

СТРУКТУРА И СБОРКА КОМПЛЕКСА ЯДЕРНОЙ ПОРЫ

© 2023 г. А. В. Орлова^а, *, С. Г. Георгиева^а, Д. В. Копытова^а^аИнститут молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: chipushka@gmail.com

Поступила в редакцию 14.11.2022 г.

После доработки 08.12.2022 г.

Принята к публикации 08.12.2022 г.

Обмен молекулами между основными компартментами эукариотической клетки — ядром и цитоплазмой, происходит через комплексы ядерной поры (Nuclear Pore Complex, NPC), пронизывающие двуслойную ядерную мембрану. NPC — сложная многобелковая структура с центральным каналом, имеющая октагональную симметрию и состоящая из нуклеопоринов. Каждый из нуклеопоринов в составе NPC представлен большим количеством копий. В сквозном канале в центре NPC образуется водонепроницаемый барьер, который обеспечивает способность NPC к селективному и быстрому перемещению молекул с одной стороны ядерной оболочки на другую. В основе структурной организации NPC лежит иерархический принцип. Нуклеопорины объединены в комплексы, которые служат мономерами для формирования октамеров основных структурных элементов NPC. В нашем обзоре рассмотрены структура и сборка NPC, механизм которой зависит от стадии клеточного цикла.

Ключевые слова: комплекс ядерной поры, NPC, нуклеопорины, FG- нуклеопорины, Y-комплекс, SLiM-мотив, сборка комплекса ядерной поры, неядерный поровый комплекс

DOI: 10.31857/S0026898423040171, EDN: QLVYOP

ВВЕДЕНИЕ

Для функционирования эукариотической клетки необходим постоянный обмен молекулами между ядром и цитоплазмой. В ядро поступают белки транскрипционного аппарата и факторы сплайсинга, белки, связанные с репликацией и пространственной организацией ДНК, рибосомные белки, а также малые молекулы, необходимые для осуществления репликации, транскрипции, сплайсинга и процессинга РНК. Через ядерные поры в ядро проходят протеасомы, проникают вирусные частицы. В цитоплазму экспортируются синтезированные в процессе транскрипции молекулы РНК: мРНК и некодирующие регуляторные РНК в составе рибонуклеопротеиновых ком-

плексов, а также рРНК в составе рибосомных субъединиц.

Перемещение молекул между ядром и цитоплазмой происходит по каналам комплекса ядерной поры (NPC). Различают два вида транспорта через NPC — активный и пассивный (диффузия). Молекулы размером до 30 кДа преодолевают канал NPC посредством пассивного транспорта, тогда как молекулы большего размера переходят с одной стороны ядерной оболочки на другую путем активного транспорта в комплексе с транспортными рецепторами, которые, в свою очередь, взаимодействуют с нуклеопоринами NPC. Сложная архитектура NPC позволяет проходить через канал NPC (диаметр которого равен примерно 50 нм) как структурам с огромной молекулярной массой, таким как протеасомы, вирусные частицы, субъединицы рибосом, так и очень маленьким молекулам, таким как нуклеотиды. Механизм обмена молекулами между ядром и цитоплазмой интенсивно изучается [1, 2].

Способ сборки NPC зависит от стадии клеточного цикла. На ядерной оболочке растущей клетки происходит сборка NPC *de novo*, а в дочерних клетках, образующихся после деления, NPC формируется из нуклеопоринов материнской клетки. Эти процессы осуществляются посредством разных механизмов. Кроме того, существуют так на-

Сокращения: NPC (Nuclear Pore Complex) — комплекс ядерной поры; FG-повтор (повтор Phe-Gly) — фрагмент нуклеопорина, обогащенный остатками фенилаланина и глицина; SLiM (Short Linear Motif) — короткие (до 10 аминокислот) фрагменты белковой молекулы, играющие ключевую роль в формировании взаимодействий с другими белками; CDK (Cyclin-dependent kinase) — циклинзависимая киназа; PLK (Polo-like kinase) — Полоподобная киназа; PP1 (Protein phosphatase 1) — протеинфосфатаза 1; ELYS (Embryonic Large molecule derived from Yolk Sac) — компонент Y-комплекса; ЭПР — эндоплазматический ретикулум; AL (Anullate Lamellae) — цистерноподобные элементы ЭПР; ALPC (Anullate Lamellae Pore Complex) — неядерный поровый комплекс.

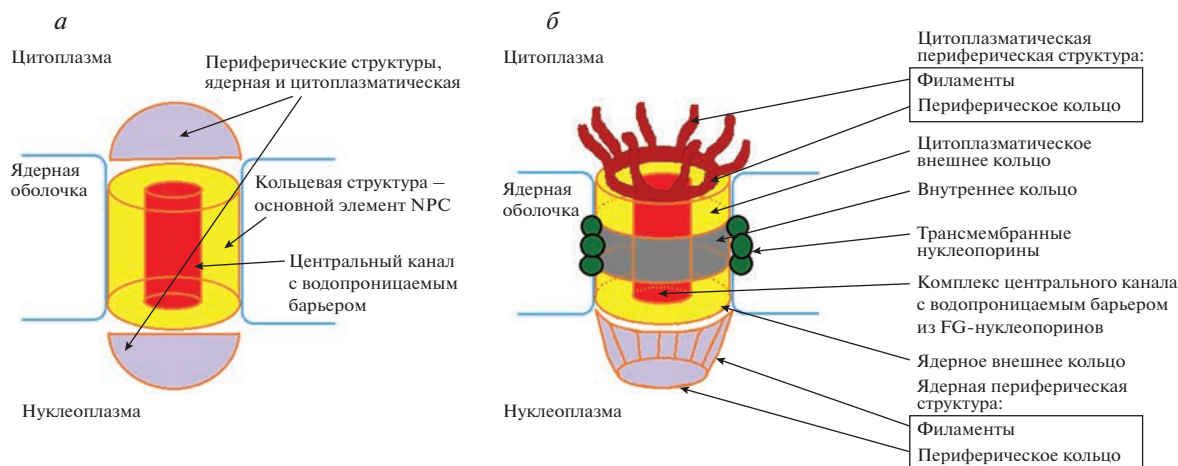


Рис. 1. Основные структурные элементы NPC (а) и схематичное изображение устройства NPC (б).

зываемые неядерные поровые комплексы, о функции и механизмах сборки которых известно совсем немного.

СОСТАВ И РАЗМЕР NPC

NPC — консервативная структура, имеющая сходное строение у всех эукариот, от дрожжей до человека. Белки, входящие в состав NPC, называются нуклеопоринами. Индивидуальные нуклеопорины принято обозначать Nup с указанием его молекулярной массы. Например, Nup107 человека и Nup84 дрожжей это белки с молекулярной массой 107 и 84 кДа. Ряд нуклеопоринов имеет свои собственные названия (TPR, Pom121, ELYS и другие), которые они получили еще до того, как обнаружили, что они входят в состав NPC. В нашем обзоре описана структура NPC человека, поэтому используются названия нуклеопоринов человека, если иное не указано дополнительно.

NPC — самый крупный белковый внутриклеточный комплекс. При молекулярной массе 44–125 МДа (о разбросе в значениях молекулярной массы сказано ниже) диаметр NPC составляет 120 нм [3, 4]. Для сравнения можно сказать, что молекулярная масса рибосомы составляет 4.3 МДа [5]. Столь значительные размеры сделали NPC удобным объектом для исследований, в первую очередь, микроскопических. Впервые NPC увидели в микроскоп в 1950 году [6]. Начиная с этого времени, увеличение разрешающей способности микроскопов приводило к расширению знаний о структуре NPC. В общих чертах устройство NPC представлено на рис. 1а. Установлено, что NPC имеет кольцевую структуру с октагональной симметрией, которая пронизывает двуслойную ядерную мембрану. В центре NPC располагается канал, соединяющий нуклеоплазму с цитоплазмой. В канале находится водопроницаемый барьер —

структура, обуславливающая селективные пропускные способности NPC. На ядерной и цитоплазматической стороне NPC находятся периферические структуры.

Впервые NPC выделили из печени крысы в 1976 г. [7], когда общая структура NPC уже была достаточно хорошо изучена. Молекулярная масса NPC, определенная в разных работах, варьировала достаточно сильно. Так, размер NPC, выделенного из ооцитов *Xenopus laevis*, составил примерно 125 МДа [8]. Молекулярная масса NPC *Saccharomyces cerevisiae*, рассчитанная с использованием коэффициента седиментации, который составил 310S (для рибосомы 80S), соответствует 56–73 МДа [9]. Сумма молекулярных масс всех выделенных и очищенных нуклеопоринов дрожжей *S. cerevisiae* в составе NPC, т.е. молекулярная масса всего комплекса, равна 44 МДа [9].

В попытке объяснить эту разницу применили метод оценки размеров молекулярных комплексов по микроскопическим размерам отдельных NPC [10]. Этот подход позволял измерять только те NPC, которые не потеряли своей целостности в процессе приготовления препаратов. В результате установлено, что размер NPC составляет 55 МДа, что также заметно превышает биохимически определенную молекулярную массу NPC, равную 44 МДа.

Значительно больший размер NPC у высших эукариот (125 против 55 МДа) изначально объясняли их более сложной структурой, в состав которой входит много нуклеопоринов, которых нет в NPC дрожжей. При этом, судя по электронным фотографиям, размер NPC у высших эукариот больше, чем у дрожжей, примерно на 10–15% [3, 4].

Кроме того, при делении клеток дрожжей не происходит фрагментации ядерной оболочки на везикулы и от нее не отделяются NPC. В клетках высших эукариот ядерная оболочка диссоцииру-

ет на везикулы, NPC отделяются от ядерных мембран и частично разбираются до отдельных нуклеопоринов, а частично до небольших комплексов, состоящих из нескольких нуклеопоринов. Механизм сборки NPC сразу после деления клетки отличается от механизма, посредством которого в интерфазе образуются новые NPC.

Чтобы объяснить большое различие в молекулярной массе NPC у высших и низших эукариот, проведен поиск нуклеопоринов, специфичных для высших эукариот. Однако оказалось, что NPC из печени крысы [11] содержат только шесть нуклеопоринов, гомологи которых не найдены в NPC дрожжей. Молекулярная масса NPC высших эукариот (с учетом открытых нуклеопоринов) составляет 60 МДа. Эта цифра лишь незначительно (на 5 МДа) превышает молекулярную массу NPC *S. cerevisiae*. Сделан вывод, что в зависимости от условий очистки с NPC могут соосаждаться транспортируемые молекулы, что и может быть причиной столь значительного увеличения молекулярной массы.

В связи с этим возникла необходимость более точно охарактеризовать нуклеопорины и определить те их свойства, благодаря которым тот или иной белок попадает в категорию компонентов NPC. Первая попытка подобного рода сделана в работе [12], в которой предложено следующее определение нуклеопоринов — нуклеопорины это белки, постоянно входящие в состав NPC и не имеющие других известных функций. При таком определении в число нуклеопоринов не входят, например, факторы транспорта — белки, опосредующие взаимодействие между транспортируемыми молекулами и каналом NPC, хотя основная их функция — прохождение через ядерную пору, а основное место расположения в клетке — в непосредственной близости от NPC.

Благодаря этому подходу, из состава NPC удалили ряд белков, в том числе компоненты эндоплазматического ретикулума (ЭПР), факторы транспорта, рибосомные белки [12].

Однако не обошлось и без спорных случаев. Во-первых, принимая подобное определение, из числа нуклеопоринов удаляют белки, которые могут выполнять двойную функцию. В частности, из нуклеопоринов исключили белок Sec13p [12], обнаруженный ранее в составе комплекса размером 150 кДа, компоненты которого локализованы на ЭПР. В дальнейшем выяснили, что Sec13p является компонентом Y-комплекса, одного из основных структурных компонентов NPC, и его снова включили в число нуклеопоринов [2].

Еще один пример белка с двойной функцией — белок Grp210 (или Nup210). Этот белок содержит трансмембранный домен, участвующий в закреплении комплекса NPC на внешней и внутрен-

ней ядерных мембранах. При этом Grp210 одновременно является белком ЭПР и участвует в поддержании его гомеостаза [13].

Во-вторых, к моменту введения указанного определения нуклеопоринов ничего не было известно о неядерных поровых комплексах, расположенных на мембранах ЭПР. Эти поровые комплексы состоят из тех же белков, что и NPC, но механизмы их формирования изучены недостаточно. Таким образом, нуклеопорины могут входить не только в состав NPC, расположенных на ядерной оболочке, но и в состав неядерных поровых комплексов.

Нуклеопорины имеют довольно простую пространственную структуру. Многие из них содержат такие домены, как WD40, спиральная катушка (coiled-coil), LRR, кадгерин-подобная структура, β -пропеллер, α -соленоид. Эти структуры встречаются у большого числа функционально различных белков и ответственны за формирование взаимодействий с другими белками.

Примерно треть всех белков, которые относятся к нуклеопоринам, содержит FG-повторы — участки, обогащенные остатками фенилаланина и глицина. FG-повторы формируют водонепроницаемый барьер, через который осуществляется селективный транспорт молекул. Имеются нуклеопорины, состоящие преимущественно из FG-повторов (их называют FG-нуклеопоринами), которые располагаются в центральном канале NPC и основная функция которых состоит в формировании водонепроницаемого барьера. Однако нуклеопорины, локализованные в периферических структурах как с ядерной (Nup153), так и с цитоплазматической стороны (Nup358) NPC, также имеют FG-повторы. Они также участвуют в формировании водонепроницаемого барьера NPC.

Нуклеопорины, формирующие кольцевую структуру внутри ядерных мембран, постоянно находятся в составе NPC. В то же время, ряд нуклеопоринов, формирующих периферические структуры NPC, то присоединяются к NPC на непродолжительное время, то существуют отдельно от него. Такое поведение характерно как для нуклеопоринов периферических структур цитоплазматической стороны (Gle1), так и для нуклеопоринов, входящих в периферические структуры ядерной стороны (Nup153, Nup50). Nup98 расположен в периферических структурах и ядерной, и цитоплазматической стороны, и для него также показан динамичный характер присоединения к NPC [14–16]. Обнаружено, что при ингибировании транскрипции РНК-полимеразами I или II Nup153 и Nup98 “застывают” на ядерной поро. При этом прекращается динамический обмен этих нуклеопоринов между NPC и нуклеоплазмой [17]. Интересно, что Nup153, Nup50, Nup98 содержат FG-повторы, которые участвуют в фор-

мировании водонепроницаемого барьера, необходимого для выполнения основной функции NPC, поэтому можно предположить, что они относятся к постоянным компонентам NPC.

Наконец, показано взаимодействие ряда нуклеопоринов многоклеточных эукариот с хроматином, причем как с активно транскрибируемым (Nup133, Nup98, Nup50, Nup62), так и с гетерохроматином (Nup88, Nup93) [18–20].

Таким образом, очевидно, что существующее определение нуклеопоринов нуждается в корректировке. Нуклеопоринами следует называть белки, одной из функций которых является поддержание структуры и транспортной активности NPC, однако они могут участвовать и в других процессах в клетке.

Помимо FG-нуклеопоринов, условно можно выделить структурные нуклеопорины, т.е. те, которые в основном состоят из доменов, отвечающих за взаимодействие с другими белками. В первую очередь из них формируется кольцевая структура, расположенная внутри ядерной оболочки. В некоторых структурных нуклеопоринах также присутствуют немногочисленные FG-повторы. Видимо, их ориентация в NPC такова, что они принимают участие в формировании водонепроницаемого барьера.

Известны три нуклеопорина (Gp210, Ndc1 и Pom121), содержащие трансмембранный домен. Их выделяют в группу трансмембранных нуклеопоринов.

ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ NPC

Как уже сказано, NPC – самый крупный белковый комплекс клетки. При массе 60 МДа в состав NPC входят всего 30 разных белков, тогда как рибосома, имеющая молекулярную массу 4.2 МДа, состоит из 80 различных белков. Столь значительное различие обусловлено тем, что каждый из этих 30 нуклеопоринов представлен не менее чем восемью копиями. В формировании одного NPC участвуют около 1000 молекул белка [21].

NPC имеют октагональную симметрию. Основные структурные элементы NPC – это три кольца, взаимное расположение которых показано на рис. 1б, периферические структуры (ядерная и цитоплазматическая), а также комплекс центрального канала.

Внутреннее кольцо – среднее из трех, расположенное в глубине ядерной оболочки, стабилизирует место слияния внешней и внутренней ядерных мембран. Два внешних кольца, ядерное и цитоплазматическое, присоединены к внутреннему с разных сторон (рис. 1б) [22].

К внешним кольцам присоединены периферические структуры, ядерные и цитоплазматические (рис. 1б). Ядерная периферическая структу-

ра напоминает корзину с гибкими стенками и состоит из дистального кольца и филаментов, которые присоединяют это кольцо к внешнему ядерному кольцу (рис. 1б).

Цитоплазматическая периферическая структура состоит из кольца, присоединенного к внешнему цитоплазматическому кольцу, и филаментов, которые направлены в цитоплазму (рис. 1б).

Комплекс центрального канала расположен внутри трех колец. Он состоит из FG-нуклеопоринов, которые формируют водонепроницаемый барьер. В формировании барьера принимают участие не только FG-нуклеопорины, но и FG-повторы нуклеопоринов, расположенных в других частях NPC: в периферических структурах и в трех основных кольцах NPC. Один из трансмембранных нуклеопоринов – Pom121, также содержит значительное количество FG-повторов.

NPC закреплен на ядерной мембране при помощи трансмембранных нуклеопоринов. Все структурные элементы NPC представляет собой октамеры, мономеры которых сначала собираются из отдельных нуклеопоринов. Затем из восьми мономеров образуется кольцевая структура каждого из компонентов NPC. Общая для всех основных структурных компонентов NPC схема олигомеризации показана на рис. 2а.

Структурные элементы NPC собираются из таких мономеров, как Y-комплекс, получивший название от своей Y-образной формы, и используемый для постройки ядерного и цитоплазматического внешних колец [24].

В составе этого комплекса выделяют три структурных элемента [25]: “маленький отросток” (состоит из Nup85, Seh1, Nup43), “большой отросток” (образован Nup160 и Nup37) и “стебелек” (Nup96, Sec13, Nup107, Nup133) (рис. 2б). “Отростки” направлены в сторону от ядерной мембраны: в ядерном внешнем кольце в нуклеоплазму, в цитоплазматическом внешнем кольце в цитоплазму. “Стебелек” прикрепляется к ядерной мембране, взаимодействуя с трансмембранными нуклеопоринами, а также участвует во взаимодействии голова к хвосту с другими Y-комплексами (голова – отростки, хвост – дистальная часть стебелька). Это приводит к формированию кольцевой октамерной структуры из восьми Y-комплексов (рис. 2б). В клетках человека каждое внешнее кольцо (и ядерное, и цитоплазматическое) состоит из двух таких октамеров [26]. В клетках дрожжей каждое внешнее кольцо состоит из одного октамера Y-комплексов [27]. На рис. 2б приведены структуры дрожжевых внешних колец.

В состав большого отростка Y-комплексов, составляющих ядерное внешнее кольцо, также входит белок ELYS, который участвует во взаимодействии между NPC и хроматином, запуская при

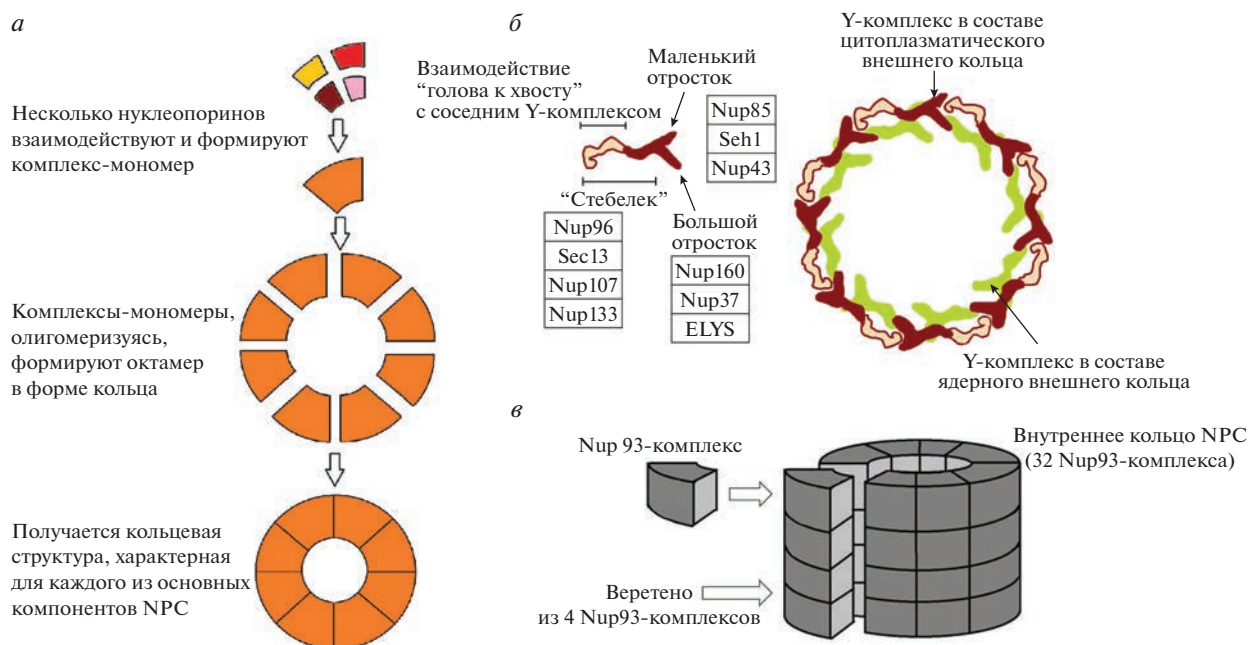


Рис. 2. Схема образования кольцевых структурных компонентов NPC (схема общая, нуклеопорины, составляющие каждое из колец, разные) (а). Схематическая структура Y-комплекса на примере NPC *Homo sapiens* и схема образования внешних колец из Y-комплексов (взаимодействие голова к хвосту) на примере NPC *Saccharomyces cerevisiae* [23] (б). Схема олигомеризации Nup93-комплекса при формировании внутреннего кольца NPC (в).

этом сборку NPC после митоза [28]. Подробнее механизм этого процесса рассмотрен ниже.

Нуклеопорины, составляющие Y-комплекс, называются структурными. Они содержат α -спиральные и β -пропеллерные структуры, необходимые для формирования Y-комплекса и взаимодействия Y-комплексов между собой.

Nup93-комплекс — это мономер, из которого формируется октамер внутреннего кольца и самый консервативный элемент NPC, поскольку его состав одинаков у всех эукариот [29]. Nup93-комплекс состоит из нуклеопоринов Nup35, Nup205, Nup188, Nup93, Nup155 и Nup98. Четыре Nup93-комплекса формируют так называемое веретено (spindle). Веретено, в свою очередь, является мономером, из которого формируется октамер внутреннего кольца (рис. 2в).

Таким образом, внутреннее кольцо состоит из восьми веретен (из 32 копий Nup93-комплекса). Внутреннее кольцо может расширяться, при этом веретена отодвигаются друг от друга [30, 31]. В настоящее время не установлено, каким образом поддерживается такая расширенная конформация, изменяет ли она функции NPC и как это состояние регулируется. Nup35 и Nup133 закрепляют внутреннее кольцо на мембране путем взаимодействия с трансмембранными нуклеопоринами.

Из Nup62-комплексов формируется комплекс центрального канала. Каждый Nup62-комплекс состоит из трех FG-нуклеопоринов: Nup62,

Nup58 и Nup54, основная функция которых — формирование водопроницаемого барьера.

Нуклеопорины, входящие в состав Nup62-комплекса, взаимодействуют между собой при помощи доменов со структурой спиральной катушки.

Каждый Nup62-комплекс присоединен к одному из веретен внутреннего кольца. FG-повторы Nup62, Nup58 и Nup54 сосредоточены в экваториальной части центрального канала NPC.

P-комплекс — это мономер, из восьми копий которого составляет кольцо, которое является компонентом цитоплазматической периферической структуры (рис. 1б). P-комплекс состоит из двух нуклеопоринов — Nup214 и Nup88 — и играет ключевую роль в экспорте мРНК из ядра, а также в транспорте белков между ядром и цитоплазмой [32–35].

Nup214 содержит большое количество FG-повторов, участвующих в формировании водопроницаемого барьера, а также домены, ответственные за взаимодействие с другими белками. В Nup88 мало FG-повторов, в P-комплексе он выполняет структурную функцию.

Цитоплазматические филаменты — второй компонент цитоплазматической периферической структуры, состоит из нуклеопорина Nup358 (один филамент — одна копия Nup358, всего восемь филаментов в каждом NPC). Цитоплазматиче-

ские филаменты присоединены к кольцу из Р-комплексов с цитоплазматической стороны (рис. 1б).

Nup358 — большой белок с молекулярной массой 350 кДа, содержащий много доменов с известными функциями, в том числе Ran-связывающие домены, на которых происходит разборка экспортных комплексов [36], Е3-лигазный домен, FG-повторы, α -спиральные домены, ответственные за взаимодействие с другими белками, домены цинковых пальцев и другие.

Nup358 необходим как для экспорта, так и для импорта молекул в ядро [37]. Он принимает участие в контроле трансляции [38] и в проникновении патогенов в ядро [39]. Кроме того, Nup358 стабилизирует взаимодействие между Y-комплексами ядерного и цитоплазматического внешних колец за счет N-концевых α -спиральных участков.

Ядерная периферическая структура NPC сформирована из Nup153, Nup50 и TPR. Она представляет собой дистальное кольцо из восьми копий белка TPR и восьми отходящих от него в сторону нуклеоплазмы филаментов [40], состоящих из нуклеопоринов Nup50 и Nup153 (рис. 1б).

Nup153 вовлечен в формирование водонепроницаемого барьера своими FG-повторами. TPR принимает участие в создании в районе NPC зон, свободных от хроматина [41].

Все компоненты ядерной периферической структуры задействованы в сборке и разборке экспортных и импортных комплексов, участвующих в транспорте молекул между ядром и цитоплазмой [1, 42].

Трансмембранные нуклеопорины Pom121, Gp210 и Ndc1 не формируют олигомерные структуры, а их собственная структура изучена недостаточно. Известно, что они принимают участие в соединении трех основных структурных колец NPC, а также играют ключевую роль в закреплении NPC на ядерной мембране [43–45]. Pom121 содержит большое количество FG-повторов и участвует в формировании водонепроницаемого ба-

рьера. Распределение нуклеопоринов в структурных компонентах NPC показано в табл. 1.

УЧАСТИЕ SLiM-МОТИВОВ В ФОРМИРОВАНИИ NPC

В структуре нуклеопоринов выявлено и охарактеризовано значительное количество доменов, ответственных за белок-белковые взаимодействия, показано их участие в формировании NPC, найдено также много мотивов, называемых SLiM (Short Linear Motif).

SLiM-мотивы обнаружены в неструктурированных участках аминокислотной последовательности различных белков [46, 47]. Это короткие (до 10 аминокислот) участки, содержащие несколько (обычно три или четыре) аминокислотных остатков, которые остаются неизменными у различных организмов [48, 49] и считаются ключевыми для взаимодействия с другими белками: при их удалении взаимодействие исчезает. Интересно, что все остальные аминокислотные остатки SLiM-мотивов не консервативны в ряду организмов. Неизменными остаются лишь аминокислотные остатки в ключевых позициях и расстояние между ними. SLiM-мотивы считаются горячими точками эволюции [50]. Внесение точечных замен в последовательность SLiM может приводить к заметному изменению свойств этих мотивов. В основном SLiM-мотивы участвуют в слабых и кратковременных взаимодействиях между белками. SLiM-мотивы, имеющие разную последовательность, обнаружены в нуклеопоринах Nup98, Nup35, Nup93 (компоненты внутреннего кольца) и Nup96 (компонент Y-комплекса) [43, 51, 52]. SLiM-мотивы необходимы как для сборки мономеров различных октамерных структур NPC (SLiM Nup98, Nup35), так и для присоединения Nup62-комплексов к спицам внутреннего кольца (SLiM IM-1 на N-конце Nup93) [50]. Таким образом, SLiM-мотивы могут принимать участие во взаимодействиях, которые сохраняются длительное время. SLiM-мотив Nup98 также необходим

Таблица 1. Распределение нуклеопоринов в структурных компонентах NPC

Структурный компонент NPC	Нуклеопорин
Цитоплазматическая периферическая структура	Nup358, Nup214, Nup88
Цитоплазматическое внешнее кольцо	Nup160, Nup133, Nup107, Nup96, Nup85, Nup43, Nup37, Sec13, Seh1
Внутреннее кольцо	Nup205, Nup188, Nup155, Nup98, Nup93, Nup35
Трансмембранные нуклеопорины	Gp210, Ndc1, Pom121
Комплекс центрального канала	Nup62, Nup58, Nup54
Ядерное внешнее кольцо	Nup160, Nup133, Nup107, Nup96, Nup85, Nup43, Nup37, Sec13, Seh1, ELYS
Ядерная периферическая структура	Nup153, Nup50, TPR

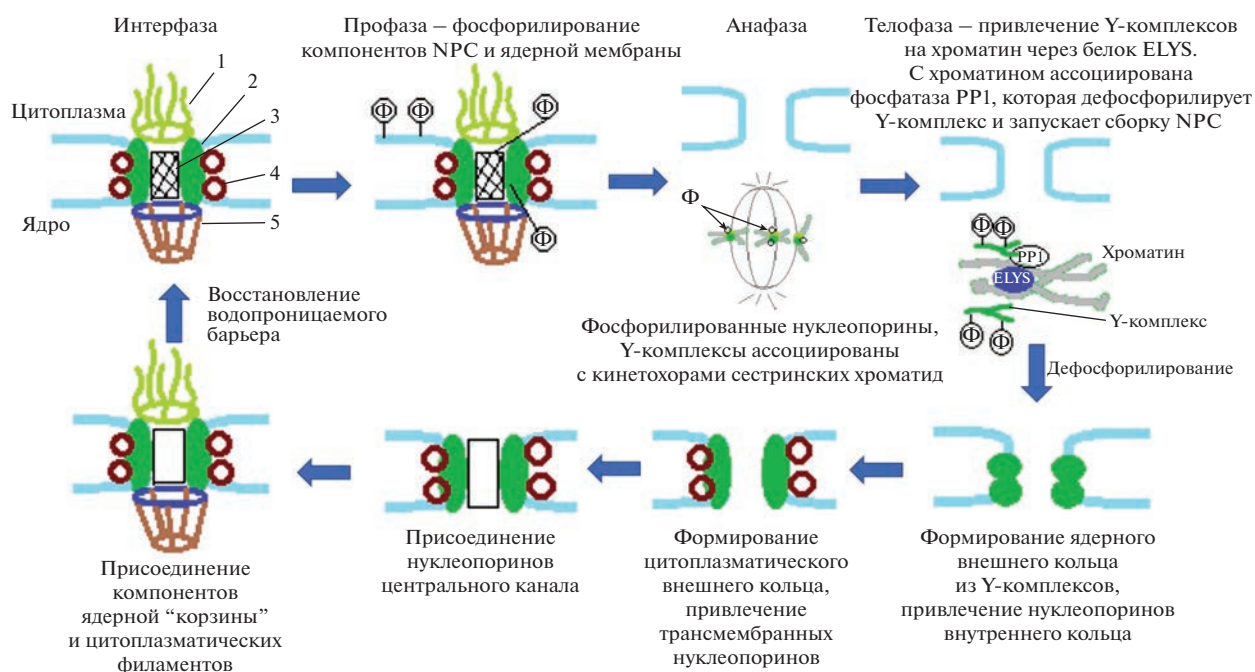


Рис. 3. Схема разборки NPC в профазе и ее сборки на ядерной оболочке дочерней клетки. 1 — цитоплазматическое внешнее кольцо, 2 — внутреннее кольцо, 3 — водопроницаемый барьер, 4 — трансмембранные нуклеопорины, 5 — ядерное внешнее кольцо, Ф — фосфатные остатки.

для формирования водопроницаемого барьера NPC [53].

медленно, его лимитирующим этапом является формирование сквозных отверстий в ядерной оболочке [54].

СБОРКА NPC

В жизни клетки есть два момента, когда происходит образование NPC. Во-первых, при делении клетки. В митозе и мейозе ядерная оболочка в клетках высших эукариот утрачивает свою целостность и разделяется на отдельные везикулы. При этом NPC материнской клетки диссоциируют частично на отдельные нуклеопорины (нуклеопорины периферических структур, внутреннего кольца, трансмембранные нуклеопорины), частично на комплексы-мономеры основных структурных элементов NPC (Y-комплекс). На везикулах, которые образовались из распавшейся ядерной оболочки, остаются только сквозные отверстия в том месте, где находились NPC. Отдельные нуклеопорины и нуклеопориновые субкомплексы разделяются между дочерними клетками. После образования ядерной оболочки в дочерних клетках происходит сборка NPC на уже имеющихся сквозных отверстиях из нуклеопоринов материнской клетки. Этот процесс идет быстро и занимает несколько минут.

Во-вторых, потребность в новых NPC возникает в интерфазе, когда клетка растет, увеличивается в размерах клеточное ядро и площадь поверхности ядерной оболочки. При этом происходит образование новых NPC. Этот процесс идет

Сборка NPC в процессе деления клетки

Диссоциация NPC в профазе митоза инициируется фосфорилированием нуклеопоринов Nup98 и Nup35, киназами PLK-1 и CDK-1 [55]. Сначала фосфорилируется Nup98, что приводит к его отделению от NPC и к нарушению водопроницаемого барьера в канале поры [56]. После этого фосфорилированию подвергается компонент внутреннего кольца Nup35, что нарушает его взаимодействие с трансмембранным нуклеопорином Ndc1 и компонентом внутреннего кольца Nup155. Это приводит к диссоциации всего NPC на отдельные нуклеопорины. Исключение составляют Y-комплексы, которые сохраняют свою целостность [55] (рис. 3).

В процессе деления часть нуклеопоринов связывается с митотическими структурами: Y-комплекс [28, 57–59] и Nup358 [60] локализуются на кинетохоре. Остальные нуклеопорины, высвободившиеся после диссоциации NPC, находятся в цитоплазме в комплексе с импортином β .

После разделения сестринских хроматид в анафазе ядерные оболочки дочерних клеток восстанавливаются и одновременно происходит формирование NPC. Фосфатаза PP1 дефосфорили-

лирует нуклеопорины Y-комплексов, ассоциированные с кинетохором [61].

Повторная сборка NPC после митоза происходит в несколько этапов. Схема этого процесса представлена на рис. 3.

На первом этапе происходит формирование границ ядра: везикулы, образовавшиеся из ядерной оболочки материнской клетки, сливаются, окружая со всех сторон деконденсирующиеся хромосомы новообразованной клетки. Этот процесс занимает несколько минут [62, 63]. Диаметр имеющихся отверстий уменьшается до 40 нм и на них начинают формироваться NPC. Этот процесс инициируется привлечением на хроматин белка ELYS — компонента Y-комплекса [64, 65]. Через ELYS в район формирования NPC привлекается Y-комплекс [54, 64], происходит дефосфорилирование его компонентов за счет активности фосфатазы PP1, также привлекаемой на хроматин белком ELYS [61]. Истощение ELYS приводит к нарушению постмитотической сборки NPC в экспериментах на культуре клеток человека [66] и *Caenorhabditis elegans* [67] — вместо будущей ядерной оболочки NPC начинают собираться на мембранах ЭПР. Таким образом, ELYS определяет, где будет происходить сборка NPC. В настоящее время неясно, необходимо ли присутствие ELYS для изменения диаметра отверстий в формирующейся ядерной оболочке и, если да, то посредством какого механизма это происходит.

В постмитотической сборке NPC принимает участие также ассоциированный с хроматином белок RCC1 (regulator of chromosome condensation 1). Он катализирует замену GDP на GTP в составе GTPазы Ran. При этом создается повышенная концентрация Ran-GTP с внутренней стороны формирующейся ядерной оболочки дочерней клетки. В комплексе с импортином β -нуклеопорины проникают в ядро. Там под действием GTPазы Ran-GTP отдельные нуклеопорины отделяются от импортина β и встраиваются в формирующиеся NPC [68].

После дефосфорилирования нуклеопоринов Y-комплексы встраиваются в формирующийся NPC через взаимодействие с трансмембранными нуклеопоринами Ndc1 и Pom121 [44, 45, 69]. Трансмембранные нуклеопорины привлекаются в район формирования NPC одновременно с дефосфорилированием нуклеопоринов Y-комплексов. В их привлечении принимает участие нуклеопорин внутреннего кольца Nup35, взаимодействующий с ядерной мембраной в районе формирования NPC своим мембраносвязывающим доменом [43, 70]. Связывание Ndc1 и Nup35 необходимо для усиления взаимодействия Nup35 с мембраной [41].

Формирующиеся NPC приобретают октагональную симметрию [71]. На этом этапе они со-

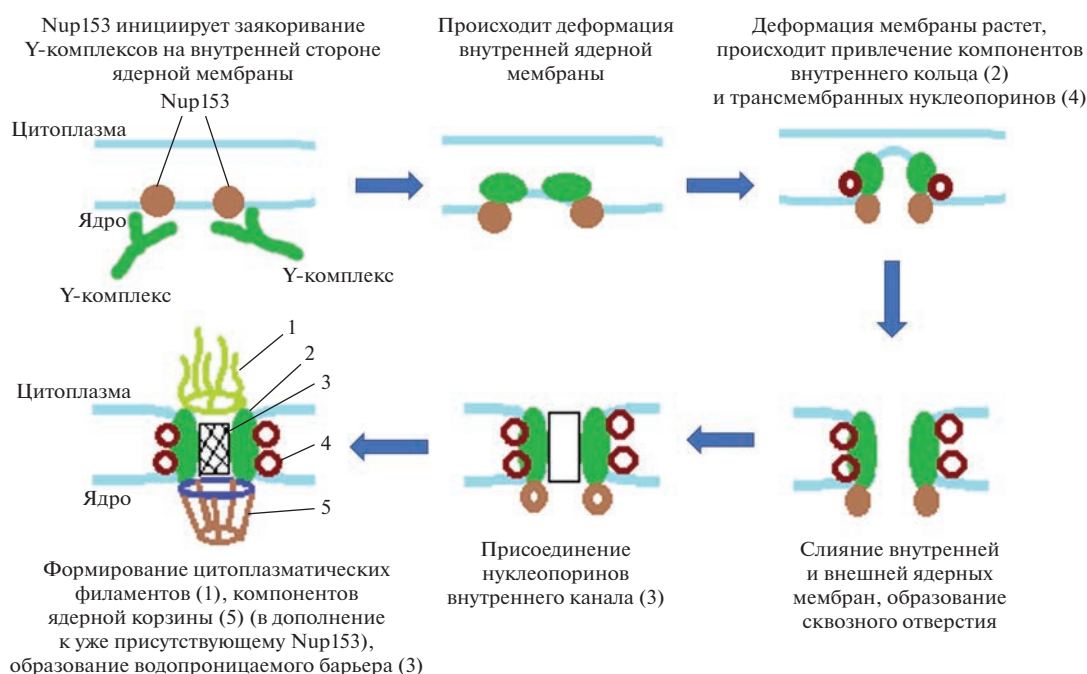
стоят из Y-комплексов внешнего ядерного кольца, трансмембранных нуклеопоринов и ряда нуклеопоринов внутреннего кольца. Диаметр отверстия в частично собранном NPC меньше, чем в полностью сформированном. В процессе сборки внутреннего и цитоплазматического внешнего колец оно расширяется [71].

На следующем этапе сборки к формирующемуся NPC присоединяются недостающие нуклеопорины внутреннего кольца. В привлечении Nup155 и Nup93 принимает участие Nup35. Nup93 привлекается в составе димеров двух типов — с Nup205 или с Nup188, которые также являются компонентами внутреннего кольца. Взаимодействие Nup155 с мембраной необходимо для сборки NPC [72]. Как сборка внутреннего кольца влияет на увеличение диаметра NPC пока не выяснено. Nup93 в составе Nup93-комплекса формирует посадочную платформу внутри центрального канала NPC за счет N-концевого SLiM-мотива. На эту платформу привлекаются компоненты Nup62-комплекса, что приводит транспортный канал в рабочее состояние. Периферические нуклеопорины Nup214, Nup358 и Nup153 присоединяются в конце сборки NPC [69, 73]. Водонепроницаемый барьер возникает в полностью собранном NPC [74]. Этот процесс может быть связан с взаимодействием FG-повторов разных нуклеопоринов между собой, а также с взаимодействием с рецепторами ядерного транспорта или посттрансляционными модификациями белков, входящих в состав канала ядерной поры [75, 76].

Постмитотическая сборка NPC занимает мало времени. За несколько минут тысячи NPC собираются на мембранах ядерных оболочек новообразованных клеток. К отличительным особенностям сборки NPC в дочерних клетках относятся наличие отверстий в ядерной оболочке и предсобранные Y-комплексы, опосредованное дефосфорилированием переключение NPC с разборки на сборку, участие Ran-GTP в отделении нуклеопоринов от импортина β , вследствие которых этот процесс занимает мало времени.

Образование новых NPC в интерфазе

Образовавшиеся в результате деления клетки вступают в интерфазу и начинают расти, при этом увеличивается площадь поверхности ядерной оболочки. Одновременно увеличивается и количество NPC. Встраивание NPC в ядерную оболочку *de novo* идет медленно. У *S. cerevisiae* в линиях, где нарушено формирование NPC, происходит накопление дефектных NPC с внутренней стороны ядерной оболочки. Это наблюдение позволило предположить, что сборка NPC начинается в нуклеоплазме [77–79]. Механизм образования отверстий в ядерной мембране описан в работе на культуре клеток человека [71]. Схематично после-

Рис. 4. Схема сборки NPC *de novo*.

довательность событий формирования NPC *de novo* представлена на рис. 4.

Формирование NPC начинается с того, что Nup153, находящийся в нуклеоплазме, инициирует закоривание Y-комплекса на внутренней мембране ядерной оболочки [80]. Нуклеопорины внутреннего кольца вместе с белками ЭПР [81] изгибают внутреннюю ядерную мембрану в месте присоединения и далее при участии Y-комплекса закрепляют изгиб мембраны, в результате чего начинается формирование препоры. Как и в случае постмитотической сборки, этот предшественник поры имеет октагональную структуру.

Изгиб мембраны увеличивается, а внутренняя ядерная мембрана в процессе деформации сближается с внешней [71]. За счет чего происходит расширение и углубление деформации пока непонятно. Известно, что в расширении диаметра ядерной поры, как и в постмитотической сборке, принимают участие компоненты внутреннего кольца NPC. У *S. cerevisiae* FG-повторы Nup116 (Nup98 у млекопитающих) и Nup188 формируют множественные связи с нуклеопоринами ядерного внешнего кольца и внутреннего кольца, что приводит к присоединению этих нуклеопоринов к формирующемуся NPC. Через 40–50 мин после начала образования NPC происходит слияние внешней и внутренней ядерной мембран и в них образуется отверстие. Механизм этого процесса на данный момент не установлен.

После образования сквозного отверстия к формирующемуся NPC присоединяются цито-

плазматическое внешнее кольцо и цитоплазматические периферические структуры [71].

Если сравнить два механизма формирования NPC, постмитотический и интерфазный, то можно заметить ряд различий. Так ELYS, играющий важную роль в постмитотической сборке, не обязателен для образования NPC *de novo*.

Напротив, активный импорт Nup153 в ядро необходим для привлечения Y-комплексов к месту сборки NPC в интерфазе, но не важен для постмитотической сборки NPC [80]. Nup133, Nup153, Nup155 и Nup35 способны связывать и частично изгибать внутреннюю ядерную мембрану своими амфипатическими спиральями. Удаление этих структурных мотивов Nup153, Nup133 и Nup35 приводит к нарушению интерфазной, но не постмитотической сборки NPC [54, 80, 82].

Неядерные поровые комплексы

В некоторых клетках поровые комплексы обнаруживаются на стопках мембран ЭПР. Эти мембраны называются кольцевидными ламеллами (annulate lamellae, AL). Чтобы отличать такие поровые комплексы от ядерных, их называют неядерные поровые комплексы, или ALPC (Annulate Lamellae Pore Complexes).

ALPC могут образовываться при нарушениях экспрессии отдельных нуклеопоринов, которые наблюдаются в опухолевых клетках разного типа. Также ALPC присутствуют в половых клетках и в

ранних эмбрионах разных организмов, в том числе человека.

Предполагается, что AL служит резервуаром собранных в материнской клетке поровых комплексов, которые используются в раннем эмбриогенезе. Это предположение подтверждается при наблюдении за эмбриогенезом у *Drosophila melanogaster* — AL встраивается в ядерную мембрану вместе с расположенными на ней поровыми комплексами [83]. На электронных фотографиях видно значительное сходство NPC и ALPC. Фракционирование эмбрионов с разделением NPC и ALPC выявило сходное устройство в организации внутреннего кольца, Y-комплексов и расположения трансмембранных нуклеопоринов, однако в ALPC отсутствуют ядерная “корзина”, большая часть цитоплазматических филаментов и нуклеопорины центрального канала [83].

Как формируются ALPC остается пока неясным. Если ALPC образуются *de novo* на цитоплазматических мембранах ЭПР, то непонятно каким образом детерминируется “ядерная” и “цитоплазматическая” стороны порового комплекса, с какой стороны начинается деформация мембраны ЭПР и присоединение нуклеопоринов. При формировании поровых комплексов на ядерной мембране ассоциированные с хроматином белки запускают сборку NPC на внутренней стороне ядерной мембраны (PP1, ELYS). На данный момент не установлены белки, инициирующие образование ALPC. В формировании и диссоциации NPC и ALPC должны участвовать сходные механизмы регуляции — в профазе происходит фосфорилирование и диссоциация как NPC на ядерной мембране, так и ALPC на AL. В анафазе оба вида поровых комплексов появляются снова. Таким образом, разборка и сборка NPC, и ALPC зависят от стадии клеточного цикла [84, 85]. Кроме того, при Ran-GTP-зависимой диссоциации комплекса импорта β и нуклеопоринов происходит сборка NPC, и ALPC [68, 86]. Получены данные, позволяющие предположить, что постмитотическая сборка ALPC происходит по тому же механизму, что и постмитотическая сборка NPC, только собираются они на отверстиях в стопках мембран ЭПР. В пользу этой гипотезы свидетельствует тот факт, что в отсутствие ELYS на мембранах ЭПР начинает собираться больше поровых комплексов, и меньше — на ядерной мембране [64].

На данный момент нет никаких представлений о том, как происходит формирование ALPC в интерфазе. Заякоривание Nup153 на мембране ЭПР может приводить к рекрутированию Y-комплексов и к запуску формирования ALPC [80]. По-видимому, при сборке ALPC возможно создание подобия нуклеоплазматического компартмента за счет локального повышения концентрации Ran-

GTP. Участие Ran-GTP в формировании ALPC показано на экстрактах ооцитов *X. laevis* [68]. Поскольку импорт β присутствует на ALPC [87], неядерное скопление Ran-GTP может принимать участие в диссоциации комплексов импорта β -нуклеопорин для освобождения нуклеопоринов, необходимых для сборки ALPC.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За 70 лет изучения NPC мы получили довольно точные представления о структуре NPC и образующих их белках. Мы понимаем, как нуклеопорины взаимодействуют между собой и какие структурные особенности характерны для них. Много известно о функциях конкретных нуклеопоринов в составе NPC и за счет чего формируется водонепроницаемый барьер внутри поры. При этом стадии формирования NPC изучены недостаточно. Начаты исследования двух различных механизмов формирования NPC — образования *de novo* в интерфазной клетке и постмитотической сборки в новообразованных клетках. Пока нет четкой картины, в какой последовательности происходит сборка NPC, однако выявлены ключевые нуклеопорины (разные для двух механизмов), запускающие формирование NPC.

Представляет интерес и дальнейшее изучение вариантов NPC, присутствующих как в разных тканях, так и внутри одной клетки, а также того, как замена нуклеопоринов на их тканеспецифичные варианты может влиять на транспортные и другие функции NPC.

Еще одна область, которая интенсивно исследуется, это участие нуклеопоринов в различных клеточных процессах, не связанных непосредственно с формированием NPC и с транспортом молекул с одной стороны ядерной оболочки на другую. Так, большое внимание приковано к изучению влияния нуклеопоринов на хромосомную архитектуру и регуляцию экспрессии генов.

Обзор написан за счет гранта Российского научного фонда (проект №22-14-00270).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Beck M., Hurt E. (2017) The nuclear pore complex: understanding its function through structural insight. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **18**(2), 73–89.
2. Hampoelz B., Andres-Pons A., Kastiris P., Beck M. (2019) Structure and assembly of the nuclear pore complex. *Annu. Rev. Biophys.* **48**, 515–536.
3. Allegretti M., Zimmerli C.E., Rantos V., Wilfling F., Ronchi P., Fung H.K.H., Lee C.W., Hagen W.,

- Turoňová B., Karius K., Börmel M., Zhang X., Müller C.W., Schwab Y., Mahamid J., Pfander B., Kosinski J., Beck M. (2020) In-cell architecture of the nuclear pore and snapshots of its turnover. *Nature*. **586**(7831), 796–800.
4. Schuller A.P., Wojtynek M., Mankus D., Tatli M., Kronenberg-Tenga R., Regmi S.G., Dip P.V., Lytton-Jean A.K.R., Brignole E.J., Dasso M., Weis K., Medalia O., Schwartz T.U. (2021) The cellular environment shapes the nuclear pore complex architecture. *Nature*. **598**(7882), 667–671.
 5. Wool I.G., Chan Y.L., Glück A. (1995) Structure and evolution of mammalian ribosomal proteins. *Biochem. Cell. Biol.* **73**(11–12), 933–947.
 6. Callan H.G., Tomlin S.G. (1950) Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **137**(888), 367–378.
 7. Dwyer N., Blobel G. (1976) A modified procedure for the isolation of a pore complex–lamina fraction from rat liver nuclei. *J. Cell. Biol.* **70**(3), 581–591.
 8. Akey C.W., Radermacher M. (1993) Architecture of the *Xenopus* nuclear pore complex revealed by three-dimensional cryo-electron microscopy. *J. Cell. Biol.* **122**(1), 1–19.
 9. Rout M.P., Blobel G. (1993) Isolation of the yeast nuclear pore complex. *J. Cell. Biol.* **123**(4), 771–783.
 10. Yang Q., Rout M.P., Akey C.W. (1998) Three-dimensional architecture of the isolated yeast nuclear pore complex: functional and evolutionary implications. *Mol. Cell.* **1**(2) 223–234.
 11. Cronshaw J.M., Krutchinsky A.N., Zhang W., Chait B.T., Matunis M.L.J. (2002) Proteomic analysis of the mammalian nuclear pore complex. *J. Cell. Biol.* **158**(5), 915–927.
 12. Rout M.P., Aitchison J.D., Suprapto A., Hjertaas K., Zhao Y., Chait B.T. (2000) The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, transport mechanism. *J. Cell. Biol.* **148**(4), 635–651.
 13. Gomez-Cavazos J.S., Hetzer M.W. (2015) The nucleoporin gp210/Nup210 controls muscle differentiation by regulating nuclear envelope/ER homeostasis. *J. Cell. Biol.* **208**(6), 671–681.
 14. Pritchard C.E.J., Fornerod M., Kasper L.H., van Deursen J.M.A. (2000) RAE1 is a shuttling mRNA export factor that binds to a GLEBS-like NUP98 motif at the nuclear pore complex through multiple domains. *J. Cell. Biol.* **145**(2), 237–254.
 15. Griffis E.R., Altan N., Lippincott-Schwartz J., Powers M.A. (2002) Nup98 is a mobile nucleoporin with transcription-dependent dynamics. *Mol. Biol. Cell.* **13**(4), 1292–1297.
 16. Kendirgi F., Barry D.M., Griffis E.R., Powers M.A., Wente S.R. (2003) An essential role for hGle1 nucleocytoplasmic shuttling in mRNA export. *J. Cell. Biol.* **160**(7), 1029–1040.
 17. Griffis E.R., Craige B., Dimaano C., Ullman K.S., Powers M.A. (2004) Distinct functions domains within nucleoporins Nup153 and Nup98 mediate transcription-dependent mobility. *Mol. Biol. Cell.* **15**(4), 1991–2002.
 18. Capelson M., Liang Y., Schulte R., Mair W., Wagner U., Hetzer M.W. (2010) Chromatin-bound nuclear pore components regulate gene expression in higher eukaryotes. *Cell*. **140**(3), 372–383.
 19. Kalverda B., Pickersgill H., Shloma V.V., Fornerod M. (2010) Nucleoporins directly stimulate expression of developmental and cell-cycle genes inside the nucleoplasm. *Cell*. **140**(3), 360–371.
 20. Brown C.R., Kennedy C.J., Delmar V.A., Forbes D.J., Silver P.A. (2008) Global histone acetylation induces functional genomic reorganization at mammalian nuclear pore complexes. *Genes Dev.* **22**(5), 627–639.
 21. Ribbeck K., Görlich D. (2002) The permeability barrier of nuclear pore complexes appears to operate via hydrophobic exclusion. *EMBO J.* **21**(11), 2664–2671.
 22. von Appen A., Beck M. (2016) Structure determination of the nuclear pore complex with three-dimensional cryo electron microscopy. *J. Mol. Biol.* **428**(10), 2001–2010.
 23. Stuwe T., Correia A.R., Lin D.H., Paduch M., Lu V.T., Kossiakoff A.A., Hoelz A. (2015) Architecture of the nuclear pore complex coat. *Science*. **347**(6226), 1148–1152.
 24. Siniosoglou S., Lutzmann M., Santos-Rosa H., Leonard K., Mueller S., Aebi U., Hurt E. (2000) Structure and assembly of the Nup84p complex. *J. Cell. Biol.* **149**(1), 41–54.
 25. von Appen A., Kosinski J., Sparks L., Ori A., DiGiulio A.L., Vollmer B., Mackmull M.T., Banterle N., Parca L., Kastiris P., Buczak K., Mosalaganti S., Hagen W., Andres-Pons A., Lemke E.A., Bork P., Antonin W., Glavy J.S., Bui K.H., Beck M. (2015) *In situ* structural analysis of the human nuclear pore complex. *Nature*. **526**(7571), 140–143.
 26. Bui K.H., von Appen A., DiGiulio A.L., Ori A., Sparks L., Mackmull M.T., Bock T., Hagen W., Andrés-Pons A., Glavy J.S., Beck M. (2013) Integrated structural analysis of the human nuclear pore complex scaffold. *Cell*. **155**(6), 1233–1243.
 27. Rajoo S., Vallotton P., Onischenko E., Weis K. (2018) Stoichiometry and compositional plasticity of the yeast nuclear pore complex revealed by quantitative fluorescence microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **115**(17), 3969–3977.
 28. Rasala B.A., Orjalo A.V., Shen Z., Briggs S., Forbes D.J. (2006) ELYS is a dual nucleoporin/kinetochore protein required for nuclear pore assembly and proper cell division. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **103**(47), 17801–17806.
 29. Rout M.P., Field M.C. (2017) The evolution of organellar coat complexes and organization of the eukaryotic cell. *Annu. Rev. Biochem.* **86**, 637–657.
 30. Beck M., Baumeister W. (2016) Cryo-electron tomography: can it reveal the molecular sociology of cells in atomic detail? *Trends Cell. Biol.* **26**(11), 825–837.
 31. Mosalaganti S., Kosinski J., Albert S., Schaffer M., Strenkert D., Salomé P.A., Merchant S.S., Plitzko J.M., Baumeister W., Engel B.D., Beck M. (2018) *In situ* architecture of the algal nuclear pore complex. *Nat. Commun.* **9**(1), 2361.
 32. Adams R.L., Mason A.C., Glass L., Aditi, Wente S.R. (2017) Nup42 and IP 6 coordinate Gle1 stimulation of

- Dbp5/DDX19B for mRNA export in yeast and human cells *Traffic*. **18**(12), 776–790.
33. Fornerod M., van Deursen J., van Baal S., Reynolds A., Davis D., Murti K.G., Franssen J., Grosveld G. (1997) The human homologue of yeast CRM1 is in a dynamic subcomplex with CAN/Nup214 and a novel nuclear pore component Nup88. *EMBO J.* **16**(4), 807–816.
 34. Lin D.H., Correia A.R., Cai S.W., Huber F.M., Jette C.A., Hoelz A. (2018) Structural and functional analysis of mRNA export regulation by the nuclear pore complex. *Nat. Commun.* **9**(1), 2319.
 35. Port S.A., Monecke T., Dickmanns A., Spillner C., Hofele R., Urlaub H., Ficner R., Kehlenbach R.H. (2015) Structural and functional characterization of CRM1-Nup214 interactions reveals multiple FG-binding sites involved in nuclear export. *Cell. Rep.* **13**(4), 690–702.
 36. Ritterhoff T., Das H., Hofhaus G., Schröder R.R., Flotho A., Melchior F. (2016) The RanBP2/RanGAP1*SUMO1/Ubc9 SUMO E3 ligase is a disassembly machine for Crm1-dependent nuclear export complexes. *Nat. Commun.* **7**, 11482.
 37. Hutten S., Flotho A., Melchior F., Kehlenbach R.H. (2008) The Nup358-RanGAP complex is required for efficient importin α/β -dependent nuclear import. *Mol. Biol. Cell.* **19**(5), 2300–2310.
 38. Mahadevan K., Zhang H., Akef A., Cui X.A., Guerousov S., Cenik C., Roth F.P., Palazzo A.F. (2013) RanBP2/Nup358 potentiates the translation of a subset of mRNAs encoding secretory proteins. *PLoS Biol.* **11**(4), e1001545.
 39. Dharan A., Talley S., Tripathi A., Mamede J.I., Majetschak M., Hope T.J., Campbell E.M. (2016) KIF5B and Nup358 cooperatively mediate the nuclear import of HIV-1 during infection. *PLoS Pathog.* **12**(6), e1005700.
 40. Krull S., Thyberg J., Björkroth B., Rackwitz H.R., Cordes V.C. (2004) Nucleoporins as components of the nuclear pore complex core structure and Tpr as the architectural element of the nuclear basket. *Mol. Biol. Cell.* **15**(9), 4261–4277.
 41. Krull S., Dörries J., Boysen B., Reidenbach S., Magnus L., Norder H., Thyberg J., Cordes V.C. (2010) Protein Tpr is required for establishing nuclear pore-associated zones of heterochromatin exclusion. *EMBO J.* **29**(10), 1659–1673.
 42. Stewart M. (2007) Molecular mechanism of the nuclear protein import cycle. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **8**(3), 195–208.
 43. Eisenhardt N., Redolfi J., Antonin W. (2014) Interaction of Nup53 with Ndc1 and Nup155 is required for nuclear pore complex assembly. *J. Cell. Sci.* **127**(4), 908–921.
 44. Mansfeld J., Güttinger S., Hawryluk-Gara L.A., Panté N., Mall M., Galy V., Haselmann U., Mühlhäusser P., Wozniak R.W., Mattaj I.W., Kutay U., Antonin W. (2006) the conserved transmembrane nucleoporin NDC1 is required for nuclear pore complex assembly in vertebrate cells. *Mol. Cell.* **22**(1), 93–103.
 45. Mitchell J.M., Mansfeld J., Capitanio J., Kutay U., Wozniak R.W. (2010) Pom121 links two essential subcomplexes of the nuclear pore complex core to the membrane. *J. Cell. Biol.* **191**(3), 505–521.
 46. Tompa P. (2012) Intrinsically disordered proteins: a 10-year recap. *Trends Biochem. Sci.* **37**(12), 509–516.
 47. Tompa P. (2011) Unstructural biology coming of age. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **21**(3), 419–425.
 48. van Roey K., Uyar B., Weatheritt R.J., Dinkel H., Seiler M., Budd A., Gibson T.J., Davey N.E. (2014) Short linear motifs: ubiquitous and functionally diverse protein interaction modules directing cell regulation. *Chem. Rev.* **114**(13), 6733–6778.
 49. Davey N.E., Roey K.V., Weatheritt R.J., Toedt G., Uyar B., Altenberg B., Budd A., Diella F., Dinkel H., Gibson T.J. (2012) Attributes of short linear motifs. *Mol. Biosyst.* **8**(1), 268–281.
 50. Davey N.E., Cyert M.S., Moses A.M. (2015) Short linear motifs – *ex nihilo* evolution of protein regulation. *Cell Commun. Signal.* **13**, 43.
 51. Lin D.H., Stuwe T., Schilbach S., Rundlet E.J., Periches T., Mobbs G., Fan Y., Thierbach K., Huber F.M., Collins L.N., Davenport A.M., Jeon Y.E., Hoelz A. (2016) Architecture of the symmetric core of the nuclear pore. *Science*. **352**(6283), aaf1015.
 52. Fischer J., Teimer R., Amlacher S., Kunze R., Hurt E. (2015) Linker Nups connect the nuclear pore complex inner ring with the outer ring and transport channel. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **22**(10), 774–781.
 53. Hülsmann B.B., Labokha A.A., Görlich D. (2012) The permeability of reconstituted nuclear pores provides direct evidence for the selective phase model. *Cell*. **150**(4), 738–751.
 54. Doucet C.M., Talamas J.A., Hetzer M.W. (2010) Cell cycle-dependent differences in nuclear pore complex assembly in metazoa. *Cell*. **141**(6), 1030–1041.
 55. Linder M., Köhler M., Boersema P., Weberruss M., Wandke C., Marino J., Ashiono C., Picotti P., Antonin W., Kutay U. (2017) Mitotic disassembly of nuclear pore complexes involves CDK1- and PLK1-mediated phosphorylation of key interconnecting nucleoporins. *Dev. Cell*. **43**(2), 141–156.
 56. Laurell E., Beck K., Krupina K., Theerthagiri G., Bodenmiller B., Horvath P., Aebersold R., Antonin W., Kutay U. (2011) Phosphorylation of Nup98 by multiple kinases is crucial for NPC disassembly during mitotic entry. *Cell*. **144**(4), 539–550.
 57. Belgareh N., Rabut G., Baï S.W., van Overbeek M., Beaudouin J., Daigle N., Zatzepina O.V., Pasteau F., Labas V., Fromont-Racine M., Ellenberg J., Doye V. (2001) An evolutionarily conserved NPC subcomplex, which redistributes in part to kinetochores in mammalian cells. *J. Cell Biol.* **154**(6), 1147–1160.
 58. Katsani K.R., Karess R.E., Dostatni N., Doye V. (2008) *In vivo* dynamics of *Drosophila* nuclear envelope components. *Mol. Biol. Cell.* **19**(9), 3652–3666.
 59. Loiodice I., Alves A., Rabut G., van Overbeek M., Ellenberg J., Sibarita J.B., Doye V. (2004) The entire Nup107–160 complex, including three new members, is targeted as one entity to kinetochores in mitosis. *Mol. Biol. Cell.* **15**(7), 3333–3344.
 60. Joseph J., Liu S.T., Jablonski S.A., Yen T.J., Dasso M. (2004) The RanGAP1–RanBP2 complex is essential for

- microtubule–kinetochore interactions *in vivo*. *Curr. Biol.* **14**(7), 611–617.
61. Hattersley N., Cheerambathur D., Moyle M., Stefanutti M., Richardson A., Lee K.Y., Dumont J., Oegema K., Desai A. (2016) A nucleoporin docks protein phosphatase 1 to direct meiotic chromosome segregation and nuclear assembly. *Dev. Cell.* **38**(5), 463–477.
 62. Anderson D.J., Hetzer M.W. (2007) Nuclear envelope formation by chromatin-mediated reorganization of the endoplasmic reticulum. *Nat. Cell. Biol.* **9**(10), 1160–1166.
 63. Otsuka S., Steyer A.M., Schorb M., Hériché J.K., Hossein M.J., Sethi S., Kueblbeck M., Schwab Y., Beck M., Ellenberg J. (2018) Postmitotic nuclear pore assembly proceeds by radial dilation of small membrane openings. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **25** (1), 21–28.
 64. Franz C., Walczak R., Yavuz S., Santarella R., Gentzel M., Askjaer P., Galy V., Hetzer M., Mattaj I.W., Antonin W. (2007) MEL-28/ELYS is required for the recruitment of nucleoporins to chromatin and postmitotic nuclear pore complex assembly. *EMBO Rep.* **8**(2), 165–172.
 65. Rasala B.A., Ramos C., Harel A., Forbes D.J. (2008) Capture of AT-rich chromatin by ELYS recruits POM121 and NDC1 to initiate nuclear pore assembly. *Mol. Biol. Cell.* **19**(9), 3982–3996.
 66. Capelson M., Hetzer M.W. (2009) The role of nuclear pores in gene regulation, development and disease. *EMBO Rep.* **10**(7), 697–705.
 67. Galy V., Askjaer P., Franz C., López-Iglesias C., Mattaj I.W. (2006) MEL-28, a novel nuclear-envelope and kinetochore protein essential for zygotic nuclear-envelope assembly in *C. elegans*. *Curr. Biol.* **16**(17), 1748–1756.
 68. Walther T.C., Askjaer P., Gentzel M., Habermann A., Griffiths G., Wilm M., Mattaj I.W., Hetzer M. (2003) RanGTP mediates nuclear pore complex assembly. *Nature.* **424**(6949), 689–694.
 69. Dultz E., Zanin E., Wurzenberger C., Braun M., Rabut G., Sironi L., Ellenberg J. (2008) Systematic kinetic analysis of mitotic dis- and reassembly of the nuclear pore in living cells. *J. Cell. Biol.* **180**(5), 857–865.
 70. Hawryluk-Gara L.A., Shibuya E.K., Wozniak R.W. (2005) Vertebrate Nup53 interacts with the nuclear lamina and is required for the assembly of a Nup93-containing complex. *Mol. Biol. Cell.* **16**(5), 2382–2394.
 71. Otsuka S., Bui K.H., Schorb M., Julius Hossain M., Politi A.Z., Koch B., Eltsov M., Beck M., Ellenberg J. (2016) Nuclear pore assembly proceeds by an inside-out extrusion of the nuclear envelope. *Elife.* **5**(5), e19071.
 72. de Magistris P., Tatarek-Nossol M., Dewor M., Antonin W. (2018) A self-inhibitory interaction within Nup155 and membrane binding are required for nuclear pore complex formation. *J. Cell. Sci.* **131**(1), jcs208538.
 73. Haraguchi T., Koujin T., Hayakawa T., Kaneda T., Tsutsumi C., Imamoto N., Akazawa C., Sukegawa J., Yoneda Y., Hiraoka Y. (2000) Live fluorescence imaging reveals early recruitment of emerin, LBR, RanBP2, and Nup153 to reforming functional nuclear envelopes. *J. Cell. Sci.* **113**(5), 779–794.
 74. Dultz E., Huet S., Ellenberg J. (2009) Formation of the nuclear envelope permeability barrier studied by sequential photoswitching and flux analysis. *Biophys. J.* **97**(7), 1891–1897.
 75. Kapinos L.E., Huang B., Rencurel C., Lim R.Y.H. (2017) Karyopherins regulate nuclear pore complex barrier and transport function. *J. Cell. Biol.* **216**(11), 3609–3624.
 76. Lowe A.R., Tang J.H., Yassif J., Graf M., Huang W.Y.C., Groves J.T., Weis K., Liphardt J.T. (2015) Importin-β modulates the permeability of the nuclear pore complex in a Ran-dependent manner. *Elife.* **2015**(4), e04052.
 77. Makio T., Stanton L.H., Lin C.C., Goldfarb D.S., Weis K., Wozniak R.W. (2009) The nucleoporins Nup170p and Nup157p are essential for nuclear pore complex assembly. *J. Cell. Biol.* **185**(3), 459–437.
 78. Webster B.M., Colombi P., Jäger J., Lusk C.P. (2014) Surveillance of nuclear pore complex assembly by ESCRT-III/Vps4. *Cell.* **159**(2), 388–401.
 79. Wente S.R., Blobel G. (1993) A temperature-sensitive NUP116 null mutant forms a nuclear envelope seal over the yeast nuclear pore complex thereby blocking nucleocytoplasmic traffic. *J. Cell. Biol.* **123**(2), 275–284.
 80. Vollmer B., Lorenz M., Moreno-Andrés D., Bodenhöfer M., De Magistris P., Astrinidis S.A., Schooley A., Flötenmeyer M., Leptihn S., Antonin W. (2015) Nup153 recruits the Nup107–160 complex to the inner nuclear membrane for interphasic nuclear pore complex assembly. *Dev. Cell.* **33**(6), 717–728.
 81. Dawson T.R., Lazarus M.D., Hetzer M.W., Wente S.R. (2009) ER membrane-bending proteins are necessary for *de novo* nuclear pore formation. *J. Cell. Biol.* **184**(5), 659–675.
 82. Vollmer B., Schooley A., Sachdev R., Eisenhardt N., Schneider A.M., Sieverding C., Madlung J., Gerken U., Macek B., Antonin W. (2012) Dimerization and direct membrane interaction of Nup53 contribute to nuclear pore complex assembly. *EMBO J.* **31**(20), 4072–4084.
 83. Hampoelz B., Mackmull M.T., Machado P., Ronchi P., Bui K.H., Schieber N., Santarella-Mellwig R., Necaikov A., Andrés-Pons A., Philippe J.M., Lecuit T., Schwab Y., Beck M. (2016) Pre-assembled nuclear pores insert into the nuclear envelope during early development. *Cell.* **166**(3), 664–678.
 84. Onischenko E.A., Gubanov N.V., Kiseleva E.V., Hallberg E. (2005) Cdk1 and okadaic acid-sensitive phosphatases control assembly of nuclear pore complexes in *Drosophila* embryos. *Mol. Biol. Cell.* **16**(11), 5152–5162.
 85. Stafstrom J.P., Staehelin L.A. (1984) Dynamics of the nuclear envelope and of nuclear pore complexes during mitosis in the *Drosophila* embryo. *Eur. J. Cell Biol.* **34**(1), 179–189.
 86. D'Angelo M.A., Anderson D.J., Richard E., Hetzer M.W. (2006) Nuclear pores form *de novo* from both sides of the nuclear envelope. *Science.* **312**(5772), 440–443.
 87. Cordes V.C., Rackwitz H.R., Reidenbach S. (1997) Mediators of nuclear protein import target karyophilic proteins to pore complexes of cytoplasmic annulate lamellae. *Exp. Cell Res.* **237**(2), 419–433.

Assembly and Disassembly of Nuclear Pore Complex: a View from Structural Side

A. V. Orlova¹, *, S. G. Georgieva¹, and D. V. Kopytova¹

¹*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: chipushka@gmail.com*

Nucleocytoplasmic exchange in the cell occurs through the nuclear pore complexes (NPCs). NPCs are large multiprotein complexes with octagonal symmetry about their axis and imperfect mirror symmetry about a plane parallel with the nuclear envelope (NE). NPC fuses the inner and outer nuclear membranes and opens up a channel between nucleus and cytoplasm. NPC is built of nucleoporins. Each nucleoporin occurs in at least eight copies per NPC. Inside the NPC forms a permeability barrier by which NPC can ensure fast and selectable transport of molecules from one side of nuclear membrane to another. NPC architecture is based on hierarchical principle of organization. Nucleoporins are integrated into complexes that oligomerize into bigger octomeric high-order structures. These structures are the main components of NPC. In the first part of this work the main attention is paid to NPC structure and nucleoporins' properties. The second part is dedicated to mechanisms of NPC assembly and disassembly at different stages of cell cycle.

Keywords: NPC, nucleoporins, FG-repeats, Y-complex, SLiM-domain, nuclear pore complex assembly, annulate lamellae pore complexes (APLC)