
DINÁMICA DEL COMPLEJO DEL PORO NUCLEAR

Dinamics Of Nuclear Pore Complex

GEYDAN TD², M.Sc., Est. Ph. D.; GARZÓN-CORAL C^{1,2}, FAJARDO C², M.Sc.; SPINEL C², Ph. D.

¹ Laboratorio de Biofísica, Centro Internacional de Física,

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 # 45 03, Bogotá, Colombia.
cmspinelg@unal.edu.co

Presentado 29 de septiembre de 2008, aceptado 2 de septiembre de 2009, correcciones 30 de septiembre de 2009.

RESUMEN

El complejo del poro nuclear (CPN) es un conjunto supra-molecular compuesto de múltiples copias de 30 familias de proteínas diferentes, siendo 456 nucleoporinas (Nups) en total, que atraviesan la envoltura nuclear de todos los organismos pertenecientes al dominio *Eukaria*. El CPN es la compuerta del núcleo; por lo tanto, todas las macromoléculas deben atravesarla para transitar del núcleo al citoplasma y viceversa. Durante los últimos años, se han propuesto varios modelos para explicar la regulación y el transporte de macromoléculas a través del CPN. En esta nota se describe la estructura, los mecanismos y procesos involucrados durante el transporte a través del CPN, y cómo estos procesos son regulados por interacciones macromoleculares altamente dinámicas.

Palabras clave: complejo del poro nuclear (CPN), transporte macromolecular, nucleoproteínas (Nups).

ABSTRACT

The nuclear pore complex (NPC) is a large supramolecular assemble made up of multiple copies of about 30 different protein families, so in total 456 nucleoporines (Nups) span the nuclear envelope of all *Eukariotic* organisms. The NPC is considered the gate through which all macromolecules must pass in order to achieve nuclear-cytoplasmic transport. The aim of this update is to describe the structure, mechanisms and processes involved during the transportation of molecules and how of these processes are regulated by highly dynamic macromolecular interactions with molecules of the NPC which have been described during the past years.

Key words: Nuclear pore complex (CPN), macromolecular transport, nucleoproteins (Nups).

INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas, el estudio del CPN ha permitido entender la estructura y la

función de esta macromolécula de las células eucarióticas. Con estos conocimiento se ha podido: prevenir la invasión viral en plantas y animales (Krischevsky *et ál.*, 2006), determinar la expresión anormal de proteínas (Nups) que lo conforman cuando tienen relación directa con enfermedades como hepatitis B y C (Knoess *et ál.*, 2006) o utilizar la expresión de algunas proteínas del CPN como tratamientos antitumorales (Rabut *et ál.*, 2004; Liu *et ál.*, 2005; Cronshaw y Matunis, 2004). Entender el transporte a través del CPN y cómo las Nups lo conforman e interactúan, permitirá encontrar mejores tratamientos para las enfermedades relacionadas con esta estructura celular.

ESTRUCTURA

En vertebrados hay 2.000 a 4.000 CPN por núcleo y en levaduras difícilmente superan los 200 (Adam, 2001). La envoltura nuclear (EN) delimita el núcleo y está constituida por las membranas: externa (Fig. 1B; M-Ext) e interna (Fig. 1; M-Int) que se unen por el dominio de membrana donde se aloja el CPN (Fig. 1B; M-CPN). El CPN posee una estructura de “rueda o rueca” proteica de ~50 a ~60 megakilodaltons (Bednenko *et ál.*, 2003; Lim y Fahrenkrog, 2006) que corresponde al armazón central del CPN compuesto en su periferia por 16 columnas de 4 Nups (Fig. 1; indicadas por las flechas que muestran los anillos). Estas columnas forman dos anillos centrales situados en el ecuador del CPN, un anillo citoplasmático y un anillo nuclear, los cuales se encuentran interrelacionados por Nups de unión o microespículas (Fig. 1B). Del anillo citoplasmático se proyectan ocho filamentos de carácter proteico hacia el citoplasma (Fig. 1B); y del anillo nuclear se proyectan ocho filamentos que se unen a un anillo distal proteico, formando la canastilla nuclear hacia el nucleoplasma (Fig. 1B; Ryan y Wente, 2000, Alberts *et ál.*, 2002; Spinel, 2002; Schwartz, 2005; Lim y Fahrenkrog, 2006; Alber *et ál.*, 2007).

El CPN es fijado en los poros de la EN por glicoNups y Nups transmembranosas (Fig. 1A y B gluNups) que interactúan con los anillos internos del CPN (Newmeyer *et ál.*, 1993; Panté y Aebi, 1993; Nehrbass *et ál.*, 1996; Antonin *et ál.*, 2005) y con el anillo de membrana ubicado en el espacio perinuclear de la EN (Somerharju *et ál.*, 1999; Alber *et ál.*, 2007). Este posicionamiento espacial se incrementa por el contacto de las láminas del núcleo-esqueleto con el anillo nuclear (Fahrenkrog *et ál.*, 2004). En el interior de la rueca se ubican las regiones ricas en fenilalanina-glicina (FG) formando un hidrogel hidrofóbico (Fig. 1B; FG) en el canal del CPN (Alber *et ál.*, 2007; Terry *et ál.*, 2007) y reforzado por repeticiones de glicina-leucina-fenilalanina-glicina (cuerpos GLFG) de otras Nups (Lim y Fahrenkrog, 2006). Hay Nups o secuencias de Nups fundamentales para mantener la estructura del CPN; por ejemplo, si se elimina una de las 9 Nups 107 a 160, se desorganiza el CPN (Vasu y Forbes, 2001; Fahrenkrog *et ál.*, 2002; Bednenko *et ál.*, 2003; Harel *et ál.*, 2003; Walther *et ál.*, 2003; Schwartz, 2005); mientras que otras secuencias no son indispensable, como las regiones FG que pueden suprimirse 50% sin que se desorganize el CPN (Strawn *et ál.*, 2004). Es a través de las condiciones hidrofóbicas centrales del CPN que se realiza el transporte de moléculas bajo un control extraordinario.

TRANSPORTE A TRAVÉS DEL CPN

El transporte núcleo-citoplasma es realizado por complejos transportadores que interactúan transitoriamente con las regiones FG de las Nups. Las proteínas transportadoras con su cargo pueden reemplazar las uniones lábiles entre dominios FG por

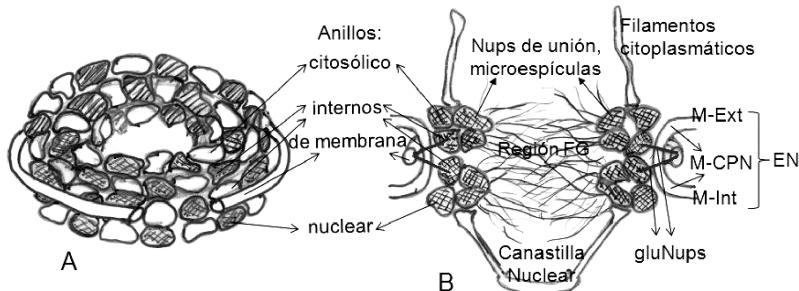


Figura 1. Esquema de la estructura del complejo del poro nuclear (CPN). A. Organización de la nucleoporina (Nups) de la “rueca central”. B. Esquema de acuerdo a un corte transversal en el centro del CPN. EN: envoltura nuclear; M-Ext: membrana externa de la EN; M-CPN: membrana del complejo del poro nuclear de la EN; M-Int: membrana interna de la EN; FG: regiones ricas en fenilalanina y glicina de las Nups.

uniones con ellos mismos, o los dominios FG no interactúan entre sí, acarreando los transportadores (Rout *et al.*, 2000; Sekimoto *et al.*, 1997; Nakielny y Dreyfuss, 1999; Ribbeck y Görlich, 2001; Poon y Jans, 2005; Frey *et al.*, 2006; Terry *et al.*, 2007).

La importación y exportación de moléculas o cargos a través del CPN es realizada por carioferinas β (kap) conocidas como importinas α y β , o exportinas cuando median transporte hacia el nucleoplasma o citoplasma respectivamente (Pemberton y Paschal, 2005). Ellas reconocen señales en la molécula de importación la NLS (secuencia de localización nuclear; Fig. 2, S) y en el de la exportación la NES (secuencias de exportación nuclear; Fig. 2, N) que a diferencia de las NLS son poco conservadas (Pemberton y Paschal, 2005; Terry *et al.*, 2007). Excepcionalmente hay transporte sin intervención de carioferinas como en el de histonas o subunidades ribosomales (Sekimoto *et al.*, 1997; Nakielny y Dreyfuss, 1999; Poon y Jans, 2005). Cambios intra o intermoleculares transitorios, como fosforilación o formación de enlaces disulfúricos pueden o no ocultar las señales NES o NLS (Beinke y Ley, 2004; Poon y Jans, 2005).

El proceso de importación es general, importina- α se une a la señal NLS (Fig. 2, S) de la molécula a importar y a la importina- β (Fig. 2B; Yoneda, 2000; Goldfarb *et al.*, 2004). En el núcleo la importina- β se une a la RanGTP (Fig. 2, GTP) y regresa al citoplasma a través del CPN (Fig. 2C; Goldfarb *et al.*, 2004; Mosammaparast y Pemberton, 2004). Mientras que la importina- α se une a una proteína denominada complejo CAS (Fig. 2D, CA) y a otra RanGTP, así este complejo es exportado al citoplasma. Una RanGTPasa (RanGAP) anclada al anillo citoplásmico del CPN convierte las RanGTP en RanGDP disociando los complejos antes de alcanzar el citoplasma, manteniendo un gradiente RanGDP en citoplasma y RanGTP en el núcleo (Fig. 2, gradiente RanGTP). A su vez, la RanGDP se une al factor de transporte NTF2 (Fig. 2E, GDP-NT) y es importado al nucleoplasma donde rápidamente las RanGDP son convertidas en RanGTP por una Ran Sintetasa (RCC1) que fosforila la RanGDP, o por una intercambiadora (RanGEF) de GDP por GTP de las Ran; las RanGEF y RCC1 se ubican en la cromatina (Fig. 2, F). Así, se disocia el NTF2 de la RanGTP, éstas últimas vuelven a participar en otro ciclo de importación-exportación (Pemberton y Paschal, 2005; Mosammaparast y Pemberton, 2004):

La exportación de moléculas tiene pasos similares a los descritos para la importación.

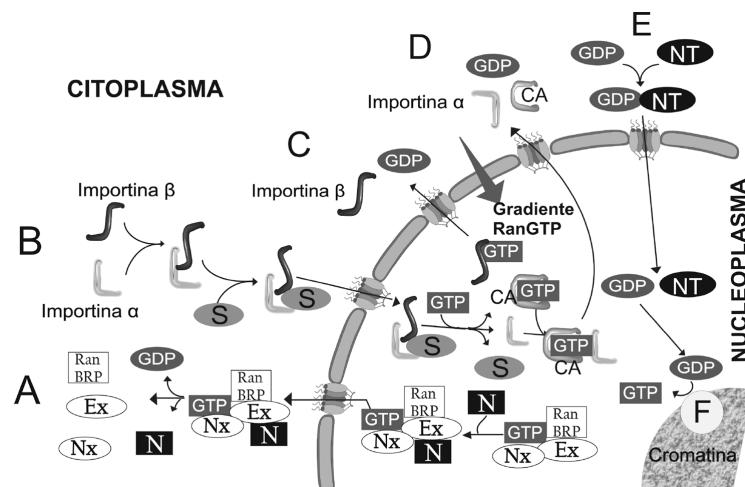


Figura 2. Esquema del transporte de moléculas a través del CPN y su control. A. En el núcleo se unen: el factor de transporte nuclear (Nx), la exportina (Ex) y la RanGTP (GTP) acoplada a la fosfoproteína básica reguladora de la Ran (RanBRP). Este complejo reconoce la secuencia NES (N) de la molécula a exportar. Cuando se encuentra en el citoplasma, el GTP de la Ran es hidrolizado por la RanGTPasa de las Nups del CPN. Esto desensambla a todas las moléculas que intervinieron en la exportación. La Ex y la Nx entran al núcleo por interacciones con las Nups del CPN. B. En el citoplasma la importina α y β se unen y reconocen la secuencia NLS (S) de la proteína a ser importada al núcleo. Una vez en el núcleo, rápidamente una RanGTP (GTP) se une a la importina β y a así, se libera la proteína (S) de las importinas en el núcleo. D. La importina α en el núcleo se acopla al complejo CAS proteico (CA); y así se une a una RanGTP para ser exportada al citoplasma. E. Las RanGDP que han actuado en la exportación son reimportadas al núcleo por la molécula de transporte nuclear (NT); en el núcleo, moléculas ubicadas en la cromatina (F) reconvierten la RanGDP en RanGTP. Lo más importante es que se genera un gradiente RanGDP en citoplasma y RanGTP en nucleoplasma que es el principal control del transporte de moléculas a través del CPN. CA: complejo CAS unido a RanGTP; CPN: complejo del poro nuclear; CRM1: una exportina; Ex: Exportina (CRM1); F: RanSintetasa (RCC1) o intercambiadora de GDP por GTP (RanGEF); GDP: proteína G monomérica unida al GDP (guanosín difosfato); GEF: factor de intercambio de GDP por GTP; GTP: proteína G monomérica unida al GTP (guanosín trifosfato); N: señal de localización nuclear (NES); NT: factor de transporte nuclear (NTF2); Nx: Factor de exportación (NXT1); RanBRP: proteína G monomérica unida a la BRP (fosfoproteína básica reguladora de la Ran); RanGDP: proteína G monomérica unida al GDP; RanGTP: proteína G monomérica unida al GTP; S: señal de exportación nuclear (NLS).

Una exportina (CRM1 o XPO1; Fig. 2, Ex) se une a la RanGTP y a la señal NES (Fig. 2, N) de la molécula a exportar, luego se acoplan con el factor de exportación NXT1 (Fig. 2, Nx) y a la fosfoproteína básica reguladora de la Ran (RanBRP); este complejo se acopla en la canastilla del CPN y es exportado al citoplasma (Fig. 2A). En el citoplasma, proteínas citosólicas reguladoras de unión a Ran (RanBP1 y RanBP2) junto con la RanGAP (Fig. 2 (RanBRP)), hidrolizan la RanGTP en RanGDP, y el complejo es disociado liberando la molécula exportada en el citoplasma (Fig. 2A, N). La exportina y el factor de exportación son reciclados hacia el nucleoplasma por las interacciones directas con las Nups (Matsuura y Stewart, 2004; Ossareh-Nazari *et ál.*, 2001; Goldfarb *et ál.*, 2004).

El gradiente de las proteínas Ran a través del CPN (Fig. 2, gradiente RanGTP) es esencial y asegura la dirección correcta del transporte (Yoneda, 2000; Terry *et ál.*, 2007; Trinkle-Mulcahy y Lamond, 2007). La conformación del CPN y su interacción con la molécula a transportar modulan la exportación de receptores de glucocorticoides y del inhibidor de la proteína quinasa dependiente del AMPc independiente de RanGTP (Erickson *et ál.*, 2006; Paulillo *et ál.*, 2006).

En la exportación del ácido ribonucléico (ARNm, ARNt), o de ribonucleoproteínas (partículas U o splisosomas, subunidades ribosomales) participan además proteínas adaptadoras. Para la exportación de la partícula U se forma el complejo: exportina (CRM1/XPO1)/proteína adaptadora/CBC (*cap-binding complex*) que reconocen al ARNsn de la partícula U. La exportación se activa por fosforilación de la proteína adaptadora y una Nup reconoce la señal NES del ARNsn independiente de RanGTP (Darzacq *et ál.*, 2005). Para el ARNt, la exportina t (una XPO) reconoce el brazo aminoacil para facilitar la exportación dependiente de RanGTP. La exportación de las sub-unidades ribosomales depende de RanGTP y es independiente de exportinas, pero su mecanismo no se conoce. El ARNm puede ser exportado dependiente o independientemente de RanGTP. Cuando es dependiente hay dos exportinas (Transportina 2 o complejo CRM1/XPO1) que en ambos casos reconocen secuencias ricas en AU del ARNm, pero cuando interviene el complejo CRM1/XPO1 necesita dos proteínas adaptadoras (pp32 y April) para el reconocimiento (Nakielny y Dreyfuss, 1999). Si la exportación del ARNm es independiente de RanGTP el receptor (TAP en levadura y Mex67p en eucariotes superiores) se asocia con la proteína adaptadora (p15) a la cola poli-A del ARNm (Taura *et ál.*, 2005; Dinamaano y Ullman, 2004). En todos los casos, la proteína adaptadora provee la secuencia NES para permitir la exportación del ARNm.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, agradecemos a todos los estudiantes que asisten pacientemente a los cursos de biología celular del Departamento de Biología y a esta dependencia de la Universidad Nacional de Colombia. Al laboratorio de Biofísica del Centro Internacional de Física. A quienes financian nuestros proyectos: Dirección de investigación de la sede Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia, Banco de la República y Colciencias y programa Ecos Nord. Por último, un especial agradecimiento a la Unidad de transportadores en ingeniería y radioterapia oncológica de la Universidad de Niza Spohia-Antípolis y a la Bióloga Carolina Ochoa.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAM S. The nuclear pore complex. *Genome Biol.* 2001;2(9):1-6.
ALBER F, DOKUDOVSKAYA S, VEENHOFF LM, ZHANG W, KIPPER J, *et ál.* The molecular architecture of the nuclear pore complex. *Nature.* 2007;450(7170):695-701.
ALBERTS B, BRAY D, LEVIS J, RAFF MK, ROBERTS K, WATSON JD. Intracellular compartments and protein sorting. En: *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Publishing Inc; 2002. p. 669-678.
ANTONIN W, FRANZ C, HASELMANN U, ANTONY C, MATTAJ L. The integral

- membrane nucleoporin pom121 functionally links nuclear pore complex assembly and nuclear envelope formation. *Mol Cell*. 2005;17:83-92.
- BEDNENKO J, CINGOLANI G, GERARCE L. Nucleocytoplasmic transport: navigating the channel. *Traffic*. 2003;4:127-135.
- BEINKE S, LEYS. Functions of NF κ 1 and NF κ 2 in immune cell biology. *Biochem J*. 2004;382:393-409.
- CRONSHAW J, MATUNIS M. The nuclear pore complex: disease associations and functional correlations. *TRENDS Endocrinol Metab*. 2004;15(1):34-40.
- DARZACQ X, SINGER R, SHAV-TAL Y. Dynamics of transcription and mRNA export. *Curr Opin Cell Biol*. 2005;17:332-339.
- DINAMAANO C, ULLMAN K. Nucleocytoplasmic Transport: Integrating mRNA production and turnover with export through the nuclear pore. *Mol Cell Biol*. 2004;24(8):3069-3076.
- ERICKSON E, MOORE O, MOORE D, KROGMEIER J, DUNN R. The role of nuclear envelope calcium in modulating nuclear pore complex structure. *Can J Physiol Pharmacol*. 2006;84:309-318.
- FAHRENKROG B, KOSER J, AEBI U. The nuclear pore complex: a jack of all trades? *TRENDS Biochem Sci*. 2004;29(4):175-182.
- FAHRENKROG B, MACO B, FAGER AM, KÖSER J, SAUDER U, et ál. Domain-specific antibodies reveal multiple-site topology of Nup153 within the nuclear pore complex. *J Struct Biol*. 2002;140:254-267.
- FREYS, RICHTER R, GÖRLICH D. FG-Rich Repeats of nuclear pore proteins form a three-dimensional meshwork with hydrogel-like properties. *Science*. 2006;314(58):815-817.
- GOLDFARB D, CORBETT A, MASON A, HARREMAN M, ADAM S. Importin α : a multipurpose nuclear-transport receptor. *TRENDS Cell Biol*. 2004;14(9):506-214.
- HAREL A, ORJALO AV, VINCENT T, LACHISH-ZALAIT A, VASU S, et ál. Removal of a single pore subcomplex results in vertebrate nuclei devoid of nuclear pores. *Mol Cell*. 2003;11:853-864.
- KNOESS M, KRUZ A, GOREVA O, BEKTAS N, BREUHAHN K, et ál. Nucleoporin 88 expression in hepatitis B and C virus-related liver diseases. *World J Gastro*. 2006; 12(36):5870-5874.
- KRICHEVSKY A, KOZLOVSKY S, GAFNI Y, CITOVSKY V. Nuclear import and export of plant virus proteins and genomes. *Mol Plant Path*. 2006;7(2):131-146.
- LIM R, FAHRENKROG B. The nuclear pore complex up close. *Curr Opin Cell Biol*. 2006;18:342-347.
- LIU H, CHEN Y, CUI G, WU Q, HE J, et ál. Deguelin regulates nuclear pore complex proteins Nup98 and Nup88 in U937 cell in vitro. *Acta Pharmac Sinica*. 2005;26(10):1265-1273.
- ROUT MP, AITCHISON JD, SUPRAPTO A, HJERTAAS K, ZHAO Y, CHAIT BT. The Yeast Nuclear Pore Complex: Composition, Architecture, and Transport Mechanism. *J Cell Biol*. 2000;148:635-652.
- MATSUURA Y, STEWART M. Structural basis for the assembly of a nuclear export complex. *Nature*. 2004;432:872-877.
- MOSAMMAPARAST N, PEMBERTON L. Karyopherins: from nuclear-transport mediators to nuclear-function regulators. *TRENDS Cell Biol*. 2004;14(10):547-556.

-
- NAKIELNY S, DREYFUSS G. Transport of proteins and RNAs in and out of the nucleus. *Cell*. 1999;99:677-690.
- NEHRBASS U, ROUT MP, MAGUIRE S, BLOBEL G, WOZNIAK RW. The yeast nucleoporin Nup188p interacts genetically and physically with the core structures of the nuclear pore complex. *J Cell Biol*. 1996;133(6):1153-1162.
- NEWMEYER DD. The nuclear pore complex and nucleocytoplasmic transport. *Curr Opin Cell Biol*. 1993;5:395-407.
- OSSAREH-NAZARI B, GWIZDEK C, DARGEMONT C. Protein export from the nucleus. *Traffic*. 2001;2:684-689.
- PANTÉ N, AEBI U. The nuclear pore complex. *J Cell Biol*. 1993;122(5):977-984.
- PAULILLO S, POWERS M, ULLMAN K, FAHRENKROG B. Changes in nucleoporin domain topology in response to chemical effector. *J Mol Biol*. 2006;363:39-50.
- PEMBERTON L, PASCHAL B. Mechanisms of receptor-mediated nuclear import and nuclear export. *Traffic*. 2005;6:187-198.
- POON I, JANS D. Regulation of nuclear transport: central role in development and transformation?. *Traffic*. 2005;6:173-186.
- RABUT G, LENART P, ELLENBERG J. Dynamics of nuclear pore complex organization through the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16:314-321.
- RIBBECK K, GORLICH D. Kinetic analysis of translocation through nuclear pore complexes. *EMBO J*. 2001;20(6):1320-1330.
- RYAN K, WENTE S. The nuclear pore complex: a protein machine bridging the nucleus and cytoplasm. *Curr Opin Cell Biol*. 2000;12:361-371.
- SCHWARTZ T. Modularity within the architecture of the nuclear pore complex. *Curr Opin Struct Biol*. 2005;15:221-226.
- SEKIMOTO T, IMAMOTO N, NAKAYIMA K, HIRANO T, MONEDA Y. Extracellular signaling-dependent nuclear import of Stat 1 is mediated by nuclear pore-targeting complex formation with NPI-1, but not Rch1. *EMBO J*. 1997;16:7071-7077.
- SOMERHARJU P, VIRTANEN JA, CHENG K H. Lateral organisation of membrane lipids: The superlattice view. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1440:32-48.
- SPINEL C. Núcleo. En: Biología molecular de la célula eucariótica animal. Medellín: Biogénesis; 2002. p. 292-296.
- STEWART CL, ROUX KJ, BURKE B. Blurring the Boundary: The nuclear envelope extends its reach. *Science*. 2007;318(5855):1408-1412.
- STRAWN LA, SHEN T, SHULGA N, GOLDFARB DS, WENTE SR. Minimal nuclear pore complexes define FG repeat domains essential for transport. *Nat Cell Biol*. 2004;6:197-206.
- TAURA T, SIOMI M, SIOMI H. Nuclear import and export in plant and animal. En: The molecular mechanisms of mRNA export. Mountain: Plenum Publisher Corp; 2005. p. 161-170.
- TERRY LJ, SHOWS EB, WENTE SR. Crossing the nuclear envelope: hierarchical regulation of nucleocytoplasmic transport. *Science*. 2007;318(5855):1412-1416.
- TRINKLE-MULCAHY L, LAMOND AI. Toward a High-Resolution View of Nuclear Dynamics. *Science*. 2007;318(5855):1402-1407.
- VASU S, FORBES D. Nuclear pores and nuclear assembly. *Curr Opin Cell Biol*. 2001;13:363-375.

WALTHER TC, ALVES A, PICKERSGILL H, LOIODICE I, HETZER M, *et ál.* The conserved Nup107-160 complex is critical for nuclear pore complex assembly. *Cell.* 2003;113:195-206.

YONEDA Y. Nucleocytoplasmic protein traffic and its significance to cell function. *Genes Cells.* 2000;5:777-787.