

Importin的结构与功能研究进展

郭建林¹ 徐存拴^{1,2*}

¹河南省-科技部共建细胞分化调控国建重点实验室培育基地, 新乡 453007;

²河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007)

摘要 输入蛋白(importin)是一类广泛分布于真核生物、相对保守的, 将胞质内的转录因子、剪接因子、核糖体蛋白和病毒衣壳蛋白等通过核孔复合体运输到核内的蛋白。Importin由 α 和 β 两个亚基构成, 每个亚基又包含多个成员。研究表明, importin与再生、肿瘤、阿尔茨海默病、口蹄疫等疾病及其他疾病的发生紧密相关。该文就importin的基因结构、蛋白结构、功能以及与生理和病理活动的相关性等方面的研究进展进行简要总结。

关键词 输入蛋白; 基因结构与功能; 蛋白转运

Research Progress of Structure and Function of Importin

Guo Jianlin¹, Xu Cunshuan^{1,2*}

¹State Key Laboratory Breeding Base for Cell Differentiation Regulation Co-sponsored by Henan & Ministry of Science and Technology, Xinxiang 453007, China; ²College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract Importin is a class of conserved protein family that widely exists in eukaryotic organisms. The functions of importin are involved in the transport of cargo proteins including transcription factor, splicing factor, ribosomal protein and others into nuclei through nuclear pore complex. Importin contains subunit alpha and beta family, each has multiple members. Studies indicated that importin had significant relationship with the formation and development of regeneration, cancer, Alzheimer's disease, foot and mouth disease and other diseases. This review focuses on the recent progress in the structure, functions of importin and the correlation with physiological and pathological activities.

Keywords importin; gene structure and function; protein transportation

输入蛋白(importin)是一类广泛分布于真核生物、相对保守的, 能把胞质内的转录因子、剪接因子和其他蛋白通过核孔复合体运输到核内的蛋白。绿藻、酵母、水稻、拟南芥、线虫、果蝇、斑马鱼、大鼠、小鼠及人等生物的importin基因已经被克隆, 它的蛋白由 α 和 β 两个亚基构成, 前者importin α , 也称karyopherin α (KPNA), 与货物蛋白结合, 后者importin β , 又称karyopherin β (KPNB), 起运输导向作用, 引导

importin-货物蛋白运向和穿过核孔。研究表明, 每个亚基包含多个成员。其中, importin α 各成员均含一个IBB结合区(importin beta binding domain)和多个ARM结构域(armadillo domain)。Importin β 各成员均含一个IBN_N结构域(importin beta N-terminal domain)和多个HEAT重复[huntingtin, elongation factor 3 (EF3), protein phosphatase 2A (PP2A), and TOR1]^[1]。此外, importin还有其他功能, 如: 在果蝇卵子发生中, importin $\alpha 2$ 与肌

收稿日期: 2015-01-20 接受日期: 2015-05-04

国家重点基础研究计划(973计划)(批准号: 2012CB722304)和河南师范大学博士启动基金(批准号: QD14176)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0373-3326001, E-mail: cellkeylab@126.com

Received: January 20, 2015 Accepted: May 4, 2015

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (Grant No.2012CB722304) and Doctoral Scientific Research Start-up Foundation of Henan Normal University (Grant No.QD14176)

*Corresponding author. Tel: +86-373-3326001, E-mail: cellkeylab@126.com

网络出版时间: 2015-07-02 09:47

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150702.0947.002.html>

动蛋白结合,介导kelch在环管内侧积累^[2]; Importin β 可作为伴侣分子陪伴RNA结合蛋白,提高后者的可溶性和避免后者的非特异性聚集^[3];在高温、乙醇及氧化刺激中,*KPNB1*发生应激反应^[4],推测与机体防御相关;大鼠肝再生、蝾螈断臂再生、涡虫头部和尾部再生中,*KPNB1*基因均表达上调,表明其与再生相关;在乳腺癌、肺癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌等肿瘤中,*KPNA2*基因表达上调,推测其与肿瘤发生相关^[5];Miura等^[6]研究表明,敲除*KPNB1*的小鼠只发育到囊胚期,一般在E5.5前死亡,说明该基因在小鼠早期胚胎发育中有重要作用。此外,*KPNA7*也对小牛、猪的胚胎发育有重要影响^[7-8]。

1 Importin的基因结构

研究表明,人的importin α 亚基包含7个成员,其基因含10~17个外显子和9~16个内含子(图1A)。不同 α 亚基的基因开放阅读框(open reading frame, ORF)大小显著不同,但它们的编码区(coding DNA sequence, CDS)长度接近,约编码530个氨基酸。大鼠、小鼠和斑马鱼的 α 亚基的基因结构与人相似,而黑腹果蝇和秀丽隐杆线虫的 α 亚基的内含子数目和长度显著降低,ORF长度显著变短,CDS长度与人、大鼠、小鼠、斑马鱼相近。研究表明,小鼠importin α 成员表达具有组织特异性^[9]。

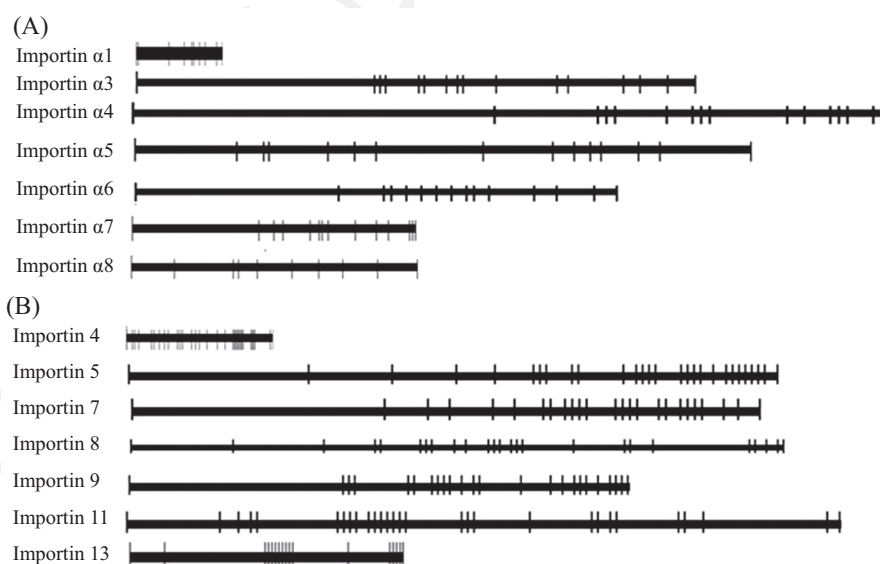
另一方面,人的importin β 亚基包含22个成员,

其中9个成员参与蛋白的入核转运。其基因含19~33个外显子和18~29个内含子(图1B)。不同 β 亚基的基因ORF大小和编码区CDS长度显著不同,编码876~1115个氨基酸。大鼠、小鼠和斑马鱼的 β 亚基的基因结构与人相似,而黑腹果蝇和秀丽隐杆线虫的 β 亚基的基因外显子数目、内含子数目、内含子长度显著减小,ORF长度显著变短,它们的CDS长度与人、大鼠、小鼠、斑马鱼的相近。

2 Importin蛋白的结构

2.1 Importin的一级结构

一般认为,importin的 α 亚基含三个保守结构域,分别称为IBB结构域、ARM结构域和C-端结构域(C-terminal domain)(图2A)^[10]。IBB结构域位于N-端,由40个左右的氨基酸残基组成,负责与importin的 β 亚基结合。ARM结构域位于中部,是 α 亚基与货物蛋白结合的部位。通常,ARM结构域含多个重复ARM单元,每10个重复ARM单元可形成一个 α -超螺旋结构,螺旋结构改变时, α 亚基与货物蛋白的结合亦发生改变。C-端结构域负责与细胞核内的输出蛋白细胞凋亡敏感性蛋白(cellular apoptosis susceptibility, CAS)结合,并将 α 亚基从细胞核转运到细胞质。IBB结构域含有一个称为“自我抑制的序列”,ARM结构域含有一个与核定位序列(nuclear localization sequences, NLS)结合的位点,自我抑制序列与NLS



A: importin α 的各成员; B: importin β 的各成员。黑色竖线表示外显子位置。

A: different members of importin α ; B: different members of importin β . Exons are shown schematically as vertical lines.

图1 人importin基因的结构框架(参照NCBI数据库整理)

Fig.1 The structure scheme of human importin genes (based on NCBI database)

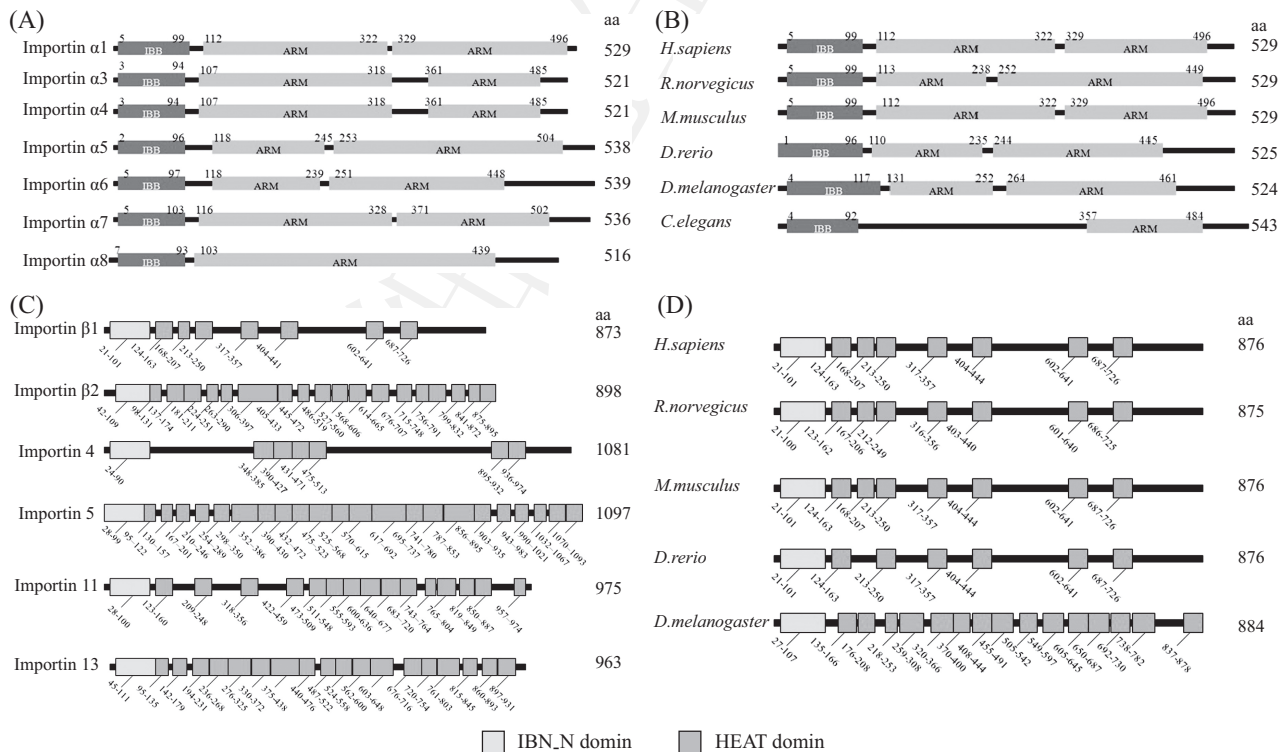
结合位点结合后, α 亚基与 β 亚基的结合活性即被抑制^[11-14]。例如, 人importin $\alpha 1$ (KPNA2)的第13~53位氨基酸残基为IBB结构域, 第71~496位氨基酸残基为10个重复的ARM单元, 构成ARM结构域, 第45~54位为NLS, 142~238位均为NLS结合位点。用Cluster X软件比对人importin α 各成员的氨基酸序列发现, 它们的氨基酸序列有较高的保守性。进一步用Cluster X软件比对人、大鼠、小鼠、斑马鱼、黑腹果蝇和秀丽隐杆线虫的importin $\alpha 1$ 的氨基酸序列发现, 它们的氨基酸序列有近70%的相似性, 而且它们均含有IBB结构域和ARM结构域(图2B)。

研究表明, 几乎所有的importin β 都含有两个保守的结构域, 即IBN_N结构域和HEAT结构域(图2C)。IBN_N结构域位于N-端, 由80个左右的氨基酸残基组成, 可以与Ras相关核蛋白(ras related nuclear protein, Ran)结合。Importin β 中部为不超过20个HEAT单元构成的HEAT结构域, 每个HEAT单元含37~46个氨基酸残基, 可通过构象改变为蛋白互作提供丰富的结合位点。例如, 人importin $\beta 1$ 的第21~101位氨基酸残基为IBN_N结构域, 第124~726位氨基酸

残基为含8个HEAT单元的HEAT结构域, 该结构域可形成 α -螺旋结构, 通过伸展或收缩改变构象, 进而改变与底物结合的特异性。Importin β 的HEAT结构域与核孔复合体的FG-核孔蛋白(Phe-Gly nucleoporins)结合^[15], 用Cluster X软件比对人importin β 各成员的氨基酸序列发现, 它们的氨基酸序列的保守性较低。进一步用Cluster X软件比对人、大鼠、小鼠、斑马鱼、非洲爪蟾和黑腹果蝇的importin $\beta 1$ 的氨基酸序列发现, 它们的氨基酸序列相似性可达到90%。而且它们的N-端均含有IBN_N结构域(图2D)。

2.2 Importin的高级结构

在线(<http://swissmodel.expasy.org/>)对人importin $\alpha 1$ 和importin $\beta 1$ 进行高级结构建模发现, importin α 通过N-端IBB结构域与importin β 的NLS结合(图3)。importin $\alpha 1$ ARM结构域N-端的一个螺旋与货物蛋白结合, 与Melen等^[16]报道结果一致。另一方面, 游离状态的importin $\beta 1$ 其HEAT结构域的C-端一个螺旋与RanGTP(Ran in complex with GTP)结合, 而后RanGTP又与核孔复合体(nuclear pore complex, NPC)相互作用, 与Conti等^[17]和Cook等^[18]报道一致。



A: 人importin α 的各成员; B: 不同模式物种的importin $\alpha 1$; C: 人importin β 的各成员; D: 不同模式物种的importin $\beta 1$ 。

A: different members of human importin α ; B: importin $\alpha 1$ of different model animals; C: different members of human importin β ; D: importin $\beta 1$ of different model animals.

图2 Importin蛋白的结构框架(参照NCBI和UniProt数据库)

Fig.2 The structure scheme of importin (based on NCBI and UniProt database)

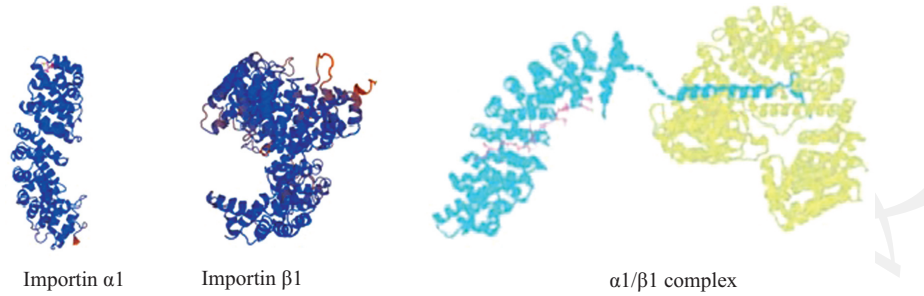


图3 人importin $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 和 $\alpha 1/\beta 1$ 复合体的分子模型(根据参考文献[19]修改)

Fig.3 The molecular model of human importin $\alpha 1$, $\beta 1$ and $\alpha 1/\beta 1$ complex (modified from reference [19])

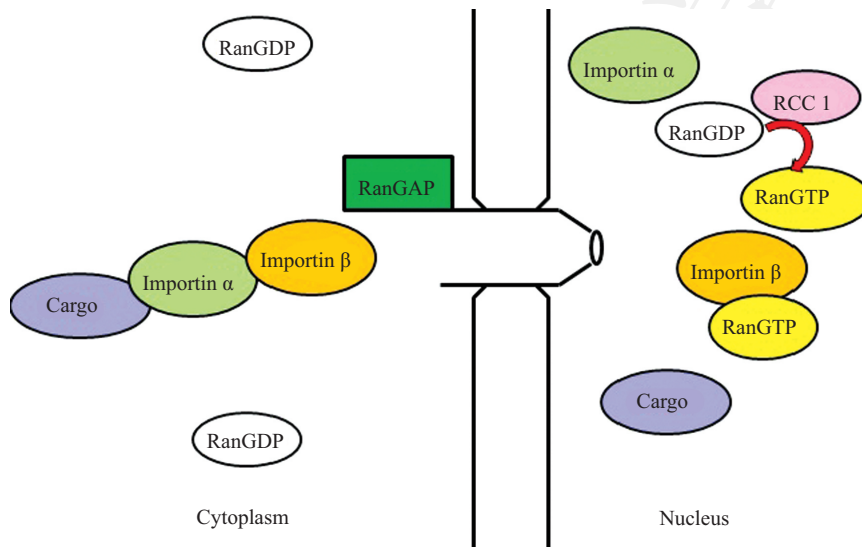


图4 Importin介导的货物蛋白运输模式(根据参考文献[24]修改)

Fig.4 Nuclear import of cargo proteins mediated by importin (modified from reference [24])

3 Importin运输货物蛋白的过程

研究表明, Importin按以下过程运输含经典NLS的货物蛋白。首先, importin α 的ARM结构域的NLS结合位点与货物蛋白的NLS结合, 形成importin α -货物蛋白二元复合物。接着, importin α 的IBB结构域与 β 的NLS结合, 形成货物蛋白-importin α -importin β 三元复合物。然后, 该复合物的 β 亚基与RanGDP(Ran in complex with GDP)结合, 形成货物蛋白-importin α -importin β -RanGDP四元复合物。接着, 复合物的RanGDP进一步与核孔复合体的核孔蛋白(nucleoporin, NUP)结合(此时该蛋白位于细胞质一侧), 导致核孔复合体构象改变, 使原先位于细胞核一侧的核孔蛋白变位到位于细胞核一侧。同时, 与核孔蛋白结合的四元复合物也随之进入细胞核内。由于核内RanGTP浓度较高, 高浓度的RanGTP取代RanGDP^[20], 形成新的货物蛋白-importin α -importin β -RanGTP四元复合物。随后, 与 β 亚基结合的RanGTP被RanGAP(Ran GTPase activating

protein)水解成RanGDP, 并释放能量。释放的能量用于使新的四元复合物解散为货物蛋白、importin α 和importin β -RanGDP。货物蛋白留在了细胞核内, importin α 通过输出蛋白CAS从细胞核运回到细胞质^[21], 而importin β -RanGDP中的RanGDP在染色体浓缩调节因子(regulator of chromosome condensation 1, RCC 1)作用下, 又被RanGTP替代形成importin β -RanGTP复合物, 并穿过核孔复合体(NPC)进入细胞质。在细胞质内, importin β -RanGTP被RanGAP水解成importin β 和RanGDP。需要说明的是, 在细胞质中新合成的和/或解离出的importin α 、importin β 和RanGDP等可用于新一轮货物蛋白的转运^[20,22-24](图4)。

研究表明, 虽然货物蛋白的转运过程非常相似, 但不同importin对货物蛋白的选择性不同, 这种选择性取决于 β 亚基HEAT结构域的结构和构象, 结构不同, 结合的底物不同; 构象不同, 结合的底物也不同。如importin 5和7(IPO5和IPO7)介导核糖体蛋

白L23A、S7和L5的转运^[25]。Importin β 亚基还可与IPO7、RIP1(receptor-interacting protein 1)、Snurportin等结合,改变其识别、选择和结合底物的能力。可见,importin的结构可塑性与接头蛋白的多样性,使importin可广泛选择运输的货物蛋白类型,达到用少数载体运输大量不同货物蛋白的目的。同时,Yoshimura等^[26]报道,importin β 的各结构单元的可变性使得其可以穿过狭小的NPC进入细胞核内。

另一方面,有些importin β 成员转运货物蛋白时不依赖于importin α 。如importin β 1直接把核心组蛋白和核糖体蛋白等货物蛋白转运入核。研究证实,importin β 直接介导的转运货物蛋白的速度高于importin α/β 介导的货物蛋白转运^[27]。

Bannister等^[28]研究发现,环腺苷一磷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的应答元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CBP)可以对importin α 1和 α 7乙酰化,乙酰化的importin α 与importin β 的结合能力提高3~4倍,说明乙酰化能调节importin α 的转运能力。Lieu等^[29]报道,p53的下游分子Ei24可以特异性地与importin β 1和 α 2结合,阻止importin β 1和 α 2对货物蛋白的转运。HIV-1病毒mRNA输出蛋白Rev富含精氨酸结构域(ARM)。Hariton-Gazal等报道,一些富含ARM的短肽可有效抑制Rev与importin β 1结合^[30]。小肽58H5-6、karyostatin 1A和伊维菌素等可抑制importin α/β 介导的蛋白入核过程^[31-33]。

MicroRNA(miRNA)是一类含19~25个核苷酸的非编码单链RNA,可以结合到靶基因mRNA的3'非编码区,进而抑制蛋白质合成。miRNA与组织器官发育、细胞分化和凋亡、胰岛素分泌、脂肪代谢、肿瘤发生和转移等密切相关。目前,miRNA对importin表达的调节作用研究较少,如Szczyrba等^[34]报道,在前列腺癌细胞中,IPO7的表达可被miR-22下调。Bao等^[35]报道,原发性肾炎患者体内的miR-223表达下降,KPNA1和KPNA3表达增加,肾内皮细胞活化,原发性肾炎发生。Bao等^[35]用干扰RNA(interfering RNA, siRNA)抑制KPNA1和KPNA3表达,导致p65和STAT3入核受阻,抑制细胞增殖和单核细胞黏附。NF- κ B是生理功能广泛的转录因子,调节机体免疫、炎症反应、细胞分化等。Sun等^[36]报道,miR-181b通过调节靶基因KPNA4,抑制p50及p65的入核,抑制NF- κ B信号通路活性,进而降低血管炎患者体内黏连蛋白水平和白细

胞聚集。Tan等^[37]报道,KPNA2、染色质螺旋酶DNA结合蛋白1(chromodomain-helicase-DNA-Binding protein1, CHDI)、乳腺癌雌激素调控蛋白1(growth regulation by estrogen in breast cancer 1, GREB1)三个基因作为miR-26的靶基因,调控乳腺细胞的生长。Zhang等^[38]报道,在恶性神经鞘肿瘤的周边组织中,miR-30d可直接降低KPNA1的表达,导致肿瘤细胞凋亡,降低肿瘤发生率。以上研究显示,importin功能的获得或缺失与各种疾病的发生发展都有着密切的关系,其功能直接或间接地受miRNA分子的调控,这为miRNA治疗相关疾病提供了新的治疗靶点。

4 Importin与再生

再生是重要的生物学现象,对了解许多疾病的发生机理及开发新的治疗方法有重要的意义。Hanz等^[39]报道,轴突损伤时,importin β 表达上升,并通过信号的逆向传递启动损伤神经元再生。本研究组在研究大鼠2/3肝切除诱导的肝再生中发现,importin α 成员KPNA2、importin β 成员KPNA1和IPO4在大鼠肝再生中转录增强,而 α 成员KPNA3、KPNA4、KPNA6及 β 成员KPNB3、IPO5、IPO7和IPO9转录减弱^[40]。在细胞水平上,大鼠肝再生中胆管上皮细胞的KPNA1、IPO5和IPO7表达增加,KPNA2表达下降。库普弗细胞的KPNA2和IPO4表达增加,肝细胞、陷窝细胞和树突状细胞的KPNA2表达增加^[41]。

在其他生物,如东方蝾螈的断臂再生中, α 成员KPNA3和 β 成员KPNB1、IPO4表达上调,而 α 成员KPNA6和 β 成员IPO7、IPO9、IPO13表达下调。在涡虫头部再生中,importin α 成员KPNA1、KPNA3、KPNA6和 β 成员KPNB1、IPO5、IPO11表达上调,KPNA2和IPO9表达下调,IPO4和IPO7在有些时间点发生上调,有些时间点发生下调。但在涡虫尾部再生中,KPNA1、KPNA3、IPO4和IPO7表达上调,KPNA2、KPNA6、KPNB1、IPO9和IPO11表达下调,IPO13表达在有些时间点表达上调,有些时间点表达下调。以上表明,importin与再生密切相关(待发表)。

5 Importin与肿瘤发生

随着对importin结构和功能的研究不断深入,人们发现importin与多种肿瘤的发生相关。例如,在恶性神经鞘瘤中,EZH2(zeste homologue 2)表达上

调,抑制miR-30d转录,促进KPNB1表达上调;相反,抑制EZH2表达导致miR-30d表达上调后,KPNB1的表达降低,肿瘤细胞凋亡和肿瘤发生率亦降低^[38]。KPN17在Aspc-1和Hs700T等胰腺癌细胞中表达水平提高^[42],KPN2在食管鳞状细胞癌^[43]、子宫内膜癌^[44]、胃癌^[45]、卵巢癌^[46]、乳腺癌^[37,47]和非小细胞肺癌^[48]等患者病变组织中的表达水平比对照增加。Dankof等^[49]发现,人乳腺癌组织较正常组织的KPN2表达上调32%,KPN2的过表达促进乳腺癌细胞的增殖和迁移,也与乳腺癌患者生存率呈负相关。用siRNA沉默KPN2后,乳腺癌细胞^[47]、肝癌细胞^[50]、子宫内膜癌细胞MFE-296^[44]和肺癌细胞^[48]的增殖受到抑制;相反,该基因过表达后,肝癌细胞的增殖增强^[50]。肝癌细胞中KPN2介导多形性腺瘤基因(pleomorphic adenoma gene 1, *PLAG1*)转运入核,其作用受*PLAG1*的下游基因调控^[50]。Tan等^[37]报道,乳腺癌患者的miR-26表达水平降低,其靶基因*CHD1*、*GREB1*和*KPN2*的表达水平显著增高。国外有学者报道,KPN2通过降低DNA修复蛋白的转运速度激活细胞凋亡途径,通过改变肿瘤抑制因子的转运参与肿瘤的形成^[51-53]。Li等^[48]报道,*Oct4*和*KPN2*表达水平提高正相关地促进肺癌细胞增殖,说明肺癌中转录因子*Oct4*的入核可能由KPN2介导。Gousias等^[54]报道,星形细胞瘤的浸润和扩散与KPN2和*exportin 1*(*CRM1*)表达水平增加有关,也与星形细胞瘤患者的愈后相关。鉴于KPN2表达水平与多种肿瘤的相关性,有人认为它可作为一种新的肿瘤细胞标志物^[53,55]。肿瘤患者的治疗效果与治疗时机密切相关,由于缺乏有效的早期诊断手段,仅有少部分肿瘤患者可得以早期发现,大多数患者经诊断已属晚期,错失治疗的最佳时机。鉴于KPN2已作为肿瘤标志物,这对更有效的早诊和预后具有非常重要的意义;此外,它也是治疗这些肿瘤的潜在靶点,将来可针对肿瘤组织内特有的KPN2基因进行生物基因靶向治疗。

有报道称,乳腺癌、结直肠癌、肝细胞癌和黑色素瘤细胞核中的生长素受体(growth hormone receptor, GHR)水平较高^[56]。Importin α/β 转运系统可以把生长素受体和胰岛素样生长因子结合蛋白-2(insulin-like growth factor-binding protein-2, *IGFBP-2*)^[56-57]转运入核,后者激活血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),促进新生

癌组织中新生血管形成^[57],表明importin α/β 转运间接参与肿瘤发生。

6 Importin与其他疾病

研究表明,importin与一些其他疾病的发生相关,例如,在IgA肾病患者体内,miR-223表达下调,KPN1和KPN3表达上调,导致肾内皮细胞活化和肾炎发生^[35],Paciorkowski等^[58]研究发现,KPN17突变与婴儿的小脑畸形及婴儿痉挛症相关。有报道称,importin α/β 介导SET入核,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者脑内核蛋白SET水平显著增高,可能与importin有关。importin α 还可以介导 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)转运入核,该蛋白的积累导致PC12细胞和C57小鼠表现出帕金森氏病相关的症状^[59]。此外,人乳头瘤病毒衣壳蛋白L1^[60]、人免疫缺陷病毒2蛋白Vpx^[61]、人乙肝病毒核心蛋白^[62]、疱疹病毒蛋白ORF57^[63]、西尼罗病毒C蛋白^[64]、委内瑞拉马脑炎病毒衣壳蛋白^[65]和喙羽病毒衣壳蛋白^[23]等均需要借助宿主的importin转运进入细胞核,并在细胞核内完成组装。近来,Du等^[66]报道,口蹄疫病毒蛋白酶3C^{pro}通过降解KPN1,抑制JAK-STAT信号通路活性,是病毒抵抗宿主天然免疫反应的一种新机制。以上的研究结果表明,一些病毒衣壳蛋白均需要借助宿主的importin转运进入细胞核,进而在细胞核内完成组装,此特性为抗病毒基因治疗提供了新的设计思路,通过干扰importin表达,阻止病毒衣壳蛋白转运进入细胞核。

7 小结

综上所述,目前人们对importin的基因结构、蛋白结构、货物蛋白转运机制进行了广泛的研究,发现importin与再生、肿瘤及其他疾病有一定的相关性,但对其作用机制了解尚少。今后需要将动物病理模型与临床症状相结合,研究importin的作用及其与疾病的关系,为阐明相关疾病的发生机理和靶向治疗奠定基础。

参考文献 (References)

- Zachariae U, Grubmuller H. Importin-beta: Structural and dynamic determinants of a molecular spring. *Structure* 2008; 16(6): 906-15.
- Gorjanacz M, Adam G, Torok I, Mechler BM, Szlanka T, Kiss I. Importin-alpha 2 is critically required for the assembly of ring canals during *Drosophila* oogenesis. *Dev Biol* 2002; 251(2): 271-82.
- Jakel S, Mingot JM, Schwarzmaier P, Hartmann E, Gorlich D.

- Importins fulfil a dual function as nuclear import receptors and cytoplasmic chaperones for exposed basic domains. *EMBO J* 2002; 21(3): 377-86.
- 4 Kodiha M, Chu A, Matusiewicz N, Stochaj U. Multiple mechanisms promote the inhibition of classical nuclear import upon exposure to severe oxidative stress. *Cell Death Differ* 2004; 11(8): 862-74.
- 5 Konstantinos K, Marios S, Anna M, Nikolaos K, Efstratios P, Paulina A. Expression of p53 in imprint smears of endometrial carcinoma. *Diagn Cytopathol* 2014; 42(5): 416-22.
- 6 Miura K, Yoshinobu K, Imaizumi T, Haruna K, Miyamoto Y, Yoneda Y, *et al.* Impaired expression of importin/karyopherin beta1 leads to post-implantation lethality. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341(1): 132-8.
- 7 Tejomurtula J, Lee KB, Tripurani SK, Smith GW, Yao J. Role of importin alpha8, a new member of the importin alpha family of nuclear transport proteins, in early embryonic development in cattle. *Biol Reprod* 2009; 81(2): 333-42.
- 8 Wang X, Park KE, Koser S, Liu S, Magnani L, Cabot RA. KPNA7, an oocyte- and embryo-specific karyopherin alpha subtype, is required for porcine embryo development. *Reprod Fertil Dev* 2012; 24(2): 382-91.
- 9 Tsuji L, Takumi T, Imamoto N, Yoneda Y. Identification of novel homologues of mouse importin alpha, the alpha subunit of the nuclear pore-targeting complex, and their tissue-specific expression. *FEBS Lett* 1997; 416(1): 30-4.
- 10 Moroianu J, Blobel G, Radu A. The binding site of karyopherin alpha for karyopherin beta overlaps with a nuclear localization sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(13): 6572-6.
- 11 Kobe B. Autoinhibition by an internal nuclear localization signal revealed by the crystal structure of mammalian importin alpha. *Nat Struct Biol* 1999; 6(4): 388-97.
- 12 Moroianu J. Molecular mechanisms of nuclear protein transport. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1997; 7(1/2): 61-72.
- 13 Fanara P, Hodel MR, Corbett AH, Hodel AE. Quantitative analysis of nuclear localization signal (NLS)-importin alpha interaction through fluorescence depolarization. Evidence for auto-inhibitory regulation of NLS binding. *J Biol Chem* 2000; 275(28): 21218-23.
- 14 Harreman MT, Hodel MR, Fanara P, Hodel AE, Corbett AH. The auto-inhibitory function of importin alpha is essential *in vivo*. *J Biol Chem* 2003; 278(8): 5854-63.
- 15 Gorlich D, Kostka S, Kraft R, Dingwall C, Laskey RA, Hartmann E, *et al.* Two different subunits of importin cooperate to recognize nuclear localization signals and bind them to the nuclear envelope. *Curr Biol* 1995; 5(4): 383-92.
- 16 Melen K, Fagerlund R, Franke J, Kohler M, Kinnunen L, Julkunen I. Importin alpha nuclear localization signal binding sites for STAT1, STAT2, and influenza A virus nucleoprotein. *J Biol Chem* 2003; 278(30): 28193-200.
- 17 Conti E, Muller CW, Stewart M. Karyopherin flexibility in nucleocytoplasmic transport. *Curr Opin Struct Biol* 2006; 16(2): 237-44.
- 18 Cook A, Bono F, Jinek M, Conti E. Structural biology of nucleocytoplasmic transport. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 647-71.
- 19 Goldfarb DS, Corbett AH, Mason DA, Harreman MT, Adam SA. Importin alpha: A multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol* 2004; 14(9): 505-14.
- 20 Bischoff FR, Gorlich D. RanBP1 is crucial for the release of RanGTP from importin beta-related nuclear transport factors. *FEBS Lett* 1997; 419(2/3): 249-54.
- 21 Kutay U, Bischoff FR, Kostka S, Kraft R, Gorlich D. Export of importin alpha from the nucleus is mediated by a specific nuclear transport factor. *Cell* 1997; 90(6): 1061-71.
- 22 Floer M, Blobel G, Rexach M. Disassembly of RanGTP-karyopherin beta complex, an intermediate in nuclear protein import. *J Biol Chem* 1997; 272(31): 19538-46.
- 23 Patterson EI, Dombrovski AK, Swarbrick CM, Raidal SR, Forwood JK. Structural determination of importin alpha in complex with beak and feather disease virus capsid nuclear localization signal. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 438(4): 680-5.
- 24 Harel A, Forbes DJ. Importin beta: Conducting a much larger cellular symphony. *Mol Cell* 2004; 16(3): 319-30.
- 25 Jakel S, Gorlich D. Importin beta, transportin, RanBP5 and RanBP7 mediate nuclear import of ribosomal proteins in mammalian cells. *EMBO J* 1998; 17(15): 4491-502.
- 26 Yoshimura SH, Kumeta M, Takeyasu K. Structural mechanism of nuclear transport mediated by importin beta and flexible amphiphilic proteins. *Structure* 2014; 22(12): 1699-710.
- 27 Riddick G, Macara IG. The adapter importin-alpha provides flexible control of nuclear import at the expense of efficiency. *Mol Syst Biol* 2007; 3: 118.
- 28 Bannister AJ, Miska EA, Gorlich D, Kouzarides T. Acetylation of importin-alpha nuclear import factors by CBP/p300. *Curr Biol* 2000; 10(8): 467-70.
- 29 Lieu KG, Shim EH, Wang J, Lokareddy RK, Tao T, Cingolani G, *et al.* The p53-induced factor Ei24 inhibits nuclear import through an importin beta-binding-like domain. *J Cell Biol* 2014; 205(3): 301-12.
- 30 Hariton-Gazal E, Rosenbluh J, Zakai N, Fridkin G, Brack-Werner R, Wolff H, *et al.* Functional analysis of backbone cyclic peptides bearing the arm domain of the HIV-1 Rev protein: Characterization of the karyophilic properties and inhibition of Rev-induced gene expression. *Biochemistry* 2005; 44(34): 11555-66.
- 31 Ambrus G, Whitby LR, Singer EL, Trott O, Choi E, Olson AJ, *et al.* Small molecule peptidomimetic inhibitors of importin alpha/beta mediated nuclear transport. *Bioorg Med Chem* 2010; 18(21): 7611-20.
- 32 Hintersteiner M, Ambrus G, Bednenko J, Schmed M, Knox AJ, Meisner NC, *et al.* Identification of a small molecule inhibitor of importin beta mediated nuclear import by confocal on-bead screening of tagged one-bead one-compound libraries. *ACS Chem Biol* 2010; 5(10): 967-79.
- 33 Lokich E, Singh RK, Han A, Romano N, Yano N, Kim K, *et al.* HE4 expression is associated with hormonal elements and mediated by importin-dependent nuclear translocation. *Sci Rep* 2014; 4: 5500.
- 34 Szczyrba J, Nolte E, Hart M, Doll C, Wach S, Taubert H, *et al.* Identification of ZNF217, hnRNP-K, VEGF-A and IPO7 as targets for microRNAs that are downregulated in prostate carcinoma. *Int J Cancer* 2013; 132(4): 775-84.
- 35 Bao H, Chen H, Zhu X, Zhang M, Yao G, Yu Y, *et al.* MiR-223 downregulation promotes glomerular endothelial cell activation

- by upregulating importin alpha4 and alpha5 in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2014; 85(3): 624-35.
- 36 Sun X, Sit A, Feinberg MW. Role of miR-181 family in regulating vascular inflammation and immunity. *Trends Cardiovasc Med* 2014; 24(3): 105-12.
- 37 Tan S, Ding K, Li R, Zhang W, Li G, Kong X, *et al.* Identification of miR-26 as a key mediator of estrogen stimulated cell proliferation by targeting CHD1, GREB1 and KPNA2. *Breast Cancer Res* 2014; 16(2): R40.
- 38 Zhang P, Garnett J, Creighton CJ, Al Sanna GA, Igram DR, Lazar A, *et al.* EZH2-miR-30d-KPNB1 pathway regulates malignant peripheral nerve sheath tumour cell survival and tumorigenesis. *J Pathol* 2014; 232(3): 308-18.
- 39 Hanz S, Perlson E, Willis D, Zheng JQ, Massarwa R, Huerta JJ, *et al.* Axoplasmic importins enable retrograde injury signaling in lesioned nerve. *Neuron* 2003; 40(6): 1095-104.
- 40 Xu C, Chen X, Chang C, Wang G, Wang W, Zhang L, *et al.* Transcriptome analysis of hepatocytes after partial hepatectomy in rats. *Dev Genes Evol* 2010; 220(9/10): 263-74.
- 41 Chang CF, Fan JY, Zhang FC, Ma J, Xu CS. Transcriptome atlas of eight liver cell types uncovers effects of histidine catabolites on rat liver regeneration. *J Genet* 2010; 89(4): 425-36.
- 42 Laurila E, Vuorinen E, Savinainen K, Rauhala H, Kallioniemi A. KPNA7, a nuclear transport receptor, promotes malignant properties of pancreatic cancer cells *in vitro*. *Exp Cell Res* 2014; 322(1): 159-67.
- 43 Ma S, Zhao X. KPNA2 is a promising biomarker candidate for esophageal squamous cell carcinoma and correlates with cell proliferation. *Oncol Rep* 2014; 32(4): 1631-7.
- 44 Ikenberg K, Valtcheva N, Brandt S, Zhong Q, Wong CE, Noske A, *et al.* KPNA2 is overexpressed in human and mouse endometrial cancers and promotes cellular proliferation. *J Pathol* 2014; 234(2): 239-52.
- 45 Li C, Ji L, Ding ZY, Zhang QD, Huang GR. Overexpression of KPNA2 correlates with poor prognosis in patients with gastric adenocarcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34(2): 1021-6.
- 46 He L, Ding H, Wang JH, Zhou Y, Li L, Yu YH, *et al.* Overexpression of karyopherin 2 in human ovarian malignant germ cell tumor correlates with poor prognosis. *PLoS One* 2012; 7(9): e42992.
- 47 Noetzel E, Rose M, Bornemann J, Gajewski M, Knuchel R, Dahl E. Nuclear transport receptor karyopherin-alpha2 promotes malignant breast cancer phenotypes *in vitro*. *Oncogene* 2012; 31(16): 2101-14.
- 48 Li XL, Jia LL, Shi MM, Li X, Li ZH, Li HF, *et al.* Downregulation of KPNA2 in non-small-cell lung cancer is associated with Oct4 expression. *J Transl Med* 2013; 11: 232.
- 49 Dankof A, Fritzsche FR, Dahl E, Pahl S, Wild P, Dietel M, *et al.* KPNA2 protein expression in invasive breast carcinoma and matched peritumoral ductal carcinoma *in situ*. *Virchows Arch* 2007; 451(5): 877-81.
- 50 Hu ZY, Yuan SX, Yang Y, Zhou WP, Jiang H. Pleomorphic adenoma gene 1 mediates the role of karyopherin alpha 2 and has prognostic significance in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 61.
- 51 Zannini L, Lecis D, Lisanti S, Benetti R, Buscemi G, Schneider C, *et al.* Karyopherin-alpha2 protein interacts with Chk2 and contributes to its nuclear import. *J Biol Chem* 2003; 278(43): 42346-51.
- 52 Tseng SF, Chang CY, Wu KJ, Teng SC. Importin KPNA2 is required for proper nuclear localization and multiple functions of NBS1. *J Biol Chem* 2005; 280(47): 39594-600.
- 53 Gousias K, Becker AJ, Simon M, Niehusmann P. Nuclear karyopherin a2: A novel biomarker for infiltrative astrocytomas. *J Neurooncol* 2012; 109(3): 545-53.
- 54 Gousias K, Niehusmann P, Gielen G, Simon M, Bostrom J. KPNA2 predicts long term survival in patients with anaplastic oligoastrocytomas. *J Clin Neurosci* 2014; 21(10): 1719-24.
- 55 Christiansen A, Dyrskjot L. The functional role of the novel biomarker karyopherin alpha 2 (KPNA2) in cancer. *Cancer Lett* 2013; 331(1): 18-23.
- 56 Conway-Campbell BL, Wooh JW, Brooks AJ, Gordon D, Brown RJ, Lichanska AM, *et al.* Nuclear targeting of the growth hormone receptor results in dysregulation of cell proliferation and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(33): 13331-6.
- 57 Azar WJ, Zivkovic S, Werther GA, Russo VC. IGFBP-2 nuclear translocation is mediated by a functional NLS sequence and is essential for its pro-tumorigenic actions in cancer cells. *Oncogene* 2014; 33(5): 578-88.
- 58 Paciorkowski AR, Weisenberg J, Kelley JB, Spencer A, Tuttle E, Ghoneim D, *et al.* Autosomal recessive mutations in nuclear transport factor KPNA7 are associated with infantile spasms and cerebellar malformation. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(5): 587-93.
- 59 Ma KL, Song LK, Yuan YH, Zhang Y, Han N, Gao K, *et al.* The nuclear accumulation of alpha-synuclein is mediated by importin alpha and promotes neurotoxicity by accelerating the cell cycle. *Neuropharmacology* 2014; 82: 132-42.
- 60 Merle E, Rose RC, LeRoux L, Moroianu J. Nuclear import of HPV11 L1 capsid protein is mediated by karyopherin alpha2-beta1 heterodimers. *J Cell Biochem* 1999; 74(4): 628-37.
- 61 Singhal PK, Kumar PR, Rao MR, Kyasani M, Mahalingam S. Simian immunodeficiency virus Vpx is imported into the nucleus via importin alpha-dependent and -independent pathways. *J Virol* 2006; 80(1): 526-36.
- 62 Kann M, Sodeik B, Vlachou A, Gerlich WH, Helenius A. Phosphorylation-dependent binding of hepatitis B virus core particles to the nuclear pore complex. *J Cell Biol* 1999; 145(1): 45-55.
- 63 Goodwin DJ, Whitehouse A. A gamma-2 herpesvirus nucleocytoplasmic shuttle protein interacts with importin alpha 1 and alpha 5. *J Biol Chem* 2001; 276(23): 19905-12.
- 64 Bhuvanankantham R, Cheong YK, Ng ML. West Nile virus capsid protein interaction with importin and HDM2 protein is regulated by protein kinase C-mediated phosphorylation. *Microbes Infect* 2010; 12(8/9): 615-25.
- 65 Lundberg L, Pinkham C, Baer A, Amaya M, Narayanan A, Wagstaff KM, *et al.* Nuclear import and export inhibitors alter capsid protein distribution in mammalian cells and reduce Venezuelan Equine Encephalitis Virus replication. *Antiviral Res* 2013; 100(3): 662-72.
- 66 Du Y, Bi J, Liu J, Liu X, Wu X, Jiang P, *et al.* 3Cpro of foot-and-mouth disease virus antagonizes the interferon signaling pathway by blocking STAT1/STAT2 nuclear translocation. *J Virol* 2014; 88(9): 4908-20.