

Kernporenkomplexe

Wie die Zelle ihre Kernporen aufbaut

PAOLA DE MAGISTRIS, RABIA SULUYAYLA, WOLFRAM ANTONIN
 INSTITUT FÜR BIOCHEMIE UND MOLEKULARE ZELLBIOLOGIE, UNIVERSITÄTSKLINIKUM AACHEN

Nuclear pore complexes mediate the exchange of macromolecules between cytoplasm and nuclear interior. These complexes assemble from more than 500 individual nucleoporins and integrate into the double membrane structure of the nuclear envelope at the end of mitosis and in interphase via different pathways. Despite their universal function in all nucleated cells mutations in nucleoporins cause tissue specific disease phenotypes but the underlying molecular mechanisms are often unclear.

DOI: 10.1007/s12268-018-0884-y
 © Springer-Verlag 2018

■ Der Zellkern ist die namensgebende Struktur eukaryotischer Zellen und in den meisten Zellen das lichtmikroskopisch zuerst ins Auge springende Organell (**Abb. 1**). Der Zellkern enthält in der Hauptsache die Erbinformation, also das Genom in Form von DNA. Darum herum befindet sich die schützende Kernhülle, die aus zwei Membranen besteht. Sie stellt eine Diffusionsbarriere zwischen dem Zellkerninneren und dem Rest der Zelle, dem umgebenden Zytoplasma, dar. Dennoch muss ein intensiver und regulierter Stoffaustausch zwischen dem Zellkern und dem Zytoplasma stattfinden, denn Proteine, die im Zellkern zum Aufbau und zur Nutzung des Chro-

matins gebraucht werden, werden im Zytoplasma an Ribosomen synthetisiert. Ebenso müssen RNAs, aber auch ribosomale Untereinheiten aus dem Zellkern in das Zytoplasma transportiert werden. Kernporenkomplexe stellen für alle diese Transportvorgänge durch die Kernhülle die Schleusen dar. Sie erlauben die freie Diffusion von niedermolekularen Metaboliten und vermitteln gleichzeitig den kontrollierten Durchtritt von Proteinen und RNAs.

Kernporenkomplexe zeigen eine breite Spezifität für ihre Substrate und können gefaltete Proteine und extrem große Protein-RNA-Komplexe transportieren. Anders als Ionen-

kanäle oder Metabolittransporter in anderen Membranen, die hydrophile Kanäle in der hydrophoben Lipiddoppelschicht bilden, lösen Kernporenkomplexe ihre Transportaufgaben mithilfe einer alternativen Struktur: Sie sitzen an den Punkten, an denen äußere und innere Kernmembranen miteinander fusioniert sind, wodurch große wässrige Porenstrukturen entstehen, die durch Kernporenkomplexe ausgefüllt werden (**Abb. 1**).

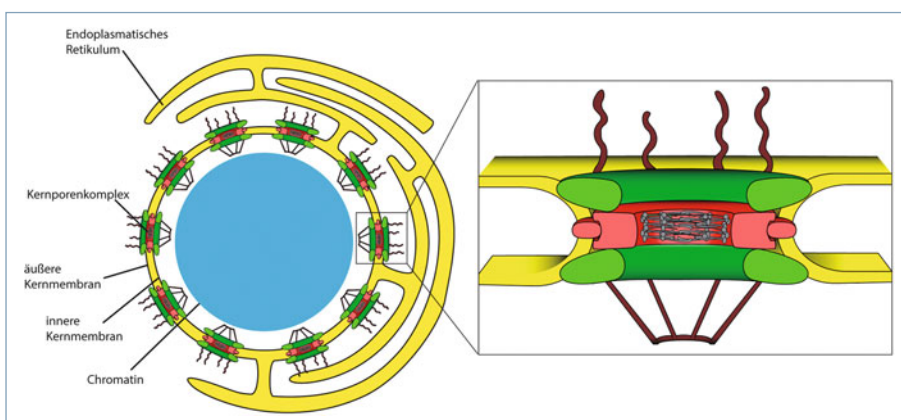
Struktur der Kernporen

Kernporenkomplexe gehören mit einer Masse von ca. 120 Megadalton in Vertebraten zu den größten Proteinkomplexen, die wir kennen. Trotz dieser enormen Größe sind sie aus nur 30 verschiedenen Proteinen – Nucleoporinen – aufgebaut, die allerdings aufgrund der achtfachen Symmetrie der Kernpore in Kopienzahlen von 8, 16, 32 oder mehr pro Pore vorkommen [1].

Strukturell besteht die Kernpore aus drei übereinanderliegenden Ringen: Der zytoplasmatische und der nukleoplasmatische Ring sind in ihrer Proteinzusammensetzung sehr ähnlich. Größtenteils werden sie aus je 16 Kopien eines Y-förmigen Unterkomplexes der Kernpore aufgebaut. Nucleoporine des inneren Rings, eingebettet zwischen zytoplasmatischem und nukleoplasmatischem Ring, interagieren mit Transmembranproteinen der Pore, aber auch direkt mit der umgebenden Porenmembran. Das Zentrum der Kernpore füllen Nucleoporine aus, die ein gelartiges Netzwerk bilden. Dieses stellt eine Diffusionsbarriere dar, die beim Proteinimport und -export lokal aufgelöst werden kann, sodass Proteine mithilfe von Transportrezeptoren passieren können. Acht zytoplasmatische Filamente und eine korbartige Struktur auf der nukleoplasmatischen Seite komplettieren die Kernpore und sind vor allem notwendig, um die Transportprozesse durch die Pore effizient zu gestalten.

Kernporenaufbau in Mitose und Interphase

Die Kernhülle trennt in der Interphase das Zellkerninnere vom Zytoplasma. Am Beginn der Mitose bricht die Kernhülle in den meisten tierischen Zellen zusammen, damit das



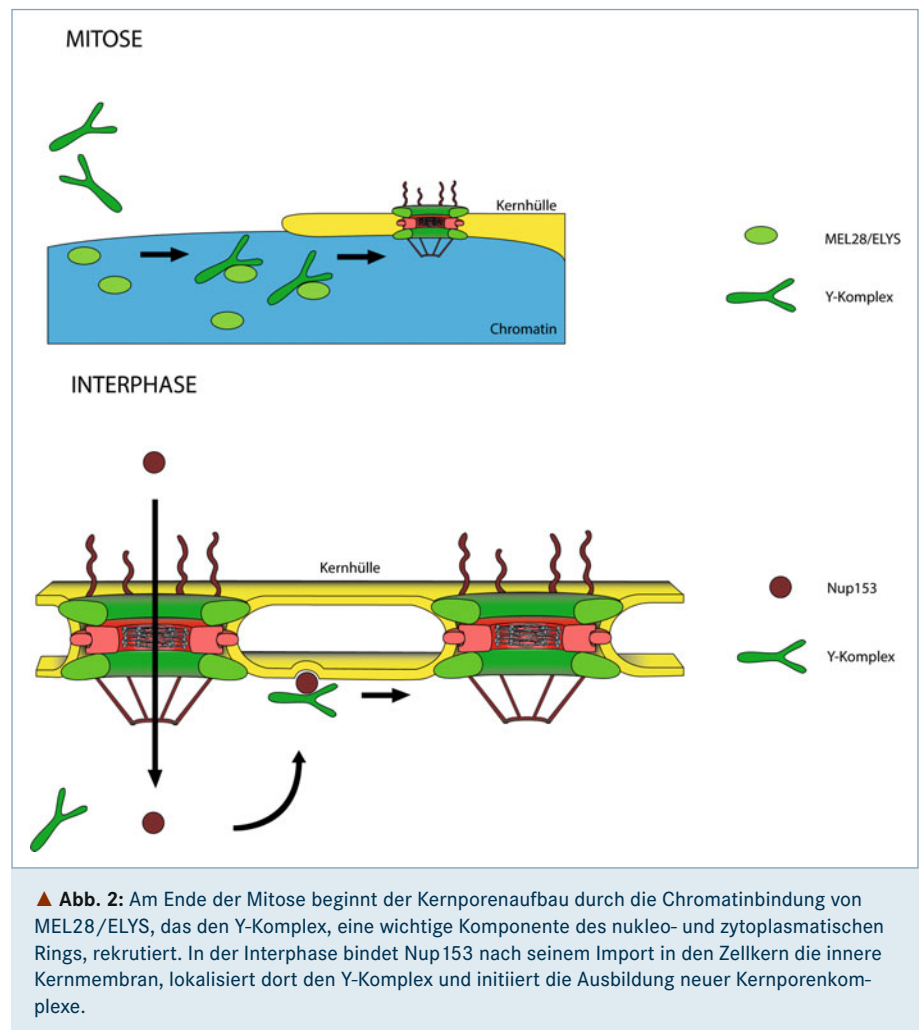
▲ **Abb. 1:** Das Chromatin ist in der Interphase von der Kernhülle umschlossen, die aus innerer und äußerer Kernmembran besteht und eine Subdomäne des endoplasmatischen Retikulums ist. Kernporenkomplexe vermitteln den Stoffaustausch zwischen Zytoplasma und Zellkerninnerem und sind aus drei übereinanderliegenden Ringen, zytoplasmatischen Filamenten und einer nukleoplasmatischen Korbstruktur aufgebaut.

Chromatin kondensiert und von der mitotischen Spindel auf die entstehenden Tochterzellen aufgeteilt werden kann. Am Ende der Mitose baut sich um das segregierte und dekondensierende Chromatin wieder eine Kernhülle mit Kernporenkomplexen auf.

Dieser mitotische Kernporenaufbau wird am Chromatin initiiert. Das Nukleoporin MEL28/ELYS bindet Chromatin und rekrutiert den Y-Komplex (**Abb. 2**, [2]). Durch Interaktion der sich aufbauenden Kernpore mit Transmembrannukleoporinen wird im nächsten Schritt die Verbindung zu den Kernmembranen etabliert. Im Folgenden baut sich der innere Ring schrittweise von der Porenmembran zum zentralen Kanal hin auf. Dann werden Nukleoporine rekrutiert, die den zentralen Kanal und das gelartige Netzwerk innerhalb der Pore bilden. Die zeitliche Abfolge der weiteren Schritte, wie der Aufbau des zytoplasmatischen Rings, der zytoplasmatischen Filamente und der nukleoplasmatischen Korbstruktur, wird weniger gut verstanden. Auch ist unklar, ob der Aufbau des nukleoplasmatischen Rings abgeschlossen sein muss, bevor sich innerer Ring und dann zytoplasmatischer Ring aufbauen, oder ob sich schon Teile der inneren Ringstruktur an den nukleoplasmatischen Ring anlagern, bevor dieser geschlossen ist.

Unser Wissen über den schrittweisen Aufbau der Kernpore beruht auf Untersuchungen an fixierten und lebenden Zellkulturen, mit denen man feststellen kann, wann welche Nukleoporine, auch relativ zueinander, am Chromatin zu finden sind. Zusätzlich kann ein zellfreies Testsystem aus Eiextrakten von *Xenopus laevis* verwendet werden (**Abb. 3**). Gibt man zu diesen Eiextrakten Chromatin hinzu, bildet sich an dessen Oberfläche selbstständig eine Kernhülle mit Kernporenkomplexen aus. Obwohl die Reaktion im Reagenzglas abläuft, entstehen so Zellkerne, die Proteine importieren und exportieren, aber auch ihre DNA replizieren können. Da die Reaktionen zellfrei ablaufen, kann man sie relativ einfach manipulieren, beispielsweise können einzelne Proteine mit spezifischen Antikörpern entfernt werden. So kann man im Falle des Kernporenaufbaus feststellen, welche Nukleoporine für den Prozess unbedingt notwendig sind, aber auch an welchem Punkt der Kernporenaufbau im Ablauf anhält, wenn ein bestimmtes Protein fehlt.

Auch während der gesamten Interphase werden Kernporenkomplexe neu aufgebaut und in die schon bestehende Kernhülle inte-

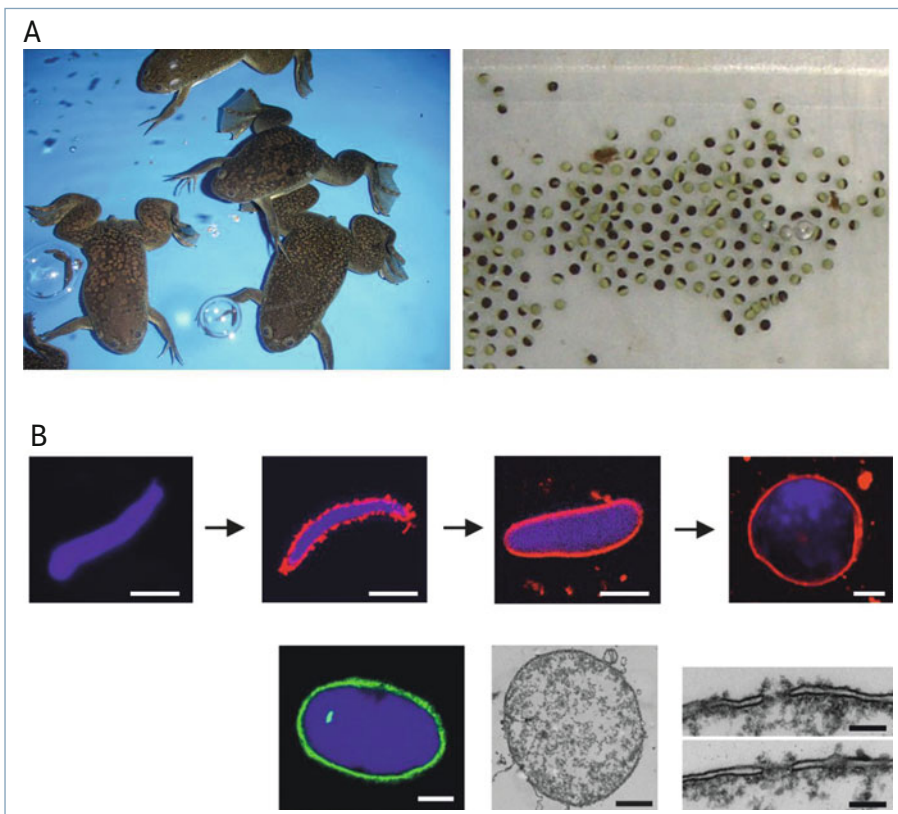


griert. In Organismen wie Hefen, bei denen die Kernhülle während der Mitose nicht zusammenbricht, ist dies die einzige Art des Kernporenaufbaus. Im Gegensatz zum Ende der Mitose, wenn Tausende von Kernporen innerhalb von zehn Minuten synchronisiert wieder aufgebaut werden, ist der Kernporenaufbau in der Interphase nur vereinzelt zu beobachten, und er läuft viel langsamer als in der Mitose ab. Deswegen ist es in Zellkultur-experimenten in der Interphase deutlich schwieriger, die Abfolge der Nukleoporinbindung zu analysieren, als am Ende der Mitose. Trotzdem wurden in den letzten Jahren, auch mithilfe von *Xenopus*-Eiextrakten, Erkenntnisse über den Kernporenaufbau in der Interphase gewonnen. Im Gegensatz zum Kernporenaufbau am Ende der Mitose, der ja am Chromatin mit MEL28/ELYS initiiert wird, beginnt der Prozess in der Interphase an der inneren Kernhülle (**Abb. 2**). Das Kernporenprotein Nup153 bindet mittels einer amphipathischen Helix, die in die Membranen eintauchen kann, an die innere Kernmembran

und rekrutiert den Y-Komplex [3]. Die nachfolgenden Schritte und vor allem, wie die Fusion der beiden Kernmembranen zu einer Pore vermittelt wird, werden noch wenig verstanden.

Erkrankungen durch Nukleoporinmutationen

Kernporenkomplexe sind in allen kernhaltigen Zellen notwendig, um den Stoffaustausch zwischen Zellkerninnerem und Zytoplasma zu gewährleisten, und damit lebensnotwendig. Deswegen überrascht es, dass bestimmte Mutationen in Kernporenproteinen sehr spezifische Krankheiten im Menschen hervorrufen: Mutationen im Kernporenprotein Aladin verursachen das Allgrove-Syndrom, das durch Funktionsverlust der Nebenniere, Schluckbeschwerden, defekte Bildung der Tränenflüssigkeit und neurologische Symptome gekennzeichnet ist. Eine Mutation im Kernporenprotein Nup155 verursacht Vorhofflimmern, eine Mutation in Nup62 Nekrosen in Gehirnarealen des Striatum. In allen diesen



▲ Abb. 3: Ein zellfreies Testsystem auf der Basis von Eiextrakten des Krallenfroschs *Xenopus laevis*. **A**, *Xenopus*-Frösche und ihre Eier. **B**, Durch DNA-Zugabe (blau gefärbt) zu den Eiextrakten werden Zellkerne im Reagenzglas gebildet. Membranen (rot) binden an die Chromatinoberfläche und verschmelzen zu einer Kernhülle mit Kernporenkomplexen (grün). Elektronenmikroskopisch ist die Kernhülle als schwarze Doppelmembran sichtbar, in die Kernporenkomplexe eingebettet sind. Maßstabsbalken: 10 µm bzw. 100 nm.

durch Fehlfunktionen in Kernporenproteinen verursacht werden. ■

Literatur

- [1] Beck M, Hurt E (2017) The nuclear pore complex: understanding its function through structural insight. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18:73–89
- [2] Franz C, Walczak R, Yavuz S et al. (2007) MEL-28/ELYS is required for the recruitment of nucleoporins to chromatin and postmitotic nuclear pore complex assembly. *EMBO Rep* 8:165–172
- [3] Vollmer B, Lorenz M, Moreno-Andres D et al. (2015) Nup153 recruits the Nup107-160 complex to the inner nuclear membrane for interphasic nuclear pore complex assembly. *Dev Cell* 33:717–728
- [4] Braun DA, Sadowski CE, Kohl S et al. (2016) Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 48:457–465

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Wolfram Antonin
 Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie
 Universitätsklinikum Aachen
 Pauwelsstraße 30
 D-52074 Aachen
 Tel.: 0241-80-88831
 Fax: 0241-80-82427
 wantonin@ukaachen.de
 www.molcellbiol.ukaachen.de

Fällen ist unklar, ob tatsächlich die Funktion der Kernporen betroffen ist oder ob die Kernporenproteine Aufgaben außerhalb der Kernpore erfüllen, die nur für bestimmte Zelltypen wichtig sind.

Eine kürzlich aufgedeckte Verbindung zwischen Nukleoporinen und dem steroidresistenten nephrotischen Syndrom, einer chronischen Nierenerkrankung bei Kindern aufgrund einer Fehlfunktion der Podozyten, die letztendlich zum Nierenversagen führt, wirft ein neues Bild auf die pathologische Bedeutung der Kernporenkomplexe [4]. Mutationen in einer ganzen Reihe von Nukleoporinen sind ursächlich für die Ausbildung der Erkrankung, sodass hier tatsächlich die Funktion der Kernpore betroffen sein könnte. In der Tat beeinträchtigen die Mutationen den Import von SMAD-Signalmolekülen, wichtige Transkriptionsfaktoren bei der Differenzierung von Podozyten. Es bleibt spannend, warum gerade dieser Zelltyp besonders betroffen ist, und natürlich stellt sich die generelle Frage, welche anderen Erkrankungen

AUTOREN



Wolfram Antonin

1992–1997 Biochemiestudium an der Universität Hannover. 1997–2001 Doktorarbeit am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen bei Prof. Dr. R. Jahn. 2002–2006 Postdoc am EMBL in Heidelberg bei Dr. I. Mattaj. 2006–2017 Max-Planck-Forschungsgruppenleiter am Friedrich-Miescher-Labor der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen. Seit 2017 Professor für Biochemie an der RWTH Aachen und Leiter des Instituts für Biochemie und Molekulare Zellbiologie.



Paola De Magistris

2006–2012 Bachelor- und Masterstudium Biologie und Molekularbiologie in Palermo und Parma, Italien, sowie Aberdeen, Schottland. 2014–2017 Doktorarbeit am Friedrich-Miescher-Labor der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen. Seit 2017 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie der RWTH Aachen.



Rabia Suluyayla

2008–2013 Studium der Molekularen Biologie und Genetik an der Bilkent Universität in Ankara, Türkei. 2013–2016 Masterarbeit am Izmir Institute of Technology, Türkei. Seit 2017 Doktorarbeit am Institut für Biochemie und Molekulare Zellbiologie der RWTH Aachen.