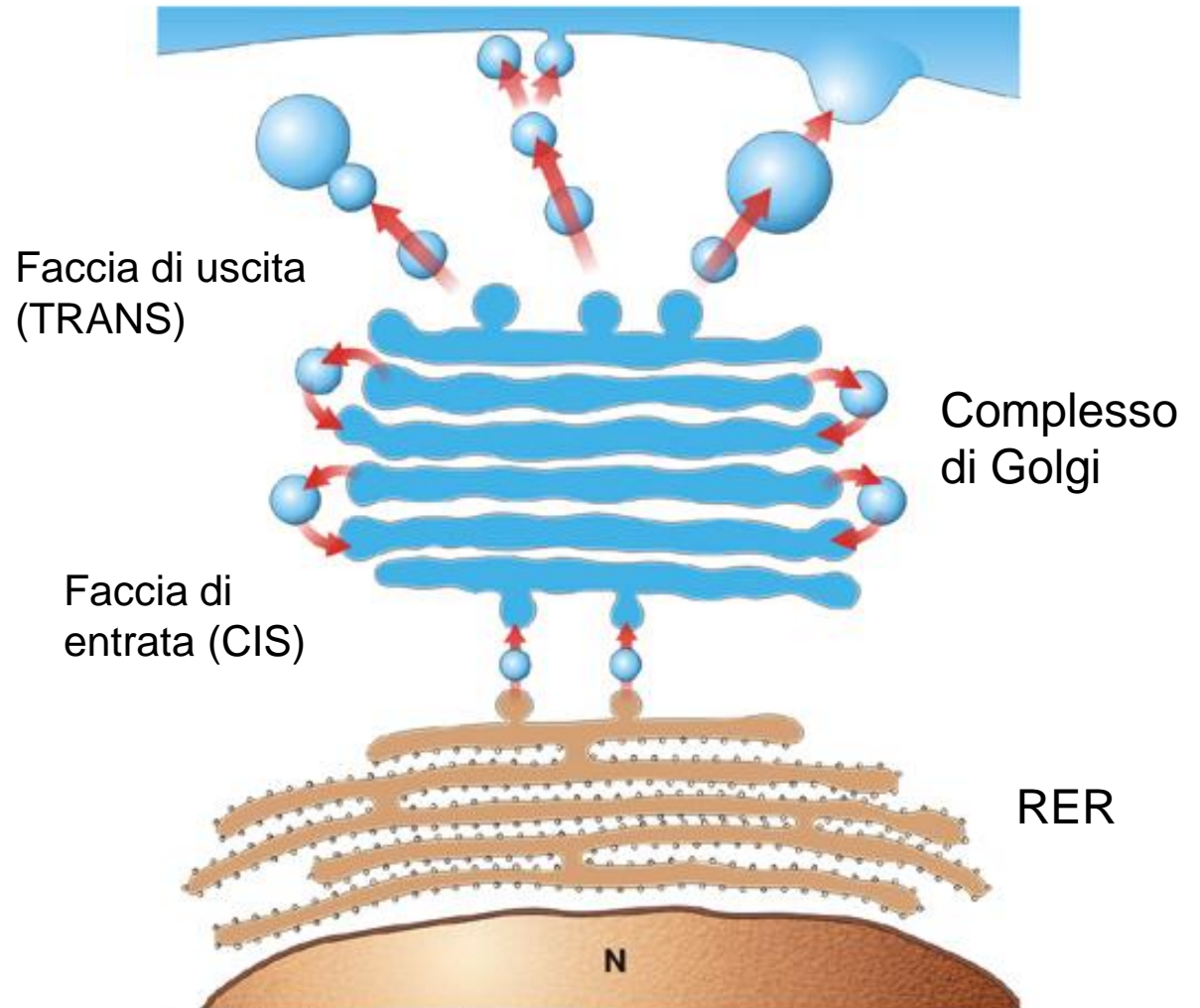


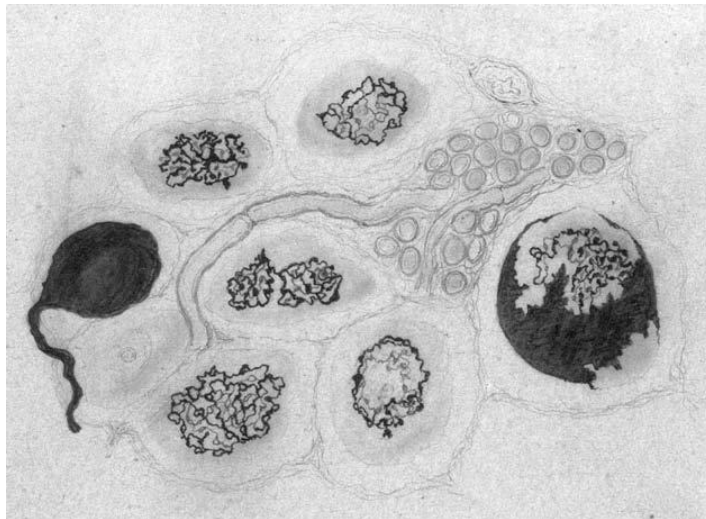
Apparato di Golgi

centro di maturazione e smistamento delle proteine della via secretoria



Il complesso di Golgi è stato scoperto dal biologo cellulare italiano **Camillo Golgi** alla fine del XIX secolo. Lo identificò grazie all'applicazione di un metodo di colorazione basato sui sali d'argento (“**la reazione nera**”), che da tempo usava per studiare i neuroni. Golgi chiamò questo sistema “**Apparato reticolare interno**”.

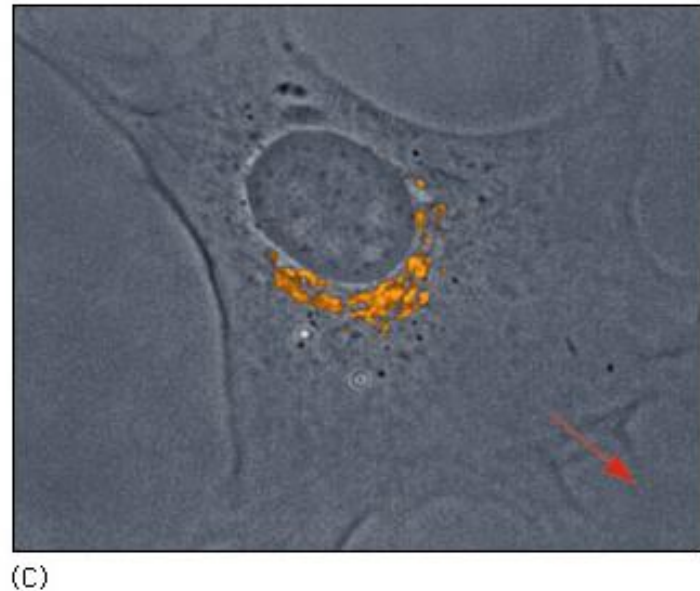
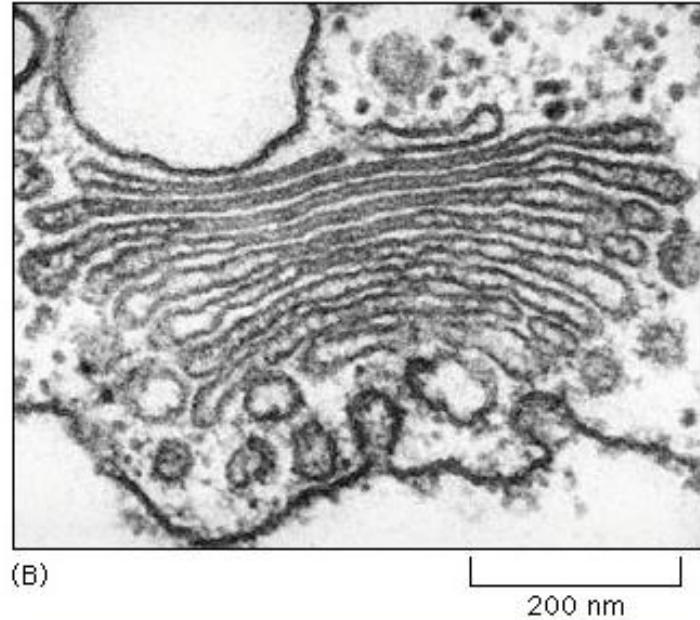
Questo apparato col tempo fu localizzato in tutti i tipi cellulari e contribuì a far vincere a Golgi il **Premio Nobel** nel 1906. Fu il primo premio Nobel italiano e, nel campo della medicina/biologia, fu l'unico attribuito ad un ricercatore che svolse l'intera attività in Italia.



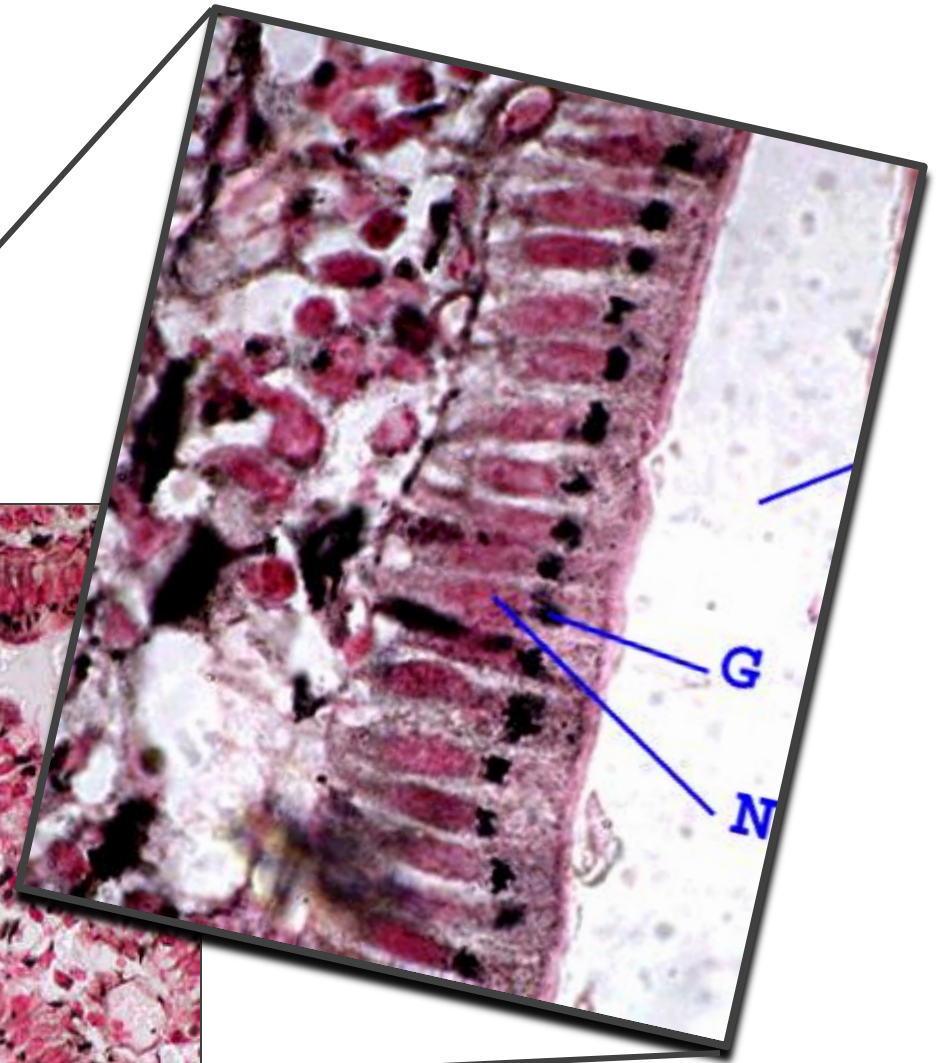
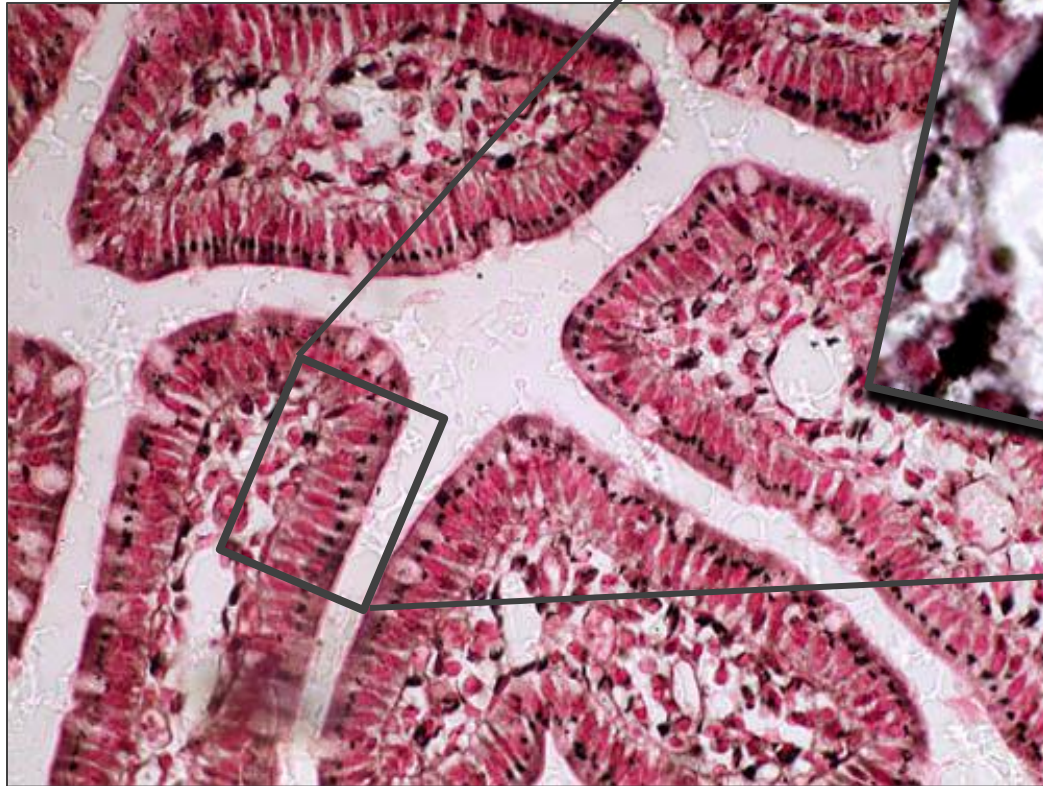
L'esistenza del complesso di Golgi è stata definitivamente dimostrata soltanto 50 anni dopo con l'applicazione del microscopio elettronico.

Disegno originale di Camillo Golgi. Sono rappresentate cellule gangliari colorate con la reazione nera, che mette in evidenza l'apparato reticolare interno

- Al **ME** **l'apparato di Golgi** appare formato da cisterne o sacchi discoidali impilati gli uni sugli 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 $1\ \mu\text{m}$ di diametro detta pila di Golgi o dittiosoma.
- L'apparato di Golgi oggi si può evidenziare anche con **l'immunofluorescenza**, o con la produzione di proteine marker del Golgi ingegnerizzate con **GFP**

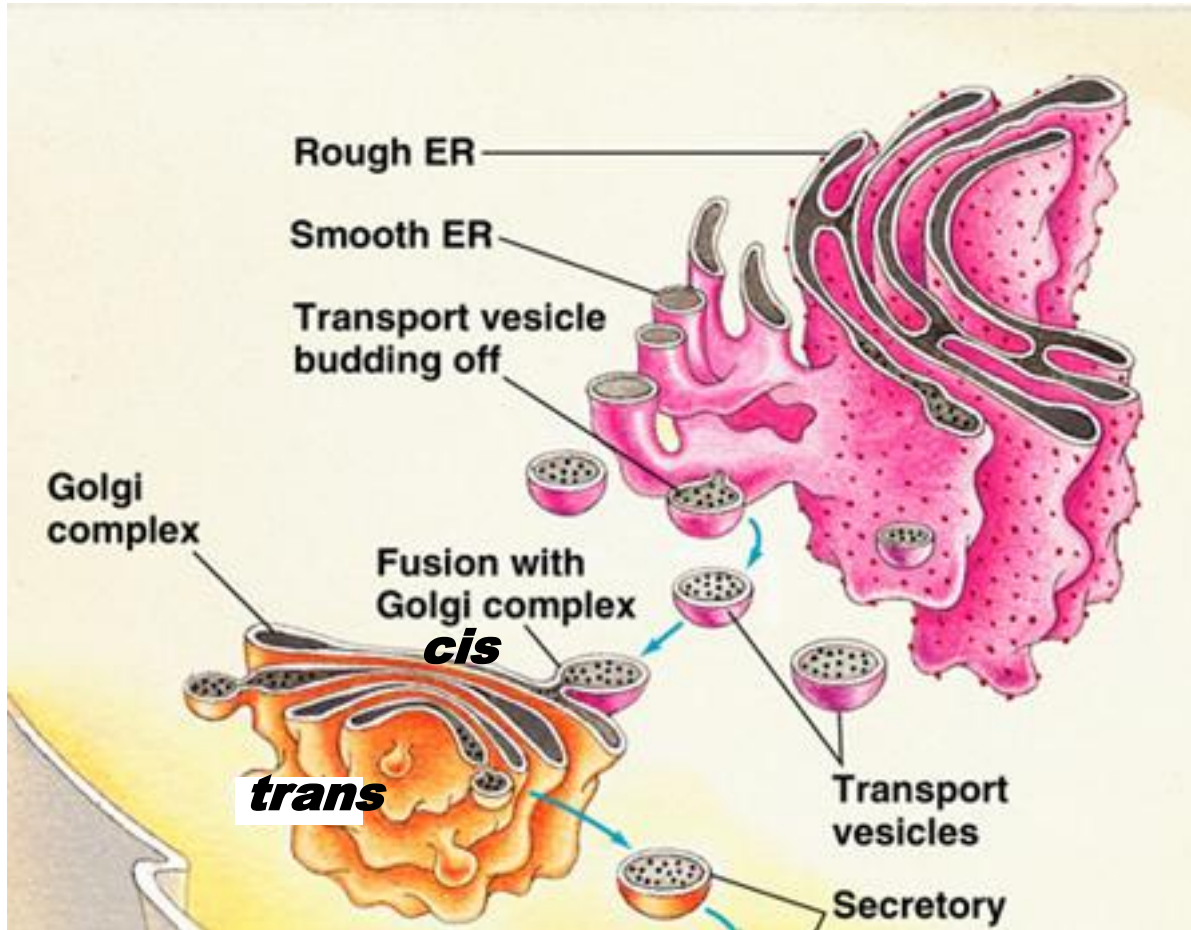


L'**Apparato di Golgi** si può evidenziare al MO su fettine di tessuto processate per l'**impregnazione argentica**. Il precipitato scuro, corrispondente all'Apparato di G., si trova in posizione sovranucleare

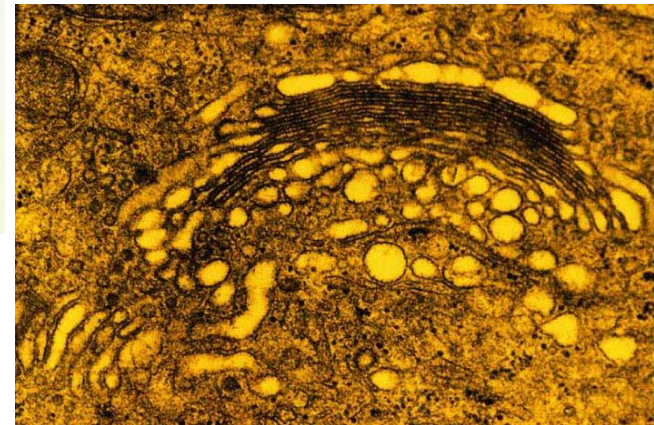


Sezione trasversale di villi intestinali

Nell'apparato di Golgi esiste una polarizzazione strutturale e biochimica.



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

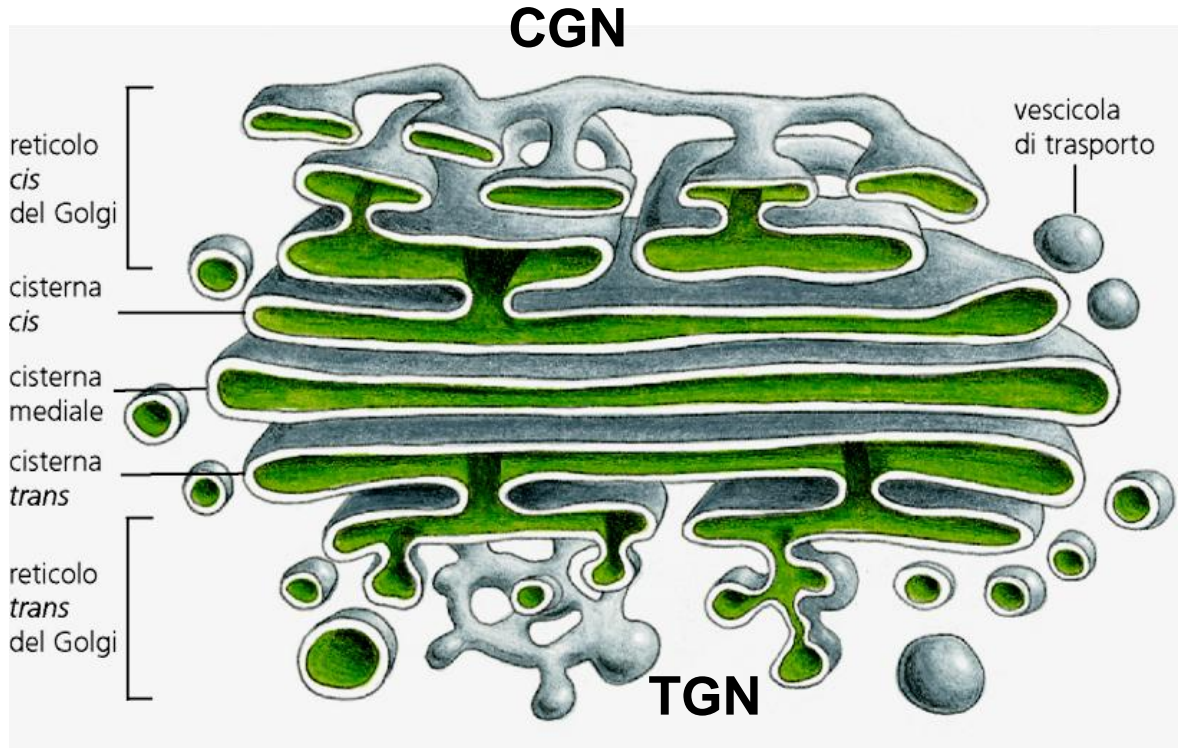


Si distinguono due facce: una **faccia cis** (convessa) rivolta verso il nucleo ed una **faccia trans** (concava) rivolta verso la periferia della cellula.

Trasporto anterogrado nel Golgi

Le vescicole che si trovano in prossimità della **faccia cis**, contenenti proteine neo sintetizzate, si staccano dal RER e si fondono con le membrane della rete del *cis*-Golgi (**CGN**).

A livello della **faccia trans** si formano vescicole per gemmazione dalla rete del *trans*-Golgi (**TGN**), contenenti proteine che verranno distribuite alle varie parti della cellula o secrete all'esterno.



CGN = *cis*-Golgi network
TGN = *trans*-Golgi network

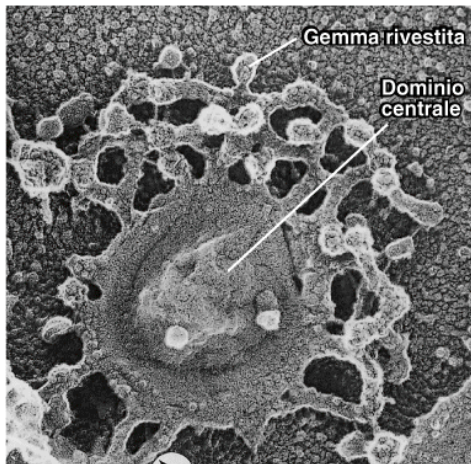


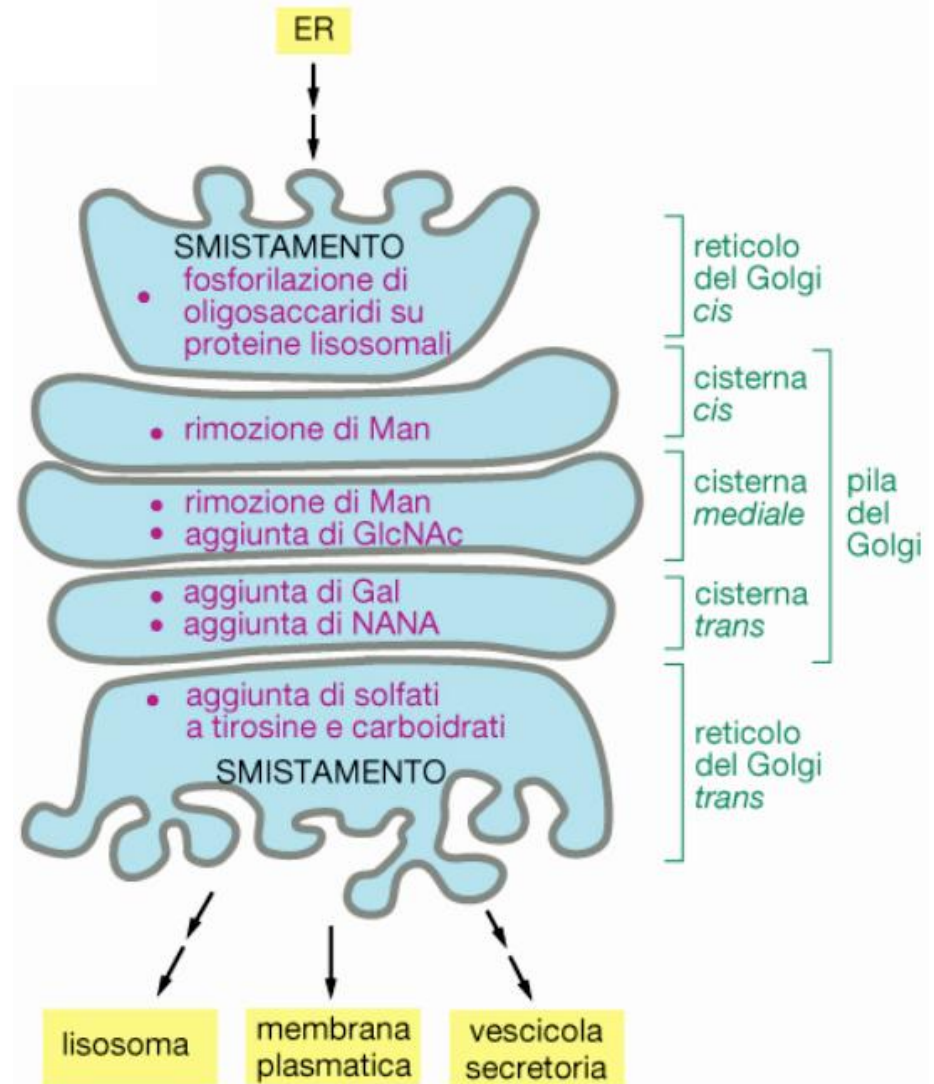
Foto al ME a scansione di una singola cisterna del Golgi con una parte concava centrale e una parte periferica consistente in una rete tubulare da cui gemmano le vescicole

Le cisterne del Golgi sono funzionalmente differenziate

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

- Glicosilazioni (in O) o modificazioni dei residui oligosaccaridici già associati alle proteine.
- Modificazione della struttura di alcune proteine (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(Nacetilglucosammina), Man (Mannosio), Gal (galattosio), NANA o acido sialico (Nacetilneuramminico)



Maturazione delle glicoproteine nel Golgi

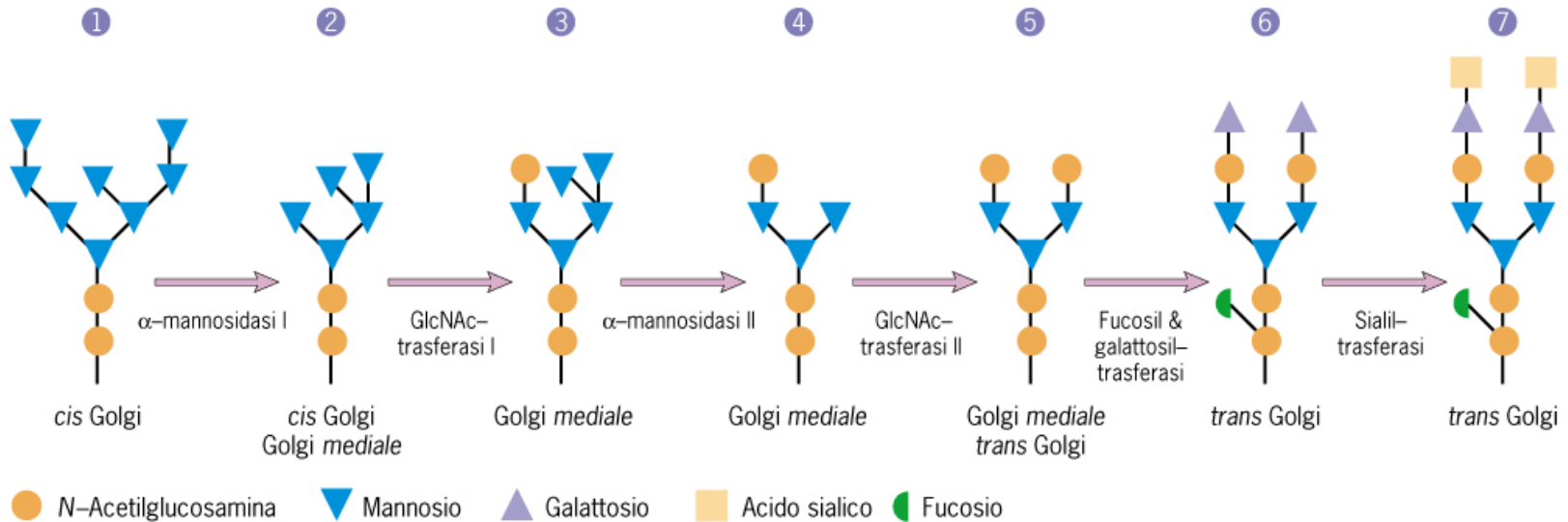
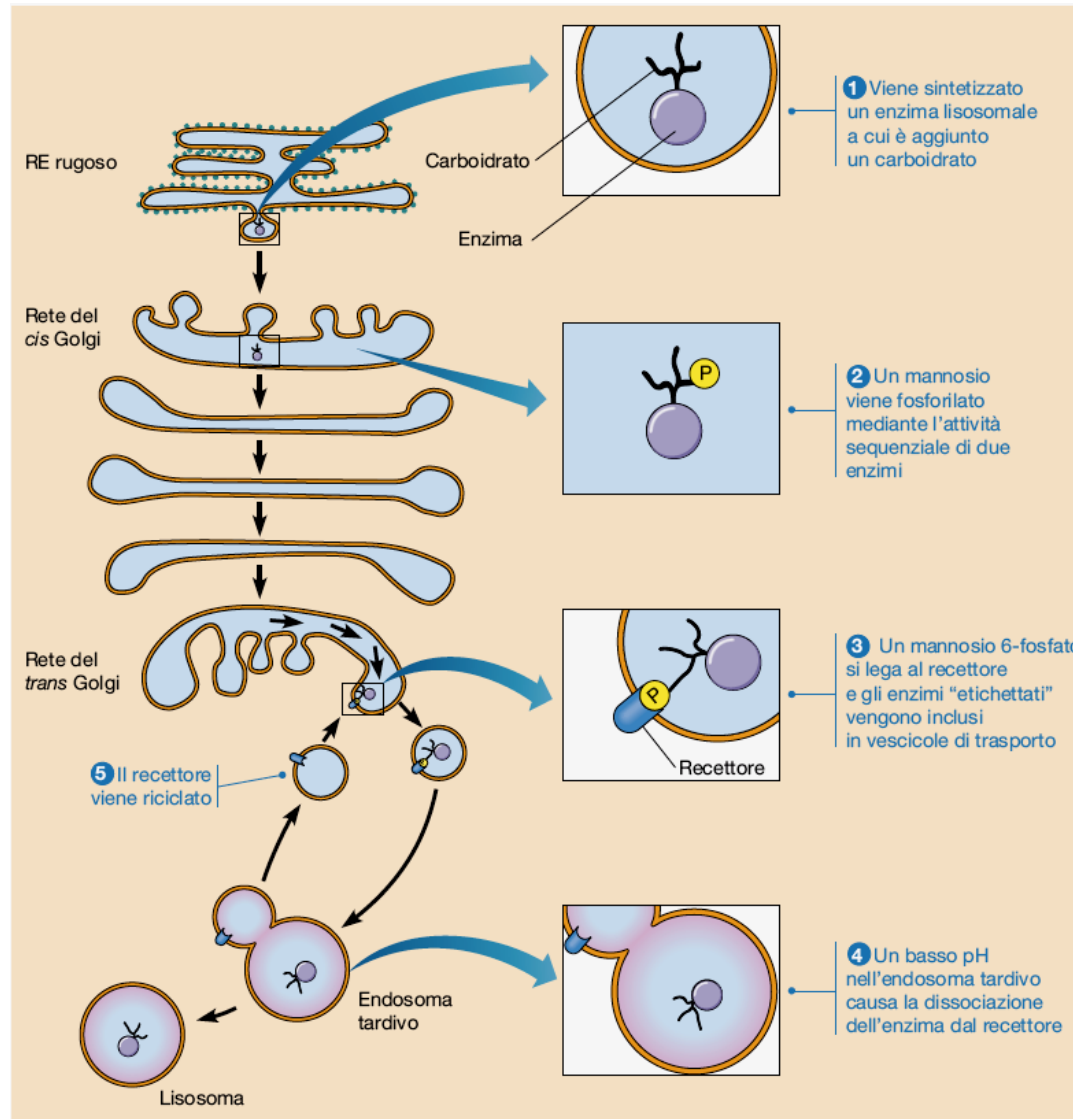


FIGURA 8.22 Tappe nella glicosilazione di un oligosaccaride legato all'azoto nel complesso di Golgi di un mammifero. Dopo la rimozione di tre residui di glucosio, sono rimossi successivamente diversi residui di mannosio, mentre vari zuccheri (*N*-acetilglucosamina, ga-

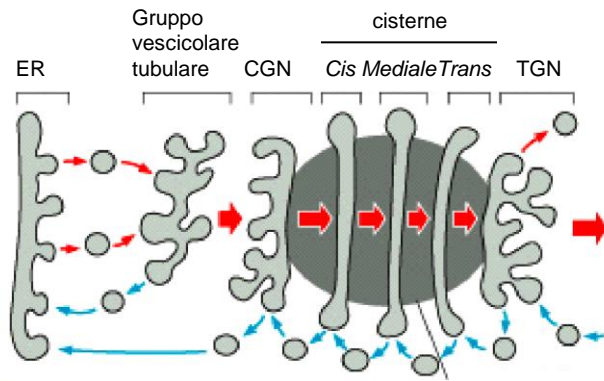
lattosio, fucosio e acido sialico) sono aggiunti all'oligosaccaride da glicosiltrasferasi specifiche. Questi enzimi sono proteine integrali di membrana, i cui siti attivi si affacciano sul lume delle cisterne del Golgi. Questa è solo una delle numerose vie di glicosilazione.

Tra le funzioni dell'Apparato del Golgi c'è **la fosforilazione di un mannosio legato alle proteine destinate ai lisosomi**, tale funzione avviene nel *cis*-Golgi. La presenza di un **mannosio-6-fosfato** costituisce un segnale per il corretto **indirizzamento degli enzimi lisosomiali**

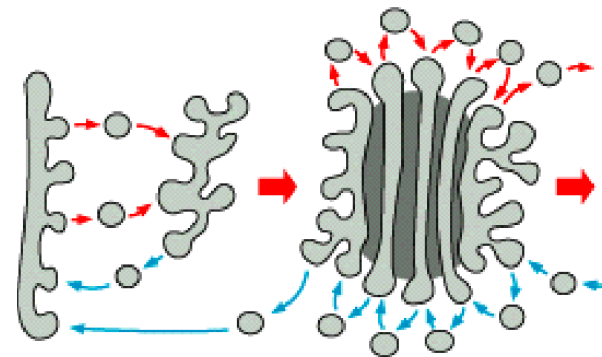


Qual è il meccanismo di trasporto attraverso le cisterne del Golgi?

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.



Modello della maturazione delle cisterne

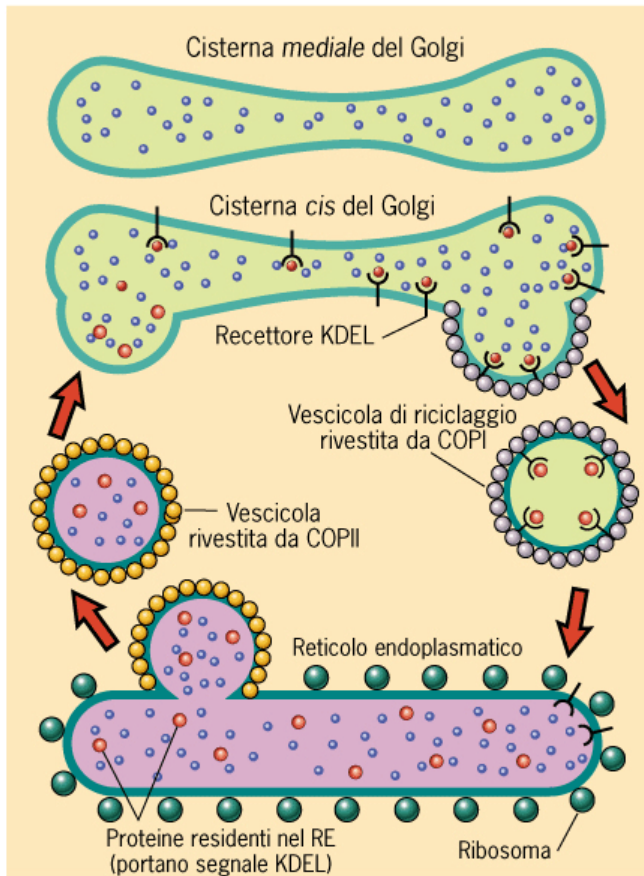


Modello del trasporto vescicolare

Entrambi i meccanismi probabilmente coesistono e si complementano anche nella stessa cellula

Il ritorno al RER

Il **trasporto retrogrado** (Golgi ---> RER) permette di ricondurre al RER proteine solubili o transmembrana residenti nel RER. Queste proteine possiedono segnali di “recupero” per il RER.

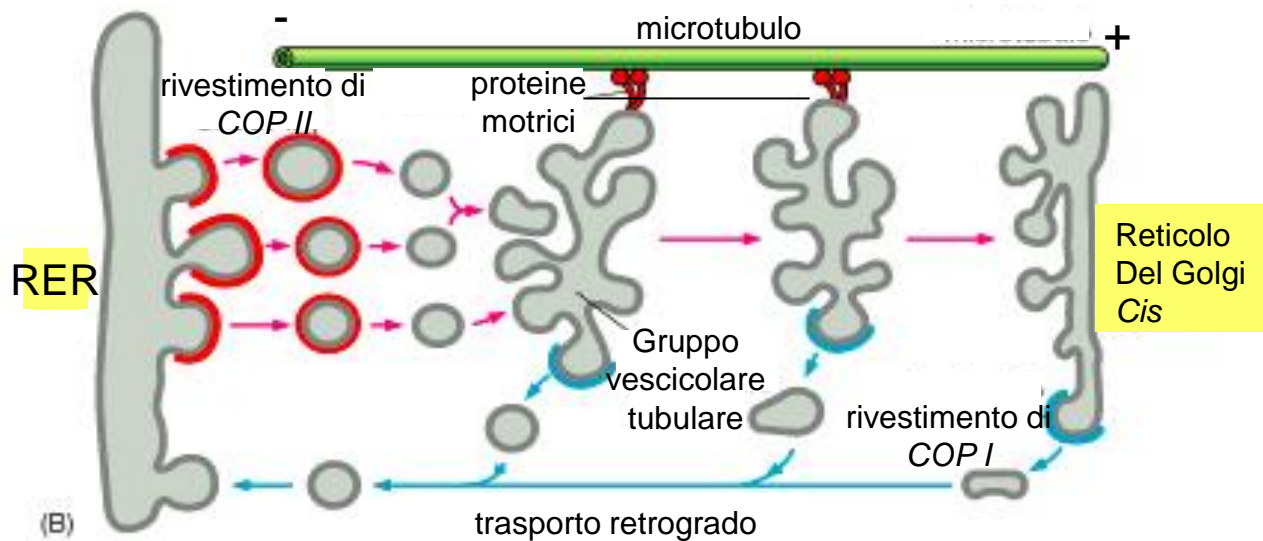


| Tipi di segnali di recupero | |
|---|---|
| Segnale KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) | |
| PROTEINE SOLUBILI | - Ser Glu Lys Asp Glu Leu -COOH BiP |
| Segnale dilisina (Lys-X-Lys) o (Lys-Lys) | |
| PROTEINA TRANSMEMBRANA DI TIPO I | -TM- Val Lys Lys Ala His Lys Ser Lys Thr His -COOH UDP-glucuronosil-transferasi 1A |
| | -TM- Arg Ser Phe Ile Asp Glu Lys Lys Met Pro -COOH Proteina E19 di Tipo 2 dell'adenovirus |
| Segnale diarginina (Arg-Arg) o (Arg-X-Arg) | |
| PROTEINE TRANSMEMBRANA DI TIPO II | -TM- Met His Arg Arg Arg Ser Arg Ser Cys Arg -NH ₂ Catena invariante associata alle MHC di classe II |

L'esistenza di questo meccanismo di recupero sostiene il modello della “maturazione delle cisterne del Golgi”

Rivestimento delle vescicole nel traffico RER-Golgi

In maggioranza, le vescicole che dal RER 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 RER (**trasporto retrogrado** di recupero) sono rivestite di proteine **COP I** (coatomer I).

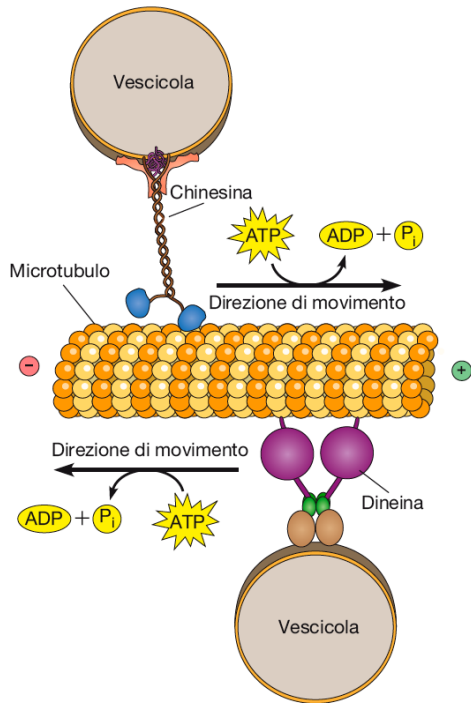


Notare lo **spostamento delle vescicole lungo i microtuboli** (elementi del citoscheletro).

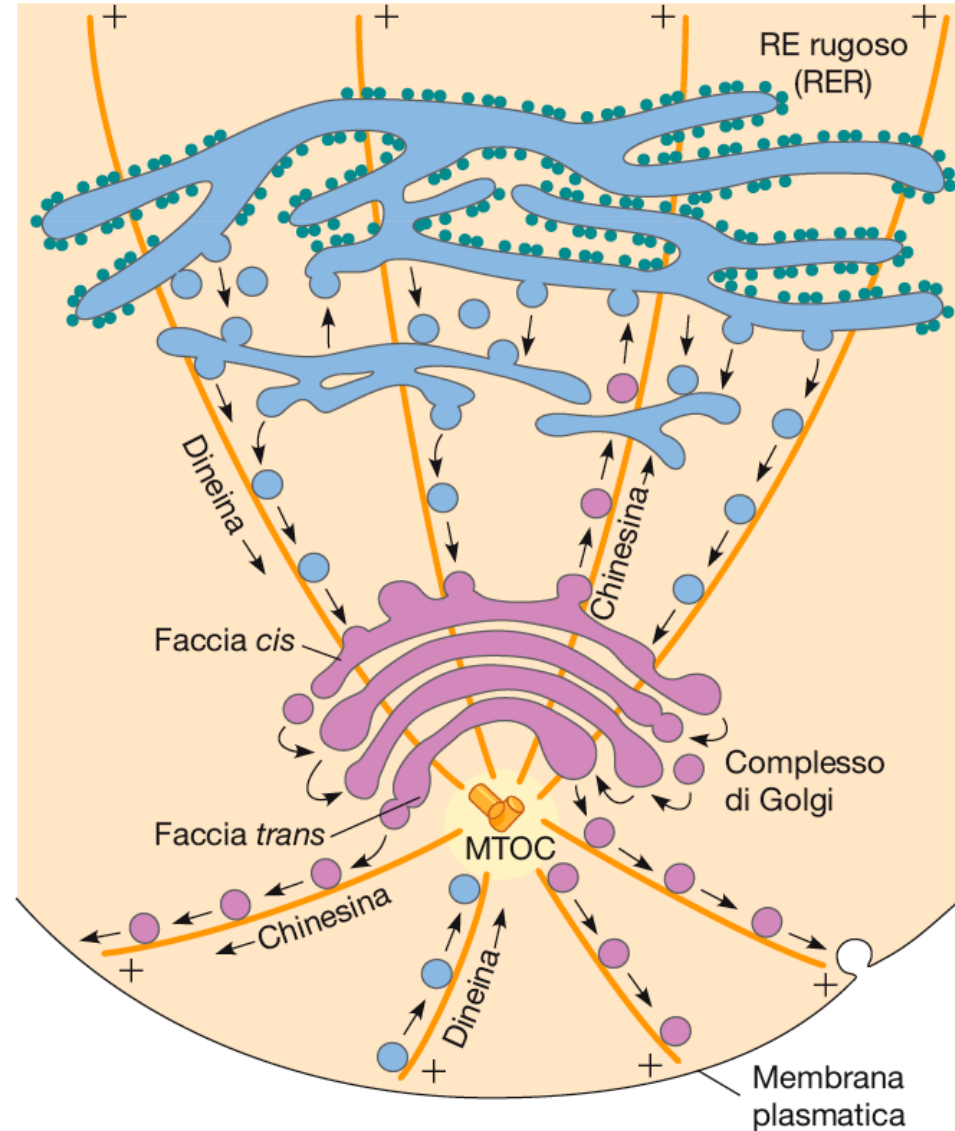
Le vescicole di RER e Golgi si muovono lungo i microtuboli

Proteine motrici che si spostano verso l'estremità (+) dei microtubuli (**kinesine**), mediano il **trasporto dal Golgi al RER e dal Golgi alla membrana plasmatica**.

Proteine motrici che si spostano verso l'estremità (-) dei microtubuli, (**dineine**), mediano il **trasporto dal RER al Golgi**.

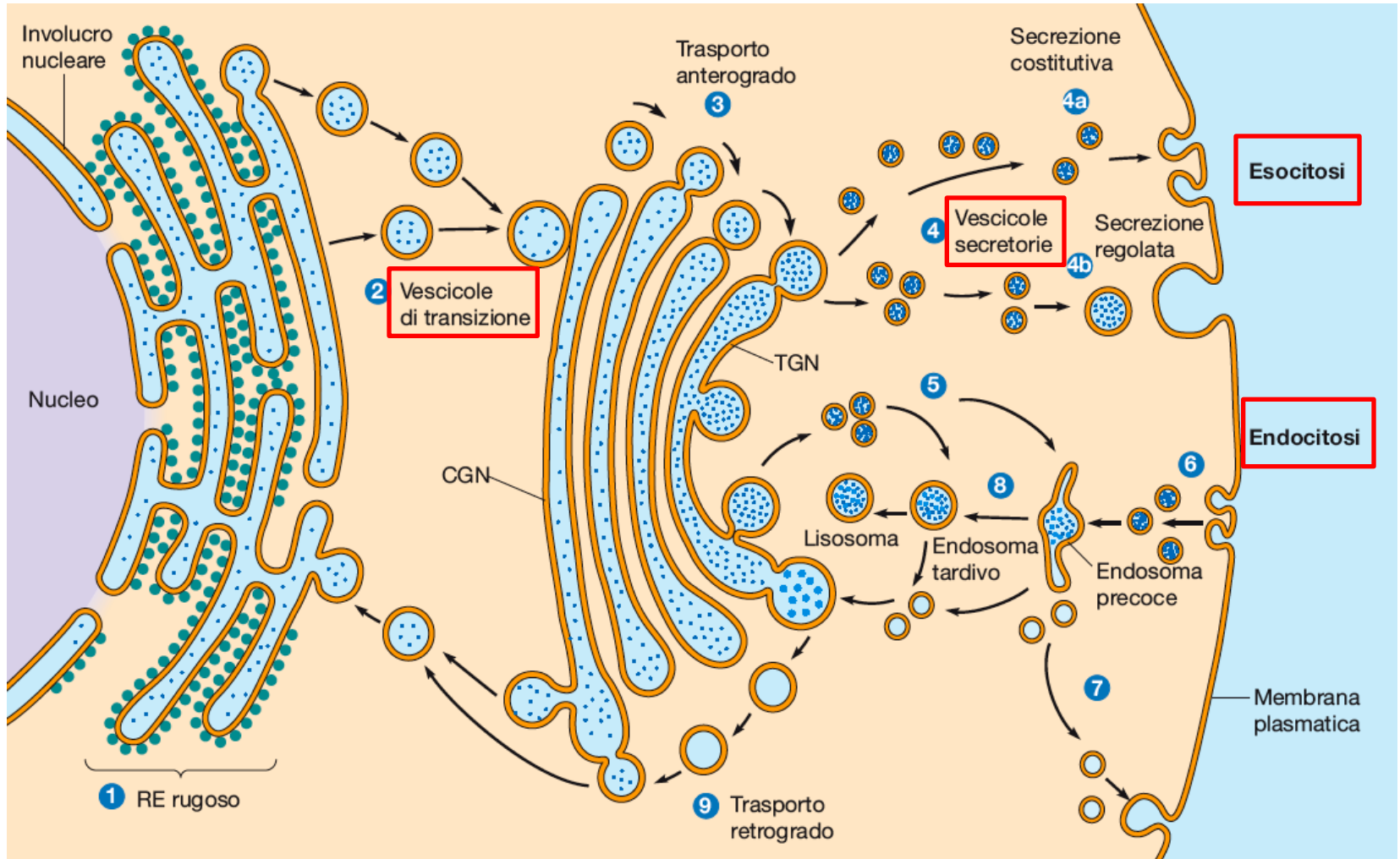


L'organizzazione e la localizzazione dell'apparato di Golgi dipendono dall'interazione con i microtuboli. Se i microtuboli vengono depolimerizzati, l'apparato di Golgi perde la sua tipica organizzazione e le pile rimangono sparse in tutto il citoplasma.



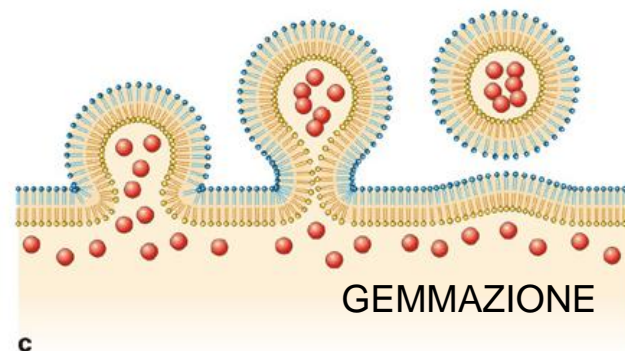
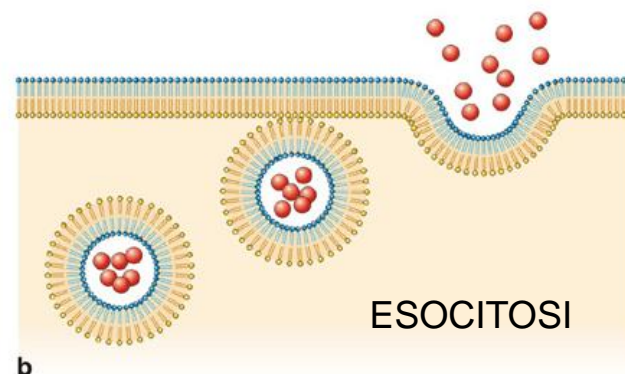
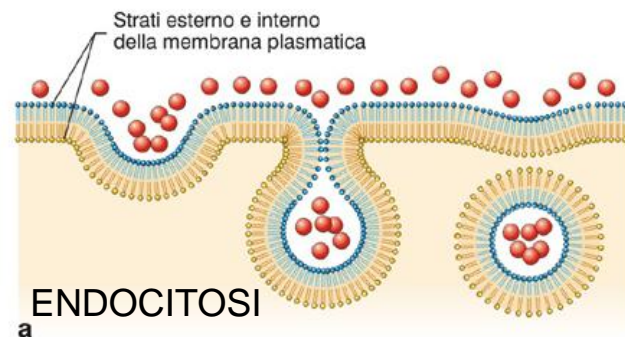
MTOC = microtubule organizing center

Una visione globale del traffico vescicolare nella cellula

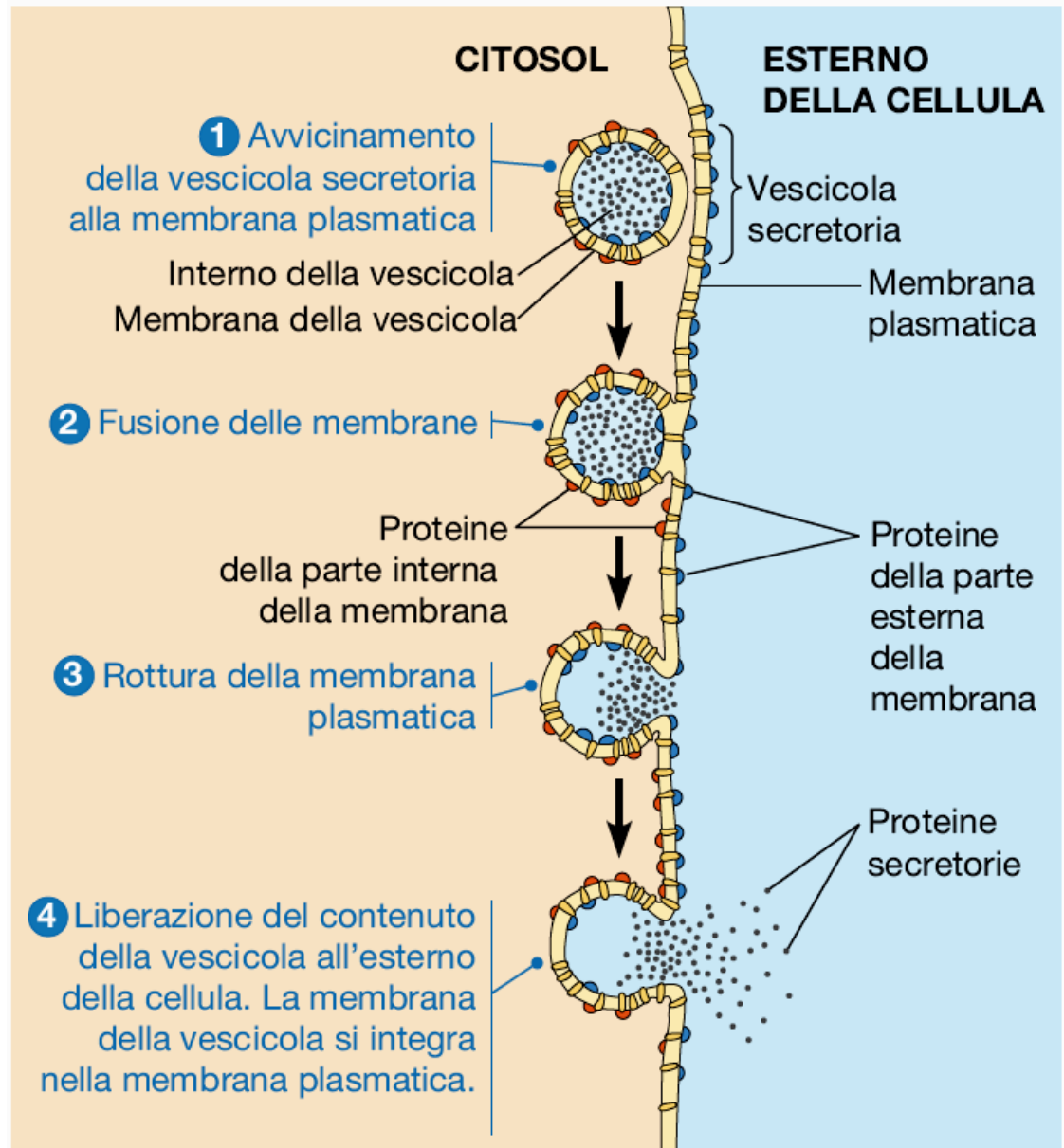


Endocitosi, esocitosi e gemmazione si basano su meccanismi analoghi

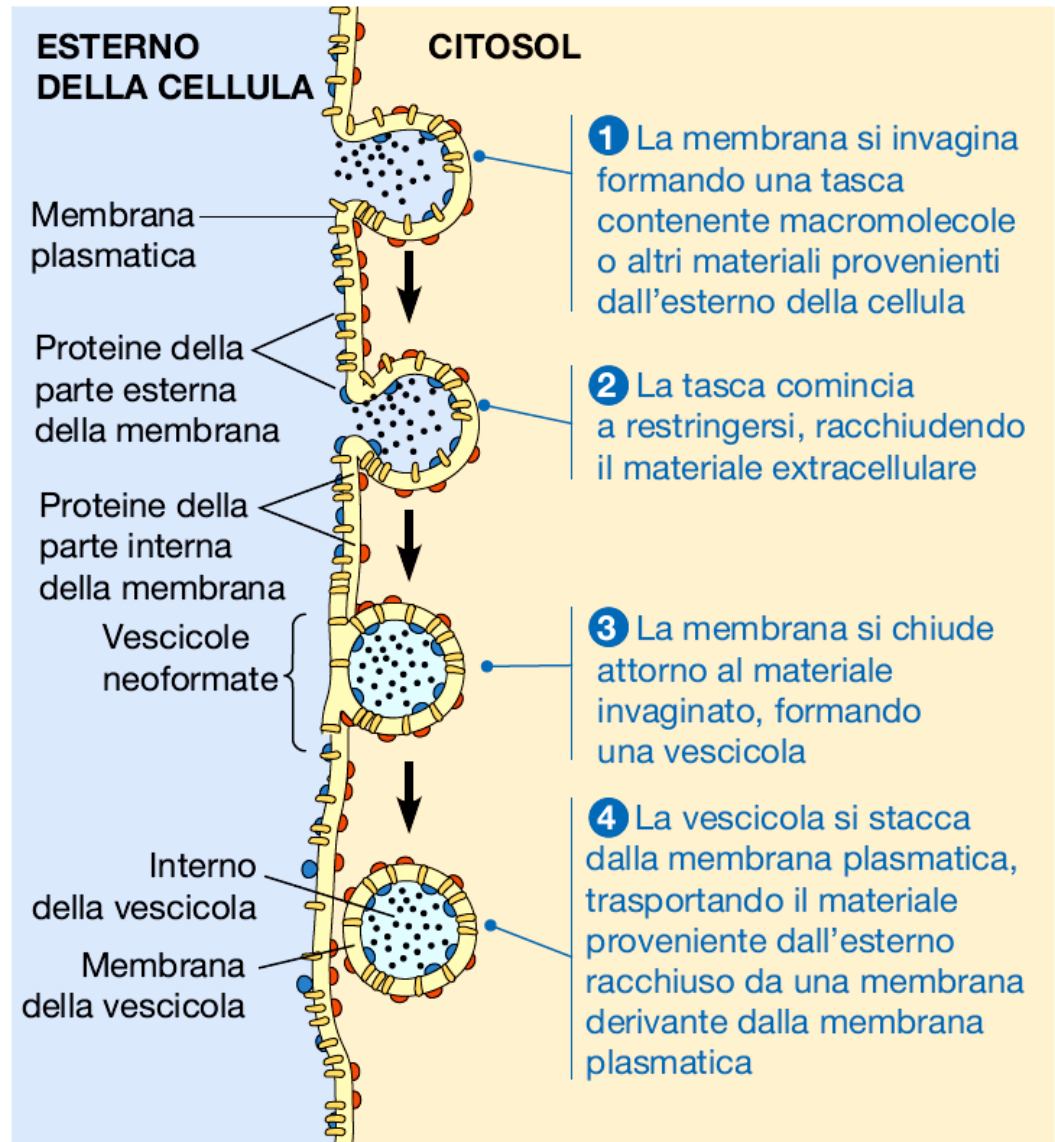
La **formazione di vescicole**, sia che avvenga a carico del RE, dell'Apparato di Golgi, della membrana plasmatica, o di altri organelli, utilizza gli stessi meccanismi di base. Lo stesso avviene per i meccanismi di fusione delle membrane



Il processo di esocitosi

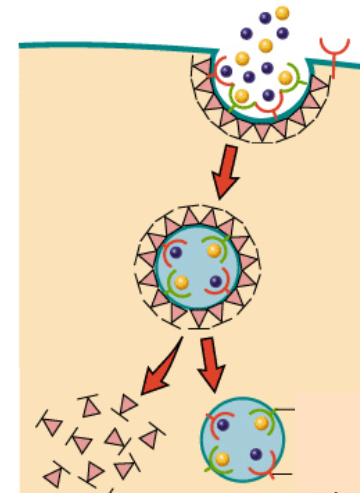


Il processo di endocitosi



Come si formano le vescicole?

Nell'endocitosi mediata da recettore (il meccanismo di endocitosi meglio conosciuto) il legame della molecola da endocitare con un recettore di membrana scatena l'endocitosi.

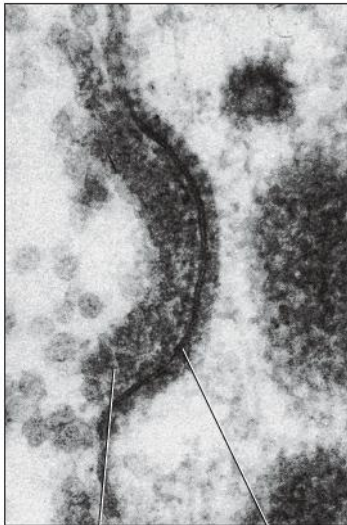


1 Particelle di tuorlo in una fossetta rivestita: una invaginazione poco profonda della membrana plasmatica con un rivestimento di clatrina sulla sua superficie interna.

2 Con l'aggiunta di clatrina si forma una fossetta rivestita più profonda, che forza la membrana a piegarsi e a intrappolare altre particelle libere di tuorlo.

3 L'ulteriore curvatura porta alla formazione di una vescicola rivestita, qui mostrata appena prima della gemmazione dalla membrana plasmatica.

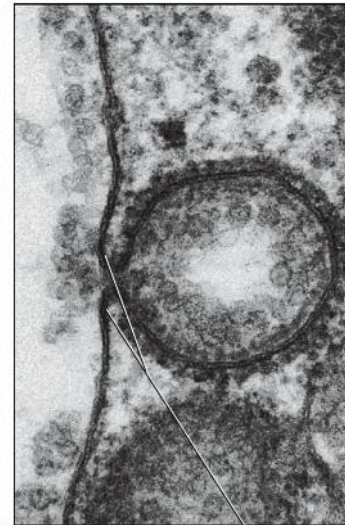
4 Una vescicola rivestita appena formata al di sotto della membrana plasmatica e ha ancora un rivestimento di clatrina intatto.



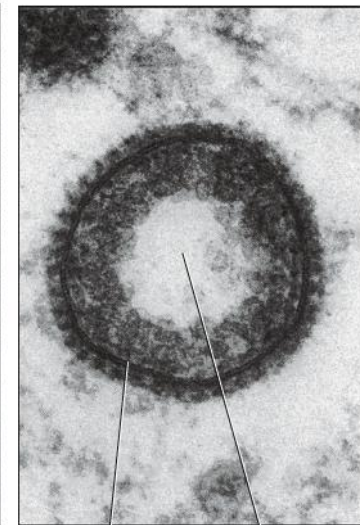
Particelle di tuorlo in una fossetta rivestita
Rivestimento di clatrina



Fossetta rivestita

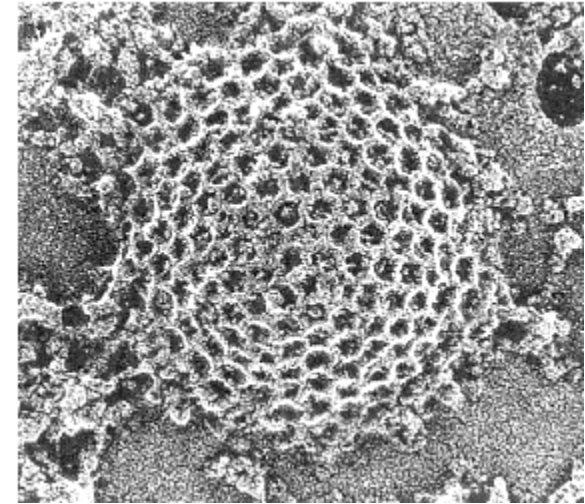


Membrane poco prima della fusione



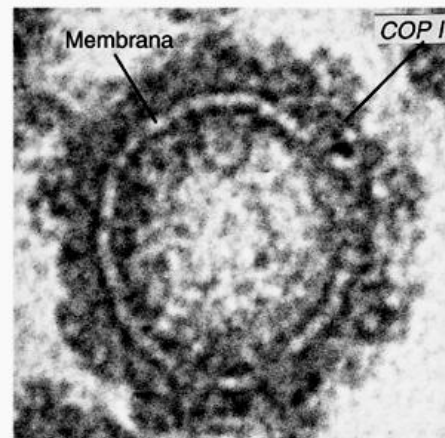
Rivestimento di clatrina
Vescicola rivestita

Fossetta rivestita di **clatrina** che si sta trasformando in una vescicola endocitotica vista dall'interno della membrana plasmatica. Notare che il rivestimento è costituito da unità esagonali.

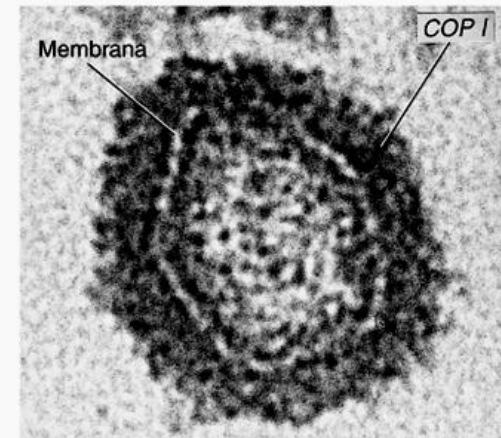


Altre proteine, come COP-I e COP-II, svolgono funzioni simili sulle vescicole che gemmano dal RER (**COP-II**, trasporto anterogrado) e dal CGN (**COP-I**, trasporto retrogrado al RER)

FIGURA 8.24 Vescicole rivestite. Queste fotografie al microscopio elettronico mostrano le membrane di queste vescicole rivestite sulla loro superficie esterna (citocolica) da uno specifico rivestimento proteico. La prima foto (a) mostra una vescicola rivestita da COPII, mentre la seconda (b) mostra una vescicola rivestita da COPI. (PER GENT. CONC. DI RANDY SCHEKMAN E LELIO ORCI).



(a)



(b)

20 nm

Le unità strutturali dei reticoli di clatrina sono proteine multimeriche, costituite da tre catene pesanti e tre catene leggere unite a formare una struttura a tre gambe chiamata **TRISKELION** (o triscele)

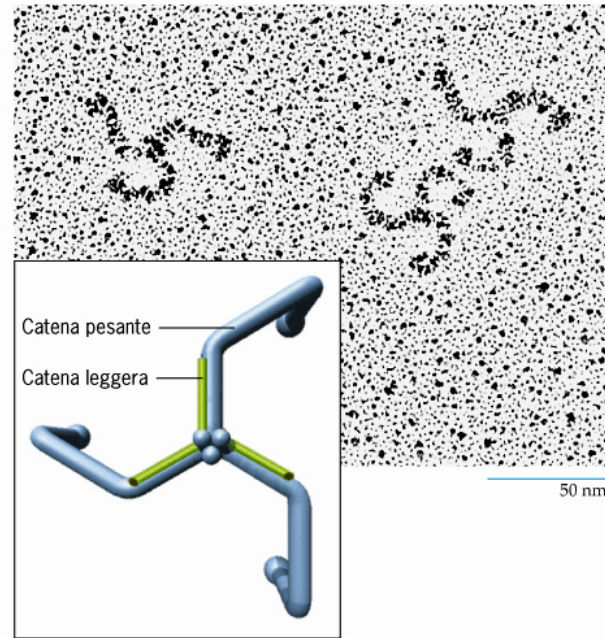
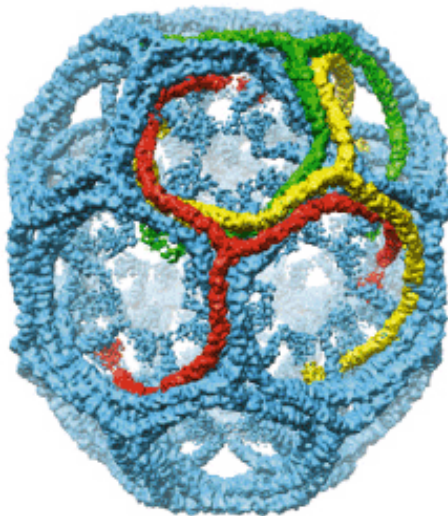


FIGURA 8.39 Trischelio di clatrina. Fotografia al microscopio elettronico di una preparazione, ombreggiata con metallo, di trischeli di clatrina. La figura nel riquadro mostra che il trischelio è composto da tre catene pesanti. La “parte” più interna di ciascuna catena pesante è legata ad una catena leggera più piccola. (FOTOGRAFIA DI ERNST UNGEWICKELL E DANIEL BRANTON, NATURE, 289:421, 1981. © COPYRIGHT 1981, MACMILLAN MAGAZINES LTD).

Con la ME e la cristallografia ai raggi X, è stata ricostruita una gabbia di clatrina contenete 36 trisceli. Notare che le molecole di clatrina risultano tra loro parzialmente sovrapposte, e formano gli esagoni e pentagoni della caratteristica gabbia