

La macroautofagia i la endocitosi son dos processos catabòlics conservats evolutivament en els que, mitjançant processos de tràfic vesicular, es degrada el material segrestat, d'origen intracel·lular i extracel·lular, respectivament. Ambdós comencen de manera diferent: *via* la formació d'un nou orgànul, l'autofagosoma, que segresta material citoplàsmic (macroautofagia) o *via* d'internalització de material extracel·lular i d'alguns components de la membrana plasmàtica a través de vesícules endocítiques (endocitosi). Tanmateix, els dos processos terminen en el mateix compartiment: el lisosoma.

En una anàlisi proteòmica de membranes lisosomals, purificades a partir de fibroblastos de ratolí, identifiquem tres proteïnes, que s'uneixen a fosfolípids d'una manera dependent de calci, i els nivells de les qual en la membrana lisosomal augmentaven en absència d'aminoàcids, una condició que activa la macroautofagia. Basant-nos en aquests resultats preliminars, i tenint en compte que el calci es un segon missatger molt important, decidim: en primer lloc, abordar el paper del calci en l'activació de la macroautofagia produïda pel dejú d'aminoàcids, i, en segon lloc, investigar el paper d'aquestes tres proteïnes en el mecanisme autofagic.

Com a resultat d'aquests estudis, descrivim en primer lloc una nova via de senyalització dependent del calci que activa la formació d'autofagosomes pels aminoàcids. Concretament, hem trobat que el dejú d'aminoàcids essencials incrementa el nivell del calci citosòlic, provenint tant del medi extracel·lular com de magatzems intracel·lulars. Com a conseqüència, la calmodulina quinasa quinasa- β activa a AMPK y a mTORC1. En l'última etapa d'aquesta via, ULK1, una quinasa responsable de la iniciació de l'autofagia, s'activa per a contribuir a la formació dels autofagosomes.

Les tres proteïnes identificades en l'estudi de proteomica i els nivells de les qual en les membranes lisosomals augmenten en absència d'aminoàcids son la anexina A1, la anexina A5 i la copina 1. Emprant

ABSTRACT

mètodes bioquímics i d'immunofluorescència observem que el dejú d'aminoàcids causa la translocació de la anexina A5 del complex de Golgi a les membranes lisosomals, a on també migren la anexina A1 i la copina 1. Així mateix, demostrem per sobreexpressió i silenciament d'aquestes proteïnes, que les tres indueixen la fusió d'autofagosomes amb lisosomes i que la copina 1, i en menor mesura la anexina A1, augmenten l'efecte de la anexina A5 en aquest procés. Finalment, la anexina A5 inhibeix l'endocitosi mentre que la copina 1 la indueix.

En resum, els nostres resultats posen en manifest que l'activació de la formació d'autofagosomes pel dejú d'aminoàcids es deguda, al menys en part, a una via de senyalització depenent de Ca^{2+} i que aquesta condició també implica l'acceleració de la maduració dels autofagosomes a autolisosomes a través de proteïnes que s'uneixen al Ca^{2+} com les anexines A1 i A5 i la copina 1.