



## Apparato di Golgi



## Camillo Golgi



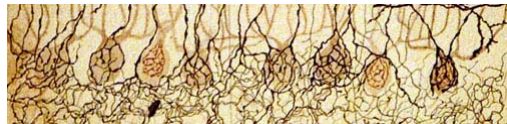
Palazzo Botti Adorno  
Reggi Istituti Scientifici  
<http://musei.unipv.it/storianat/storia/botta.html>

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

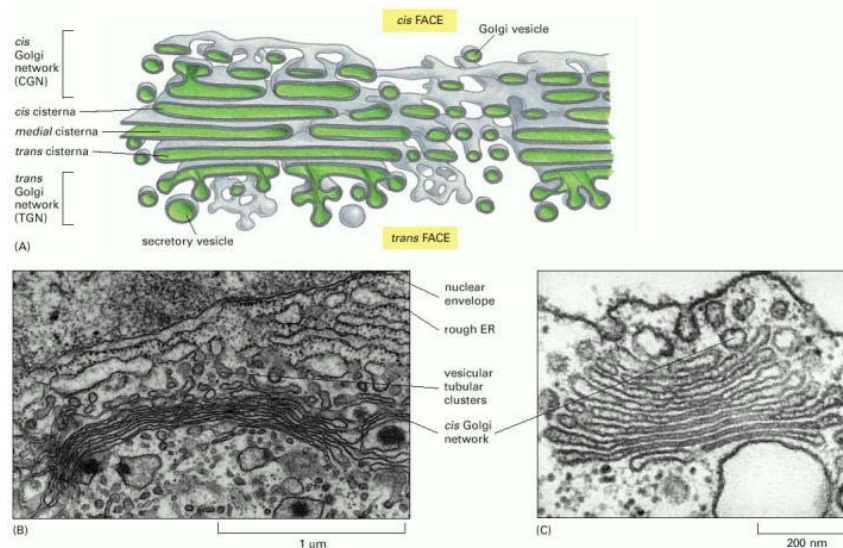
## Il Nobel

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

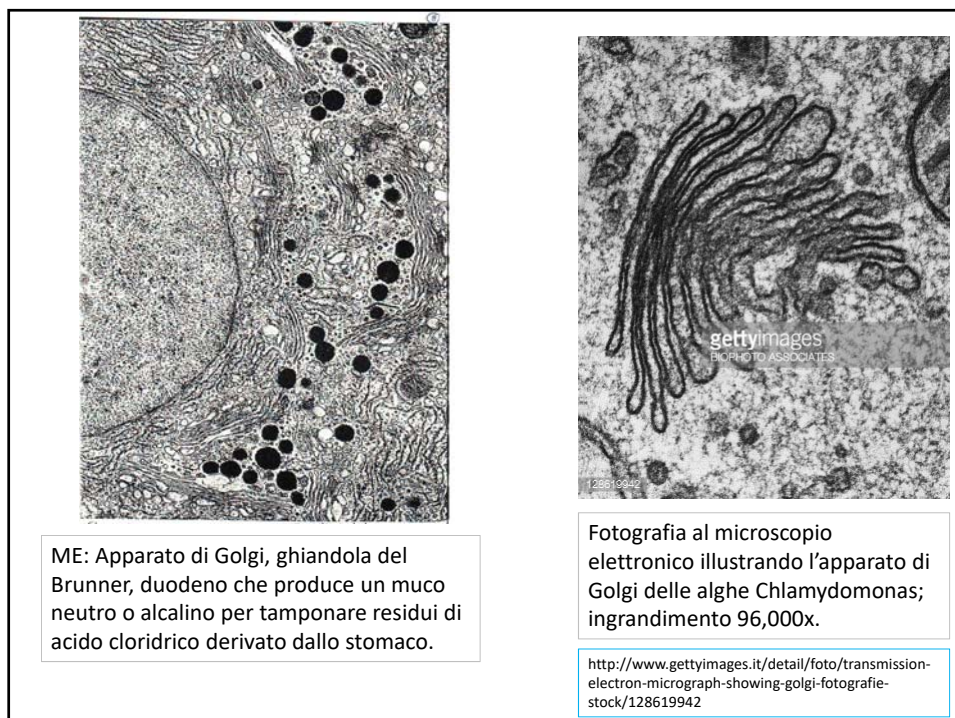
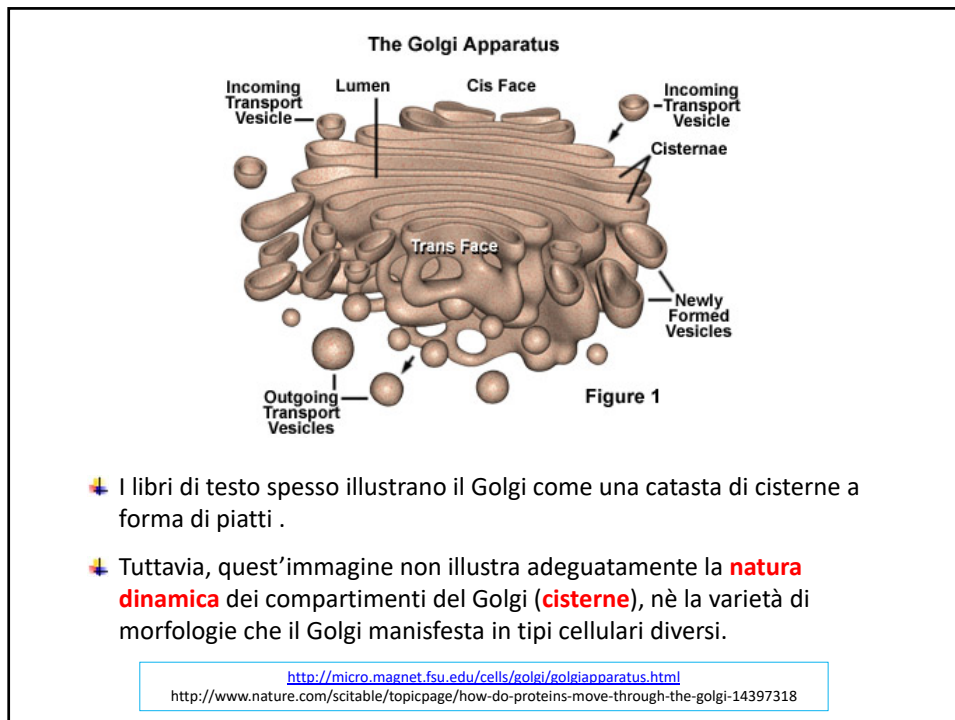
Il Nobel è dovuto alla sua principale scoperta: la **“reazione nera”** o “metodo di Golgi”, una tecnica rivoluzionaria che ha permesso per la prima volta nella storia di colorare un'intera cellula e i suoi prolungamenti, svelandone la complessa morfologia. Ma a queste date, Golgi si era reso protagonista 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

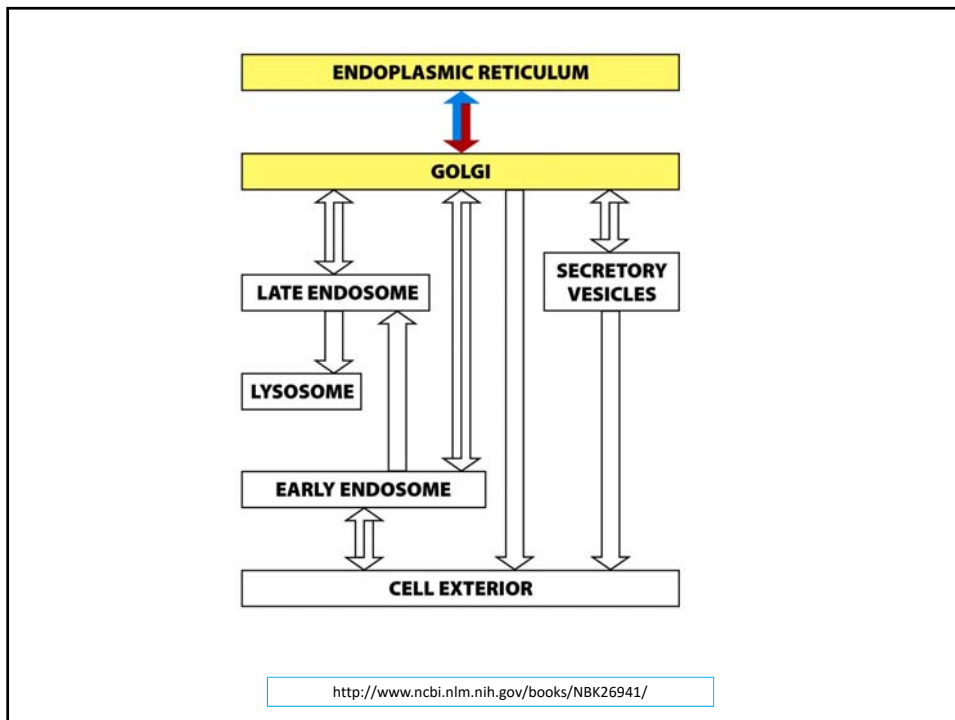
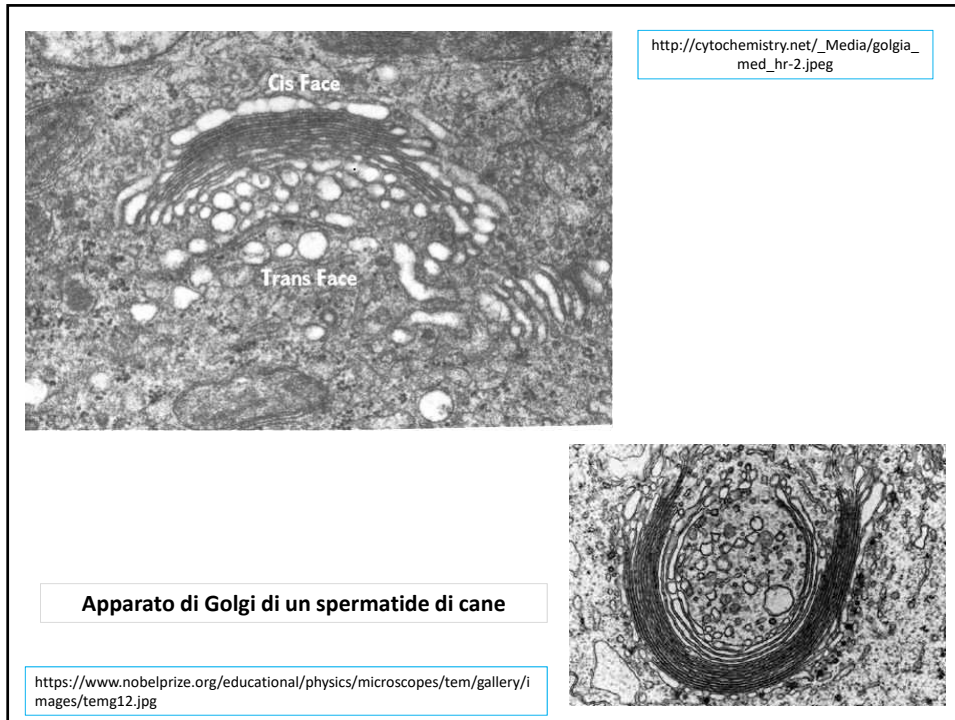


<http://www.museogolgi.it/golgi.htm>



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26941/figure/A2347/>





## 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 e indirizzamento** di proteine a diverse destinazioni nella cellula:
  - **Membrana plasmatica, proteine secrete verso l'esterno della cellula, sistema di endosomi/lisosomi**, oppure **riconsegna in dietro all'ER**.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: [Cell Biology](#), 2° ed.,

## Apparato di Golgi - [2]

- ✚ **Sito di sintesi di sfingomieline 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° 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 di proteine e lipidi, e le proteine SNAREs, che permettono il **riconoscimento specifico delle sostanze da trasportare** («cargo»), 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<sup>a</sup> ed.,  
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

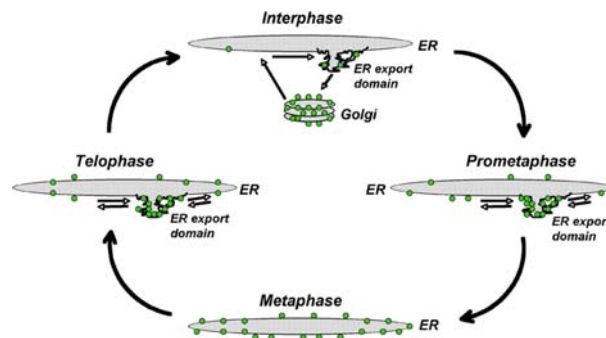
## Apparato di Golgi - [4]

- ✚ Le **proteine periferiche di membrana**, incluso quelle di rivestimento delle vescicole di trasporto e le proteine di ancoraggio, vengono costantemente scambiate fra le membrane del Golgi e con le riserve («pools») citoplasmatiche.
- ✚ 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<sup>a</sup> ed.,  
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

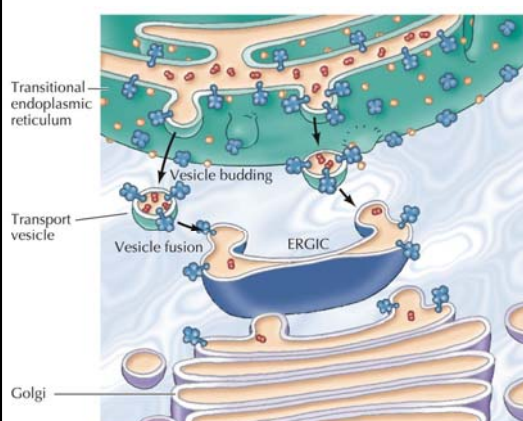
## Apparato di Golgi - [5]

- ✚ 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.

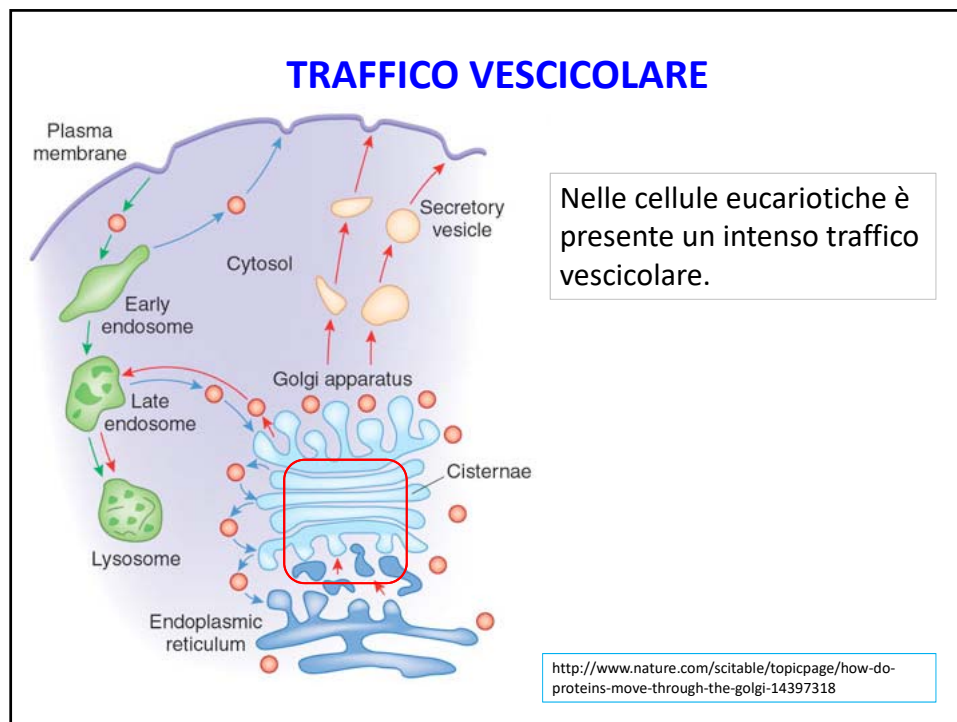


<http://users.rcn.com/ikimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>  
<http://www.molbiolcell.org/content/17/2/990/F9.large.jpg>

## 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.



### 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



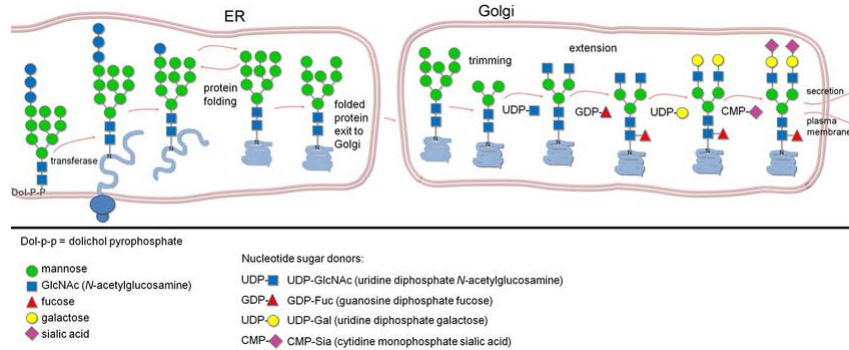
### Processamento delle glicoproteine e glicolipidi Modificazione degli oligosaccaridi N-linked sulle glicoproteine – [1]

- ✚ Questi **zuccheri N-linked** erano stati aggiunti come complessi preformati di 14 residui di zuccheri alle catene laterali di asparagine della proteina, ancora quando questa si trova 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. Ulteriori rimozione di residui 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 gruppi **fosfato, solfato, acetato** o **metile** o **isomerizzano alcuni carboni specifici** (nei glicosaminoglicani).
- ✚ 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.

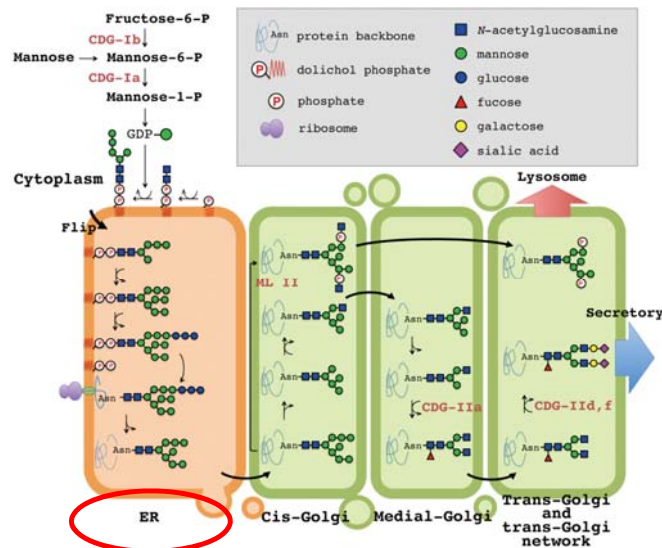
### Diagramma schematico che illustra la sintesi degli N-glicani in una cellula eucariotica



Un glicano pre-assemblato è trasferito da un trasportatore lipidico (dolicol pirofosfato; Dol-p-p) ad una proteina nascente. Il glicano viene in seguito "potato" e successivamente allungato nell'apparato di Golgi. Le glicosiltrasferasi usano zuccheri attivati (zuccheri legati a nucleotide) come donatori per le reazioni di allungamento.

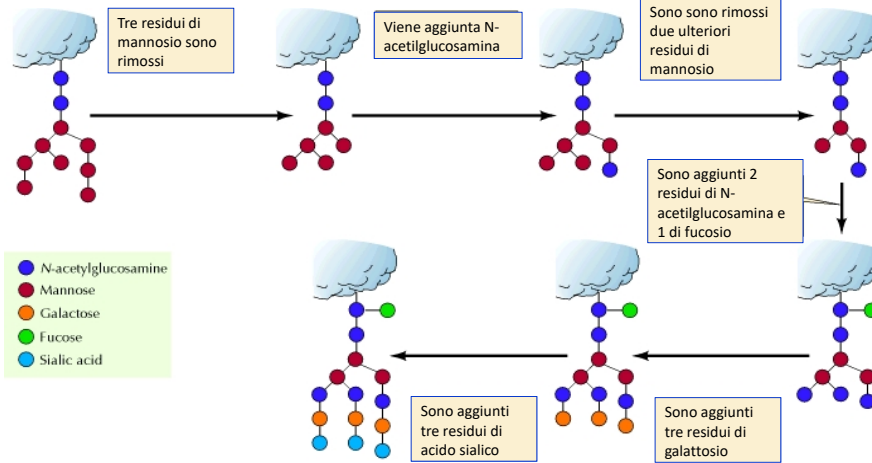
<https://www.neb.com/applications/glycobiology/biosynthesis-of-glycans-in-eukaryotes>  
[https://www.neb.com/~media/NeUs/Page%20Images/Applications/Glycobiology/L2/L2a\\_Nglycan\\_Synthesis.jpg?device=modal](https://www.neb.com/~media/NeUs/Page%20Images/Applications/Glycobiology/L2/L2a_Nglycan_Synthesis.jpg?device=modal)

### Biosintesi e procesamiento degli oligosaccaridi N-linked



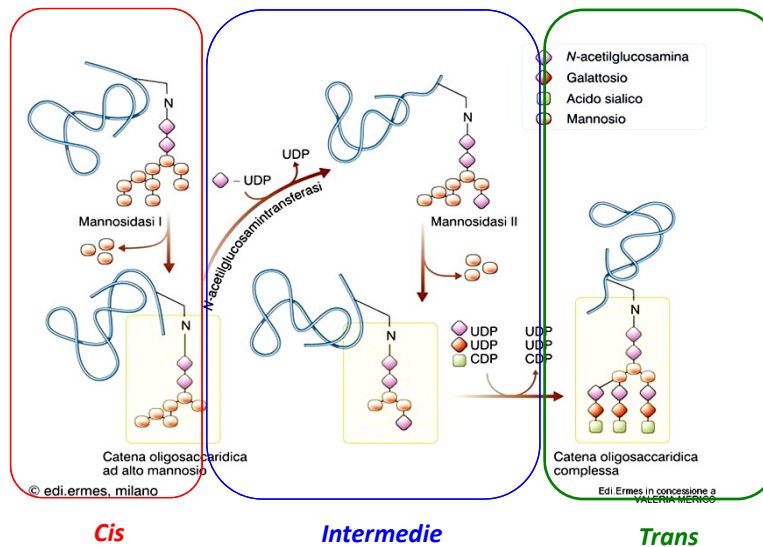
<http://www.intechopen.com/source/html/41370/media/fig2.png>  
<http://www.intechopen.com/books/genetic-disorders/genetic-diseases-associated-with-protein-glycosylation-disorders-in-mammals>

### Processamento degli oligosaccaridi N-linked nell'apparato di Golgi



Gli oligosaccaridi N-linked delle glicoproteine trasportate dal RE sono ulteriormente modificati mediante una sequenza ordinate di reazioni nelle varie cisterne del Golgi.

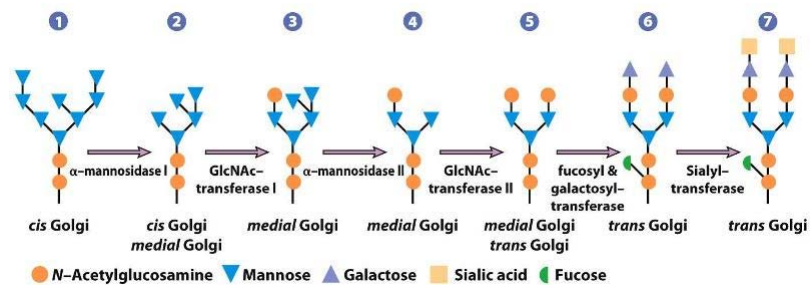
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9838/figure/A1503/?report=objectonly>



Con passaggi sequenziali di **rimozione** e **trasferimento di carboidrati**, si arriva a formare **catene oligosaccaridiche di tipo complesso**, o **ibride** o **a alto mannosio**

Prof. V. Merico per gentile concessione

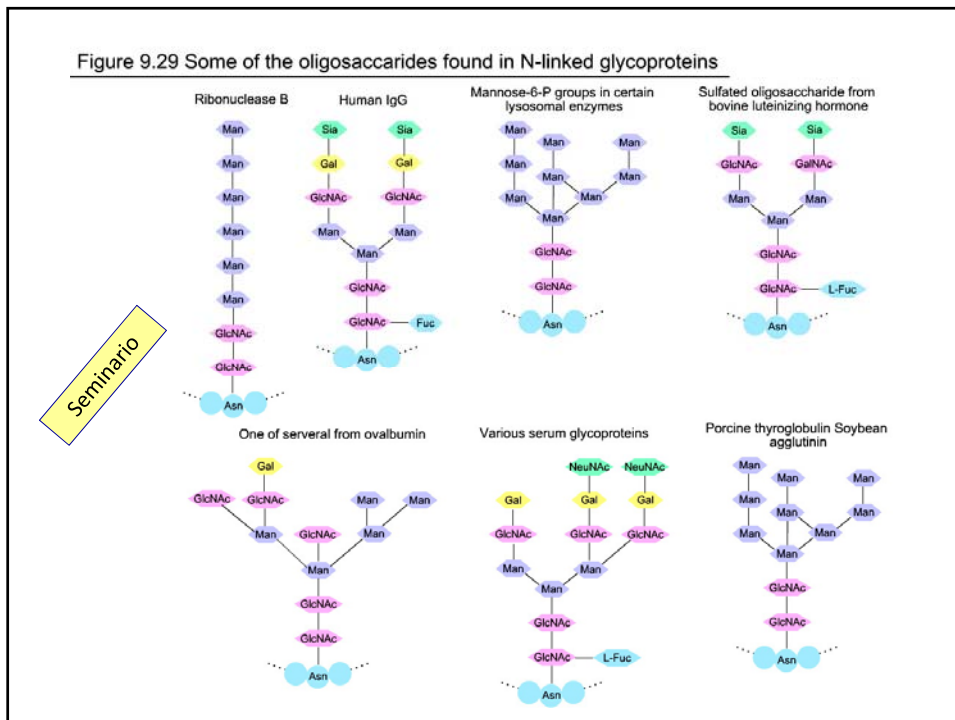
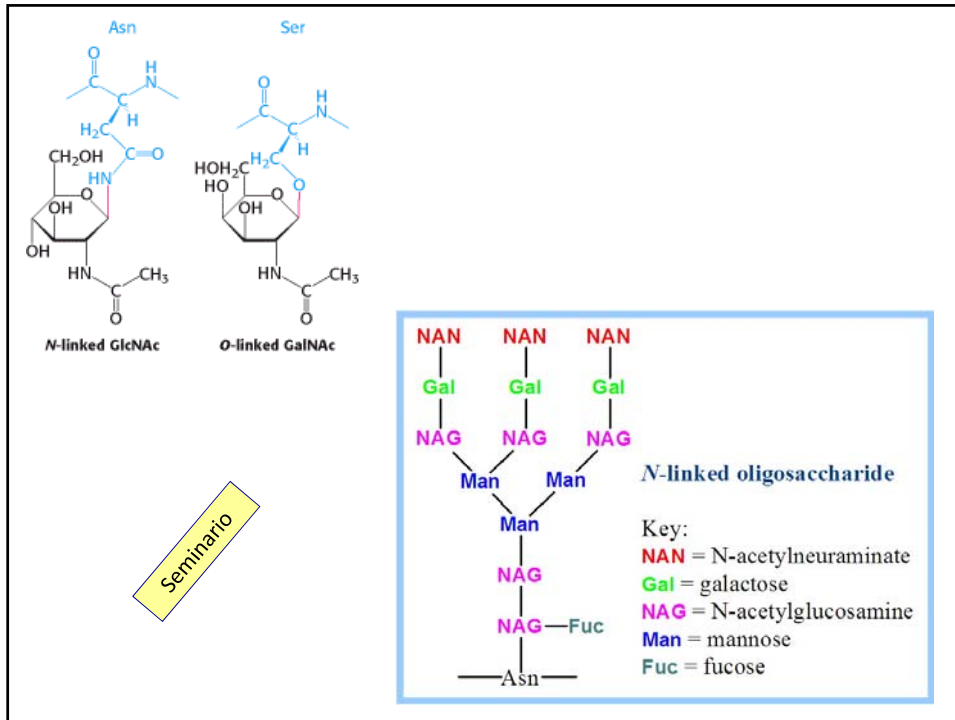
## Passi della glicosilazione nell'apparato di Golgi



[http://www.easynotecards.com/uploads/1166/83/\\_53022d86\\_13d85ffda7d\\_\\_8000\\_00001553.jpg](http://www.easynotecards.com/uploads/1166/83/_53022d86_13d85ffda7d__8000_00001553.jpg)

## La diversità delle catene oligosaccaridiche espote sulla superficie cellulare conferisce proprietà diverse al glicocalice

- ✦ Se i **mannosi non vengono rimossi** o solo **parzialmente**: strutture tipo «**high mannose**»
- ✦ Se **N-acetilglucosamina si lega a un solo mannosio**: strutture tipo **complesso** o miste (ibridi)
- ✦ 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
- ✦ Inoltre, altri enzimi aggiungono sostituenti quali gruppi **fosfato**, **solcato**, **acetato** o **metile** o isomerizzano alcuni zuccheri.

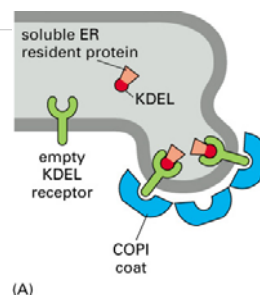


## KDEL (sequenza di amminoacidi)

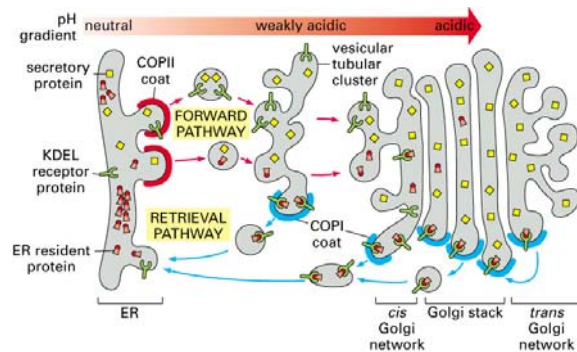
- ✚ **KDEL** è una sequenza di AA nella struttura di una proteina che le impedisce di essere secreta dal reticolo endoplasmatico (ER).
- ✚ La sequenza KDEL è responsabile dal recupero nell'apparato di Golgi di proteine che dovrebbero lavorare nel lume dell'ER :
  - **K**—Lisina
  - **D**—Acido Aspartico
  - **E**—Acido Glutamico
  - **L**—Leucina

## Modello per il «ripescaggio» dal Golgi 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 per la sequenza 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.



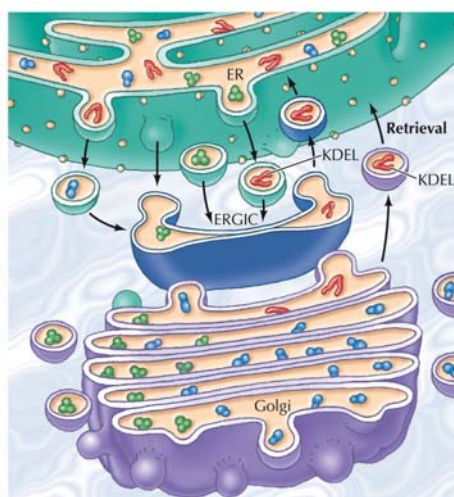
## Modello per il "ripescaggio" delle proteine residenti nell'ER – [2]



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>

## Movimento retrogrado dal Golgi al Reticolo



THE CELL, Fourth Edition, Figure 10-25 © 2006 AGS

**In che modo la sequenza KDEL mantiene le proteine dove dovrebbero stare?**

In realtà, KDEL non impedisce alle proteine di essere impacchettate in vescicole e spedite al Golgi. Quello che fa è fornire un'etichetta che dice di fatto: *“Se ritrovato, si prega di ritornare al RE”!*

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

<http://oregonstate.edu/instruction/bi314/summer09/fig-10-25-0.jpg>

## Processamento oligosaccaridi nel Golgi, segue

- ✚ Gli enzimi del Golgi aggiungono inoltre 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.

Seminario

## O-glicosilazione nel Golgi \_ [1]

- Gli oligosaccaridi O-linked, legati a residui di serina, treonina o di idrossilisina (aminoacido idrossilato del collagene), sono in genere corti, spesso contenendo da 1-4 residui di zuccheri.
- La loro biosintesi procede passo a passo nelle cisterne del Golgi, mediante donazione di zuccheri attivati (legati a nucleotidi) quali ad es:
  - UDP-GalNAc
  - UDPGal
  - CMP-NeuAc
- Gli enzimi coinvolti sono glicoproteina glicosil trasferasi legati alle membrane di diversi compartimenti del Golgi

<http://www.slideshare.net/nileshchandra2/glycoproteins-34320656/12>



**Seminario**

## Differenze tra Glicoproteine con oligosaccaridi N-linked e O-linked

Glicoproteine N-linked	Glicoproteine O-linked
Sintesi	Sintesi
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Co-traduzionalmente</li> <li>• Trasferimento in blocco di una catena di oligosaccaridi alla proteina e ulteriore modificazione</li> <li>• Enzimi non legati a membrana</li> <li>• Coinvolto dolicol-PP-oligosaccaride</li> <li>• Inibito da Tunicamicina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Post-traduzionalmente</li> <li>• Catena di oligosaccaridi sintetizzata direttamente sulla proteina</li> <li>• Enzimi legati a membrane</li> <li>• Dolicol non coinvolto</li> <li>• Non inibito da Tunicamicina</li> </ul>
Es. Calnexina	Es. Fetuina

<http://www.slideshare.net/nileshchandra2/glycoproteins-34320656/12>

**Seminario**

## Glicosaminoglicani che si legano alla proteina assiale dei proteoglicani

**Chondroitin Sulfate**

D - Glucuronic acid (GlcA)    N-Acetyl-D-Galactosamine (GalNAc)

**Dermatan Sulfate**

L - Iduronic acid (IdoA)    N-Acetyl-D-Galactosamine (GalNAc)

**Heparan Sulfate**

D - Glucuronic acid (GlcA)    D - Glucosamine (GlcNH<sub>2</sub>)

**Heparin**

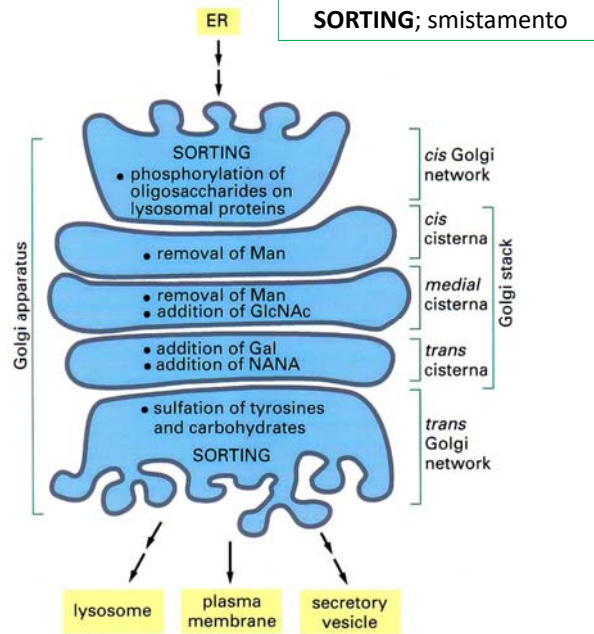
L - Iduronic acid (IdoA)    D - Glucosamine (GlcNH<sub>2</sub>)

**(a) Structure of chondroitin sulfate, a glycosaminoglycan**

**(b) General structure of a proteoglycan**

## Glicosilazione nell'apparato di Golgi

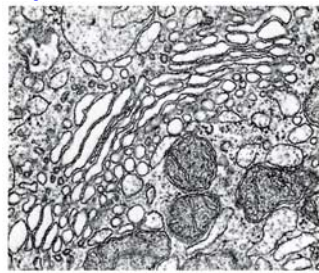
Nelle cisterne sono presenti enzimi specifici per la **glicosilazione**, sia delle **proteine** che dei **lipidi**.



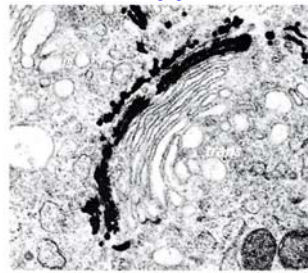
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26941/figure/A2358/?report=objectonly>

## Compartimentazione molecolare dell'apparato di Golgi

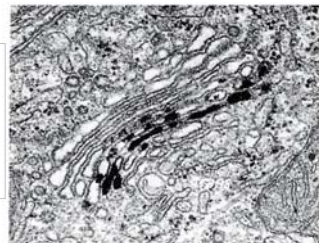
Controllo



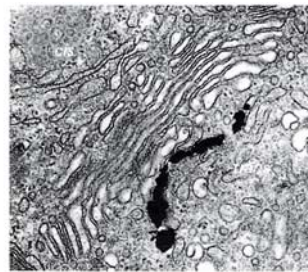
Riduzione di OsO<sub>4</sub> nelle cisterne cis



Nucleoside difosfatasi nelle cisterne trans



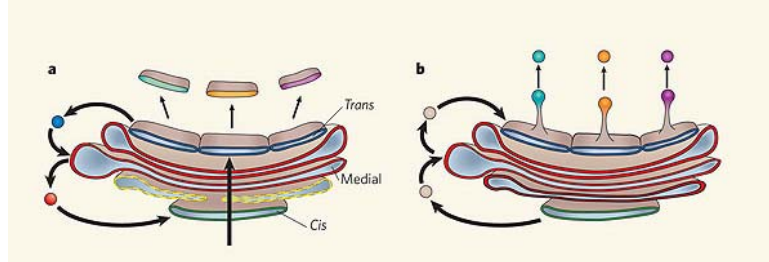
Fosfatasi acida nel TGN



1 μm

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26941/figure/A2357/?report=objectonly>

## Modelli per il traffico di proteine attraverso il Golgi



**(A) Modello della maturazione delle cisterne.** Mentre una nuova cisterna *cis* si forma, essa attraversa la catasta del Golgi, modificandosi mentre matura accumulando enzimi della zona *mediana* e in seguito della zona *trans*, mediante vescicole che si muovono dalle cisterne tardive fino a quelle precoci (**movimento retrogrado**).

**(B) Modello del trasporto mediante vescicole** in cui ogni vescicola rimane stazionaria con enzimi che non cambiano, e le proteine si muovono in avanti lungo la catasta mediante vescicole che si muovono dalle cisterne precoci verso quelle tardive (**traffico anterogrado**).

<http://www.nature.com/scitable/content/two-models-of-protein-trafficking-through-the-14456074>

## Metabolismo dei lipidi nel Golgi

- ✚ Oltre alle sue attività nel processamento e smistamento delle glicoproteine e dei proteoglicani, il Golgi funziona nel **metabolismo lipidico**, in particolare, nella **sintesi dei glicolipidi** e della **sfingomieline**.
- ✚ I glicerofosfolipidi, il colesterolo e il ceramide sono sintetizzati nell'ER.
- ✚ La sfingomieline e i glicolipidi sono sintetizzati a partire dal ceramide nel Golgi.
  - La **sfingomieline** (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

Seminario

**Sintesi della sfingomieline e dei glicolipidi**

The diagram illustrates the synthesis of sphingomyelin and glycolipids from ceramide. On the left, the structure of Ceramide is shown with a sphingosine backbone and two fatty acid chains. Two pathways are indicated by arrows labeled 1 and 2. Pathway 1 leads to Sphingomyelin, where a phosphorylcholine group (represented as a circle with a plus sign) is attached to the sphingosine backbone. Pathway 2 leads to Glycolipids, where one or more sugar residues (represented as hexagons) are attached to the sphingosine backbone.

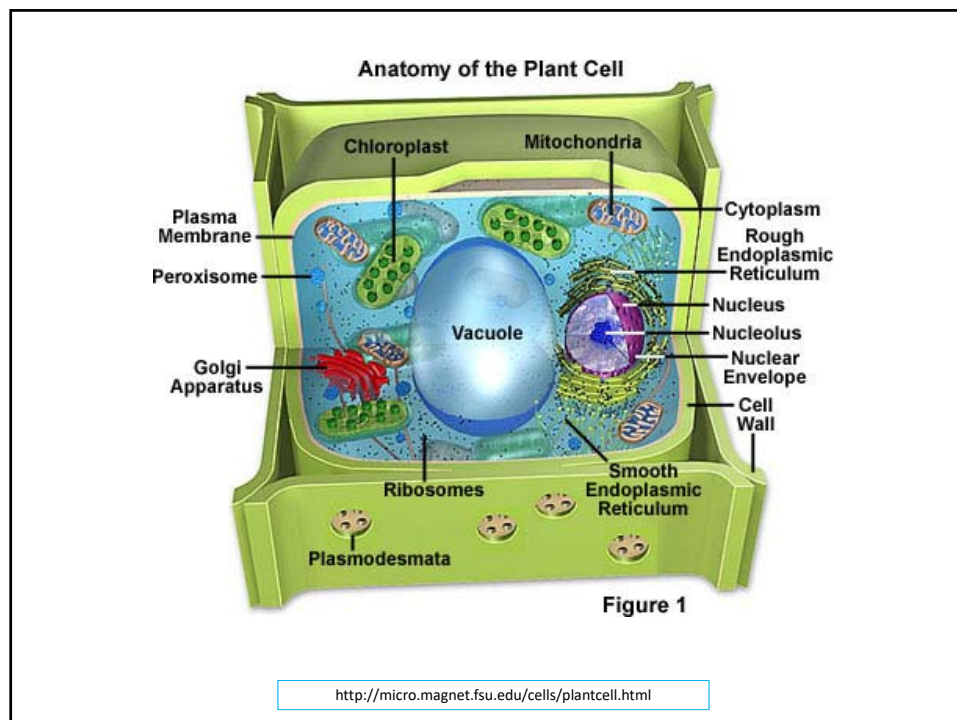
La **ceramide**, sintetizzata nell'ER, viene convertita nell'apparato di Golgi in **sfingomieline** (fosfolipide) oppure in **glicolipidi**. Nel primo caso, un gruppo di fosforilcolina è trasferito al ceramide. In alternativa, molti tipi diversi di glicolipidi possono essere sintetizzati mediante aggiunta di uno o più zuccheri (ad es. Glucosio) al ceramide.

THE CELL, Fourth Edition, Figure 10.30 © 2006 ASM Press and Sinauer

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

## Sintesi di polisaccaridi complessi nelle cellule vegetali [BioCellVeg]

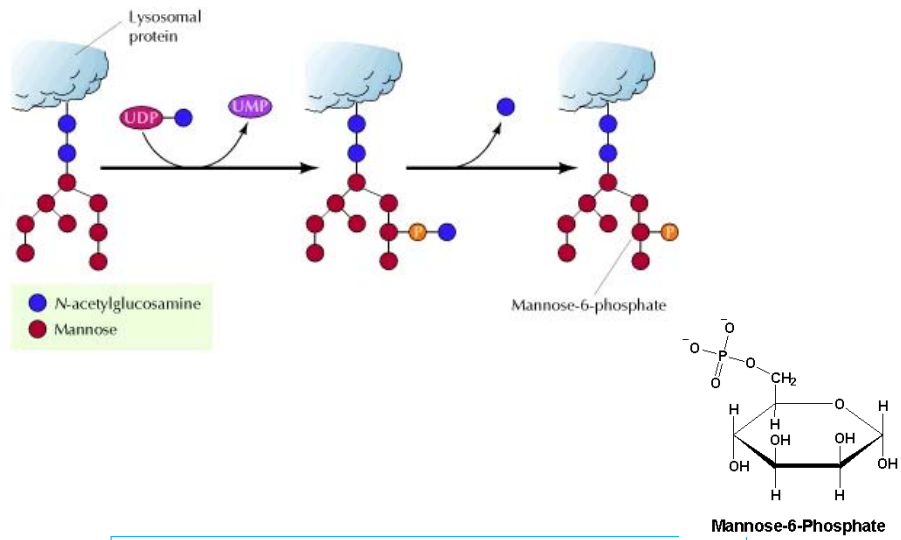
- ✚ La parete delle cellule vegetali è costituita da tre tipi di polisaccaridi: cellulosa, emicellulose e pectine:
  - La **cellulosa**, polimero lineare di residui di glucosio, è **sintetizzata sulla membrana plasmatica**.
  - L'**emicellulose** e le **pectine** sono molecole complesse con catene ramificate.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



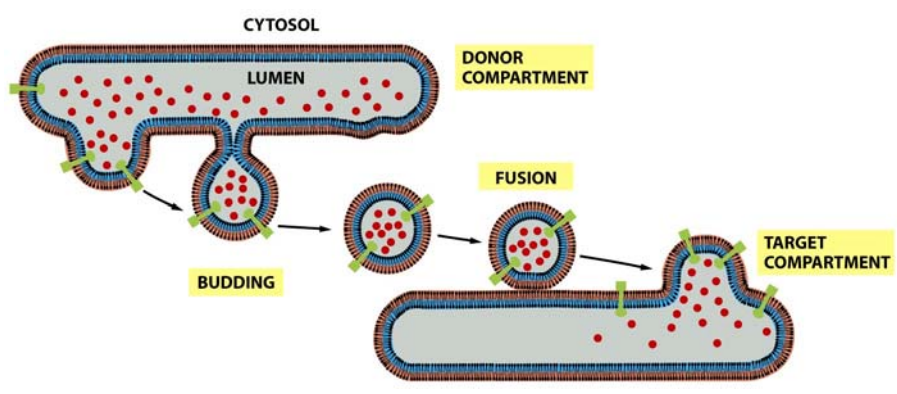
## «Marcatura» di proteine destinate ai lisosomi

- ✚ Enzimi del Golgi «marcano» proteine specifiche per il trasporto ai lisosomi, 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 mucopolipidosi 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 in grado 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



Seminario



Seminario

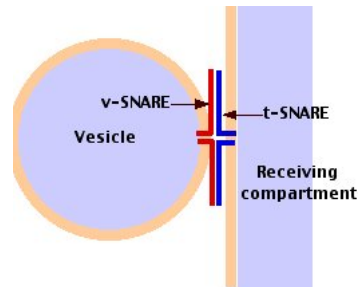
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21045/figure/A2304/?report=objectonly>

Seminario

## 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"

**NSF** (*N-ethylmaleimide-sensitive factor*, o *N-ethylmaleimide sensitive fusion proteins*): proteina solubile identificata x prima nelle sinapsi, coinvolta nella fusione delle vescicole sinaptiche con il terminale post-sinaptico.

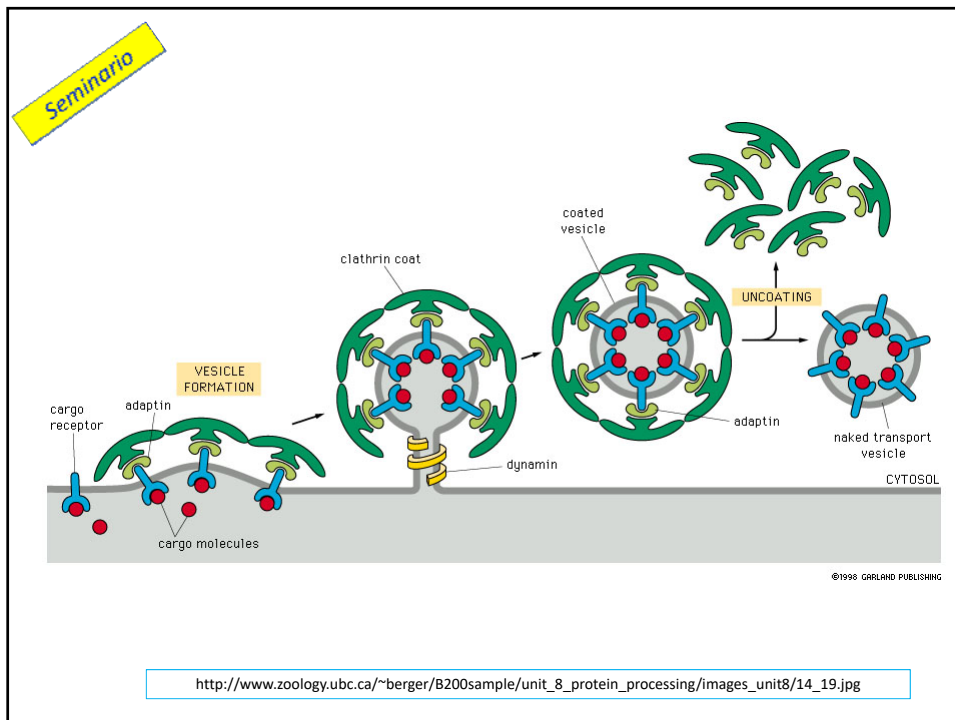
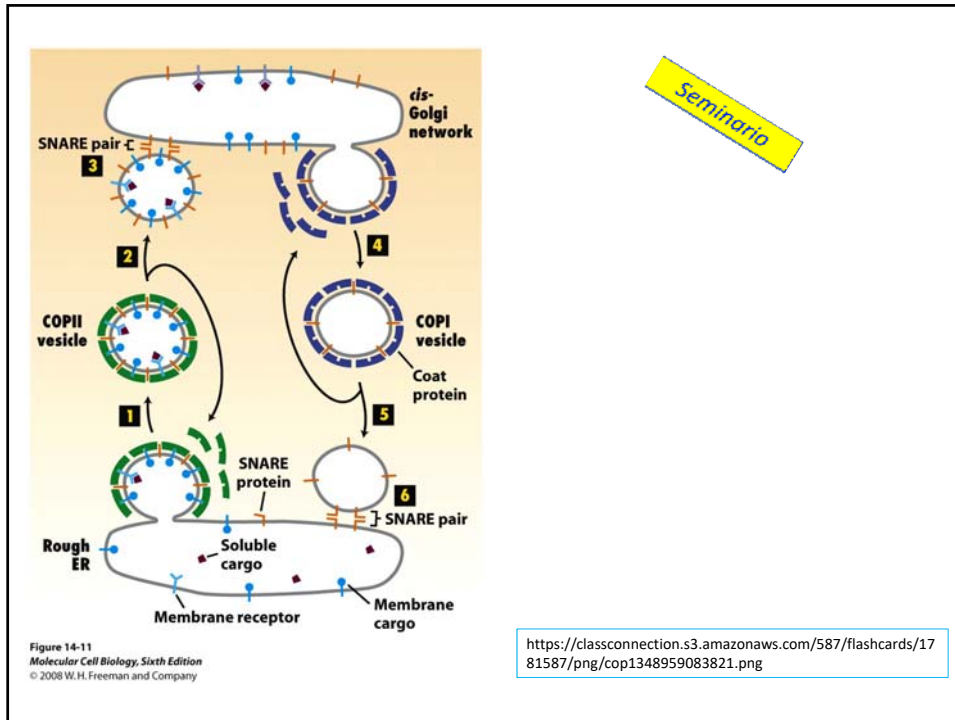
<http://users.rcn.com/ikimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>  
[https://en.wikipedia.org/wiki/N-ethylmaleimide\\_sensitive\\_fusion\\_protein](https://en.wikipedia.org/wiki/N-ethylmaleimide_sensitive_fusion_protein)

Seminario

## Proteine di rivestimento delle vescicole

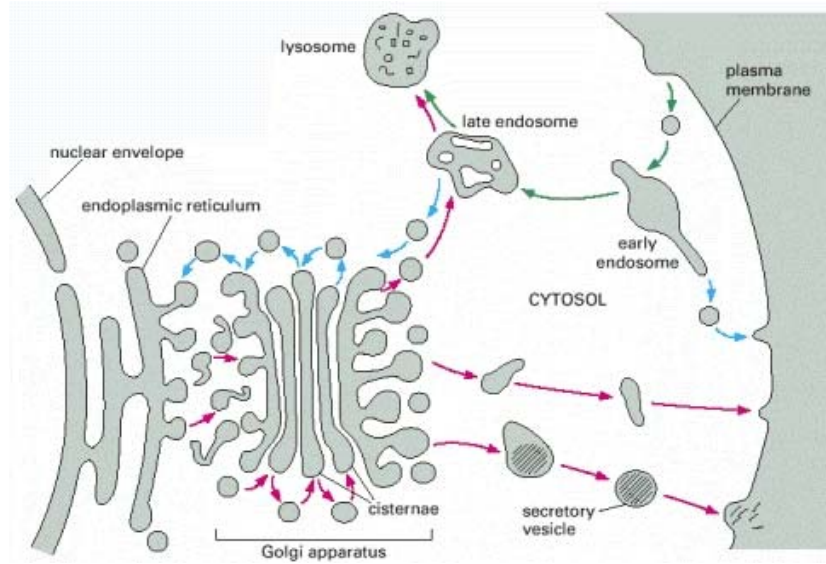
- ✚ **Clatrina**: riveste sia le vescicole che vanno dal *trans* Golgi *network* ai lisosomi, sia quelle di endocitosi
- ✚ **COP I**: riveste sia le vescicole che vanno dal trans Golgi alle cisterne precedenti che verso il RE (**movimento retrogrado**)
- ✚ **COP II**: riveste sia le vescicole che dal RE vanno al Golgi e si spostano in avanti nel Golgi (**movimento anterogrado**)

(COP: **C**oating **P**roteins)



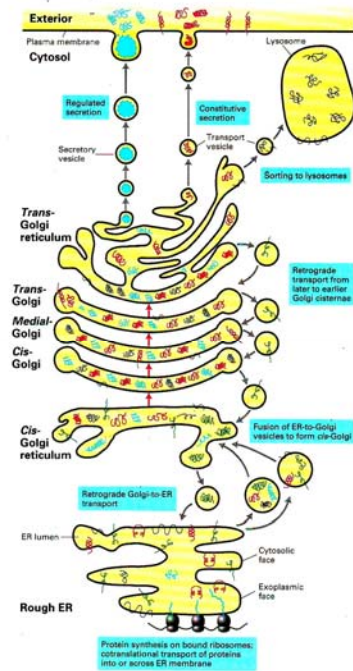


## Smistamento finale dalla rete trans del Golgi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21045/figure/A2305/?report=objectonly>

## Biosintesi e smistamento delle proteine destinate alla secrezione



Verrà ripreso capitolo ESOCITOSI

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21471/figure/A4740/?report=objectonly>