doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.035

·专论与综述·

G蛋白偶联受体寡聚体结构研究进展*

薛礼¹赵菡¹刘俊科¹邹伦浩¹刘林青²黄思罗^{1△} (1华中科技大学生命科学与技术学院,分子生物物理教育部重点实验室 湖北 武汉 430074; 2武汉大学中国产学研究合作问题研究中心 湖北 武汉 430072)

摘要:G蛋白偶联受体(GPCR)是细胞膜上最大的一类受体,其通过构象变化激活下游G蛋白从而介导细胞响应多种来自内源和 外界环境中的信号。自GPCR被发现以来,研究者就一直在努力解析GPCR的构象,x射线晶体衍射技术和GPCR蛋白质结晶技 术的发展使得越来越多的GPCR单体在静息状态,以及与不同配体甚至G蛋白结合的晶体结构被成功解析。另一方面,FRET和 电子显微技术的运用得到了GPCR二聚化和多聚化的多方面证据。本文将结合近年来该领域的进展,对GPCR寡聚体的结构和 构象变化予以系统的综述,这些成果为研究GPCR的功能机制及其特异性的靶点药物开发提供了重要的基础。

关键词:G蛋白偶联受体;二聚化;寡聚化;晶体结构

中图分类号:Q25;Q27 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)08-1547-06

Structure of G Protein-Coupled Receptor Oligomers*

XUE Li', ZHAO Han', LIU Jun-ke', ZOU Lun-hao', LIU Lin-qing², HUANG Si-luo^{1/2}

(1 Key Laboratory of Molecular Biophysics of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, 430074, China; 2 Research Center for China Industry-University-Research Institute

Collaboration, Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430072, China)

ABSTRACT: G protein-coupled receptors (GPCR) are the largest class of cell membrane receptors. As a sensor of cells, GPCR mediated a variety of signals from endogenous and external environment. GPCR activated downstream G proteins for signal transduction through conformational changes. Since GPCR was found, researchers have been trying to resolve GPCR structure conformation, multifaceted evidence of GPCR dimerization and oligomerization was obtained using trFRET and electron microscopy technique. And x-ray crystal diffraction and GPCR protein crystallization technology made more GPCR crystal structure was successfully resolved to obtain the high-precision three-dimensional structure. As the developing of technology, GPCR crystal structure with different ligands or G protein binding further demonstrates different state of GPCR conformations. These results had laid an important foundation for the study of GPCR function mechanisms and drug development with specific targets. This article reviewed GPCR structures in recent years.

Key words: G protein-coupled receptors (GPCR); Dimerization; Oligomerization; Crystal structure

Chinese Library Classification(CLC): Q25; Q27 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2015)08-1547-06

前言

信号传导是细胞生存的一个基本的生物学过程,这个过程 中,细胞膜上最多的一类蛋白质,GPCR 起了很重要的介导的 作用。GPCR 是最大的跨膜蛋白家族,在人体内有 800 多种,其 成员都具有 7 次跨膜结构,因此又名为 7 次 α 螺旋跨膜受体^[1]。 不同的 GPCR 通过特异性地识别胞外环境中的分子,例如光, 肽段,糖蛋白,脂类,核苷酸,离子,蛋白酶等,产生足够的构象 变化从而激活下游复杂的信号网络,进而引起细胞内一系列生 化反应,参与调控包括神经传递,细胞通信,视觉,味觉,嗅觉, 疼痛等众多生理过程^[2]。GPCR 在许多重要疾病包括心脏病,癌症,哮喘,高血压,偏头痛,炎症反应,和各种心理疾病中有着重要的作用。因而 GPCR 被视为治疗相关疾病的重要靶点,在新药开发以及新靶点设计方面有着重要的价值^[3]。因此,确定GPCR 的精细结构和其激活过程中的构象变化成为近几年科学界的潮流和趋势,这不仅是大家出于对基础科学研究的兴趣,更是因为此研究对人类健康有着重要的意义。

1 GPCR 的分类与结构

根据序列同源性,GPCR 主要可以分为4个亚家族,A:类

^{*} 基金项目:第 47 批中国博士后面上基金(20100471184);国家自然科学基金面上项目(30973514)
作者简介:薛礼(1985-),男,博士研究生,主要研究方向:C 族 G 蛋白偶联受体激活过程中 HD 区构象变化的的分子机制,
E-mail: royxueli@gmail.com,电话:027-87792024,13377898616
△通讯作者:黄思罗,E-mail:shuang@mail.hust.edu.cn,电话:027-87792031,Fax:027-87792024

⁽收稿日期:2014-09-03 接受日期:2014-09-30)

视紫红质受体 (rhodopsin-like), B: 类分泌素受体(secretin-like),C: 类谷氨酸受体 (mglur-like) 和 D:frizzled/smoothened 受体^[4]。GPCR 有共同的结构特征,其成员都由 7次跨膜的a螺旋区域(HD), 胞外的N末端(ECD)和胞内的 C末端(ICD)组成。胞外和胞内分别有三个半环(loop)连接跨 膜的 a 螺旋 (ECL1-3, ICL1-3), G 蛋白偶联到 HD 的胞内 Loop 上。各族 GPCR 结构最大的区别在于胞外区,绝大多数 A 家族 受体的胞外区很小,只有 50 个左右的氨基酸,而 B 家族的胞外 区很大,由300至2000个氨基酸组成(图1)5。相对而言C族 受体成员结构最为复杂。首先C族受体的一个特点是有着复杂 的多功能域结构。其 ECD 区包括一个捕蝇草模块(VFT)以及 位于 VFT 和 HD 之间的半胱氨酸富集区(CRD)^[2,6]。其中 VFT 为其特有结构在其他亚家族受体均不存在。D族受体在胚胎的 发育过程中起重要作用,尤其是影响细胞分化的极性和分节。 Wnt 蛋白结合在 frizzled 的胞外的半胱氨酸富集区 (CRD)区 域。



2 GPCR 单体晶体结构的研究进展

为了更好地研究 GPCR 激活的分子机制,以及基于结构的 药物设计对 GPCR 的高分辨率的结构模型的迫切需求,对 GPCR 晶体结构的研究一直是科学界的研究热点,在研究者的 共同努力下,GPCR 的晶体结构的研究进展迅速。

1995年,Unger等通过低温电子显微镜观察到了牛视紫红 质受体(rhodopsin)具有螺旋7次跨膜结构^[7]。2000年,Yamamoto.M等成功解析了牛的视紫红质受体的结构,得到了解 析精度为2.80埃的晶体结构^[8],从此拉开了GPCR晶体结构解 析的序幕。在过去的12年多的时间里,已经有超过77个分属 于20种不同的GPCR的晶体结构被成功解析,包括β1,β2肾 上腺能受体(β1,β2 adrenergic)^[9,10]、M2,M3型毒蕈碱型受体 (M2,M3 muscarinic)^[11,12]、A2A腺苷受体(A2A adenosine)^[13]、D3 多巴胺受体(D3 dopamine)^[14],趋化因子受体(Chemokine CX-CR1, CXCR4)^[15,16],五羟色胺受体(Serotonin 5HT2b,5HT2c)^[17,18] 等(详见表1)。这些结构描绘了受体和许多不同的分子,包括 各种药物,多肽,抗体和G蛋白相互作用时的构象细节,静态 地展示了GPCR处于不同激活状态的晶体结构。这些高精度的 晶体结构跨时代地向人们展示了GPCR 激活过程中的构象变化, 极大地促进了 GPCR 结构生物学的发展。美国的两位科学家罗伯特.莱夫科维茨(Robert J.Lefkowitz)和布莱恩.科比尔卡(Brian K.Kobilka)因为在 GPCR 结构领域做出了杰出的贡献而获得了 2012 年的诺贝尔奖。

短短十多年,GPCR的晶体解析技术已经越来越成熟,越来 越多的晶体结构被解析,但是值得注意到是现在得到全长的高 分辨率晶体结构的 GPCR 全部是胞外区很小的 A 族受体,其 结构相对简单和均一,相对容易纯化结晶。而对于 GPCR 其他 三个家族尤其是 C 族受体,因为其有很大的亲水性的胞外区 (VFT 区和 CRD 区)并发生组成性的二聚化,整个受体的结构 更加复杂,性质更不均一,这就给大量表达保持天然构象蛋白、 最终得到完整的蛋白晶体带来了巨大的困难,因此对于该族受 体的基本研究思路还是将胞外区和跨膜区单独表达。到目前为 止,有些 C 族受体也得到了解析度较高的胞外结构域晶体结 构:大鼠 mGluR1 胞外配体结合区^[28];大鼠 mGluR3 胞外结构域 ^[29];mGluR7 胞外结构域^[30];人源 mGluR5 胞外配体结合区[PDB 3LMK],人源 GB2 的 VFT 区^[31]。但是在这几个 GPCR 家族蛋白 分子中起到连接细胞外信号环境与细胞内分子作用的 7 次跨 膜结构域(HD)还没有得到任何高分辨率晶体结构。

3 GPCR 的二聚化和多聚化

在早期的研究中,大家广泛认为 GPCRs 在生物体内以单体形式存在行使功能。后来的研究发现,受体的二聚化和多聚化对于受体蛋白的成熟,信号调控,下游信号传导,以及受体的内化都有着重要的意义。

1998年,Reddy 等发现受体的多聚化对于受体在内质网的 滞留有着重要的影响^[2]。1999年,Marshall 等发现 GABAB 正 常上膜需要 GABAB1和 GABAB2两个亚基形成异源二聚体 ^[3]。Margeta-Mitrovic 等人 2000年进一步发现,这个现象是由于 GABAB1的C末端有一段内质网滞留序列,只有 GB1的C末 端的滞留序列被 GB2的C末端屏蔽掉时候,受体才能正常上 膜^[34]。随后研究者通过各种方法(FRET,BRET)发现多种 GPCR 在内质网上就已经形成了二聚体^[3538]。这些结果和之前的一些 生化的结果非常吻合,稍早的研究发现,V2R 犁鼻器受体^[39],D3 dopamine 多巴胺受体 ^[40],GnRH (gonadotropin-releasing hormone)促性腺激素释放激素受体^[41],CCR5 趋化因子受体^[42,43]截 短了的突变体和野生型的受体共表达可以会影响受体在膜上 的表达,并且突变体与野生型受体之间确实存在相互作用。这 一系列结果说明 GPCR 的二聚化在受体的成熟上膜过程中起 着关键的作用。

除了 GABAB 受体和味觉受体第一家族以外,C族 GPCR 大部分成员形成组成型的同源二聚体。mGluR 和 CaSR 在二硫 键和分子间作用力的共同作用下形成同源二聚体⁽⁴⁴⁾(图 2A)。 对 mGluR1 蛋白 VFT 区高分辨晶体结构的分析发现,受体 VFT 区之间存在强的疏水作用可以促进二聚体的形成^[28];而 GABABR 以异源二聚体形式存在,是经典的异源二聚体模型, 两个亚基 GB1 和 GB2 形成异源二聚体才能行使结合配体激 活下游信号^[45]。最近有报道其他C族受体也可以形成异源二聚 体,1 族味觉受体就组成了 T1R1/2 和 T1R3 异二聚体。目前在 体内尚未发现具有生理功能的C 族受体的单体存在,二聚化的

视紫红质受体(rhodopsin)	1F88	2000 ^[8]
β2 肾上腺素受体(β2-adrenergic receptor)	2RH1	2007 ^[10]
β1 肾上腺素受体(β1-adrenergic receptor)	2VT4	2008 ^[9]
A2A 腺苷受体(A2A adenosine receptor)	3EML	2008 ^[13]
视蛋白受体(opsin)	3CAP	2008 ^[19]
D3 多巴胺受体(dopamine D3 receptor)	3PBL	2010 ^[14]
CXCR4 趋化因子受体(CXCR4 chemokine receptor)	30DU	2010 ^[16]
H1 组胺受体(histamine H1 receptor)	3RZE	2011 ^[20]
M2 毒蕈碱型乙酰胆碱受体(M2 muscarinic acetylcholine receptor)	3UON	2012 ^[12]
M3 毒蕈碱型乙酰胆碱受体(M3 muscarinic acetylcholine receptor)	4DAJ	2012[11]
CXCR1 趋化因子受体(CXCR1 chemokine receptor)	2LNL	2012 ^[15]
Mu 阿片受体(mu opioid receptor)	4DKL	2012 ^[21]
Kappa 阿片受体(kappa opioid receptor)	4DJH	2012 ^[22]
Delta 阿片受体(delta opioid receptor)	4EJ4	2012 ^[23]
N/O FQ 阿片受体(nociceptin/orphanin FQ Opioid Receptor)	4EA3	2012 ^[24]
NTS1 神经降压素受体(NTS1 neurotensin receptor)	4GRV	201 ^{2[25]}
鞘氨醇 -1- 磷酸受体(sphingosine 1-phosphate receptor)	3V2Y	2012 ^[26]
蛋白酶激活受体 1(Protease activated receptor 1)	3WV7	2012 ^[27]
5HT2b 五羟色胺受体(5HT2b serotonin protein)	4IB4	2013 ^[18]
5HT1b 五羟色胺受体(5HT1b serotonin protein)	4IAQ	2013 ^[18]

表1GPCR 晶体结构解析时间表

Table 1 The schedule of resolved GPCR crystal structure

形成对其表达和激活都有决定性的作用。研究者还发现,一般 情况下形成同二聚体的 C 族受体成员也可以选择性地形成具 有功能的异二聚体,比如 mGluR1 可以和 mGluR5、CaSR 间形



图 2 C 族受体的二聚化和四聚化。A,mGluR2 同二聚体;B,两个由 GB1 和 GB2 组成的 GABABR 异二聚体可以进一步形成异四聚体;C, mGluR1/mGluR5 异二聚体;D,mGluR2/5HT2aR 异四聚体 Fig. 2 The dimerization and oligomerization of the class C GPCR. A. mglur2 homodimer; B. GABAB receptor heterotetramer is consisted by two GB1/GB2 heterodimer; C.mGluR1/mGluR5 heterodimer; D. mGluR2/5HT2aR heterotetramer 成异二聚体,mGluR2则可以和 mGluR3 之间形成异二聚体^[46] (图 2C)。

运用 SNAP-CLIP 标记的 TR-FRET 技术研究发现, GABAB 受体可以形成四聚体^[47,49]。Comps.Agrar 等利用抗体标 记的 TR-FRET 技术对 GABABR 蛋白进一步研究发现,在脑组 织中 GABAB 异源二聚体也可以多聚体(四聚体),并且 GB1 亚基的 VFT 区对四聚体的形成起到重要的作用^[49]。今年有研究 者进一步发现在 COS-7 细胞中,GABAB 受体可以形成 8 个异 二聚体组成的寡聚体^[49]。采用与研究 GABAR 类似的方法,尚 末有研究发现 mGluR 可以形成由 4 个单体组成的同源四聚 体,这可能是因为 CRD 的存在使得一定空间范围内容纳不了 四聚体的形成。但最近发现,mGluR2 同二聚体可以和不具有胞 外 VFT 和 CRD 的 5H2R 受体同二聚体通过 HD 区之间的相 互作用形成不稳定的异四聚体^[50,51](图 2D)。

对于 A 家族 GPCR, D. Fotiadis 等使用电子显微镜和原子 力显微镜对生理条件下视紫红质受体构象进行研究,发现其可 以形成二聚体,其中 TM4 与 TM5 为其二聚化形成的主要界面 ^[22]:对趋化因子受体 CXCR5, D2 多巴胺受体,阿片受体及β肾 上腺受体的研究也充分证明二聚体或多聚体的存在^[355]。B 族 GPCR 也可以形成多聚体,Kaleeckal 等利用竞争性肽段干扰技 术结合 BRET 技术研究发现,TM4 对活细胞中分泌素二聚体 或多聚体的形成具有重要作用:TM4 上面的一些位置突变可 以破坏受体形成多聚体说明 TM4 特异性地参与该受体二聚体 或多聚体的形成[56]。

4 GPCR 寡聚体在激活过程中的构象变化

多项研究表明,在生理状态下,GPCR 寡聚体存在非激活 态和激活态两种状态,受体接受外界信号刺激以后,通过一系 列的由外到内的构象的变化传导信号。

基于对各种 Rhodopsin, A2A AR, β 2AR 蛋白高分辨率晶体结构分析表明, GPCRs 蛋白激活过程涉及多种跨膜螺旋结构域的重排列过程:最显著的构象变化是跨膜螺旋区 VI 外移并偏向 TM5^[57], 不同 GPCR 蛋白分子在该过程中移动的距离在几至十几Å不等;跨膜螺旋区 III 相对于其基态中轴线上移并伴有一定外侧移动, TM7 胞内结构区域相对于其基态中轴线内移并发生扭转^[58,59]。伴随着 GPCR 跨膜螺旋结构域的整体移动,结构域内一些保守氨基酸也发生了旋转, 以稳定跨膜螺旋结构域的构象变化,并引导 GPCR 细胞内部分构象变化以适应与G 蛋白结合^[83,99]。

除了直接的蛋白质结晶技术以外,还有一些间接的手段来 研究GPCR HD 区域的构象变化。由于 CuP(二氯(1,10- 菲咯啉) 铜(II))可以进入质膜,并可作为弱的氧化还原催化剂,利用双 氧来氧化自由的巯基,使碰撞界面上有距离合适的半胱氨酸的 时候催化产生二硫键。Jeffery M. Klco 等人在 2003 年解决了 HD 区域内距离合适的半胱氨酸由于缺乏氧化环境而不能形成 二硫键的问题,首先在跨膜螺旋和胞内半环做了大量的半胱氨 酸定点突,变然后利用基于 CuP 诱导的二硫键技术,发现 C5a (补体成分 5a)受体在膜上可以形成二聚体或者寡聚体,并且 确认了寡聚体中单体之间的界面主要是 TM1, TM2 和 TM4^[69]。 Guo Wen 等在 2005 年利用类似的方法,发现 D2 多巴胺受体 的二聚体界面是 TM4,并且通过 CuP 诱导的二硫键技术,对于 TM4 一侧的半胱氨酸突变体,可以将受体锁定在激活状态,而 对于 TM4 另外一侧的半胱氨酸突变体,可以将受体锁定在非 激活状态,进而提出了 TM4 在 D2 多巴胺受体的激活过程中 的两个可能的构象变化的模型:激活导致单体内的跨膜螺旋重 排或者是寡聚体中单体的 HD 区相对位置的重排^[61]。采用类似 的方法,视紫红质受体,5HT2c 五羟色胺受体的研究也证明了 TM4 作为受体单体之间的界面在受体激活过程中起着关键的 作用[62]。

这些 A 族 GPCR 构象的解析给研究 A 族受体 HD 区构象 变化提供了参考。由于 C 族 GPCR HD 区的晶体结构还没有解 析成功,现在还只能采用一些间接的手段包括 tr-FRET 的方法 来分析受体激活过程中 HD 区的构象变化细节。M. Yanagawa 等通过定点突变筛选结合 FRET 技术研究 mGluR 蛋白激活过 程 HD 区构象变化发现,结果表明 mGluRs TM5 处于二聚体不 同亚基的界面上,同时在受体结合配体后,HD 区域发生明显的 构象变化。研究者通过在 mGluR1 同二聚体的两个亚基的 i1/2/3-loop 分别引入不同的荧光基团,从而利用 FRET 检测了 mGluR1 的 HDs 在不同药物刺激下的构象变化发现:在受体激 活过程中,同源二聚体一个亚基上连接 V,VI 螺旋结构域的第 三胞内环与另一个亚基第二、第三胞内环之间距明显拉近,说 明 mglur 受体激活过程中连个亚基的 HD 区沿着相互作用的 界面会发生旋转;同时进一步分析比较发现,只结合了一个 Glutamate 分子的二聚体激活过程中胞内环间 FRET 信号变化 仅有结合了两个 Glutamate 分子的二聚体的 20%,这说明在两 个亚基与配体结合后可以协同引起受体 HD 区的构象变化^[6]。 M. Yanagawa 的工作一定程度上回答了 C 族受体 HDs 中大 尺度上的构象变化,但对于其精细结构、作用位点和机制都还 缺乏更深入的了解。

对于 GPCR 共同的特征结构域,HD 区在受体激活的过程 中发生了显著的构象变化,其中 TM4,TM5 的转动和相对位置 的改变对激活下游信号起了关键的作用。

5 小结与展望

在过去的十多年里,GPCR的结构解析取得了令人瞩目的 成就,这些漂亮的高精度的晶体结构也进一步向人们展示了 GPCR的结构之美,在实际应用方上也指导了基于 GPCR 结构 的药物设计工作。但是现在解析出来的结构还集中在 A 族受 体,C 族 GPCR 还没有一例被成功解析。由于 C 族 GPCR 在序 列上和 A 族 GPCR 相似度并不高,这使得根据已经解析出来 的 A 族 GPCR 的结构来指导 C 族受体的解析工作也很困难, 但是 C 族 GPCR 晶体结构会使我们对于 GPCR 激活分子机制 的理解更加全面和真实。随着技术的进步,可用于研究 GPCR 蛋白结构和构象变化的工具不断丰富,例如 BRET,FRET, western 杂交技术,CuP 诱导的二硫键技术等技术的发展极大 地促进了解析 GPCR 结构的工作。我们有理由相信,在全球众 多研究者的努力下,GPCR 中结构最复杂的 C 家族受体的晶体 结构将很快被完全破解。

当然,只得到 GPCR 单体的晶体结构还是远远不够的,在 复杂的生理环境和信号网络中,GPCR 以二聚体或者寡聚体形 式存在,而不同的配体可能会决定 GPCR 和一个还是和多个 G 蛋白结合,或者是直接结合抑制蛋白(arrestin)或其他细胞内的 信号蛋白。这里还有很多关键的问题有待解决:GPCR 结合不 同的下游信号蛋白的结构基础是什么?不同的配体是如何特异 性地帮助受体稳定在特定的激活态? GPCR 自组装成同源或 者异源二聚体,甚至低聚体的是基于什么结构特征?GPCR 在激 活过程中二聚体或者低聚体的构象变化和单体相比,有什么不 同之处?单体或者二聚体之间的相对位置的改变对受体的激活 有什么作用?

随着科学和技术手段的发展,可以获得更多的与不同的配体或者是胞内不同效应蛋白结合的处于完全激活态的 GPCR 的高解析度晶体结构,而这些结构将回答上面的问题。

参考文献(References)

- M.C. Lagerstrom, H.B. Schioth. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery, Nature reviews[J]. Drug discovery, 2008, 7: 339-357
- [2] J.P. Pin, J. Kniazeff, C. Goudet, et al. The activation mechanism of class-C G-protein coupled receptors[J]. Biology of the cell, 2004, 96: 335-342
- [3] R. Lappano, M. Maggiolini. G protein-coupled receptors: novel targets for drug discovery in cancer, Nature reviews [J]. Drug discovery, 2011, 10: 47-60
- [4] J. Bockaert, J.P. Pin. Molecular tinkering of G protein-coupled

receptors: an evolutionary success [J]. The EMBO journal, 1999, 18: 1723-1729

- [5] H. Unal, S.S. Karnik. Domain coupling in GPCRs: the engine for induced conformational changes [J]. Trends in pharmacological sciences, 2012, 33: 79-88
- [6] C. Brock, N. Oueslati, S. Soler, et al. Activation of a dimeric metabotropic glutamate receptor by intersubunit rearrangement [J]. The Journal of biological chemistry, 2007, 282: 33000-33008
- [7] V.M. Unger, G.F. Schertler. Low resolution structure of bovine rhodopsin determined by electron cryo-microscopy [J]. Biophysical journal, 1995, 68: 1776-1786
- [8] K. Palczewski, T. Kumasaka, T. Hori, et al. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor[J]. Science, 2000, 289: 739-745
- [9] T. Warne, M.J. Serrano-Vega, J.G. Baker, et al. Structure of a betaladrenergic G-protein-coupled receptor[J]. Nature, 2008, 454: 486-491
- [10] S.G. Rasmussen, H.J. Choi, D.M. Rosenbaum, et al. Crystal structure of the human beta2 adrenergic G-protein-coupled receptor[J]. Nature, 2007, 450: 383-387
- [11] A.C. Kruse, J. Hu, A.C. Pan, et al. Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor[J]. Nature, 2012, 482: 552-556
- [12] K. Haga, A.C. Kruse, H. Asada, et al. Structure of the human M2 muscarinic acetylcholine receptor bound to an antagonist[J]. Nature, 2012, 482: 547-551
- [13] V.P. Jaakola, M.T. Griffith, M.A. Hanson, et al. The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist[J]. Science, 2008, 322: 1211-1217
- [14] E.Y. Chien, W. Liu, Q. Zhao, et al. Structure of the human dopamine D3 receptor in complex with a D2/D3 selective antagonist [J]. Science, 2010, 330: 1091-1095
- [15] S.H. Park, B.B. Das, F. Casagrande, et al. Structure of the chemokine receptor CXCR1 in phospholipid bilayers[J]. Nature, 2012, 491: 779-783
- [16] B. Wu, E.Y. Chien, C.D. Mol, et al. Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists [J]. Science, 2010, 330: 1066-1071
- [17] D. Wacker, C. Wang, V. Katritch, et al. Structural Features for Functional Selectivity at Serotonin Receptors[J]. Science, 2013, 340: 615-619
- [18] C. Wang, Y. Jiang, J. Ma, et al. Structural Basis for Molecular Recognition at Serotonin Receptors[J]. Science, 2013, 340: 610-614
- [19] J.H. Park, P. Scheerer, K.P. Hofmann, et al. Crystal structure of the ligand-free G-protein-coupled receptor opsin [J]. Nature, 2008, 454: 183-187
- [20] T. Shimamura, M. Shiroishi, S. Weyand, et al. Structure of the human histamine H1 receptor complex with doxepin[J]. Nature, 2011, 475: 65-70
- [21] A. Manglik, A.C. Kruse, T.S. Kobilka, et al. Crystal structure of the micro-opioid receptor bound to a morphinan antagonist [J]. Nature, 2012, 485: 321-326
- [22] H. Wu, D. Wacker, M. Mileni, et al. Structure of the human kappa-opioid receptor in complex with JDTic[J]. Nature, 2012, 485: 327-332

- [23] S. Granier, A. Manglik, A.C. Kruse, et al. Structure of the deltaopioid receptor bound to naltrindole[J]. Nature, 2012, 485: 400-404
- [24] A.A. Thompson, W. Liu, E. Chun, et al. Structure of the nociceptin/orphanin FQ receptor in complex with a peptide mimetic [J]. Nature, 2012, 485: 395-399
- [25] J.F. White, N. Noinaj, Y. Shibata, et al. Structure of the agonist-bound neurotensin receptor[J]. Nature, 2012, 490: 508-513
- [26] M.A. Hanson, C.B. Roth, E. Jo, et al. Crystal structure of a lipid G protein-coupled receptor[J]. Science, 2012, 335: 851-855
- [27] C. Zhang, Y. Srinivasan, D.H. Arlow, et al. High-resolution crystal structure of human protease-activated receptor 1 [J]. Nature, 2012, 492: 387-392
- [28] N. Kunishima, Y. Shimada, Y. Tsuji, et al. Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor [J]. Nature, 2000, 407: 971-977
- [29] T. Muto, D. Tsuchiya, K. Morikawa, et al. Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104: 3759-3764
- [30] T. Muto, D. Tsuchiya, K. Morikawa, et al. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of the ligand-binding domain of metabotropic glutamate receptor 7, Acta crystallographica. Section F [J]. Structural biology and crystallization communications, 2007, 63: 627-630
- [31] Y Geng, D Xiong, L Mosyak, et al. Structure and functional interaction of the extracellular domain of human GABA (B) receptor GBR2[J]. Nature neuroscience, 2012, 15: 970-978
- [32] C.C. Reddy, A. Wells, D.A. Lauffenburger. Comparative mitogenic potencies of EGF and TGF alpha and their dependence on receptor-limitation versus ligand-limitation [J]. Medical & biological engineering & computing, 1998, 36: 499-507
- [33] F.H. Marshall, K.A. Jones, K. Kaupmann, et al. GABAB receptors the first 7TM heterodimers [J]. Trends in pharmacological sciences, 1999, 20: 396-399
- [34] M. Margeta-Mitrovic, Y.N. Jan, L.Y. Jan. A trafficking checkpoint controls GABA(B) receptor heterodimerization[J]. Neuron, 2000, 27: 97-106
- [35] H. Issafras, S. Angers, S. Bulenger, et al. Constitutive agonistindependent CCR5 oligomerization and antibody-mediated clustering occurring at physiological levels of receptors [J]. The Journal of biological chemistry, 2002, 277: 34666-34673
- [36] M.C. Overton, K.J. Blumer. The extracellular N-terminal domain and transmembrane domains 1 and 2 mediate oligomerization of a yeast G protein-coupled receptor [J]. The Journal of biological chemistry, 2002, 277: 41463-41472
- [37] S. Terrillon, L.L. Cheng, S. Stoev, et al. Synthesis and characterization of fluorescent antagonists and agonists for human oxytocin and vasopressin V (1)(a) receptors[J]. Journal of medicinal chemistry, 2002, 45: 2579-2588
- [38] D.H. Floyd, A. Geva, S.P. Bruinsma, et al. C5a receptor oligomerization. II. Fluorescence resonance energy transfer studies of a human G protein-coupled receptor expressed in yeast [J]. The Journal of biological chemistry, 2003, 278: 35354-35361

- [39] X. Zhu, J. Wess. Truncated V2 vasopressin receptors as negative regulators of wild-type V2 receptor function[J]. Biochemistry, 1998, 37: 15773-15784
- [40] K.D. Karpa, R. Lin, N. Kabbani, et al. The dopamine D3 receptor interacts with itself and the truncated D3 splice variant d3nf: D3-D3nf interaction causes mislocalization of D3 receptors [J]. Molecular pharmacology, 2000, 58: 677-683
- [41] R. Grosse, T. Schoneberg, G. Schultz, et al. Inhibition of gonadotropin-releasing hormone receptor signaling by expression of a splice variant of the human receptor[J]. Mol Endocrinol, 1997, 11: 13 05-1318
- [42] M. Benkirane, D.Y. Jin, R.F. Chun, et al. Mechanism of transdominant inhibition of CCR5-mediated HIV-1 infection by ccr5delta32[J]. The Journal of biological chemistry, 1997, 272: 3060 3-30606
- [43] T. Shioda, E.E. Nakayama, Y. Tanaka, et al. Naturally occurring deletional mutation in the C-terminal cytoplasmic tail of CCR5 affects surface trafficking of CCR5[J]. Journal of virology, 2001, 75: 3462-3468
- [44] Y. Tsuji, Y. Shimada, T. Takeshita, et al. Cryptic dimer interface and domain organization of the extracellular region of metabotropic glutamate receptor subtype 1[J]. The Journal of biological chemistry, 2000, 275: 28144-28151
- [45] J. Liu, D. Maurel, S. Etzol, et al. Molecular determinants involved in the allosteric control of agonist affinity in the GABAB receptor by the GABAB2 subunit[J]. The Journal of biological chemistry, 2004, 279: 15824-15830
- [46] E. Doumazane, P. Scholler, J.M. Zwier, et al. A new approach to analyze cell surface protein complexes reveals specific heterodimeric metabotropic glutamate receptors[J]. FASEB journal, 2011, 25: 66-77
- [47] D. Maurel, L. Comps-Agrar, C. Brock, et al. Cell-surface protein-protein interaction analysis with time-resolved FRET and snap-tag technologies: application to GPCR oligomerization [J]. Nature methods, 2008, 5: 561-567
- [48] L. Comps-Agrar, J. Kniazeff, L. Norskov-Lauritsen, et al. The oligomeric state sets GABA (B) receptor signalling efficacy[J]. The EMBO journal, 2011, 30: 2336-2349
- [49] D. Calebiro, F. Rieken, J. Wagner, et al. Single-molecule analysis of fluorescently labeled G-protein-coupled receptors reveals complexes with distinct dynamics and organization [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110: 743-748
- [50] L. Prezeau, M.L. Rives, L. Comps-Agrar, et al. Functional crosstalk between GPCRs: with or without oligomerization[J]. Current opinion

in pharmacology, 2010, 10: 6-13

- [51] J. Gonzalez-Maeso, R.L. Ang, T. Yuen, et al. Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis [J]. Nature, 2008, 452: 93-97
- [52] D. Fotiadis, Y. Liang, S. Filipek, et al. The G protein-coupled receptor rhodopsin in the native membrane [J]. FEBS letters, 2004, 564: 281-288
- [53] P. Hernanz-Falcon, J.M. Rodriguez-Frade, A. Serrano, et al. Identification of amino acid residues crucial for chemokine receptor dimerization[J]. Nature immunology, 2004, 5: 216-223
- [54] V. Katritch, V. Cherezov, R.C. Stevens. Structure-Function of the G Protein-Coupled Receptor Superfamily [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2013, 53: 531-556
- [55] W. Guo, E. Urizar, M. Kralikova, et al. Dopamine D2 receptors form higher order oligomers at physiological expression levels [J]. The EMBO journal, 2008, 27: 2293-2304
- [56] K.G. Harikumar, D.I. Pinon, L.J. Miller. Transmembrane segment IV contributes a functionally important interface for oligomerization of the Class II G protein-coupled secretin receptor [J]. The Journal of biological chemistry, 2007, 282: 30363-30372
- [57] R. Nygaard, T.M. Frimurer, B. Holst, et al. Ligand binding and micro-switches in 7TM receptor structures [J]. Trends in pharmacological sciences, 2009, 30: 249-259
- [58] G. Lebon, T. Warne, P.C. Edwards, et al. Agonist-bound adenosine A2A receptor structures reveal common features of GPCR activation [J]. Nature[J]. 2011, 474: 521-525
- [59] F. Xu, H. Wu, V. Katritch, et al. Structure of an agonist-bound human A2A adenosine receptor[J]. Science, 2011, 332: 322-327
- [60] J.M. Klco, T.B. Lassere, T.J. Baranski. C5a receptor oligomerization. I. Disulfide trapping reveals oligomers and potential contact surfaces in a G protein-coupled receptor [J]. The Journal of biological chemistry, 2003, 278: 35345-35353
- [61] W. Guo, L. Shi, M. Filizola, et al. Crosstalk in G protein-coupled receptors: changes at the transmembrane homodimer interface determine activation [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102: 17495-17500
- [62] F. Mancia, Z. Assur, A.G. Herman, et al. Ligand sensitivity in dimeric associations of the serotonin 5HT2c receptor[J]. EMBO reports, 2008, 9: 363-369
- [63] M. Yanagawa, T. Yamashita, Y. Shichida. Comparative fluorescence resonance energy transfer analysis of metabotropic glutamate receptors: implications about the dimeric arrangement and rearrangement upon ligand bindings [J]. The Journal of biological chemistry, 2011, 286: 22971-22981