



## Análisis de la actividad de AMPK como posible causante del fenotipo longevo de los mutantes *sul-2*

Miriam Moya Rodríguez, M. Mercedes Pérez-Jiménez, Manuel J. Muñoz Ruiz

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

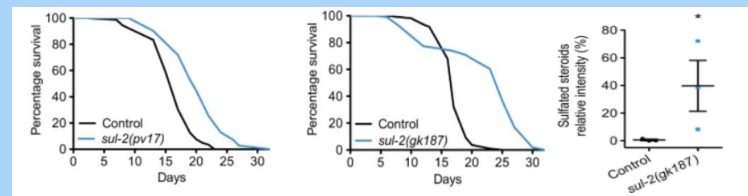


### Introducción

El envejecimiento es un proceso biológico causado por la acumulación de daño celular que aumenta la susceptibilidad para el desarrollo de diversas enfermedades y la misma muerte del organismo. Algunas de estas enfermedades, como Alzheimer o Parkinson, están causadas por la pérdida de proteostasis y la consiguiente formación de agregados proteicos que impiden el correcto funcionamiento celular. Algunos animales, como *Caenorhabditis elegans*, consiguen modular rutas metabólicas con el fin de aumentar su longevidad a través de la regulación de determinadas hormonas (Lapierre, L R et al. (2012)). Un ejemplo de ello son las hormonas esteroideas que, al unirse a sus receptores, activan la transcripción de diversos genes, pero que, en su forma sulfatada, permanecen inactivas formando un reservorio que tiene gran relación con la longevidad (Mueller, J W et al. (2015)) y el mantenimiento de la proteostasis. Recientemente se ha demostrado cómo una mutación en la sulfatasa esteroidea *sul-2* aumenta la longevidad y disminuye los efectos del Parkinson y Alzheimer en modelos de *Caenorhabditis elegans* (Pérez-Jiménez, M M et al. (2021)). Una de las rutas metabólicas responsables de este proceso parece implicar al enzima AMPK. En este proyecto se busca profundizar en este aspecto para tratar de averiguar si AMPK es el enzima causante del fenotipo longevo de los mutantes deficientes de *sul-2*.

### Resultados previos

Para conocer qué genes se expresan en los mutantes deficientes en *sul-2* se realizaron dos RNA-seq: uno para los mutantes *pv17* (con una mutación puntual) y otro para los mutantes *gk187* (con una delección completa del gen). Posteriormente, mediante WormExp se comprobó que estos mutantes comparten patrones de expresión con aquellos que presentan AMPK sobreexpresada, los cuales son también longevos (Burkewiz, K et al. (2016)).



**Figura 1:** Izquierda y centro: Curvas de longevidad de gusanos silvestres *N2* (control) vs mutantes deficientes de *sul-2* con mutación puntual (*pv17*) o la delección completa (*gk187*). Derecha: porcentaje de hormonas esteroideas sulfatadas en control (*N2*) y mutantes deficientes de *sul-2* (*gk187*).

### ¿Podría AMPK ser la causante del fenotipo longevo de los mutantes *sul-2*?

La principal hipótesis es que, a mayores niveles de hormonas esteroideas sulfatadas, mayor actividad de AMPK.

### Metodología y objetivos

Para profundizar en este aspecto, se retrocruzaron hasta tres veces mutantes deficientes en AMPK (*aak-2(ok524)*) con cepas silvestres *N2* para conseguir un fondo genético conocido. Para ello, se indujeron machos *N2* incubando gusanos L4 a 30 °C durante 6 horas. Tras varios días a 20 °C, se encontraron machos en la descendencia y se volvieron a cruzar con hermafroditas *N2* para amplificar la población de machos. A continuación, se cruzaron hermafroditas *aak-2(ok524)* con machos *N2* y se seleccionaron algunos gusanos de la siguiente generación (F1) para clonarlos. Mediante una PCR se confirmó que los individuos de la F2 habían surgido del cruce por haber clones con AMPK y otros que no, descartándose la autofecundación. De los *aak-2* se seleccionó un candidato (*aak2(1x)*) y se repitió el proceso hasta obtener *aak-2(3x)*.

El siguiente paso será comprobar si los mutantes *sul-2* siguen siendo longevos en ausencia de AMPK. También se generará un doble mutante *aak2;sul-2* en modelos de Alzheimer y Parkinson para comprobar si se revierte el fenotipo longevo de los mutantes *sul-2*. Por último, se evaluará el rol de AMPK en la longevidad y proteostasis de los mutantes *sul-2*.

### Bibliografía

- Burkewiz, K., Weir, H.J.M., and Mair, W.B. (2016). Chapter 10: AMPK as a Pro-longevity Target. AMPK Activated Protein Kinase. *Experientia Supplementum* 107, 227-255.
- Lapierre, L. R. & Hansen, M. (2012). Lessons from *C. elegans*: signaling pathways for longevity. *Trends Endocrinol. Metab.* 23, 637-644.
- Pérez-Jiménez, M. M. et al (2021). Steroid hormones sulfatase inactivation extends lifespan and ameliorates age-related diseases. *Nat Commun* 4;12(1):49.
- Mueller, J. W., Gilligan, L. C., Idkowiak, J., Arlt, W. & Foster, P. A. (2015). The regulation of steroid action by sulfation and desulfation. *Endocr. Rev.* 36, 526-563.