

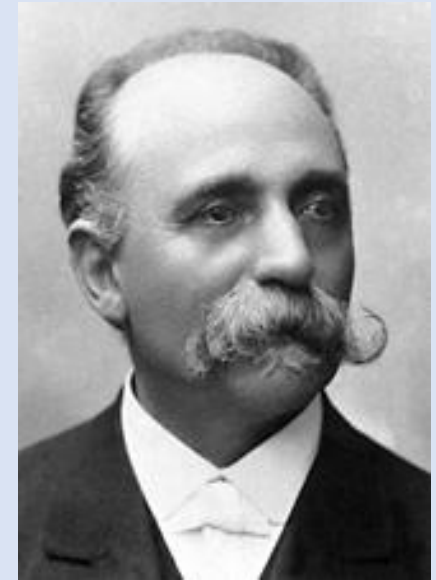
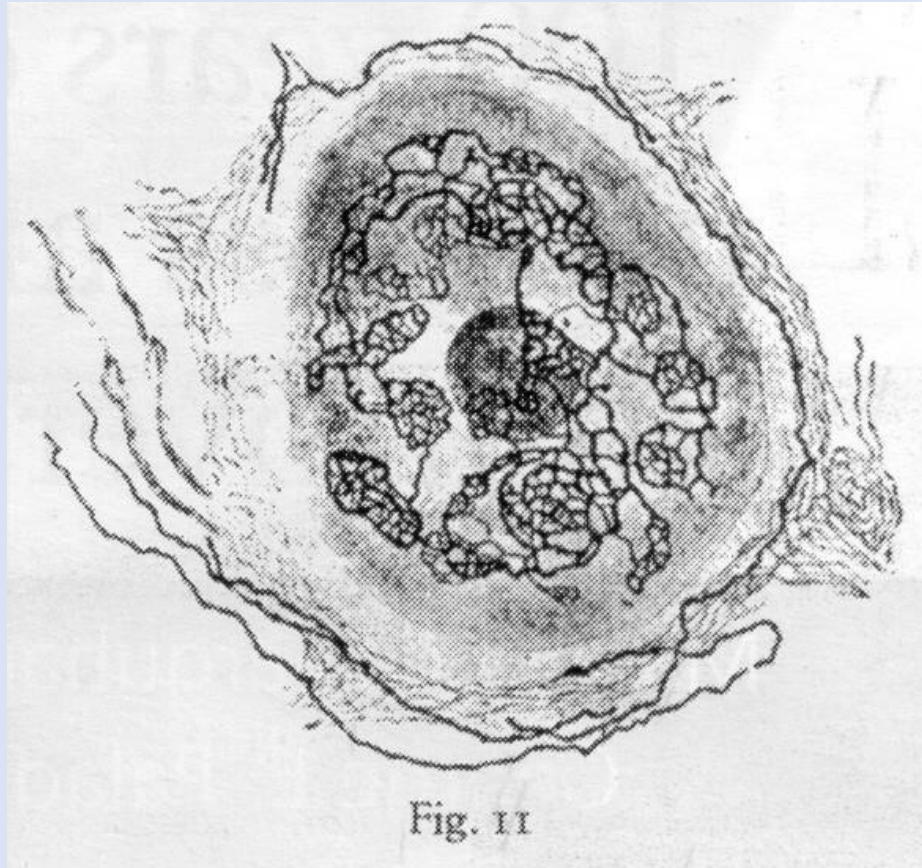
Exozytose. Golgi-Apparat, vesikulärer Transport.
Endozytose und Zellorganellen. Autophagie.

Dr. Tamas Ruttkay

Institut für Anatomie, Histologie und Embryologie
2017.

Golgi-Apparat

(Dictyosom)



Camillo Golgi (1843-1926)

Aufbau:

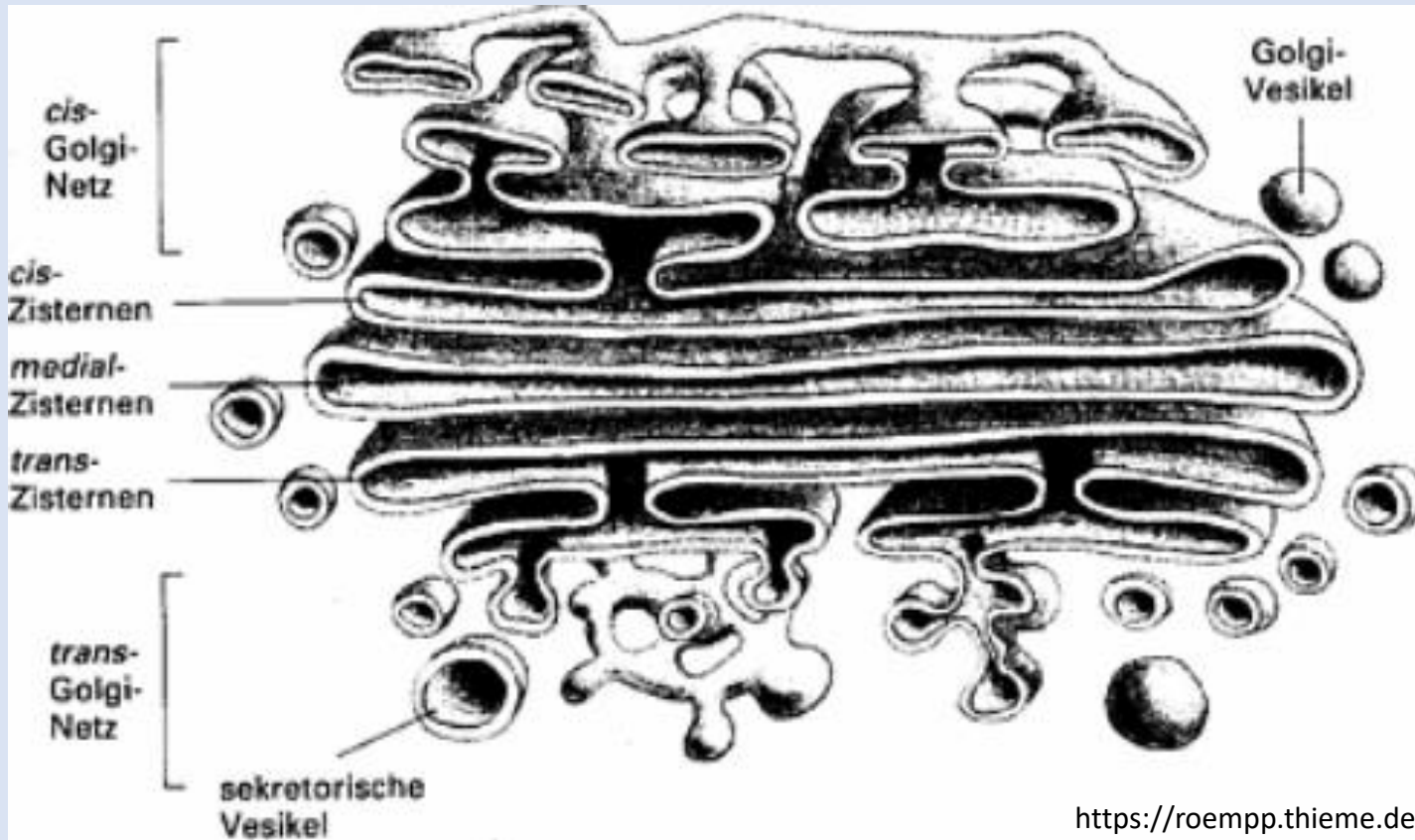
Spezielles
Membransystem

Funktion:

Die im RER gebildeten Proteine werden strukturell modifiziert
(phosphoryliert, sulfatiert, glykosyliert – oder in ihrer Glykosylierung verändert)

Die veränderten Proteine werden nach Zielorten sortiert

Aufbau des Golgi-Apparates



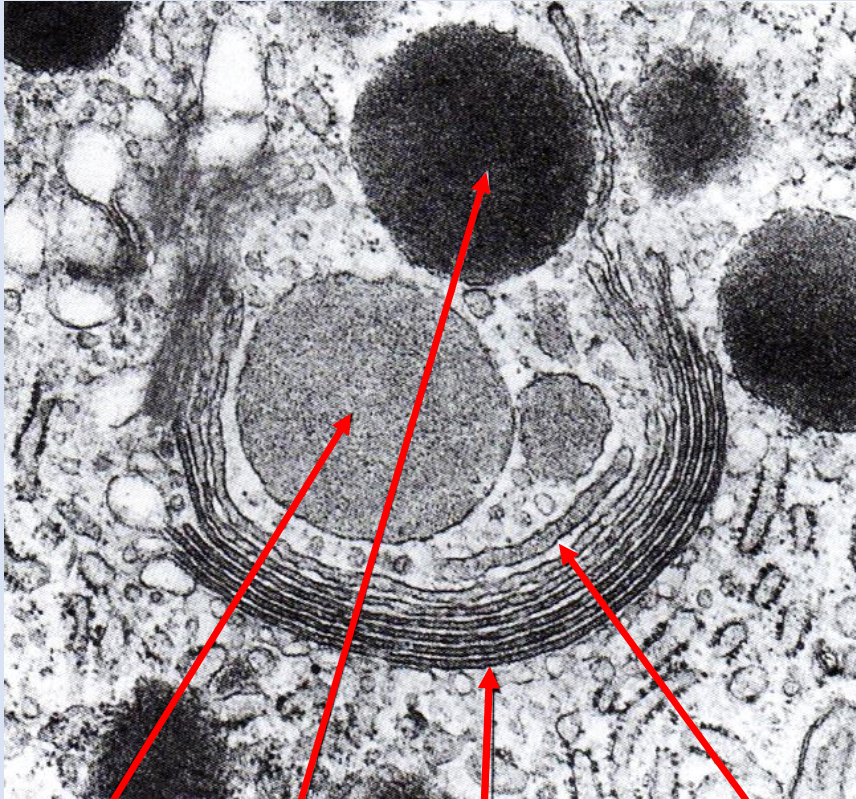
Besteht aus einem Stapel membranbegrenzter Zisternen und diesen zugeordneter Vesikeln

Polarisierter Aufbau

- eine Seite ist oft konvex gewölbt – cis-Seite (Aufnahme der Vesikel aus dem RER)
- andere Seite ist oft konkav gewölbt – trans-Seite (Verpackung der modifizierten Proteinen in Vesikel oder Sekretionsgranula)

Aufbau des Golgi-Apparates

Röhlich



Sekretionsgranula

cis-Zisterne

trans-Zisterne

Welsch



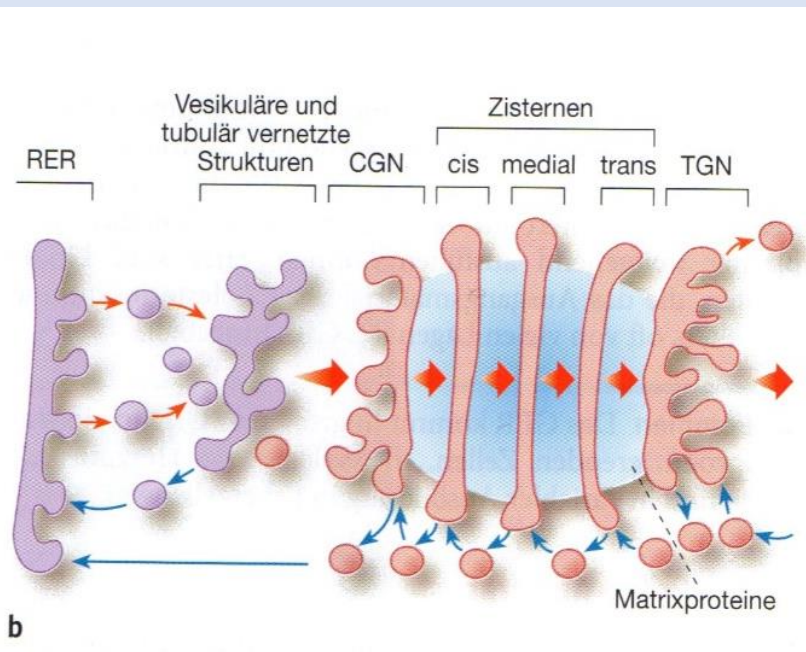
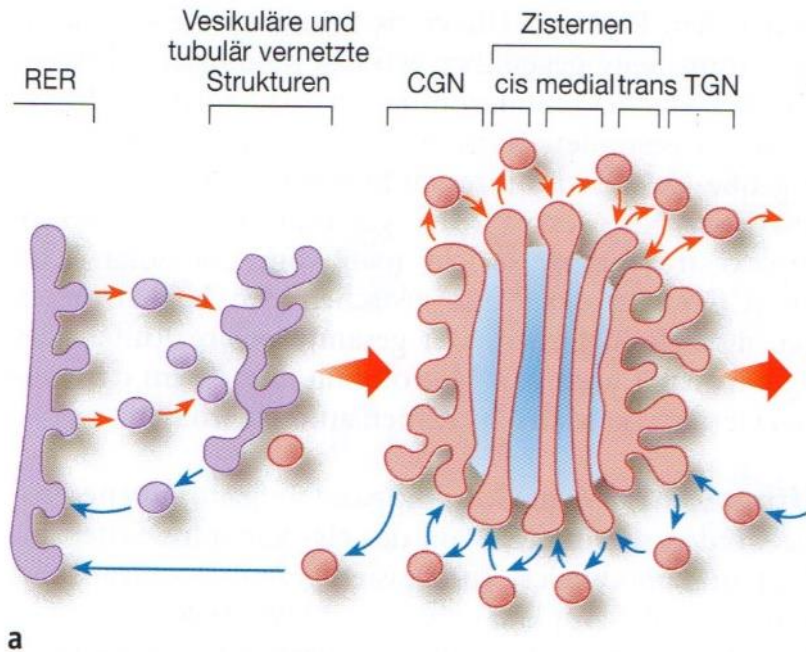
Golgi-Apparat wurde durch Osmierung
sichtbar gemacht

Funktion des Golgi-Apparates

Zwei Hypothesen zum Stofftransport durch den Membrankomplex (von cis- bis trans-Seite):

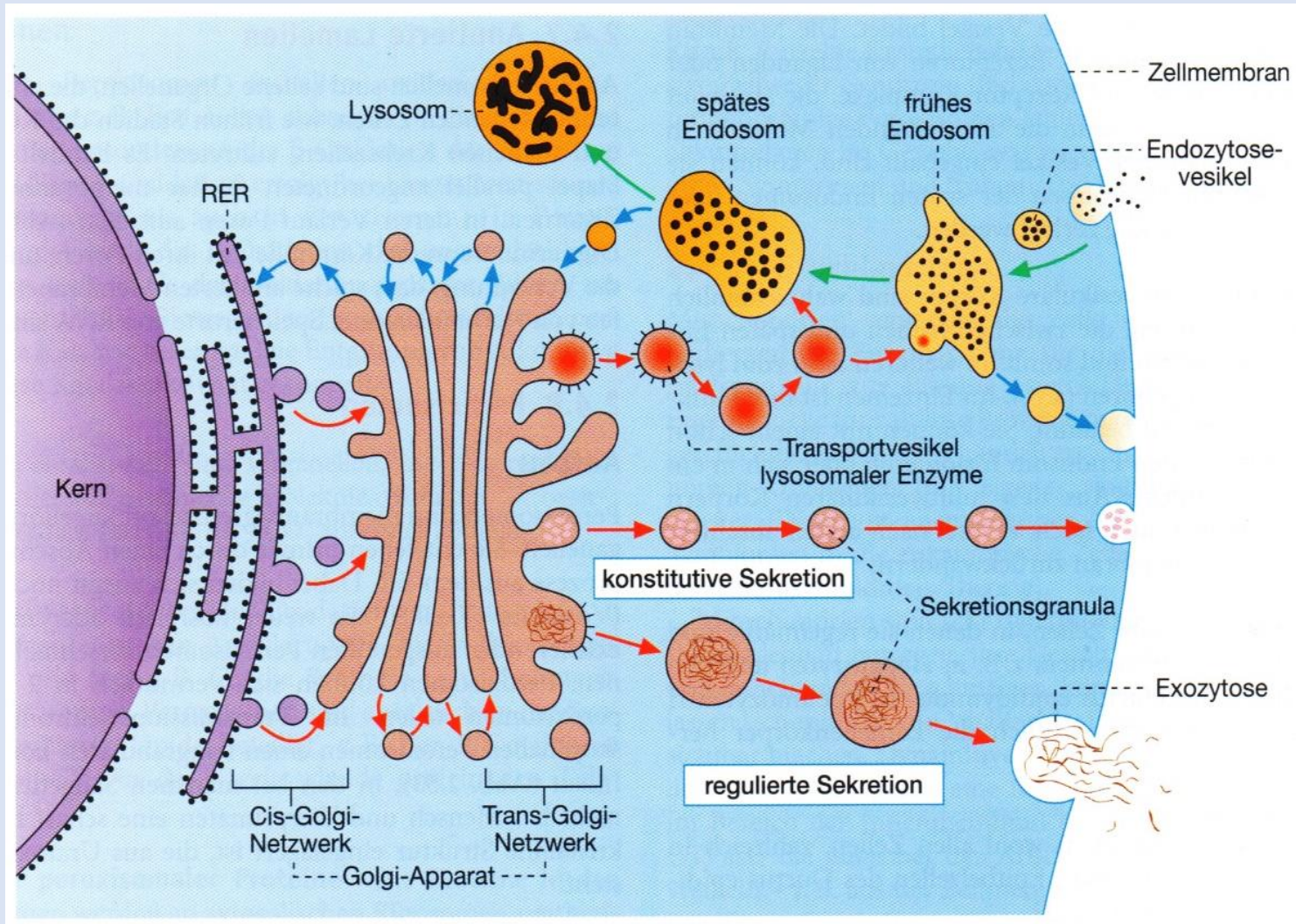
- a. Transport mittels lateral abgeschnürten Vesikeln bei stationären Zisternen
- b. Wanderung der Zisternen (cis-Seite wird aus Vesikeln des RER ständig neu gebildet)

Trotz zwei unterschiedlichen Hypothesen ist es sicher, dass Stoffe (z.B. Enzyme) mittels lateralen Vesikeln von der trans- zur cis-Seite auch zurücktransportiert werden können – **retrograder Transport**.



Transport aus dem TGN (trans-Golgi-Netzwerk)

Welsch



- **Bildung und Speicherung sekretorischer Vesikel**
- Synthese und Modifizierung von Elementen der Plasmamembran
- Bildung von Lysosomen

Stimulierte Exozytose (regulierte Sekretion):

Die fertiggestellten sekretorischen Vesikel warten auf einen spezifischen Reiz.

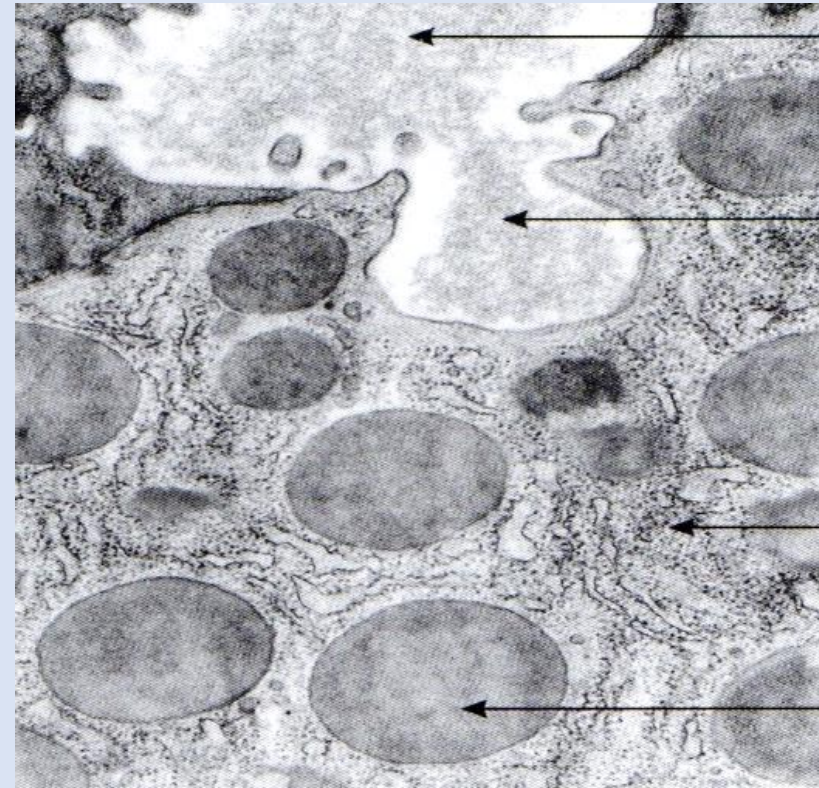
Dieser Reiz aktiviert eine Signalkaskade im Inneren der Zelle.

Das Sekret wird extrazellulär abgegeben.
(Drüsen, Neuron)

Schritte der Bildung von sekretorischen Vesikeln:

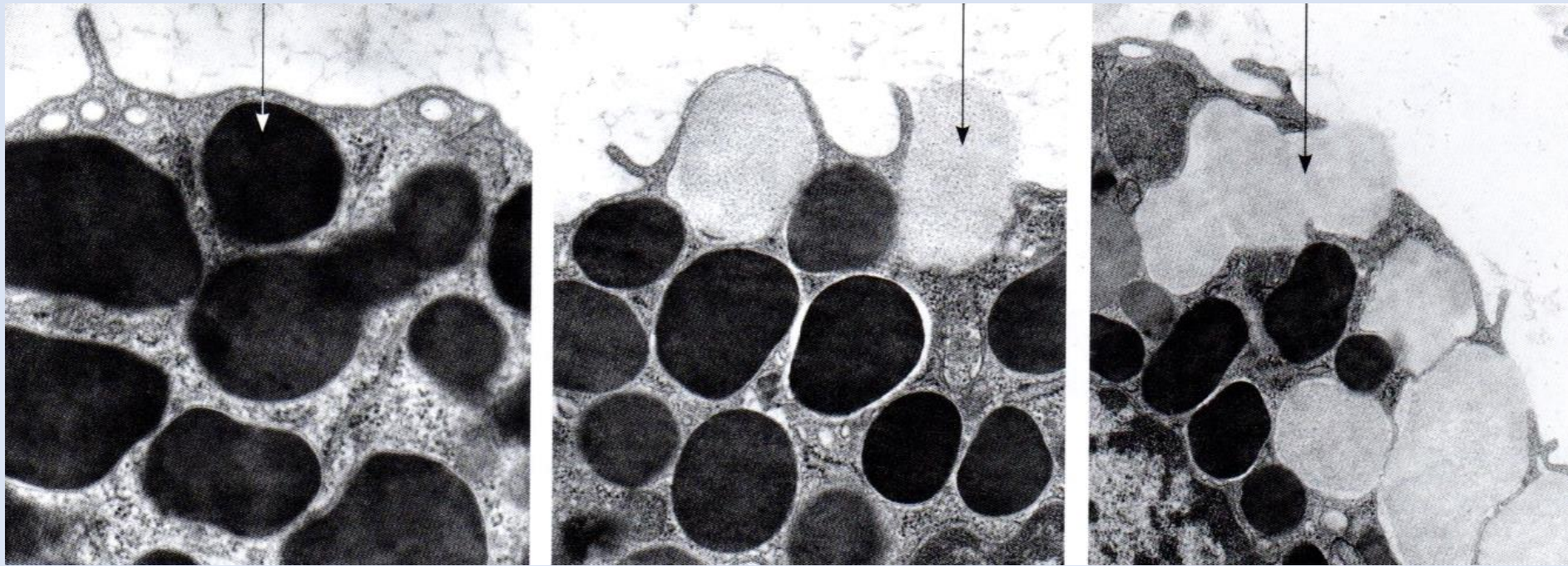
1. Aggregation und Sortierung der zu sekretierenden Proteinen im TGN
2. Abschnürung der einzelnen unreifen Sekretionsgranula
3. Fusion der unreifen Sekretionsgranula
4. Bildung der reifen sekretorischen Vesikel durch Veränderung der Membran sowie des Inhalts der unreifen Sekretionsgranula

Bildung und Speicherung sekretorischer Vesikel



Röhlich

Sequentielle Exozytose

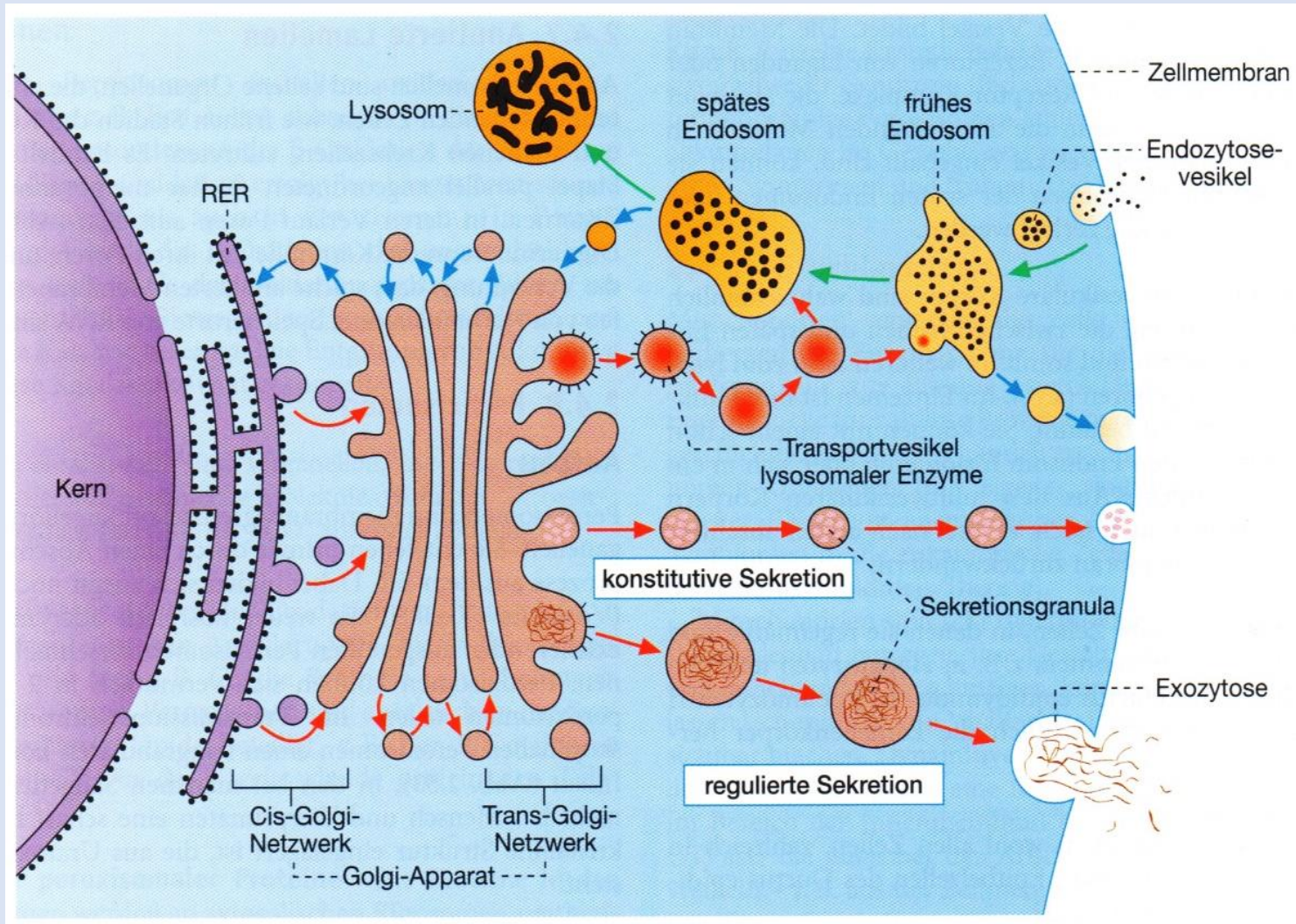


Röhlich

Es passiert durch reihenweise Exozytosen sowie Fusion der sekretorischen Vesikel.

Transport aus dem TGN (trans-Golgi-Netzwerk)

Welsch



- Bildung und Speicherung sekretorischer Vesikel
- **Synthese und Modifizierung von Elementen der Plasmamembran**
- Bildung von Lysosomen

Konstitutive Exozytose (konstitutive Sekretion):

Es ist eine kontinuierliche Stoff- und Membranströmung vom TGN zur Plasmamembran, die keinen extra Signal braucht.

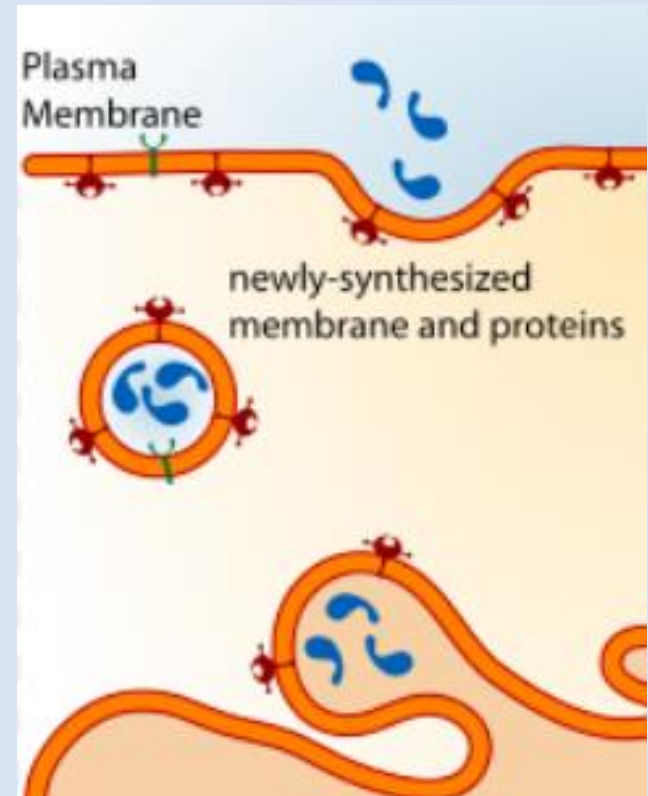
Die Membran der abgeschnürten Transportvesikel enthält Lipide sowie Proteine der Plasmamembran; die im Vesikel befindlichen Proteine sowie Proteoglikane entleeren sich in Richtung der extrazellulären Matrix.

Die genaue Richtung ist gegeben:
Aufbau unterschiedlicher Anteile der Plasmamembran besonders bei polarisierten Zellen (apikale, baso-laterale Membran).

Hauptziel ist die Quantität sowie Qualität der Plasmamembran zu erhalten.

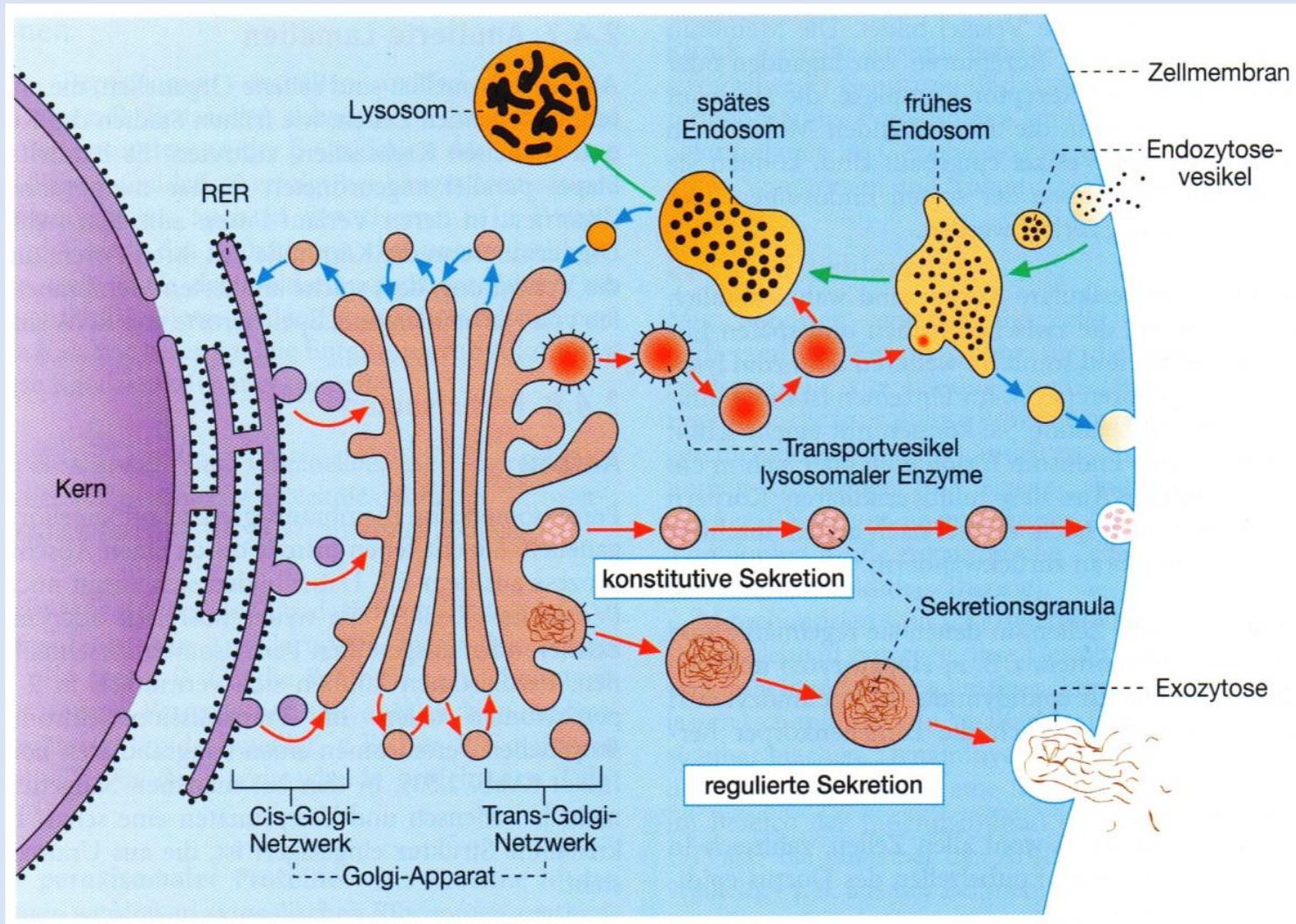
Trotz dem kontinuierlichen Prozess ist eine Regulation (feine Steuerung) möglich.

Synthese und Modifizierung von Elementen der Plasmamembran



Transport aus dem TGN (trans-Golgi-Netzwerk)

Welsch



- Bildung und Speicherung sekretorischer Vesikel
- Synthese und Modifizierung von Elementen der Plasmamembran
- **Bildung von Lysosomen**

Bildung von Lysosomen

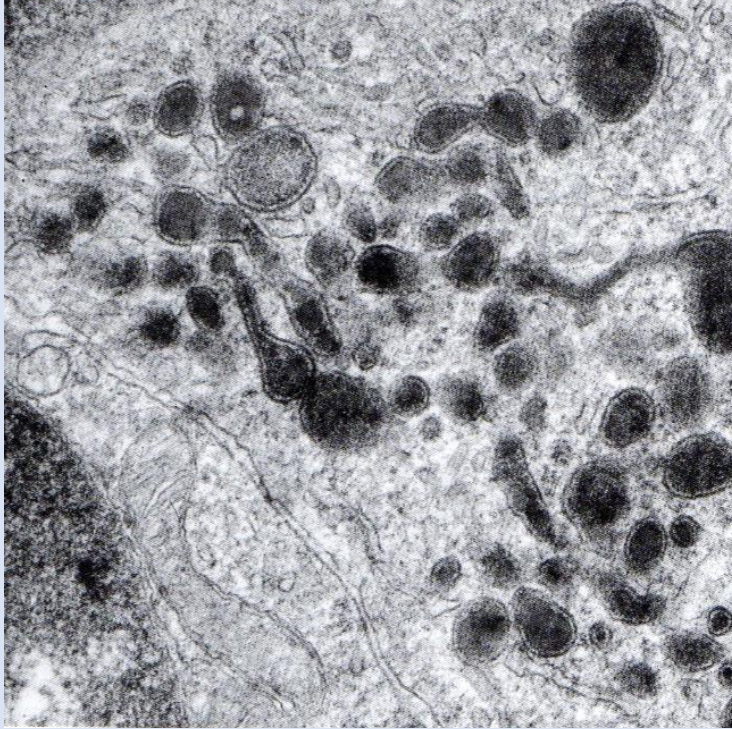
Lysosomen sind membranbegrenzte Zellorganellen, die saure Hydrolasen enthalten (pH-Wert von ca. 5).

Es sind 40-50 lysosomale saure Hydrolasen, die ihr Aktivitätsoptimum im sauren Bereich haben und die alle wichtigen Substrate **abbauen und verdauen** können.

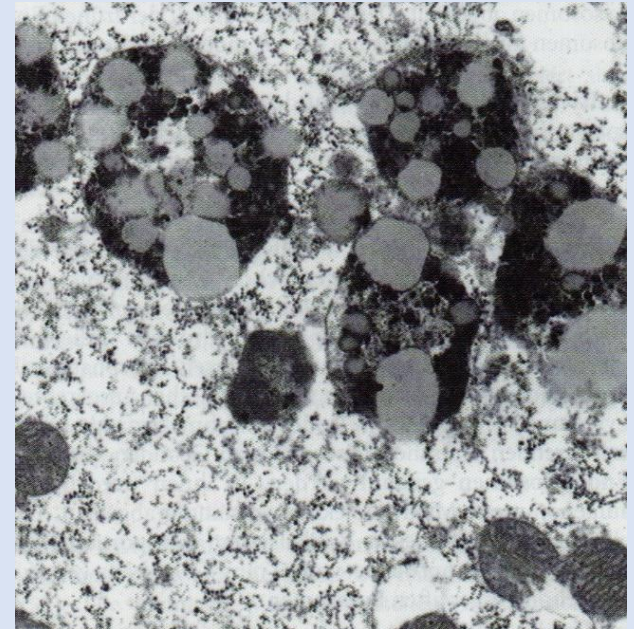
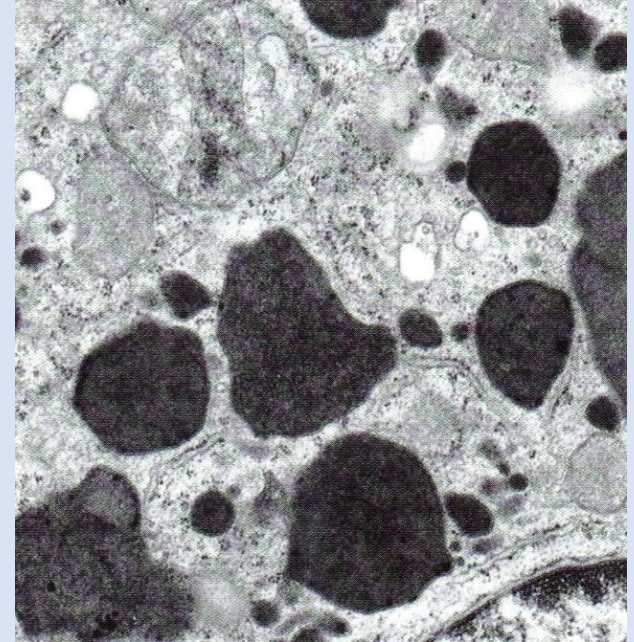


Bildung von Lysosomen

Röhlich



Welsch



Die Lysosomenmembran enthält außer der Protonenpumpe
auch Transportproteine



Verlagerung der Abbauprodukte in das Zytoplasma



Wiederverwendung für Synthese

Endosomen

Endosomen: vesikuläre Organellen mit enger funktioneller Beziehung (Empfang der Proteinen, Sortierung, regulierter Transport) zu den Lysosomen.

→ sie enthalten M6P-Rezeptoren

Frühe Endosomen (*charakteristische Proteine: EEA1 – early endosome antigen 1*):

- Differenzierung nach dem Empfang der Hydrolasen aus dem Golgi-Apparat
- leicht saurer pH-Wert (6-6,5)
- größtenteils noch inaktive Enzyme
- Membranrezeptoren, die an die abzubauenen Stoffe gebunden waren
→ Transport in Vesikeln wieder an die Zelloberfläche zurück
- Aktivierung der Protonenpumpen

Multivesikuläre Körper:

- Zwischenstadium auf dem Weg vom frühen zum späten Endosom

Späte Endosomen:

- pH-Wert bei 5-6
- Verlust des Phosphatanteils der M6P-Gruppe; Aktivierung der Hydrolasen
- sie entwickeln sich zu typischen Lysosomen oder verschmelzen mit schon existierenden typischen Lysosomen (Endolysosomen)
→ **vollständiger Abbau** z.B. aufgenommener Makromoleküle
- Verbindung durch bidirektionalen vesikulären Transport mit dem TGN

Proteasom

Es ist ein großer Proteasenkomplex im Zytosol und Zellkern, der aus 28 Untereinheiten besteht und Proteine abbaut.

Die abzubauenen Proteine sind va. durch Ubiquitin markiert.

Keine Begrenzung von einer Membran

Wichtige Rolle im Rahmen der Immunität:

Abbau zytosolischer Proteine



Transport der Fragmenten durch die TAP-Proteine ins RER



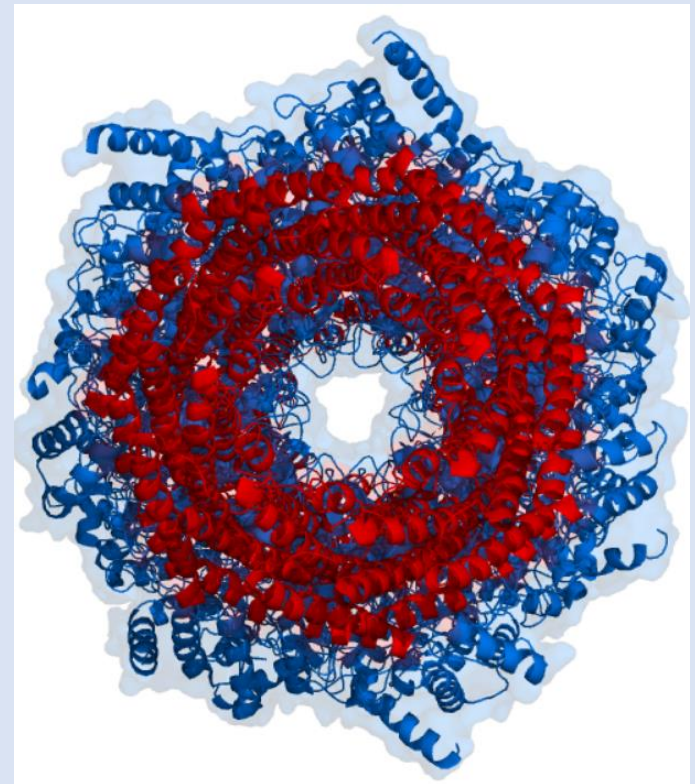
Verbindung mit MHC-Klasse-I-Proteinen in der Membran des RER



Wanderung durch den Golgi-Apparat zur Zelloberfläche



Funktion als Erkennungsstruktur für die CD8-positiven T-Lymphozyten



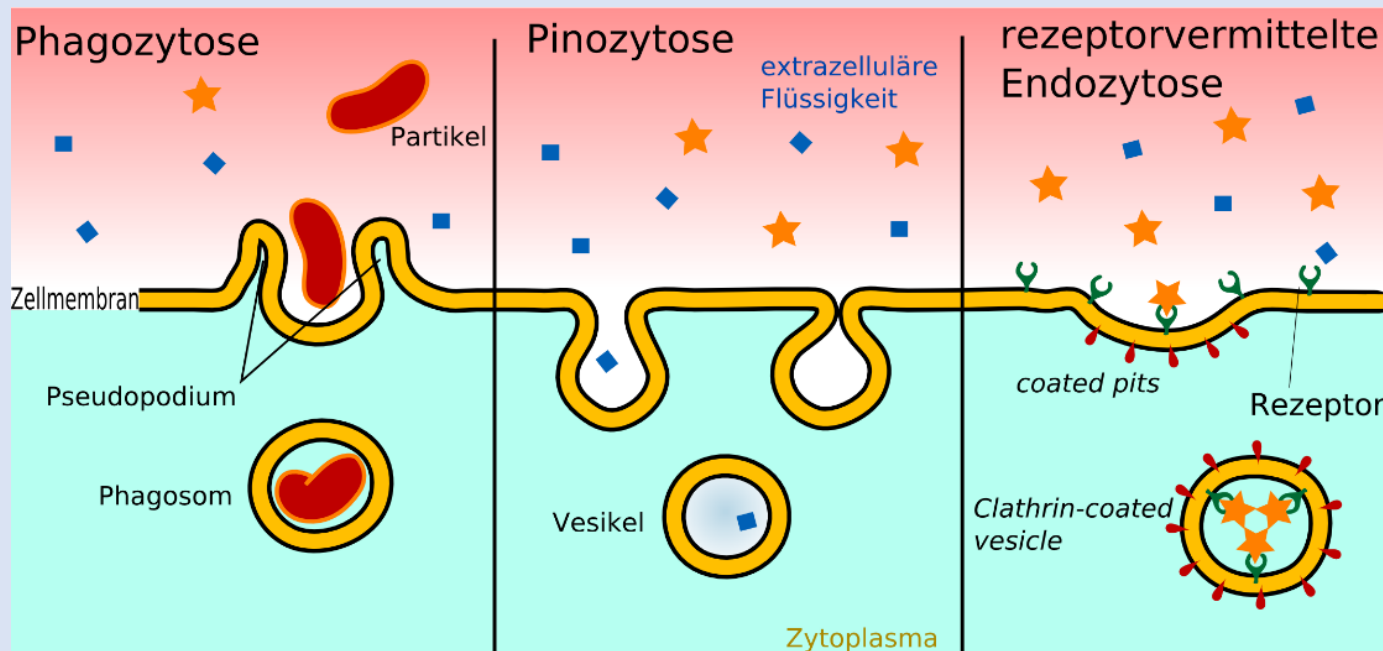
<https://en.wikipedia.org>

Endozytose

Mittels Endozytose nehmen die Zellen extrazelluläre Partikel eingepackt (Membran) auf.

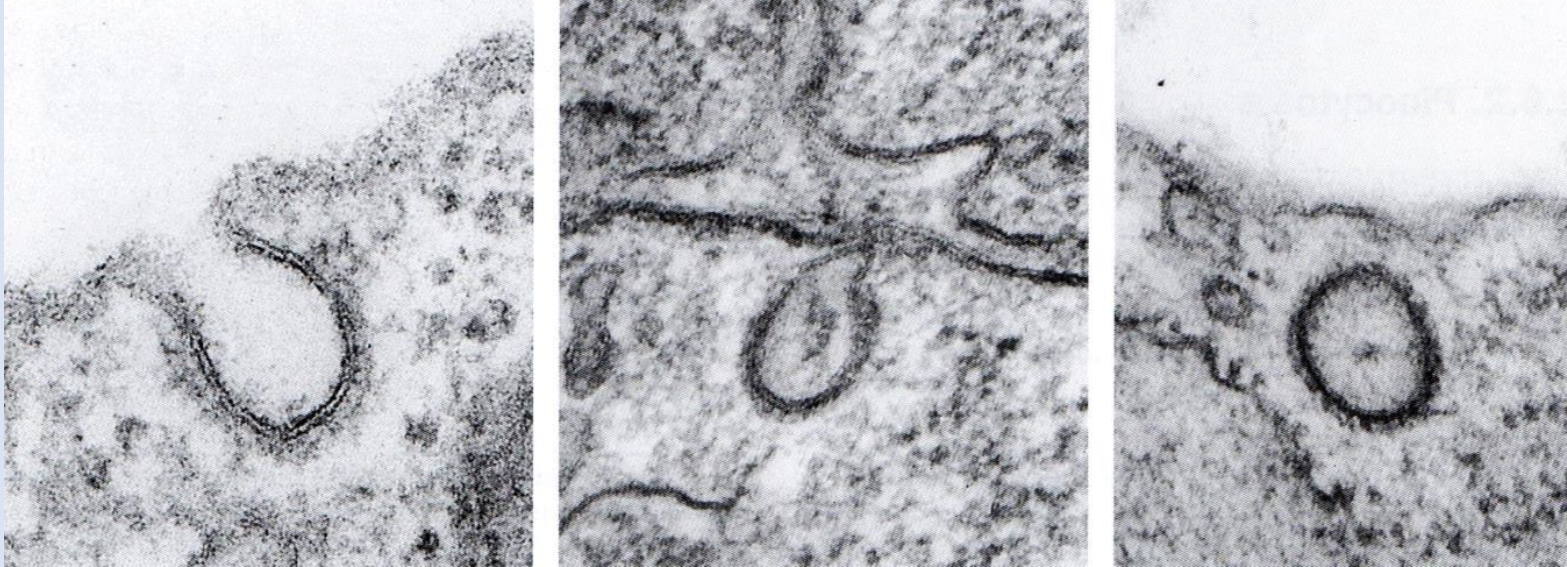
Formen auf Grund Größe der aufgenommenen Partikel:

- **Pinozytose** (Durchmesser < ca. 0,1 μm) – Flüssigkeit
- **Phagozytose** (Durchmesser > ca. 0,1 μm)



Clathrin-vermittelte Endozytose

1. Festlegung des Ortes der Stoffaufnahme
2. Rekrutierung von **Clathrin** und Adapterproteinen
3. Einbeulung der Zellmembran
4. Vertiefung
5. Abschnürung des Vesikels
6. Fusion mit einem Endosomen



Eine **selektive Stoffaufnahme** ist durch Rezeptoren der Zelloberfläche möglich (Rezeptor-vermittelte Endozytose).

Die Rezeptoren und Clathrin-Molekülen werden durch Adapterproteine miteinander verbunden.

In den Einbeulungen werden die Rezeptoren sowie die angebundenen Molekülen angehäuft (ggf. 1000x).

Eine zusätzliche Aufnahme des extrazellulären Matrix erfolgt bei allen Formen der Endozytose.

Nicht Clathrin-vermittelte Endozytose

Makropinozytose

Die **Flüssigkeit** wird ohne Beteiligung von Rezeptoren unspezifisch aufgenommen.

Der abgeschnürte Vesikel heißt Makropinosom.

Von einer Seite eine Methode für Stoffaufnahme (Flüssigkeit), von der anderen Seite kann einfach eine Probenentnahme der Umgebung sein.

Konstitutive Endozytose:

Ohne äußeren Signal bilden und schnüren Vesikel von der Plasmamembran kontinuierlich ab.

In den abgeschnürten Plasmabereichen gibt es keine Clathrin- und Caveolin-Molekülen.

Es hat eine Bedeutung im Zusammenhang mit der Polarisierung der Plasmamembran sowie in der Aufnahme von z.B. Lipid Rafts in den Golgi-Apparat.

Nicht Clathrin-vermittelte Endozytose

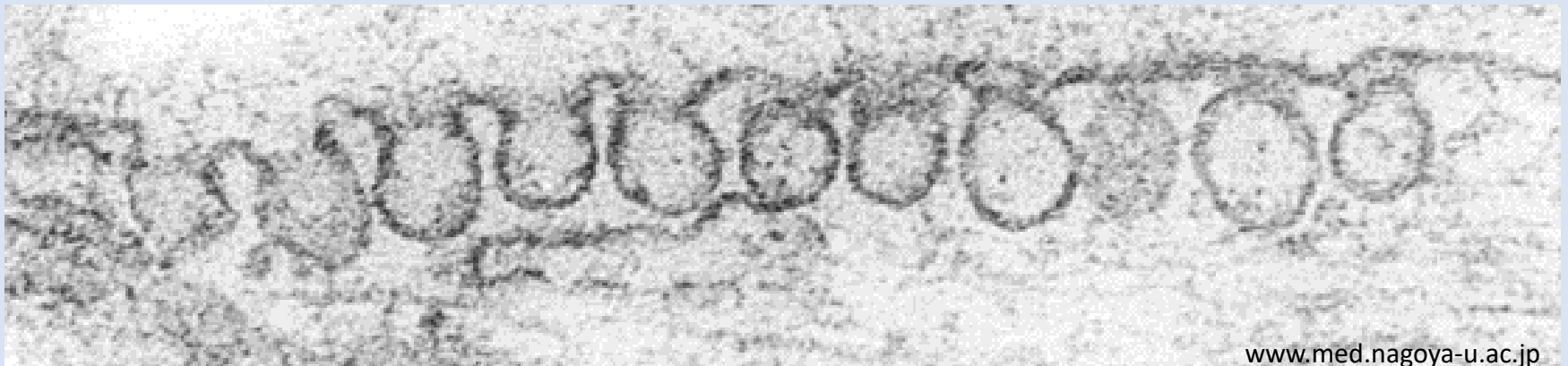
Caveolae-vermittelte Endozytose

Die Caveolae sind spezielle Lipid Rafts mit einer Zusammensetzung aus Proteinen (Caveolin) und **Lipiden**. Sie sind kleiner, als die Vesikel der Clathrin-vermittelten Endozytose.

Transportwege mittels Caveolae:

- Potozytose

Die Caveola schließt sich temporär, aber schnürt sich nicht ab. Die Rezeptor-Molekül-Verbindung löst sich und der Stoff wird in das Zytoplasma aufgenommen. Letzendlich öffnet sich die Caveola in Richtung der Umgebung wieder (z.B. Aufnahme des Vitamin B₄).



www.med.nagoya-u.ac.jp

sackförmige Einbuchtungen der Plasmamembran

- Transzytose

Der abgeschnürte Vesikel transportiert den Ligand durch die Zelle (apiko-basale Richtung) ohne Interaktion mit anderen Zellorganellen.

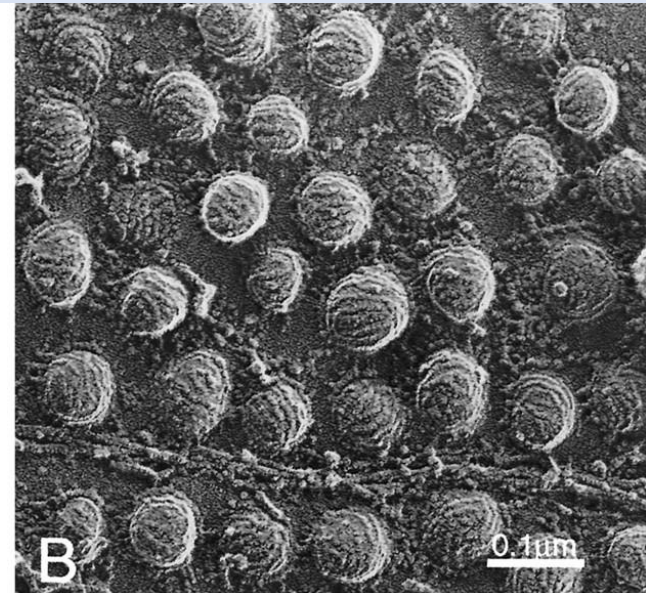
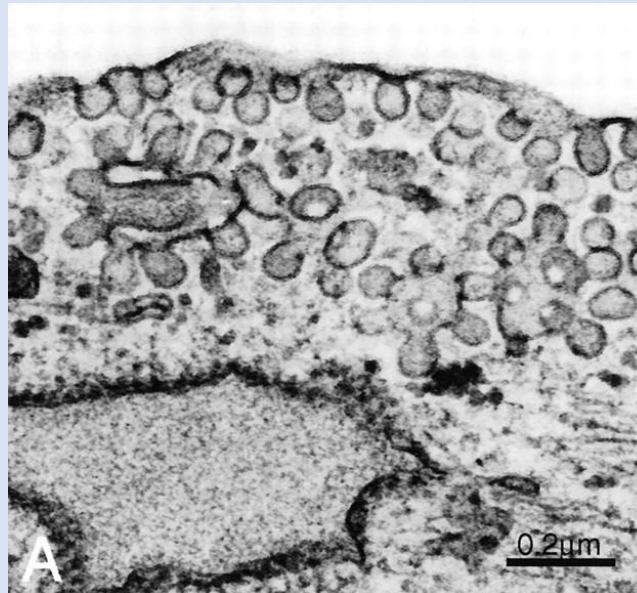
Dieses Vorgehen ist mittels anderen Formen der Endozytose auch möglich.

- Fusion mit einem Caveosom

Der stoffhaltige Vesikel (Caveola) fusioniert nach der Abschnürung mit einem sg. Caveosom (ähnlich wie ein Endosom, jedoch stabiler). Dann aus dem Caveosom sind mehrere Transportwege möglich:

- a. direkt in die Plasmamembran zurück
- b. in den Golgi-Apparat
- c. in das endoplasmatische Retikulum (z.B. SV 40 Virus)

- Teilnahme an Signalübermittlung (Rezeptoren der Wachstumsfaktoren, Integrine usw.)



Phagozytose

Nicht alle Zelltypen sind für eine Phagozytose fähig.

Bei Vielzellern erfährt man die Phagozytose im Immunsystem:

Einverleibung durch Makrophage:

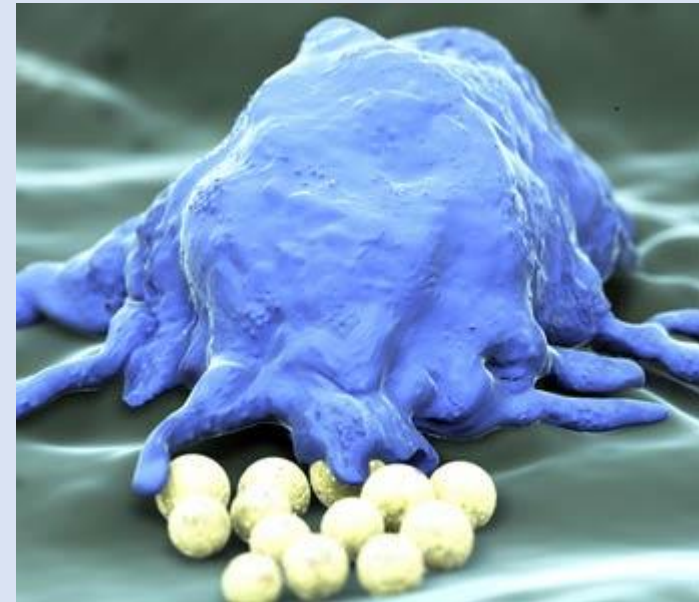
Mikroorganismen

verstorbene Zellen (z.B. rote Blutkörperchen)

Die Phagozyten machen einen Unterschied zwischen fremden und körpereigenen, und auch durch Apoptose abgestorbenen Zellen. Unterschiedliche Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle (eigene Zellen – ABC1 Transportermolekülen).

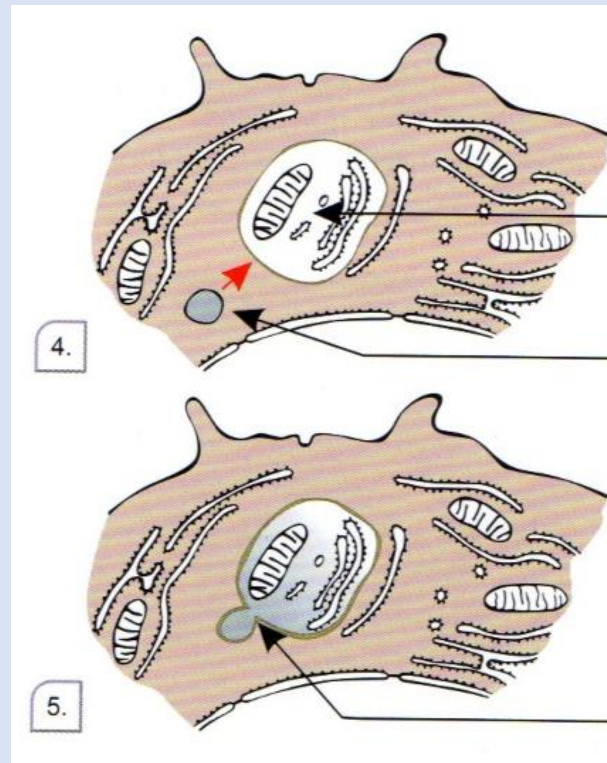
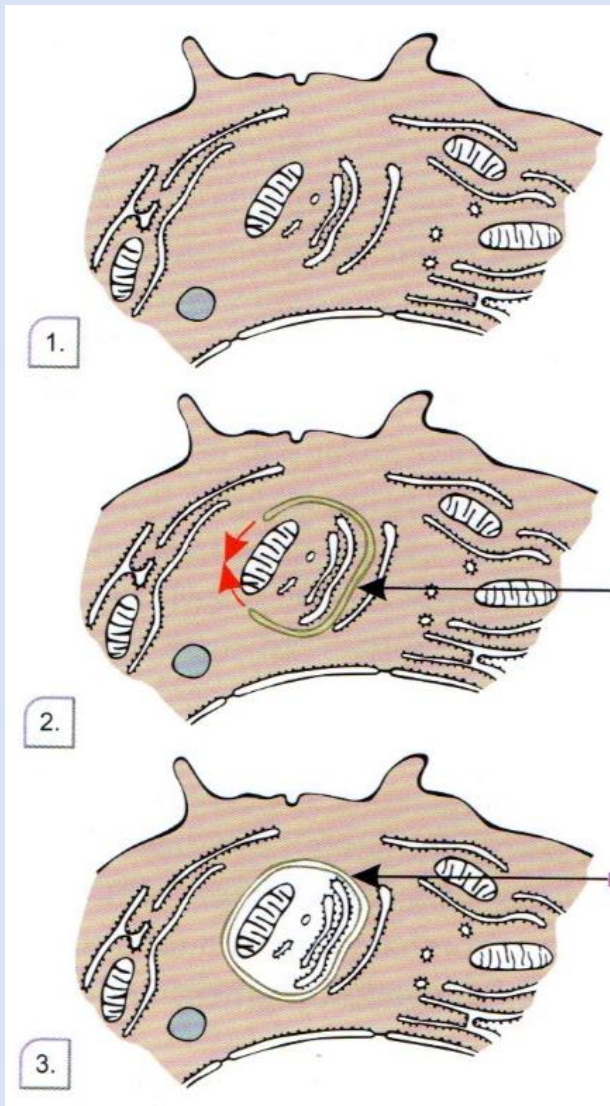
Durch Phagozytose bildet sich ein Phagosom (kann auch fast so groß wie die Zelle sein).

Es ist kein konstitutiver, spontaner Vorgang, sondern ein Signal ist als Induktion benötigt. Der aufzunehmende Partikel bindet sich zu den Rezeptoren der Phagozyte, wonach die Struktur in die Zelle aufgenommen oder durch die Zelle aktiv „umflossen“ wird.



Autophagozytose

Röhlich

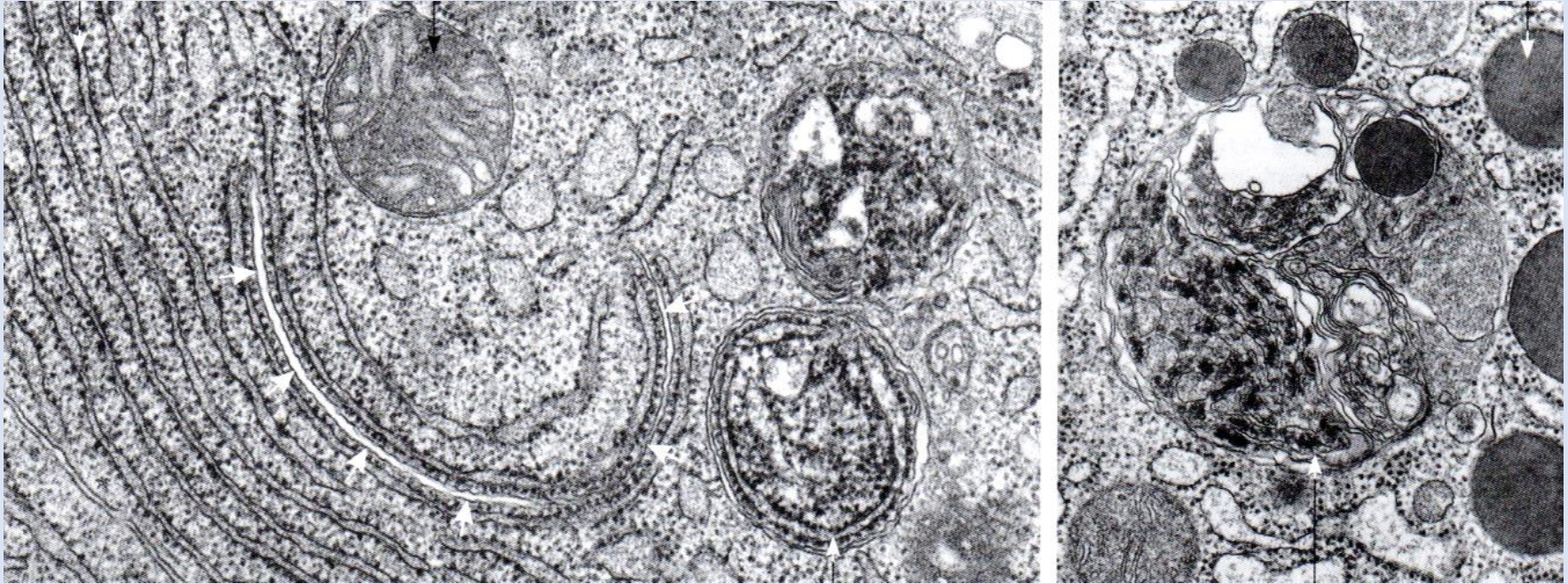


Prozess in der Zelle, mit dem sie **eigene** Bestandteile abbaut und verwertet. (fehlgefaltete Proteine bis zu ganzen Zellorganellen)

Schritte:

1. Induktion
2. Isolierung der Organellen mittels einer Membran (aus ER); zuerst Doppelmembran, dann einschichtig
3. Reifung des Autophagosoms und Fusion mit dem Lysosom
4. Abbau des Inhalts des Autophagosoms mittels sauren Hydrolasen

Autophagozytose



Makroautophagie:

- der hauptsächliche Mechanismus für Abbau der Zellorganellen
 - das entstandene Endosom wird entlang des Aktin-Zytoskeletts transportiert, bis es sich schließlich unter Membranfusion an ein Lysosom bindet

Mikroautophagie:

- eine direkte Aufnahme ins Lysosom durch die lysosomale Membran; dabei wird die Membran eingestülpt

Vesikulärer Transport

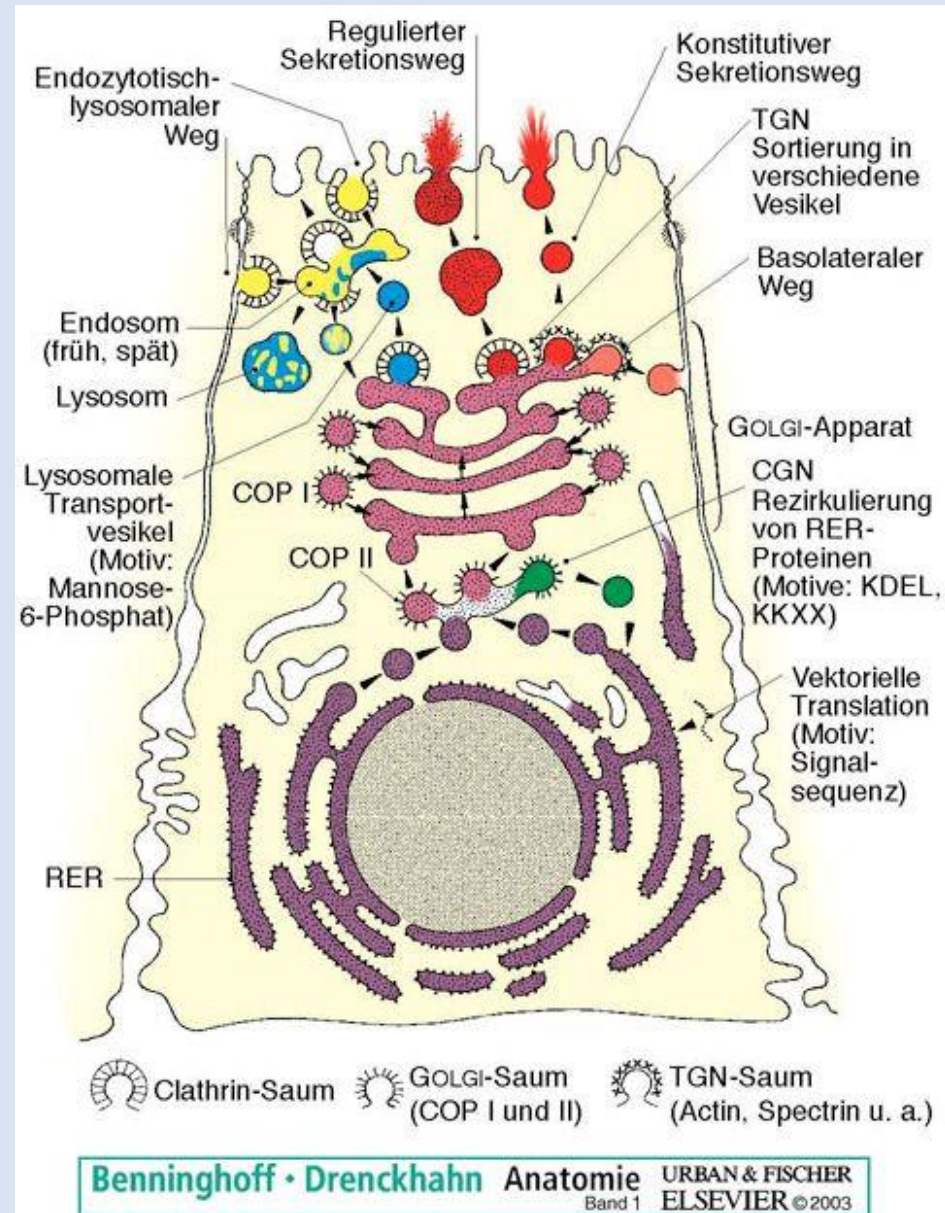
Intrazelluläre Transportvorgänge:

Plasmamembran → Endosom/Lysosom
ER → Golgi-Apparat
Golgi-Apparat → Plasmamembran

Mittels:

Bildung
Abschnürung
Transport
Fusion

von Vesikeln



Vesikulärer Transport

Darvas-László

Bildung und Abschnürung von Vesikeln mit Clathrin-Hülle

Vesikeln bilden an der zytoplasmatischen Oberfläche eine Hülle mit Clathrin sowie Adaptin-Molekülen

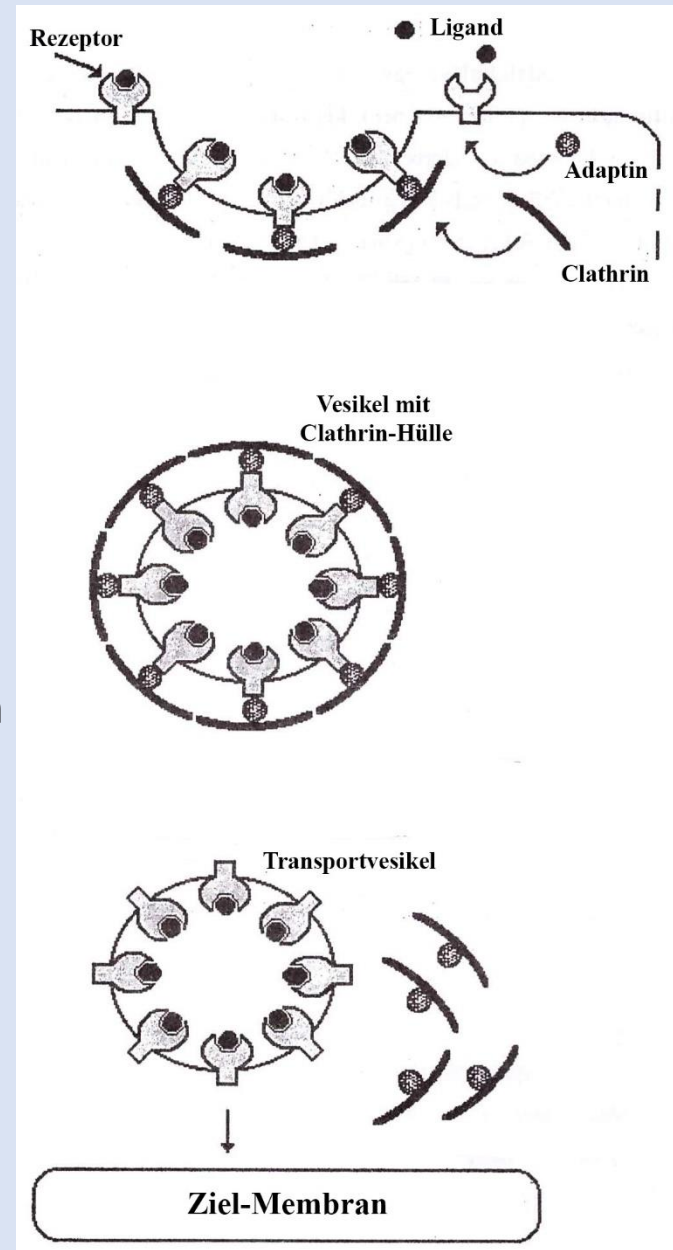
→ kein ATP-Bedarf

(Adaptin verbindet die Membranrezeptoren und die Clathrin-Molekülen)

Die Hülle wird demnächst durch hsp70 Chaperon-Protein abgelöst

(Aktivierung durch Auxillin)

→ ATP-Bedarf



Vesikulärer Transport

Bildung und Abschnürung von Vesikeln mit COP(Coatomer)-Hülle

zwischen ER und Golgi-Apparat;
zwischen Golgi-Zisternen

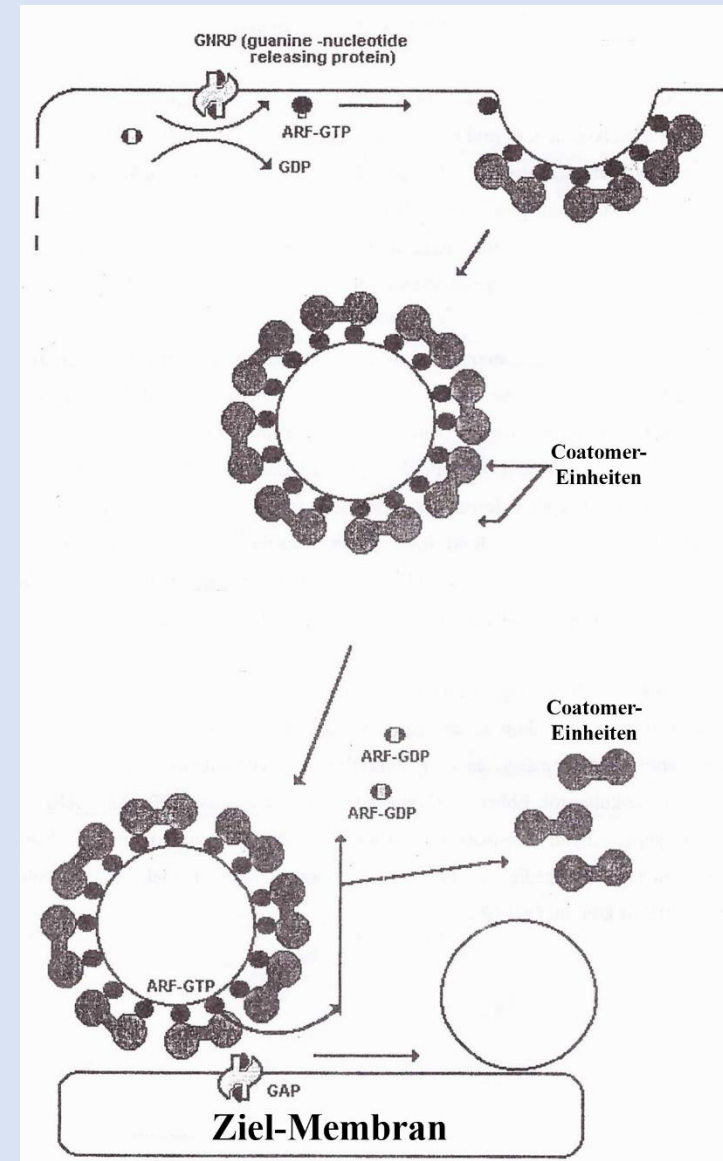
COP II: anterograder Transport ER – Golgi-Apparat

COP I: retrograder Transport Golgi-Apparat – ER,
zwischen Golgi-Zisternen

Die Bildung der COP-Hülle ist ATP-bedürftig

Die Einheiten des Komplex werden mit der Hilfe von monomer G-Proteinen miteinander verbunden (bei COP I: ARF und bei COP II: Sar1).

Die Hülle wird erst nach Anknüpfung zur Zielmembran abgelöst.



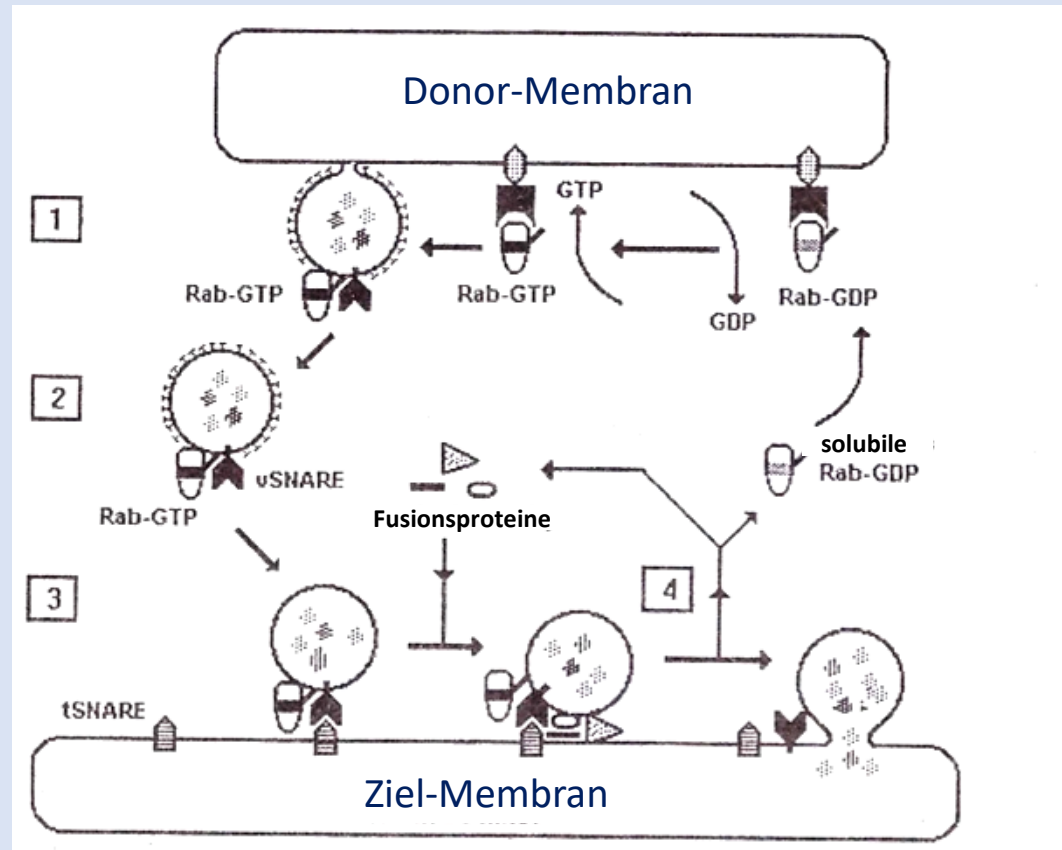
Vesikulärer Transport

Anknüpfung der Vesikel und Fusion der Membranen

Anknüpfung:

vSNARE- und tSNARE-Molekülen (membranständige Proteine) verbinden sich miteinander an der Empfängermembran → SNARE-Komplex

Ein sg. Rab-protein (verbindet GTP) kontrolliert die Anknüpfung



Vesikulärer Transport

Anknüpfung der Vesikel und Fusion der Membranen

Fusion: Umlagerung der Lipiddoppelschicht

