

**APPARATO DI GOLGI**



Le proteine e i lipidi sintetizzati in parte nel reticolo endoplasmatico vengono veicolati in vescicole nell'apparato di Golgi.

E' costituito da una serie di cisterne appiattite e impilate le une sulle altre la cui forma e numero può variare da cellula a cellula.

Il movimento delle molecole nelle cisterne ha una polarità: vanno dalle cisterne più vicine al reticolo endoplasmatico, denominate *cis*, a quelle più vicine alla membrana plasmatica, denominate *trans*, passando per cisterne intermedie, denominate *mediane*.

Sono presenti anche altre due regioni, da ambedue i lati del complesso, *cis Golgi network*, che si forma per fusione delle vescicole che vengono dal reticolo, e *trans Golgi network*, da cui partono le vescicole per i lisosomi o per la membrana plasmatica.

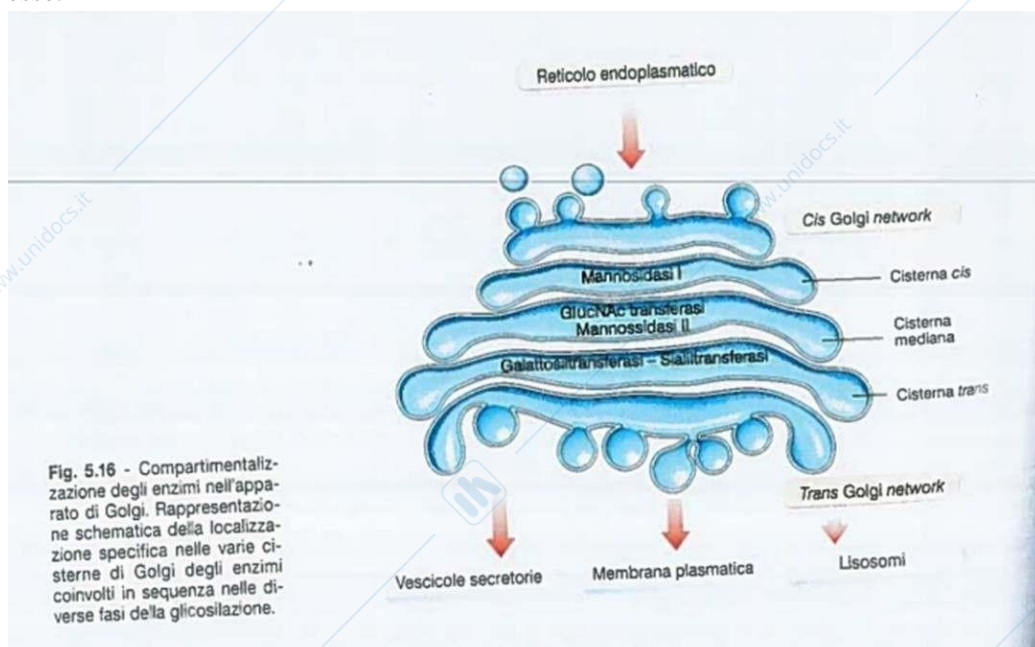
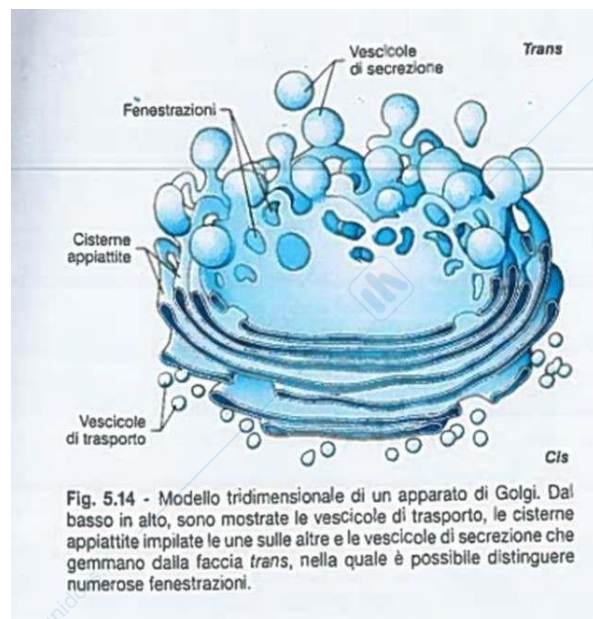
L'apparato di Golgi deve il suo nome a Camillo Golgi, che per primo, utilizzando una particolare colorazione, l'impregnazione argentica, lo descrisse al microscopio ottico nel 1897.

Solo l'avvento del microscopio elettronico, però, ha permesso di identificare la morfologia a cisterne impilate di questo organulo.

Ognuna delle cisterne è costituita da un sistema membranoso chiuso e in ognuna sono presenti particolari enzimi che permettono la maturazione sequenziale delle proteine.

Cisterne *cis*, *mediane* e *trans*, hanno enzimi specifici per la **glicosilazione** che assicurano alla proteina in transito che le catene di oligosaccaridi vengano sequenzialmente maturate.

Questo assicura che, attraverso passaggi sequenziali, si arrivi a formare le catene oligosaccaridiche complesse.



Nelle cisterne del Golgi vengono prodotti anche i glicosaminoglicani (GAG), lunghi etero polisaccaridi non ramificati formati dalla ripetizione di un disaccaride che legati a proteine formano i proteoglicani.

Uno dei due zuccheri che lo compongono, presenta il gruppo -OH sostituito da -NH<sub>2</sub> (gruppo aminico), da qui il nome.

Proteine e lipidi provenienti dal reticolo endoplasmatico arrivano all'apparato di Golgi veicolate da vescicole che formano una cisterna irregolare chiamata *cis Golgi network*.

Le modalità con le quali proseguono il loro cammino non sono ancora chiarite: esistono **due teorie**.

Secondo **la prima**, proteine e lipidi si muovono dall'una all'altra cisterna veicolati da vescicole.

Secondo **l'altra teoria**, sono le cisterne a maturare, trasformandosi nella cisterna successiva. In questo caso, l'individualità delle cisterne sarebbe mantenuta da vescicole che, con andamento retrogrado, trasportano indietro enzimi che appartengono alle cisterne precedenti.

La teoria della maturazione delle cisterne è al momento favorita: le **molecole di secrezione** sono sempre state individuate nelle cisterne e mai nelle vescicole.

### TRAFFICO VESCICOLARE

La cellula eucariotica è sede di un **intenso traffico di vescicole**, che hanno origine nel RE e si dirigono ai diversi organuli e alla membrana plasmatica. Altrettanto intenso è il **traffico in direzione opposta** che, dalla membrana plasmatica, si dirige all'interno della cellula.

La **formazione delle vescicole** è basata su un meccanismo che permette a una membrana di introflettersi o estroflettersi per generare una vescicola che, dopo essersi distaccata, può essere trasportata fino ad arrivare in contatto con un'altra membrana con cui la vescicola può fondersi (il movimento delle vescicole avviene grazie all'aiuto del **citoscheletro** che funge da rotaie su cui si muovono le proteine motrici).

Mentre la creazione di una **vescicola sottrae membrana** alla struttura di origine, la fusione **aggiunge membrana** alla struttura bersaglio. La vescicola contiene materiale nel proprio lume, al momento della fusione questo viene riversato nel lume dell'organulo bersaglio.

Nel caso in cui la vescicola origini dalla membrana plasmatica, materiale extracellulare si trova ad essere incluso in una vescicola intracellulare, questo fenomeno è definito **endocitosi**.

Nel caso contrario, quando la vescicola proveniente dall'interno della cellula si fonde con la membrana plasmatica, il suo contenuto viene espulso all'esterno e si parla di **esocitosi**.

Un caso particolare di esocitosi è rappresentato dagli **esosomi**, vescicole bioattive che si formano attraverso la fusione con la membrana plasmatica di corpi multivescicolari cellulari.

Sono stati studiati perché sono veri e propri vettori di scambio di informazioni biologiche tra le cellule e per il loro ruolo nella presentazione dell'antigene durante la risposta immunitaria.

Si definisce **gemmazione** la produzione di una vescicola che si distacca da una membrana, fenomeno molto comune sia a partire dal **RE**, che dall'apparato di **Golgi**.

La gemmazione è molto frequente anche sulla **membrana plasmatica**, come nel caso di alcune ghiandole apocrine o nel caso di cellule infettate da **virus** che, con questo meccanismo, liberano nuove particelle virali.

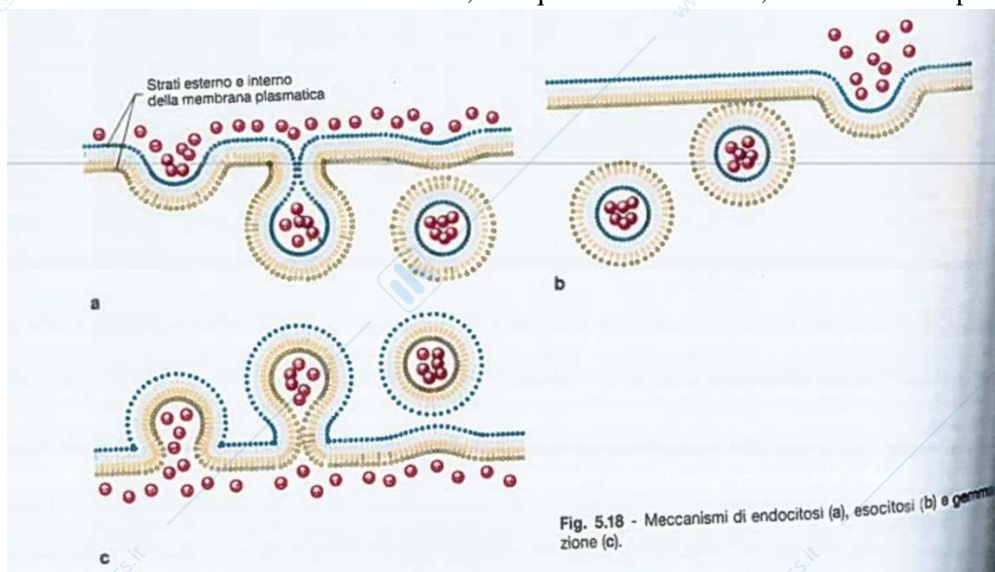


Fig. 5.18 - Meccanismi di endocitosi (a), esocitosi (b) e gemmazione (c).

Inizialmente si forma una fossetta di invaginazione caratterizzata, al microscopio elettronico, da un aspetto ispessito e spinoso del lato citoplasmatico della membrana, dovuto all'assemblaggio di un complesso rivestimento proteico: queste fossette si definiscono **fossette rivestite**.

L'esame del rivestimento ha rivelato una impressionante regolarità geometrica.

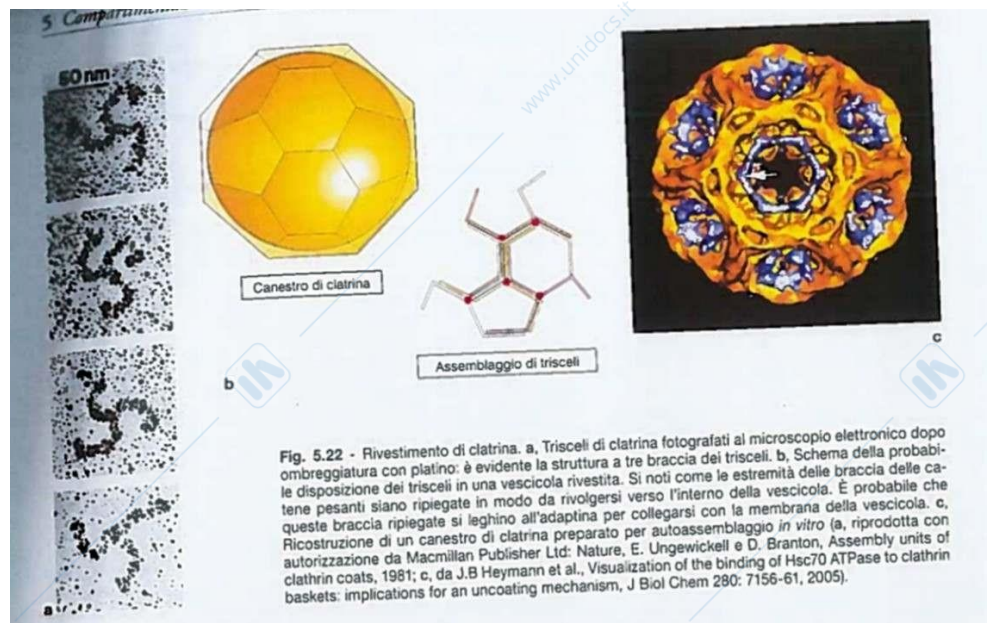
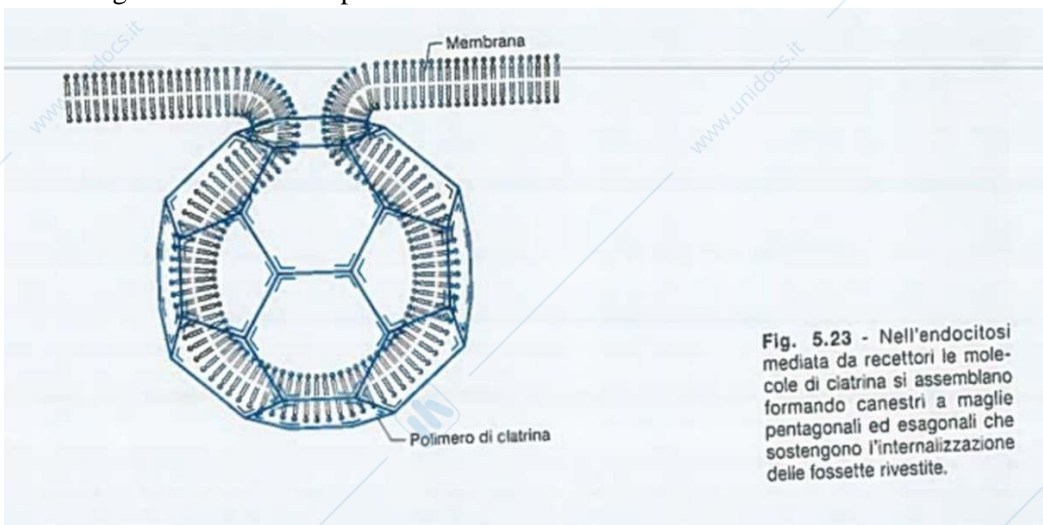
In seguito, le fossette diventano sempre più profonde fino a distaccarsi e formare **vescicole rivestite**, con il rivestimento proteico che crea una vera e propria gabbia poliedrica. Le fossette rivestite si trovano in genere in rapporto ad elementi del citoscheletro. In un secondo momento, la vescicola perde il rivestimento.

#### **APPARATO DI GOLGI: gemmazione e distacco**

Tre famiglie di proteine costituiscono il rivestimento proteico: **clatrina**, **COPI** e **COPII** (*coating protein*, proteine di rivestimento).

La **clatrina** riveste sia le vescicole che vanno dal trans Golgi network ai lisosomi, sia quelle dell'endocitosi;

**COPII** riveste le vescicole che dal RE vanno al Golgi e **COPI** tutte quelle che riportano le vescicole dal trans Golgi verso le cisterne precedenti o verso il RE.

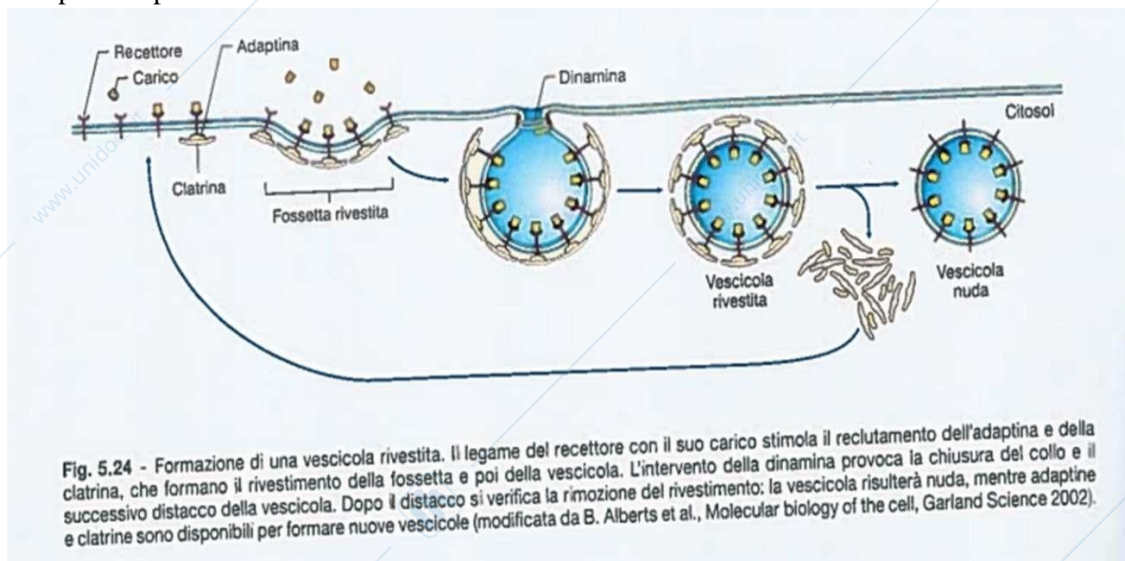


La regolare geometria esagonale del rivestimento è dovuta all'assemblaggio della clatrina che, ancorata alla membrana, ne provoca l'incurvatura a fossette e poi a vescicola.

Il meccanismo che avvia la formazione del rivestimento di clatrina è innescato dal legame del recettore di membrana con la molecola da trasportare: tale legame induce un cambiamento di conformazione che lo rende in grado di interagire con la clatrina per mezzo di proteine intermediarie, dette **adaptine**; esistono diversi tipi di adaptine, in grado di interagire con recettori diversi.

Il legame tra recettore e carico, oltre ad attivare il legame con adaptine e clatrina, determina spesso un fenomeno detto reclutamento dei recettori: i recettori attivati diffondono lateralmente per concentrarsi in un'area della membrana dove si formerà la fossetta rivestita.

La formazione del rivestimento richiede l'intervento di **GTPasi** di reclutamento che mediano l'unione delle componenti proteiche alla membrana.



In alcuni casi di **pinocitosi**, endocitosi in fase liquida, non è noto quali siano le forze che determinano l'invaginazione, si sa che in molti casi, sulla faccia citoplasmatica della fossetta, è presente una proteina, la **caveolina**, che forma rivestimenti con un aspetto diverso da quello della clatrina.

Nell'endocitosi mediata da **caveolina**, le molecole endocitate vengono traslocate al RER o all'apparato di Golgi.

Nel distacco della vescicola rivestita dalla membrana interviene un'ulteriore proteina dotata di attività GTPasica, detta **dinamina**. Numerose subunità di dinamina formano un avvolgimento a spirale attorno alla base della vescicola e, con l'intervento di altre proteine, ne determinano un **restringimento creando un collo** e, infine, il distacco della vescicola.

Per la contrazione dell'anello di dinamina è richiesta l'idrolisi del guanosin-trifosfato (GTP): inibendo l'idrolisi del GTP si impedisce il distacco delle vescicole, che rimangono collegate alla membrana.

Dopo il distacco della vescicola e la perdita del rivestimento, l'acidificazione dell'endosoma determina il **distacco del carico dai recettori**. I recettori scarichi in molti casi diffondono lateralmente nella membrana dell'endosoma per concentrarsi in una zona formando una vescicola che torna a fondersi con la membrana plasmatica allo scopo di riciclare i recettori stessi.

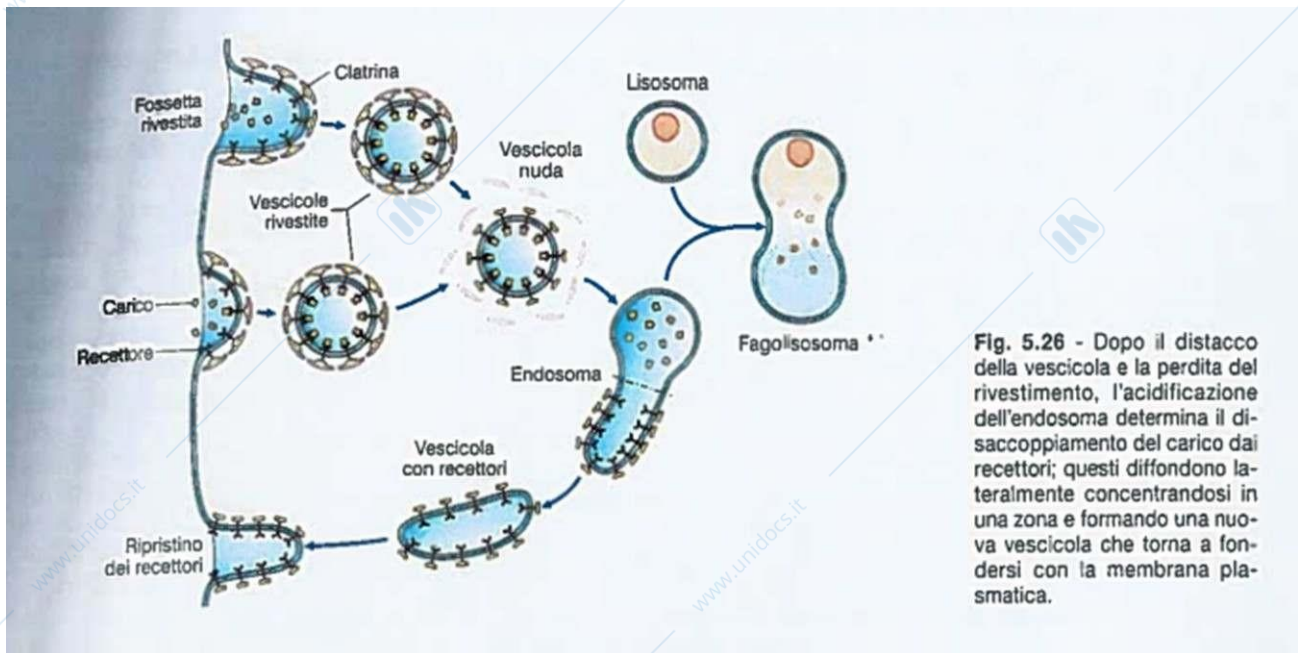
**APPARATO DI GOLGI: smistamento**

Fig. 5.26 - Dopo il distacco della vescicola e la perdita del rivestimento, l'acidificazione dell'endosoma determina il disaccoppiamento del carico dai recettori; questi diffondono lateralmente concentrandosi in una zona e formando una nuova vescicola che torna a fondersi con la membrana plasmatica.

Dopo il distacco dalla membrana di origine, le vescicole neoformate, che derivano sia da endocitosi che da gemmazione dal RE o dall'apparato di Golgi, devono essere smistate al corretto compartimento cellulare in base al loro contenuto.

Il **corretto smistamento** è essenziale per la funzionalità della cellula. Numerosi studi, molti dei quali condotti sulle vescicole delle sinapsi neuronali, hanno evidenziato il ruolo di una famiglia di proteine dette **SNARE**.

Sembra che le SNARE, oltre a fornire specificità nell'indirizzamento, contribuiscano anche alla fusione della membrana della vescicola con quella del bersaglio.

Esistono diverse SNARE, oltre 20, in serie di coppie complementari: SNARE della vescicola (vSNARE) e SNARE del bersaglio o target (tSNARE).

Così una vescicola idrolasica proveniente dall'apparato di Golgi, sarà caratterizzata da una vSNARE complementare alle tSNARE poste sugli endosomi e ogni tSNARE potrà legarsi soltanto alla vSNARE complementare. È probabile che la presenza di una particolare vSNARE su una vescicola dipenda dal contenuto di questa o meglio dalle caratteristiche del recettore di carico posto sulla sua membrana: in questo modo il recettore di carico garantisce il corretto contenuto della vescicola e nel contempo controlla l'indirizzamento della vescicola.

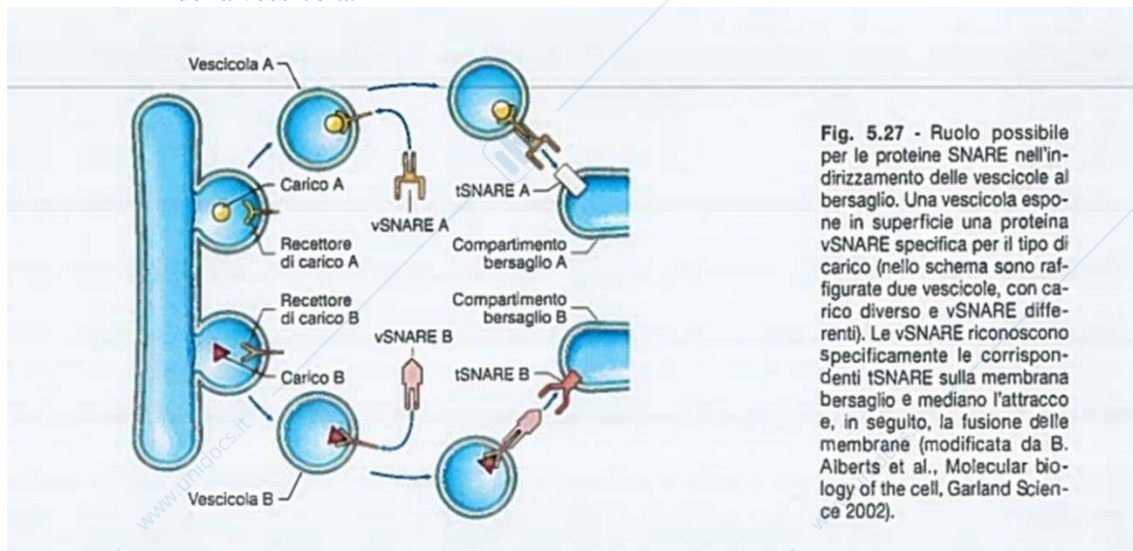
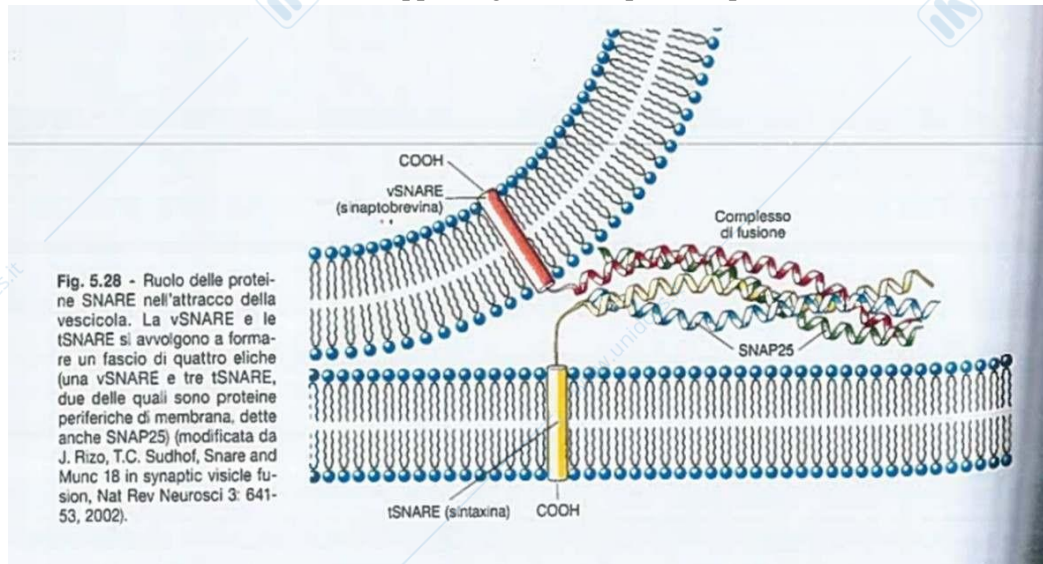


Fig. 5.27 - Ruolo possibile per le proteine SNARE nell'indirizzamento delle vescicole al bersaglio. Una vescicola espone in superficie una proteina vSNARE specifica per il tipo di carico (nello schema sono raffigurate due vescicole, con carico diverso e vSNARE differenti). Le vSNARE riconoscono specificamente le corrispondenti tSNARE sulla membrana bersaglio e mediano l'attracco e, in seguito, la fusione delle membrane (modificata da B. Alberts et al., Molecular biology of the cell, Garland Science 2002).

### **APPARATO DI GOLGI: fusione delle membrane**

Grazie alle proteine SNARE la vescicola può riconoscere il bersaglio con cui è destinata a fondersi. In seguito al riconoscimento tra una vSNARE e la corrispondente tSNARE, si verifica l'attacco della vescicola al bersaglio grazie ad una **complessa interazione tra queste proteine**, che si avvolgono reciprocamente per formare un fascio a quattro eliche.

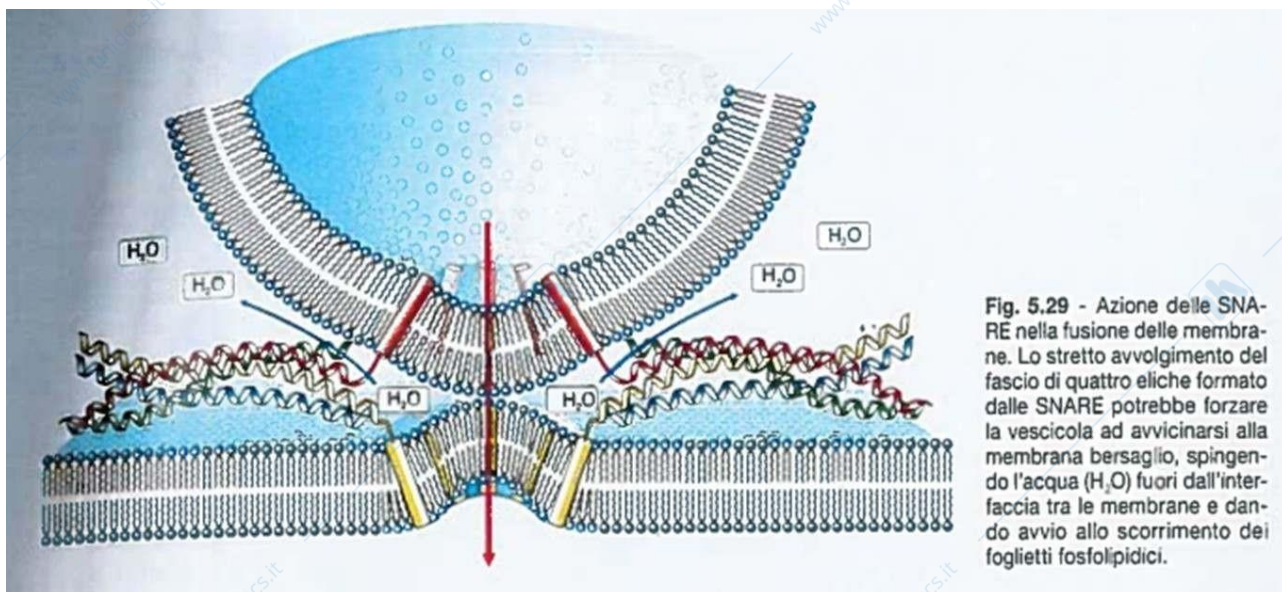
La vSNARE fornisce una delle quattro eliche, mentre la tSNARE è costituita da tre eliche, una delle quali è una proteina intrinseca di membrana e due appartengono a una proteina periferica detta SNAP25.



Il fascio a quattro eliche si spiralizza strettamente, contribuendo sia all'ancoraggio della vescicola che alla **fusione** tra le due membrane.

**Attacco e fusione sono due processi distinti:** per il primo è sufficiente che le due membrane si avvicinino quanto è necessario perché le proteine SNARE possano interagire; per il secondo le due membrane devono avvicinarsi ad una distanza inferiore a 1,5 nm, in modo che i fosfolipidi possano scorrere da un foglietto all'altro.

Questo avvicinamento è ostacolato dalle **molecole d'acqua d'idratazione** legate alla superficie idrofila delle membrane ed è possibile che lo stretto avvolgimento tra le proteine SNARE serva a spingere l'acqua fuori dall'interfaccia tra le due membrane.



Dopo la fusione delle membrane le SNARE avvolte vengono separate, si utilizza l'energia ottenuta dall'idrolisi di ATP, in modo che possano essere utilizzate nuovamente.

È possibile che altre proteine accessorie contribuiscano a facilitare la fusione dei foglietti lipidici: lo studio dei meccanismi di fusione dei **virus** dotati di membrana con la cellula ospite ha dimostrato la presenza di proteine attive in questo senso, dette proteine **fusogene**.

### **TRAFFICO VESCICOLARE TRA RE E APPARATO DI GOLGI**

Nella descrizione morfologica tra una pila di cisterne dell'apparato di Golgi è possibile distinguere un **reticolo dell'apparato di Golgi cis**, una **cisterna cis**, una o più **cisterne mediane**, una **cisterna trans** e un **reticolo di Golgi trans**.

Dal **RER** si verifica una **continua gemmazione di vescicole** di trasporto di **piccole dimensioni** che confluiscono nelle cisterne della **faccia cis** dell'apparato di Golgi, trasportando sia le membrane che il loro contenuto e andando a costruire le cisterne prossimali dell'apparato di Golgi.

Sono inoltre presenti numerose vescicole di piccole dimensioni in prossimità della porzione laterale delle cisterne chiamate **vescicole spola**.

Queste mostrano eventi di gemmazione e di fusione con i margini delle cisterne stesse, suggerendo uno scambio di materiale tra cisterna e cisterna. **Vescicole di maggiori dimensioni**, vescicole di secrezione, gemmano invece dalla **faccia trans** dell'apparato di Golgi.

Oltre alla **direzione anterograda** del traffico vescicolare tra RER e apparato di Golgi, e tra le diverse cisterne del Golgi, esiste un **flusso retrogrado**, secondo il quale le vescicole trasportano il contenuto a ritroso tra le cisterne fino al rientro al RE.

La **composizione del RE è mantenuta costante** sia **impedendo** che alcune proteine si trasferiscano all'apparato di Golgi, sia **recuperando** proteine che, raggiunto l'apparato di Golgi e avendo subito le opportune maturazioni, vengono riportate al RE mediante vescicole.

Mentre non è chiaro quali segnali trattengano le proteine nel RE, sono stati descritti **segnali per il recupero**, uno di questi è la sequenza Lys-Asp-Glu-Leu (**KDEL** secondo il codice a una lettera degli aminoacidi) che rappresenta il segnale per l'inserimento della proteina in una vescicola che tornerà al RE.

Per quanto riguarda proteine destinate a rimanere **nell'apparato di Golgi**, è possibile che esistano **sequenze segnale specifiche**, ma è anche probabile che un ruolo importante sia esercitato dal legame delle proteine con **aree particolari della membrana**, dovuto alla presenza di opportuni domini idrofobici.

Il **materiale destinato alla secrezione**, viene confezionato in vescicole di secrezione che si distaccano dal reticolo **trans** dell'apparato di Golgi.

**Una delle possibili vie** che possono intraprendere le vescicole che gemmano dalla faccia **trans** dell'apparato di Golgi è la via di secrezione (esocitosi) ovvero un movimento vescicolare in direzione della membrana plasmatica. **Un'altra** possibilità è la destinazione verso i lisosomi.

### **TRAFFICO VESCICOLARE IN USCITA DALL'APPARATO DI GOLGI**

Le vescicole secretorie possono seguire due comportamenti: una **secrezione costitutiva**, oppure rimanere in attesa di segnali che ne determinino una **secrezione regolata**.

La **secrezione costitutiva** sembra verificarsi senza l'intervento di particolari stimoli e ha come conseguenza il continuo rilascio dei prodotti di secrezione. La secrezione delle proteine della matrice extracellulare da parte di molte cellule è un esempio di secrezione costitutiva.

Non è chiaro se tutte le vescicole che gemmano dall'apparato di Golgi vadano incontro automaticamente a una secrezione costitutiva in assenza di segnali specifici.

Alcuni dati sperimentali suggeriscono che si tratti di un **processo automatico**: proteine che dovrebbero essere destinate al rientro al RE grazie alla sequenza KDEL, se private artificialmente di questo segnale, si avviano alla secrezione costitutiva.

D'altra parte, altre osservazioni hanno evidenziato l'esistenza di **sequenze amminoacidiche comuni** a molte proteine secrete costitutivamente.

Le vescicole destinate alla **secrezione regolata** si accumulano nella cellula e vanno incontro all'esocitosi soltanto in seguito a stimoli.

Esempi sono le **vescicole sinaptiche** contenenti i neurotrasmettitori, che vengono esocitate soltanto all'arrivo di un **impulso nervoso**, oppure le **cellule acinose pancreatiche**, che secernono gli **enzimi digestivi** soltanto durante il processo digestivo intestinale.

Nella secrezione regolata le vescicole gemmate dall'apparato di Golgi subiscono un processo maturativo che comporta soprattutto una **concentrazione del loro contenuto** e molto spesso **modifiche** consistenti in tagli proteolitici che possono già iniziare nell'apparato di Golgi e possono in alcuni casi completarsi soltanto dopo la secrezione.

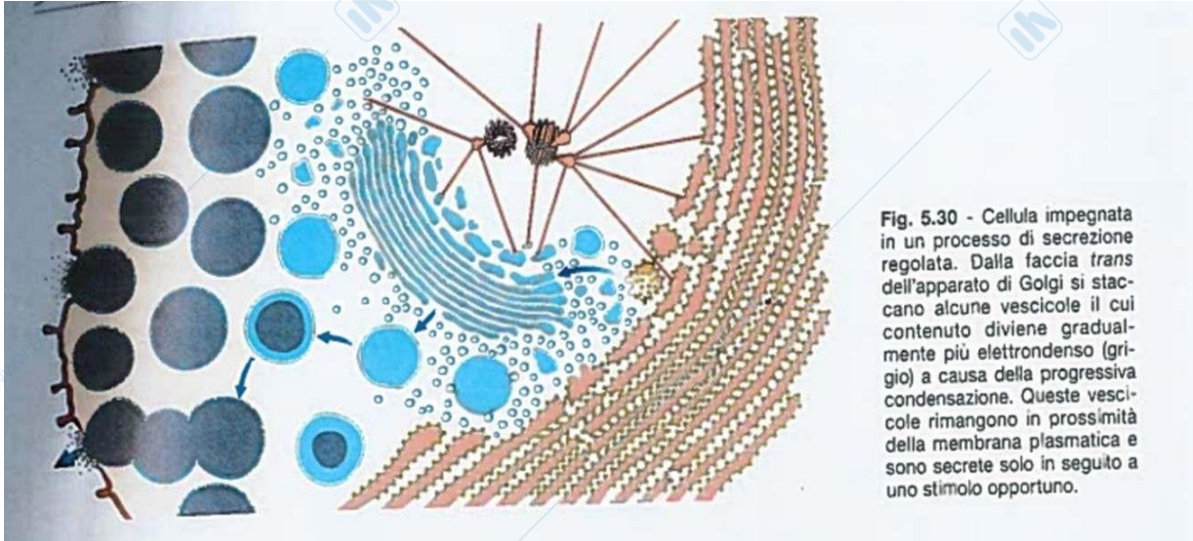


Fig. 5.30 - Cellula impegnata in un processo di secrezione regolata. Dalla faccia trans dell'apparato di Golgi si staccano alcune vescicole il cui contenuto diviene gradualmente più elettrondenso (grigio) a causa della progressiva condensazione. Queste vescicole rimangono in prossimità della membrana plasmatica e sono secrete solo in seguito a uno stimolo opportuno.

Le vescicole maturate, normalmente più grandi e più elettrondense di quelle a secrezione costitutiva, rimangono in prossimità della membrana plasmatica in attesa dello stimolo secretorio.

La **secrezione**, cioè l'attracco della vescicola alla membrana plasmatica e la successiva fusione delle membrane, viene innescata in genere da segnali che, aprendo **canali ionici** posti sulla membrana plasmatica o sul RE, determinano un **aumento** della concentrazione citoplasmatica di **calcio**.

Grazie all'esocitosi, le cellule provvedono a una serie di funzioni, oltre alla costruzione della membrana plasmatica stessa.

La costruzione della matrice extracellulare dei tessuti, la secrezione degli enzimi destinati a svolgere le loro funzioni all'esterno della cellula, come gli enzimi digestivi gastrici o intestinali, la secrezione di ormoni, fattori di crescita o neurotrasmettitori, la secrezione di anticorpi.

In molte cellule l'**esocitosi si verifica in zone specializzate della superficie cellulare** e in molti casi un dominio della cellula secerne alcune proteine, mentre altre sono secrete da domini diversi.

Nelle **cellule secretorie del sistema digerente**, ad esempio, il polo apicale, rivolto verso il lume intestinale, secerne in modo regolato gli enzimi digestivi, mentre il polo basale secerne in modo costitutivo elementi della matrice extracellulare.