

DOI:10.13350/j.cjpb.200924

• 综述 •

HIV 包膜糖蛋白 gp120 结构及其动态性的研究进展*

李毅^{1,2}, 侯江春², 吴悦莎³, 桑鹏³, 杨力权^{3**}

(1. 大理大学数学与计算机学院, 云南大理 671003; 2. 云南省第二人民医院科教科; 3. 大理大学农学与生物科学学院)

【摘要】 HIV 包膜糖蛋白 gp120 通过两步结合细胞表面受体和辅助受体介导病毒侵入, 并利用序列变异、结构柔性和糖基化等策略形成构象掩模以逃避宿主免疫识别。纵观现有 gp120 相关研究报道, 实验解析了末端状态的结构、证实了受体结合诱导的构象变化、描述了不同条件下构象群体的分布; 理论分析了末端构象柔性、提取了集体分子运动、揭示了受体结合效应。本文综述了近年来关于 gp120 结构及其动态性的实验和理论研究, 从动力学、热力学和能力学的角度系统阐释了 gp120“结构—动态性—功能”的关系, 将有助于深入理解 HIV 病毒侵入和免疫逃逸的分子机制, 为抗 HIV 疫苗和药物的研发奠定了分子基础。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒; 包膜糖蛋白; 结构; 动态性; 综述

【中图分类号】 R373.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2020)09-1111-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2020 Sep; 15(9): 1111–1114.]

Research progress on the structure and dynamics of the HIV envelope glycoprotein gp120

LI Yi^{1,2}, HOU Jiang-chun², WU Yue-sha³, SANG Peng³, YANG Li-quan³ (1. College of Mathematics and Computer Science, Dali University, Dali 671003, China; 2. Department of Science and Education, The Second People's Hospital of Yunnan Province; 3. College of Agriculture and Biological Science, Dali University)

【Abstract】 HIV envelope glycoprotein gp120 mediates viral infection in a two-step manner by binding to the cell surface receptor and coreceptors, and utilizes strategies such as sequence variation, structural flexibility and glycosylation to evade immune recognition of the host. Throughout the current research reports about gp120, experimental studies have solved the structure at the terminal states, confirmed the conformational changes induced by the binding of receptor and coreceptors, and described the distribution of the conformational populations under different conditions; theoretical researches have analyzed the flexibility of the end-state conformations, extracted the collective molecular motions, and revealed the effect of receptor binding. This article reviews recent experimental and theoretical studies on the structure and dynamics of gp120. It systematically explains the relationship among structure, dynamics, and function of gp120 from the perspectives of dynamics, thermodynamics, and kinetics, which will help to understand the molecular mechanism of virus infection and immune escape of HIV and have laid the molecular foundation for the development of anti-HIV vaccines and drugs.

【Key words】 HIV; envelope glycoprotein; structure; dynamics; review

***人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV) 是获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS) 的致病原。据世界卫生组织 (<https://www.who.int/hiv/data/en>) 最新统计, 全球约有 3 790 万 HIV 感染者, 已造成严重的公共卫生安全问题。包膜糖蛋白 (envelope glycoprotein) 是 HIV 感染细胞的蛋白质机器, 由三对外膜糖蛋白 gp120 和跨膜糖蛋白 gp41 的同源异质复合体组合而成^[1]。其中, gp120 是唯一暴露在外的病毒编码蛋白, 在病毒侵入和免疫逃逸中发挥着关键作用^[2]。与一般的病毒不同, HIV 采取了独特的两步结合过程来侵入宿主细胞, 即通过 gp120 识别和结合细胞表面受体 (CD4) 和辅助受体 (CCR5 或 CXCR4) 介导病毒侵入, 并最终促成病毒膜与细胞膜的融合^[3]。为了逃避宿主免疫系统的识别, gp120 进化出了以序列变异、结构柔性和糖基化为主要策略的构象掩模 (conformational mask) 机制^[4]。

本文综述了近年来关于 HIV 包膜糖蛋白 gp120 的结构及其动态性的实验和理论研究, 从动力学、热力学和能力学的角度系统阐释了 gp120“结构—动态性—功能”的关系, 有助于深入理解 HIV 病毒侵入和免疫逃逸的分子机制, 为抗 HIV 疫苗

和药物的研发奠定了分子基础。

1 HIV gp120 的结构

1.1 解析历程 尽管早在 1998 年 Kwong 等^[5]就已经利用 X 晶体衍射技术解析了 gp120 核心与受体 CD4 和辅助受体类似物 17b 结合的复合结构 (Protein Data Bank, PDB ID 1GC1), 但由于高度的序列变异性和结构柔性, 包含可变环区的 gp120 结构在世界各实验室的多年努力才相继被获得。比如, 2005 年得到的包含 V3 环的 gp120 单体结构 (PDB ID 2B4C)^[6], 2010 年取得的与 gp41 部分区域复合的 gp120 结构 (PDB ID 3JWD)^[7], 以及 2011 年解析的拥有部分 V1/V2 区域的 gp120 结构 (PDB ID 3U2S)^[8]。

* **【基金项目】** 国家自然科学基金地区项目 (No. 31960198); 云南省应用基础研究计划面上项目 (No. 2019FB021); 云南省应用基础研究计划青年项目 (No. 2019FD014, 2019FH001(-103))。

** **【通讯作者】** 杨力权, E-mail: ylbioinfo@gmail.com

【作者简介】 李毅 (1988—), 男, 云南大理人, 博士, 讲师, 从事计算生物学相关研究。E-mail: liyi.gerry@gmail.com

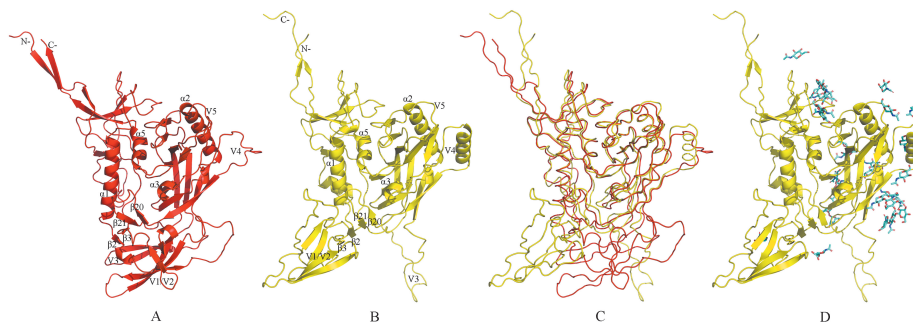
受限于蛋白质结晶条件,直到最近冷冻电镜技术的发展才得以获得包膜环境下的全长 gp120 结构,比如 2015 年基于电镜数据恢复的包膜结构模型(PDB ID 3J70)^[9]、2016 年获得的在大量多糖信息的包膜结构(PDB ID 5FYJ)^[10]、以及近两年才相继得到的电镜结构(PDB ID 6MEO^[11],6UDJ^[12])。

1.2 末端状态的结构 按照结构和功能的不同,gp120 可划分为内部结构域(inner domain)、外部结构域(outer domain)和小结构域(small domain)三部分。内部结构域处于包膜的中心轴,包括 N/C-末端、近末端的"β 三明治"(β-sandwich)结构,以及 α1 和 α5 两个螺旋。其中,以"β 三明治"为中心,延展出以 α0、α1 和 α5 为主要部分的层 1-3(layer1-3)结构^[7]。外部结构域是指包膜暴露在外的区域,由两个端对端的 β 桶(β-barrels)、α2 螺旋和 V4-5 两个外周环区组成。小结构域因其功能而单独划分,包括 V1/V2 区域、V3 环和桥片层。其中,桥片层是由 V1/V2 区域基部的 β2 和 β3 两个 β 股和外部结构域远端的 β20-β21 发夹所构成的 4 链 β 片层。此外,gp120 载有受体和辅

助受体两个重要的结合位点。受体 CD4 结合位点以 α3 为中心,涉及桥片层、β23-24 和 α5。辅助受体结合位点从桥片层延展出来,主要由 V3 环构成。

目前,实验解析的 gp120 结构呈现出关闭(closed)和开放(open)两种末端状态。在关闭态 gp120(PDB ID 5FYJ,图 1A)中,V1/V2 区域覆盖于 V3 环和桥片层之上,遮蔽了部分受体结合位点和全部辅助受体的结合位点,桥片层中 β 股从外端到核心的顺序为 β2-β3-β21-β20。在这个状态下,V1/V2 区域以一个由四 β 股(βA-βD)组成的"希腊钥匙"(Greek key)结构存在,可变环区 V1、L1 和 V2 依次位于 βA 和 βB、βB 和 βC,以及 βC 和 βD 之间^[7]。

对于开放态(PDB ID 3J70,图 1B),V1/V2 区域和 V3 环远离 gp120 核心,呈"Y 型"开放,受体结合位点形成,辅助受体结合位点暴露,桥片层的顺序为 β3-β2-β21-β20。实验证据表明,β21-β20 发夹相对于 β2-3 片层的位置变化被认为是 gp120 在两个末端状态之间转换的开关^[13]。



A 关闭态 gp120 结构(PDB ID: 5FYJ),V1/V2 区域覆盖于 V3 环和桥片层之上,桥片层从外端到核心的顺序为 β2-β3-β21-β20。 B 开放态 gp120 结构(PDB ID: 3J70),V1/V2 区域和 V3 环呈 Y 型开放,桥片层从外端到核心的顺序为 β3-β2-β21-β20。 C 关闭态(红色)和开放态(黄色)gp120 结构的骨架重叠。 D 核心区域多糖(棍状)与 gp120(黄色)的复合结构(PDB ID: 6MEO)。

图 1 HIV 包膜糖蛋白 gp120 结构的示意图。

A Closed-state gp120 structure (PDB ID: 5FYJ). The V1/V2 region covers the V3 loop and the order of the bridging sheet is β2-β3-β21-β20 from the outer domain to the core. B Open-state gp120 structure (PDB ID: 3J70). The V1/V2 region and V3 loop exhibit a Y-shaped orientation and the order of the bridging sheet is β3-β2-β21-β20 from the outer domain to the core. C The backbone superimpose of the closed (red) and open (yellow) gp120. D The complex (PDB ID: 6MEO) of the core-region glycosylation (stick) and gp120 (yellow).

Fig. 1 Schematic diagram of the structure of HIV envelop glycoprotein gp120.

与大多数病毒包膜蛋白类似,成熟的 gp120 高度糖基化(PDB ID 6MEO,图 1D),其多聚糖占其分子质量一半以上,遮蔽了大部分的抗原表位,形成了阻止宿主免疫抗体识别的屏障^[14]。

2 HIV gp120 的动态性

2.1 末端构象柔性 2014 年 Guttman 等^[15]利用氢氘交换耦合质谱(hydrogen/deuterium exchange coupled to mass spectrometry,HDX-MS)方法观测了 gp120 末端构象柔性。通过监测溶质(gp120)氢原子和溶剂(D2O)氘原子的交换速率,借助"蛋白质内部高稳定性区域氢氘交换较慢、外部高柔性区域氢氘交换较快"的原理,估计了 gp120 不同结构区域的柔性。除 N/C-末端和核心结构外,V1/V2 区域和 V3 环在关闭态下构象柔性很低、在开放态下则具有非常高的构象柔性;V4、5 环的构象柔性则在两个末端态下差异不大;在开放态下,桥片层单元 β2、3 的构象柔性显著增强,而 β20-21 发夹的构象则被抑制。

最近,原子分辨率的理论研究也指出,末端构象状态的 gp120 在动力学性质、运动模式、构象状态分布等方面均存在显著差异^[16]。首先,关闭态具有更为稳定和紧凑的结构、更高的

全局结构刚性,特别是 V1/V2 区域和 V3 环表现出显著更低的构象柔性。无论从结构上还是能量上,关闭态 gp120 都代表了稳定的"基态"。与关闭态相比,开放态 gp120 具有更多的构象子状态、更大的构象熵和更低的热稳定性。而且,开放态 gp120 的 V1/V2 区域和 V3 环表现出灵活的集体分子运动,说明这些结构域与核心的空间取向决定了两个末端构象的差异。

2.2 分子运动 2008 年在 gp120 实验结构还不完善的条件下,对 gp120 协同分子运动的计算模拟的研究就指出,两种末端构象状态 gp120 的分子运动呈现出复杂的运动模式^[17]。最具代表性的就是内部结构域、外部结构域和桥片层之间的旋转或扭曲运动,这些运动模式与受体、辅助受体的结合,以及逃避抗体中和抗体密切相关^[18]。模拟得到的分子运动与 gp120 实验结构的 B 因子具有的差异能进一步说明 gp120 与 gp41 解离相关的分子运动规律^[7]。2014 年包含 N/C-末端和 V4-5 环的模拟研究指出,大尺度的分子协同运动会影响 gp120 的受体结合位点的大小和形状,直接导致 gp120 与受体的相互作用^[19]。研究表明扰乱这些运动可能是阻断病毒与受体结合的潜在抗 HIV 抑制剂设计策略^[20]。此外,两个末端态 gp120 在分子运

动方向和幅度上的差异与其构象转换有关^[21]。

2.3 受体结合效应 2000年 Myszka 等^[22]使用超速离心、滴定量热法和表面等离子共振生物传感器测定了 gp120 与受体结合反应的热力学参数。观测到受体结合后 gp120 发生了出乎意料的热力学改变,其焓、熵和热容量的变化大大超过了典型的蛋白-蛋白相互作用的范围。实验说明 gp120 本身具有相当大的构象柔性,且在受体结合后发生了广泛的结构重排。

更进一步,不同条件下 gp120 的构象群体分布也被 Munro 等^[23]于 2014 年利用单分子荧光能量共振转移(single molecule fluorescence resonance energy transfer, smFRET)所刻画。将荧光供体和受体分别标记在 gp120 的 V1 环和 V4/V5 环,在病毒粒子表面的条件下测量荧光共振能量转移(FRET)值,以表征 gp120 不同构象状态的群体分布。实验结果揭示, gp120 本质上是内秉动态的。在任何条件下,均以至少三种不同构象状态的群体形式存在。在没有受体和辅助受体的情况下, gp120 呈现出以关闭态为主的构象分布;在两者均存在的情形下,则以开放态为优势构象。

最近,在受体结合对 gp120 结构动力学、构象转换影响的理论研究中,通过比较性分子动力学模拟,详细分析了受体结合对 gp120 动力学、分子运动和热力学等方面的影响^[24]。结果表明,受体结合有效地抑制了 gp120 的总体构象波动。尽管在开放态 gp120 的 V1/V2 区域仍具有较大幅度的波动,但受体的存在阻止了 V1/V2 区域接近 gp120 核心。重构的自由能图谱比较也表明,受体结合减少了 gp120 的构象多样性、增强了热力学稳定性。

进一步,基于马尔科夫状态模型^[25]和动态网络变构的分析^[26]也指出,受体结合通过阻碍 gp120 的构象转移和变构路径来发挥效应^[27]。该研究不但提供了 gp120 构象转换的原子分辨率描述,还提取了五个具有不同 V1/V2 区域和 V3 环空间取向的 gp120 亚稳态构象。结果说明,从开放态到关闭态的构象转换本质上是由 gp120 内在动力学性质决定的,而受体结合则阻止了这种构象转换。具体地,受体结合通过增强了从受体结合位点到 V3 环和 $\beta 20-21$ 发夹的变构通讯,分别导致了辅助受体的高亲和力相互作用和构象转换开关的激活。

2.4 HIV 中和表型的分子基础 由于 gp120 是 HIV 唯一暴露在外的病毒编码蛋白,不但负责与受体和辅助受体发生相互作用,而且需要抵抗来自宿主免疫中和抗体的攻击。不同构象的 gp120 对抗体的中和敏感性不同,关闭和开放两个末端构象可被认为是中和敏感的两个极端表型^[28]。当 gp120 呈现出关闭态时,由于 V1/V2 区域覆盖在 V3 环之上,受体结合位点被部分遮蔽、辅助受体结合位点尚未形成。此时, gp120 能有效抵抗中和抗体,呈现出中和抵抗表型。在开放态时, V1/V2 区域远离核心, V3 环被释放,受体结合位点和辅助受体结合位点完全形成。此时, gp120 易被中和抗体识别,呈现出中和敏感表型。

2018 年来自极端中和敏感表型 HIV 的 gp120 理论研究揭示了 HIV 抗体中和敏感性的分子机制^[29]。研究结果显示,中和敏感的 gp120 具有更低的全局结构稳定性和更高的全局构象柔性,特别是负责病毒包膜非共价相互作用的层 1 和 L1 环表现出显著更高的构象柔性,进而破坏关闭态的稳定性,促使

其向开放态转换。中和敏感的 gp120 涉及协同运动的结构域更大。而且,中和抵抗 gp120 的分子运动倾向于维持关闭态,而中和敏感 gp120 的分子运动则利于转换到开放态。中和敏感的 gp120 具有更丰富的构象状态,表现出更复杂的能力学行为。

3 gp120"结构-动态性-功能"的关系

从结构上来说, gp120 具有一个稳定的核心和五个序列高度变异、结构特别柔性的环区。实验结构说明, gp120 因其 V1/V2 区域和 V3 环的空间定位差异而呈现出两个末端状态。这两个构象状态的结构具有显著差异,表现出不同的动态性,并最终导致 HIV 不同的病毒侵袭性与中和敏感性。

在动态性的实验观测和理论研究中, gp120 均表现出特定的动态性特征,即至少存在三个构象状态,且在哪些构象状态之间相互转换。关闭态可以被认定为 gp120 的稳定"基态",而开放态则是具有较高能量的"激活态"。两个末端构象之间的转换符合构象选择^[30]理论描述。 gp120 的动态性不但能有效解释其与受体和辅助受体相互作用,还能为区分 HIV 中和敏感表型提供结构性见解。

HIV 利用 gp120 中 V1/V2 区域和 V3 环的序列变异和结构柔性,形成了一套动态的构象掩模机制,即通过在关闭和开放态之间的构象转换来择机暴露受体和辅助受体结合位点以识别和结合宿主细胞。而且,通过调节构象转换能力的强弱以适应不同的生理环境,即在宿主免疫选择压力下,倾向于关闭态;在实验室传代培养下,开放态逐步占据主导地位。这种构象掩模机制一方面有利于受体和辅助受体的选择性结合,促进 HIV 病毒侵袭;另一方面,能有效遮蔽关键的抗体结合表位,从而有利于 HIV 免疫逃逸。

4 总结与展望

本文综述了近年来关于 gp120 结构及其动态性的实验和理论研究,从动力学、热力学和能力学的角度系统阐释了 gp120"结构-动态性-功能"的关系,阐明了 HIV 利用 gp120 的序列变异、结构柔性和糖基化等策略形成的构象掩模机制。深入研究 gp120 的结构及其动态性,将有助于深入理解 HIV 病毒侵袭和免疫逃逸的分子机制,为抗 HIV 疫苗和药物的研发奠定分子基础。

【参考文献】

- [1] Liu J, Bartsaghi A, Borgnia MJ, et al. Molecular architecture of native HIV-1 gp120 trimers[J]. Nature, 2008, 455(7209): 109-13.
- [2] Chen B. Molecular Mechanism of HIV-1 Entry[J]. Trend Microbiol, Elsevier Ltd, 2019, 27(10): 878-91.
- [3] Kwon YD, Finzi A, Wu X, et al. Unliganded HIV-1 gp120 core structures assume the CD4-bound conformation with regulation by quaternary interactions and variable loops[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2012, 109(15): 5663-8.
- [4] Munro JB, Mothes W. Structure and Dynamics of the Native HIV-1 Env Trimer[J]. Journal of Virology, 2015, 89(11): 5752-5.
- [5] Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, et al. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody[J]. Nature, 1998, 393(6686): 648

- 59.
- [6] Huang CC, Tang M, Zhang MY, et al. Structural biology: Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core [J]. *Science*, 2005, 310(5750): 1025—8.
- [7] Pancera M, Majeed S, Ban YEA, et al. Structure of HIV-1 gp120 with gp41-interactive region reveals layered envelope architecture and basis of conformational mobility[J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2010, 107(3): 1166—71.
- [8] McLellan JS, Pancera M, Carrico C, et al. Structure of HIV-1 gp120 V1/V2 domain with broadly neutralizing antibody PG9[J]. *Nature*, 2011, 480(7377): 336—43.
- [9] Rasheed M, Bettadapura R, Bajaj C. Computational refinement and validation protocol for proteins with large variable regions applied to model HIV Env Spike in CD4 and 17b Bound State[J]. *Structure*, 2015, 23(6): 1138—49.
- [10] Stewart-Jones GBE, Soto C, Lemmin T, et al. Trimeric HIV-1-env structures define glycan shields from clades A, B, and G[J]. *Cell*, 2016, 165(4): 813—26.
- [11] Shaik MM, Peng H, Lu J, et al. Structural basis of coreceptor recognition by HIV-1 envelope spike[J]. *Nature*, Springer US, 2019, 565(7739): 318—23.
- [12] Schommers P, Gruell H, Abernathy ME, et al. Restriction of HIV-1 escape by a highly broad and potent neutralizing antibody [J]. *Cell*, 2020, 180(3): 471—89.
- [13] Herschhorn A, Gu C, Moraca F, et al. The $\beta 20-\beta 21$ of gp120 is a regulatory switch for HIV-1 Env conformational transitions [J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1049.
- [14] Raska M, Takahashi K, Czernekova L, et al. Glycosylation patterns of HIV-1 gp120 depend on the type of expressing cells and affect antibody recognition [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(27): 20860—9.
- [15] Guttman M, Cupo A, Julien JP, et al. Antibody potency relates to the ability to recognize the closed, pre-fusion form of HIV Env [J]. *Nature Communications*, 2015: 6.
- [16] Li Y, Deng L, Liang J, et al. Molecular dynamics simulations reveal distinct differences in conformational dynamics and thermodynamics between the unliganded and CD4-bound states of HIV-1 gp120[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, 22(10): 5548—60.
- [17] Liu SQ, Liu SX, Fu YX. Molecular motions of human HIV-1 gp120 envelope glycoproteins[J]. *J Mol Model*, 2008, 14(9): 857—70.
- [18] Wyatt R, Sodroski J. The HIV-1 envelope glycoproteins: Fusogens, antigens, and immunogens[J]. *Science*, 1998, 280(5371): 1884—8.
- [19] Sang P, Yang LQ, Ji XL, et al. Insight Derived from molecular dynamics simulations into molecular motions, thermodynamics and kinetics of HIV-1 gp120 [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e104714.
- [20] Wu X, Yang ZY, Li Y, et al. Rational design of envelope identifies broadly neutralizing human monoclonal antibodies to HIV-1 [J]. *Science*, 2010, 329(5993): 856—61.
- [21] 李毅. HIV-1 gp120 构象柔性和转换研究[D]. 云南大学, 2018.
- [22] Myszka DG, Sweet RW, Hensley P, et al. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction[J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2000, 97(16): 9026—31.
- [23] Munro J B, Gorman J, Ma X, et al. Conformational dynamics of single HIV-1 envelope trimers on the surface of native virions[J]. *Science*, 2014, 346(6210): 759—63.
- [24] Li Y, Deng L, Yang LQ, et al. Effects of CD4 binding on conformational dynamics, molecular motions, and thermodynamics of HIV-1 gp120[J]. *Internat J Mol Sci*, 2019, 20(2): 260.
- [25] Prinz JH, Wu H, Sarich M, et al. Markov models of molecular kinetics: Generation and validation[J]. *J Chem Physics*, 2011, 134(17): 174105.
- [26] Sethi A, Eargle J, Black AA, et al. Dynamical networks in tRNA: Protein complexes[J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2009, 106(16): 6620—5.
- [27] Li Y, Guo YC, Zhang XL, et al. CD4-binding obstacles in conformational transitions and allosteric communications of HIV gp120[J]. *Biochim Biop Acta-Biom*, 2020, 1862(6): 183217.
- [28] Seaman MS, Janes H, Hawkins N, et al. Tiered categorization of a diverse panel of HIV-1 env pseudoviruses for assessment of neutralizing antibodies[J]. *J Virol*, 2010, 84(3): 1439—52.
- [29] Li Y, Deng L, Ai SM, et al. Insights into the molecular mechanism underlying CD4-dependency and neutralization sensitivity of HIV-1: A comparative molecular dynamics study on gp120s from isolates with different phenotypes[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(26): 14355—68.
- [30] Du X, Li Y, Xia YL, et al. Insights into protein-ligand interactions; Mechanisms, models, and methods[J]. *Internat J Mol Sci*, 2016, 17(2): 144.

【收稿日期】 2020-04-08 【修回日期】 2020-07-16