

HUNYADY LÁSZLÓ – PERCZEL ANDRÁS

# Kémiai Nobel-díj a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok kutatásáért –2012

**2012**-ben a kémiai Nobel-díjat *Brian Kent Kobilka* (1955) és *Robert Joseph Lefkowitz* (1943) nyerték el a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok kutatása terén elért eredményeikért<sup>1</sup>. Ritka, tudománytörténeti szempontból is érdekes esemény, hogy a díjat mester és tanítványa kapta, hiszen Brian K. Kobilka a 80-es évek végén posztdoktori munkáját Robert J. Lefkowitz munkacsoportjában végezte. Robert J. Lefkowitz a terület kétségkívül vezető személyisége, aki az elmúlt csaknem fél évszázadban munkásságával meghatározó szerepet játszott a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok felfedezésében, valamint működésük és szabályozási folyamataik megismerésében. Számos kiváló munkatársa közül nem véletlen, hogy Brian K. Kobilka vehette át vele 2012 decemberében a Nobel-díjat, hiszen nem csupán a Lefkowitz-laborban végzett posztdoktori munkája jelentett mérföldkövet a receptorok azonosítása terén, hanem az elmúlt években önállóan, saját munkacsoportjával végzett kitaró munkássága is áttörést jelentett e receptorok szerkezetének megismerésében (**1. ábra**).

Az élő szervezetekben alapvető jelentősége van a sejtek összehangolt működésének, amely folyamat során a sejtek kémiai és idegi mechanizmusokkal egymásnak folyamatosan jeleket küldenek, melyeket a célsejtek receptorai ismernek fel. A külső jel a célsejt belsejében jelátviteli folyamatokat indít el, amelyek megváltoztatják e sejtek működését. A sejteket körülvevő membránban található receptorok legnagyobb csoportját a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok alkotják, amelyek számos hormon és neurotranszmitter hatását közvetítik, valamint a belső jelek átadása mellett fontos szerepet töltenek be az érzékszervek működésében is. Ilyen receptorok játszanak például szerepet a fény, a szagok és egyes ízek érzékelésében is. Ma már azt is tudjuk, hogy az



**1. ábra.** Lynn Lefkowitz, Robert J. Lefkowitz, Tong Sun Kobilka és Brian K. Kobilka (balról jobbra) Lefkowitz professzor 60. születésnapján ünnepségén (A képet Brian K. Kobilka jutatta el a szerzőknek e közlemény illusztrálása céljából)

emberi genomban nagyságrendileg 1000 G-fehérjéhez kapcsolt receptor génje azonosítható, ami azt jelenti, hogy génjeink kb. 4%-a e receptorcsalád valamely tagját kódolja. Köztük olyan közismerten fontosak azonosíthatók, mint az adrenalin, az acetil-kolin vagy az agyalapi mirigy peptidhormonjainak receptorai, melyek a szervezet csaknem minden fontos életani folyamatának szabályozásában szerephez jutnak. Ez a magyarázata annak is, hogy – becslések szerint – ma a közvetve vagy közvetlenül használt gyógyszerek 50%-a a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok működésére ható kémiai szer. A receptorteória megfogalmazására először az 1900-as évek elején került sor, azon-

ban nagyon sokáig csak homályos elképzeléseink voltak a receptorok tényleges mibenlétéről. A receptorok megismerése terén az első mérföldkövet a hozzájuk kötődő jelzett ligandumok azonosítása jelentette, melyek segítségével szövetpreparátumokon jellemezni lehetett a receptorok kötési tulajdonságait. E vizsgálatok kapcsán vették észre, hogy számos receptor kötési tulajdonságait a GTP (egy guanin nukleotid) jelenléte befolyásolja, és ennek kapcsán írták le, hogy ezek a receptorok GTP-kötő fehérjék közvetítésével fejtik ki hatásaikat. Ennek felfedezéséért, illetve a G-fehérjék azonosításáért ítéltek oda 1994-ben *Martin Rodbell* (1925–1998) és *Alfred Goodman Gilman* (1941–) ameri-

kai kutatóknak az élettani és orvosi Nobel-díjat<sup>2,3</sup>. Különös módon a G-fehérjéhez kapcsolt receptorokhoz kapcsolódó jelátviteli útvonalak molekuláris részleteit hamarabb sikerült azonosítani, mint magát a folyamatot beindító transzmembrán (TM) receptort. A bonyolult intracelluláris folyamatban azonosított hírvívó molekula, a ciklikus AMP (cAMP) szerepének leírásáért, valamint a cAMP szintézisét végző adenilát-cikláz enzim meghatározásáért kapta *Earl W. Sutherland Jr.* (1915–1974) amerikai orvos 1971-ben az élettani és orvosi Nobel-díjat<sup>4</sup>.

Az 1943-ban született, s 1966-ban a Columbia Egyetemen orvosként diplomát szerzett Robert Joseph Lefkowitz amerikai kutató az elsők között volt, aki radioaktív jelöléssel ellátott, a G-fehérjéhez kapcsolt receptor adrenerg receptor típusára specifikus agonista molekulák segítségével észlelni tudta, mintegy kihalászta a receptort. Munkájának köszönhetően a különböző ( $\alpha$  és  $\beta$ ) adrenerg receptorokra specifikus ligandumokat lehetett tervezni<sup>5</sup>. A specifikus jelölés nyújtotta szelektivitást kihasználva sor kerülhetett a G-fehérjéhez kapcsolt receptormolekulák izolálására, majd később aminosav-sorrendjük meghatározására. Ennek alapján ma már tudjuk a jelátviteli egység molekuláris felépülésének mikéntjét. Az extracelluláris térből a jelet indukáló kisméretű szerves-, vagy fehérjemolekula, jelen funkciójára nézve ligandum, a receptor extracelluláris vagy transzmembrán részéhez kapcsolódva „viszi át” a jelet a sejtmembránon át, stimulálva az intracelluláris G-fehérjéje komplexet. Ennek alapján a jelátvitel egy allosztérikus mechanizmusként jellemezhető<sup>6</sup>.

Ahhoz, hogy a receptor működésének pontosabb szerkezeti mechanizmusát fel lehessen deríteni, előbb a receptormolekulát izolálni (környezetétől elkülöníteni), majd tisztítani kellett. A receptorok tisztítása nagyon nehéz feladat volt, mert a molekulák a sejtekben rendkívül kis mennyiségben vannak jelen. Feloldásuk vizes közegben szinte lehetetlen feladat, hiszen lipid- (hidrofób, zsírszerű) membránokban előforduló, zsíroldékony makromolekulákról van szó. Az adrenalin és noradrenalin hatását közvetítő adrenerg receptorok tisztítása során az jelentette az áttörést, hogy Lefkowitz és munkatársai specifikus ligandumok segítségével megoldották a receptor ún. affinitási kromatográfiás módszerekkel történő tisztítását. Ezt követően sikerült meghatározni a megtisztított receptorok egyes fragmentumainak aminosav-sorrendjét, és ez jelentette a kiindulási pontot a receptort kódoló mRNS (hírvívó RNS) azonosításához, majd a teljes fehérje aminosav-sorrendjének meghatározásához. Mint a sejtekben



**2. ábra. A G-fehérjéhez kapcsolt receptor membránba ágyazott receptor-fehérje sematikus rajza. A membránokban szigetként úszó transzmembrán hélix-köteget színes hengerek ábrázolják<sup>8</sup>**

található fehérjéket általában, a G-fehérjéhez kapcsolt receptormolekulát is valamely kromoszóma DNS-szegmense(i) kódolja. Megindultak a molekuláris biológiai kutatások, amelyeknek köszönhetően *Dixon* és *Strader* munkacsoportjának a Lefkowitz munkacsoporttal együttműködve sikerült megtalálnia az első G-fehérjéhez kapcsolt ligandkötő receptor, a béta<sub>2</sub> adrenerg receptor cDNS-ét<sup>7</sup>. Ebben a munkában már meghatározó szerepet vállalt a Lefkowitz kutatócsoporthoz 1984-ben csatlakozó *Brian Kent Kobilka*. Nagy szerencséjükre, ez a gén nem tartalmazott intronokat, így a teljes szekvencia viszonylag könnyen vált azonosíthatóvá. Munkájuk során egyértelművé vált, hogy a receptor transzmembrán része 7 darab  $\alpha$ -helikális szerkezeti elemet tartalmaz (2. ábra). Óriási meglepetésre kiderült, hogy a fényérzékelésért felelős rhodopszin és az adrenerg receptorok szerkezeti között jelentős homológia figyelhető meg; mindkettő a fehérjék azonos családjához, a G-fehérjéhez kötött receptorok családjába – sőt később kiderült, hogy ezen belül is egy osztályba – tartoznak. Ez megmagyarázza azt a korábbi megfigyelést is, mely szerint a rhodopszin és a béta receptor számos detergens közül végül azonos detergenssel volt feloldható és izolálható.

A 90-es évektől egyre fókuszáltabb kutatások indultak meg a receptorfunkciót betöltő fehérje térszerkezet-meghatározására. Nagy nehézséget jelentett azonban az, hogy a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok transzmembrán jellegük miatt csak nagyon nehezen kristályosítható, elsősorban lipidekben oldható makromolekulák. Krio-elektronmikroszkopias felvételek alapján a rhodopszinról kerültek napvilág-

ra (Schertler és Henderson) az első szerkezeti információk<sup>9</sup>, s ha alacsony felbontás mellett is, de ezek már világossá tették a transzmembránfehérje molekuláris térszerkezetének bizonyos tulajdonságait.

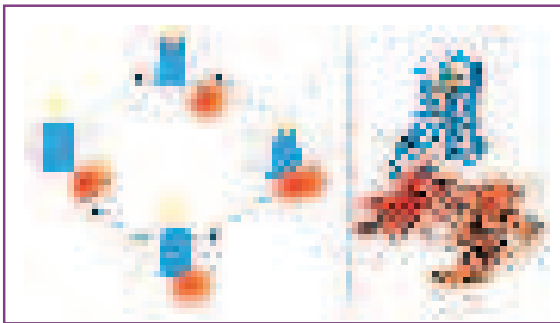
A receptorok atomi felbontást eredményező molekuláris képének meghatározásához meg kellett oldani a tisztított receptorok kristályos formában történő előállítását (3. ábra). Az áttörést az jelentette, hogy *Palczewski* és munkatársai meghatározták az első három-dimenziós térszerkezetet a nem-aktivált rhodopszinmolekuláról. Ez



**3. ábra. Marharhodopszinból növesztett egykristályok<sup>10</sup>**

tekinthető az első nagy felbontású G-fehérjéhez kapcsolt receptorszerkezetnek<sup>11</sup>. Krisztallográfiai szempontból az agonista hiánya azonban számos technikai problémát okoz, mivel ebben a – ligandumot nem kötő – formában a receptor sokkal mozgékonyabb, a fehérje belső dinamikája fokozott. E probléma megoldásán kezdett *Brian Kobilka* *Gebhard Schertlerrel* és *Raymond Stevenssel* dolgozni. Ezt követően számos új G-fehérjéhez kapcsolt receptorszerkezet határozta meg (*Klaus P. Hofmann* és *Oliver P. Ernst* – opsin<sup>12,13</sup>; *Kobilka* – nem aktivált  $\beta$ AR<sup>14</sup>). A végső áttörést azonban *Kobilka* teljes  $\beta$ AR receptorról készült háromdimenziós röntgenszerkezete hozta<sup>15</sup>, melyben már a teljes molekula hármass komplexé, a ligandum, a receptor és a G-fehérjéje is jelen voltak (4. ábra). E komplex kristályszerkezetének megoldása azonban rengeteg módszertani lépés kifejlesztését igényelte. Szükség volt a GDP-kötött G-fehérje apirázos kezelésére, megfelelő detergens közeg optimalizálására a komplex stabilitásának érdekében, a G $\beta$  alegység konformációs stabilizálására megfelelő ellenanyag alkalmazásával, T4-lizozim kapcsolására a TM5 és TM6 közötti hurok régióhoz, a mobilitásuk csökkentésére és a kristályosítás elősegítésére.

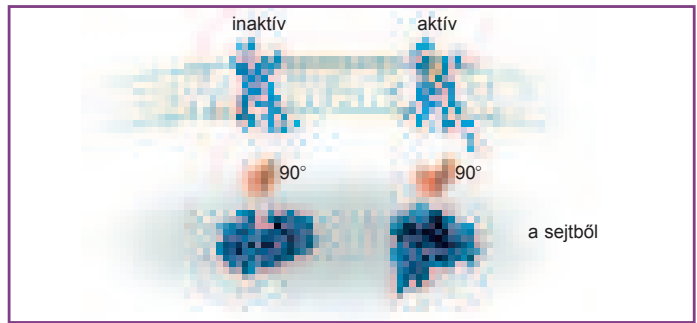
Összefoglalva tehát, egy hosszán tartó és sok leleményességet igénylő azonosítást, tisztítást és előállítását követő kristályosítás, majd térszerkezet-meghatározásnak köszönhetően ma már tudjuk, hogy egy G-fehérje kapcsolt receptor egy extracelluláris doménből (ECD), 7



**4. ábra.** A G-fehérjéhez kapcsolt receptor komplex jelátviteli ciklusa. A G-fehérjéhez kapcsolt receptorhoz (kék szimbólum) agonista (sárga hatszög) kötődik, mely a receptor konformációjának megváltozását és három alegységből álló G-fehérjéhez (piros, három részre osztott kör) kapcsolódását eredményezi. Ennek a komplexnek a kristályszerkezetét mutatja az ábra jobb oldali része (3sn6). A komplex ezt követően szétesik, majd a receptor és a G-fehérje ismét inaktív állapotba kerül<sup>1</sup>

transzmembrán  $\alpha$ -hélixből (7TM), és az ezeket intra- (IL-1-3) és extracelluláris (EL-1 és -3) loopokál összekötő kanyarokból, valamint a C-terminálison elhelyezkedő intracelluláris doménből áll. Az extracelluláris domén ligandumot nem kötő formája alapvetően rendezetlennek mondható, az több konformációs-állapot együtteseként van jelen. Ez az extracelluláris rész felelős elsősorban a rendkívül specifikus ligandumkötésért, amely folyamat finomhangolásában az extracelluláris loopok (főképp az EL-2) is részt vesznek. A 7 transzmembrán  $\alpha$ -hélix egy felülről lyukas „hordóként” jellemezhető, ám elsőre talán különös módon ezen a lyukon át nem jutnak be a sejtekbe a jelátviteli út kiváltásáért felelős molekulák. (A G-fehérjéhez kapcsolt receptorfehérje jelátvivő és nem molekulát-importáló csatornaként funkcionál az élő szervezetben.) A ligandum kötődése az ECD-hez és az EL-2-höz egy konformációs kaszkádot indít el (5. ábra), amelynek következménye az intracelluláris hurkokhoz kapcsolódó G-fehérjéhez kötött GDP kicserélődése GTP-re.

E sorok egyik szerzője (P. A.) munkatársaival az ELTE-MTA Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratóriumában, valamint Fehérjemodellező Kutatócsoportjában jelenleg a GLP-1 G-fehérjéhez kapcsolt receptor szerkezetvizsgálatán dolgozik. Szeretnénk megérteni a B családba tartozó G-fehérjéhez kapcsolt receptorok ligandumkötési mechanizmusát, amely különösen érdekes és nehéz kihívás, mivel e receptor extracelluláris doménje nagyfokú belső rendezetlenséget mutat. Kutatásunkkal remélhetőleg közelebb juthatunk a 2-es típusú cukorbetegség gyógyításához is, hiszen a ma igen korszerű terápiás jellemzőkkel rendelkező *exenatid*

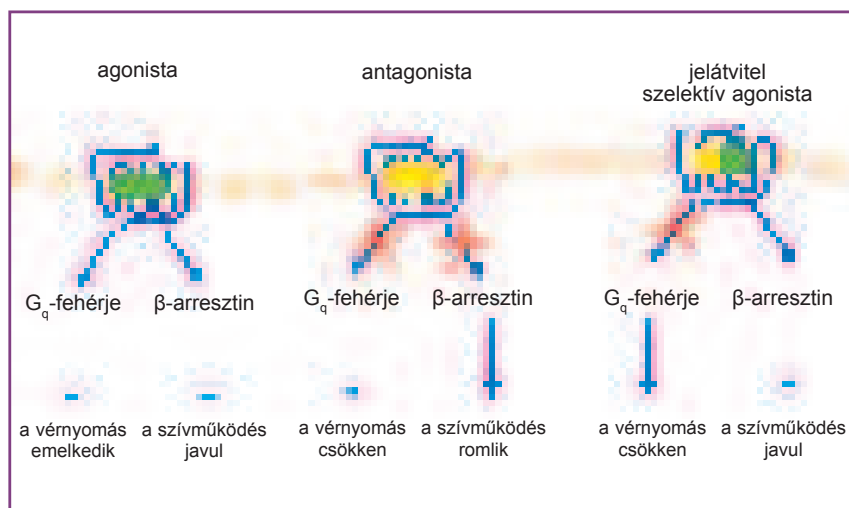


**5. ábra.** A jelátvitel többségét biztosító G-fehérjéhez kapcsolt receptor működésének sematikus rajza: a nem-aktivált  $\beta$ AR (2bar.pdb) és az aktivált (3sn6.pdb) receptor térszerkezetének változása. Felül a sejtmembránba ágyazva (szalagdiagram), alul ugyanez a sejt belseje felől nézve<sup>1</sup>

molekula is éppen ezen a G-fehérjéhez kapcsolt receptoron keresztül fejti ki jótékony hatását. Évek óta a receptor megfelelő részének előállításán (az extracelluláris domén expresszióján) és tisztításán dolgozunk, valamint a TÁMOP pályázat során elnyert 700 MHz-es NMR készülékkel a ligandumkötés molekuláris részleteit térképezzük fel egy jövőbeni racionális gyógyszeroptimalás céljából. A munkánk során előállított agonistákat a Selmelweis Egyetem I. Gyermekklinikáján (Jermendy Agnessel közösen) beállított élő sejtvonalas teszteken vizsgáljuk, remélve, hogy a ma ismert hatóanyagnál kedvezőbb farmakokinetikai tulajdonságú vegyülettal tudunk majd előrukkolni.

Amint a fentiekből is kitétnik, a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok gyakorlati jelentőségét a terápiában játszott kiemelkedő szerepük adja. Azok a szerek, melyek serkentik (agonisták), illetve gátolják e receptorok működését, a szervezet szabályozási folyamataiba beavatkozva számos betegség terápiájában kulcsszerepet játszanak. A farmakológiai tankönyvek jelentős részét teszik ki a különböző receptorokon ható agonista, illetve antagonistá hatású vegyületek. (A számos példa közül itt meg kell említeni, hogy 1988-ban *Sir James W. Black* két G-fehérjéhez kapcsolt receptor, a béta adrenerg receptor és a  $H_2$  hisztaminreceptor terápiás szempontból kiemelkedő jelentőségű antagonistáinak fejlesztéséért nyerte el az élettani és orvosi Nobel-díjat.) R. J. Lefkowitz munkásságának további fontos következménye a jelátvitel szelektív agonizmusnak fordítható „*bias agonism*” koncepció kialakulása<sup>16</sup>. E koncepció a szelektivitás új dimenzióját jelenti, mert ennek értelmében az agonisták nem csupán abban a tekintetben lehetnek szelektívek, hogy melyik receptort aktiválják, hanem egy receptor különböző működéseinek sze-

lektív aktiválására, illetve gátlására is képesek lehetnek. Ezt az teszi lehetővé, hogy a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok nem csupán G-fehérjék aktiválásával fejtik ki a hatásukat, hanem létezik olyan jelátviteli folyamat is, melyet az aktivált receptorhoz kapcsolódó béta-arresztin molekulák indítanak el. A béta-arresztin függő jelátviteli folyamatot a Lefkowitz-munkacsoport fedezte fel<sup>17</sup>. Annak bizonyítása, hogy ez a jelátvitel G-fehérje aktiválástól függetlenül jön létre, e sorok egyik szerzőjével (H. L.) együttműködésben történt<sup>18</sup>. Korábbi munkánk során olyan angiotenzin-receptorokat azonosítottunk, melyek nem képesek G-fehérje aktiválásra, de képesek voltak a receptor egyes működéseit (a receptoroknak a sejtek belsejébe agonista hatására történő felvételét, a receptorok ún. internalizációját) aktiválni. E receptorok egyike a béta-arresztin függő jelátvitelt annak ellenére serkentette, hogy G-fehérjét nem volt képes aktiválni. Egyidejűleg olyan jelátvitel-szelektív ligandumot is sikerült találni, mely nem aktiválta a G-fehérjétől függő jelátvitelt, de a béta-arresztin függő jelátvitelt serkentette. A jelátvitel-szelektív agonisták jelentőségét az adja, hogy bizonyos esetekben az egyik jelátviteli folyamat a gyógyszer hatását, míg a másik a mellékhatását közvetíti. Több receptor esetében leírták már, hogy a receptorok jelátviteli mechanizmusainak szelektív aktiválása farmakológiai szempontból előnyös hatású. További vizsgálatok fogják majd tisztázni, hogy a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok több száz receptort jelentő nagy családjában melyek azok, ahol terápiás jelentősége van a G-fehérje által közvetített, illetve a G-fehérjétől független mechanizmusok szelektív aktiválásának. Munkacsoportunk (H. L.) egyik fő témája e mechanizmusok azonosítása a bennük rejlő terápiás lehetőségek kiaknázása céljából. A szelektív ligandumok lehetőséget teremtenek arra, hogy úgy hozzuk létre az



**6. ábra. Jelátvitel szelektív agonista hatása. Az ábra a vérnyomásemelő és szív működést javító hatású angiotenzin II hormon (agonista) példáján mutatja be a jelátvitel szelektív agonisták terápiás jelentőségét. Az angiotenzin II receptorának antagonistáit gyakran alkalmazzák a vérnyomáscsökkentés terápiájában. Az antagonisták csökkentik a vérnyomást, és ezáltal kifejtik a várt terápiás hatást, de gátolja az angiotenzin II béta-arresztin által közvetített szív működést fokozó hatását is, ami előnytelen mellékhatást eredményez egyes szívelégtelenségben szenvedő betegeknél. Ha a jelátvitel szelektív agonista, csak a G-fehérje által közvetített vérnyomásemelő hatást gátolja, a terápiás hatás mellékhatás nélkül jöhet létre. (A szerzők köszönetet mondanak Józán Jolánnak az ábra elkészítésében nyújtott segítségéért.)**

egyik jelátviteli folyamat által közvetített hatást, hogy egyidejűleg nem hozzuk létre a másik jelátviteli folyamat következtében létrejövő mellékhatást (6. ábra).

Összefoglalva, a G-fehérjéhez kapcsolt receptoroknak fontos szerepük van a külvilágból érkező jelek, illetve a szervezet sejtjeinek összehangolt működését biztosí-

seget teremt a jelenleginél jobb gyógyszerként használható ligandumok fejlesztésére, míg a Lefkowitz-munkacsoport felismerése, hogy a receptorok egymástól függetlenül befolyásolható jelpályákat indítanak el, az eddiginél jobb hatásspektrumú (kevesebb mellékhatással rendelkező) szerek fejlesztésének a lehetőségét teremti meg.

**kislexikon:** izotóp jelzett ligandum, (ant)agonista, GTP, G-fehérjéhez kapcsolt receptor, adrenerg, allostérikus, cDNS, intron, apirázos, béta-arresztin, angiotenzin II  
**rövidítések:** βAR: β adrenerg receptor; cAMP: ciklikus AMP; ECD: extracelluláris domén; EL: extracelluláris loop (hurok); IL: intracelluláris loop (hurok); TM: transzmembrán (membránon átérő)

tó belső jelek érzékelésében. E receptorok kiemelt gyakorlati jelentősége az, hogy a ma terápiásan használt gyógyszerek kb. fele közvetve vagy közvetlenül a receptorok működésére hatva fejtik ki a hatásukat. Működésük megismerésében, valamint a bennük rejlő terápiás lehetőségek feltárásában úttörő szerepe volt Robert J. Lefkowitznak és Brian K. Kobilkának. Bár munkásságuk alapvetően elméleti jellegű felfedező kutatás, eredményeik óriási lehetőségeket teremtenek a gyógyszeripar számára, hiszen a Kobilka által leírt receptorszerkezet lehető-

HIVATKOZÁSOK:

[1] [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2012/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/)  
 [2] Rodbell M, Birnbaumer L, Posh SL, Krans HM (1971) The glucagon-sensitive adenylyl-cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanyl-nucleotides in glucagon action. *J Biol Chem* **246**, 1877-1882.  
 [3] Gilman AG (1987) G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem* **56**, 615-649.  
 [4] Rall TW, Sutherland EW (1958) Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. *J Biol Chem* **232**, 1065-1076.  
 [5] Lefkowitz RJ, Roth J, Pastan I (1970) Radioreceptor assay for adrenocorticotrophic hormone: new approach to assay of polypeptide hormones in plasma. *Science* **170**, 633-635.  
 [6] De Lean A, Stadel JM, Lefkowitz RL (1980) A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties and the adenylyl cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. *J Biol Chem* **255**, 7108-7117.  
 [7] Dixon RA, Kobilka BK, Strader DJ, Benovic

JL, Dohlman HG, Frielle T, Bolanowski MA, Bennet CD, Rands E, Diehl RE, Mumford RA, Slater EE, Sigal IS, Caron MG, Lefkowitz RJ, Strader CD (1986) Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor: primary structure and membrane topology. *Nature* **321**, 75-79.  
 [8] Wald G (1933) Vitamin A in the retina. *Nature* **132**, 316.  
 [9] Schertler GF, Villa C, Hendersson R (1993) Projection structure of rhodopsin. *Nature* **362**, 770-772.  
 [10] Okada T, Le T, Fox BA, Behnke CA, Stenkamp RE, Palczewski K (2000) X-Ray diffraction analysis of three-dimensional crystals of bovine rhodopsin obtained from mixed micelles. *J Struct Biol* **130**, 73-80.  
 [11] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Le Trong I, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE, Yamamoto M, Miyano M (2000) Crystal structure of rhodopsin: A G-protein coupled receptor. *Science* **289**, 739-745.  
 [12] Park J, Scheerer P, Hofmann KP, Choe HW, Ernst OP (2008) Crystal structure of the ligand-free G-protein-coupled receptor opsin. *Nature* **454**, 183-187.  
 [13] Scheerer P, Park JH, Hildebrand PW, Kim YJ, Krauss N, Choe HW, Hofmann KP, Ernst OP (2008) Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation. *Nature* **455**, 497-502.  
 [14] Rasmussen SG, Choi HJ, Fung JJ, Pardon EP, Casarosa P, Chae PS, Devree BT, Rosenbaum DM, Thian FS, Kobilka TS, Schnapp A, Konetzki I, Sunahara RK, Gellman SH, Pautsch A, Steyaert J, Weis WI, Kobilka BK (2011) Structure of a nanobody-stabilized active state of the β(2) adrenoceptor. *Nature* **469**, 175-180.  
 [15] Rasmussen SG, DeVree BT, Zou Y, Kruse AC, Chung KY, Kobilka TS, Thian FS, Chae PS, Pardon E, Calinski D, Mathiesen JM, Shah ST, Lyons JA, Caffrey M, Gellman SH, Steyaert J, Skiniotis G, Weis WI, Sunahara RK, Kobilka BK (2011) Crystal structure of the human beta2 adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* **477**, 549-555.  
 [16] Violin JD, Lefkowitz RJ (2007) Beta-arrestin-biased ligands at seven-transmembrane receptors. *Trends Pharmacol Sci* **28**, 416-422.  
 [17] Luttrell LM, Ferguson SS, Daaka Y, Miller WE, Maudsley S, Della Rocca GJ, Lin F, Kawakatsu H, Owada K, Luttrell DK, Caron MG, Lefkowitz RJ (1999) Beta-arrestin-dependent formation of β2 adrenergic receptor-Src protein kinase complexes. *Science* **283**, 655-661.  
 [18] Wei H, Ahn S, Shenoy SK, Karnik SS, Hunyady L, Luttrell LM, Lefkowitz RJ (2003) Independent beta-arrestin 2 and G-protein mediated pathways for angiotensin II activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 10782-10787.