

# Les pores nucléaires : de la levure aux eucaryotes supérieurs

par Valérie Doye

UMR 144 CNRS, Institut Curie, Section de Recherche, 26, rue d'Ulm, 75248 Paris cedex 05

Reçu le 26 février 2002

## RÉSUMÉ

Dans les cellules eucaryotes, la totalité des échanges bidirectionnels entre le cytoplasme et le noyau s'effectue au niveau de structures macromoléculaires complexes ancrées dans l'enveloppe nucléaire, les pores nucléaires, dont l'architecture a été globalement conservée au cours de l'évolution de la levure aux vertébrés. Au cours de ces dernières années, de rapides progrès ont permis d'identifier la quasi-tota-

lité des constituants des pores nucléaires (les nucléoporines) chez la levure *S. cerevisiae* et, dans une moindre mesure, chez les Vertébrés. Malgré la faible homologie existant entre les nucléoporines de levure et de vertébrés, leur organisation en sous-complexes fonctionnels, et leur localisation au niveau des sous-structures des pores nucléaires ont été largement conservées au cours de l'évolution.

## SUMMARY Yeast and vertebrate nuclear pore complexes

In eukaryotes, bidirectional transport of macromolecules between the cytoplasm and the nucleus occurs through elaborate supramolecular structures embedded in the nuclear envelope, the nuclear pore complexes (NPCs), whose overall architecture has been evolutionary conserved from yeast to vertebrates. In recent years, fast progress in characterizing

the NPCs components (the nucleoporins or Nups) has been made in the yeast *S. cerevisiae*, and to a lesser extent in vertebrates. In addition, despite the low homology between most yeast and vertebrate nucleoporins, their organization and their topological mapping within the NPC substructures have been broadly conserved during evolution.

## 1. INTRODUCTION

L'acquisition de membranes et de compartiments intracellulaires est une des caractéristiques fondamentales des eucaryotes. En particulier, l'enveloppe nucléaire joue le rôle de barrière entre le métabolisme cytoplasmique et le métabolisme nucléaire. Cette enveloppe est formée de deux membranes, la membrane externe qui est en continuité avec la membrane du réticulum endoplasmique, et la membrane interne. Les bicouches lipidiques de ces deux membranes sont fusionnées au niveau de structures macromoléculaires complexes, les pores nucléaires (NPCs) qui contrôlent la totalité des échanges nucléocytoplasmiques.

sur l'observation au microscope électronique d'enveloppes nucléaires d'oocytes de Xénope qui peuvent être manuellement dissociées et contiennent de nombreux pores ( $5 \cdot 10^7$  pores par noyau). Les premières études, réalisées dans les années 1950-1960 ont mis en évidence les principales caractéristiques des NPCs, à savoir une symétrie octogonale, la présence de deux anneaux (un anneau cytoplasmique et un anneau nucléaire) étroitement interconnectés, d'une particule centrale obstruant le canal du pore, et de filaments émanant du pore nucléaire.

Par la suite, l'amélioration des techniques de microscopie électronique, et l'emploi de méthodes d'analyse d'image élaborées ont permis la reconstitution tri-dimensionnelle des NPC. Ces travaux ont notamment permis de caractériser l'organisation des pores nucléaires en sous-unités distinctes, étroitement interconnectées, de mettre en évidence la flexibilité des structures dites « en rayon », et de visualiser la particule centrale ou transporteur, ainsi que des structures lumineuses qui pourraient être responsables de l'ancrage des pores au sein de l'enveloppe nucléaire (Akey & Radermacher, 1993 ; Hinshaw *et al.*, 1992 ; Kiseleva *et al.*, 1998).

## 2. ORGANISATION STRUCTURALE DES PORES NUCLÉAIRES

L'organisation ultrastructurale des pores nucléaires a été l'objet de nombreuses études, principalement basées

Par ailleurs, la microscopie électronique à balayage a permis de préciser la structure des filaments cytoplasmiques et nucléaires, responsables de l'asymétrie relative au plan de l'enveloppe nucléaire des NPCs. Sur la face nucléaire, huit filaments de 5 à 10 nm de diamètre émergent du NPC pour se fixer sur un anneau distal de 30 à 50 nm de diamètre, formant une structure dite « en panier » (Goldberg & Allen, 1993). Un rôle actif de ces filaments dans le transport a été proposée. En particulier, des réorganisations structurales de la structure « en panier » ont pu être mises en évidence lors de l'export de particules ribonucléoprotéiques (RNP) (Kiseleva *et al.*, 1996).

La symétrie d'ordre huit et la plupart des caractéristiques des pores nucléaires, observées chez les eucaryotes supérieurs, sont conservées chez *S. cerevisiae*, bien que les NPCs soient de taille plus petite chez la levure (leur masse ayant été estimée à 66 MDa par comparaison à celle des vertébrés, estimée à 125 MDa). Récemment, des travaux basés sur l'analyse d'images obtenues à partir de fractions enrichies en pores nucléaires de levure ont permis d'affiner les données relatives à la structure tri-dimensionnelle des pores nucléaires de levure, et de comparer cette structure à celle des NPCs de vertébrés (Yang *et al.*, 1998). Cette comparaison a mis en évidence la conservation des diamètres du canal et de la particule centrale, ce qui suggère un rôle important de ces structures dans le transport nucléocytoplasmique. Par contre, les divergences importantes au niveau d'autres sous-structures des NPCs pourraient être corrélées avec l'absence de certains mécanismes de régulation du transport nucléaire ou de la lamina chez les levures, ou au maintien de l'intégrité de l'enveloppe et des pores nucléaires en mitose chez cet organisme. En plus de cette architecture centrale, une structure filamenteuse associée à des fractions de NPCs et ressemblant aux structures en panier des eucaryotes supérieurs, ainsi que des filaments cytosoliques ont été observées chez *S. cerevisiae* (Allen & Douglas, 1989; Fahrenkrog *et al.*, 1998; Rout & Blobel, 1993).

### 3. LES COMPOSANTS DES PORES NUCLÉAIRES : LES NUCLÉOPORINES

La combinaison d'approches biochimiques, immunologiques, et génétiques a permis d'identifier chez *S. cerevisiae* une trentaine de protéines associées au pore nucléaire (voir tableau I; pour revue, voir Vasu & Forbes, 2001). Au cours des dernières années, ces travaux ont été facilités par le séquençage de la totalité du génome de *S. cerevisiae*. Chez les eucaryotes supérieurs, l'absence d'approche génétique a rendu les progrès moins rapides. A ce jour, une vingtaine de nucléoporines de vertébrés a cependant été identifiée (tableau I; pour revue, voir Vasu & Forbes, 2001; voir aussi Belgareh *et al.*, 2001). Bien que ce nombre puisse sembler faible au vu de la taille des pores nucléaires, il faut prendre en considération l'importante symétrie des pores nucléaires. Ainsi, on peut estimer que la plupart des nucléoporines sont présentes au moins en 8 ou 16 copies par pore, suivant qu'elles sont localisées ou non sur les deux faces des pores nucléaires.

La comparaison des données de séquence a permis de mettre en évidence une homologie faible mais significative (de l'ordre de 20 à 30 % sur la totalité de la séquence) entre certaines nucléoporines identifiées chez *S. cerevisiae* et chez les Mammifères (voir tableau I). On observe également chez *S. cerevisiae* des nucléoporines de séquences

TABLEAU I. – Les nucléoporines identifiées chez la levure *S. cerevisiae* et chez les vertébrés sont indiquées. La nomenclature employée indique généralement le poids moléculaire théorique des nucléoporines (PomXX, NupXX, NicXX). Dans le cas contraire, celui-ci est indiqué entre parenthèses. Sur une même ligne sont représentés les homologues potentiels entre nucléoporines de levure et de vertébrés. Dans certains cas (notés par des crochets) une seule protéine a été identifiée chez les vertébrés alors que deux ou trois nucléoporines proches existent chez la levure. Les complexes entre nucléoporines identifiées sont en grisé.

<i>S. cerevisiae</i>	Vertébrés	Motifs
<b>Protéines transmembranaires</b>		
Pom152	-	-
Pom34	-	-
Ndc1 (74 kDa)	-	-
-	gp210	-
-	Pom121	FXFG
<b>Protéines localisées sur les deux faces des pores</b>		
Nsp1 (86 kDa)	p62	FXFG, coiled-coil
Nup57	p58	GLFG, FG, coiled-coil
Nup49	p54	GLFG, FG coiled-coil
	p47	FG, coiled-coil
Nic96	Nup93	coiled-coil
Nup192	Nup205	-
Nup188	Nup188	-
Nup157	Nup155	-
Nup170		-
Nup59		-
Nup53	EST dans les Bases de données	FG
Nup84	Nup107	coiled-coil
Nup133	Nup133	-
Nup120	Nup120/Nup160	-
Nup145-C	Nup96	-
Sec13 (33kDa)	Sec13	-
Nup85	-	-
Sch1 (39 kDa)	EST	-
<b>Protéines localisées du côté nucléaire des pores (panier)</b>		
Nup1 (113 kDa)	-	FG
Nup60	-	FG
-	Nup153	FXFG, Doigts de zinc
-	Nup50	FG
Mlp1 (218 kDa)	Tpr (265 kDa)	coiled-coil
Mlp2 (195 kDa)		
<b>Protéines localisées au niveau des filaments cytoplasmiques</b>		
-	Nup358/RanBP2	RanBD, FXFG, coiled coil, doigts de zinc,
Nup159	CAN/Nup214	FXFG, coiled-coil
Nup82	Nup88(84)	coiled-coil
<b>Localisation controversée ou divergente entre la levure et les vertébrés</b>		
Gle2 (40 kDa)	Gle2/Rae1 (41 kDa)	-
Nup116	Nup98	GLFG, GLEBS
Nup145-N		
Nup100		GLFG
Gle1 (62 kDa)	Gle1 (75 kDa)	-
Nup42/Rip1	hCG1	FG

très proches entre-elles (ScNup157/ScNup157 ; ScNup59/ScNup53 ; ScMlp1/ScMlp2), et probablement issues de la duplication d'un gène ancestral, alors qu'une seule nucléoporine correspondante a été identifiée chez les vertébrés. Cependant, la divergence importante entre les séquences primaires de ces nucléoporines fait qu'une complémentarité fonctionnelle inter-spécifique n'a été observée que dans le cas de Nup155 humain qui peut compléter un mutant de *nup170* (Aitchison *et al.*, 1995).

Il est surprenant de noter qu'aucune des protéines transmembranaires de levures (ScPom152, ScPom34, et ScNdc1p), qui sont supposées ancrer le pore nucléaire à l'enveloppe, ne présente d'homologues chez les eucaryotes supérieurs. Réciproquement aucun homologue levure n'a été identifié pour les protéines transmembranaires gp210 et Pom121 de vertébrés, et ceci bien que tout le génome de *S. cerevisiae* ait été séquencé. Ce résultat est à mettre en rapport avec l'absence de certaines structures lumineuses au niveau des NPC de levure (Yang *et al.*, 1998). Il reflète vraisemblablement une différence dans le système d'ancrage des pores nucléaires. Par contre, la présence de ScNdc1, une protéine initialement caractérisée comme composant impliqué dans la duplication du SPB (Spindle Pole Body, équivalent du centrosome chez les levures) pourrait refléter un mécanisme commun d'ancrage des pores nucléaires et des SPBs dans l'enveloppe nucléaire chez la levure (Chial *et al.*, 1998).

Presque la moitié des nucléoporines identifiées ce jour présentent des motifs répétés de type FG (Phénylalanine, Glycine). Elles se caractérisent par la présence d'au moins un domaine contenant de multiples répétitions de type FXGF, GLFG, ou FG, séparées par des séquences polaires. Le rôle de ces nucléoporines dans le transport a été particulièrement étudié. Il a ainsi été montré que les domaines FG correspondaient à des sites d'interaction pour les facteurs de transport solubles (nommés "importines/exportines" ou "karyophérines") associés à leurs substrats spécifiques (pour revue, voir Mattaj & Englmeier, 1998). La localisation des nucléoporines contenant ce type de motifs à différents niveaux du NPC (filaments cytoplasmiques, transporteur, panier nucléaire, voir tableau 1), et leur affinité variable pour différents types de facteurs de transport, ont conduit à différents modèles théoriques du transport nucléocytoplasmique, impliquant la « diffusion facilitée » des complexes d'import (Ribbeck & Gorlich, 2001 ; Rout *et al.*, 2000).

#### 4. ASSOCIATION DES NUCLÉOPORINES EN SOUS-COMPLEXES FONCTIONNELS DU NPC

L'organisation des nucléoporines en sous-complexes du pore nucléaire constitue un élément structural important permettant de lier organisation structurale et fonctions du NPC. Ces sous-complexes, caractérisés d'un point de vue biochimique et fonctionnel chez la levure, sont pour la plupart conservés chez les vertébrés (voir tableau 1). Chez les vertébrés, ces sous-complexes correspondent à des entités qui persistent dans le cytoplasme

mitotique et se réassocient de façon séquentielle lors de la reformation de l'enveloppe et des pores nucléaires en fin de mitose (Bodoor *et al.*, 1999 ; Goldberg *et al.*, 1997). Des nouveaux pores nucléaires sont également assemblés pendant la phase S, au cours de laquelle le nombre de pores nucléaires double chez les vertébrés. La plupart de ces complexes a pu être localisée de façon plus ou moins précise, au niveau des sous-structures du pore nucléaire (pour revue voir Vasu & Forbes, 2001). Il est cependant important de noter que des résultats contradictoires ont fréquemment été rapportés (voir par exemple Belgareh *et al.*, 2001 ; Vasu *et al.*, 2001). Ces divergences résultent vraisemblablement de problèmes d'accessibilité des épitopes aux différents anticorps utilisés, et des diverses techniques de localisation employées.

#### Complexes ScNsp1 de levure et p62 de vertébrés

p62, l'homologue vertébré de ScNsp1, a été purifiée sur colonnes WGA en complexe avec trois autres protéines présentant également des motifs répétés de type FXFG, p58, p54 et p47, p58 et p47 étant issues de l'épissage alternatif du produit d'un même gène (Guan *et al.*, 1995 ; Hu & Gerace, 1998 ; Kita *et al.*, 1993). Le poids moléculaire de ce complexe a été estimé à 230 kDa, ce qui correspond à une copie de chaque nucléoporine. De même, des expériences de chromatographie d'affinité, employant le domaine carboxy-terminal de ScNsp1 (Cter-ScNsp1) étiqueté avec deux domaines de liaison aux IgG de la protéine-A de *Staphylococcus aureus*, ont permis de purifier, en association avec ScNsp1, deux nucléoporines présentant des motifs répétés de type GLFG, ScNup49 et ScNup57, ainsi que ScNic96 (Nucleoporin interacting component of 96 kDa) (Grandi *et al.*, 1993). Un certain nombre de données indiquent que p58 et p54 pourraient être les homologues de ScNup57p et ScNup49p respectivement (pour revue, voir Doye & Hurt, 1997). Par ailleurs, une interaction entre les nucléoporines Nup93 et p62 de vertébrés a également été observée (Grandi *et al.*, 1997). Une caractéristique commune entre les complexes identifiés chez la levure et chez le Rat est la stabilité des interactions entre ses constituants, qui mettent en jeu les domaines de type coiled-coil (hélice super-enroulées) présents dans ces nucléoporines. Des expériences *in vitro* ont de plus montré que les protéines Cter-ScNsp1, ScNup49 et ScNup57 exprimées chez *E. Coli* sont capables de s'assembler spontanément et de former une particule de 150 kDa dans laquelle chaque nucléoporine est présente en une seule copie (Schlaich *et al.*, 1997).

Les complexes ScNsp1 et p62 ont été localisés sur les faces cytoplasmiques et nucléaires du transporteur central (Fahrenkrog *et al.*, 1998 ; Grote *et al.*, 1995 ; Guan *et al.*, 1995). ScNsp1 et p62 étant impliquées dans l'import des protéines contenant des NLS, leur présence au niveau du transporteur correspond à un emplacement stratégique pour pouvoir diriger des protéines en import vers l'intérieur du transporteur puis vers le noyau (Guan *et al.*, 1995 ; Mutvei *et al.*, 1992 ; Nehrbass *et al.*, 1993). Il a également été proposé que ScNsp1 et p62 soient des

nucléoporines mobiles au sein des NPCs (Fahrenkrog *et al.*, 1998).

En plus de ce sous-complexe, une fraction de ScNsp1 a été trouvée en interaction avec ScNup82 et ScNup159, deux nucléoporines localisées au niveau des filaments cytoplasmiques des pores nucléaires et impliquées dans l'export des ARN messagers (Belgareh *et al.*, 1998; Grandi *et al.*, 1995; Hurwitz & Blobel, 1995; Hurwitz *et al.*, 1998). De plus, une interaction entre ScNup159 et CAN/Nup214, avec Dbp5, une hélicase impliquée dans l'export des ARN messagers a pu être démontrée (Hodge *et al.*, 1999; Schmitt *et al.*, 1999). Enfin, il a également été montré que ScNup116 interagit avec ScGle2 par l'intermédiaire d'un domaine « GLEBS » (Gle2-binding Sequence), mais s'associe également au complexe ScNup82-ScNsp1-ScNup159 (Bailer *et al.*, 2000; Ho *et al.*, 2000). En accord avec ce résultat, il a été montré que ScNup116 a une localisation symétrique, mais biaisée, cette nucléoporine étant plus abondante du côté cytoplasmique des pores nucléaires (Bailer *et al.*, 2000; Rout *et al.*, 2000). De façon surprenante, Nup98 de vertébré, bien qu'interagissant également avec Gle2/Rae1, a été localisée spécifiquement sur la face nucléaire des pores (Radu *et al.*, 1995).

### Complexes ScNup84 et Nup107

Un autre sous-complexe du pore nucléaire particulièrement caractérisé est le complexe ScNup84, qui contient les nucléoporines ScNup120, le domaine carboxy-terminal de ScNup145 (ScNup145-C), ScNup84, ScNup85, une fraction de ScSec13p (une protéine également impliquée dans le complexe COPII, mise en jeu dans le transport des vésicules du réticulum vers le golgi), et ScSeh1 (sec13 homologue 1) (Siniosoglou *et al.*, 1996). Par la suite, une interaction entre les nucléoporines ScNup84 et ScNup133 a pu être montrée (Belgareh *et al.*, 2001; Lutzmann *et al.*, 2002). L'analyse structurale de ce complexe, ainsi que sa reconstitution *in vitro* ont récemment permis de mettre en évidence sa structure en forme de Y (Lutzmann *et al.*, 2002; Siniosoglou *et al.*, 2000).

Parmi les constituants de ce complexe, ScNup145-C présente la spécificité d'être clivée *in vivo*, par un processus d'autoprotéolyse, ce qui génère deux protéines, Nup145-N et Nup145-C (Teixeira *et al.*, 1997). Ce processus de maturation a été conservé au cours de l'évolution. Chez les eucaryotes supérieurs, différents précurseurs provenant d'un épissage alternatif permettent de générer, après autoprotéolyse, soit uniquement Nup98 (homologue de ScNup145-N) soit Nup98 et Nup96 (homologue de ScNup145-C) (Fontoura *et al.*, 1999; Rosenblum & Blobel, 1999).

L'étude de Nup96 a permis d'isoler un complexe biochimique contenant Nup96, Nup107, l'homologue vertébré de ScNup84 et au moins deux protéines homologues de ScSec13 (Fontoura *et al.*, 1999). Par la suite, il a pu être montré que Nup107 et Nup96 interagissaient également avec les nucléoporines de vertébrés Nup133 et Nup120 (également nommée Nup160 du fait de son poids moléculaire) (Belgareh *et al.*, 2001; Vasu *et al.*, 2001).

Des expériences d'immunofluorescence, réalisées sur cellules perméabilisées à la digitonine, et de microscopie électronique ont permis de montrer que, de même que leurs homologues chez *S. cerevisiae* (Rout *et al.*, 2000), hNup133 et hNup107 sont localisées sur les deux faces du pore nucléaire (Belgareh *et al.*, 2001). Par ailleurs, des expériences de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) ont permis de suivre la dynamique de ces nucléoporines au sein de pores nucléaires déjà formés, et de mettre en évidence que ces protéines sont des composants stables des NPCs (Belgareh *et al.*, 2001).

Du point de vue fonctionnel, il a été montré chez *S. cerevisiae* que des délétions ou des mutations dans les gènes *NUP84*, *NUP85*, *NUP120* ou *NUP145* conduisent à un phénotype de thermosensibilité accompagné d'une accumulation des ARNm à 37°C ainsi qu'à un défaut constitutif de distribution des pores nucléaires qui sont agrégés à 24°C et à 37°C (pour revue, voir (Doye & Hurt, 1997). Chez les vertébrés, la surexpression de certains fragments de Nup133 ou Nup120/Nup160 bloque l'export des ARN poly(A)<sup>+</sup> mais n'affecte pas le transport des protéines (Vasu *et al.*, 2001). Le rôle de ces protéines de vertébrés dans l'ancrage et la distribution des pores nucléaires n'a pas été suivi jusqu'à présent. Il faut cependant noter que, contrairement aux pores nucléaires de levures qui sont capables de diffuser au sein de l'enveloppe nucléaire (Belgareh & Doye, 1997; Bucci & Went, 1997), les pores nucléaires de vertébrés sont stablement ancrés dans l'enveloppe nucléaire (Daigle *et al.*, 2001).

De façon surprenante, il a été montré qu'une fraction des nucléoporines hNup133 et hNup107 s'associe aux kinétochores au cours de la mitose (Belgareh *et al.*, 2001). Parallèlement à ces travaux, Mad1 et Mad2, deux protéines du checkpoint mitotique, ont été localisées aux pores nucléaires des noyaux interphasiques (Campbell *et al.*, 2001). De plus, la protéine hRae1 qui interagit avec Nup98, interagit également avec la protéine de checkpoint mBub1 et est localisée aux kinétochores en prometaphase (Wang *et al.*, 2001). Enfin, il a récemment été démontré qu'une mutation de la nucléoporine Nup170 de *S. cerevisiae* affecte la transmission des chromosomes et l'intégrité des kinétochores chez cet organisme (Kerscher *et al.*, 2001). La localisation d'un sous-ensemble de protéine à la fois aux pores nucléaires et aux kinétochores pourrait donc constituer un aspect important et jusqu'à présent négligé du transport nucléocytoplasmique ou de la division cellulaire.

## 5. CONCLUSIONS

En dépit de la taille et de la complexité des pores nucléaires, de nombreuses données ont été obtenues au cours de ces dernières années concernant l'organisation structurale et la composition protéique des NPCs chez la levure et les vertébrés. Ces études ont permis de définir une structure « minimale » des NPCs, qui pourrait correspondre à celle des pores nucléaires de levure, et une structure plus complexe et de masse plus importante chez les vertébrés. La localisation plus précise des nucléopo-

rines ou des complexes identifiés au niveau des sous-domaines caractérisés d'un point de vue structural et la définition des interactions entre les différents sous-complexes s'avère maintenant nécessaire pour obtenir une image structurale plus fine des pores nucléaires, qui devrait permettre d'appréhender la fonction de ces assemblages complexes.

Par ailleurs, ces études ont également montré qu'un certain nombre de nucléoporines sont également localisées au niveau d'autres structures cellulaires (SPB, complexe COPII, kinétochores). Ces doubles localisations pourraient refléter des mécanismes ou des régulations communes entre certaines fonctions des pores et d'autres fonctions cellulaires. Ainsi, la mise en évidence de l'implication des nucléoporines ScMlp1 et ScMlp2 dans la régulation de l'architecture et de certaines fonctions nucléaires (Galy *et al.*, 2000) montre bien que le rôle des pores nucléaires dépasse le simple cadre du transport nucléocytoplasmique.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aitchison J.D., Rout M.P., Marelli M., Blobel G. & Wozniak R.W., Two novel related yeast nucleoporins Nup170p and Nup157p: complementation with the vertebrate homologue Nup155p and functional interactions with the yeast nuclear pore-membrane protein Pom152p. *J. Cell Biol.*, 1995, *131*, 1133-48.
- Akey C.W. & Radermacher M., Architecture of the *Xenopus* nuclear pore complex revealed by three-dimensional cryo-electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 1993, *122*, 1-19.
- Allen J.L. & Douglas M.G., Organization of the Nuclear Pore Complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ultrastruct. Molec. Struct. Res.*, 1989, *102*, 95-108.
- Bailer S.M., Balduf C., Katahira J., Podtelejnikov A., Rollenhagen C., Mann M., Pante N. & Hurt E., Nup116p associates with the Nup82p-Nsp1p-Nup159p nucleoporin complex. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, *275*, 23540-8.
- Belgareh N. & Doye V., Dynamics of nuclear pore distribution in nucleoporin mutant yeast cells. *J. Cell Biol.*, 1997, *136*, 747-759.
- Belgareh N., Rabut G., Bai S.W., van Overbeek M., Beaudouin J., Daigle N., Zatssepina O.V., Pasteau F., Labas V., Fromont-Racine M., Ellenberg J. & Doye V., An evolutionarily conserved NPC subcomplex, which redistributes in part to kinetochores in mammalian cells. *J. Cell Biol.*, 2001, *154*, 1147-1160.
- Belgareh N., Snay-Hodge C., Pasteau F., Dagher S., Cole C.N. & Doye V., Functional characterization of a Nup159p-containing nuclear pore subcomplex. *Mol. Biol. Cell*, 1998, *9*, 3475-3492.
- Bodoor K., Shaikh S., Salina D., Raharjo W.H., Bastos R., Lohka M. & Burke B., Sequential recruitment of NPC proteins to the nuclear periphery at the end of mitosis. *J. Cell Sci.*, 1999, *112*, 2253-2264.
- Bucci M. & Wente S.R., In vivo dynamics of nuclear pore complexes in yeast. *J. Cell Biol.*, 1997, *136*, 1185-1199.
- Campbell M., Chan G. & Yen T., Mitotic checkpoint proteins HsMAD1 and HsMAD2 are associated with nuclear pore complexes in interphase. *J. Cell Sci.*, 2001, *114*, 953-963.
- Chial H., Rout M., Giddings T. & Winey M., *Saccharomyces cerevisiae* Ndc1p Is a Shared Component of Nuclear Pore Complexes and Spindle Pole Bodies. *J. Cell. Biol.*, 1998, *143*, 1789-1800.
- Daigle N., Beaudouin J., Hartnell L., Imreh G., Hallberg E., Lippincott-Schwartz J. & Ellenberg J., Nuclear pore complexes form immobile networks and have a very low turnover in live mammalian cells. *J. Cell Biol.*, 2001, *154*, 71-84.
- Doye V. & Hurt E., From nucleoporins to nuclear pore complexes. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1997, *9*, 401-411.
- Fahrenkrog B., Hurt E.C., Aebi U. & Pantè N., Molecular architecture of the yeast nuclear pore complex: localization of nsp1p subcomplexes. *J. Cell Biol.*, 1998, *143*, 577-588.
- Fontoura B.M., Blobel G. & Matunis M.J., A Conserved Biogenesis Pathway for Nucleoporins: Proteolytic Processing of a 186-Kilodalton Precursor Generates Nup98 and the Novel Nucleoporin, Nup96. *J. Cell Biol.*, 1999, *144*, 1097-1112.
- Galy V., Olivo-Marin J.C., Scherthan H., Doye V., Rascalou N. & Nehrbass U., Nuclear pore complexes in the organization of silent telomeric chromatin. *Nature*, 2000, *403*, 108-112.
- Goldberg M.W. & Allen T.D., The nuclear pore complex: Three-dimensional surface structure revealed by field emission, in-lens scanning electron microscopy, with underlying structure uncovered by proteolysis. *J. Cell Sci.*, 1993, *106*, 261-274.
- Goldberg M.W., Wiese C., Allen T.D. & Wilson K.L., Dimples, pores, star-rings, and thin rings on growing nuclear envelopes: evidence for structural intermediates in nuclear pore complex assembly. *J. Cell Sci.*, 1997, *110*, 409-420.
- Grandi P., Dang T., Pane N., Shevchenko A., Mann M., Forbes D. & Hurt E., Nup93, a vertebrate homologue of yeast Nic96p, forms a complex with a novel 205-kDa protein and is required for correct nuclear pore assembly. *Mol. Biol. Cell*, 1997, *8*, 2017-2038.
- Grandi P., Doye V. & Hurt E.C., Purification of NSP1 reveals complex formation with 'GLFG' nucleoporins and a novel nuclear pore protein NIC96. *EMBO J.*, 1993, *12*, 3061-3071.
- Grandi P., Emig S., Weise C., Hucho F., Pohl T. & Hurt E.C., A novel nuclear pore protein Nup82p which specifically binds to a fraction of Nsp1p. *J. Cell Biol.*, 1995, *130*, 1263-1273.
- Grote M., Kubitscheck U., Reichelt R. & Peters R., Mapping of nucleoporins to the center of the nuclear pore complex by post-embedding immunogold electron microscopy. *J. Cell Sci.*, 1995, *108*, 2963-2972.
- Guan T., Muller S., Klier G., Pantè N., Blevitt J.M., Haner M., Paschal B., Aebi U. & Gerace L., Structural analysis of the p62 complex, an assembly of O-linked glycoproteins that localizes near the central gated channel of the nuclear pore complex. *Mol. Biol. Cell*, 1995, *6*, 1591-603.
- Hinshaw J.E., Carragher B.O. & Milligan R.A., Architecture and design of the nuclear pore complex. *Cell*, 1992, *69*, 1133-1141.
- Ho A.K., Shen T.X., Ryan K.J., Kiseleva E., Levy M.A., Allen T.D. & Wente S.R., Assembly and preferential localization of Nup116p on the cytoplasmic face of the nuclear pore complex by interaction with Nup82p. *Mol. Cell Biol.*, 2000, *20*, 5736-48.
- Hodge C.A., Colot H.V., Stafford P. & Cole C.N., Rat8p/Dbp5p is a shuttling transport factor that interacts with Rat7p/Nup159p and Gle1p and suppresses the mRNA export defect of xpo1-1 cells. *EMBO J.*, 1999, *18*, 5778-88.
- Hu T. & Gerace L., cDNA cloning and analysis of the expression of nucleoporin p45. *Gene*, 1998, *221*, 245-53.
- Hurwitz M.E. & Blobel G., NUP82 is an essential yeast nucleoporin required for poly(A)<sup>+</sup> RNA export. *J. Cell Biol.*, 1995, *130*, 1275-1281.
- Hurwitz M.E., Strambiodi-Castillia C. & Blobel G., Two yeast nuclear pore complex proteins involved in mRNA export form a cytoplasmically oriented subcomplex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, *95*, 11241-11245.

- Kerscher O., Hieter P., Winey M. & Basrai M.A., Novel role for a *Saccharomyces cerevisiae* nucleoporin, Nup170p, in chromosome segregation. *Genetics*, 2001, 157, 1543-1553.
- Kiseleva E., Goldberg M.W., Allen T.D. & Akey C.W., Active nuclear pore complexes in *Chironomus*: visualization of transporter configurations related to mRNP export. *J. Cell Sci.*, 1998, 111, 223-236.
- Kiseleva E., Goldberg M.W., Daneholt B. & Allen T.D., RNP export is mediated by structural reorganization of the nuclear pore basket. *J. Mol. Biol.*, 1996, 260, 304-311.
- Kita K., Omata S. & Horigome T., Purification and characterization of a nuclear pore glycoprotein complex containing p62. *J. Biochem. (Tokyo)*, 1993, 113, 377-382.
- Lutzmann M., Kunze R., Buerer A., Aebi U. & Hurt E., Modular self-assembly of a Y-shaped multiprotein complex from seven nucleoporins. *EMBO J.*, 2002, 21, 387-397.
- Mattaj J.W. & Englmeier L., Nucleocytoplasmic transport: the soluble phase. *Ann. Rev. Biochem.*, 1998, 67, 265-306.
- Mutvei A., Dihlmann S., Herth W. & Hurt E.C., NSP1 depletion in yeast affects nuclear pore formation and nuclear accumulation. *Eur. J. Cell Biol.*, 1992, 59, 280-295.
- Nehrbass U., Fabre E., Dihlmann S., Herth W. & Hurt E.C., Analysis of nucleo-cytoplasmic transport in a thermosensitive mutant of the nuclear pore protein NSP1. *Eur. J. Cell Biol.*, 1993, 62, 1-12.
- Radu A., Moore M.S. & Blobel G., The peptide repeat domain of nucleoporin Nup98 functions as a docking site in transport across the nuclear pore complex. *Cell*, 1995, 81, 215-222.
- Ribbeck K. & Gorlich D., Kinetic analysis of translocation through nuclear pore complexes. *EMBO J.*, 2001, 20, 1320-1330.
- Rosenblum J.S. & Blobel G., Autoproteolysis in nucleoporin biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1999, 96, 11370-11375.
- Rout M.P., Aitchison J.D., Suprapto A., Hjertaas K., Zhao Y. & Chait B.T., The yeast Nuclear Pore Complex: Composition, Architecture, and Transport Mechanism. *J. Cell Biol.*, 2000, 148, 635-651.
- Rout M.P. & Blobel G., Isolation of the yeast nuclear pore complex. *J. Cell Biol.*, 1993, 123, 771-783.
- Schlauch N.L., Häner M., Lustig A., Aebi U. & Hurt E.C., In vitro reconstitution of a heterotrimeric nucleoporin complex consisting of recombinant Nsp1p, Nup49p and Nup57p. *Mol Biol Cell*, 1997, 8, 33-46.
- Schmitt C., von Kobbe C., Bachi A., Pant N., Rodrigues J.P., Boscheron C., Rigaut G., Wilm M., B S.r., Carmo-Fonseca M. & Izauralde E., Dbp5, a DEAD-box protein required for mRNA export, is recruited to the cytoplasmic fibrils of nuclear pore complex via a conserved interaction with CAN/Nup159p. *Embo J*, 1999, 18, 4332-4347.
- Siniosoglou S., Lutzmann M., Santos-Rosa H., Leonard K., Mueller S., Aebi U. & Hurt E., Structure and assembly of the Nup84p complex. *J. Cell Biol.*, 2000, 149, 41-54.
- Siniosoglou S., Wimmer C., Rieger M., Doye V., Tekotte H., Weise C., Emig S., Segref A. & Hurt E.C., A novel complex of nucleoporins, which includes Sec13p and a Sec13p homolog, is essential for normal nuclear pores. *Cell.*, 1996, 84, 265-275.
- Teixeira M.T., Siniosoglou S., Podtelejnikov S., Benichou J.C., Mann M., Dujon B., Hurt E. & Fabre E., Two functionally distinct domains generated by in vivo cleavage of Nup145p: a novel biogenesis pathway for nucleoporins. *EMBO J*, 1997, 16, 5086-5097.
- Vasu S., Shah S., Orjalo A., Park M., Fischer W.H. & Forbes D.J., Novel vertebrate nucleoporins Nup133 and Nup160 play a role in mRNA export. *J. Cell Biol.*, 2001, 155, 339-354.
- Vasu S.K. & Forbes D.J., Nuclear pores and nuclear assembly. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2001, 13, 363-375.
- Wang X., Babu J.R., Harden J.M., Jablonski S.A., Gazi M.H., Lingle W.L., de Groen P.C., Yen T.J. & van Deursen J.M., The mitotic checkpoint protein hBUB3 and the mRNA export factor hRAE1 interact with GLEBS-containing proteins. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 26559-26567.
- Yang Q., Rout M.P. & Akey C.W., Three-dimensional architecture of the isolated yeast nuclear pore complex: Functional and evolutionary implications. *Mol Cell*, 1998, 1, 223-234.

