

## Nobel de Química 2012: Receptores Acoplados à Proteína G

O Prêmio Nobel de Química de 2012 foi atribuído, pela Academia Real Sueca de Ciências, aos pesquisadores americanos Robert J. Lefkowitz, do Centro Médico da Universidade Duke (Carolina do Norte, EUA) e Brian K. Kobilka, da Escola de Medicina da Universidade Stanford (Califórnia, EUA), por seus estudos sobre os receptores acoplados à proteína G (GPCRs, sigla em inglês para *G-protein-coupled receptors*).

As pesquisas de Lefkowitz e Kobilka levaram à elucidação de como as células se comunicam umas com as outras e percebem os estímulos provenientes do ambiente. Os GPCRs são proteínas inseridas nas membranas biológicas e auxiliam na transmissão de sinais externos para o interior das células, atuando na regulação de diversas funções fisiológicas que variam da detecção de sensações físicas (*e.g.* luz) até a regulação hormonal. Os GPCRs desempenham funções centrais em processos bioquímicos e celulares, agindo como alvos moleculares de vários fármacos, compreendendo receptores muscarínicos, adrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos, opióides e purinérgicos, entre outros.

Cerca de 50% de todos os medicamentos disponíveis na terapêutica se ligam a algum dos diversos subtipos de GPCRs. Exemplos importantes incluem o antiulceroso ranitidina (Zantac)<sup>®</sup>, antagonista do receptor histamínico H<sub>2</sub>; o antipsicótico olanzapina (Zyprexa)<sup>®</sup>, antagonista do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2</sub> e o antialérgico desloratadina (Desalex)<sup>®</sup>, antagonista do receptor histamínico H<sub>1</sub>.

Diversos avanços importantes foram registrados desde a descoberta dos GPCRs, com destaque para a elucidação das estruturas 3D de diversos subtipos e seus complexos, por métodos experimentais como a cristalografia de raios X.

O conhecimento estrutural permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos bioquímicos dessa classe de receptores e o estabelecimento de bases moleculares que levaram à descoberta de novos fármacos. Os GPCRs possuem um enovelamento 3D similar conservado da cadeia polipeptídica, constituído por um domínio N-terminal extracelular, sete hélices transmembrana e um domínio C-terminal intracelular.

Os GPCRs interagem com proteínas localizadas na face interna da membrana celular. Essas proteínas específicas, conhecidas como proteínas G, são heterotrímeros constituídos de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Em 1980, Lefkowitz e colaboradores propuseram um mecanismo de ativação envolvendo a formação de um complexo ternário do ligante extracelular (agonista), o GPCR transmembrânico

e a proteína G intracelular atuando como a ativadora do sinal.

Na ausência de um sinal externo, uma molécula de GDP (guanosina difosfato) se liga à subunidade  $\alpha$  da proteína G. O complexo formado interage com o GPCR, que permanece inalterado até que uma molécula sinalizadora externa se ligue ao sítio de interação do GPCR, levando a uma mudança conformacional na estrutura 3D do receptor que ativa a proteína G. Uma molécula de GTP (guanosina trifosfato) substitui a de GDP (ligada à subunidade  $\alpha$ ) e as subunidades da proteína G se dissociam formando um complexo constituído pela subunidade  $\alpha$  ligada ao GTP e um complexo dimérico, constituído pelas subunidades  $\beta$  e  $\gamma$ .

Os dois complexos permanecem ancorados à membrana plasmática e são capazes de interagir com outras proteínas envolvidas na transdução de sinal. Alvos específicos de interação das proteínas G incluem enzimas que sintetizam segundos mensageiros e canais iônicos (*e.g.* Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>).

Devido a sua atividade GTPase, o GTP ligado à subunidade  $\alpha$ , quando a proteína G está na forma ativa, é hidrolisado gerando GDP, o que leva a uma nova mudança conformacional. Assim, o complexo trimérico  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  da proteína G é reestabelecido, favorecendo a sua interação com o GPCR.

Esse modelo foi extensivamente estudado por métodos termodinâmicos e coroado por Kobilka e colaboradores, com a determinação da estrutura em alta resolução, por difração de raios X em monocristais, do receptor isolado e do complexo ternário funcional do receptor  $\beta$ -adrenérgico com o ligante agonista e a proteína G. (Rasmussen *et al.* and Kobilka. Crystal structure of the  $\beta_2$  adrenergic receptor–G protein complex. *Nature* **2011**, 477, 549).

Os impactos dos resultados pioneiramente elucidados por Lefkowitz e posteriormente por Kobilka são evidenciados pelas inovações alcançadas no planejamento de novos compostos que se ligam especificamente aos múltiplos sítios moleculares que determinam a atividade funcional alostérica dos receptores GPCR. Esse é um exemplo emblemático da fina regulação molecular-estrutural que caracteriza a atividade das moléculas constituintes dos seres vivos.

Lefkowitz nasceu na cidade de Nova Iorque (Nova Iorque, EUA) em abril de 1943 e Kobilka em Little Falls (Minnesota, EUA) em maio de 1955.

Graduado em Medicina pela Universidade de Columbia, Lefkowitz completou sua residência médica no Hospital

Geral de Massachusetts em Boston (Massachusetts, EUA). Atualmente é professor titular de medicina, patologia e bioquímica da Universidade Duke e pesquisador do Instituto Médico Howard Hughes (Maryland, EUA).

Graduado em biologia e bioquímica pela Universidade de Minnesota e medicina pela Universidade Yale (Connecticut, EUA), Kolbika completou sua residência médica no Hospital Barnes em St. Luis (Missouri, EUA) e passou um período como pesquisador no laboratório de Lefkowitz na Universidade Duke. É atualmente professor titular do Departamento de Medicina e Fisiologia Molecular e Celular da Escola de Medicina da Universidade Stanford.

Lefkowitz e Kobilka compartilharão uma premiação de 8 milhões de coroas suecas (SEK), o equivalente a US\$ 1,2 milhão. Além disso, receberão uma medalha de ouro e um diploma.

É oportuno conhecermos um pouco mais sobre a história do Prêmio Nobel e, em particular, alguns detalhes sobre o Nobel de Química.

O Prêmio Nobel foi criado atendendo a um desejo do químico Alfred Nobel, manifestado em seu testamento. Nobel nasceu em outubro de 1833 em Estocolmo, na Suécia e faleceu em San Remo, na Itália, em dezembro de 1896. Em 1867, seus trabalhos na área de química o levaram à invenção da dinamite, explosivo à base de nitroglicerina misturado com material poroso absorvente e inerte, que iria ter grande impacto na construção de estradas e ferrovias, na abertura de túneis e canais, nas minerações e nas guerras, entre outros.

Desde 1901, o Prêmio Nobel é concedido nos campos de atividade da Química, Física, Fisiologia ou Medicina, Literatura e Paz. Em 1968, o Banco Central da Suécia (Sveriges Riksbank) estabeleceu o prêmio em Ciências Econômicas, que foi concedido pela primeira vez em 1969. Os prêmios são anunciados anualmente em outubro e entregues no dia 10 de dezembro, data do aniversário da morte de seu criador.

O Prêmio Nobel de Química foi concedido 104 vezes para 162 cientistas entre 1901 e 2012. Em oito ocasiões, o Nobel de Química não foi concedido (nos anos de 1916, 1917, 1919, 1924, 1933, 1940, 1941 e 1942). O prêmio foi concedido 63 vezes para um único laureado, 23 vezes foi compartilhado por dois e em outras 18 por três pesquisadores. Segundo os estatutos da Fundação Nobel, o Prêmio Nobel não poderá ser concedido a mais do que três pessoas.

Jacobus Henricus van't Hoff foi o primeiro ganhador, em 1901. Frederick Sanger foi o único laureado duas vezes, em 1958 e 1980. A média de idade de todos os laureados com o Nobel de Química, entre 1901 e 2011, é de 57 anos.

O mais jovem foi Frédéric Joliot, que recebeu o prêmio com 35 anos de idade em 1935, juntamente com a sua esposa Irène Joliot-Curie. O mais velho foi John B. Fenn, que foi agraciado em 2002 com 85 anos.

Entre os 162 laureados, quatro são mulheres: Marie Curie em 1911, Irène Joliot-Curie (filha de Marie Curie) em 1935, Dorothy Crowfoot Hodgkin em 1964 e, mais recentemente, Ada Yonath, em 2009. Marie Curie também foi agraciada com o Nobel de Física em 1903, sendo a única mulher na história a receber o Prêmio Nobel duas vezes.

Vale ainda destacar que Linus Pauling foi premiado duas vezes como único laureado, fato inédito até hoje. Pauling recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1954 e o Prêmio Nobel da Paz em 1962.

As pesquisas científicas, em geral, podem ser divididas entre pesquisa básica e pesquisa aplicada. Essencialmente, a pesquisa básica trata da investigação de novos fenômenos e de seus fundamentos para que possamos avançar o conhecimento em determinado campo. A pesquisa aplicada utiliza o conhecimento acumulado da pesquisa básica para gerar resultados em termos econômicos ou para resolver problemas relacionados a outras necessidades.

Os trabalhos que levaram os pesquisadores americanos ao Nobel de Química deste ano são um grande exemplo da integração e do intercâmbio de conhecimentos e, fundamentalmente, do caráter interdisciplinar das pesquisas de elevada complexidade e alto valor científico nas áreas de Ciências. Assim se construiu essa história: de meados de 1980, quando Lefkowitz e seus colaboradores clonaram o primeiro gene para o receptor  $\beta$ -adrenérgico, até que, mais tarde, esse conhecimento, agregado a inúmeros outros, fosse usado para o desenvolvimento de várias outras pesquisas, com investigações e aplicações de grande importância, trazendo benefícios à sociedade.

Por fim, a cada ano, descobertas científicas fascinantes entram para a história tendo como palco de inspirações o Prêmio Nobel, que encanta e desperta a curiosidade das pessoas. As lições são muitas e valiosas. Construir, com excelência, o conhecimento e o saber é fundamental para garantir o amanhã de uma nação mais próspera e justa. Formar os nossos jovens, com qualidade e responsabilidade, priorizando os valores éticos, acadêmicos e científicos é a esperança de que os profissionais do futuro serão capazes de pintar este palco de inspirações de verde e amarelo. Que o futuro seja breve!

**Adriano D. Andricopulo**, IFSC-USP  
*Presidente Sucessor da SBQ*  
**Glaucius Oliva**, IFSC-USP  
*Presidente do CNPq*

## G-Protein-Coupled Receptors: the 2012 Nobel Prize in Chemistry

The Royal Swedish Academy of Sciences awarded the 2012 Nobel Prize in Chemistry to the U.S. researchers Robert J. Lefkowitz, from the Duke University Medical Center (North Carolina, USA) and to Brian K. Kobilka, from the Stanford University School of Medicine (California, USA) for their studies on the G-protein-coupled receptors (GPCRs).

Lefkowitz and Kobilka's discoveries led to the elucidation of how cells communicate with each other and perceive stimuli from the environment. GPCRs are proteins embedded in the biological membranes and help to transmit external signals to the interior of cells, acting in the regulation of several physiological functions, ranging from the detection of physical sensations (*e.g.* light) to the hormonal regulation. GPCRs play a central role in cellular and biochemical processes, acting as molecular targets for many drugs, including muscarinic, adrenergic, dopaminergic, serotonergic, opiate and purinergic, among other receptors.

About 50% of all available drugs in the therapeutics bind to any of the various subtypes of GPCRs. Important examples include the anti-ulcer ranitidine (Zantac)<sup>®</sup>, the H<sub>2</sub> histaminic receptor antagonist; the antipsychotic olanzapine (Zyprexa)<sup>®</sup>, the 5-HT<sub>2</sub> serotonergic receptor antagonist and the anti-allergic desloratadine (Desalex)<sup>®</sup>, the H<sub>1</sub> histaminic receptor antagonist.

Several important advances have been recorded since the discovery of GPCRs, with emphasis on the elucidation of the 3D structures of different subtypes and their complexes, by means of experimental methods such as X-ray crystallography.

Such structural knowledge has enabled a better understanding of the biochemical mechanisms of this class of receptors and the establishment of the molecular bases that have led to the discovery of new drugs. GPCRs have a similar conserved 3D folding of the polypeptide chain, comprising an N-terminal extracellular domain, seven transmembrane helices and an intracellular C-terminal domain.

GPCRs interact with proteins located on the inner cell membrane. These specific proteins, known as G-proteins, are heterotrimers consisting of  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  subunits. In 1980, Lefkowitz and collaborators proposed an activation mechanism involving the formation of a ternary complex of the extracellular ligand (agonist), the transmembrane GPCR and the intracellular G-protein acting as a signal activator.

In the absence of an external signal, a molecule of GDP (guanosine diphosphate) binds to the  $\alpha$  subunit of the G-protein. The complex formed interacts with the GPCR, which remains unchanged until an external signaling molecule binds to the site of interaction of the GPCR, leading to a conformational change in the 3D structure of the receptor that activates the G-protein. One molecule of GTP (guanosine triphosphate) replaces the GDP (linked to the  $\alpha$  subunit) and the G-protein subunits dissociate creating a complex formed by the  $\alpha$  subunit linked to the GTP and a dimeric complex composed of the  $\beta$  and  $\gamma$  subunits.

Both complexes remain anchored to the plasma membrane and are able to interact with other proteins involved in signal transduction. Specific targets of interaction of G-proteins include enzymes that synthesize second messengers and ionic channels (*e.g.* Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>).

Due to its GTPase activity, the GTP bound to the  $\alpha$  subunit, when the G-protein is in the active form, is hydrolyzed generating GDP, which leads to a new conformational change. Thus, the  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  trimeric complex of the G-protein is reestablished, favoring its interaction with the GPCR.

This model has been extensively studied by means of thermodynamic methods to be finally crowned by Kobilka and collaborators with the high resolution structure determination by X-ray diffraction on single crystals of the isolated receptor and of the functional ternary complex of the  $\beta$ -adrenergic receptor with the agonist ligand and the G-protein. (Rasmussen *et al.* and Kobilka. *Nature* **2011**, *477*, 549).

The impact of the results initially elucidated by Lefkowitz and subsequently by Kobilka is evidenced by the innovations achieved in the design of new compounds that specifically bind to the multiple molecular sites, which determine the allosteric functional activity of the GPCRs. This is a prime example of the fine structural-molecular regulation that characterizes the activity of the molecules that constitute the living beings.

Lefkowitz was born in New York City (NY, USA) in April 1943 and Kobilka in Little Falls (Minnesota, USA) in May 1955.

Graduated in Medicine from the Columbia University, Lefkowitz completed his residency at the Massachusetts General Hospital in Boston (Massachusetts, USA).

Currently, he is a Professor of Medicine, Pathology and Biochemistry at the Duke University and a Researcher at the Howard Hughes Medical Institute (Maryland, USA).

Graduated in Biology and Biochemistry from the University of Minnesota and in Medicine from the Yale University (Connecticut, USA), Kolbika completed his residency at the Barnes Hospital in St. Louis (Missouri, USA) and spent some time as a Researcher in the Lefkowitz laboratory at the Duke University. He is currently a Professor in the Department of Medicine and Molecular and Cellular Physiology at the School of Medicine, Stanford University.

Lefkowitz and Kobilka will share an 8-million Swedish kronor (SEK) prize, the equivalent of US\$ 1.2 million. They will also receive a gold medal and a diploma.

It is worth learning a bit more about the history of the Nobel Prize and, in particular, about the Nobel Prize in Chemistry.

The Nobel Prize was established following a wish of the chemist Alfred Nobel, expressed in his will. Nobel was born in October 1833 in Stockholm, Sweden and died in San Remo, Italy in December 1896. In 1867, his work in the field of Chemistry led to the invention of dynamite, a nitroglycerin-based explosive mixed with inert absorbent and porous material, which would have a major impact on road and railway constructions, on the opening of tunnels and channels, on mining activities and on wars, among others.

Since 1901, the Nobel Prize has been awarded in the fields of Chemistry, Physics, Physiology or Medicine, Literature and Peace. In 1968, the Central Bank of Sweden (Sveriges Riksbank) established the Prize in Economic Sciences, which was first awarded in 1969. The awards are announced annually in October and delivered on December 10<sup>th</sup>, the anniversary of its creator's death.

From 1901 to 2012, the Nobel Prize in Chemistry was awarded 104 times to 162 scientists, with the exception of years 1916, 1917, 1919, 1924, 1933, 1940, 1941 and 1942. It has been awarded to a single winner 63 times, 23 times to two winners and 18 times to three researchers. According to the statutes of the Nobel Foundation, the Nobel Prize can not be granted to more than three people.

Jacobus Henricus van't Hoff was the first winner in 1901. Frederick Sanger was the only one to be laureated twice, in 1958 and in 1980. The average age of all Nobel laureates in Chemistry from 1901 to 2011 is 57 years. The youngest one was Frédéric Joliot, who received the award at the age of 35 in 1935, along with his wife Irène

Joliot-Curie. The oldest one was John B. Fenn, who was honored in 2002 at the age of 85.

Among the 162 winners, four are women: Marie Curie in 1911, Irène Joliot-Curie (Marie Curie's daughter) in 1935, Dorothy Crowfoot Hodgkin in 1964 and, more recently, Ada Yonath, in 2009. Marie Curie was also awarded the Nobel Prize for Physics in 1903, being the only woman in history to win the Nobel Prize twice.

It is also worth noting that Linus Pauling was awarded twice as the sole winner, unheard until now. Pauling received the Nobel Prize in Chemistry in 1954 and the Nobel Peace Prize in 1962.

Scientific research in general can be divided between basic and applied research. Essentially, basic research is the investigation of new phenomena and their foundations, so that knowledge in a particular field can advance. Applied research starts from the knowledge gained from basic research to generate results in economic terms or to solve problems related to other needs.

The work that led the American researchers to the Nobel Prize in Chemistry this year is a great example of the integration and exchange of knowledge and, ultimately, of the interdisciplinary research of high scientific value and high complexity in the areas of Science. So, this is how this story developed: in the mid-1980, Lefkowitz and colleagues cloned the first gene for the  $\beta$ -adrenergic receptor. And later, this knowledge, added to the knowledge generated in other areas, was used to develop several other researches, which resulted in investigations and applications of great importance, bringing benefits to society.

Finally, every year, fascinating scientific discoveries come into reality as a result of the inspiration that springs from the Nobel Prize, which enchants and awakens the curiosity of people. Many and valuable are the lessons gained. To build knowledge and expertise with excellence is critical to ensure a more prosperous and just nation's tomorrow. To educate our young people with quality and responsibility, prioritizing ethical, academic and scientific values, is our hope that the professionals of the future will be able to paint that source of inspiration green and yellow. May the future come soon!

**Adriano D. Andricopulo**, IFSC-USP  
*President-Elect of the Brazilian  
Chemical Society (SBQ)*

**Glaucius Oliva**, IFSC-USP  
*President of the National Council for Scientific and  
Technological Development (CNPq)*