

Artigo

Receptores Acoplados à Proteína G

Hoelz, L. V. B.;* De Freitas, G. B. L.; Torres, P. H. M.; Fernandes, T. V. A.; Albuquerque, M. G.; Da Silva, J. F. M.; Pascutti, P. G.; De Alencastro, R. B.

Rev. Virtual Quim., 2013, 5 (5), 981-1000. Data de publicação na Web: 4 de outubro de 2013

<http://www.uff.br/rvq>

G Protein-Coupled Receptors

Abstract: The G protein-coupled receptors (GPCRs) constitute the largest superfamily of proteins encoded by the human genome. These receptors are membrane proteins which share a common structure of seven transmembrane helices and are involved in the cellular signal transduction through activation of heterotrimeric protein (G protein) in intracellular environment. This activation signal, mediated by the agonist binding to the extracellular domain of the receptor, is transmitted into the cell and activates many signaling cascades in different physiological events such as neurotransmission, growth, metabolism, differentiation of the cell, secretion and immune defense. As a consequence, these receptors are described as therapeutic targets for more than 50% of drugs sold worldwide. Thus, the study of the molecular mechanism involving GPCRs has become essential to understand the cellular signaling and, consequently, the rational design of new therapeutic agents, *e.g.* antihypertensive drugs. Therefore, this review reports the structural characteristics, the activation mechanism, the G protein activation and the classification of these membrane proteins of huge physiological and pathophysiological importance.

Keywords: GPCR; G protein; agonist.

Resumo

Os receptores acoplados à proteína G (GPCR) constituem a maior superfamília de proteínas codificadas pelo genoma humano. Estes receptores são proteínas de membrana que compartilham uma estrutura de sete hélices transmembranares, tendo como função a transdução do sinal celular pela ativação de proteínas heterotriméricas (proteína G) no meio intracelular. Esta ativação, mediada pela interação do agonista no domínio extracelular do receptor, se propaga no meio intracelular, ativando diversas cascatas de sinalização em diferentes processos fisiológicos como neurotransmissão, crescimento, metabolismo, diferenciação celular, secreção e defesa imunológica. Por atuarem em sistemas fisiológicos fundamentais para a vida humana, estas proteínas são alvos terapêuticos para mais de 50% dos fármacos vendidos no mundo inteiro. Desta forma, a compreensão do mecanismo molecular envolvendo esses receptores tornou-se fundamental para o entendimento da sinalização celular e, conseqüentemente, o desenvolvimento racional de novos agentes terapêuticos, *e.g.*, anti-hipertensivos. Assim, esta revisão descreve as características estruturais, o mecanismo de ativação, a ativação de proteínas G e o sistema de classificação dessas proteínas de membrana de grande importância fisiológica e patofisiológica.

Palavras-chave: GPCR; proteína G; agonista.

* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Bloco D - 1º andar - Sala D1-030, Cidade Universitária - Ilha do Fundão, CEP 21941-902 Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ lucashoelz@yahoo.com.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20130071](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130071)

Receptores Acoplados à Proteína G

Lucas V. B. Hoelz,^{a,*} Guilherme B. L. de Freitas,^b Pedro Henrique M. Torres,^a Tácio Vinício A. Fernandes,^a Magaly G. Albuquerque,^c Joaquim Fernando M. da Silva,^d Pedro G. Pascutti,^a Ricardo B. de Alencastro^c

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Modelagem e Dinâmica Molecular, Departamento de Biofísica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Bl. G, Sl. G1-019, CEP 21941-902, Cidade Universitária, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^b Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, , Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

^c Universidade Federal do Rio de Janeiro, Laboratório de Modelagem Molecular, Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida Athos da Silveira Ramos, 149, Bl. A, 7º andar, CEP 21941-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^d Universidade Federal do Rio de Janeiro, Polo de Xistoquímica, Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Avenida Athos da Silveira Ramos, 149, Bl. A, 7º andar, CEP 21941-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

* lucashoelz@yahoo.com.br

Recebido em 11 de junho de 2013. Aceito para publicação em 4 de agosto de 2013

1. Introdução
2. Características estruturais dos GPCRs
3. Ativação dos GPCRs
4. Ativação subsequente de proteínas G
5. Sistema de classificação dos GPCRs
6. Considerações finais

1. Introdução

A transdução de sinais é um processo biológico fundamental que coordena as funções celulares, mantendo a homeostasia em todos organismos.¹ Muitas atividades celulares são reguladas por sinais extracelulares gerados por agonistas ou

mecanismos de mecanotransdução,² os quais são reconhecidos via ativação de diferentes classes de receptores localizados na superfície celular.³⁻⁵ Dessa forma, as proteínas de membrana agem como uma interface de comunicação entre os ambientes externos e internos da célula, sendo também alvos terapêuticos de diversas classes de

fármacos^(*), e.g. receptor de GABA_A (ansiolíticos, antiepiléticos e anestésicos),⁶ receptor de insulina (hipoglicemiantes),⁷ receptor do fator de crescimento vascular endotelial (antitumorais)⁸ e β_1 -adrenoreceptor (anti-hipertensivos).⁹

Dentre as várias famílias de receptores de membrana, a superfamília de receptores acoplados à proteína G (*G protein-coupled receptors*, GPCRs) se destaca por participar ativamente em diversos processos fisiológicos.¹⁰⁻¹² Os GPCRs são proteínas de membrana que constituem a maior superfamília de proteínas codificadas pelo genoma humano, com mais de 800 genes.¹³⁻¹⁶ Quando ativados, estes receptores atuam em conjunto com proteínas citosólicas (conhecidas como proteínas G) traduzindo o sinal do meio extracelular para o meio intracelular.^{5,17,18} Consequentemente, uma cascata de sinalizações é ativada no meio intracelular, proporcionando enfim a resposta celular.

A ativação destes receptores é mediada pela interação, em seu domínio extracelular, de vários tipos de moléculas bioativas, incluindo íons, aminas biogênicas, aminoácidos, peptídeos, lipídeos, nucleotídeos e proteínas.^{4,14,19-23} Como resultado, os GPCRs desempenham um papel importante em muitos processos fisiológicos (e.g. neurotransmissão, crescimento, metabolismo e diferenciação celular, secreção e defesa imunológica), sendo alvos terapêuticos de mais de 50% dos fármacos vendidos no mundo inteiro.^{4,19,20-24} Assim, o objetivo desta revisão é descrever as características estruturais, o mecanismo de ativação, a transdução de sinal celular e o sistema de classificação dessas proteínas de membrana de grande importância fisiológica e patofisiológica, compilando dados na literatura atual a fim de facilitar o acesso à informações sobre estes importantes sistemas biológicos.

2. Características estruturais dos GPCRs

Embora exista uma diferença considerável no tamanho molecular dos GPCRs, a estrutura de todos os membros dessa superfamília apresenta sete α -hélices que transpassam a membrana celular (domínios transmembranares, TMs), expondo a região amino-terminal (*N*-terminal) e três alças de interligação (EL1, EL2 e EL3) no meio extracelular, e a região carboxi-terminal (*C*-terminal) juntamente com outras três alças de interligação (CL1, CL2 e CL3), no meio intracelular (Figura 1A). As alças CL1, CL2 e CL3 ficam ligadas à proteína G no meio intracelular, que possui a função de propagar o sinal de ativação que se inicia no domínio extracelular do receptor. Adicionalmente, a organização da estrutura terciária destes receptores é semelhante à de um canal, formando uma cavidade polar e interiorizada na membrana entre os sete TMs, originando sítios de ligação oclusos (Figura 1B) ou expostos (Figura 1C).^{1,5,25-28} Estas informações estruturais foram baseadas, inicialmente, em estudos de difração de elétrons de baixa resolução e em predições estruturais, utilizando ferramentas de bioinformática e modelagem molecular.^{5,29}

Recentemente, Kooistra e colaboradores (2013) mostraram, através de técnicas computacionais, que, apesar da topologia conservada dos sete TMs dentre os GPCRs, as características estruturais das interações entre ligante e receptor são bastante diversificadas.³⁰ Assim, devido à essa diversidade, torna-se impraticável extrapolar dados observados em um determinado receptor para os demais membros dessa superfamília.³¹ Adicionalmente, apesar dos métodos computacionais terem avançado bastante nas duas últimas décadas, em alguns casos, a aplicação dessas metodologias falha em reproduzir os resultados experimentais de maneira precisa e validada. Isso ocorre quando não existe sequência primária da proteína alvo, quando os moldes proteicos apresentam baixa

(*) Substância ativa de origem humana, animal, vegetal ou química a qual se atribui uma atividade apropriada para constituir um medicamento.

identidade ou ainda quando os alvos apresentam regiões não conservadas e com alta flexibilidade.³¹

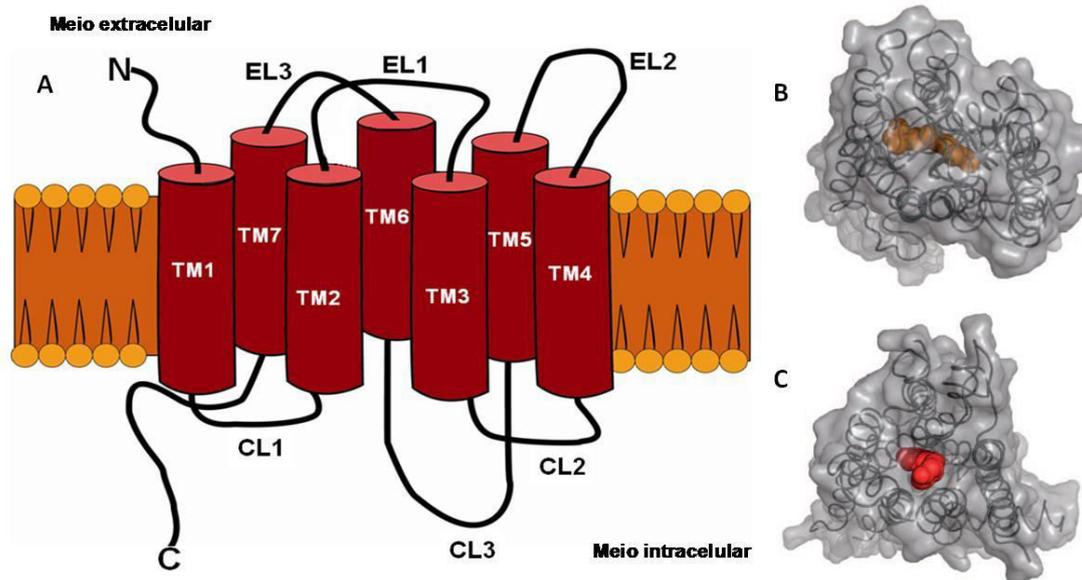


Figura 1. (A) Representação das características estruturais dos GPCRs, mostrando o arranjo espacial dos sete domínios transmembranares (TMs), assim como as regiões amino e carboxi-terminais e as alças de interligação localizadas no meio extracelular (EL1, EL2 e EL3) e intracelular (CL1, CL2 e CL3). (B) Região extracelular do receptor bovino de rodopsina com o ligante no sítio de ligação ocluso. (C) Região extracelular do receptor humano A_{2A} de adenosina com o ligante no sítio de ligação exposto para o meio extracelular (adaptado de Venkatakrishnan *et al.*, 2013)¹

Com o avanço das técnicas experimentais de difração de raios-X, novas estruturas de GPCRs foram resolvidas e depositadas no servidor *Protein Data Bank*³² (PDB), por exemplo, rodopsina;^{27,33-42} β_1 - e β_2 -adrenoceptores;⁴³⁻⁵¹ receptor A_{2A} de adenosina (A_{2A}R);^{52,53} receptor D₃ de dopamina⁵⁴ e receptor CXCR₄ de quimiocina.⁵⁵ Além disso, o receptor humano de quimiocina foi o primeiro GPCR determinado através da técnica de espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN), o que provavelmente abrirá espaço para resolução de novas estruturas.⁵⁶⁻⁵⁹ A Figura 2 representa uma linha do tempo com todas as estruturas de GPCRs depositadas no PDB até o momento (maio de 2013).

Embora a cristalografia por difração de raios-X seja uma técnica utilizada há décadas, tendo um reconhecido histórico de sucesso, o

processo de cristalização de uma proteína é complexo ou mesmo inviável, devido a fatores como regiões intrinsecamente desordenadas e amostras com propriedades conformacionais heterogêneas. Consequentemente, a etapa mais crítica na determinação de estruturas baseadas em raios-X continua sendo a obtenção de cristais de alta qualidade. No entanto, novas estratégias relacionadas à cristalografia por difração de raios-X vêm sendo utilizadas. Estas incluem a utilização de anticorpos,^{49,63-65} receptor para lisozima T4,^{44,46,66} termoestabilização dos GPCRs por mutagenese de varrimento (scanning) sistemático^{47,53,67} ou até mesmo por introdução de ligações dissulfídicas,^{38,68} o que reduz a flexibilidade da proteína possibilitando a cristalização na conformação ativa, intermediária ou inativa, dependendo do ligante complexado.

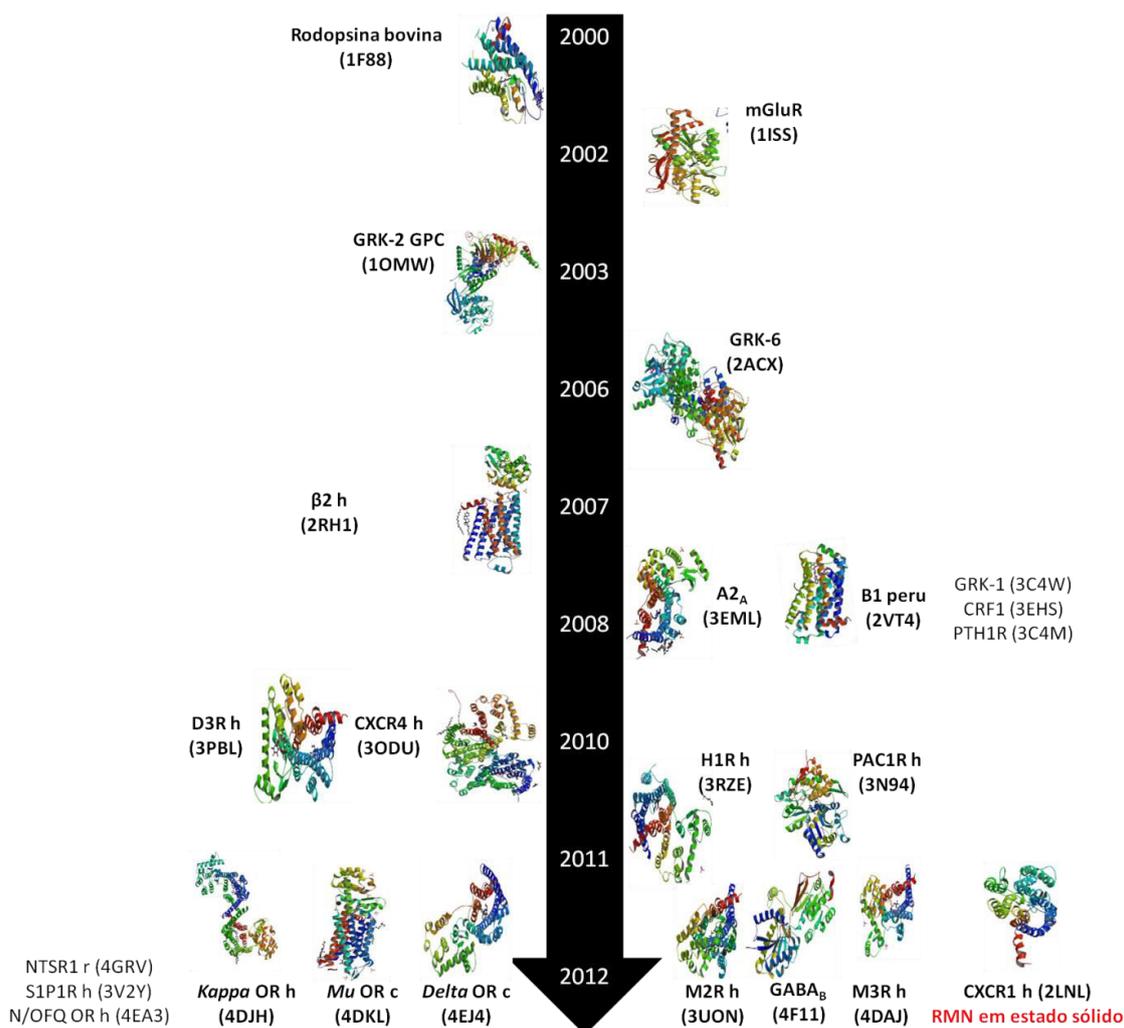


Figura 2. Linha do tempo representando as estruturas de GPCRs depositadas no servidor PDB com os respectivos códigos destacados entre parênteses: mGluR (receptor metabotrópico de glutamato); GRK-2 GPC (receptor de quinase 2 acoplado à proteína G); GRK-6 (receptor de quinase 6); β_2 h (β_2 -adrenoceptor humano); A_{2A} (receptor de adenosina A_{2A}); β_1 peru (β_1 -adrenoceptor de peru); GRK-1 (receptor de quinase 1); CRF1 (receptor do fator de liberação de corticotropina do tipo 1); PTH1R (receptor 1 do hormônio de paratiróide); D3R h (receptor 3 de dopamina de humano); CXCR4 h (receptor 4 de quimocina de humano); H1R h (receptor 1 de histamina de humano); PAC1R h (receptor do tipo 1 do polipeptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária de humano); Kappa OR h (receptor opióide Kappa de humano); Mu OR h (receptor opióide Mu de humano); Delta OR h (receptor opióide Delta de humano); NTSR1 r (receptor 1 de neurotensina de rato); S1P1R h (receptor de esfingosina 1-fosfato de humano); N/OFQ OR h (receptor de nociceptina/orfanina FQ de humano); M2R h (receptor muscarínico 2 de humano); GABA_B (Receptor B do ácido gama aminobutírico de humano); M3R h (receptor muscarínico 3 de humano); CXCR1 h (receptor 1 de quimiocina de humano)

Apesar desse avanço, alguns pontos devem ser destacados. O primeiro é que, com o emprego destes novos métodos de cristalização, as modificações pós-traducionais (MPTs) são frequentemente removidas ou não incorporadas durante o

processo de purificação da proteína. As MPTs são eventos de processamento que alteram as propriedades das proteínas através da glicosilação de resíduos, clivagem proteica ou adição de um ou mais aminoácidos. Essas modificações podem determinar as estruturas terciárias e quaternárias, além de regularem as atividades, localização e funções de uma proteína.⁶⁹ Proteínas quinases, por exemplo, alternam suas conformações ativas ou inativas através de MPTs coordenadas respectivamente pela adição ou remoção de grupos fosfatos a aminoácidos específicos, como tirosina ou treonina.⁷⁰ Outro ponto que deve ser destacado é o aumento evidente da restrição conformacional de regiões flexíveis (alças e regiões *N*- e *C*-terminais) o que limita a compreensão funcional e estrutural das mesmas. Além disso, podem ocorrer indiretamente alterações na mobilidade de outras regiões, como, por exemplo, hélices TM e até mesmo modificações na interação por encaixe induzido, gerando possíveis erros de interpretação estrutural. Portanto, a relação custo-benefício deverá ser sempre avaliada antes de utilizar tais estratégias.

Por outro lado, a espectroscopia de RMN consegue determinar estruturas de proteínas tanto em solução quanto em estado sólido, sem a necessidade de obter cristais como na técnica de cristalografia por difração.^{57,58} A técnica por RMN é particularmente útil em definir a conformação de proteínas com baixo peso molecular, bem como proteínas com regiões intrinsecamente desordenadas.⁵⁹ Entretanto, deficiências inerentes a técnica assim como limitações da espectroscopia restringem a caracterização de alta qualidade quando a proteína apresenta alto peso molecular. Apesar dessa limitação, a elucidação estrutural por RMN permite o monitoramento das mudanças conformacionais da proteína ou do complexo ligante-proteína quando ocorrem mudanças nas condições da amostra, sendo, portanto, extremamente útil no estudo da dinâmica de proteínas.⁶⁰⁻⁶² Com isso, torna-se evidente que a caracterização do receptor CXCR1 (código do PDB: 2LNL) por RMN, fornece uma

nova perspectiva de estudo não apenas tridimensional, como também estudos onde as mudanças conformacionais podem ser observadas em tempo real.

3. Ativação dos GPCRs

A comunicação celular é um processo fisiológico fundamental no controle da homeostasia, assim como na deflagração de uma enfermidade. Geralmente, todo o processo se inicia com a liberação de moléculas, sejam pequenos neurotransmissores ou até mesmo grandes fatores de sinalização, que poderão ser distribuídos por uma distância curta, caso desempenhem sua função em células vizinhas (sinalização parácrina), ou para vários outros tecidos (sinalização endócrina). De uma maneira mais simples, podemos dizer que esses mensageiros extracelulares carregam consigo a capacidade de iniciar ou inibir processos de sinalização a fim de obter uma resposta biológica específica e, em geral, fundamental naquele instante. Entretanto, em muitos casos, esses mensageiros moleculares não conseguem atingir diretamente a cascata no citoplasma. Ao invés disso, a mensagem é transferida através da ativação de um receptor na membrana celular e o sinal é, conseqüentemente, enviado para a cascata de sinalização. No caso específico dos GPCRs, estes receptores, juntamente com a proteína G, formam a ponte central na cadeia de comunicação com o meio extracelular, que é ativada sempre que o GPCR a ela acoplado entra em contato com seus agonistas.⁷¹

Em muitos GPCRs, o sítio de ligação dos agonistas endógenos se localiza na cavidade formada pelos sete TMs (Figura 3A).⁷²⁻⁷³ No entanto, em outros tipos de GPCRs, como os receptores de hormônios peptídicos, o sítio de ligação é formado pelas alças extracelulares e alguns resíduos dos domínios TMs (Figura 3B).^{4,19,21-23,73} Além disso, em receptores de neurotransmissores, como o

receptor de glutamato (Figura 3C)^{73,74} e os receptores de hormônios glicoproteicos (Figura 3D),^{73,75} o sítio de ligação está

localizado na região *N*-terminal, que é extensa e muito estruturada.

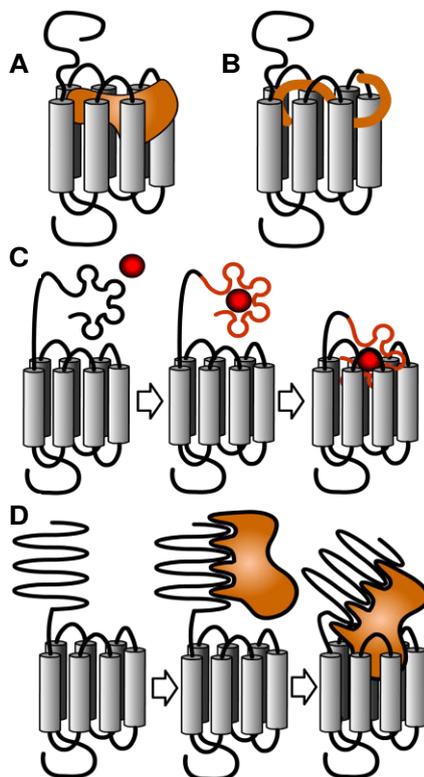


Figura 3. Representação dos modos de ligação distintos observados na interação de ligantes com os GPCRs: **(A)** receptores de fótons, aminas biogênicas, nucleosídeos, icosanóides e grupos lipídicos (ácido lisofosfatídico e 1-fosfato de esfingosina); **(B)** receptores de aminoácidos neuropeptídeos; **(C)** receptores de glutamato; **(D)** receptores de hormônios glicoproteicos (adaptado de Ji *et al.*, 1998)⁷³

De acordo com Rubenstein e colaboradores (1998), os GPCRs estão em um equilíbrio conformacional entre os estados ativo e inativo.⁷⁶ Assim, a interação de agonistas plenos ou parciais altera esse equilíbrio na direção do estado ativo, enquanto que a interação de antagonistas direcionam o equilíbrio para o estado inativo do receptor. Kobilka e Deupi (2007)

propuseram que a energia do complexo agonista-receptor é usada para alterar a rede de interações intramoleculares que estabilizam o receptor no estado inativo, favorecendo a conformação ativa do GPCR. A Figura 4 mostra dois possíveis modos de quebra destas interações, influenciando, assim, a mudança do arranjo conformacional dos TMs.⁷⁷

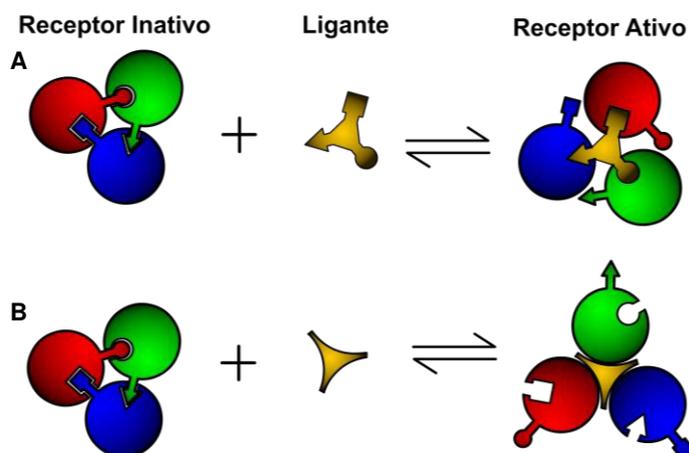


Figura 4. Possíveis mecanismos de ativação dos GPCRs mediada por agonistas: **(A)** o agonista quebra e liga-se diretamente nos aminoácidos envolvidos nas ligações intramoleculares que estabilizam o estado inativo do receptor, levando o receptor para um estado ativo; **(B)** a ligação do agonista quebra as interações que estabilizam o receptor no estado inativo, estabelecendo um novo conjunto de interações com o receptor, levando-o para um estado ativo (adaptado de Kobilka *et al.*, 2007).⁷⁷

No primeiro caso (Figura 4A), os agonistas podem efetuar a mudança conformacional simplesmente quebrando as interações intramoleculares existentes no estado inativo do receptor, ligando-se diretamente aos aminoácidos envolvidos nestas interações e, assim, estabilizando o estado ativo de conformação.⁷⁷ Por outro lado, no segundo mecanismo (Figura 4B) os agonistas podem servir como pontes, quebrando as interações de estabilização do estado inativo e fazendo novas interações com o receptor, que estabilizam o estado ativo do receptor.

No entanto, esses dois mecanismos podem ocorrer simultaneamente para qualquer molécula ativadora (*i.e.* agonista), em particular para ligantes de maiores dimensões, como os agonistas peptídicos.⁷⁷ De qualquer modo, em ambos os modelos apresentados na Figura 4, não existe um sítio de ligação pré-existente para agonistas no estado inativo do receptor. Assim, para que o ligante interaja com o receptor, deve haver também um conjunto de transições conformacionais na estrutura do GPCR que permita a exposição dos resíduos do sítio de ligação.⁷⁷

As interações intramoleculares não-covalentes relacionadas com o processo de ativação são definidas como “interruptores moleculares”, que existem no estado inativo dos GPCRs e que devem ser quebradas para ativar o receptor. Um determinado GPCR pode ter vários interruptores moleculares. Por exemplo, nos GPCRs que são estruturalmente semelhantes à rodopsina, os principais interruptores descritos na literatura são a tranca iônica e o rotâmero de alternância.⁷⁷

A tranca iônica consiste numa ponte salina formada entre a arginina (situada no TM3) do motivo estrutural DRY, formado pelos resíduos Asp^{3.49(†)}, Arg^{3.50} e Tyr^{3.51}, e o

(†) Os resíduos conservados dentre os GPCRs semelhantes à rodopsina (*e.g.*, Asp^{3.49}) são numerados de acordo com o esquema desenvolvido por Ballesteros e Weinstein, que identifica o TM, *i.e.*, 3, e a posição, *i.e.*, 49, que esse resíduo se encontra no TM (Ballesteros *et al.*, 2001).

glutamato (Glu^{6.30}) (situado no TM6), ambos localizados na região citoplasmática do receptor (Figura 5A).⁷⁷ A interação iônica entre esses dois resíduos estabiliza a conformação inativa do receptor.^{77,78}

O rotâmero de alternância parece estar envolvido na ativação dos receptores de amina e opsina.⁷⁹ Esse interruptor molecular envolve os resíduos Cys^{6.47}, Trp^{6.48} e Phe^{6.52}, localizados no TM6. Simulações estocásticas utilizando o algoritmo de Monte Carlo sugerem que as mudanças conformacionais

das cadeias laterais destes resíduos são acopladas e aumentam o ângulo de curvatura do TM6 no estado ativo do receptor, tendo como ponto de torção o resíduo de Pro288^{6.50} (Figura 5B).⁷⁹

Alguns estudos experimentais, utilizando o H β_2 AR, propõem que estes dois interruptores moleculares (*i.e.* tranca iônica e o rotâmero de alternância) podem ser ativados independentemente um do outro e que determinados agonistas se diferenciam na capacidade de ativá-los.^{77,78}

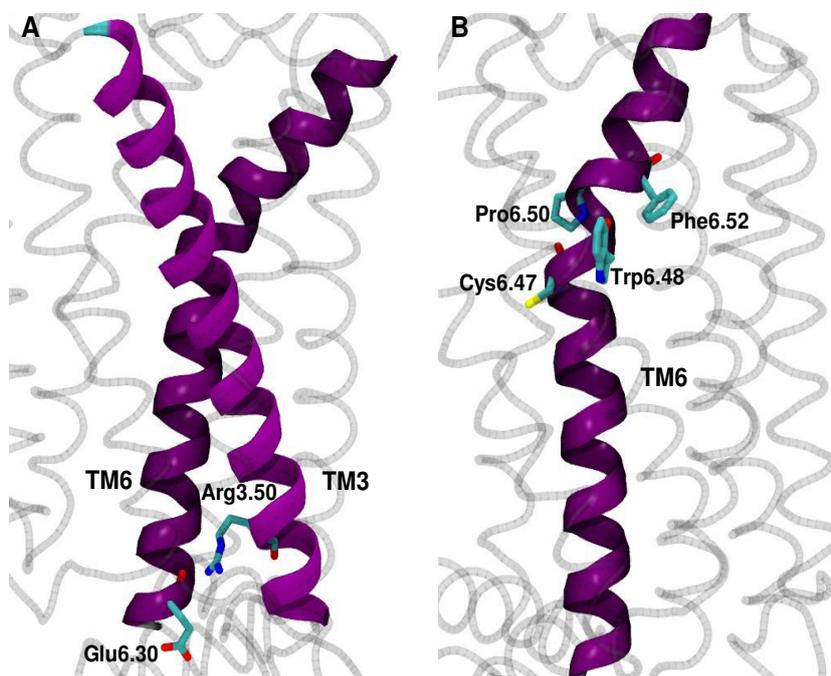


Figura 5. Representação dos interruptores moleculares encontrados no cristal de H β_2 AR (código PDB: 2RH1): (A) tranca iônica; (B) rotâmero de alternância

Muitos estudos experimentais analisaram as mudanças conformacionais dos GPCRs, durante a ativação mediada por agonistas, incluindo os receptores: rodopsina, H β_2 AR e muscarínico M3.⁸⁰⁻⁸⁶ Observou-se que a ativação da rodopsina envolve um movimento de corpo rígido, principalmente dos TM3 e TM6, onde o movimento do TM6 apresenta uma amplitude maior do que o do TM3. Mudanças conformacionais também foram observadas no TM2, embora de menor amplitude quando comparadas àquelas do TM6 e do TM3 (Figura 6).⁸⁷⁻⁸⁹ Outros estudos indicam um movimento de rotação do TM6

no sentido horário, quando visto do meio intracelular, e o afastamento das regiões citoplasmáticas dos TM6 e TM3.⁹⁰ Adicionalmente, Altenbach e colaboradores propuseram que as regiões citoplasmáticas do TM7 e do TM1 também se afastam, assim como o TM2 e a H8.⁹¹

Os dados obtidos a partir destes estudos foram semelhantes aos estudos com outros GPCRs similares à rodopsina, sugerindo que, pelo menos este grupo de receptores compartilham um mecanismo de rearranjo conformacional durante a ativação.^{80-82,85,86,92}

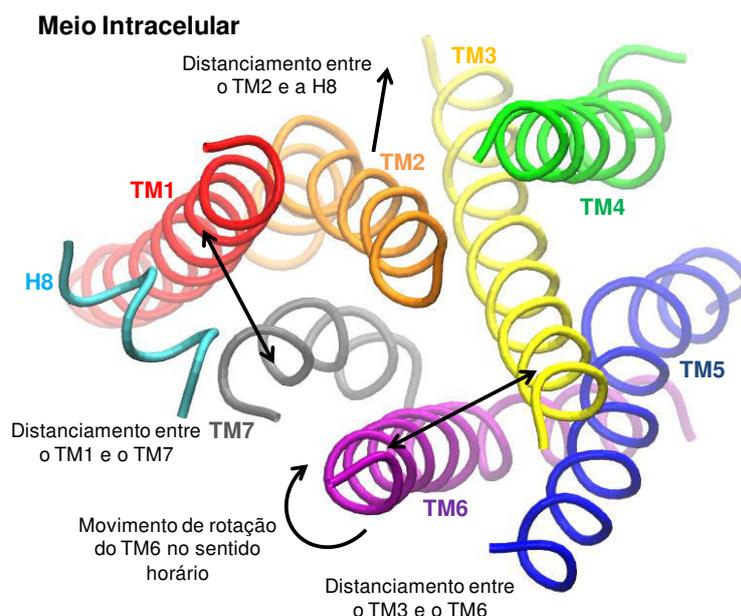


Figura 6. Movimentos dos sete TMs apresentados pelos GPCRs semelhantes à rodopsina, durante a ativação mediada por agonistas (adaptado de Dezi *et al.*, 2007)¹⁴

4. Ativação subsequente de proteínas G

A mudança conformacional mediada pela interação do agonista ativa o receptor, promovendo a interação com um ou mais membros da família de proteínas G (Figura 7A). No entanto, alguns estudos relatam que as proteínas G também podem ser constitutivamente associadas ou pré-acopladas aos GPCRs.^{5,93,94} Estas proteínas são GTPases formadas por três subunidades designadas (pelo tamanho decrescente) α (*alfa*), β (*beta*) e γ (*gama*). As diferenças encontradas na subunidade α permitem a classificação em distintas famílias de proteínas G.¹⁷

Em 1995, Wall e colaboradores resolveram por difração de raios-X a estrutura tridimensional de uma proteína-G (código do PDB: 1GG2, Figura 7B) tornando

mais clara a relação entre as subunidades α , β e γ e elucidando parte do mecanismo de ativação intracelular dos receptores metabotrópicos e as características físico-químicas dessa proteína.⁹⁵

Existem pelo menos treze tipos de proteínas G, divididas em quatro famílias: $G\alpha$ estimulatória ($G\alpha_s$); $G\alpha$ inibitória ($G\alpha_i$); $G\alpha$ ativadora de fosfolipase C ($G\alpha_q/11$); e $G\alpha$ que interage com transportadores de íons ($G\alpha_{12/13}$). Cada família é composta por vários membros que compartilham semelhança estrutural e, frequentemente, propriedades funcionais.^{18,96-98} A Tabela 1 mostra a divisão das famílias de proteínas G heterotriméricas, os genes relacionados com sua expressão, as regiões no organismo onde são encontradas (distribuição) e os mecanismos de ação intracelular associados com cada membro de uma família em particular.

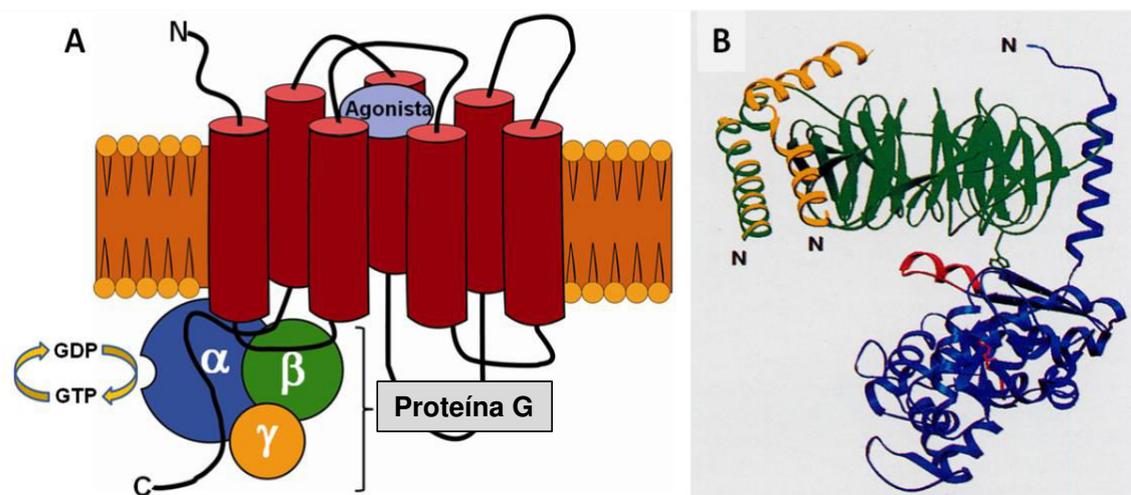


Figura 7. (A) Representação da estrutura da proteína G acoplada ao GPCR, mostrando as subunidades $G\alpha$, $G\beta$ e $G\gamma$; (B) Estrutura heterotrimérica com a subunidade α_{i1} colorida em azul (resíduos 199-216 em vermelho), a subunidade β_1 está em verde e γ_2 em amarelo (adaptado de Wall *et al.*, 1995).⁹⁵

Tabela 1. Famílias das proteínas G heterotriméricas: nome, gene, distribuição e mecanismo de ação intracelular (adaptado de Wettschureck *et al.* 2005 e Wang *et al.* 2013)¹⁸⁻⁹⁶

NOME	GENE	DISTRIBUIÇÃO	MECANISMO DE AÇÃO INTRACELULAR
Subunidade α			
Família $G\alpha_s$			
$G\alpha_s$ (estimulatória)	GNAS	Ubíquo	^a AC (Todos os tipos) ↑
$G\alpha_{sXL}$ (variante com amino terminal estendido)	(GNASXL)	Neuroendócrino	AC ↑
$G\alpha_{sOLF}$ (do tipo olfatório)	GNAL	Epitélio olfatório, cérebro	
Família $G\alpha_i/o$			
$G\alpha_{i1}$ (inibitória tipo 1)	GNAI1	Amplamente distribuído	
$G\alpha_{i2}$ (inibitória tipo 2)	GNAI2	Ubíquo	AC (tipos I,III,V,VI,VIII,IX) ↓
$G\alpha_{i3}$ (inibitória tipo 3)	GNAI3	Amplamente distribuído	
$G\alpha_o$ (ação inibitória de canais de Ca^{+2})	GNAO	Neuronal, neuroendócrino	^b VDCC↓, ^c GIRK1 ↑
$G\alpha_z$ (resistente à toxina pertussica)	GNAZ	Neuronal, plaquetas	

$G\alpha_{\text{gust}}$ (variante presente em células gustativas)	GNAT3	Células gustativas, células em escova	^d PDE ↑
$G\alpha_{\text{t-r}}$ (transducina de bastonetes)	GNAT1	Bastonetes da retina, células gustativas	PDE 6 ↑
$G\alpha_{\text{t-c}}$ (transducina de cones)	GNAT2	Cones da retina	
Família $G\alpha_{\text{q/11}}$			
$G\alpha_{\text{q}}$ (ação estimulatória de PLC)	GNAQ	Ubíquo	
$G\alpha_{11}$ (variante tipo 11)	GNA11	Quase ubíquo	^e PLC ↑
$G\alpha_{14}$ (variante tipo 14)	GNA14	Rins, pulmão, baço	
$G\alpha_{15/16}$ (variante tipo 15/16)	GNA16 (Gna15)	Células hematopoiéticas	
Família $G\alpha_{12/13}$			
$G\alpha_{12}$ (variante tipo 12)	GNA12	Ubíquo	^f PDZ- ^g RhoGEF/LARG, ⁱ Btk, Gaplm, caderina
$G\alpha_{13}$ (variante tipo 13)	GNA13	Ubíquo	^h p115RhoGEF, PDZ, PDZ-RhoGEF/LARG, radixina

^aAC, adenilato ciclase; ^bVDCC, canal de Ca^{2+} dependente da voltagem; ^cGIRK, canal retificador de K^{+} regulado pela proteína G; ^dPDE, fosfodiesterase; ^ePLC, fosfolipase C; ^fPDZ, domínio estrutural, com cerca de 80-90 aminoácidos, encontrado em proteínas sinalizadoras de bactérias, vírus, leveduras, plantas e animais.⁹⁹ ^gRhoGEF, fator de troca do nucleotídeo guanosina para GTPases Rho. ^hP115, fator de transporte essencial para o tráfego de proteínas do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi. ⁱBtk, tirosina quinase de Bruton.¹⁰⁰

Com a ativação do GPCR, a conformação da proteína G também muda, induzindo a troca de uma molécula de GDP (difosfato de guanina) por GTP (trifosfato de guanina) no sítio catalítico localizado na subunidade $G\alpha$. O complexo GTP- $G\alpha$ se dissocia das subunidades β e γ ($G\beta\text{-}\gamma$),¹⁰¹ transmitindo o sinal celular para uma variedade de efetores

intracelulares de ativação ou inibição de enzimas (*e.g.* adenilato ciclase, GMPC fosfodiesterases e fosfolipases) e/ou de canais iônicos (*e.g.* os canais de potássio e cálcio dependentes da voltagem), aumentando a concentração de segundos mensageiros no meio intracelular (Figura 8).^{2,5,101-102}

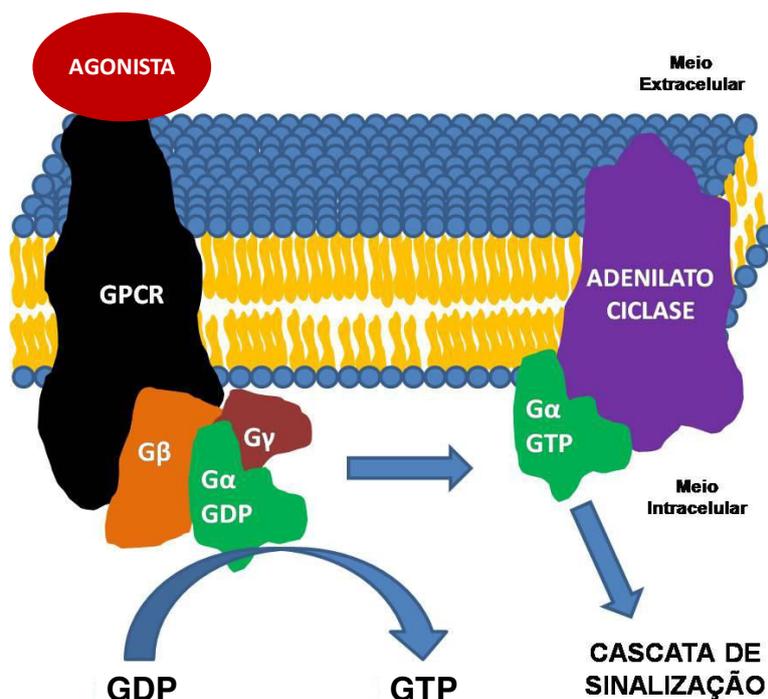


Figura 8. Representação esquemática da ativação da proteína G através de um estímulo extracelular desempenhado por um agonista

Simultaneamente, $G\alpha$ catalisa lentamente a desfosforilação da molécula de GTP para GDP, resultando na reassociação da $G\alpha$ com $G\beta\gamma$ e, desta forma, o retorno da proteína G ao estado inativo.^{101,102} Uma variação deste sistema permite que um receptor ative mais de uma proteína G, como descrito anteriormente. Além disso, a ativação simultânea de mais de um tipo de GPCR resulta na iniciação de múltiplos sinais celulares, que podem interagir entre si (um fenômeno comumente descrito como *cross-talk*).^{5,101} Esta interação pode ocorrer de várias formas: se ambos os receptores têm uma via de transdução de sinal em comum, a ativação pode aumentar a resposta celular. Por outro lado, se a ativação simultânea gera transdução de sinais opostos, a resposta celular pode ser atenuada. Outros tipos de interações podem incluir a dessensibilização, ativação de outros receptores ou vias de segundos mensageiros.¹⁰⁰ O resultado final do processo de ativação de múltiplos sinais gera uma resposta celular integrada.^{5,102}

5. Sistema de classificação dos GPCRs

Vários sistemas de classificação foram usados para organizar a superfamília de GPCRs em classes ou famílias.^{19,104-106} Alguns sistemas agrupam estes receptores de acordo com a região de interação de seus ligantes, com a identidade da sequência primária ou com as características fisiológicas e estruturais.^{5,19,108}

A base de dados GPCRDB utiliza um dos mais populares sistemas de classificação, dividindo os GPCRs de forma hierárquica.^{109,110} Neste sistema de classificação, os GPCRs são organizados em quatro níveis: classe (ou família), subclasses (ou subfamílias), tipos e subtipos de receptores. Na última versão da GPCRDB (03/2012), a superfamília de GPCRs foi dividida em cinco classes distintas (**Tabela 2**) de acordo com os ligantes endógenos.¹¹¹⁻¹¹⁴ Esse sistema agrupa os GPCRs dentro de 5 famílias principais: semelhantes à rodopsina (Classe A), semelhantes ao receptor de

secretina (Classe B), receptores metabotrópicos de glutamato/feromônio (Classe C), receptores vomeronasais e receptores de paladar.

Apesar de possuir apenas 19 subfamílias, a classe A é a maior e mais estudada, sendo constituída por aproximadamente 90% dos membros da superfamília de GPCRs (Tabela 3).^{104, 115-117} No entanto, apesar de

pertencerem à mesma classe, a identidade global da sequência de todos os receptores semelhantes à rodopsina é baixa e restrita a um pequeno número de resíduos de aminoácidos muito conservados e distribuídos em cada um dos sete domínios TMs, o que implica no compartilhamento de características estruturais e do mecanismo de ativação.^{19,23,72,106}

Tabela 2. Classes ou famílias de GPCRs com seus respectivos números de subclasses ou subfamílias (adaptado da base de dados GPCRDB, 2013)

CLASSES OU FAMÍLIAS	NÚMERO DE SUBCLASSES OU SUBFAMÍLIAS
Classe A - GPCRs semelhantes à rodopsina	19
Classe B - GPCRs semelhantes ao receptor de secretina	34
Classe C - GPCRs de glutamato metabotrópico / feromônio	8
GPCRs vomeronasais (V1R e V3R)	12
GPCRs de paladar (T2R)	0
Receptores de AMP cíclico (CAR)	0

Tabela 3. Subclasses ou subfamílias da classe A (receptores semelhantes à rodopsina) com a respectiva quantidade de tipos de receptores (adaptado da base de dados GPCRDB, 2013)

SUBCLASSE OU SUBFAMÍLIA	QUANTIDADE DE TIPOS DE RECEPTORES
Amina	7
Peptídeo	32
Hormônio protéico	5
Opsina	9
Olfatório	290
Prostanóide	3
Semelhante à nucleotídeo	2
Canabinóide	2
Fator ativador de plaqueta	0
Hormônio liberador de gonadotrofina	4
Hormônio liberador de tireotrofina	3
Melatonina	2

Viral	4
Lisoefingolípídeo e ácido fosfatídico	12
Receptor de leucotrieno B4	2
Receptor de hormônio de ecdisa	0
Receptor de ácido hidrocarboxílico	2
CAPA (Neuropeptídeos)	0
Órfãs da classe A	15

Os GPCRs semelhantes ao receptor de secretina (classe B) constituem a segunda maior classe, que inclui receptores para peptídeos como: secretina, glucagon, peptídeos semelhantes ao glucagon (GLP), peptídeo relacionado ao gene de calcitonina, hormônio paratireoidiano (PTH) e fator de liberação de corticotropina. Em comparação com os GPCRs de classe A, esses receptores exibem uma grande cavidade descrita como potencial sítio para ligação de peptídeos. Apesar da semelhança do estrutural dos sete TMs, as hélices TM6 e TM7 apresentam diferenças significativas em seu arranjo tridimensional do ponto de vista do meio extracelular. Além disso, esta classe não apresenta o domínio H8, presente no C-terminal dos receptores de classe A.^{118,119}

A recém identificada classe C de GPCRs possui como agonistas endógenos moléculas como íons, aminoácidos e açúcares. Seus membros incluem receptores metabotrópicos de glutamato (receptores mGlu), receptores de ácido γ -aminobutírico (receptores GABA_B), receptores sensíveis Ca²⁺ (receptores CaS), receptores de paladar (do inglês *taste receptor type 1*, T1Rs), receptores de feromônios (receptores vomeronasais do tipo 2, V2R), receptores olfativos nos peixes e diversos receptores órfãos. A característica estrutural para esta classe é o domínio N-terminal notavelmente grande e estruturado.¹²⁰ Outra característica da classe C é a dimerização obrigatória, como homodímeros (receptores de mGlu e de CaS) ou heterodímeros (receptores de GABA_B e de T1Rs). A interação alostérica entre os diferentes domínios de dímero resulta em

um processo de ativação particularmente complexo.¹²⁰⁻¹²²

A classe de GPCRs vomeronasais são descritos como potenciais receptores de feromônios identificados no órgão vomeronasal (*i.e.*, órgão quimiossensorial localizado na base do septo nasal de animais), são receptores que apresentam características estruturais comuns aos demais GPCRs e, diferente dos receptores V2R (classe C) possuem uma região N-terminal curta.¹²³

A classe T2R de GPCRs possui receptores de paladar que detectam o sabor amargo. Os ligantes que ativam os receptores T2R têm estruturas químicas variadas e incluem alcaloides naturais, como o quinino, cafeína, nicotina e morfina. Além disso, existem poucos estudos acerca da estrutura e função destes receptores, e só recentemente alguns estudos voltados para a elucidação os mecanismos de ligação ao T2RS foram publicados. Em relação a características estruturais, de modo geral, os membros desta família possuem as alças EL2 e CL3 menores do que os GPCRs de classe A.¹²⁴

Uma outra classe de GPCRs é constituída por receptores ativados por AMP cíclico (CAR), presentes em células de *Dictyostelium discoideum*, um microrganismo amebiano capaz de formar agregados que agem como um único organismo multicelular. Suas células expressam receptores do tipo CAR com diferentes graus de afinidade pelo AMPc, dessa forma, este ligante quimiotático é capaz de regular os diferentes estágios de diferenciação e agregação deste

microrganismo.¹²⁵

6. Considerações finais

Esta revisão sintetiza informações importantes e atualizadas sobre a superfamília de GPCRs, assim como aborda mecanismos moleculares que controlam sua ativação. Estes receptores estão envolvidos em diversos processos fisiológicos que regulam a homeostase do nosso organismo e, portanto, são alvos no tratamento de patologias e desenvolvimento de novos fármacos. A intervenção em cascatas de sinalização mediadas pelos GPCRs é particularmente interessante devido ao seu papel iniciador (*i.e.* o bloqueio ou ativação), que influencia exponencialmente a quantidade de segundos mensageiros e moléculas efetoras. Assim, a compreensão de mecanismos de “interruptores moleculares”, como a tranca iônica e o rotâmero de alternância, deverão facilitar a concepção de novas moléculas que interfiram nestes mecanismos de forma a ativá-los ou bloqueá-los.

Como mencionado anteriormente, mais de 50% dos fármacos comercializados mundialmente possuem esta classe de proteínas como alvo terapêutico, desta forma, além da importância terapêutica, é claramente notória a importância econômica da classe. O avanço no planejamento de compostos eficazes dependerá, em grande parte, da associação entre estudos experimentais (difração de raios-X e RMN) e teóricos (dinâmica molecular, estudos de ancoramento molecular e modelagem comparativa) que, juntos, possibilitarão um maior entendimento da ativação e das cascatas de sinalização dos GPCRs.

Referências Bibliográficas

- ¹ Venkatakrisnan, A. J.; Deupi, X.; Lebon, G.; Tate, C. G.; Schertler, G. F.; Babu, M. M. *Nature* **2013**, *494*, 185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ² Chen, C. C.; Wong, C. W. *J. Cell Mol. Med.* **2013**, *17*, 337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³ De Moura, P.; Vidal, F. *Scientia Medica* **2011**, *21*, 31. [[Link](#)]
- ⁴ Pierce, K.; Premont, R.; Lefkowitz, R. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵ Fanelli, F.; De Benedetti, P. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 3297. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶ Sigel, E.; Steinmann, M. E. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 40224. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ Copps, K.D.; White, M.F. *Diabetologia* **2012**, *55*, 10, 2565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ de Freitas, G. B. L.; Hoelz, L. V. B.; de Aguiar, D. L. M.; de Alencastro, R. B., San Gil, R. A. S. *Rev. Virtual Quím.* **2009**, *1*, 257. [[Link](#)]
- ⁹ Chan, S. W.; Hu, M.; Tomlinson, B. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2012**, *8*, 767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ Lane, J.R.; Abdul-Ridha, A.; Canals, M. *ACS Chem Neurosci.* **2013**, *518*, 124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Gao, J.; Huang, Q.; Wu, D.; Zhang, Q.; Zhang, Y.; Chen, T.; Liu, Q.; Zhu, R.; Cao, Z.; He, Y. *Gene* **2013**, *518*, 124 [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹² McNeely, P. M.; Naranjo, A. N.; Robinson, A. S. *Biotechnol. J.* **2012**, *7*, 1451. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Fredriksson, R.; Lagerstrom, M. C.; Lundin, L. G.; Schioth, H. B. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 1256. [[PubMed](#)]
- ¹⁴ Dezi, C., Pompeu Fabra University, Barcelona, **2007**, 239. [[Link](#)]
- ¹⁵ Takeda, S.; Kadowaki, S.; Haga, T.; Takaesu, H.; Mitaku, S. *FEBS Letters* **2002**, *520*, 97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Selent, J.; Sanz, F.; Pastor, M.; De Fabritiis, G. *PLoS Comput. Bio.* **2010**, *6*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Neto, M. A.; Rascado, R. R.; Bendhack, L. M. *Medicina.* **2006**, *39*, 3. [[Link](#)]
- ¹⁸ Wettschureck, N.; Offermanns, S. *Physiol. Rev.* **2005**, *85*, 1159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ¹⁹ Bockaert, J.; Pin, J. P. *EMBO Journal* **1999**, *18*, 1723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Wolf, S.; Bockmann, M.; Howeler, U.; Schlitter, J.; Gerwert, K. *FEBS Letters* **2008**, *582*, 3335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²¹ Gether, U. *Endocr. Rev.* **2000**, *21*, 90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Lefkowitz, R. J. *Nat. Cell. Biol.* **2000**, *2*, 133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Kristiansen, K. *Pharmacol. Ther.* **2004**, *103*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Rayan, A. *J. Mol. Model.* **2010**, *16*, 183. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ Taquet, N.; Philippe, C.; Reimund, J. M.; Muller, C. D. **2012**. Inflammatory Bowel Disease G-Prote in Coupled Receptors (GPCRs) Expression Profiling with Microfluidic Cards, Crohn's Disease, Dr. Sami Karoui (Ed.), ISBN: 978-953-307-811-3, InTech. [[Link](#)]
- ²⁶ Lappano, R.; Maggiolini, M. *Acta Pharmacol. Sin.* **2012**, *33*, 351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori, T.; Behnke, C. A.; Motoshima, H.; Fox, B. A.; Le Trong, I.; Teller, D. C.; Okada, T.; Stenkamp, R. E.; Yamamoto, M.; Miyano, M. *Science* **2000**, *289*, 739. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Warne, T.; Moukhametzianov, R.; Baker, J. G.; Nehme, R.; Edwards, P. C.; Leslie, A. G.; Schertler, G. F.; Tate, C. G. *Nature* **2011**, *469*, 241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Fanelli, F.; De Benedetti, P.; Raimondi, F.; Seeber, M. *Curr Protein Pept Sci.* **2009**, *10*, 173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Kooistra, A. J.; Roumen, L.; Leurs, R.; de Esch, I. J.; de Graaf, C. *Methods Enzymol.* **2013**, *522*, 279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Kufareva, I.; Rueda, M.; Katritch, V.; Stevens, R. C.; Abagyan, R. *Structure* **2011**, *19*, 1108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Protein Data Bank. Acesso em: 01 abril 2013. [[Link](#)]
- ³³ Li, J.; Edwards, P. C.; Burghammer, M.; Villa, C.; Schertler, G. F. *J. Mol. Biol.* **2004**, *343*, 1409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁴ Edwards, P. C.; Li, J.; Burghammer, M.; McDowell, J. H.; Villa, C.; Hargrave, P. A.; Schertler, G. F. *J. Mol. Biol.* **2004**, *343*, 1439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Okada, T.; Sugihara, M.; Bondar, A. N.; Elstner, M.; Entel, P.; Buss, V. *J. Mol. Biol.* **2004**, *342*, 571. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁶ Park, J. H.; Scheerer, P.; Hofmann, K. P.; Choe, H. W.; Ernst, O. P. *Nature* **2008**, *454*, 183. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Scheerer, P.; Park, J. H.; Hildebrand, P. W.; Kim, Y. J.; Krauss, N.; Choe, H. W.; Hofmann, K. P.; Ernst, O. P. *Nature* **2008**, *455*, 497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁸ Standfuss, J.; Edwards, P. C.; D'Antona, A.; Fransen, M.; Xie, G.; Oprian, D. D.; Schertler, G. F. *Nature* **2011**, *471*, 656. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁹ Choe, H. W.; Kim, Y. J.; Park, J. H.; Morizumi, T.; Pai, E. F.; Krauss, N.; Hofmann, K. P.; Scheerer, P.; Ernst, O. P. *Nature* **2011**, *471*, 651. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Makino, C. L.; Riley, C. K.; Looney, J.; Crouch, R. K.; Okada, T. *Biophys J.* **2010**, *99*, 2366. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Gautier, A.; Mott, H. R.; Bostock, M. J.; Kirkpatrick, J. P.; Nietlispach, D. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17*, 768. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Luecke, H.; Schobert, B.; Stagno, J.; Imasheva, E. S.; Wang, J. M.; Balashov, S. P.; Lanyi, J. K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**, *105*, 16561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴³ Bokoch, M. P.; Zou, Y.; Rasmussen, S. G.; Liu, C. W.; Nygaard, R.; Rosenbaum, D. M.; Fung, J. J.; Choi, H. J.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Puglisi, J. D.; Weis, W. I.; Pardo, L.; Prosser, R. S.; Mueller, L.; Kobilka, B. K. *Nature* **2010**, *463*, 108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Cherezov, V.; Rosenbaum, D.; Hanson, M.; Rasmussen, S.; Thian, F.; Kobilka, T.; Choi, H.; Kuhn, P.; Weis, W.; Kobilka, B.; Stevens, R. *Science* **2007**, *318*, 1258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Hanson, M.; Cherezov, V.; Griffith, M.; Roth, C.; Jaakola, V.; Chien, E.; Velasquez, J.; Kuhn, P.; Stevens, R. *Structure* **2008**, *16*, 897. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Rosenbaum, D. M.; Cherezov, V.; Hanson, M. A.; Rasmussen, S. G.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Choi, H. J.; Yao, X. J.; Weis, W. I.; Stevens, R. C.; Kobilka, B. K. *Science* **2007**, *318*, 1266. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Warne, T.; Serrano-Vega, M.; Baker, J.; Moukhametzianov, R.; Edwards, P.;

- Henderson, R.; Leslie, A.; Tate, C.; Schertler, G. *Nature* **2008**, 454, 486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Moukhametzianov, R.; Warne, T.; Edwards, P. C.; Serrano-Vega, M. J.; Leslie, A. G.; Tate, C. G.; Schertler, G. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2011**, 108, 8228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Rasmussen, S. G.; Choi, H. J.; Fung, J. J.; Pardon, E.; Casarosa, P.; Chae, P. S.; Devree, B. T.; Rosenbaum, D. M.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Schnapp, A.; Konetzki, I.; Sunahara, R. K.; Gellman, S. H.; Pautsch, A.; Steyaert, J.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K. *Nature* **2011**, 469, 175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Rosenbaum, D. M.; Zhang, C.; Lyons, J. A.; Holl, R.; Aragao, D.; Arlow, D. H.; Rasmussen, S. G.; Choi, H. J.; Devree, B. T.; Sunahara, R. K.; Chae, P. S.; Gellman, S. H.; Dror, R. O.; Shaw, D. E.; Weis, W. I.; Caffrey, M.; Gmeiner, P.; Kobilka, B. K. *Nature*. **2011**, 469, 236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Wacker, D.; Fenalti, G.; Brown, M. A.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 11443. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Jaakola, V. P.; Griffith, M. T.; Hanson, M. A.; Cherezov, V.; Chien, E. Y.; Lane, J. R.; Ijzerman, A. P.; Stevens, R. C. *Science* **2008**, 322, 1211. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Lebon, G.; Warne, T.; Edwards, P. C.; Bennett, K.; Langmead, C. J.; Leslie, A. G.; Tate, C. G. *Nature* **2011**, 474, 521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Chien, E. Y.; Liu, W.; Zhao, Q.; Katritch, V.; Han, G. W.; Hanson, M. A.; Shi, L.; Newman, A. H.; Javitch, J. A.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. *Science* **2010**, 330, 1091. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Wu, B.; Chien, E. Y.; Mol, C. D.; Fenalti, G.; Liu, W.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Brooun, A.; Wells, P.; Bi, F. C.; Hamel, D. J.; Kuhn, P.; Handel, T. M.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. *Science*. **2010**, 330, 1066. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Park, S. H.; Das, B. B.; Casagrande, F.; Tian, Y.; Nothnagel, H. J.; Chu, M.; Kiefer, H.; Maier, K.; De Angelis, A. A.; Marassi, F. M.; Opella, S. J. *Nature* **2012**, 491, 779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Tycko, R. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2001**, 52, 575. [[PubMed](#)]
- ⁵⁸ McDermott, A. E. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2004**, 14, 554. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Eliezer, D. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2009**, 19, 23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Case, D A. *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Korzhnev, D. M.; Kay, L. E. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Feng, W.; Pan, L.; Zhang, M. *Sci China Life Sci.* **2011**, 54, 101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶³ Rasmussen, S. G.; Choi, H. J.; Rosenbaum, D. M.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Edwards, P. C.; Burghammer, M.; Ratnala, V. R.; Sanishvili, R.; Fischetti, R. F.; Schertler, G. F.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K. *Nature* **2007**, 450, 383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁴ Hino, T.; Arakawa, T.; Iwanari, H.; Yurugi-Kobayashi, T.; Ikeda-Suno, C.; Nakada-Nakura, Y.; Kusano-Arai, O.; Weyand, S.; Shimamura, T.; Nomura, N.; Cameron, A. D.; Kobayashi, T.; Hamakubo, T.; Iwata, S.; Murata, T. *Nature* **2002**, 482, 237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁵ Rasmussen, S. G.; DeVree, B. T.; Zou, Y.; Kruse, A. C.; Chung, K. Y.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Chae, P. S.; Pardon, E.; Calinski, D.; Mathiesen, J. M.; Shah, S. T.; Lyons, J. A.; Caffrey, M.; Gellman, S.H.; Steyaert, J.; Skiniotis, G.; Weis, W.I.; Sunahara, R. K.; Kobilka, B. K. *Nature* **2011** 477, 549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁶ Zou, Y.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K. *PLoS One* **2012**, 7, 46039. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁷ Doré, A.S.; Robertson, N.; Errey, J. C.; Ng, I.; Hollenstein, K.; Tehan, B.; Hurrell, E.; Bennett, K.; Congreve, M.; Magnani, F.; Tate, C. G.; Weir, M.; Marshall, F. H. *Structure* **2011**, 19, 1283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁸ Deupi, X.; Edwards, P.; Singhal, A.; Nickle, B.; Oprian, D.; Schertler, G.; Standfuss, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, 109, 119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ Seo, J.; Jeong, J.; Kim, Y. M.; Hwang, N.; Paek, E.; Lee, K. J. *J. Proteome Res.* **2008**, 7, 587. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁰ Seo, J.; Lee, K. J. *J. Biochem. Mol. Biol.* **2004**, 37, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ⁷¹ Kobilka, B. K. G. *Biochim. Biophys. Acta.* **2007**, *1768*, 794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷² Rosenbaum, D.; Rasmussen, S.; Kobilka, B. *Nature* **2009**, *459*, 356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷³ Ji, T. H.; Grossmann, M.; Ji, I. J. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 17299. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁴ Kunishima, N.; Shimada, Y.; Tsuji, Y.; Sato, T.; Yamamoto, M.; Kumasaka, T.; Nakanishi, S.; Jingami, H.; Morikawa, K. *Nature* **2000**, *407*, 971. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁵ Fan, Q. R.; Hendrickson, W. A. *Nature* **2005**, *433*, 269. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁶ Rubenstein, A. L.; Lanzara, R. G. *J. Mol. Str. Theochem.* **1998**, *430*, 57. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ Kobilka, B.; Deupi, X. *Trends Pharmacol Sci.* **2007**, *28*, 397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁸ Yao, X.; Parnot, C.; Deupi, X.; Ratnala, V.; Swaminath, G.; Farrens, D.; Kobilka, B. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁹ Shi, L.; Liapakis, G.; Xu, R.; Guarnieri, F.; Ballesteros, J. A.; Javitch, J. A. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 40989. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁰ Gether, U.; Lin, S.; Kobilka, B. K. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 28268. [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Gether, U.; Lin, S.; Ghanouni, P.; Ballesteros, J. A.; Weinstein, H.; Kobilka, B. K. *EMBO Journal* **1997**, *16*, 6737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸² Sheikh, S. P.; Vilardarga, J. P.; Baranski, T. J.; Lichtarge, O.; Iiri, T.; Meng, E. C.; Nissenson, R. A.; Bourne, H. R. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 17033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸³ Ghanouni, P.; Gryczynski, Z.; Steenhuis, J. J.; Lee, T. W.; Farrens, D. L.; Lakowicz, J. R.; Kobilka, B. K. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 24433. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁴ Jensen, A. D.; Guarnieri, F.; Rasmussen, S. G.; Asmar, F.; Ballesteros, J. A.; Gether, U. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 9279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁵ Ward, S. D.; Hamdan, F. F.; Bloodworth, L. M.; Wess, J. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 2247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁶ Hamdan, F. F.; Ward, S. D.; Siddiqui, N. A.; Bloodworth, L. M.; Wess, J. *Biochemistry* **2002**, *41*, 7647. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁷ Farahbakhsh, Z. T.; Ridge, K. D.; Khorana, H. G.; Hubbell, W. L. *Biochemistry* **1995**, *34*, 8812. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁸ Altenbach, C.; Yang, K.; Farrens, D. L.; Farahbakhsh, Z. T.; Khorana, H. G.; Hubbell, W. L. *Biochemistry* **1996**, *35*, 12470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁹ Altenbach, C.; Klein-Seetharaman, J.; Hwa, J.; Khorana, H. G.; Hubbell, W. L. *Biochemistry* **1999**, *38*, 7945. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁰ Farrens, D. L.; Altenbach, C.; Yang, K.; Hubbell, W. L.; Khorana, H. G. *Science* **1996**, *274*, 768. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹¹ Altenbach, C.; Klein-Seetharaman, J.; Cai, K.; Khorana, H. G.; Hubbell, W. L. *Biochemistry.* **2001**, *40*, 15493. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹² Cohen, G. B.; Yang, T.; Robinson, P. R.; Oprian, D. D. *Biochemistry* **1993**, *32*, 6111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹³ Alves, I. D.; Salgado, G. F.; Salamon, Z.; Brown, M. F.; Tollin, G.; Hruby, V. J. *Biophys. J.* **2005**, *88*, 198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁴ Alves, I. D.; Salamon, Z.; Varga, E.; Yamamura, H. I.; Tollin, G.; Hruby, V. J. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 48890. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁵ Wall, M. A.; Coleman, D. E.; Lee, E.; Iñiguez-Lluhi, J.A.; Posner, B. A.; Gilman, A. G.; Sprang, S. R. *Cell.* **1995**, *83*, 1047. [[PubMed](#)]
- ⁹⁶ Wang, Y.; Li, Y.; Shi, G. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* **2013**, *61*, 309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁷ Seifert, R. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2013**, *386*, 455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁸ Oldham, W. M.; Hamm, H. E. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁹ Ponting, C. P. *Protein Science* **1997**, *6*, 464. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁰ Alvarez, C.; Garcia-Mata, R.; Hauri, H. P.; Sztul, E. *J Biol Chem.* **2001**, *276*, 26930. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰¹ Hoffman, B. B., Drogas ativadoras dos receptores adrenérgicos e outras dorgas simpaticomiméticas in: B.G. Katzung (Ed.) *Farmacologia clínica e básica*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, (**2003**), pp. 105-120. [[Link](#)]
- ¹⁰² Xiao, R.; Zhu, W.; Zheng, M.; Cao, C.; Zhang, Y.; Lakatta, E.; Han, Q. *Trends*

- Pharmacol Sci.* **2006**, *27*, 330. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰³ Volotovski, I. D.; Sokolovsky, S. G.; Molchan, O. V.; Knight, M. R. *Plant Physiology.* **1998**, *117*, 1023. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁴ Fanelli, F.; De Benedetti, P. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 3297. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁵ Fredriksson, R.; Lagerstrom, M. C.; Lundin, L. G.; Schioth, H. B. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 1256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁶ Kolakowski, L. F., Jr. *Receptors Channels* **1994**, *2*, 1. [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁷ Foord, S. M. Receptor classification: post genome. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁸ Fredriksson, R.; Schioth, H. B. *Mol Pharmacol* **2005**, *67*, 1414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰⁹ Horn, F.; Weare, J.; Beukers, M. W.; Horsch, S.; Bairoch, A.; Chen, W.; Edvardsen, O.; Campagne, F.; Vriend, G. *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 275. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁰ Peng, Z. L.; Yang, J. Y.; Chen, X. *BMC Bioinformatics* **2010**, *11*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹¹ Vroling, B.; Sanders, M.; Baakman, C.; Borrmann, A.; Verhoeven, S.; Klomp, J.; Oliveira, L.; de Vlieg, J.; Vriend, G. *Nucleic Acids Res.* **2011**, *39*, n. Database issue, p. D309-D319. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹² Harmar, A. J.; Hills, R. A.; Rosser, E. M.; Jones, M.; Buneman, O. P.; Dunbar, D. R.; Greenhill, S. D.; Hale, V. A.; Sharman, J. L.; Bonner, T. I.; Catterall, W. A.; Davenport, A. P.; Delagrang, P.; Dollery, C. T.; Foord, S. M.; Gutman, G. A.; Laudet, V.; Neubig, R. R.; Ohlstein, E. H.; Olsen, R. W.; Peters, J.; Pin, J. P.; Ruffolo, R. R.; Searls, D. B.; Wright, M. W.; Spedding, M. *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, n. Database issue, p. D680-D685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹³ Schiöth, H. B.; Fredriksson, R. *Gen. Comp. Endocrinol.* **2005**, *142*, 94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁴ GPCRDB: information system for G protein-coupled receptors. 2013. [[Link](#)]
- ¹¹⁵ Davies, M. N.; Secker, A.; Halling-Brown, M.; Moss, D. S.; Freitas, A. A.; Timmis, J.; Clark, E.; Flower, D. R. *BMC Research Notes* **2008**, *1*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁶ Li, Z.; Zhou, X.; Dai, Z.; Zou, X. *BMC Bioinformatics* **2010**, *11*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁷ Ur-Rehman, Z.; Khan, A. *Anal. Biochem.* **2011**, *412*, 173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁸ Hollenstein, K.; Kean, J.; Bortolato, A.; Cheng, R. K. Y.; Dore, A. S.; Jazayeri, A.; Cooke, R. M.; Weir, M.; Marshall, F. H. *Nature* **2013**, *499*, 438. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁹ Tse, M. T. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 579. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁰ Bräuner-Osborne, H.; Wellendorph, P.; Jensen, A. A. *Curr. Drug Targets* **2007**, *8*, 169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²¹ Lane, J. R.; Canals, M. *Sci. Signal.* **2012**, *5*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²² Chun, L.; Zhang, W.-H.; Liu, J.-F. *Acta Pharmacol. Sin.* **2012**, *33*, 312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²³ Mombaerts, P. *Nat. Rev. Neurosci.* **2004**, *5*, 263. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁴ Singh, N.; Pydi, S. P.; Upadhyaya, j.; Chelikani, P. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 36032. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁵ Dormann, D.; Kim, J.-Y.; Devreotes, P. N.; Weijer, C. J. *J. Cell. Sci.* **2001**, *114*, 2513. [[PubMed](#)]