

Seminario

Trasporto attraverso il complesso dei pori nucleari (2)

- Tre tipi di nucleoporine: **Nucleoporine strutturali**, **Nucleoporine di membrana** e **FG-Nucleoporine**.
- Le **nucleoporine strutturali** formano l'impalcatura del poro, che è un anello con un asse di simmetria ottagonale che attraversa entrambe le membrane dell'involucro nucleare creando un anello.
- Le membrane interna ed esterna dell'involucro sono collegate al NPC mediante una regione altamente incurvata di membrana in cui sono inserite le **nucleoporine di membrana**.
- Un insieme di sette nucleoporine strutturali forma una struttura a forma di Y che ha circa la dimensione di un ribosoma: **complesso Y**.
- Sedici copie di complessi Y formano la struttura base di impalcatura del poro, che ha simmetria bilaterale attraverso l'involucro nucleare e simmetria di rotazione ottagonale nel piano dell'involucro.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

Trasporto attraverso il complesso dei pori nucleari (3)

- Le **FG-nucleoporine** che rivestono il canale del CPN e che si trovano associate al canestro nucleare e ai filamenti citoplasmatici, **contengono molteplici ripetizioni di corte sequenze idrofobiche ricche in residui di fenilalanina (F) e di glicina (G)**.
- Si ritiene che le ripetizioni FG, idrofobiche, si trovino inserite in estese regioni, altrimenti idrofiliche, delle catene polipeptidiche che riempiono il canale di trasporto centrale.
- Le FG-nucleoporine sono fondamentali per la funzione dei NPC: si pensa che formino una struttura gelificata flessibile che permette la diffusione di piccole molecole mentre esclude le proteine idrofiliche di dimensioni superiori a 40 kDa se non sono associate a proteine chaperone.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

IMPORTAZIONE attraverso il complesso dei pori nucleari (1)

- Tutte le **proteine nucleari** (istoni, fattori di trascrizione, DNA pol e RNApol, ecc) **sono sintetizzate nel citoplasma ed importate verso il nucleo attraverso i NPC**.
- Queste proteine contengono un **segnale di localizzazione nucleare (NLS)** che indirizza il loro trasporto selettivo verso il nucleo.
- Il loro trasporto richiede due componenti citoplasmatiche: le proteine **Ran** e un **recettore per il trasporto nucleare**.
- **Ran**: piccola proteina G monomerica che esiste sia nella conformazione legata a GTP che legata a GDP.
- Il **recettore per il trasporto nucleare** si lega sia al NLS sulla proteina da trasportare che, temporaneamente, alle ripetizioni FG delle nucleoporine, attraversando rapidamente la matrice ricca di ripetizioni FG del canale centrale del poro.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

IMPORTAZIONE attraverso il complesso dei pori nucleari (2)

- Una volta traslocato attraverso il poro, il recettore per il trasporto nucleare interagisce con Ran-GTP, subendo una modificazione conformazionale che lo distacca dal NLS, rilasciando la proteina trasportata nel nucleoplasma.
- Il complesso recettore per il trasporto nucleare-Ran-GTP allora ritorna al citoplasma per diffusione attraverso il NPC.
- Nel lato citoplasmatico Ran interagisce con la «GTPase-activating protein, Ran-GAP», un componente dei filamenti citoplasmatici del NPC.
- Ciò stimola l'idrolisi a GDP del GTP legato a Ran; Ran prende una conformazione a bassa affinità per il recettore per il trasporto nucleare che viene rilasciato nel citosol, pronto per un altro giro.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

IMPORTAZIONE attraverso il complesso dei pori nucleari (3)

- Il Ran-GDP ritorna al nucleo tramite i pori verso il nucleoplasma dove trova un fattore specifico di scambio «Guanine nucleotide exchange factor, Ran-GEF» che induce Ran a rilasciare il GDP legato e a scambiarlo con GTP.
- Il risultato finale di questa serie di reazioni è **l'accoppiamento dell'idrolisi del GTP al trasferimento di una proteina contenente un NLS dal citoplasma al nucleoplasma**, così fornendo la forza motrice per il trasporto nucleare.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

ESPORTAZIONE attraverso il complesso dei pori nucleari (1)

- Diverse proteine, tRNAs e subunità ribosomiali usano le per passare dal nucleo al citoplasma un meccanismo simile a quello per l'importazione delle proteine dal citoplasma al nucleo.
- Le proteine che fanno da navetta tra il citoplasma e il nucleo contengono, oltre al NLS, un «**Nuclear Export Signal, NES**». Il più noto ha una sequenza ricca di leucine.
- Un recettore di trasporto nucleare, **esportina-1**, prima forma un complesso con Ran-GTP e in seguito si lega al NES ricco di leucina di una proteina da trasportare. Il legame provoca un'alterazione conformazionale dell'esportina-1 che aumenta la sua affinità verso il NES: si forma un complesso di carico trimolecolare.
- Anche l'esportina-1 forma legami temporanei con le ripetizioni FG delle FG-nucleoporine e diffonde lungo il NPC.
- Il complesso si dissocia quando trova il RAN-GAP dei filamenti citoplasmatici del NPC che stimola Ran a idrolizzare il GTP legato, spostandolo verso una conformazione a bassa affinità per l'esportina-1.
- A sua volta, l'esportina-1 passa ad una conformazione a bassa affinità per il NES, rilasciando la proteina trasportata nel citosol.

Lodish et al., 7^a ed.

Seminario

ESPORTAZIONE attraverso il complesso dei pori nucleari (2)

- Un simile meccanismo di navetta, esportina-1, Ran e GTP-dipendente, esporta **tRNAs**, le **subunità dei ribosomi dal nucleo** ed alcuni mRNA.
- La maggior parte degli **mRNA** tuttavia viene esportato in modo Ran-indipendente.
- Questi mRNA sono associati a proteine specifiche hnRNP formando un «messenger ribonuclear protein complex, mRNP» che è riconosciuto da un «mRNP exporter», che non richiede legame con Ran.
- Nel lato citoplasmatico il trasportatore si dissocia dal complesso mediante interazione con un enzima, la RNA helicase, che si muove lungo le molecole di RNA, separando catene di RNA a doppio filamento e dissociando i complessi RNA-proteine mediante idrolisi dell'ATP.

Lodish et al., 7^a ed.