

C 族 GPCRs 寡聚体的激活机制 *

Baloucounne Guillaume Antoine 夏志雄 赵 菡 春 雷 黄思罗[△]

(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)

摘要: C 族 GPCRs 是体内重要的受体亚家族,参与众多重要的生理和病理进程。该族受体的单体包含七螺旋跨膜结构 (heptahelical transmembrane domain, HD)、捕蝇草模块 (venus flytrap domain, VFT) 和半胱氨酸富集区 (cysteine-rich domain, CRD)、C 末端等多个功能域,同时形成组成性的二聚体和寡聚体。这种多功能域寡聚体结构使该家族受体的激活机制非常复杂,本文回顾和介绍了多年以来对该家族受体在单体、二聚体、寡聚体等多个层面的激活机制研究的历程和进展,同时也展望了进一步的研究方向和这些研究成果对于开发新型药物的意义。

关键词: C 族 G 蛋白偶联受体 二聚体 四聚体 激活机制 构象变化

中图分类号: Q25, Q27 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273 (2012) 10-1972-05

The activation mechanism of Class C GPCRs oligomer*

Baloucounne Guillaume Antoine, XIA Zhi-xiong, ZHAO Han, CHUN Lei, HUANG Si-luo[△]

(Key Laboratory of Molecular Biophysics of Ministry of Education, School of Life Science and Technology,

Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT: Class C GPCRs are important receptors sub-family and involved in many physiologic and pathologic processes in vivo. The monomer of these receptor is composed of transmembrane HD (heptahelical transmembrane domain), extracellular VFT (venus flytrap domain), CRD (cysteine-rich domain) which between in VFT and CRD and intracellular C-tail. In the other hand, these receptors could form constitutive and exclusive homodimer or heterodimer, and some members of them could also form high order oligomer. So the complex structure of these receptor provide a complicated activation mechanism. In this paper, we reviewed the course and advance of the research of activation mechanism of these receptors in different level included monomer, dimer and tetramer. Lastly we also point the next research in this field and the significance and new insights of these researches to discover new drug.

Key words: Class C GPCRs; Dimer; Tetramer; Activation mechanism; Allosteric change

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

Article ID: 1673-6273(2012)10-1972-05

前言

G 蛋白偶联受体 (GPCR) 可以对多种外界刺激进行反应,包括光、离子、氨基酸、多肽、多糖等,其通过与 G 蛋白三聚体的偶联而将外界信号传导到细胞中。所有的 GPCR 都有着与 G 蛋白结合的跨膜的 7 个疏水性螺旋结构,称之为 HD 区。根据 HD 区的序列进化分析,GPCR 家族可以分为 5 个大的家族^[1]。其中 C 族 GPCRs (以下简称 C 族受体) 包括代谢型谷氨酸受体 (mGluR1-8)、代谢型 γ -氨基丁酸受体 (GABA_BR)、味觉受体 (TasteR) 钙敏感性受体 (CaSR),以及一些信息素受体^[1-3]。

这些受体在体内广泛分布,参与学习和记忆,味觉的产生,钙代谢的调控,突触信号传递等多种重要的生理进程,并与帕金森症、癫痫、高钙血症、药物成瘾、脑缺血、疼痛等多种疾病的病理发生密切相关^[4-7]。在体内该族受体受到精密的调控,无论是具有上调还是下调效应的药物都具有临床或工业价值,比如用于临床上广泛使用的抗痉挛药 GABA_BR 的激动剂 baclofen

^[8],最近刚通过临床测试用于治疗甲状旁腺功能亢进的以 CaSR 为靶点的 cinacalcet^[9],以及 T1R 的激动剂糖精等^[10]。这种功能上的重要性和调控的精密性使其激活机制研究一直是研究的热点。

1 C 族受体的多功能域寡聚体结构

不同于仅具有跨膜功能域的其他家族的 GPCRs, C 族受体具有复杂的多功能域结构。每个单体都包括膜外参与配体结合的捕蝇草模块 (Venus FlyTrap Domain, VFT)。该功能域 1993 年被发现,随后的 X 光衍射分析和生物信息学方法都表明, C 族受体的 VFT 区是由 LB1 和 LB2 两个亚域 (Lobe) 组成的蛤壳样结构,而同其他家族的 GPCRs 一样, C 族受体具有参与 G 蛋白偶联的包含 7 个跨膜疏水螺旋和连接各个螺旋的 3 个膜外 (e1/2/3-loop) 和 3 个膜内 (i1/2/3-loop) 样环组成的七螺旋跨膜结构 (heptahelical transmembrane domain, HD)^[11]; 而除了 GABABR 以外, C 族受体在 VFT 和 HD 之间,还具有一个包含

* 基金项目 第 47 批中国博士后科学基金(20100471184) 国家自然科学基金 (30973514, 31100548)

作者简介 Baloucounne Guillaume Antoine (1976), 男, 博士研究生, 主要研究 C 族 G 蛋白偶联受体的激活过程中的分子机制。Email: baloucounneg@yahoo.fr, Tel: 027-87792024, 13476812332

[△]通讯作者: 黄思罗, E-mail: slhuang@mail.hust.edu.cn, Tel: 027-87792031, Fax: 027-87792024

(收稿日期: 2011-09-01 接受日期: 2011-09-21)

有 9 个严格保守的 Cys 的半胱氨酸富集区 (Cysteine Rich Domain, CRD)^[11] 而在膜内,还具有不同长度的 C 末端。

组成性的二聚化是 C 族受体结构上最重要的特点。在早期的研究中,研究者往往认为 GPCRs 以单体形式存在,但 1998 年 GABA_BR 在整个 GPCRs 超家族中首先被证实可以发生二聚化,其为 GB1 和 GB2 两个亚基组成的异二聚体^[12]。随后的研究证明 C 族受体都存在着自发的专一性二聚化,其中 CaSR 和 mGluRs 等形成同二聚体^[13,14] 而 T1R 和 GABA_BR 一样为异二聚体,其中鲜味受体由 T1R1 和 T1R3 形成,甜味受体则由 T1R2 和 T1R3 形成^[15]。二聚化现象在其他亚家族受体中也得到了广泛的证实,但值得指出的是,其他亚家族受体往往发生的是不稳定的二聚化和寡聚化,而 C 族受体在体内发生严格的依赖于共价键的组成性二聚化,目前尚未在体内发现具有生理功能的单体的存在。

C 族受体二聚体中分别存在着两个 VFT 和 HD,在同二聚体中,两个单体的 VFT 区都可以结合配体,而两个单体的 HD 区则都有偶联 G 蛋白的潜能,但在异二聚体中,两个单体的同一个功能域之间存在着严格的功能差异,如 GABA_BR 异二聚体中,只有 GB1-VFT 可以结合配体,GB2-VFT 不能结合配体;而只有 GB2-HD 可以与 G 蛋白偶联,GB1-HD 则丧失了与 G 蛋白结合的能力,同时 GB1 的 C-tail 上存在着一段内质网滞留序列,单独表达时不能上膜,只有在与 GB2 共表达时才能上膜^[16]。在 T1R 中的两个单体之间,也存在着类似的功能差异,配体的结合和 G 蛋白的偶联都只发生在 T1R1/2 中,T1R3 的 VFT 和 HD 都不具有类似的功能^[17]。有趣的是,最近发现内源性形成同二聚体的 C 族受体成员之间,也可以发生异二聚化。研究表明,体外表达的 7 种 mGluR₁₋₈ (mGluR₆ 除外) 之间两两组合,在 21 种组合方式中有 11 种组合可以形成异二聚化^[18] 而在更早的研究也证实,体外表达的 mGluR1 和 CaSR 之间可以形成异二聚体^[19]。

近年来利用不同的 FRET 方法,研究者还发现 GABA_BR 可以发生由两个异二聚体组成的四聚体,其通过 GB1 的 VFT 外表面形成^[20,21] 但利用类似的研究方法,在其他 C 族受体中并没有发现类似的四聚化现象^[20,22]。

2 C 族受体寡聚体的激活机制

2.1 C 族受体的 VFT 和 HD 单体都具有独立的功能

研究发现,VFT 和 HD 都是功能和结构上相互独立的功能域,在各自单独存在时都具有相应的功能,并且都可以以单体的形式行使功能。

利用 X 光衍射法,研究者检测了体外表达的 mGluR₁-VFT 单体在配体结合后的构象变化,结果发现,激动剂结合到 VFT 蛤壳结构的中缝后导致 LB1 和 LB2 沿着轴心旋转,从而导致 VFT 关闭从静息的开启 (Open) 转变为激活的关闭 (Closed) 构象,而竞争性抑制剂的结合则通过位阻效应阻碍了 VFT 的关闭,从而稳定了 VFT 的 Open 构象。这说明 VFT 的关闭不依赖于 HD 区的存在^[23-25]。

研究者也检测了 HD 区单独表达时的生理效应。之前的研究发现了一类结合于 HD 区的药物。根据是正向还是反向调节受体在激动剂作用下的激活水平可分为正向变构剂 (positive

allosteric modulators, PAMs) 和反向变构剂 (negative allosteric modulators, NAMs)^[2,4,6]。在体内单独表达 C 族受体如 mGluR₅、mGluR₂、GABA_BR 等的 HD 区均可以被相应受体的 PAMs 激活,其药物反应性质与激动剂结合在 HD 的 A 族受体非常接近,该实验有力地证明了 HD 与 G 蛋白之间的偶联并不需要 VFT 的参与^[26]。但这些实验尚不能确认体外单独表达的 HD 区是以单体还是以二聚体形式存在,最近研究者使用一定尺寸的 nanodisc,而确保其中只能插入一个 HD 单体,结果发现,严格存在的 mGluR5-HD 单体同样可以被 PAM 所激活,这很好的说明和 VFT 一样,C 族受体的 HD 单体也可以独立行使功能。

而 CRD 是一段只有 70 个残基左右包含 9 个严格保守的 Cys 的较小的功能域,该功能域只存在于具有 VFT 的 C 族受体中,与已知的蛋白质均不同源,体外单独表达时也不能发生正常的折叠^[27]。从结构上看,位于 VFT 和 HD 之间的 CRD 无疑将参与两者功能的偶联。2006 年我们根据生化实验结果和生物信息学手段发现,除了 GABA_BR 的所有 C 族受体 LB2 底部均存在一个严格保守的 Cys,该残基可与 CRD 中第 3 个保守 Cys 形成二硫键,而该位点的突变将导致完全失活^[28] 研究还表明 CRD 缺失的 CaSR 剪切体完全丧失了活性^[29]。这些结果都说明 CRD 在激活信号的传导过程中扮演着不可或缺的角色。

2.2 C 族受体二聚体激活过程中的构象变化

C 族受体的多功能域结构和二聚化使其激活机制非常复杂,涉及到在二聚体层面的一系列功能域间的构象变化。

首先得到很好解决的是 VFTs 在激活进程中得构象变化。研究发现,mGluR₁ 没有配体结合时二聚体的两个 VFT 均处于开启状态,整个受体的 VFTs 处于 R_{oo} (Rest/open-open) 构象,两个 LB2 的结合界面的一些酸性残基由于对称性所带来的静电作用彼此排斥从而避免两者相互靠近,配体结合后导致一个亚基的 VFT 关闭,使得 LB2 表面的酸性残基发生重排,破坏了二聚体的对称性从而消除了静电排斥力而使两个 LB2 得以相互靠近和沿着结合界面的旋转从而形成 A_{co} (Active/closed-open) 构象^[23] 正常情况下受体由于 LB2 间的酸性残基,VFTs 不能形成对称性的 A_{cc} (Active/closed-closed) 构象,但 Gd³⁺ 存在的情况下,其正电荷能够屏蔽 LB2 之间的静电排斥力,使受体的两个 VFT 都可以关闭,从而形成稳定的 A_{cc} 构象^[25]。而功能研究表明,A_{co} 构象的形成就足以激活受体,但在两个 VFT 都关闭的 A_{cc} 构象时有着更高的激活强度^[30,31] (图 2A,B)。而在只有一个 VFT 能结合配体的异二聚体中,显然只存在 VFTs 的 A_{co} 构象。研究者通过在 GB1-VFT 的 LB1 和 LB2 间引入二硫键或盐键而使 GB1-VFT 锁定在关闭状态,由此得到的突变体可以组成性激活^[30]。这个实验也证明了 VFT 的 A_{co} 构象形成就足以激活受体。而在 GABA_BR 中,我们利用在功能域结合界面上引入的糖基化突变以阻碍功能域之间的靠近,也证明该受体在激活过程中也具有类似于 mGluR1 的 GB1-LB2 和 GB2-LB2 之间的相互靠近和旋转^[8]。

由于跨膜蛋白研究相对困难,很难利用 X-光衍射法直接解析激活过程中 C 族受体的 HDs 的构象变化。根据功能研究的结果,研究者推测 C 族受体的 HDs 至少存在着 4 种不同的

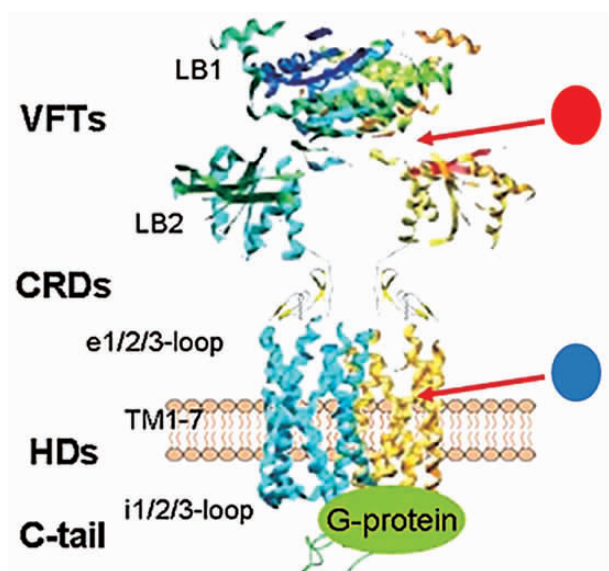


图1 C族受体的结构模式图和药物作用位点^[2]。红色,激动剂和竞争性抑制剂 蓝色,正向变构剂或反向变构剂。

Fig.1 Structure model of Class C GPCRs and the binding site of drugs^[2].

Red, agonist or antagonist; Blue, PAM or NAM.

构象,即在 NAM 作用时不具有组成性活性的基态 HDs^G ,无药物作用时具有一定组成性活性的静息态 HDs^R ,VFTs 处于 A_{CO} 构象时的半激活态 HDs^* 和 VFTs 处于 A_{CC} 构象时的全激活态 HDs^{**} ^[23, 25]。Tateyama 等发现 $mGluR_1$ 在 NAM 作用下两个 HD 的 i2-loop 之间的间距变远;而配体结合后则 i2-loop 间距变近,同时 i1-loop 间距变远,由此推测,受体激活过程中两个亚基的 HD 沿着结合界面发生了旋转,这个结果揭示了 HDs^G , HDs^R 和 HDs^*/HDs^{**} 之间的区别^[32] (图 2B,C)。目前的方法尚不能直接区分 HDs^* 与 HDs^{**} 之间的构象差异,但功能研究发现,受体处于 HDs^* 时可以同时与 G_s 和 G_q 偶联,而处于 HDs^{**} 时则只能与 G_q 偶联,这说明至少在结合 G 蛋白的位点, HDs^* 与 HDs^{**} 之间还是存在一定的差别^[33]。

配体结合后 VFTs 的构象变化如何在二聚体层面传导到 HDs^R 在具有 CRD 的 C 族受体中我们利用生物信息学发现,当配体结合使 VFTs 产生两个 LB2 相互靠近的 A_{CO} 和 A_{CC} 构象时,不影响 VFT 末端的间距,而是使两个 LB2 底部的保守 Cys 的间距降低,考虑到该残基与 CRD 顶部之间形成的二硫键,CRD 也可能发生相应的靠近^[34]。随之体外表达的 $mGluR_3$ -VFT/CRDs 的 X 光衍射分析结果证实了我们的推测,受体的 VFTs 从 R_{CO} 构象到 A_{CO} 和 A_{CC} 构象时,两个 CRD 末端的 Glu567 间的距离则从 104Å 分别降低到 57Å 和 46Å^[27]。而我们最新的研究发现,在二聚体的 CRD-CRD 结合界面中顶部靠近 VFT 与 CRD 之间形成的二硫键位置引入新的 Cys 而形成两个 CRD 单体间的二硫键,可以使受体产生高强度的组成性活性,结合生物信息学手段,我们证明配体结合到 VFT 通过 VFT 与 CRD 之间的二硫键,使得两个 CRD 间不仅发生 CRD-CRD 界面切线方向的靠近,并且发生该界面垂线方向的旋转(图 2A,B)^[34]。这个结果很好的展示了 CRDs 参与激活信号传导所涉及的构象变化。但在不具有 CRD 的 $GABA_B$ 中激活

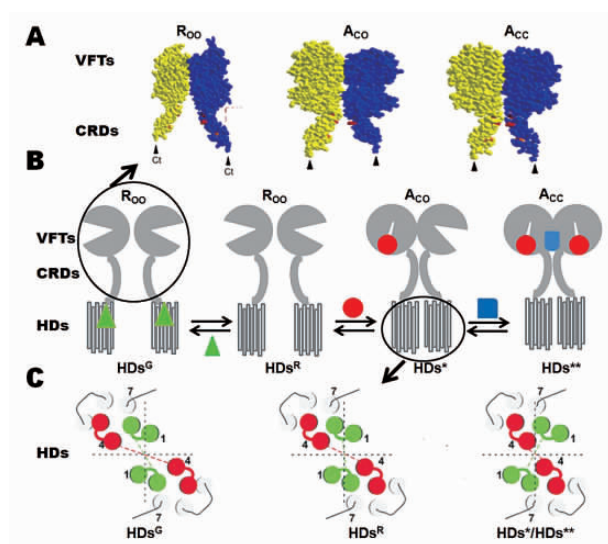


图2 C族受体激活过程中各功能域的构象变化示意图^[3, 33, 34]。A, VFTs/CRDs 在配体结合后的三维结构模型^[34] B, C 族受体二聚体在不同状态下的构象变化示意图。红色圆球,激动剂 蓝色方块, Gd^{3+} 绿色三角,反向变构剂^[3] C, HDs 在不同状态下内部的构象变化示意图^[33]。
Fig. 2 The model of allosteric change upon activation in Class C GPCR^[3, 33, 34]. A, the 3-D model of the VFTs/CRDs upon agonist^[34]; B, the diagram of the allosteric change of the full Class C GPCRs dimer in different state. Red ball, agonist; Blue square, Gd^{3+} ; Green triangle, NAM C, the scheme of HDs conformation in different state^[33].

信号的传递,目前还没有研究。

2.3 C族受体二聚体各功能域在激活过程中的构象学效应

C 族受体二聚体中每个功能域都有两个,而激活过程中的构象变化均需要两个 VFT/CRD/HD 的同时参与,但两个 VFT/HD 单体均具有结合配体或 G 蛋白的潜能,那么在两个 VFT/HD 单体之间,是否存在着协同效应?如前所述,一个 VFT 结合配体关闭后由于 LB2 表面的静电排斥力使得另一个 VFT 不能关闭而只能形成 A_{CO} 构象,说明 VFT 单体间存在着一定的负协同效应^[25] 而 Kniazeff 等在 $mGluR_5$ -VFT 的配体结合位点引入 SATA 突变,使其在单独表达时即使有 Gd^{3+} 存在时也不能结合配体,但与野生型受体共表达形成异二聚体时,则可在有 Gd^{3+} 存在时以比野生型 0 型较低的亲和力结合配体,这说明两个 VFT 单体间也存在着正协同效应^[31]。而我们发现 GABABR 中也有类似的正协同效应,GB2-VFT 虽然不能结合配体,但可以通过与 GB1-VFT 间的相互作用而增加 GB1-VFT 与配体间的亲和力^[35]。

HDs 中则存在着严格的负协同效应。在异二聚体中只有一个 HD 单体可以偶联 G 蛋白,而同二聚体虽然具有两个可以偶联 G 蛋白的 HD 单体,但受体激活后只能随机的使其中一个 HD 单体与 G 蛋白偶联^[3]。当一个 HD 单体结合了 PAM 后,则 G 蛋白倾向于偶联到这个 HD 单体,而另一个 HD 单体与 G 蛋白的偶联则受到抑制^[36, 37] 而当一个 HD 单体结合了 NAM 而失活时, G 蛋白则倾向于偶联另一个 HD 单体。但目前对这种 HD 单体间的负协同效应的分子机制尚不了解。

C 族受体二聚体中同一功能域间的负协同效应产生了另一个有趣的问题,既然二聚体中能且只能偶联一个 G 蛋白,那

在一个 VFT 关闭时,是顺式(Cis-)激活同一个单体的 HD 还是反式(Trans-) 激活另一个单体的 HD 呢。在异二聚体中,由于部分功能域丧失了相应的功能,在 GABA_BR 中无疑只存在着反式激活^[35],配体结合到 GB1-VFT 而激活 GB2-HD,而在 TasteR 中则只存在顺式激活^[15],配体结合到 T1R1/2-VFT 而激活 T1R1/2-HD。但在同二聚体中这个问题的回答要复杂的多。利用点突变技术使 VFT 和 HD 分别丧失结合配体或 G 蛋白的能力,然后共表达不同的突变体组合以形成人工异二聚体,结果发现,在 mGluR₅ 中同时存在着顺式和反式的激活方式,并且两者的激活强度完全一致^[31]。这说明 mGluR₅ 中激活信号从 VFTs 传导到 HDs 后,对于 HD 单体的选择是随机的,但该结论在其他形成同二聚体的 C 族受体中尚需要进一步的验证。

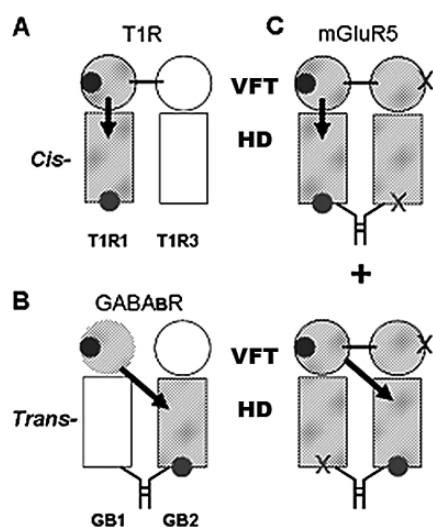


图 3 不同 C 族受体二聚体激活过程中顺反效应。A,味觉受体 β , GABA_BR; C, mGluR₅。蓝色,激动剂 绿色, G 蛋白。X,失活突变位点 白色,天然失活功能域。

Fig. 3 The Cis- and Trans- activation in several Class C GPCR. A, TasteR; B, GABA_BR; C, mGluR₅. Blue, agonist; Green, G-protein; X, loss function mutant; White, the natural domain without function.

2.4 C 族受体四聚体的激活

C 族受体是严格的二聚体,但在二聚体的基础上,是否还存在着四聚化或更高层次的寡聚化现象?目前唯一得到证实的可以发生四聚化的 C 族受体是 GABA_BR,由 GB1 和 GB2 形成的异二聚体可以通过两个 GB1-VFT 的外界面而形成四聚体^[20]。有意思的是, GABA_BR,四聚体中虽然存在两个可以结合 G 蛋白的 GB2-HD,但是四聚体时也只有一个 GB2-HD 可以偶联 G 蛋白,将野生型受体与 GB1 或 GB2 突变体共表达,从而干扰野生型受体间的四聚化,可以显著的增强受体的激活效率,这说明四聚体中也存在负协同效应^[21]。

而目前应用于检测 GABA_BR 四聚化的 FRET 方法并未能检出其它 C 族受体中的四聚化现象^[20,22]。由于 FRET 方法的量程和检出效率与分子间的距离密切相关,而相对于不具有 CRD 的 GABA_BR,其他 C 族受体中插入 VFT 顶端的荧光基团之间的距离和方向均可能存在差异。因此其他 C 族受体是否只形成二聚体,还是 FRET 方法的量程不适用于其他受体,目前尚存在争议。

3 结论和展望

多年来 C 族受体的激活机制一直是研究的热点。在大量工作的基础上,目前对于其激活进程的构象变化和分子机制已经有了相当的了解。但是由于该受体复杂的多功能域寡聚体结构,以及跨膜蛋白研究的困难性,对于该族受体激活机制的细节和机理尚存在大量未解决的问题。特别是在受体的二聚体和寡聚体层面, CRDs 是通过怎样的构象变化将激活信号传导到 HDs;二聚体和寡聚体中顺反效应、协同效应等现象的分子机制又是什么^[24]。同二聚体中是否存在非随机的激活方式,其他受体是否发生四聚化,这些都是有待进一步深入研究的问题。

功能上的重要性以及结构上的易操控性,使得 C 族受体成为引人注目的药物靶点。因此对于 C 族受体激活机制的研究,将提供更多的可以调节受体活性的药物作用靶点,以及更好的了解疾病成因^[29]和药物作用机理,从而促进以该族受体为靶点的药物开发^[2,5]。

参考文献(References)

- [1] Bockaert J, Pin JP. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success[J]. *Embo J*, 1999, 7(18): 1723-1729
- [2] Rondard P, Goudet C, Kniazeff J, et al. The complexity of their activation mechanism opens new possibilities for the modulation of mGlu and GABA_B class C G protein-coupled receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2011, 1(60): 82-92
- [3] Pin JP, Kniazeff J, Liu J, et al. Allosteric functioning of dimeric class C G-protein-coupled receptors[J]. *Febs J*, 2005, 12(272): 2947-2955
- [4] Brauner-Osborne H, Wellendorph P, Jensen AA. Structure, pharmacology and therapeutic prospects of family C G-protein coupled receptors[J]. *Curr Drug Targets*, 2007, 1(8): 169-184
- [5] Heilker R, Wolff M, Tautermann CS, et al. G-protein-coupled receptor-focused drug discovery using a target class platform approach[J]. *Drug Discov Today*, 2009, 5-6(14): 231-240
- [6] Lagerstrom MC, Schiöth HB. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 4(7): 339-357
- [7] Park PS, Lodowski DT, Palczewski K. Activation of G protein-coupled receptors: beyond two-state models and tertiary conformational changes[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, 48): 107-141
- [8] Rondard P, Huang S, Monnier C, et al. Functioning of the dimeric GABA (B) receptor extracellular domain revealed by glycan wedge scanning[J]. *Embo J*, 2008, 9(27): 1321-1332
- [9] El-Shafey EM, Alsahow AE, Alsaran K, et al. Cinacalcet hydrochloride therapy for secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients[J]. *Ther Apher Dial*, 2011, 6(15): 547-555
- [10] Jiang P, Ji Q, Liu Z, et al. The cysteine-rich region of T1R3 determines responses to intensely sweet proteins [J]. *J Biol Chem*, 2004, 43(279): 45068-45075
- [11] Liu X, He Q, Studholme DJ, et al. NCD3G: a novel nine-cysteine domain in family 3 GPCRs [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 9(29): 458-461
- [12] White JH, Wise A, Main MJ, et al. Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA (B) receptor [J]. *Nature*, 1998, 6712(396): 679-682

- [13] Ray K, Hauschild BC, Steinbach PJ, et al. Identification of the cysteine residues in the amino-terminal extracellular domain of the human Ca(2+) receptor critical for dimerization. Implications for function of monomeric Ca (2+) receptor [J]. J Biol Chem, 1999, 39 (274): 27642-27650
- [14] Ray K, Hauschild BC. Cys-140 is critical for metabotropic glutamate receptor-1 dimerization[J]. J Biol Chem, 2000, 44(275): 34245-34251
- [15] Zhao GQ, Zhang Y, Hoon MA, et al. The receptors for mammalian sweet and umami taste[J]. Cell, 2003, 3(115): 255-266
- [16] Pagano A, Rovelli G, Mosbacher J, et al. C-terminal interaction is essential for surface trafficking but not for heteromeric assembly of GABA(b) receptors[J]. J Neurosci, 2001, 4(21): 1189-1202
- [17] Xu H, Staszewski L, Tang H, et al. Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 39(101): 14258-14263
- [18] Doumazane E, Scholler P, Zwier JM, et al. A new approach to analyze cell surface protein complexes reveals specific heterodimeric metabotropic glutamate receptors[J]. FASEB J, 2011, 1(25): 66-77
- [19] Mun HC, Franks AH, Culverston EL, et al. The Venus Fly Trap domain of the extracellular Ca²⁺-sensing receptor is required for L-amino acid sensing[J]. J Biol Chem, 2004, 50(279): 51739-51744
- [20] Maurel D, Comps-Agrar L, Brock C, et al. Cell-surface protein-protein interaction analysis with time-resolved FRET and snap-tag technologies: application to GPCR oligomerization [J]. Nat Methods, 2008, 6(5): 561-567
- [21] Comps-Agrar L, Kniazeff J, Norskov-Lauritsen L, et al. The oligomeric state sets GABA (B) receptor signalling efficacy [J]. EMBO J, 2011, 12(30): 2336-2349
- [22] Brock C, Oueslati N, Soler S, et al. Activation of a dimeric metabotropic glutamate receptor by intersubunit rearrangement [J]. J Biol Chem, 2007, 45(282): 33000-33008
- [23] Kunishima N, Shimada Y, Tsuji Y, et al. Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor [J]. Nature, 2000, 6807(407): 971-977
- [24] Bessis AS, Rondard P, Gaven F, et al. Closure of the Venus flytrap module of mGlu8 receptor and the activation process: Insights from mutations converting antagonists into agonists[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 17(99): 11097-11102
- [25] Tsuchiya D, Kunishima N, Kamiya N, et al. Structural views of the ligand-binding cores of a metabotropic glutamate receptor complexed with an antagonist and both glutamate and Gd³⁺ [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 5(99): 2660-2665
- [26] Goudet C, Gaven F, Kniazeff J, et al. Heptahelical domain of metabotropic glutamate receptor 5 behaves like rhodopsin-like receptors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 1(101): 378-383
- [27] Muto T, Tsuchiya D, Morikawa K, et al. Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 10(104): 3759-3764
- [28] Rondard P, Liu J, Huang S, et al. Coupling of agonist binding to effector domain activation in metabotropic glutamate-like receptors [J]. J Biol Chem, 2006, 34(281): 24653-24661
- [29] Hu J, Hauache O, Spiegel AM. Human Ca²⁺ receptor cysteine-rich domain. Analysis of function of mutant and chimeric receptors [J]. J Biol Chem, 2000, 21(275): 16382-16389
- [30] Kniazeff J, Saintot PP, Goudet C, et al. Locking the dimeric GABA (B) G-protein-coupled receptor in its active state[J]. J Neurosci, 2004, 2(24): 370-377
- [31] Kniazeff J, Bessis AS, Maurel D, et al. Closed state of both binding domains of homodimeric mGlu receptors is required for full activity [J]. Nat Struct Mol Biol, 2004, 8(11): 706-713
- [32] Tateyama M, Abe H, Nakata H, et al. Ligand-induced rearrangement of the dimeric metabotropic glutamate receptor 1alpha [J]. Nat Struct Mol Biol, 2004, 7(11): 637-642
- [33] Tateyama M, Kubo Y. Dual signaling is differentially activated by different active states of the metabotropic glutamate receptor 1alpha [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 4(103): 1124-1128
- [34] Huang S, Cao J, Jiang M, et al. Interdomain movements in metabotropic glutamate receptor activation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 37(108): 15480-15485
- [35] Liu J, Maurel D, Etzol S, et al. Molecular determinants involved in the allosteric control of agonist affinity in the GABAB receptor by the GABAB2 subunit[J]. J Biol Chem, 2004, 16(279): 15824-15830
- [36] Goudet C, Kniazeff J, Hlavackova V, et al. Asymmetric functioning of dimeric metabotropic glutamate receptors disclosed by positive allosteric modulators[J]. J Biol Chem, 2005, 26(280): 24380-24385
- [37] Hlavackova V, Goudet C, Kniazeff J, et al. Evidence for a single heptahelical domain being turned on upon activation of a dimeric GPCR[J]. Embo J, 2005, 3(24): 499-509