

Citologia dell'apparato di Golgi

1

L'apparato del Golgi è un organello a più compartimenti, che contengono un'ordinata serie di enzimi, che sequenzialmente modificano le glicoproteine e i lipidi quando essi transitano dalle cisterne *cis* a quelle *trans*; le molecole cargo devono pertanto passare attraverso ciascun compartimento di questo organello.

Gli oligosaccaridi legati ad N sono i più comuni presenti nelle glicoproteine; meno frequentemente gli oligosaccaridi sono legati al gruppo ossidrilico nella catena laterale della serina, treonina o idrossilisina; questi oligosaccaridi legati ad O si formano nell'apparato di Golgi.

2

- L'apparato di Golgi è formato da cisterne o sacchi discoidali impilati gli uni su gli altri cui sono associate piccole vescicole.

- E' di solito situato vicino al nucleo, attorno ai centrioli.

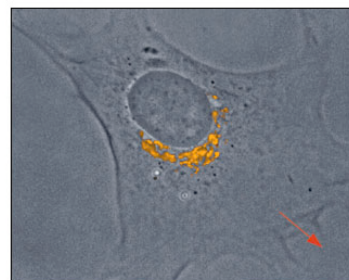
- Ogni gruppo di cisterne forma una pila di circa 1 um di diametro detta pila di Golgi o dittiosoma.

- L'apparato di Golgi è coinvolto nella modificazione, nella separazione e nell'impacchettamento di macromolecole per la secrezione o per la spedizione ad altri organelli.



(B)

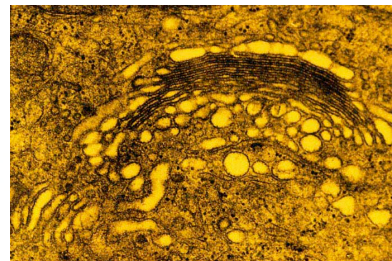
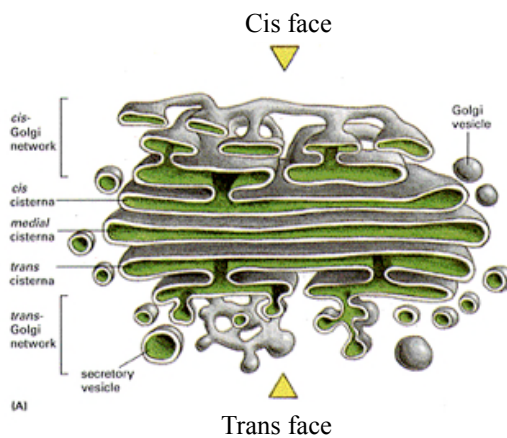
200 nm



(C)

3

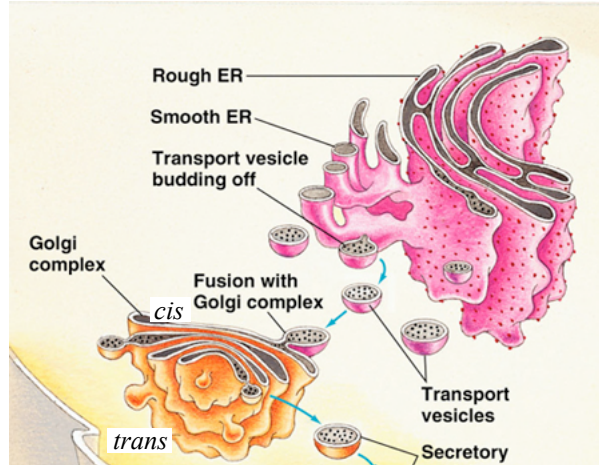
Nell'apparato di Golgi esiste una polarizzazione strutturale e biochimica. Si distinguono due facce: una faccia cis o di formazione (convessa) rivolta verso il nucleo ed una fascia trans o di maturazione (convava) rivolta verso la periferia della cellula.



4

Trasporto anterogrado

Le vescicole che si trovano in prossimità della faccia cis, contengono proteine neo sintetizzate, che si staccano dal reticolo endoplasmatico e penetrano nell'apparato di Golgi. A livello della faccia trans si accumulano invece vescicole contenenti proteine che verranno distribuite nelle varie parti della cellula o escrete all'esterno di essa.

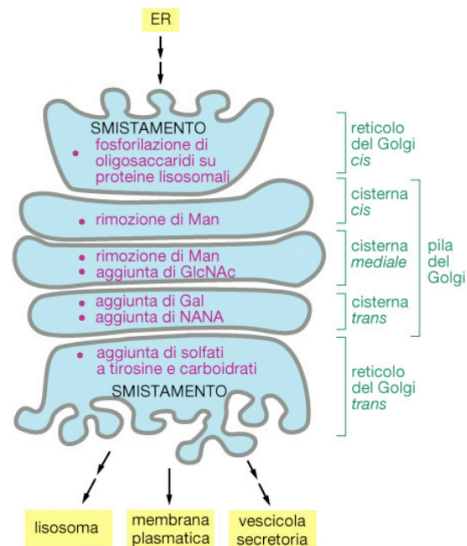


5

Le due facce dell'apparato di Golgi possiedono enzimi diversi

A livello dell'apparato di Golgi avvengono i seguenti fenomeni:

- Glicosilazioni, o comunque modificazioni nei residui oligosaccaridici già associati alle proteine.
- Modificazione della struttura di alcune proteine (glicosilazione terminale, fosforilazioni, solfatazione, e parziale proteolisi)
- Sintesi di glicosaminoglicani
- Smistamento delle proteine produzione di diversi tipi di vescicole (vescicole di secrezione costitutiva, vescicole di secrezione regolata, vescicole lisosomiali, vescicole retrograde verso il RE).



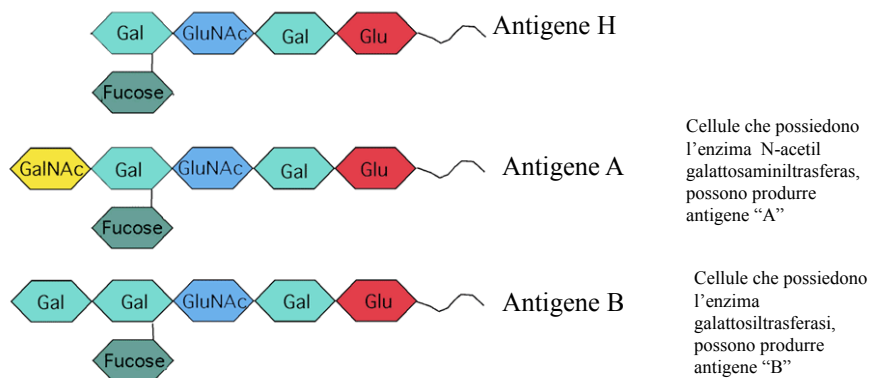
Legenda: *GlcNAc*(Nacetilglucosamina), *Man* (Mannosio), *Gal* (galattosio), *NANA* o acido sialico (Nacetilmuraminico)

6

Poiché uno o più oligosaccaridi legati ad N sono presenti in tutte le proteine trasportate attraverso il RE ed il Golgi, via esclusiva delle cellule eucarioti, si suppone che questa glicosilazione serva per il ripiegamento delle proteine (vedi file RE) e per il trasporto (vedi mannosio 6P per il trasporto della idrolasi dall'apparato del Golgi verso il lisosoma). Gli zuccheri, poiché sporgono dalla proteina, limitano l'avvicinamento di altre molecole alla superficie della proteina; così una proteina può essere più resistente all'azione di proteasi. E' stato anche ipotizzato che in una cellula eucariote ancestrale gli zuccheri fornissero un rivestimento protettivo, che a differenza della parete cellulare rigida dei batteri, permetteva alla cellula di cambiare forma e muoversi

7

Composizione glicosilica delle glicoproteine esposte alla superficie delle cellule sono anche importanti segnali di riconoscimento cellulare. Riconoscimento tramite gruppi sanguigni "ABO" costituisce un esempio di questo meccanismo.



8

	Antigen A	Antigen B	Antigens A and B	Neither antigen A nor B
Erythrocytes				 <i>Donatori "universali"</i>
Plasma	Anti-B antibodies 	Anti-A antibodies 	Neither anti-A nor anti-B antibodies <i>Ricevitori "universali"</i>	Both anti-A and anti-B antibodies
Blood type	Type A (AA,AO) Erythrocytes with type A surface antigens and plasma with anti-B antibodies	Type B (BB,BO) Erythrocytes with type B surface antigens and plasma with anti-A antibodies	Type AB (AB) Erythrocytes with both type A and type B surface antigens, and plasma with neither anti-A nor anti-B antibodies	Type O (OO) Erythrocytes with neither type A nor type B surface antigens, but plasma with both anti-A and anti-B antibodies

(a)

Individui che esprimono l'enzima N-acetilgalattosaminil trasferasi, ed espongono l'antigene "A"

Individui che esprimono l'enzima galattosiltrasferasi, ed espongono l'antigene "B"

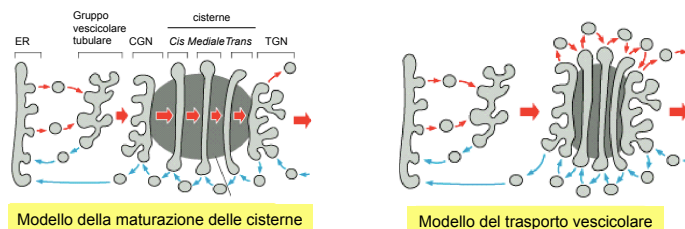
Individui che esprimono entrambi gli enzimi ed espongono sia l'antigene "A" che l'antigene "B"

Individui che esprimono nessuno dei due enzimi e non espongono nessun antigene

9

L'apparato di Golgi è un organello costituito da più compartimenti che contengono una serie ordinata di enzimi che modificano in modo sequenziale le glicoproteine e i lipidi che transitano dalle cisterne *cis* alle cisterne *trans*. Le molecole trasportate (carico), quindi, devono passare attraverso ognuno dei compartimenti di cui è costituito questo organello, ma il meccanismo utilizzato è stato oggetto di un ampio dibattito.

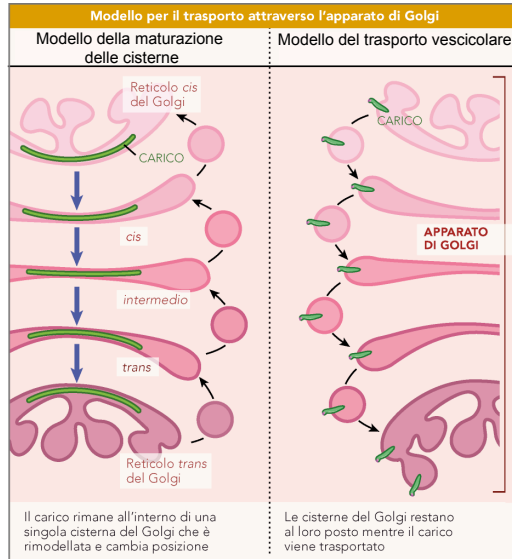
Sulla base dei risultati ottenuti utilizzando carichi di diversa grandezza, sono stati definiti due modelli di trasporto anterogrado attraverso l'apparato di Golgi: la maturazione delle cisterne e il trasporto mediato da vescicole.



10

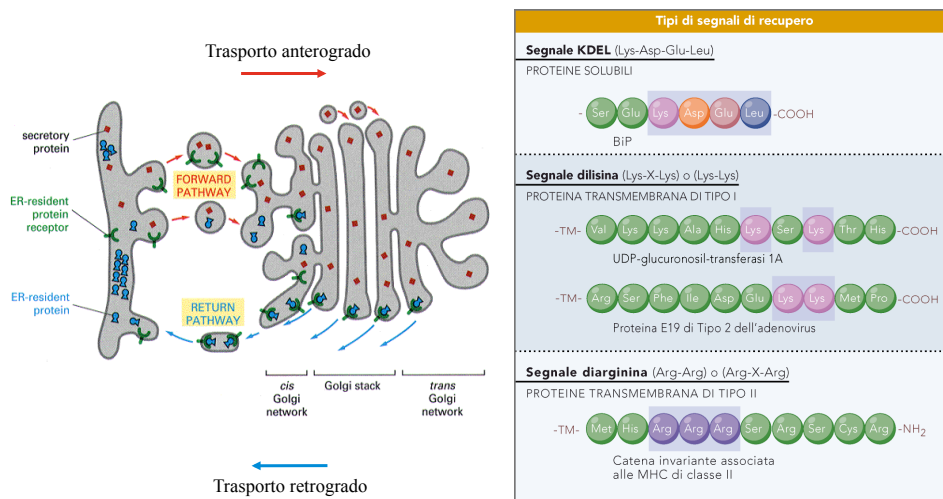
•Il trasporto di grosse strutture proteiche attraverso l'apparato del Golgi, come ad esempio fibrille di collagene, avviene per maturazione delle cisterne.

•Singole proteine e piccole strutture proteiche sono trasferite attraverso l'apparato di Golgi per maturazione delle cisterne o per trasporto mediato da vescicole attraverso il trasporto anterogrado.



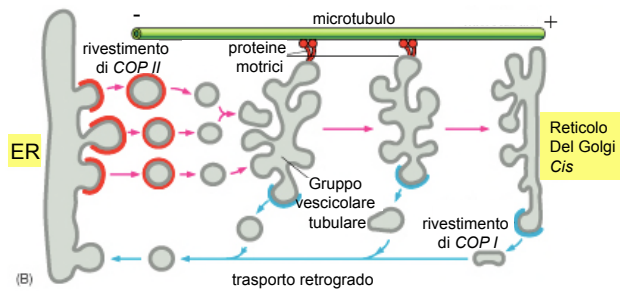
11

Il trasporto retrogrado (Golgi ---> RE) permette di ricondurre al RE proteine solubili o transmembrana residenti nel RE. Queste proteine possiedono segnali di "recupero" al RE.



12

In maggioranza, le vescicole che dal RE si dirigono verso il Golgi (trasporto anterogrado) sono rivestite di proteine *COP II* (coatomer II); mentre le vescicole che dal Golgi si dirigono verso il RE (trasporto retrogrado di recupero) sono rivestite di proteine *COP I* (coatomer I).

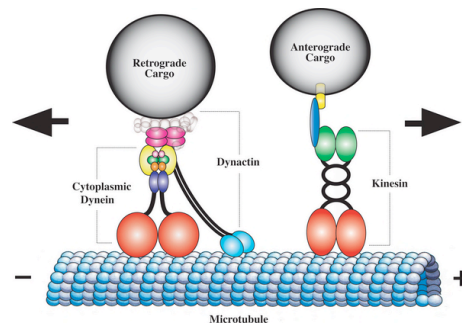


Proteine motrici (motore proteico) mediano l'interazione degli di organelli, vescicole o singole moecole con i microtubuli. La localizzazione dell'apparato di Golgi vicino al nucleo dipende dalle proteine motrici e dai microtubuli del citoscheletro; se questi sono depolimerizzati, l'apparato di Golgi perde la sua tipica organizzazione e localizzazione e si riorganizza in pile sparse in tutto il citoplasma.

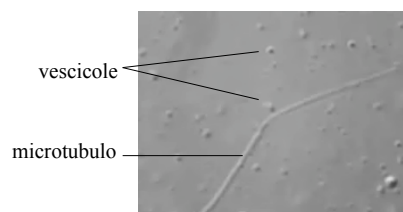
13

Proteine motrici che si spostano verso l'estremità (+) dei microtubuli, in maggioranza proteine della famiglia delle kinesine, assicurano il trasporto anterogrado delle vescicole.

Proteine motrici che si spostano verso l'estremità (-) dei microtubuli, in maggioranza proteine della famiglia delle dineine, assicurano il trasporto retrogrado.



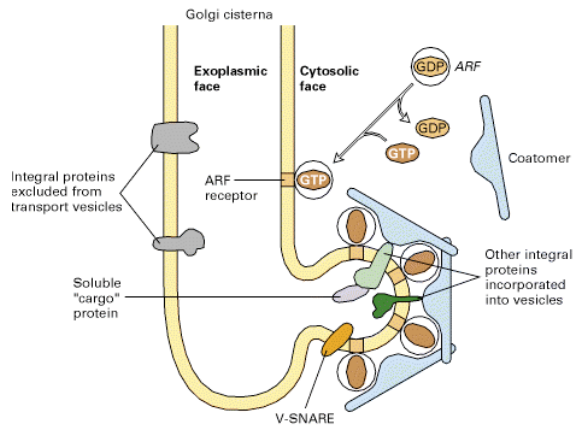
Vedi filmato:
movimento di organelli



14

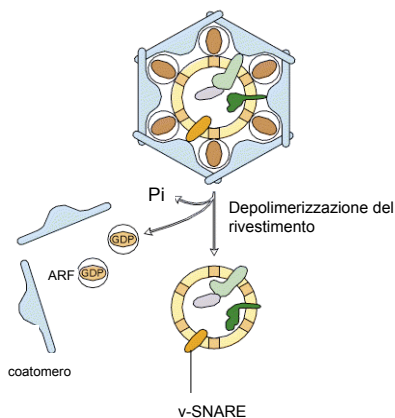
Modello di formazione delle vescicole rivestite di coatomero.

La formazione della vescicola inizia dallo scambio del nucleotide legato alla proteina ARF, da ARF-GDP ad ARF-GTP, una reazione catalizzata da un enzima della membrana del Golgi. Di seguito ARF-GTP si lega al suo recettore sulla cisterna del Golgi, i coatomeri si legano a loro volta sulla faccia citosolica della cisterna del Golgi e polimerizzano a formare un rivestimento che favorisce la formazione della vescicola. Proteine transmembrana che legano i coatomeri sono incorporate nella vescicola in formazione. Tra queste, ci sono le proteine V-SNARE responsabili della specificità di fusione della vescicola con elementi di membrana del compartimento bersaglio. Proteine solubili contenute nelle vescicole sono selezionate a fare parte di specifiche vescicole grazie all'interazione con specifici recettori di membrana.

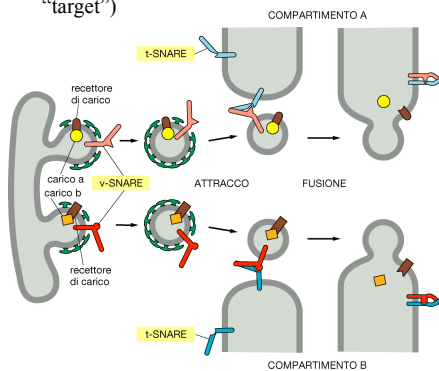


15

Per permettere la fusione della vescicola con l'elemento di membrana bersaglio è necessaria la depolimerizzazione del rivestimento di coatomero. Questo avviene grazie all'idrolisi del GTP legato ad ARF che provoca la depolimerizzazione del rivestimento di cotomeri e il rilascio sia dei cotomeri che di ARF-GDP.



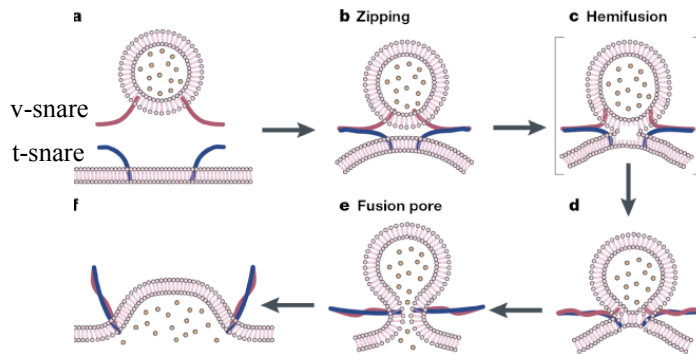
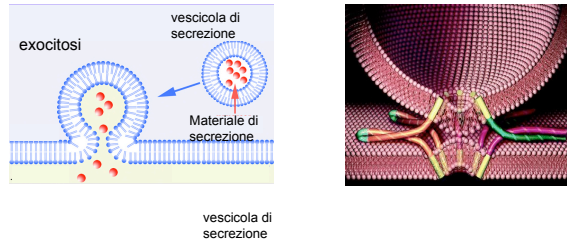
Il tipo di V-SNARE contenuto in ciascuna vescicola determina la specificità di interazione con elementi di membrana del compartimento bersaglio. La specificità di riconoscimento avviene tra v-SNARE (della vescicola) e t-SNARE (del bersaglio, "target")



16

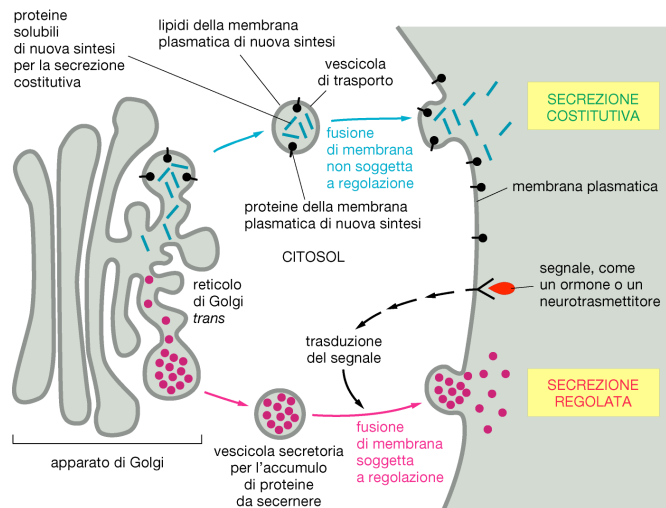
Exocitosi

Interazione tra proteine SNARE vescicolari (v-SNARE) e proteine SNARE del compartimento target (t-SNARE)

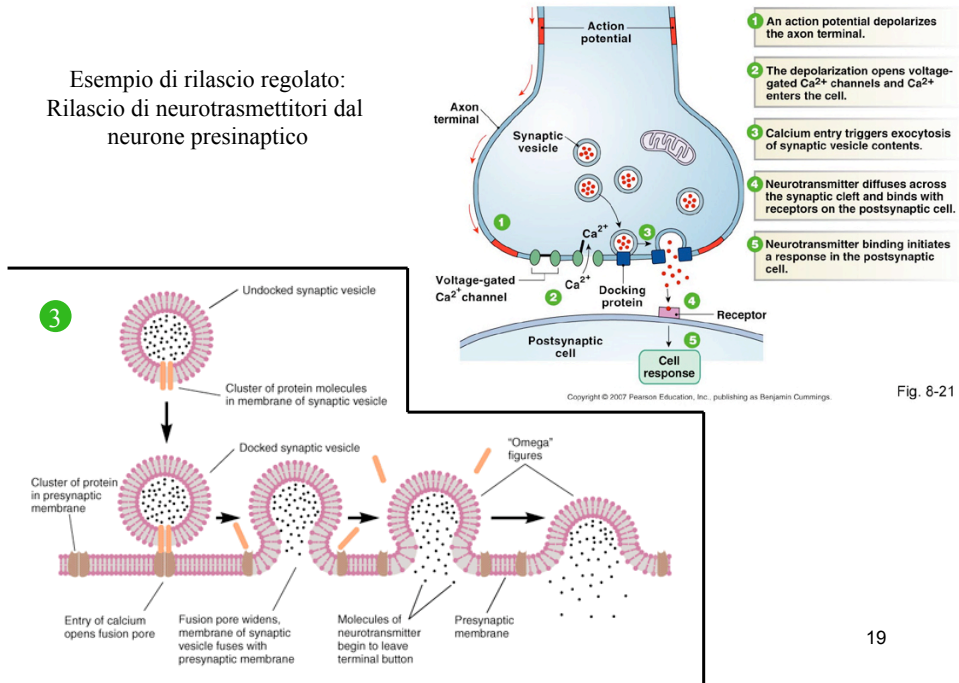


Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Se la fusione della vescicola con la membrana plasmatica non richiede ulteriori segnali regolativi, la secrezione è detta “costitutiva”; negli altri casi, le vescicole sono stoccate nella cellula e la fusione con la membrana plasmatica avviene soltanto in risposta a segnali di comunicazione cellulare.

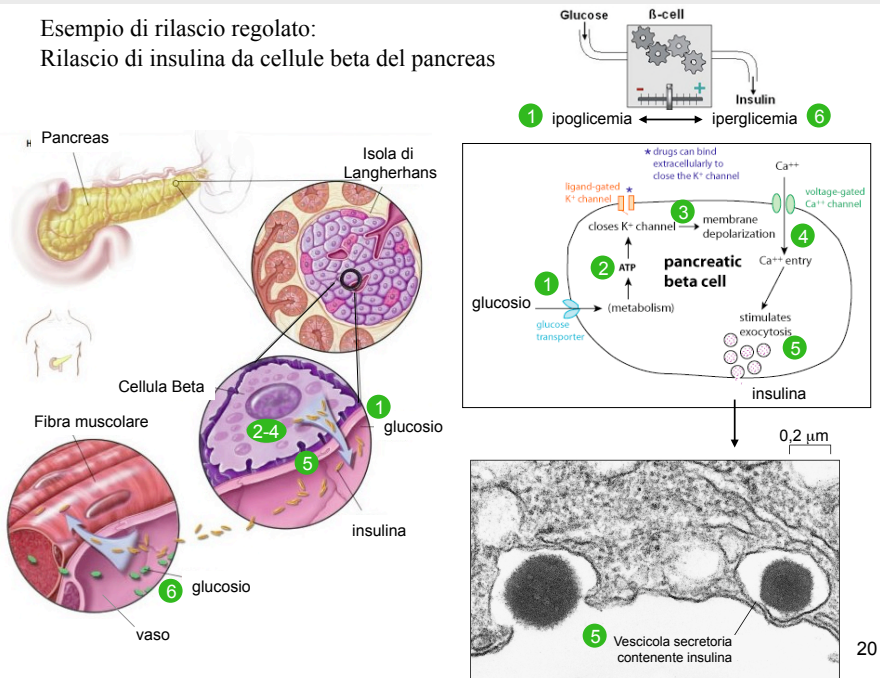


Esempio di rilascio regolato:
Rilascio di neurotrasmettitori dal
neurone presinaptico



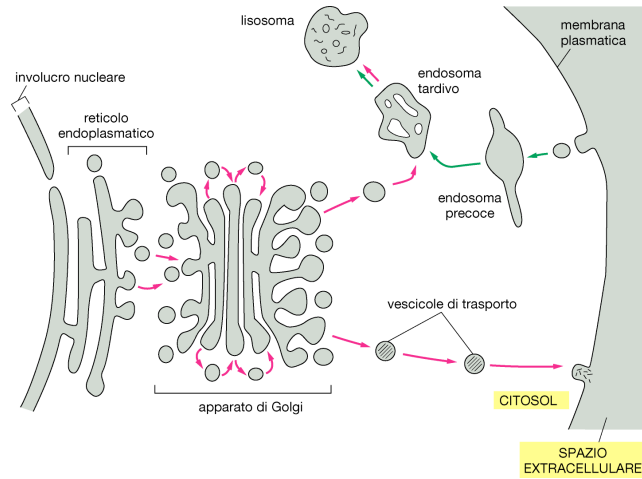
19

Esempio di rilascio regolato:
Rilascio di insulina da cellule beta del pancreas



20

Oltre alle vescicole di secrezioni sono prodotte dal TGN vescicole precursori dei lisosomi: queste vescicole contengono specificamente gli enzimi lisosomali e sono rivestite di clatrina

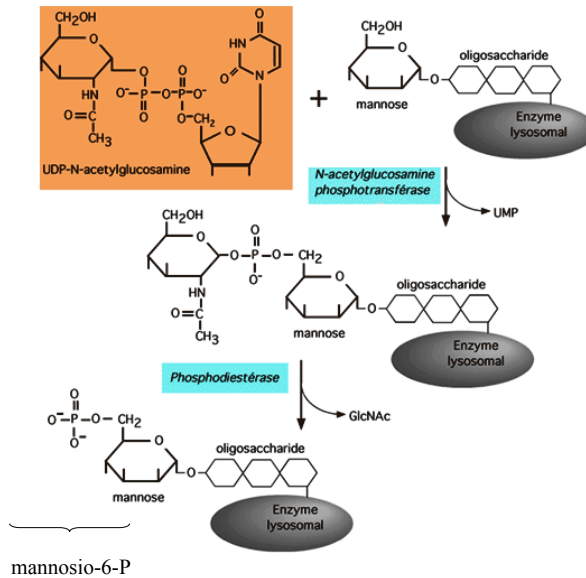


21

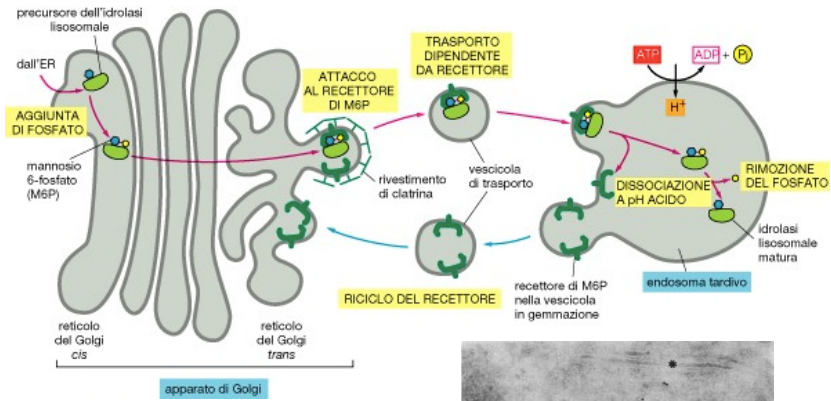
Smistamento degli enzimi lisosomali

L'oligosaccaride legato a N del precursore dell'idrolasi lisosomiale, costruito nel RE, viene modificato nel reticolo del Golgi *cis*. Il segnale di smistamento degli enzimi lisosomali precursori consiste nell'aggiunta di un gruppo fosfato in corrispondenza del carbonio in posizione 6 del mannosio nel Golgi *Cis*.

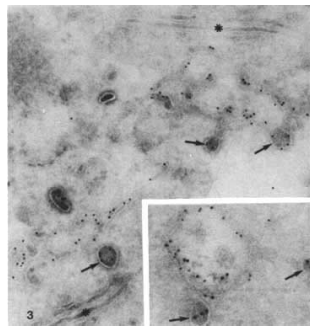
Il mannosio-6-P sarà poi riconosciuto da specifici recettori transmembrana nel *Trans Golgi network* (TGN) che permetteranno l'indirizzamento degli enzimi lisosomali in specifiche vescicole.



22

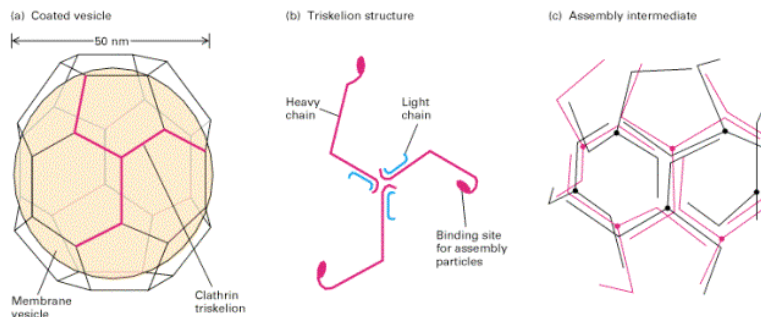
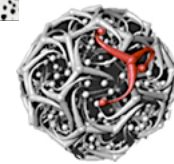
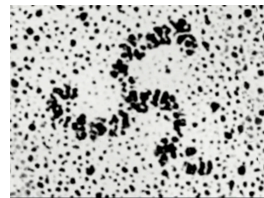


Immunogold con anticorpi anti mannosio-6-P



23

Il ruolo della clatrina è simile a quello dei coatomeri COP I e COP II
 L'associazione delle molecole di clatrina catalizzata dalla presenza di molecole ARF-GTP deforma la membrana del TGN e favorisce la formazione della vescicola. Una volta formata la vescicola ricoperta di clatrina, l'idrolisi del GTP permette il rilascio di ARF-GDP e della clatrina lasciando la vescicola "nuda"



24

Continuità dei compartimenti intracellulari con lo spazio extracellulare

