delección *sul-2(gk187)*, ésta es disminuida. *sul-2* es el encargado de quitar los grupos sulfatos de las hormonas esteroideas sulfatadas y en *sul-2(gk187)* se ha visto un incremento general de las hormonas esteroideas sulfatadas (2). La disminución de la expresión de *ssu-1* sugiere una inhibición por producto.

Figura 3. Estudio de la expresión del gen *ssu-1* en el fondo mutante *sul-2* (a) Cuantificación de la expresión del gen *ssu-1*. Control = N2; vzEx29[Pssu-1::GFP] +prF4 [rol-6 (su1006)]. *sul-2* = vzES29;*sul-2(gk187)*V. Los datos se muestran con n=35 por cepa, con un t-test de Mann-Whitney; ****p ≤ 0.0001. (b) Imágenes de fluorescencia representativas de la expresión de *ssu-1* en la parte superior el control y en la inferior el fondo mutante *sul-2*.

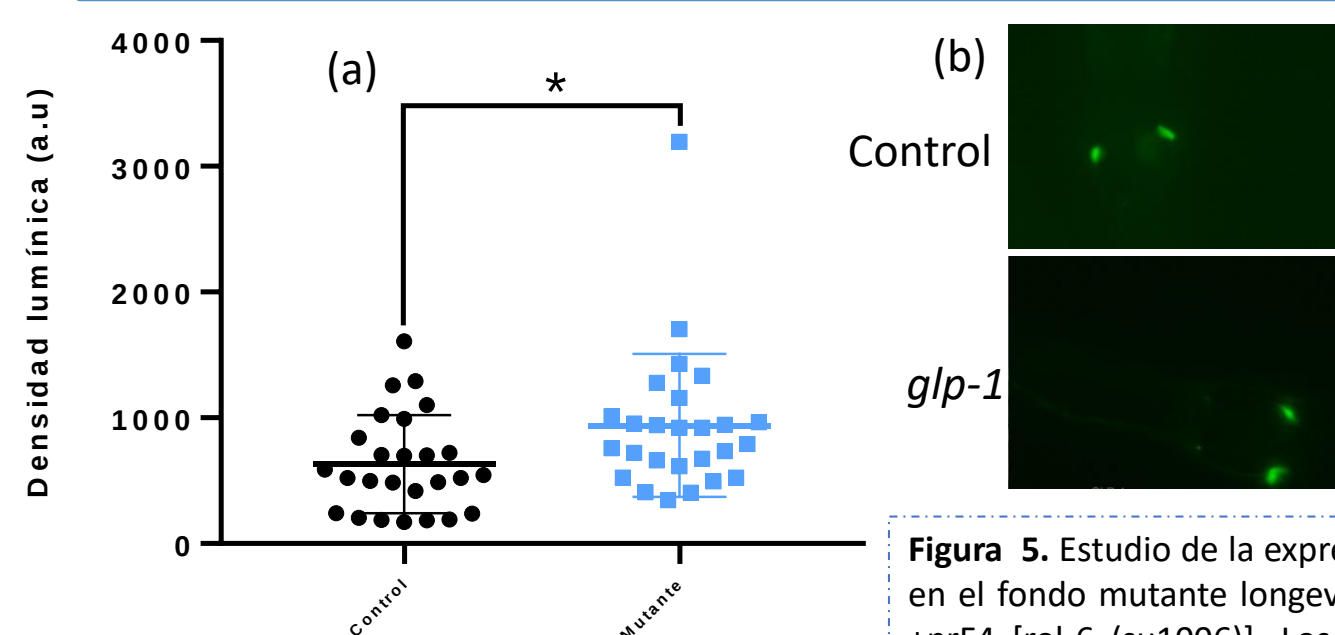
La expresión de *ssu-1* se reduce usando un tratamiento con el inhibidor STX64 y con hormonas sulfatadas.



El análisis de la expresión del promotor de la sulfotransferasa *ssu-1* fusionado al reportero GFP muestra que, en presencia del inhibidor STX64, éste es disminuido en mayor escala. Esto sugiere una inhibición por producto como ocurría en el caso anterior, dado que imita la pérdida de la función de *sul-2*. En el tratamiento con hormonas sulfatadas, éste también es disminuido. La disminución de la expresión de *ssu-1* sugiere que el mecanismo que inhibe la acción de *ssu-1*, cuando ocurre un desbalance en el equilibrio de hormonas no sulfatadas y sulfatadas inclinándose la balanza hacia estas últimas, sigue el patrón de una inhibición por producto.

Figura 4. Estudio de la expresión del gen *ssu-1* usando STX64 y hormonas sulfatadas (a) Gráfico representando la expresión de *ssu-1* bajo el efecto del compuesto STX64 y las hormonas sulfatadas; dehidroepiandrosterona (DHEAS), testosterona sulfato (TS) y epitestosterona sulfato (ES) la cepa usada es N2; vzEx29[Pssu-1::GFP] +prF4 [rol-6 (su1006)]. Los datos se muestran con n=30 por condición, con un t-test de Mann-Whitney; *p ≤ 0.1 **p ≤ 0.01 ***p ≤ 0.001 ****p ≤ 0.0001. (b) Imágenes de fluorescencia de la expresión de *ssu-1* de izquierda a derecha control, STX64, DHEAS, TS, ES.

La expresión de *ssu-1* aumenta en un fondo mutante longevo sin línea germinal *glp-1*



C. elegans sin línea germinal retrasa los síntomas derivados de la proteotoxicidad de β -amiloide humano expresado de manera ectópica (2). El análisis de la expresión del promotor de la sulfotransferasa *ssu-1* fusionado al reportero GFP muestra que, en un fondo mutante longevo sin línea germinal (*glp-1*), éste es aumentado. Lo que sugiere una generación de hormonas no sulfatadas en este fondo genético.

Figura 5. Estudio de la expresión del gen *ssu-1* en el fondo mutante longevo sin línea germinal *glp-1*. (a) Gráfico representando la expresión de *ssu-1* en el fondo mutante longevo sin línea germinal *glp-1*. Control = N2; vzEx29[Pssu-1::GFP] +prF4 [rol-6 (su1006)]. *glp-1* = *glp-1*; vzEx29[Pssu-1::GFP] +prF4 [rol-6 (su1006)]. Los datos se muestran con n=30 por cepa, con un t-test de Mann-Whitney; *p ≤ 0.1. (b) Imágenes de fluorescencia representativas de la expresión de *ssu-1* en la parte superior el control y en la inferior el fondo *glp-1*.

La expresión de *ssu-1* aumenta conforme la temperatura incrementa

El análisis de la expresión del promotor de la sulfotransferasa *ssu-1* fusionado al reportero GFP muestra que, éste es aumentado conforme mayor es la temperatura, sugiriendo un incremento en la expresión cuando las condiciones ambientales son adversas.

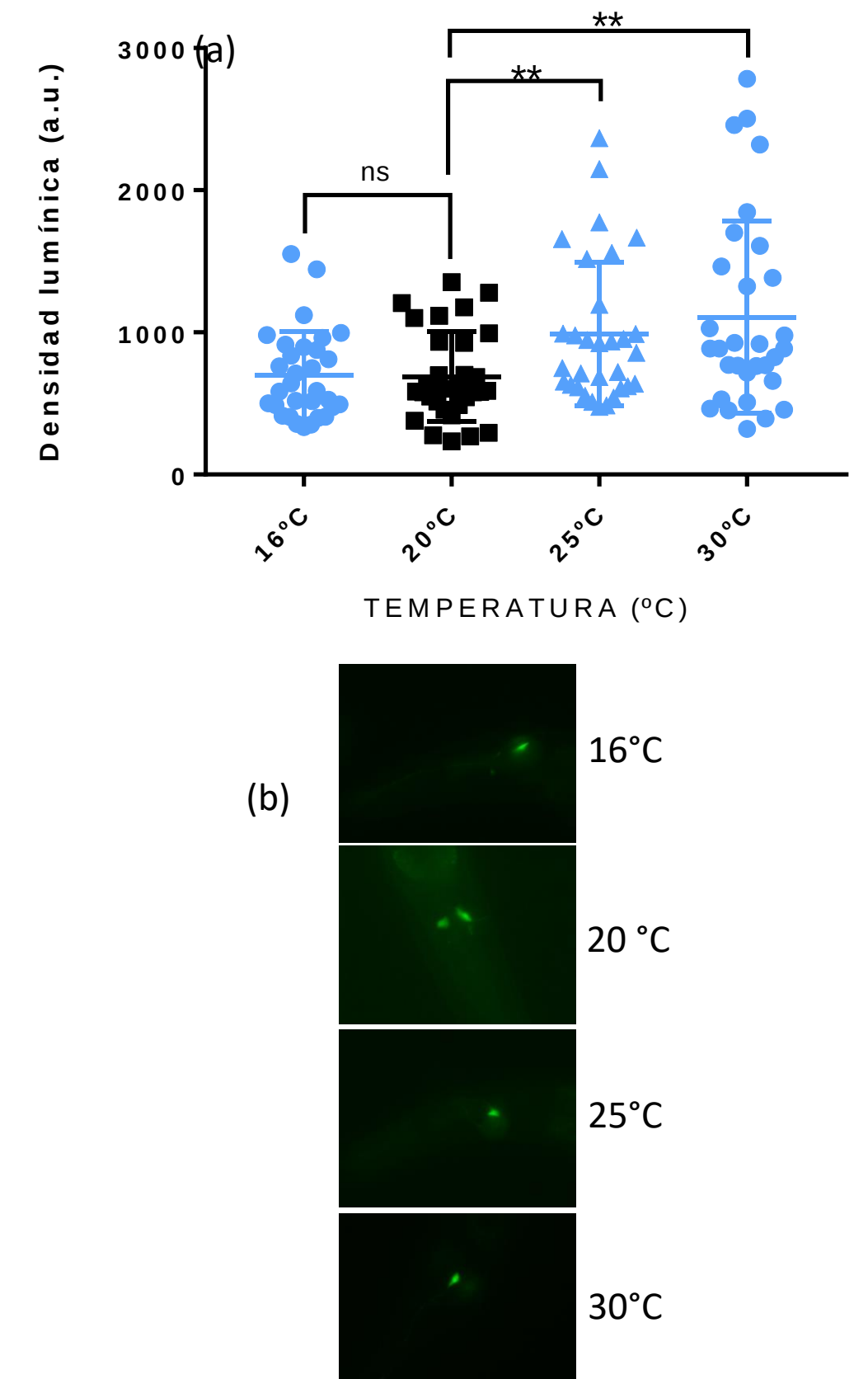


Figura 6. Estudio de la expresión del gen *ssu-1* bajo diferentes condiciones de temperatura (a) Gráfico representando la diferencia en la expresión de *ssu-1* con la cepa N2; vzEx29[Pssu-1::GFP] +prF4 [rol-6 (su1006)] bajo diferentes condiciones de temperatura. Los datos se muestran con n=30 por condición, con un t-test de Mann-Whitney; **p ≤ 0.01 (b) Imágenes de fluorescencia representativas de la expresión de *ssu-1* bajo diferentes temperaturas, de arriba hacia abajo 16,20,25,30 °C respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Lapierre, L., & Hansen, M. (2012). Lessons from *C. elegans*: signaling pathways for longevity. *Trends In Endocrinology & Metabolism*, 23(12), 637-644. doi: 10.1016/j.tem.2012.07.007
- Pérez-Jiménez, M. M. et al (2021). Steroid hormones sulfatase inactivation extends lifespan and ameliorates age-related diseases. *Nature Communications*, 12(1). doi: 10.1038/s41467-020-20269-y
- Carroll, B. et al (2006). Sulfated Signal from ASJ Sensory Neurons Modulates Stomatin-dependent Coordination in *Caenorhabditis elegans*. *Journal Of Biological Chemistry*, 281(47), 35989-35996. doi: 10.1074/jbc.m606086200
- WormAtlas, Altun, Z.F., Herndon, L.A., Wolkow, C.A., Crocker, C., Lints, R. and Hall, D.H. (ed.s) 2002-2021. <http://www.wormatlas.org>