

## G 蛋白偶联受体磷酸化研究进展\*

王焕南<sup>1▲</sup> 综述 白波<sup>2△</sup> 陈京<sup>2△</sup> 审校

(<sup>1</sup> 曲阜师范大学, 曲阜 273165; <sup>2</sup> 济宁医学院神经生物学研究所, 济宁 272067)

**摘要** G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR)是具有重要生理病理功能的跨膜受体蛋白。GPCR 磷酸化与 G 蛋白偶联受体激酶(G protein-coupled receptor kinases, GRKs)、蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)及 β 抑制蛋白(β-arrestin)密切相关。GPCR 发生磷酸化可选择性的激活 G 蛋白依赖或 G 蛋白非依赖 β-arrestin 信号转导通路,因而表现出偏向性受体/配体的特点。生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)及 Duolink 等新技术的应用,推进了 GPCR 磷酸化的研究进程。本文简要综述了 GRK、β-arrestin、PKC 等对 GPCR 磷酸化的作用及 GPCR 发生磷酸化后对偏向性信号转导的影响,并探讨了目前研究 GPCR 磷酸化的最新技术,为进一步了解 GPCR 生理病理功能和药物研发提供理论基础。

**关键词** G 蛋白偶联受体;磷酸化;信号转导;生物发光共振能量转移;Duolink

中图分类号:Q51 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2016)12-416-05

### Advances in G protein-coupled receptor phosphorylation

WANG Huannan<sup>1▲</sup>, BAI Bo<sup>2△</sup>, CHEN Jing<sup>2△</sup>

(<sup>1</sup> Qufu Normal University, Qufu 273165, China;

<sup>2</sup> Institute of Neurobiology, Jining Medical University, Jining 272067, China)

**Abstract:** G protein-coupled receptors (GPCRs) are transmembrane proteins with important pathological and physiological functions. G protein-coupled receptor kinases (GRKs), protein kinase C (PKC) and β-arrestin are closely related to G protein-coupled receptor phosphorylation. The process of GPCR phosphorylation selectively activates G protein-dependent or G-protein-independent signal transduction pathways, which shows the characteristics of the biased receptor/ligand. In addition, new technologies, such as bioluminescence resonance energy transfer and Duolink etc., further promote the research of GPCRs phosphorylation. In this review, the effects of GRK, β-arrestin and PKC on the phosphorylation of GPCR and phosphorylation of GPCR were summarized. The application of newly found technologies in GPCR phosphorylation were also discussed, which provides a theoretical foundation to further understand GPCR physiological and pathological function and drug development.

**Keywords:** G protein-coupled receptor; Phosphorylation; Signal transduction; Bioluminescence resonance energy transfer; Duolink

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)为 7 次跨膜蛋白,是人体内最大的膜受体,可与激素、多肽等多种配体相互作用。GPCR 与不

同配体作用后,可激活细胞内不同亚型的 G 蛋白进行信号转导,最终将细胞外信号传递到胞内,进而调控各种生物反应<sup>[1]</sup>。GPCR 结构和功能调控与多种蛋白激酶相关。GPCR 发生磷酸化能够影响其信号转导与相关蛋白分子的作用,对 GPCR 活性及疾病的生理、病理机制发挥重要的调节作用。本文将简要综述 GPCR 磷酸化的作用机制及 GPCR 发生磷酸化后对其信号转导的影响,并进一

\* [基金项目] 国家自然科学基金(31271243);山东省自然科学基金(ZR2015CL021);山东省高校科技计划(JY2015KJ001)

△ [通信作者] 陈京, E-mail: chenjnmc@163.com  
白波, E-mail: bbai@mail.jnmc.edu.cn

▲ 王焕南,曲阜师范大学 2014 级研究生

步探究了近年来研究 GPCR 磷酸化的新技术。

## 1 GPCR 磷酸化

蛋白质磷酸化是调控细胞生命周期的关键环节,对细胞的功能具有极其重要影响。GPCR 的磷酸化多发生在第三胞内环及 C 末端的丝氨酸/苏氨酸残基,从而影响 GPCR 在细胞内的转运、信号转导、脱敏及内化等活动。GPCR 磷酸化异常将引起受体的活性及灵敏度降低,甚至导致帕金森症、阿尔茨海默症、心血管疾病、侏儒症以及糖尿病等多种疾病的发生。因此,对 GPCR 磷酸化研究,将对相关疾病生理、病理机制的研究具有重要意义,为临床疾病提供重要的药物作用靶点。

### 1.1 G 蛋白偶联受体激酶对 GPCR 磷酸化的作用

G 蛋白偶联受体激酶(G protein-coupled receptor kinases, GRKs)可分为 7 种亚型(GRK1-GRK7)。GRK1 和 GRK7 在视网膜中表达,GRK4 仅在睾丸中表达,而其他的 GRKs 家族成员(GRK2、GRK3、GRK5 和 GRK6)则在机体内广泛表达。GRKs 各亚型的氨基端、羧基端以及中心催化区结构高度相似,其中氨基端用于底物识别,可通过磷酸化调节 G 蛋白依赖的方式进行信号转导<sup>[2]</sup>。当激动剂持续刺激 GPCR 后,GRKs 可使 GPCR 发生磷酸化,磷酸化的 GPCR 迅速与  $\beta$ -arrestin 结合,形成 GPCR/ $\beta$ -arrestin 复合物,使 GPCR 与 G 蛋白解偶联,从而抑制 G 蛋白的活化,即发生脱敏<sup>[3-4]</sup>。GPCR 脱敏可维持机体的生理平衡,但脱敏过程失调可能会导致多种疾病,如心脏衰竭、哮喘和自体免疫疾病等。研究表明,GRKs 具有广泛的底物特异性,不同的 GRKs 亚家族不仅可磷酸化不同蛋白的丝氨酸/苏氨酸残基,并且对同一种蛋白的磷酸化也具有差异性<sup>[5]</sup>。Florian 等<sup>[6]</sup>通过构建内皮素受体 A(ET<sub>A</sub>)C 末端的磷酸化突变型受体,将突变型受体与 GRK2 共转染 HEK293 细胞进行研究,结果发现 GRK2 诱导 ET<sub>A</sub> 发生磷酸化。进一步研究证明,GRK2 只参与介导了 ET<sub>A</sub> 的脱敏,而未参与 ET<sub>A</sub> 内化。Sayaka 等<sup>[7]</sup>对神经降压素 I 型受体(NTSR1)的体外实验研究表明,GRK2 和 GRK5 对 NTSR1 的磷酸化具有选择差异性。GRK2 以激动剂依赖的方式磷酸化 NTSR1,而 GRK5 对 NTSR1 的磷酸化则不依赖于激动剂的作用。有研究指出,GRK2 只磷酸化受体 C 末端丝氨酸残基,而 GRK5 可磷酸化位于第三胞内环及 C 末

端的丝氨酸/苏氨酸残基。值得说明的是,相比  $\beta$ 2-肾上腺素受体和  $\mu$  阿片受体,NTSR1 突变体的磷酸化研究表明,对于其特定的磷酸化位点,GRK2 不需要磷酸化该受体的酸性残基。因此,GRKs 对 GPCR 磷酸化的差异性被认为是特定信号编码的结果。

### 1.2 $\beta$ -arrestin 对 GPCR 磷酸化的作用

$\beta$ -arrestin 是细胞内广泛存在的支架蛋白和衔接蛋白,在 GPCR 的脱敏-内化-复敏-再循环以及 G 蛋白非依赖的信号转导中具有重要的调控作用。G 蛋白依赖的信号转导过程中,GPCR 受细胞外信号刺激并被激活,同时暴露出与 G 蛋白的结合位点,激活 G 蛋白。被激活的 G 蛋白各种亚型调节腺苷酸环化酶(AC)、磷脂酶以及离子通道等,从而将细胞外信号进行级联放大。GPCR 与 G 蛋白和  $\beta$ -arrestin 之间相互作用的程度决定了胞内信号转导的选择性<sup>[8]</sup>。 $\beta$ -arrestin 作为磷酸化 GPCR 在细胞内结合的主要分子之一,可与 GRKs 联合作用,促使 GPCR 发生脱敏,进而调节受体内存及信号转导等多种生物学功能<sup>[9-10]</sup>。

活化的 GPCR 被 GRKs 磷酸化后,与  $\beta$ -arrestin 的亲合力显著增加,形成 GPCR/ $\beta$ -arrestin 复合物,此复合物在细胞内可存在几分钟至数小时。形成复合物后致使  $\beta$ -arrestin 的构象发生改变,进而抑制 GPCR 与 G 蛋白的结合或者直接使 GPCR 与 G 蛋白发生解偶联,再通过  $\beta$ -arrestin 介导的 G 蛋白非依赖途径进行信号转导。根据激动剂介导的  $\beta$ -arrestin 与不同 GPCR 作用的强度和时间的不同,可将 GPCR 分为两类,A 类 GPCR 与  $\beta$ -arrestin 形成的复合物是短暂的,受体发生内存后迅速与  $\beta$ -arrestin 发生解离,返回质膜,如  $\beta$ 2-肾上腺素、 $\mu$ -阿片类药物、内皮素 A 型受体等。相比之下,B 类 GPCR 与  $\beta$ -arrestin 的相互作用更稳定,这类受体复合物经过内涵体发生降解或缓慢循环到质膜,如神经降压素 I 型受体、血管紧张素 II 的 I 型受体、血管升压素受体(V2R)等<sup>[11]</sup>。

$\beta$ -arrestin 介导的 GPCR 内存过程需要与网格蛋白(Clathrin)、衔接蛋白 2(AP2)等相互作用。网格蛋白是蛋白质内存过程中研究最早的核心蛋白,在 GPCR 的内存过程中 Clathrin 可形成网格蛋白小窝(CCPs),大多数 GPCR 内存都需经过 CCPs 的形成过程,但是 GPCR 并不与 Clathrin 直接结合,而是由 AP2 作为分子桥梁,将二者联系起来。同

样,  $\beta$ -arrestin 也作为衔接蛋白对 GPCR 的内吞过程进行调控<sup>[12]</sup>。通过激光共聚焦显微镜观察发现, 激动剂持续刺激 30min 或更长长时间后, 绿色荧光蛋白标记的促甲状腺激素释放激素 (TRH) 受体与  $\beta$ -arrestin 及网格蛋白在 CCPs 囊泡内共定位表达<sup>[13]</sup>。

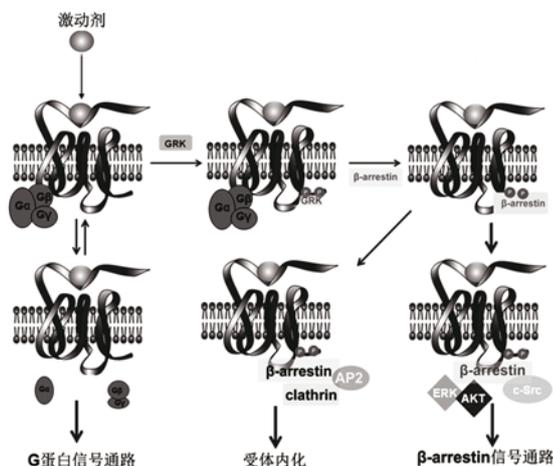


图 1  $\beta$ -arrestin 在 GPCR 信号转导中的作用<sup>[12]</sup>

### 1.3 蛋白激酶 C 对 GPCR 的磷酸化作用

在 GPCR 超家族中, 大多数 GPCR 由 GRKs 介导发生磷酸化使其脱敏。但是, 对吗啡诱导  $\mu$  阿片受体 (MOR) 的研究发现, GRKs 在 MOR 磷酸化过程中只起到微弱的作用<sup>[14]</sup>。因此, GPCR 的脱敏内化过程可能还受其他蛋白激酶的调控。蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是第二信使调节激酶, 研究发现 PKC 在吗啡诱导 MOR 磷酸化的调节过程中发挥关键作用。活化的 GPCR 可使胞内 cAMP、 $\text{Ca}^{2+}$  及二酰甘油 (DAG) 浓度迅速增加, 从而激活 PKC, 激活后的 PKC 通过介导下游目的蛋白的磷酸化而参与 GPCR 信号转导的调节。PKC 主要对 GPCR 的胞内环以及 C 末端的磷酸化位点进行负反馈调节。Susann 等<sup>[15]</sup> 表明, PKC 可使 MOR 的特异性磷酸化位点 S363 和 T370 发生磷酸化。PKC 介导 T370 磷酸化后可通过激活 Gq 亚型的 G 蛋白进行信号转导。另外对 MOR 脱敏过程的研究发现, PKC 似乎参与吗啡诱导的 MOR 脱敏, 但其脱敏机制是否直接涉及 PKC 对 MOR 的磷酸化作用, 目前尚不可知<sup>[16]</sup>。尽管如此, PKC 对 GPCR 磷酸化的调控作用远不如 GRKs 对 GPCR 磷酸化的影响重要。

## 2 GPCR 的磷酸化对偏向性配体/受体及信号转

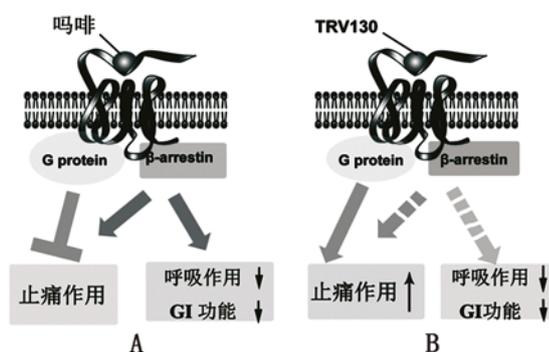
## 导的影响

对 GPCR 传统的研究认为, 配体与 GPCR 结合后, 可使 GPCR 活化或者使受体构象发生改变, 进而激活 G 蛋白下游 cAMP、 $\text{Ca}^{2+}$  等第二信使, 通过 G 蛋白-第二信使-磷脂酶等信号级联反应进行信号转导。但是, 近年来, 越来越多的研究者提出 GPCR 活化后可与配体通过特有的信号通路发挥功能, 这一独特的现象为偏向性配体或功能选择性配体的提出创造了条件。同样的, 一种配体或激动剂与不同受体结合后, 也可选择性的依赖 G 蛋白或者  $\beta$ -arrestin 通路进行信号转导, 具有此功能的受体称之为偏向性受体。因此, 偏向性或功能选择性配体/受体优先调节某一特定的信号通路, 表明 GPCR 下游信号的选择性激活对药物治疗相关疾病的特异靶向性和安全性具有重要意义。近期本实验室研究表明, apelin 受体 (APJ), 其 C 末端 348 位丝氨酸突变为丙氨酸, 通过对稳定表达 APJ-S348A 的 HEK293 细胞研究发现, 激动剂作用 5 min 时 S348A 位点对 ERK1/2 的快速磷酸化没有影响, 但持续刺激 15min 后突变体 APJ-S348A 激活的 ERK1/2 磷酸化作用减弱。同时发现 ERK1/2 磷酸化后期是以  $\beta$ -arrestin 依赖的方式完成的。由  $\beta$ -arrestin 介导的 G 蛋白非依赖的 ERK1/2 磷酸化受 APJ348 位突变点的影响, 致使  $\beta$ -arrestin 介导的内吞以及 ERK1/2 磷酸化都受到抑制。由于 APJ-S348A 失去了与  $\beta$ -arrestin 高度结合的能力, 而表现出偏向受体的特性<sup>[17]</sup>。类似的, 偏向性配体的提出也丰富了 GPCR 的信号转导途径, 也使得具有偏向性配体的药物研发成为目前研究的热点。 $\beta$ -arrestin 的偏向性配体 TRV120027 竞争性结合血管紧张素 II 的 I 型受体 (AT1R), 同时阻断 G 蛋白信号转导, 通过 GRKs 招募  $\beta$ -arrestin 增加心肌收缩力<sup>[18]</sup>。同样的, TRV130 是最近新发现的  $\mu$  型阿片受体的配体, 其偏向选择 G 蛋白信号通路可发挥强有效的止痛作用, 与吗啡相比, 降低了对胃肠道及呼吸系统功能的副作用。因此, TRV130 的发现表明  $\mu$  型阿片受体的镇痛作用及其负性作用是不同偏向性配体对信号转导途径选择的结果<sup>[19]</sup>。

## 3 研究 GPCR 磷酸化生理功能的新技术

蛋白质磷酸化参与生物体众多生理功能的调控, 是蛋白质表达与调控的关键环节。因而, GPCR 的磷酸化在信号转导过程中的作用也成为重要的

研究课题,尤其是 GRKs、 $\beta$ -arrestin 等分子对 GPCR



A 图为吗啡作用  $\mu$  型阿片受体介导的  $\beta$ -arrestin 信号通路产生镇痛作用,同时产生呼吸及胃肠道副作用;

B 图为 TVR130 作用于  $\mu$  型阿片受体后,TVR130 不能募集  $\beta$ -arrestin,而只介导 G 蛋白依赖的信号通路<sup>[19]</sup>。

图 2  $\mu$  型阿片受体及其副作用

磷酸化的特异性调控受到越来越多的关注。目前,研究 GPCR 磷酸化的技术有很多,如质谱、磷酸映射、特异性磷酸化抗体和磷酸化位点诱变等。准确定量分析 GPCR 的磷酸化状态,最常见的技术是免疫沉淀、Western 等,但是二者都需要大量的蛋白样品,而对于干细胞及组织等很难获得,并且这两种方法都需先将细胞裂解,不能保持蛋白质在活细胞内的亚定位。目前,比较前沿的在天然状态下原位观察与定量分析蛋白质磷酸化的分析技术有 BRET、Duolink 等。BRET 是近 10 年来发展起来的新技术,主要用于研究活细胞内蛋白质与蛋白质之间的相互作用。BRET 是以发光供体与荧光受体间发生的能量转移为基础,当供体在相应底物存在时发射光波,能量受体为荧光蛋白,可在一定波长内吸收光波。若供体与受体空间距离足够近( $< 10\text{nm}$ )时,其供体的发射光谱与能量受体的激发波长发生重叠时,可发生能量转移,即可检测到 BRET 信号。Alexandre 等<sup>[20]</sup>用 BRET 技术检测到细胞内 GRK2 可招募活化的  $\alpha 2\text{A}$  肾上腺素受体 ( $\alpha 2\text{A}$ -adrenergic receptor,  $\alpha 2\text{AAR}$ ),并且发现  $\alpha 2\text{AAR}$  在不同浓度的激动剂作用下与 GRK2 结合后发生膜移位,表明 GRK2 与 GPCR 的调节密切相关。Namkung 等<sup>[21]</sup>通过 BRET 技术检测到细胞内 D2 多巴胺受体(D2AR)可与 GRKs 及  $\beta$ -arrestin3 结合,并发现 GRKs 介导 D2AR 的磷酸化并对其内吞进行调控。

Duolink 是基于邻位连接技术(proximity ligation assay, PLA)发展起来的可以原位定量分析蛋白质

之间相互作用以及蛋白质磷酸化的新技术<sup>[22]</sup>。Duolink 技术检测磷酸化蛋白质的原理是对目标蛋白进行双重模式识别,即两种不同的一级抗体对同一种受体进行原位免疫检测,其中一种一级抗体对该受体作用,而另一种一级抗体作用于该受体的磷酸化位点。分别作用于两种一级抗体的二级抗体含有特定的 DNA 链。在 DNA 连接酶的作用下,若该受体蛋白与磷酸化的蛋白质距离足够近( $< 40\text{nm}$ ),那么二级抗体上带有的寡核苷酸单链可通过互补配对形成环形模板,然后再通过滚环复制扩增出新的 DNA 片段。新的 DNA 片段通过与荧光探针杂交后进行检测或进行磷酸化定量分析。

#### 4 展望

GPCR 磷酸化参与调控细胞内信号转导、细胞的增殖与分化等生理、病理活动。GPCR 在不同的蛋白激酶调控下发生磷酸化,同时不同的蛋白激酶对 GPCR 家族成员的识别和修饰也显示差异性,因此增加了 GPCR 磷酸化研究的复杂性。已有大量研究证明,GPCR 发生磷酸化后,导致细胞内 GPCR 的组成以及数量发生改变,最终引起机体生理、病理功能的改变。若细胞内 GRKs 或 PKC 等蛋白激酶活性受到抑制或显著增强时,将导致 GPCR 生理、病理功能发生异常。GPCR 磷酸化分子机制的研究对癌症、帕金森综合征等疾病的治疗具有重要指导意义。偏向性受体/配体的提出,使药物在发挥最大功能的同时,还可有效降低副作用,为某些重大疾病的预防和治疗提供了新的药物靶点。

#### 参考文献:

- [1] Bradley SJ, Wiegman CH, Iglesias MM, et al. Mapping physiological G protein-coupled receptor signaling pathways reveals a role for receptor phosphorylation in airway contraction[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113 ( 16 ): 4524-4529. DOI: 10. 1073/pnas. 1521706113.
- [2] Huang C, Yoshino-Koh K, Tesmer JJ. A surface of the kinase domain critical for the allosteric activation of G protein-coupled receptor kinases [J]. J Biol Chem, 2009, 284 ( 25 ): 17206-17215. DOI: 10. 1074/jbc. M809544200.
- [3] 李胜,白波,陈京. G 蛋白偶联受体脱敏内吞和复敏调控机制进展[J]. 济宁医学院学报,2016,2:015. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2016. 02. 013.

- [4] 魏晓楠,白波,陈京. 5-羟色胺 1A 受体及其二聚化研究进展[J]. 济宁医学院学报, 2016, 39 (1): 48-52. DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2016.01.012.
- [5] McCorvy JD, Roth BL. Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 150:129-142. DOI:10.1016/j.pharmthera.2015.01.009.
- [6] Gärtner F, Seidel T, Schulz U, et al. Desensitization and internalization of endothelin receptor A: impact of G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2)-mediated phosphorylation [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (45): 32138-32148. DOI:10.1074/jbc.M113.461566.
- [7] Inagaki S, Ghirlando R, Vishnivetskiy SA, et al. G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) and 5 (GRK5) exhibit selective phosphorylation of the neurotensin receptor in vitro [J]. *Biochemistry*, 2015, 54 (28): 4320-4329. DOI:10.1021/acs.biochem.5b00285.
- [8] Liu Y, Yang Y, Ward R, et al. Biased signalling: the instinctive skill of the cell in the selection of appropriate signalling pathways [J]. *Biochem J*, 2015, 470 (2): 155-167. DOI:10.1042/BJ20150358.
- [9] Luttrell LM, Gesty-Palmer D. Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling [J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62 (2): 305-330. DOI:10.1124/pr.109.002436.
- [10] 陈京,姜云璐. GPCRs 二聚体:功能和药理作用展望 [J]. 济宁医学院学报, 2015, 38 (1): 1-7. DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.01.001.
- [11] Rankovic Z, Brust TF, Bohn LM. Biased agonism: An emerging paradigm in GPCR drug discovery [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26 (2): 241-250. DOI:10.1016/j.bmcl.2015.12.024.
- [12] Hinkle PM, Gehret AU, Jones BW. Desensitization, trafficking, and resensitization of the pituitary thyrotropin-releasing hormone receptor [J]. *Front Neurosci*, 2012, 6: 180. DOI:10.3389/fnins.2012.00180.
- [13] Doll C, Konietzko J, Pöll F, et al. Agonist-selective patterns of  $\mu$ -opioid receptor phosphorylation revealed by phosphosite-specific antibodies [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164 (2): 298-307. DOI:10.1111/j.1476-5381.2011.01382.x.
- [14] Illing S, Mann A, Schulz S. Heterologous regulation of agonist - independent  $\mu$  - opioid receptor phosphorylation by protein kinase C [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171 (5): 1330-1340. DOI:10.1111/bph.12546.
- [15] Thirkettle-Watts D. Impedance-based analysis of mu opioid receptor signaling and underlying mechanisms [J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2016, 6: 32-38. DOI:10.1016/j.bbrep.2016.03.002.
- [16] Brust TF, Hayes MP, Roman DL, et al. Bias Analyses of Preclinical and Clinical D2 Dopamine Ligands: Studies with Immediate and Complex Signaling Pathways [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 352 (3): 480-493. DOI:10.1124/jpet.114.220293.
- [17] Chen X, Bai B, Tian Y, et al. Identification of serine 348 on the apelin receptor as a novel regulatory phosphorylation site in apelin-13-induced G protein-independent biased signaling [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (45): 31173-31187. DOI:10.1074/jbc.M114.574020.
- [18] Namkung Y, Radresa O, Armando S, et al. Quantifying biased signaling in GPCRs using BRET-based biosensors [J]. *Methods*, 2016, 92: 5-10. DOI:10.1016/j.ymeth.2015.04.010.
- [19] Viscusi ER, Webster L, Kuss M, et al. A randomized, phase 2 study investigating TRV130, a biased ligand of the  $\mu$ -opioid receptor, for the intravenous treatment of acute pain [J]. *Pain*, 2016, 157 (1): 264-272. DOI:10.1097/j.pain.0000000000000363.
- [20] Beutrait A, Michalski KR, Lopez TS, et al. Mapping the putative G protein-coupled receptor (GPCR) docking site on GPCR kinase 2: insights from intact cell phosphorylation and recruitment assays [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (36): 25262-25275. DOI:10.1074/jbc.M114.593178.
- [21] Namkung Y, Dipace C, Javitch JA, et al. G protein-coupled receptor kinase-mediated phosphorylation regulates post-endocytic trafficking of the D2 dopamine receptor [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (22): 15038-15051. DOI:10.1074/jbc.M900388200.
- [22] Zhou S, Sorokina EM, Harper S, et al. Peroxiredoxin 6 homodimerization and heterodimerization with glutathione S-transferase pi are required for its peroxidase but not phospholipase A 2 activity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 94: 145-156. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.012.

(收稿日期 2016-10-13)