

Poster P.06.39

TRPML1 LINKS LYSOSOMAL CALCIUM TO AUTOPHAGY INITIATION

Scotto Rosato A., Medina D.L.*

TIGEM ~ Pozzuoli ~ Italy

TRPML1 (or Mucolipin 1) is a cation-permeable channel localized on the membranes of late endosomes and lysosomes (LEs) of mammalian cells. TRPML1 has been involved in vesicular trafficking, vesicular fusion, phagocytosis of large particles, and lysosomal exocytosis (Medina et al, 2011; Xu et al, 2015; Venkatachalam et al, 2015; Li et al, 2016). We have recently shown that lysosomal Ca²⁺ release, through TRPML1, plays a major role in lysosomal adaptation to starvation by inducing calcineurin that de-phosphorylates and activates TFEB, a master gene of lysosomal function (Medina et al, 2015). While studying the role of TRPML1 in autophagy, we also observed that the inhibition of TRPML1 significantly reduced the recruitment of the WD-repeat PtdIns(3)P effector protein WIPI2 to vesicles (Medina et al, 2015). Since WIPI2 is an essential effector at the nascent autophagosome (Proikas-Cezanne et al, 2015), we reasoned that the activity of the lysosomal calcium channel TRPML1 may play a role in autophagosome biogenesis. Indeed, we found that genetically and pharmacologically inhibition of TRPML1 during starvation, significantly reduced the number of vesicles containing both WIPI2 and the phagophore marker DFCP1. Conversely, TRPML1 overexpression increased phagophore formation inducing autophagic flux. Interestingly, WIPI2-puncta formation during starvation was also reduced in fibroblasts derived from human patients affected of Mucopolidosis type IV, a lysosomal storage disease caused by loss-of-function mutations in TRPML1 gene. We also found that TRPML1-mediated effects require both calcium and PtdIns(3)P, since the addition of BAPTA chelator or the inhibition of PIK3C3 during starvation completely abolish WIPI2 puncta formation. Together, our results suggest that TRPML1 and lysosomal Ca²⁺ modulate autophagy by the recruitment of PtdIns(3)P to the phagophore membrane during autophagy initiation.

TRPML1 collega il calcio lisosomiale all'inizio dell'autofagia

TRPML1 (o Mucolipin 1) è un canale permeabile al calcio localizzato sulle membrane di endosomi e lisosomi di cellule di mammiferi. TRPML1 è stato coinvolto nel traffico vescicolare, fusione vescicolare, fagocitosi di particelle di grandi dimensioni ed esocitosi lisosomiale (Medina et al, 2011; Xu et al, 2015; Venkatachalam et al, 2015; Li et al, 2016). Abbiamo recentemente dimostrato che il rilascio lisosomiale di calcio, attraverso TRPML1, svolge un ruolo importante nell'adattamento lisosomiale ai nutrienti (Medina et al, 2015). Durante lo studio del ruolo di TRPML1 nell'autofagia, abbiamo anche osservato che l'inibizione di TRPML1 ha ridotto significativamente il reclutamento della proteina WIPI2 (Medina et al, 2015). Poiché WIPI2 è un effettore essenziale dell'autofagosoma (Proikas-Cezanne et al, 2015), abbiamo pensato che l'attività del canale del calcio lisosomiale TRPML1 possa svolgere un ruolo nella biogenesi dell'autofagosoma. In effetti, abbiamo scoperto che l'inibizione di TRPML1 riduceva significativamente il numero di vescicole contenenti sia WIPI2 sia il marker di fagoforo DFCP1. Al contrario, la sovraespressione di TRPML1 aumenta la formazione di fagofori. È interessante notare che anche la formazione di fagofori durante l'induzione dell'autofagia era ridotta nei fibroblasti derivati da pazienti umani affetti da mucopolidiosi di tipo IV, una malattia da accumulo lisosomiale causata da mutazioni nel gene TRPML1. Abbiamo anche scoperto che gli effetti mediati da TRPML1 richiedono sia calcio che PtdIns (3) P, poiché l'aggiunta del chelante di calcio BAPTA o l'inibizione di PIK3C3 durante l'induzione della autofagia aboliscono completamente la formazione di fagofori. Insieme, i nostri risultati suggeriscono che TRPML1 e il calcio lisosomiale modulano

l'autofagia mediante il reclutamento di PtdIns (3) P sulla membrana del fagoforo durante l'inizio dell'autofagia.

Medina et al, 2011;

Xu et al, 2015;

Venkatachalam et al, 2015;

Li et al, 2016

Medina et al, 2015

Proikas-Cezanne et al, 2015

Mucopolipidosi di tipo 4

Coordinator: Diego L. Medina

Duration (N. Years): 2

Starting year: 2017

Telethon Project (nr):

TIGEM; Granted by Mucopolipidosis type 4 foundation

Disease Name:

Mucopolipidosis Type 4 (MLIV)

Keywords:

autophagy, LSDs, TRPML1