

# 极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 的高温分子动力学模拟研究

李毅<sup>1</sup>, 李爽<sup>1</sup>, 张晓玲<sup>1</sup>, 曾新<sup>1</sup>, 桑鹏<sup>2</sup>, 杨力权<sup>2</sup>

(1. 大理大学 数学与计算机学院, 大理 671003; 2. 大理大学 农学与生物科学学院, 大理 671003)

**摘要:** 作为 HIV 感染细胞的蛋白质机器, 包膜蛋白 gp120 利用序列变异和结构柔性等策略逃避宿主免疫识别, 是病毒呈现出不同中和表型的主要原因. 尽管 HIV 中和表型的分子机制已被初步探索, 但其热力学相关的分子基础仍待进一步阐明. 本研究利用同源建模的方法构建了极端中和表型 HIV 毒株(中和抵抗毒株 H061.14 与中和敏感毒株 R2) 的 gp120 结构模型, 在逐渐升高的温度梯度下进行了高温分子动力学模拟, 以研究二者在结构稳定性、解折叠和构象柔性上的差异. 结果表明, HIV 中和表型与 gp120 的热力学性质呈正相关, 与解折叠程度无必然关联. 各温度下 gp120 的结构偏差、天然接触含量、构象群体分布, 以及单残基柔性的比较清楚地说明, 中和敏感比中和抵抗 gp120 表现出更大的结构偏差、更多的构象状态和更高的构象柔性, 但两者具有相似的解折叠程度. 由极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 显著不同的热力学性质可以推断, HIV 很可能利用 gp120 的热力学性质来调节其构象, 进而平衡病毒侵袭和免疫逃避之间的矛盾. 我们的研究不仅揭示了极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 的在构象柔性和结构稳定性上的差异, 同时还从高温解折叠热力学的角度明确了极端中和表型 HIV 背后的分子基础.

**关键词:** HIV 中和表型; HIV 包膜蛋白; 解折叠热力学; 动态性; 高温分子动力学模拟

中图分类号: O64

文献标识码: A

DOI: 10.19855/j.1000-0364.2022.014002

## High temperature molecular dynamics simulation study on the envelope protein gp120 of HIV strains with extreme neutralization phenotype

LI Yi<sup>1</sup>, LI Shuang<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-Ling<sup>1</sup>, ZENG Xin<sup>1</sup>, SANG Peng<sup>2</sup>, YANG Li-Quan<sup>2</sup>

(1. College of Mathematics and Computer Science, Dali University, Dali 671003, China;

2. College of Agriculture and Biological Science, Dali University, Dali 671003, China)

**Abstract:** As the protein machine for HIV infecting cells, the envelope protein gp120 exploits strategies such as sequence variation and structural flexibility to evade host immune recognition, which is the main cause of the different neutralization phenotypes of HIV. Although the molecular mechanism of HIV neutralization phenotype has been initially explored, the molecular basis related to its thermodynamics still needs to be further elucidated. In this study, the method of homology modeling was employed to construct the gp120 structural models from HIV strains with extreme neutralization phenotype (neutralization-resistant strain H061.14 and neutralization-sensitive strain R2), and the high-temperature molecular dynamics simulations were performed under a gradually increasing temperature gradient to investigate the differences in structural stability, unfolding and conformational flexibility between these two phenotypic gp120. Our results indicate that the HIV neutralization phenotype is positively correlated with the thermodynamic properties of gp120, but not necessarily related to the degree of unfolding.

收稿日期: 2021-01-10

基金项目: 国家自然科学基金(62003068, 31960198); 云南省基础研究计划(2019FB021, 2019FD014, 2019FH001-103, 2018FH001-062)

作者简介: 李毅(1988—), 男, 云南大理人, 博士, 副教授, 主要从事计算生物学研究. E-mail: liyigerry@163.com

通讯作者: 杨力权. E-mail: ylqbioinfo@gmail.com

The comparative analysis of structural deviations, native contact content, conformational population distribution, and per-residue flexibility of gp120 at various temperatures clearly indicate that neutralization sensitive gp120 exhibits greater structural deviation, more conformational states, and higher conformational flexibility than neutralization resistance, but both have a similar degree of unfolding. It can be inferred from the remarkable different thermodynamic properties of envelope protein gp120 from HIV strains with extreme neutralization phenotype that HIV is likely to use the thermodynamic properties of gp120 to adjust its conformation to balance the contradiction between virus infection and immune evasion. Our research not only reveals the differences in conformational flexibility and structural stability of gp120 from HIV strains with extreme neutralization phenotype, but also deciphers the molecular basis underlying the extreme neutralization phenotype of HIV from the perspective of high temperature unfolding thermodynamics of gp120.

**Key words:** HIV neutralization phenotype; HIV envelope glycoprotein; Unfolding thermodynamics; Flexibility; High temperature molecular dynamics simulation

## 1 引言

获得性免疫缺陷综合症 (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS), 俗称艾滋病, 是由人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV) 感染引起的烈性传染病. 据世界卫生组织统计, 艾滋病在全球广泛传播, 严重威胁人类健康. 尽管, 终生的抗病毒治疗可将艾滋病缓解为慢性病的范畴、显著延长艾滋病患者的生存时间, 但诸如癌症等长期用药的副作用仍然给患者造成巨大的负担.

作为唯一暴露在病毒颗粒表面的病毒编码蛋白, 包膜蛋白 gp120 负责识别和结合宿主细胞表面受体以触发一系列的感染事件<sup>[1]</sup>. 为使其保守的功能位点免受宿主中和抗体的攻击, gp120 利用其序列变异和结构柔性逃避宿主免疫识别<sup>[2]</sup>, 进而促使病毒表现出不同的中和表型<sup>[3]</sup>. 根据多种抗体滴定的实验数据, 可将 HIV 划分为中和抵抗与中和敏感两种极端中和表型<sup>[4]</sup>. 其中, 中和抵抗表型毒株主要分离自 HIV 长期携带者的血浆, 而中和敏感表型毒株则主要来自实验室的传代培养<sup>[5]</sup>.

2015年, 研究人员使用氢氘交换耦合质谱的技术观测了多种中和抗体与 gp120 的相互作用<sup>[6]</sup>. 实验结果指出, 清除病毒效力较高的中和抗体仅在 gp120 的功能位点引起局部作用, 而效力较低的中和抗体则与整个 gp120 的精细变化有关. 以此进一步推论, 由 gp120 序列变异引起的构象柔性可能是造成 HIV 不同中和表型的主要分子机制.

因此, 我们从 gp120 结构动态性的角度探索了极端中和表型 HIV 的分子机制<sup>[7]</sup>. 从实验标定

中和表型的 HIV 谱系中, 随机选择了两株具有极端中和表型的 HIV 分离株, 通过 gp120 结构模型的构建、分子动力学模拟和自由能图谱分析, 初步揭示了 HIV 中和表型的分子机制. 中和抵抗比中和敏感 gp120 具有更低的结构稳定性和更高的构象柔性. 病毒包膜蛋白中负责非共价相互作用的结构区域 (如 layer 1 和 L1 环) 在中和敏感 gp120 中表现出显著更高的构象柔性. 因此, gp120 的构象稳定性可能会更易遭到破坏而发生转换. 此外, 中和敏感比中和抵抗 gp120 具有更多涉及协同运动的结构单元. 特别是, 在诸如 layers 1-2 和 V1/V2 区域的结构单元, 运动方向上的差异会使中和敏感 gp120 更易发生构象转换. 最后, 中和敏感比中和抵抗 gp120 具有更大、更粗糙和更复杂的自由能表面, 且中和敏感 gp120 自由能图谱中的绝大多数自由能最小化区域具有比中和抵抗 gp120 图谱中更高的自由能水平, 表明前者比后者具有更大的构象熵、更丰富的构象状态和更复杂的能力学行为.

尽管 HIV 中和表型的潜在分子机制已被初步探索, 但极端中和表型 HIV 的热力学分子基础仍待进一步阐明. 一般认为, 中和敏感比中和抵抗 gp120 具有更高的构象柔性以便发生构象转换. 但是, 极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 是否具有不同的热力学性质, 其折叠或解折叠是否与中和表型相关等问题仍不清楚. 为此, 本文在先前关于极端中和表型 HIV 毒株包膜蛋白 gp120 构象柔性差异的研究基础上, 在逐渐升高的温度下进行了高温分子动力学模拟, 以研究二者在结构稳定性、解折叠和构象柔性上的差异. 研究结果不仅进一步证实了极端中和表型 HIV 毒株包膜蛋白

gp120 具有显著不同的构象柔性,还明确了 HIV 极端中和表型与包膜蛋白 gp120 热力学性质的关联.

## 2 材料和方法

### 2.1 结构模型构建

极端中和表型 HIV 分离株从实验标定的中和表型谱系中随机选取,其氨基酸序列取自蛋白质序列数据库 UniProt (<http://www.uniprot.org>). 中和抵抗毒株 H061.14 与中和敏感毒株 R2 的索引号分别为 A4ZPW8 和 Q9WPZ4. 构建 gp120 结构模型所用模板选自蛋白质结构数据库 PDB (<http://www.rcsb.org>) 中冷冻电镜解析的代表性 HIV 包膜蛋白结构(索引号为 5FYJ,分辨率为 3.4 Å)<sup>[8]</sup>. 利用软件包 MODELLER V9.15 进行同源建模(homology modeling)<sup>[9]</sup>. 所选模板与靶序列具有高度的序列一致性. 以分子概率密度函数值最小为标准,从构造的 20 个候选模型中选取具有最佳立体化学质量的结构作为最终模型.

### 2.2 分子动力学模拟

以上述构建的中和抵抗与中和敏感 gp120 结构模型为初始,使用 GROMACS V 5.1.4 软件包<sup>[10]</sup>和 AMBER99SB-ILDN 力场<sup>[11]</sup>进行分子动力学模拟. 将初始结构放置于具有周期边界条件的十二面体盒子中,保证蛋白质中任意原子与盒子边界的距离不小于 10 Å. 然后,加入由 TIP3P 模型<sup>[12]</sup>描述的水分子,添加 Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup> 离子以使蛋白质-水系统在呈电中性的同时还具有 150 mM 的盐浓度. 为了消除原子间立体化学冲突,并使蛋白质充分浸润于水溶剂中,依次进行了最陡下降法能量最小化和固定蛋白质重原子运动的位置限制性模拟. 最后,为保证模拟系统的稳定性,进行了由 1 ns 的等容等温(NVT)系综和 1.5 ns 的等压等温(NPT)系综组成的预模拟.

对于中和抵抗与中和敏感 gp120,分别在 300 K、373 K 和 473 K 进行了三次 30 ns 的多复本分子动力学模拟. 每个复本的初始原子速度由相应温度下的麦克斯韦分布随机分配. 具体模拟参数如下:采用 LINCS 算法<sup>[13]</sup>约束共价键长,积分时间步长为 2 fs;结构快照的输出频率为 10 ps;恒压器耦合压强为 1 atm,耦合时间常数  $\tau_p$  为 2 ps;溶质(蛋白质)和溶剂(水分子与抗衡离子)的温度被分别耦合于对应温度下,耦合时间常数  $\tau_t$  均为 0.1 ps;使用 PME 算法<sup>[14]</sup>处理长程静电相互作用,

内插阶为 4、傅立叶网格为 0.16 nm;库伦力的截断半径为 1 nm;使用双程截断方案处理范德华相互作用,其中短程和长程的截断半径分别为 1 nm 和 1.4 nm;非键相互作用的更新频率设为 10 个积分步长.

### 2.3 轨迹分析

轨迹的读取、骨架原子均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)的计算,以及解折叠含量 Q 的测算均使用 MDTraj 软件包<sup>[15]</sup>. 使用 GROMACS 内置的 gmx rmsf 工具计算残基 C $\alpha$  原子的均方根波动(root mean square fluctuation, RMSF).

## 3 结果

### 3.1 序列和结构比较

现有实验结构表明, gp120 由一个保守的核心和五个可变环区(V1-V5)组成<sup>[16]</sup>. 在本研究构造的结构模型中,中和抵抗与中和敏感 gp120 的序列分别包含 467 和 479 个氨基酸残基,序列一致性为 71%(图 1 左),差异主要集中在 V1 环、L1 环、V2 环 C 端、 $\alpha 2$ 、V4 和 V5 环. 中和抵抗与中和敏感 gp120 的结构模型高度相似,其 RMSD 值仅为 0.9 Å(图 1 右). 近末端存在一个由  $\beta 3$ 、 $\beta 0$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 5$ 、 $\beta 6$ 、 $\beta 7$  和  $\beta 15$  组成的  $\beta$  “三明治”结构. 以其为中心,可将整个 gp120 构架分为三个层<sup>[17]</sup>. 其中,层 1(layer1)位于  $\beta 3$  和  $\beta 0$  之间,主要包含  $\alpha 0$ ;层 2(layer2)位于  $\beta 1$  和  $\beta 5$  之间,主要包含  $\alpha 1$ ;层 3(layer3)位于  $\beta 7$  和  $\beta 25$  之间,主要包含  $\alpha 2$ .

### 3.2 全局结构波动

通过计算轨迹中 gp120 骨架原子相对于初始结构的 RMSD 值,可评估模拟过程中 gp120 的全局结构波动<sup>[18]</sup>. 从图 2 可以看出,在所有温度下,尽管中和抵抗与中和敏感 gp120 在模拟初期具有相似的 RMSD 值. 但随着模拟的进行,中和敏感比中和抵抗 gp120 表现出显著更高的 RMSD 值,说明中和敏感比中和抵抗 gp120 发生了相对于初始结构更大的构象偏差.

在常温下,中和抵抗与中和敏感 gp120 的 RMSD 值在 0-15 ns 模拟期间几乎一致. 此后,中和敏感 gp120 的两个复本表现出比中和抵抗 gp120 更高的 RMSD 值,直至模拟结束. 随着模拟温度的升高,中和抵抗与中和敏感 gp120 的 RMSD

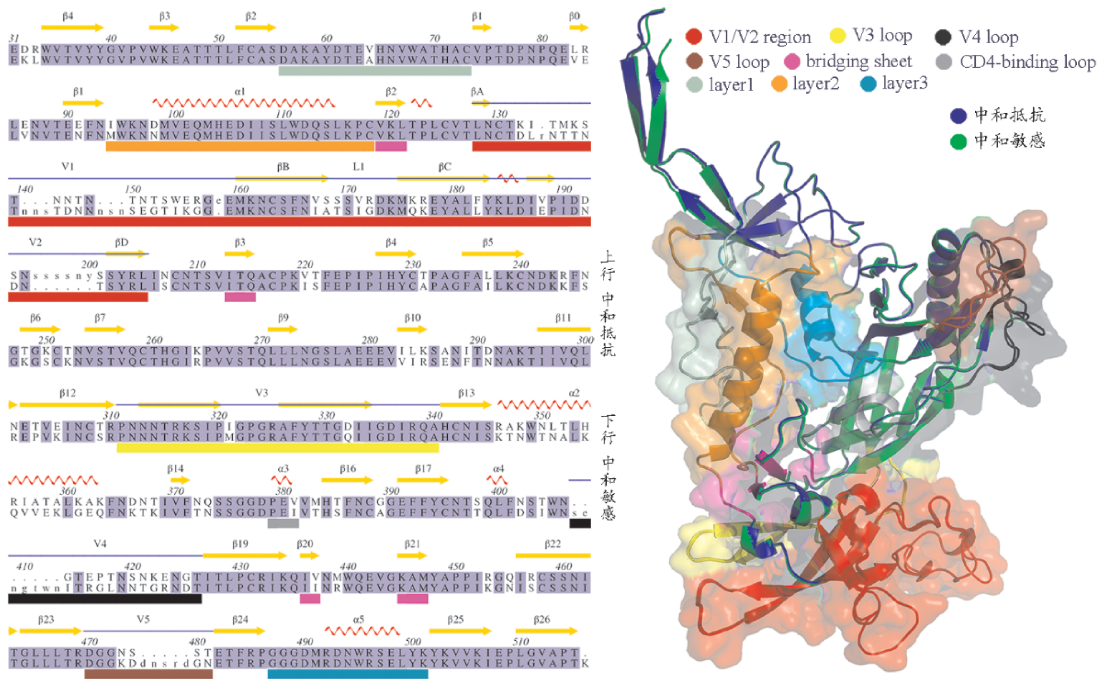


图 1 极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 的序列和结构。

Fig. 1 Sequence and structure of gp120 from HIV strains with extreme neutralization phenotype.

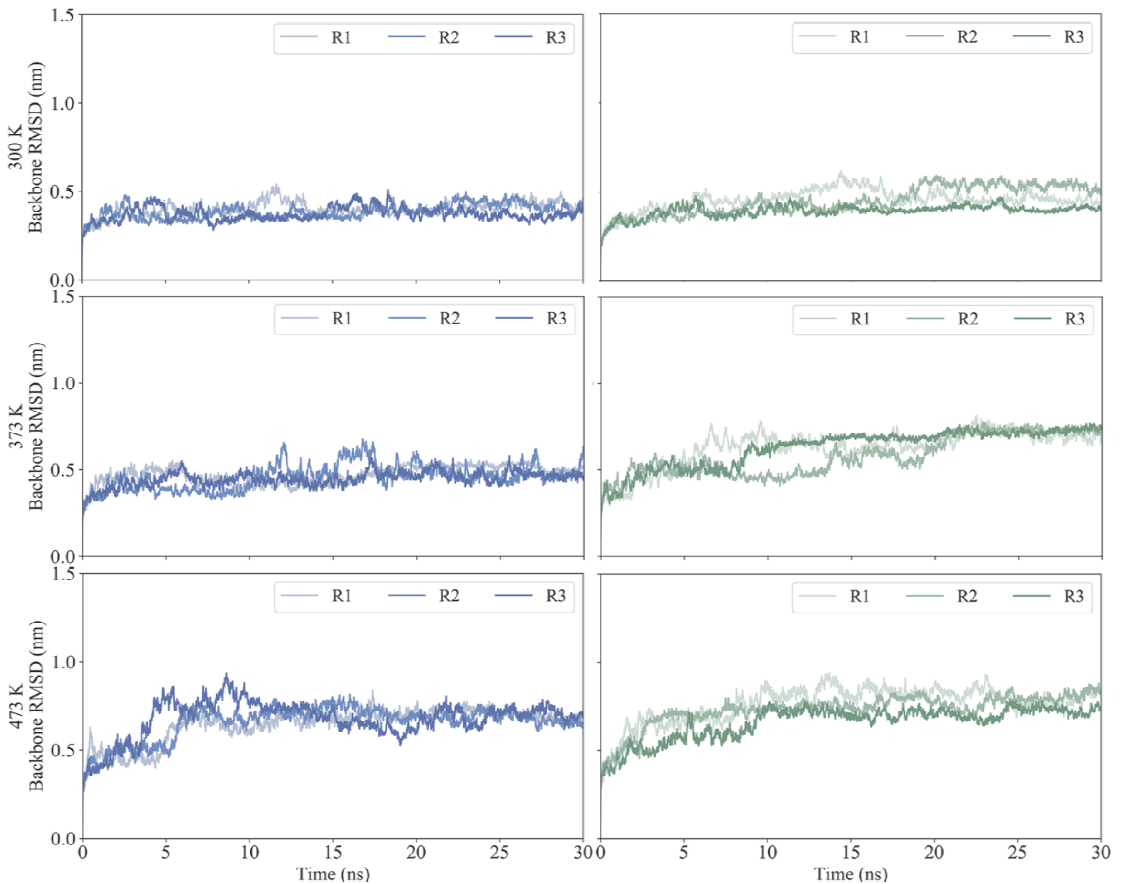


图 2 不同温度下，中和抵抗（蓝线）与中和敏感（绿线）gp120 三个复本（R1 - R3）相对于初始结构骨架原子均方根偏差随时间变化的曲线。

Fig. 2 Time evolution curves of backbone root mean square deviation (RMSD) values of three replicas (R1 - R3) of the neutralization-resistant (blue lines) and the neutralization-sensitive (green lines) gp120 to the respective starting structure at the temperatures of 300, 373, and 473 K.

值均逐渐增大. 尽管如此, 中和敏感 gp120 的 RMSD 曲线抬升速度要大于中和抵抗 gp120, 最终导致了前者更大的结构偏差.

以上结果表明, 在同一温度下, 中和敏感比中和抵抗 gp120 表现出更大的结构偏差或更高的全局结构波动, 说明中和抵抗比中和敏感 gp120 具有更稳定的结构.

### 3.3 解折叠程度

为了比较中和抵抗与中和敏感 gp120 的解折

叠程度, 不同温度下 gp120 相对于初始结构的天然接触含量  $Q^{[19]}$  随时间的变化显示在图 3 中. 在常温下, 中和抵抗与中和敏感 gp120 均含有 90% 左右的天然接触含量. 中和抵抗 gp120 三个复本的天然接触含量分布较为集中, 而中和敏感 gp120 各个复本则分布在 92% 至 88% 之间的区域中, 总体上较中和抵抗 gp120 具有更多的天然接触含量.

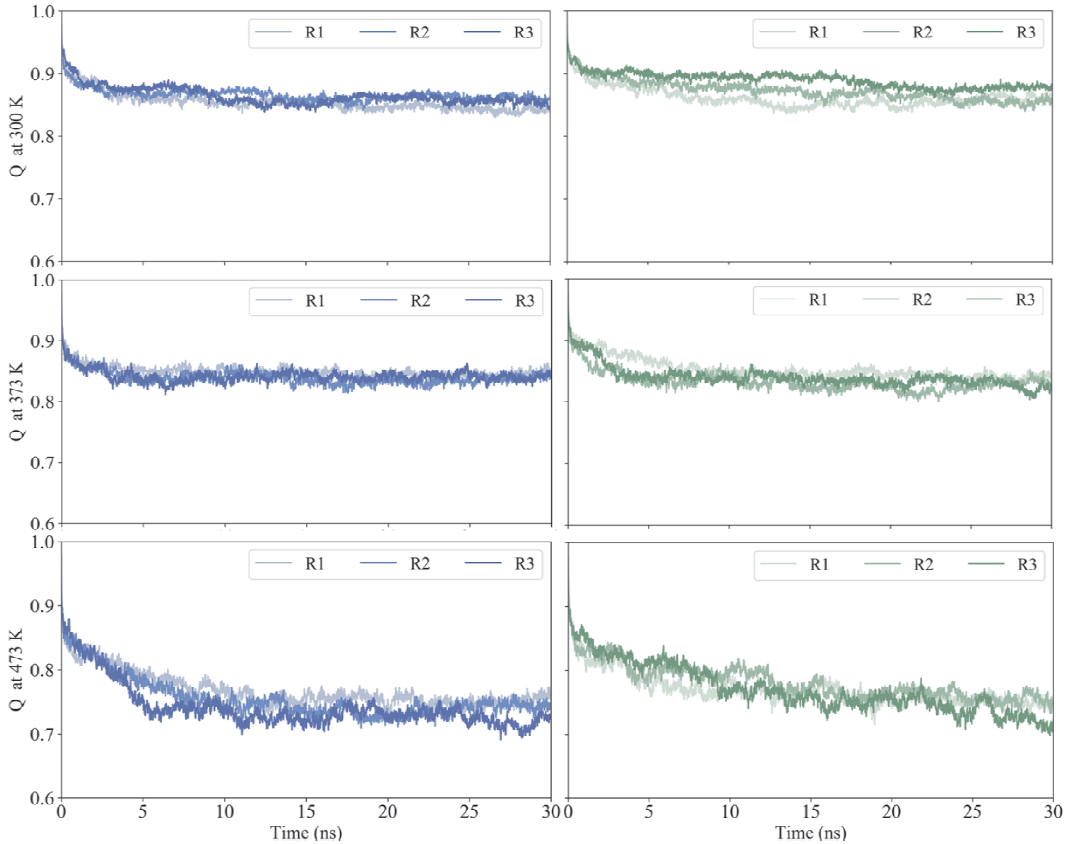


图3 不同温度下, 中和抵抗(蓝线)与中和敏感(绿线)gp120 三个复本(R1-3)天然接触含量  $Q$  随时间变化的曲线.

Fig. 3 Time evolution curves of native contact context ( $Q$ ) of three replicas (R1 - R3) of the neutralization-resistant (blue lines) and the neutralization-sensitive (green lines) gp120 at the temperatures of 300, 373, and 473 K.

随着温度的升高, 中和敏感和中和抵抗 gp120 的天然接触含量均逐渐降低, 并在 473 K 下低至 70% 左右. 在 373 K 温度下, 中和抵抗与中和敏感 gp120 具有非常相似的天然接触含量曲线, 说明中和抵抗与中和敏感 gp120 在该温度下具有相似的解折叠程度. 在 473 K 模拟温度下, 中和抵抗 gp120 能较快到达较低的天然接触水平, 说明中和抵抗 gp120 的解折叠程度较高.

比较中和抵抗与中和敏感 gp120 之间天然接触含量的差异可以看出, 中和抵抗 gp120 的天然

接触含量总比中和敏感 gp120 的稍低. 但两者差异较小, 说明相对于初始结构的天然接触含量在中和抵抗与中和敏感 gp120 之间不具备显著差异, 也就是中和抵抗与中和敏感 gp120 具有相似的解折叠程度.

### 3.4 构象群体分布

为了比较中和抵抗与中和敏感 gp120 在构象群体分布上的差异, 各个温度下的轨迹被投射到由 RMSD 和  $Q$  组成的空间中. 如图 4 所示, 中和

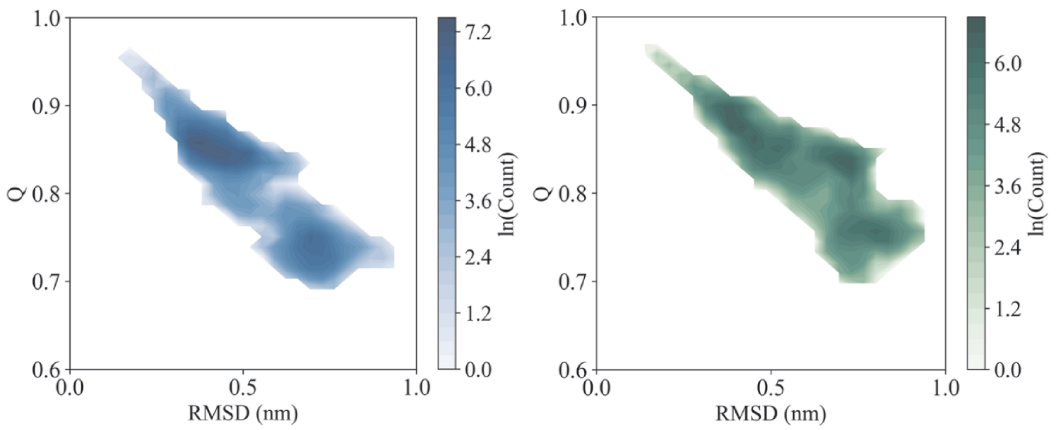


图4 中和抵抗(蓝色)与中和敏感(绿色)gp120在RMSD和Q空间中的群体分布.

Fig. 4 Population distributions of the neutralization-resistant (blues) and the neutralization-sensitive (greens) gp120 in the log space composed of the RMSD and the Q.

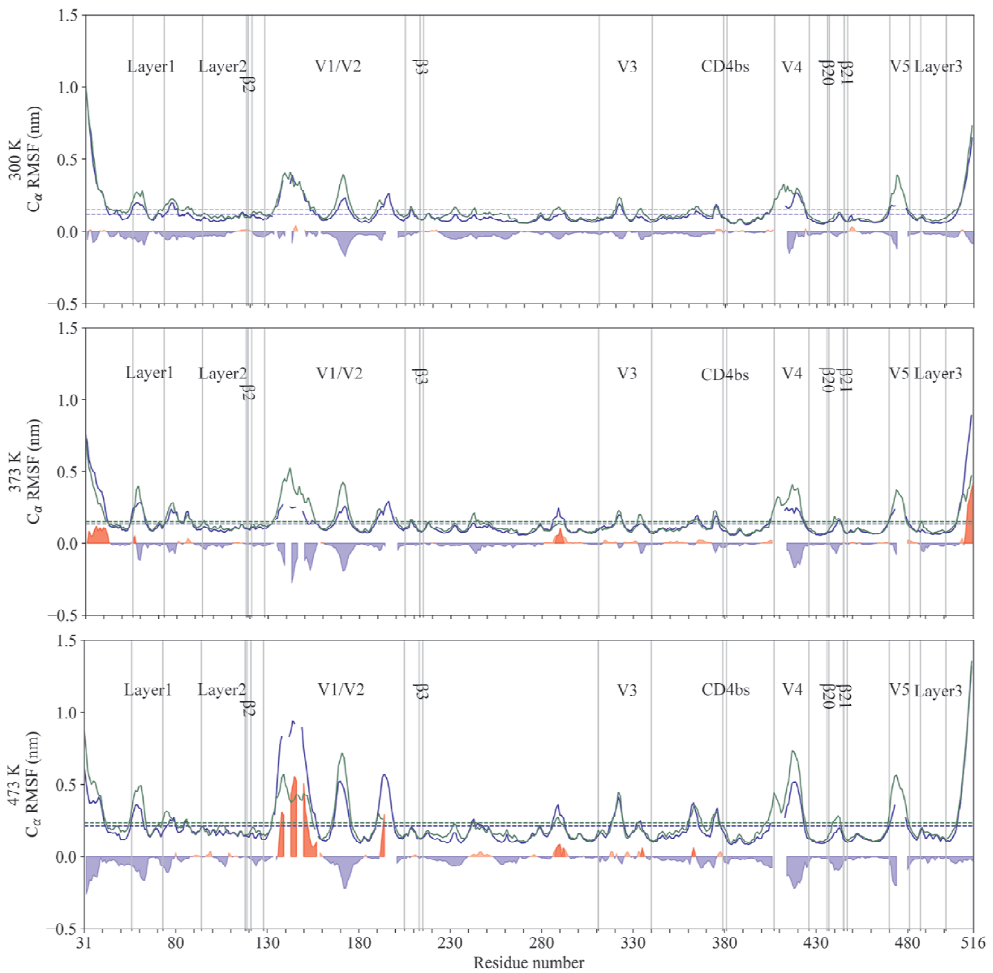


图5 不同温度下, 中和抵抗(蓝线)与中和敏感(绿线)gp120的C<sub>α</sub>原子均方根波动曲线.

Fig. 5 Profiles of C<sub>α</sub> root mean square fluctuation (RMSF) of the neutralization-resistant (blue line) and the neutralization-sensitive (green line) gp120 at the temperatures of 300, 373, and 473 K.

抵抗与中和敏感 gp120 具有相似的构象群体分布范围, 均位于 RMSD 从 0.2 至 1 nm 和 Q 从 95% 至 70% 之间的区域. 但是, 中和抵抗与中和敏感 gp120 具有不同的构象群体分布形态. 对于中和

抵抗 gp120, 其构象群体可被划分为两个主要区域, 即 RMSD 约 0.3 nm、Q 约 85% 的区域和 RMSD 约 0.8 nm、Q 约 75% 的区域. 而中和敏感 gp120 则至少具有四个主要的构象群体, 即 RMSD

约 0.2 nm、Q 约 88% 的区域; RMSD 约 0.4 nm、Q 约 83% 的区域; RMSD 约 0.8 nm、Q 约 83% 的区域和 RMSD 约 0.8 nm、Q 约 75% 的区域.

上述结果说明, 中和敏感比中和抵抗 gp120 在模拟过程中经历了更大的构象变化, 因而具有更高的构象熵. 中和敏感比中和抵抗 gp120 具有更多样的构象群体分布, 即具有更丰富的构象多样性.

### 3.5 局部构象柔性

通过计算中和抵抗与中和敏感 gp120 每个残基  $C_{\alpha}$  原子的均方根波动 RMSF 值, 可定量描述蛋白质局部结构区域的波动<sup>[20]</sup>. 此外, 中和抵抗与中和敏感 gp120 的 RMSF 平均值, 以及等同残基位置上中和抵抗 gp120 的 RMSF 值减去中和敏感 gp120 的 RMSF 值所得到的差值, 能进一步反应各个温度下中和抵抗与中和敏感 gp120 的局部构象柔性.

在常温下, 中和抵抗与中和敏感 gp120 的 RMSF 平均值分别为 0.12 和 0.15 nm, 表明中和敏感 gp120 具有更高的构象柔性. 除少数区域外, 中和抵抗与中和敏感 gp120 的绝大部分结构区域均具有相似 RMSF 曲线, 说明两者具有相似的构象柔性分布特征. 两者构象柔性差异明显的区域主要集中在 V1/V2 区域和 V4-5 环.

随着温度的升高, 中和抵抗与中和敏感 gp120 的 RMSF 值均随之增大, 说明全局构象柔性也相应增大. 但是, 中和敏感总比中和抵抗 gp120 具有更大的 RMSF 平均值, 中和抵抗与中和敏感 gp120 在 373 K 下的 RMSF 均值分别为 0.13 和 0.15 nm, 在 473 K 下的 RMSF 均值分别为 0.21 和 0.23 nm. 对于在常温下就比中和抵抗 gp120 较高的区域, V1/V2 区域在 373 K 下仍然维持中和敏感高于中和抵抗 gp120 的趋势, 但在 473 K 翻转; V4-5 环则在两个高温下均呈现出中和敏感 gp120 较高的 RMSF 值.

## 4 讨 论

作为唯一暴露在外的病毒编码蛋白, 包膜蛋白 gp120 在 HIV 病毒侵袭和免疫逃逸中扮演着关键角色<sup>[21]</sup>. 实验<sup>[5]</sup>和理论<sup>[7]</sup>研究都指出其与抗体的相互作用在很大程度上决定了 HIV 的中和表型. 在我们前期的研究中, 极端中和表型 HIV 的包膜蛋白 gp120 的结构模型呈现出高度的相似

性<sup>[7]</sup>. 经过分子动力学模拟后, 极端中和表型在结构动态性、构象柔性、大尺度分子运动和自由能水平上均表现出差异<sup>[22]</sup>. 该研究从包膜蛋白 gp120 动态性的角度初步揭示了 HIV 中和表型的分子机制.

在本文中, 我们进一步研究了包膜蛋白 gp120 热力学性质与 HIV 中和表型的关系. 在高温分子动力学模拟中, 包膜蛋白 gp120 表现出与 HIV 极端中和表型呈正相关的热力学性质, 即中和敏感 gp120 在各温度下均相较中和抵抗 gp120 具有更大的全局结构波动、更多样的构象群体分布和更高的局部构象柔性. 但是, 从天然接触含量可以看出, 中和抵抗和中和敏感 gp120 在各温度下均具有相似的解折叠程度, 说明 HIV 中和表型与其包膜蛋白 gp120 的解折叠程度无关.

与球状蛋白的解折叠<sup>[23]</sup>不同, gp120 由于除核心结构外, 还具有伸展在外的可变环区. 其构象柔性和解折叠程度并不像球状蛋白那样呈现出严格的正相关关系. 而且, gp120 高度变异的序列很可能不存在诸如盐桥<sup>[24]</sup>等强相互作用, 以维持其热力学性质. 蛋白质的解折叠可以被记作其折叠成天然构象的逆过程, 本研究从高温解折叠热力学的角度明确了极端中和表型 HIV 背后的分子基础.

## 5 结 论

在本研究中, 延续我们前期关于极端中和表型 HIV 包膜蛋白 gp120 的分子动力学模拟, 以中和抵抗 H061.14 与中和敏感 R2 两个极端中和表型 HIV 的 gp120 结构模型为研究对象, 通过比较中和抵抗和中和敏感 gp120 在全局结构波动、天然接触含量、构象群体分布、局部构象柔性等方面的差异, 以期阐释 HIV 中和表型与其包膜蛋白 gp120 热力学性质之间的关系. 主要结果为: (1) HIV 中和表型与 gp120 的热力学性质呈正相关; (2) 中和敏感比中和抵抗 gp120 表现出更大的结构波动、更多的构象状态和更高的全局构象柔性; (3) 二者具有相似天然接触含量温度, 说明 HIV 中和表型与 gp120 解折叠程度无关. 总之, 本文的研究结果从热力学的角度阐释了 HIV 包膜蛋白 gp120 的“结构-热力学性质-表型”三者间的关系, 明确了 HIV 中和表型背后的分子基础.

### 参考文献:

- [1] Chen B. Molecular mechanism of HIV-1 entry[J].

- Trends Microbio.*, 2019, 27: 878.
- [2] Munro J B, Mothes W. Structure and dynamics of the native HIV - 1 Env trimer[J]. *J. Virol.*, 2015, 89: 5752.
- [3] Montefiori D C, Roederer M, Morris L, et al. Neutralization tiers of HIV - 1[J]. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2018, 13: 128.
- [4] Seaman M S, 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: 1439.
- [5] Guttman M, Cupo A, Julien J P, et al. Antibody potency relates to the ability to recognize the closed, pre-fusion form of HIV Env[J]. *Nature Commun.*, 2015, 6: 6144.
- [6] Guttman M, Garcia N K, Cupo A, et al. CD4 - induced activation in a soluble HIV - 1 Env trimer[J]. *Structure*, 2014, 22: 974.
- [7] Li Y, Deng L, Ai S M, 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 Adv.*, 2018, 8: 14355.
- [8] Stewart - Jones G B E, Soto C, Lemmin T, et al. Trimeric HIV - 1 - Env structures define glycan shields from clades A, B, and G[J]. *Cell*, 2016, 165: 813.
- [9] Webb B, Sali A. Comparative protein structure modeling using MODELLER[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2016, 54: 5.6.1.
- [10] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi - level parallelism from laptops to supercomputers[J]. *Software X*, 2015, 1 - 2: 19.
- [11] Aliev A E, Kulke M, Khaneja H S, et al. Motional timescale predictions by molecular dynamics simulations: Case study using proline and hydroxyproline sidechain dynamics[J]. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 2014, 82: 195.
- [12] Price D J, Brooks C L. A modified TIP3P water potential for simulation with Ewald summation[J]. *J. Chem. Phys.*, 2004, 121: 10096.
- [13] Hess B, Bekker H, Berendsen H J C, et al. LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations[J]. *J. Comput. Chem.*, 1997, 18: 1463.
- [14] Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh Ewald: An  $N \cdot \log(N)$  method for Ewald sums in large systems[J]. *J. Chem. Phys.*, 1993, 98: 10089.
- [15] McGibbon R T, Beauchamp K A, Harrigan M P, et al. MDTraj: a modern open library for the analysis of molecular dynamics trajectories[J]. *Biophys. J.*, 2015, 109: 1528.
- [16] Liu J, Bartesaghi A, Borgnia M J, et al. Molecular architecture of native HIV - 1 gp120 trimers[J]. *Nature*, 2008, 455: 109.
- [17] Pancera M, Majeed S, Ban Y E A, 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.*, 2010, 107: 1166.
- [18] Liu S Q, Liu S X, Fu Y X. Molecular motions of human HIV - 1 gp120 envelope glycoproteins[J]. *J. Mol. Model.*, 2008, 14: 857.
- [19] Best R B, Hummer G, Eaton W A. Native contacts determine protein folding mechanisms in atomistic simulations[J]. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2013, 110: 17874.
- [20] Du X, Li Y, Xia Y L, et al. Insights into protein - ligand interactions: mechanisms, models, and methods[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, 17: 144.
- [21] Chan D C, Kim P S. HIV entry and its inhibition[J]. *Cell*, 1998, 93: 681.
- [22] Li Y, Deng L, Yang L Q, et al. Effects of CD4 binding on conformational dynamics, molecular motions, and thermodynamics of HIV - 1 gp120[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20: 260.
- [23] Du X, Sang P, Xia Y L, et al. Comparative thermal unfolding study of psychrophilic and mesophilic subtilisin - like serine proteases by molecular dynamics simulations[J]. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2017, 35: 1500.
- [24] Xia Y L, Sun J H, Ai S M, et al. Insights into the role of electrostatics in temperature adaptation: A comparative study of psychrophilic, mesophilic, and thermophilic subtilisin - like serine proteases[J]. *RSC Adv.*, 2018, 8: 29698.