



Apparato di Golgi

Biotechnologie



Camillo Golgi



- ✦ Córteno, 1843 – Pavia, 1926
- ✦ 1876: Cattedra di Istologia, Uni PV
- ✦ 1893: Rettore, Uni PV
- ✦ Premio Nobel per la Medicina 1906

Il Nobel

Nel 1906 Camillo Golgi riceve il Premio Nobel per la medicina insieme al collega spagnolo Santiago Ramón y Cajal.

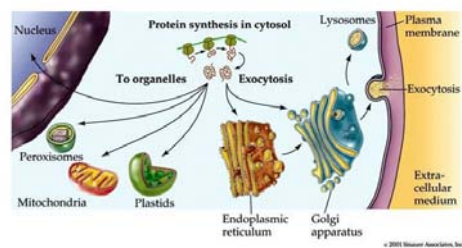
Il Nobel è dovuto alla sua principale scoperta: la **"reazione nera"** o "metodo di Golgi", una tecnica rivoluzionaria che ha permesso per la prima volta nella storia di colorare un'intera cellula e i suoi prolungamenti, svelandone la complessa morfologia. Ma a queste date, Golgi si era reso protagonista di una nuova scoperta rivoluzionaria che ha cambiato le concezioni strutturali della cellula. Osservando i gangli spinali, con una variante del metodo cromoargentico, ha scoperto in alcune cellule un apparato filamentoso convoluto disposto in maniera tale da formare una rete citoplasmatica nettamente separata dal nucleo e dalla membrana cellulare



<http://www.museogolgi.it/golgi.htm>

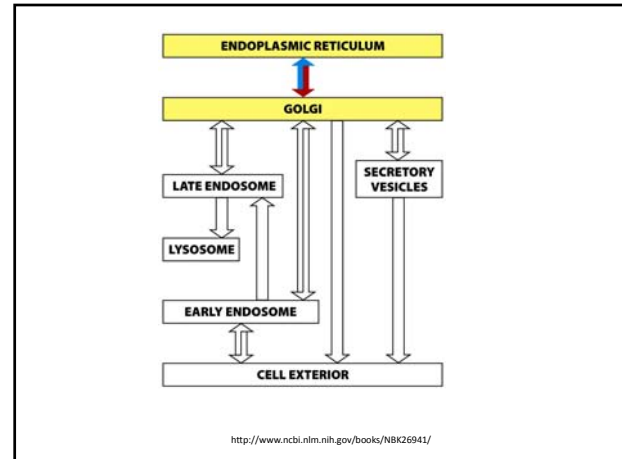
Eventi post-traduzionali

Specifici segnali, contenuti nella sequenza amminoacidica delle proteine, le dirigono alle loro destinazioni cellulari finali

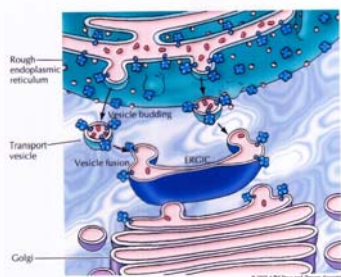


Sistema delle endomembrane

ESPORTAZIONE DI PROTEINE E LIPIDI DAL RE



Trasporto vescicolare dal Reticolo Endoplasmatico all'apparato di Golgi



Le **proteine** e **lipidi** sono trasportati dal ER al Golgi mediante **vescicole di trasporto** che gemmano dalla membrana dell'ER e si fondono con le vescicole e tubuli dei compartimenti intermediario fra l'ER e il Golgi (**ERGIC**). Le **proteine del lume** dell'ER sono catturate da vescicole e rilasciate nel lume del Golgi. Le **proteine di membrana** mantengono lo stesso orientamento nel Golgi che avevano nell'ER.

Apparato di Golgi

ORGANIZZAZIONE

Apparato di Golgi (1)

- ✚ Funziona come una «**fabbrica di carboidrati**» in quanto le glicoproteine, i polisaccaridi (nelle piante) e i proteoglicani ricevuti dall'ER sono ulteriormente processati.
 - ◆ Questo processamento permette a tali molecole di partecipare a numerose funzioni biologiche specializzate sulla superficie cellulare.
- ✚ Funziona come **stazione di smistamento**, per la consegna di proteine a diverse destinazioni nella cellula:
 - ◆ **Membrana plasmatica, secrezione verso l'esterno della cellula, smistamento al sistema di endosomi/lisosomi, oppure riconsegna in dietro all'ER.**

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,

Apparato di Golgi (2)

- ✚ **Sito di sintesi di sfingomielina e glicosfingolipidi:**
 - ◆ Questi lipidi sono in grado di **impacchettarsi strettamente nella membrana, ispessendola e rendendola meno permeabile alle molecole solubili in acqua.**
 - ◆ L'affinità fra tali lipidi quando il colesterolo è presente porta ulteriormente alla formazione di domini discreti di membrana – «**lipid rafts**» (zattere lipidiche) che possono concentrare o escludere proteine di membrana.
 - ◆ I «rafts lipidici» fungono da **piattaforme per l'associazione di diverse molecole di segnalamento** e possono iniziare la formazione dei vettori di trasporto che gemmano dall'apparato di Golgi.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,

Apparato di Golgi (3)

- ✚ **L'apparato di Golgi è un organello costantemente rinnovato**, non una struttura cellulare permanente dato che sia le sue proteine che i suoi lipidi si muovono continuamente lungo diverse vie.
- ✚ **Nessun tipo di proteina del Golgi è stabilmente associata all'organello.**
- ✚ Le proteine integrali di membrana associate al Golgi, incluso gli enzimi di processamento e le proteine che permettono il riconoscimento specifico delle sostanze da trasportare («carga»), le proteine SNAREs, entrano ed escono costantemente mediante vie di traffico di membrana che portano o partono dall'ER.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

Apparato di Golgi (4)

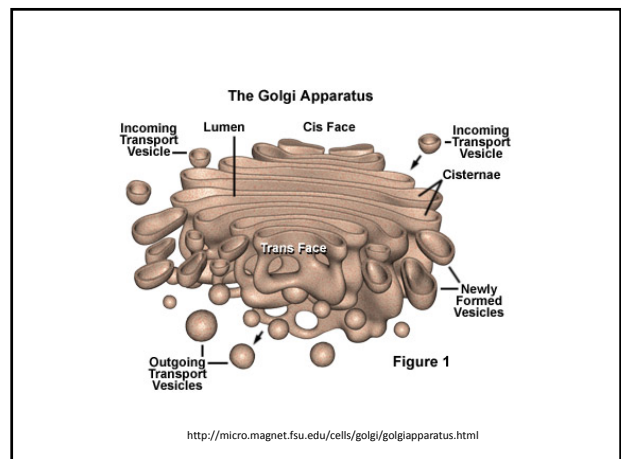
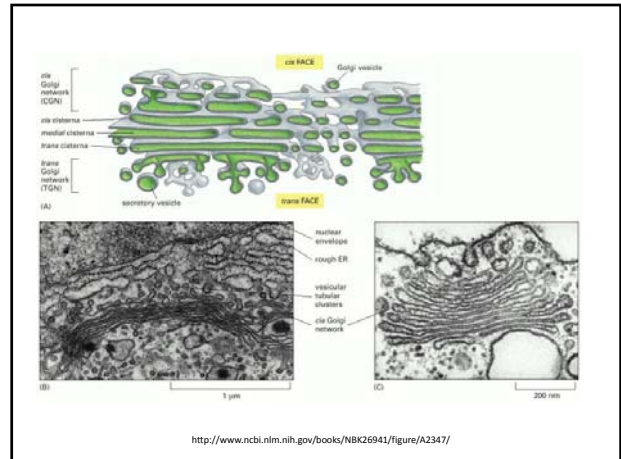
- ✚ Le proteine periferiche di membrana, incluso quelle di rivestimento delle vescicole di trasporto e proteine di ancoraggio, vengono costantemente scambiate fra le membrane del Golgi e con i «pools» citoplasmatici.
- ✚ Le proteine di nuova sintesi trasportate e destinate alla secrezione che provengono dall'ER entrano nel Golgi a livello della faccia **cis**, attraversano la cascata e successivamente la lasciano dalla faccia **trans**.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

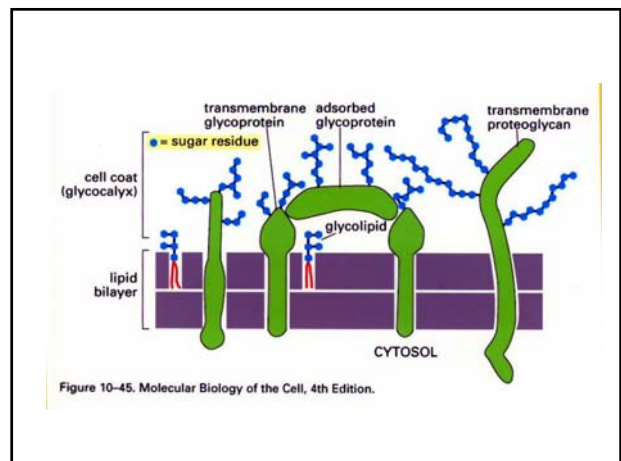
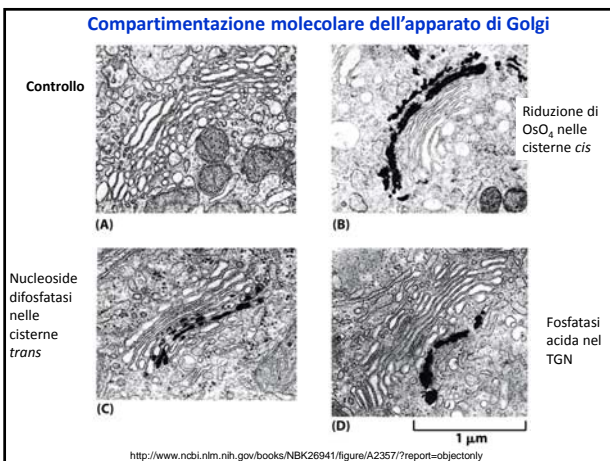
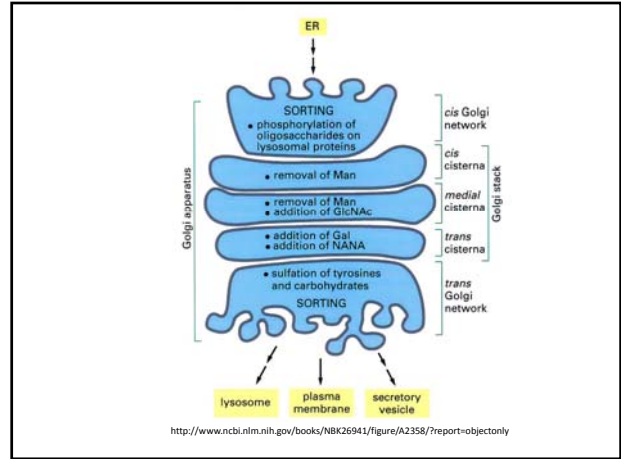
Apparato di Golgi (5)

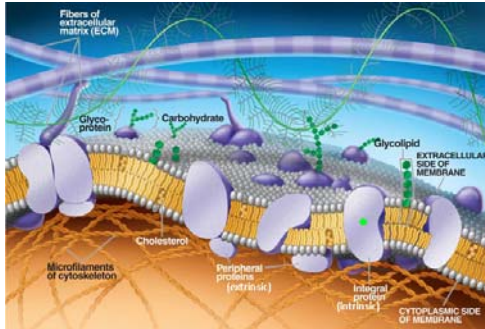
- Il Golgi si frammenta e sparisce all'*inizio* della *mitosi*.
- Nella fase *telofasi* della mitosi, il *Golgi ricompare*. Non si sa ancora come questo abbia luogo.

<http://users.rcn.com/kimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>



Apparato di Golgi
GLICOSILAZIONE





Processamento delle glicoproteine e glicolipidi (1)

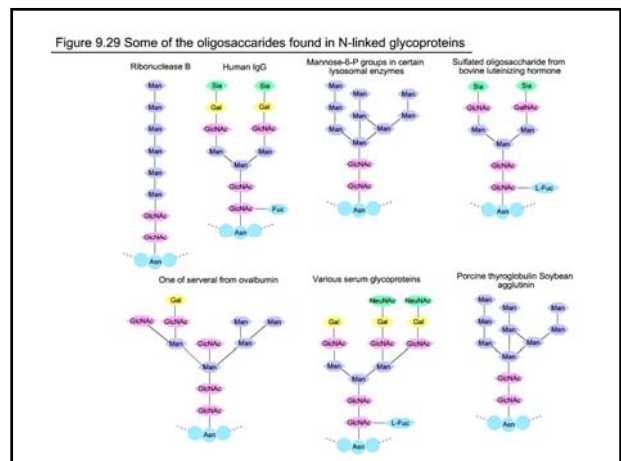
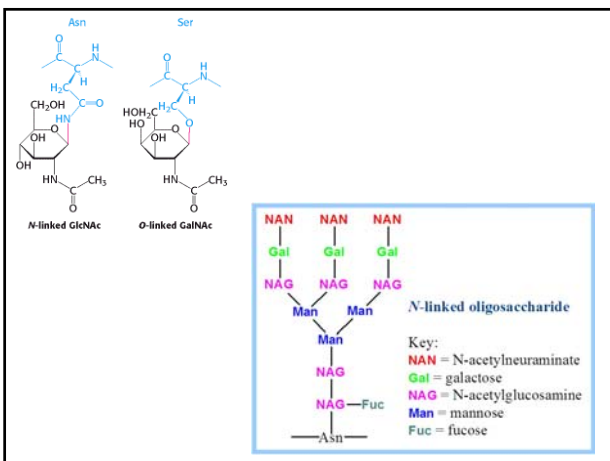
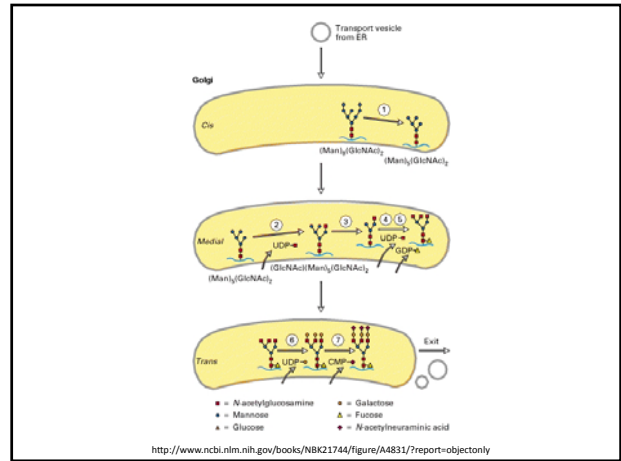
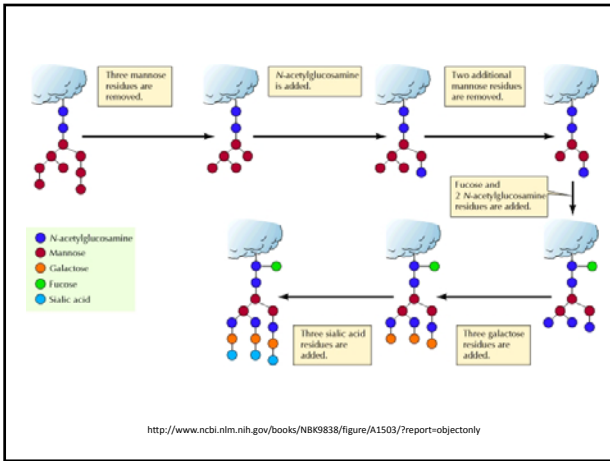
- ✚ Molta dell'organizzazione e specializzazione del Golgi è indirizzata alla **corretta glicosilazione** (modificazione degli zuccheri) di **proteine e lipidi**.
- ✚ **Glicoproteine** e **glicolipidi** costituiscono la maggior parte delle proteine della superficie cellulare e della matrice extracellulare e partecipano a numerose funzioni biologiche:
 - Interazioni cellula-cellula
 - Interazioni cellula-matrice
 - Traffico intracellulare e intercellulare
 - Signaling

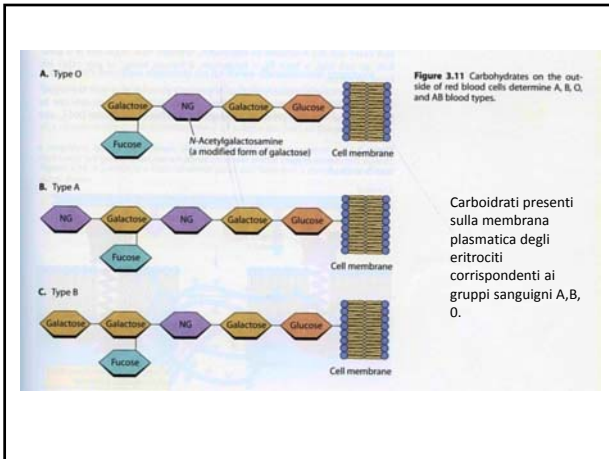
Processamento delle glicoproteine e glicolipidi Modificazione degli oligosaccaridi N-linked sulle glicoproteine (1)

- ✚ Questi zuccheri N-linked sono aggiunti come complessi preformati di 14 residui di zuccheri alle catene laterali di asparagine della proteina, ancora nell'ER.
- ✚ Dopo la consegna al Golgi, le catene N-linked subiscono estese modificazioni ulteriori in sequenza ordinata.
 1. Rimozione di residui di mannosio
 2. Aggiunta sequenziale di N-acetilglucosamina
 3. Ulteriore rimozione di mannosio
 4. Aggiunta di fucosio e altri residui di N-acetilglucosamina
 5. Aggiunta finale di residui di galattosio e di acido sialico.

Modificazione degli oligosaccaridi N-linked sulle glicoproteine (2)

- ✚ Inoltre, altri enzimi aggiungono sostituenti quali gruppi fosfato, solfato, acetato o metile o isomerizzano alcuni carboni specifici.
- ✚ Queste modificazioni e processamenti diversificati della struttura degli oligosaccaridi N-linked, producendo strutture tipo «high mannose», tipo complesso o miste, contribuiscono alla **diversità dei residui glucidici esposti sulla superficie cellulare** e possono conferire **funzioni speciali alle catene di zuccheri**.
- ✚ Più di 200 enzimi del Golgi partecipano alla biosintesi di glicoproteine e di glicolipidi:
 - **Glicosiltrasferasi**: aggiungono residui di zuccheri specifici.
 - **Glicosidasi**: rimuovono residui di zucchero specifici

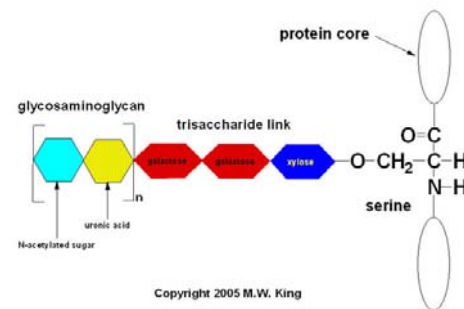
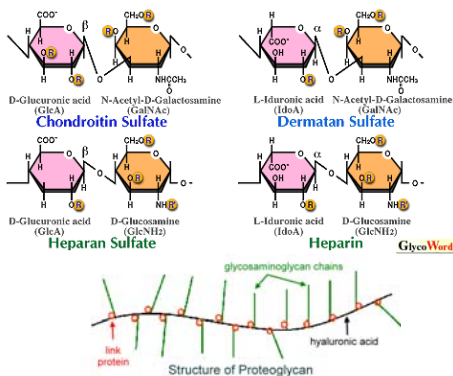




Processamento oligosaccaridi nel Golgi, segue

- ✦ Gli enzimi del Golgi inoltre aggiungono oligosaccaridi ai gruppi idrossilici di residui di **serina** e **treonina** di proteine che costituiscono l'asse centrale («core») dei **proteoglicani** (PGs), proteine altamente glicosilate di granuli di secrezione e della matrice extracellulare.
- ✦ Questo processo, detto glicosilazione «**O-linked**», inizia con l'aggiunta di un innesco di tre corti oligosaccaridi a residui selezionati di serina e treonina del «core» dei PGs.
- ✦ Delle glicosiltrasferasi nel Golgi aggiungono molte copie della stessa unità disaccaridica al polisaccaride crescente.
- ✦ Altri enzimi ancora aggiungono **gruppi solfato** ad alcuni residui di zuccheri prima che la molecola esca dal sistema.

Glicosaminoglicani che si legano alla proteina «core» dei proteoglicani



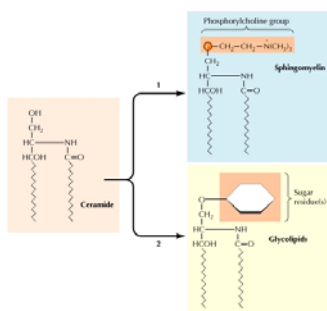
Apparato di Golgi

METABOLISMO DEI LIPIDI E DEI POLISACCARIDI

Metabolismo dei lipidi nel Golgi

- ✦ Oltre alle sue attività nel processamento e smistamento delle glicoproteine e proteoglicani, il Golgi funziona nel metabolismo lipidico, in particolare nella **sintesi dei glicolipidi** e della **sfingomielina**.
- ✦ I glicerofosfolipidi, il colesterolo e il ceramide sono sintetizzati nell'ER.
- ✦ La sfingomielina e i glicolipidi sono sintetizzati a partire dal ceramide nel Golgi.
 - La **sfingomielina** (l'unico fosfolipide delle membrane cellulari non derivato dal glicerolo) è sintetizzata mediante trasferimento di un gruppo di fosforilcolina della fosfatidilcolina al ceramide.
 - In alternativa, l'aggiunta di carboidrati al ceramide può dare origine alla grande diversità dei **glicolipidi**.

Cooper



Sintesi della sfingomielina e dei glicolipidi

La ceramide, sintetizzata nell'ER, viene convertita sia in sfingomielina (fosfolipide) oppure in glicolipidi nell'apparato di Golgi. Nel primo caso un gruppo di fosforilcolina è trasferito al ceramide. In alternativa, una grande diversità di glicolipidi può essere sintetizzata mediante aggiunta di uno o più zuccheri (ad es. Glucosio).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9838/figure/A1506/7report=objectonly>

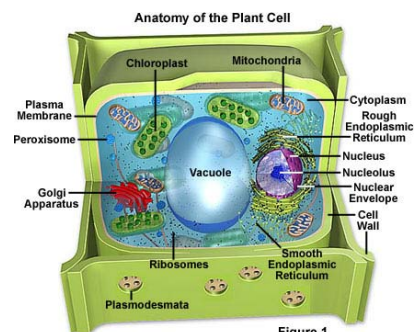


Figure 1

<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plantcell.html>

Sintesi di polisaccaridi complessi nelle cellule vegetali [BiolCellVeg]

- ✚ La parete delle cellule vegetali è costituita da tre tipi di polisaccaridi: cellulosa, emicellulose e pectine:
 - La **cellulosa**, polimero lineare di residui di glucosio, è **sintetizzata sulla membrana plasmatica**.
 - L'**emicellulose** e le **pectine** sono molecole complesse con catene ramificate.
 - Sono sintetizzate nel Golgi
 - Vengono poi trasportate da vescicole alla superficie della cellula

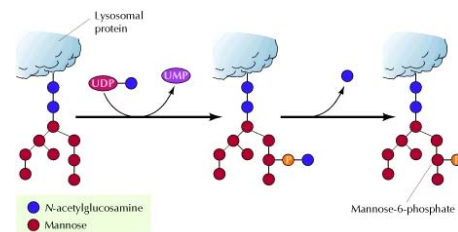
Apparato di Golgi

MARCATURA DI PROTEINE DESTINATE AI LISOSOMI

«Marcatura» di proteine destinate ai lisosomi

- ✚ Enzimi del Golgi «marcano» proteine specifiche per il trasporto ai lisomi, durante il processamento delle glicoproteine note come idrolasi lisosomiali, fosforilando il gruppo idrossile in posizione 6 di residui di mannosio: **mannosio-6-fosfato**.
- ✚ Pazienti con la malattia fatale mucopolidosi II (I-cell disease) non riescono a fosforilare i residui di mannosio necessari per il «targetting» ai lisosomi.
- ✚ Perciò gli enzimi lisosomiali sono secreti dalla cellula e i lisosomi non sono ingrado di degradare prodotti del catabolismo cellulare.
- ✚ I lisosomi rimangono infarciti di substrati indigeriti con gravissime conseguenze per la cellula e con disfunzioni dei tessuti

Indirizzamento delle proteine lisosomiali mediante fosforilazione di residui di mannosio



Proteins destined for incorporation into **lysosomes** are specifically recognized and modified by the addition of phosphate groups to the 6 position of mannose residues. In the first step of the reaction, *N*-acetylglucosamine phosphates are transferred to mannose residues from UDP-*N*-acetylglucosamine. The *N*-acetylglucosamine groups are then removed, leaving mannose-6-phosphates.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9838/figure/A1504/7report-objectonly>

Phosphorylation of mannose residues on lysosomal enzymes

In the first reaction, an *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) phosphotransferase in the *cis*-Golgi transfers an *N*-acetylglucosamine phosphate group to carbon atom 6 of one or more mannose residues. This enzyme has a recognition site that binds to signal segments (red) present only in cathepsin D and other lysosomal enzymes. The sugar residues modified by the phosphotransferase are a considerable distance from these signal segments, indicating that in this enzyme the recognition site and the catalytic site are distinct. In the second reaction, a phosphodiesterase removes the GlcNAc group, leaving a phosphorylated mannose residue on the lysosomal enzyme

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21744/figure/A4834/?report=objectonly>

Seminario

Apparato di Golgi

SELEZIONE, TRASPORTO, USCITA

Come fa una vescicola a riconoscere il suo bersaglio («target») giusto?

Sono coinvolte coppie di proteine integrali di membrana:

- **v-SNAREs** = "vesicle SNAREs" — sulla superficie della vescicola
- **t-SNAREs** = "target SNAREs" — sulla superficie della membrana "target"

SNARE: acronimo di "SNAP (Soluble NSF Attachment Protein) REceptor")
 NSP: proteina solubile identificata x prima nelle sinapsi, coinvolta nella fusione delle vescicole sinaptiche con il terminale sinaptico.

Seminario

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

Seminario

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21045/figure/A2304/?report=objectonly>

Modello per il «ripescaggio» delle proteine residenti nell'ER (1)

Le **proteine residenti** (che funzionano) nell'ER che scappano dall'ER finendo nell'apparato di Golgi vengono rimandate all'ER mediante trasporto di vescicole. (A) Il **recettore KDEL** presente in aggregati vescicolo-tubolari nell'apparato di Golgi cattura le proteine solubili residenti nell'ER e le trasporta in vescicole rivestite della proteina COPI di ritorno all'ER. Quando si lega al suo ligando in questo ambiente a basso pH, il recettore KDEL può cambiare conformazione, in modo tale da facilitare il suo reclutamento nelle vescicole rivestite da COPI che stanno gemmando.

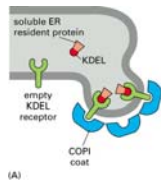


Figure 13-21 part 1 of 2, Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

KDEL (sequenza di amminoacidi)

- ✚ **KDEL** è una sequenza di AA nella struttura di una proteina che le impedisce di essere secreta dal reticolo endoplasmatico (ER).
- ✚ La sequenza KDEL sequence è responsabile dal recupero di proteine che dovrebbero lavorare nel lume dell'ER nell'apparato di Golgi:

- **K**—Lisina
- **D**—Acido Aspartico
- **E**—Acido Glutamico
- **L**—Leucina

Modello per il "ripescaggio" delle proteine residenti nell'ER (2)

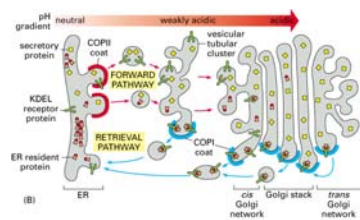


Figure 13-21 part 2 of 2, Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

(B) Il ripescaggio delle proteine dell'ER inizia in aggregati vescicolo-tubolari e prosegue da tutte le regioni del Golgi. Nell'ambiente a pH neutro dell'ER, le proteine dell'ER si dissociano dal recettore KDEL, che viene allora rimandato al Golgi per essere riutilizzato.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26941/figure/A2343/?report=objectonly>

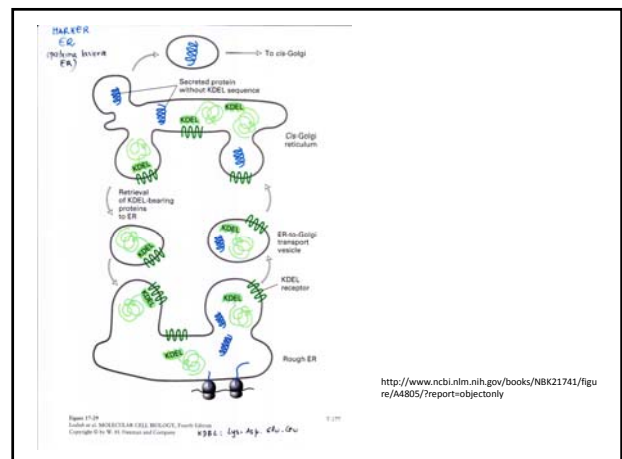
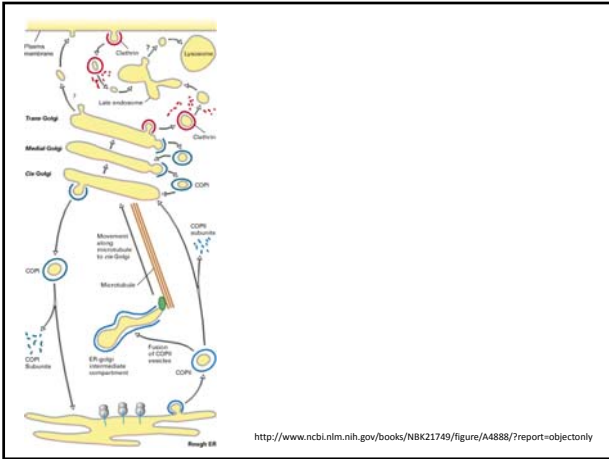
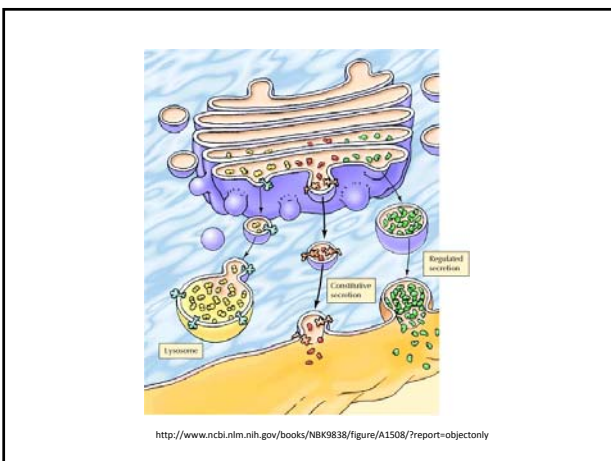
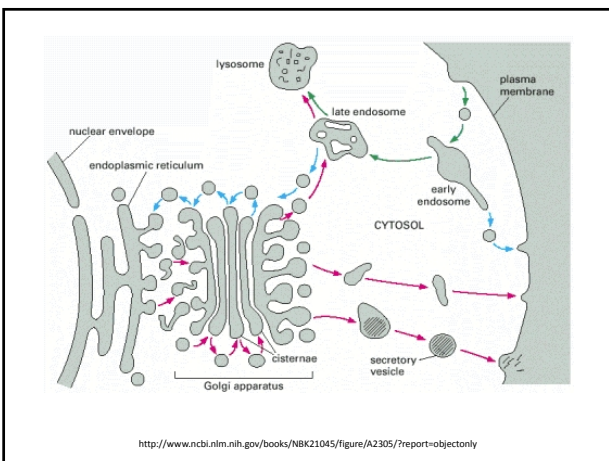


Figure 13-21 part 2 of 2, Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21741/figure/A4805/?report=objectonly>



Apparato di Golgi
SMISTAMENTO FINALE



Apparto di Golgi

MORFOLOGIA

